

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.19.006

顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用鉴定马卡列丙挥发性成分*

马洁瑶¹, 史思林², 罗贞贵², 欧阳敏², 李凯琳², 蔡伟^{1,2}, 张在其^{1△}

(1. 湖南医药学院· 洞医药研究湖南省重点实验室, 湖南 怀化 418000; 2. 湖南医药学院药学院, 湖南 怀化 418000)

摘要:目的 建立分析马卡列丙根和茎的挥发性成分的顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用(HS-SPME-GC-MS)法。方法 采用HS-SPME法提取挥发性成分,采用GC-MS法分析其挥发性成分。结果 从马卡列丙根和茎中分别鉴定37种和38种化学成分,分别占总挥发性成分的87.65%和89.10%,其主要成分为 thymol、isobutyrate thymol 和 thymol 2-methylbutanoate。结论 该HS-SPME-GC-MS法可快速鉴定马卡列丙根和茎中的化学成分,为研究马卡列丙的质量标准奠定了基础。

关键词:挥发性成分;马卡列丙;固相微萃取;气相色谱-质谱联用法

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)19-0023-03

Volatile Constituents of *Duhaldea Nervos* Based on Headspace Solid-Phase Micro-Extraction Gas Chromatography Mass Spectrometry

MA Jieyao¹, SHI Silin², LUO Zhengui², OUYANG Min², LI Kailin², CAI Wei^{1,2}, ZHANG Zaiqi¹

(1. Hunan University of Medicine · Hunan Provincial Key Laboratory of Dong Medicine, Huaihua, Hunan, China 418000; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Hunan University of Medicine, Huaihua, Hunan, China 418000)

Abstract: Objective To establish the headspace solid-phase micro-extraction gas chromatography mass spectrometry(HS-SPME-GC-MS) method to analyze the volatile constituents from roots and stems of *Duhaldea nervos*. **Methods** The headspace solid-phase micro-extraction(HS-SPME) method was used to extract the volatile components, and the gas chromatography mass spectrometry(GC-MS) method was used to analyze the volatile components. **Results** A total of 37 and 38 chemical components were identified from the roots and stems of *Duhaldea nervosa*, which accounted for 87.65% and 89.10% of the total volatile components, respectively. The main components were thymol, isobutyrate thymol and thymol 2-methylbutanoate. **Conclusion** HS-SPME-GC-MS can be used to rapidly identify the chemical components in root and stem of *Duhaldea nervosa*, laying the foundation for the quality standard of *Duhaldea nervosa*.

Key words: volatile constituents; *Duhaldea nervos*; solid-phase micro-extraction; gas chromatography mass spectrometry

马卡列丙 *Duhaldea nervosa* (Wallich ex Candolle) A. Anderberg 为菊科旋覆花属显脉旋覆花的全草, 又称小黑药、毛秀才等, 广泛分布于中国湖南、贵州、云南、广西等地, 在印度、尼泊尔、越南、缅甸等也有分布^[1-2]。其常被制成食品香料, 是缓解风湿和治疗跌打损伤的民间药物, 尤其在促进骨折愈合方面有较好的功效^[3]。研究表明, 马卡列丙主要由甾类、萜烯类、绿原酸和挥发性成分^[4-7]组成, 而挥发性成分被认为是主要的活性成分^[8-10]。本研究中采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱(HS-SPME-GC-MS)联用技术分析马卡列丙根和茎的挥发性成分。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Trace1300-ISQ 型气相色谱-质谱联用仪(美国 Thermo Scientific 公司); Supelco 固相微萃取装置、75 μ m CAR/PDMS 萃取纤维头、4 mL 顶空瓶(美国 Supelco 公司)。

