

气相色谱 - 质谱联用分析飞龙掌血根皮油的化学成分*

周 威¹, 罗才荣¹, 刘 刚², 董伟强³, 张晓燕^{2**}, 沈祥春^{2**}

(1. 贵州医科大学 药学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学 基础医学院, 贵州 贵阳 550025; 3. 浙江科强医药技术有限公司 研发中心, 浙江 宁波 315699)

[摘要] 目的: 气相色谱 - 质谱联用(GC-MS)分析飞龙掌血根皮油的化学成分。方法: 采用95%乙醇冷浸提取得到飞龙掌血根皮提取物, 进一步经石油醚萃取、最终得到飞龙掌血根皮部位的脂溶性油, 运用GC-MS技术对飞龙掌血根皮油化学成分进行定性定量分析。结果: 从飞龙掌血根皮油中鉴定出了41种化合物, 其中烯烃类化合物占40.67%、醇类成分占22.21%、香豆素类成分占16.11%、酮类成分占13.91%、酰胺类成分占3.93%、酯类成分占3.17%, 含量最多的是 cubebol 类异构体。结论: 飞龙掌血根皮油中化学成分基本上都属于双环脂环烃类。

[关键词] 飞龙掌血; 根皮油; 气相色谱 - 质谱法; 药物成分分析

[中图分类号] R927 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2019)02-0147-06

DOI:10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.02.005

GC-MS Analysis of Chemical Constituents of Root Bark Oil of *Toddalia asiatica*

ZHOU Wei¹, LUO Cairong¹, LIU Gang², DONG Weiqiang³, ZHANG Xiaoyan², SHEN Xiangchun²

(1. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou, China; 2. School of Basic Medical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou, China; 3. R&D center, Zhejiang Keqiang Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Ningbo 315699, Zhejiang, China)

[Abstract] Objective: To analyze chemical constituents of the root bark oil of *Toddalia asiatica* by applying GC-MS technique. **Methods:** The root bark extract of *Toddalia asiatica* was extracted by 95% ethanol merceration, liposoluble oil of root bark part of *Toddalia asiatica* was finally obtained by further petroleum ether extraction of the previously-prepared root bark extract. The qualitative and quantitative analysis of the root bark oil of *Toddalia asiatica* was carried out by means of GC-MS technique. **Results:** There were 41 compounds extracted from root bark oil of *Toddalia asiatica*, in which alkenes accounted for 40.67%, alcohols accounted for 22.21%, coumarins accounted for 16.11%, ketones accounted for 13.91%, amides accounted for 3.93%, and esters accounted for 3.17%. The single compound with the highest content in root bark oil of *Toddalia asiatica* is the cubebol isomer. **Conclusion:** The chemical constituents of root bark oil of *Toddalia asiatica* were mainly bicyclic aliphatic hydrocarbons.

[Key words] *Toddalia asiatica*; root bark oil; gas chromatography-mass spectrometry; medicine component analysis

飞龙掌血为芸香科植物飞龙掌血(*Toddalia asiatica*(L.)Lam.)的根或根皮, 主要分布于贵州、

广西等地, 具有散瘀止血、祛风止痛等功效, 临床上常用于治疗风湿疼痛、跌打损伤、伤口出血等疾

*[基金项目] 国家自然科学基金(81360681); 贵州省特色天然药物资源活性研究科技创新团队[(2015)4025]; 贵州省高等学校科技创新人才团队[(2014)31]; 贵州省高层次创新型人才“百层次”人才项目[(2015)4029]; 贵州省高层次创新型人才“千层次”人才项目(2016-2018)

** 通信作者 E-mail: drxyzhang@126.com; shenxiangchun@126.com

网络出版时间:2019-02-28 网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190228.2130.005.html

患^[1-4]。本课题组前期围绕飞龙掌血根皮的化学成分与止血活性,开展了一系列的研究工作^[5-10],运用以活性为导向的分离纯化手段、液相高分辨质谱联用分析技术、体内外活性评价相结合,证实天然香豆素类化合物是飞龙掌血根皮部位的主要药效成分,还发现飞龙掌血根皮中含有大量油类。虽然迄今为止,已有飞龙掌血挥发油的研究报道^[11-13],但是未见来源于飞龙掌血根皮的脂溶性油类化学成分的研究。为了全面考察飞龙掌血根皮止血活性的物质基础,本课题组利用 GC-MS 分析技术针对飞龙掌血根皮油的化学成分进行研究。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