1.2 试剂

马卡列丙 *Duhaldea nervosa* 干燥根和茎于 2018 年 12 月购于云南, 经湖南医药学院洞医药研究湖南省重

点实验室生药学专家汪冶教授鉴定为正品, 通过基原鉴定法、性状鉴定法、显微鉴定法鉴定为菊科显脉旋覆花, 根(编号为 2018120401)和茎(编号为 2018120402)标本存于药学院; C₇-C₃₀ 饱和烷烃(各组分含量为 1 000 μ g/mL, 批号为 LRAC0353, Sigma-Aldrich 公司)。

2 方法与结果

2.1 样品制备

将 75 μ m CAR/PDMS 固相微萃取纤维头置气相质谱的进样口, 300 $^{\circ}$ C 老化 10 min; 分别取马卡列丙根、茎粉末 10 mg, 精密称定, 置 4 mL 顶空瓶中密封, 固相微萃取头插入密封的顶空瓶上部空间, 65 $^{\circ}$ C 暴露 30 min, 吸收挥发物; 将萃取头抽出, 迅速插入气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)进样口, 300 $^{\circ}$ C 解吸挥发性化合物 5 min 后拔出, 检测获得马卡列丙根茎挥发性成分的气相色谱和质谱信息。采用相同 GC-MS 条件检测 C₇-C₃₀ 正构烷烃标准品, 得正构烷烃的气相色谱和质谱信息。

2.2 气相色谱-质谱条件

气相色谱条件: 色谱柱为 TG-5MS 型 5% 苯基二甲基聚硅氧烷毛细管色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m); 程

*基金项目: 2017 年中央引导地方科技发展专项资金[2017CT5025]; 2015 年湖南省科技基础条件平台建设专项资金[2015TP1020]。

第一作者: 马洁瑶, 女, 硕士研究生, 助教, 研究方向为药物分析, (电子信箱)649637429@qq.com。

Δ 通信作者: 张在其, 男, 博士研究生, 教授, 研究方向为洞医药, (电子信箱)qizaizhang@126.com。

序升温,初始温度 50 ℃(保持 3 min),以 2 ℃/min 的速率升温至 170 ℃(保持 5 min),以 10 ℃/min 的速率升温至 280 ℃(保持 5 min);载气为氦气(纯度为 99.999%,流速为 1 mL/min);进样口温度保持 300 ℃,分流比为 50:1。

质谱条件:电子电离(EI)源;电子能量为 70 eV;离子源温度为 280 ℃;传输线温度为 250 ℃;扫描质量范围为 40~620 amu。

2.3 结果

从马卡列丙的根和茎中分别鉴定出 37 种和 38 种化学成分,根据化合物色谱峰和 C₇~C₃₀ 正构烷烃标准品色谱峰的保留时间计算保留指数(RI)^[11],采用峰面积归一化法计算马卡列丙根和茎挥发性成分的相对含量,分别占 87.65% 和 89.10%,详见表 1。与质谱 NIST 17 库检索匹配,对化合物色谱峰进行分析与鉴定,详见图 1。

3 讨论

马卡列丙根和茎中挥发性成分共检出化合物 43 种,包括烯炔类 18 种,酯类 8 种,芳香族类 4 种,醚类 3 种,醇类 2 种,醛类 2 种,酚类 2 种,酸类 1 种,酮类 1 种,杂环类 1 种,硅烷类 1 种,与文献[9-10]的报道挥发油主要成分基本一致。结果表明,马卡列丙根和茎中

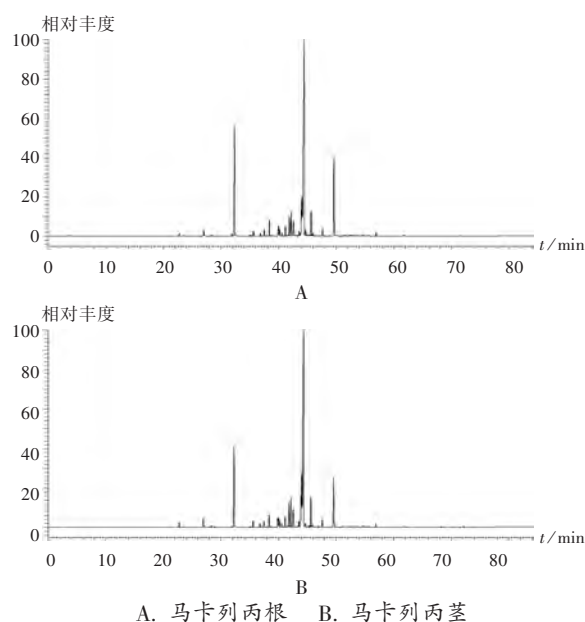


图 1 总离子流图

的主要成分为 thymol, isobutyrate thymol 和 thymol 2-methylbutanoate, 这 3 个成分均有较好的抗炎和镇痛作用^[12-13]。对比根和茎,3 种主成分在根中的百分含量均比茎中高。Thymol 2-methylbutanoate 含量比文献[11]报道的高,其主要原因可能是不同采收地点引起的。

表 1 马卡列丙的挥发性成分

编号	化合物名称	RI	根(%)	茎(%)	编号	化合物名称	RI	根(%)	茎(%)
1	isobutyric acid	772	0.01	0.01	23	(-)-β-caryophyllene	1 419	-	1.05
2	butanoic acid, ethyl ester	802	0.08	-	24	α-santalene	1 420	0.67	0.88
3	ethyl 2-methylbutyrate	849	0.01	-	25	benzene, 1,4-dimethoxy-2-methyl-5-isopropyl	1 422	-	0.54
4	o-cymene	1 022	-	0.01	26	trans-α-bergamotene	1 435	1.11	1.39
5	nonanal	1 104	0.01	-	27	(1R,3aS,8aS)-7-isopropyl-1,4-dimethyl-1,2,3,3a,6,8a-hexahydroazulene	1 443	-	0.18
6	albene	1 159	0.29	0.62	28	β-santalene	1 448	2.43	3.02
7	decanal	1 206	0.01	-	29	(E)-β-farnesene	1 457	1.88	2.30
8	4,7-dimethyl-benzofuran	1 220	0.02	0.08	30	2-epi-(E)-β-caryophyllene	1 466	-	3.10
9	8,9-dehydrothymol	1 221	0.71	1.15	31	8,9-dehydrothymol isobutyrate	1 479	3.37	6.10
10	2-isopropyl-1-methoxy-4-methylbenzene	1 230	0.02	0.06	32	thymyl isobutyrate	1 480	44.08	41.72
11	2-isopropyl-5-methyl-anisole	1 235	0.15	0.21	33	(+)-bicyclogermacrene	1 495	1.01	0.37
12	5-isopropyl-2-methylanisole	1 244	0.03	0.09	34	(-)-β-himachalene	1 500	0.13	0.11
13	thymoquinone	1 250	0.02	0.02	35	α-bisabolene	1 509	2.92	3.84
14	thymol	1 291	14.20	10.55	36	γ-bisabolene	1 515	0.32	0.34
15	cyclohexasiloxane	1 335	0.05	0.06	37	cis-calamenene	1 531	0.08	0.16
16	(+/-)-δ-elemene	1 338	-	0.14	38	(+)-nerolidol	1 564	0.06	0.03
17	α-longipinene	1 353	0.55	0.82	39	thymyl 2-methylbutanoate	1 571	10.18	7.36
18	modephene	1 385	0.86	0.82	40	thymyl tiglate	1 664	0.10	0.04
19	α-isocomene	1 386	0.13	0.09	41	(1R,7S,E)-7-isopropyl-4,10-dimethylenecyclodec-5-enol	1 695	0.02	0.01
20	petasitene	1 402	1.91	1.60	42	dibutyl phthalate	1 967	0.04	0.04
21	β-longipinene	1 403	0.08	0.11	43	hexadecanoic acid, ethyl ester	1 995	0.04	-
22	β-isocomene	1 412	0.08	0.08		合计		87.65	89.10

注:“-”表示未发现挥发性成分。