1.1.1 仪器 Agilent 7890B-7000C 气相色谱-三重四级杆质谱联用仪(美国 Agilent), Greatwall R-1001-VN 型旋转蒸发仪(郑州长城), Greatwall SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城), ZF-2 型紫外分析仪(上海安亭), SB-5200D 型超声波清洗器(宁波新芝)。

1.1.2 材料 95%乙醇、石油醚(60~90℃)、乙酸乙酯、正丁醇均为分析纯(上海国药),水为双蒸水(实验室自制)。飞龙掌血根皮药材采自贵州贵阳、都匀,经贵阳中医学院陈德媛教授、黔南民族师范学院郭治友教授鉴定为芸香科植物飞龙掌血 *Toddalia asiatica* 的干燥根皮,标本存放于贵州医科大学药学院中药民族药标本馆。

1.2 方法

1.2.1 飞龙掌血根皮油的提取 干燥的飞龙掌血根皮药材粗粉 35 kg,加 3 倍量 95%乙醇冷浸提取 9 次,每次 1 周,合并冷浸提取液,减压回收溶媒,浓缩至无醇味浸膏。浸膏按 1:3 加水溶解分散,依次用石油醚(60~90℃)、乙酸乙酯、正丁醇萃取。合并石油醚萃取液,经过减压回收石油醚至无溶剂味,得到棕褐色浸膏油溶液;吸取其上层油作为此次研究的飞龙掌血根皮油贮存在茶色玻璃瓶内常温保存。

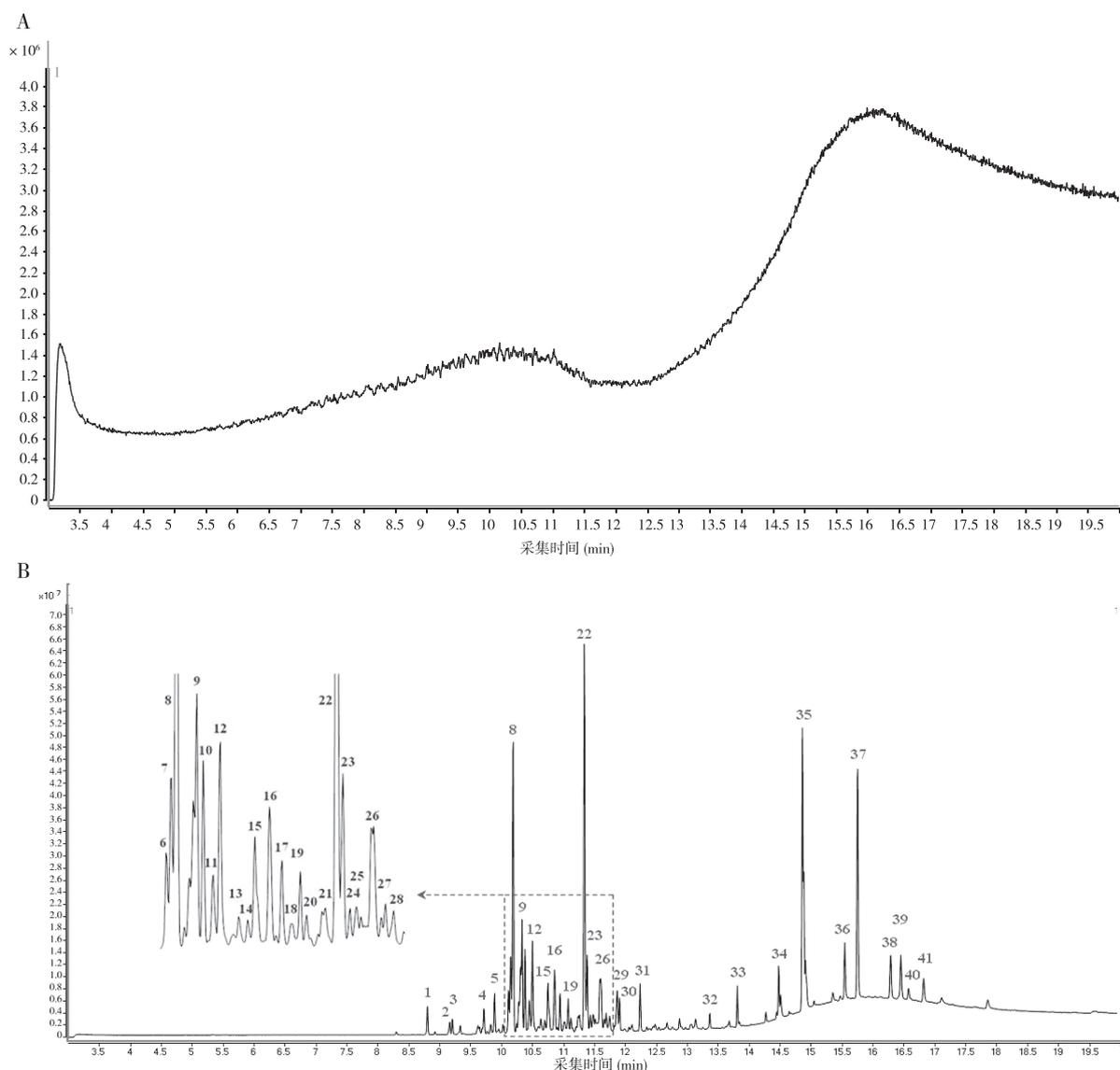
1.2.2 飞龙掌血根皮油的成分分析 气相色谱条件:HP-5MS UI(30 m×0.25 mm,0.25 μm)气相色谱柱,He 作为载气,柱流量 1 mL/min,分流比 200:1,进样口温度 250℃,传输线温度 280℃,进样体积 1 μL。程序升温:80℃初始柱温保持 3 min,

15℃/min 升至 260℃,保持 5 min。GC-MS 条件:EI 电离方式,离子源温度 230℃,四级杆温度 150℃/150℃,溶剂延迟 3 min,扫描模式 MS1 Scan,循环时间 400 ms,扫描范围 45~450 m/z,色谱信号采集时间 3.0~20.0 min。NIST08 谱库匹配未知峰,定性分析。采用峰面积归一化法计算各成分的相对百分含量。

1.2.3 溶液配制 空白溶剂对照样品:以乙酸乙酯作为空白对照,所得气相色谱图自动扣除乙酸乙酯色谱峰。飞龙掌血根皮油待测样品:精密移取 20 μL 飞龙掌血根皮油样品置于 EP 管中,精密加入 980 μL 乙酸乙酯,涡旋混匀,待进样分析。

2 结果

按上述 GC-MS 条件对飞龙掌血根皮油进行分析,得到飞龙掌血根皮油的总离子流图见图 1。对总离子流图中的各峰经质谱扫描后得到质谱图,并将所得色谱峰的质谱信息经安捷伦 GC-MS 化学工作站数据处理系统,在质谱库(NIST08)中进行检索,并结合人工解析,鉴定挥发油中的化学成分。要求匹配度>80%,以峰面积归一法测得挥发性物质各组分相对含量。飞龙掌血根皮油中主要含有:(1)19种烯炔类化合物,分别是1~14,16,19,21,26和29号,总含量达到40.67%;(2)10种醇类化合物,分别是15,17,18,20,22,23,25,27,28和30号,总含量为22.21%;(3)2种香豆素类化合物,分别是35和36号,含量占16.11%;(4)5种酮类化合物,分别是24,31,37,40和41号,含量占13.91%;(5)2种酰胺类化合物,分别是38和39号,含量占3.93%;(6)3种酯类化合物分别是32~34号,含量占3.17%。从飞龙掌血根皮油中总共鉴定出了41种脂溶性天然化合物,其中含量最多的依次是 cubebol 类异构体(14.05%,22号)、pimpinellin(13.92%,35号)、β-copaene 类异构体(10.28%,8号)、5,8-dimethoxy-2,3,10,10a-tetrahydro-1H,4aH-phenanthrene-4,9-dione(10.23%,37号),见表1。飞龙掌血根皮油中的化学成分结构见图2,飞龙掌血根皮油化合物基本上都属于双环脂环烃类,普遍存在分子式、结构式都一样的多个同分异构体,比如 cubebol、6'-formyl-2,3,4'-trimethoxy-1,1'-biphenyl 等。



注:A 为空白溶剂乙酸乙酯的总离子流色谱,B 为飞龙掌血根皮油的总离子流色谱图;B 中 1~41 为检测到的化合物

图 1 飞龙掌血根皮油的 GC-MS 分析色谱

Fig. 1 GC-MS chromatogram of root bark oil of *Toddalia asiatica*

表 1 GC-MS 分析鉴定出的飞龙掌血根皮油的 41 种化学成分

Tab. 1 Chemical constituents in root bark oil of *Toddalia asiatica* identified by GC-MS

序号	保留时间 (min)	分子式	分子量	化合物名称	CAS 号	相对百分 含量(%)
1	8.805	C ₁₅ H ₂₄	204.3511	δ-elemen	20307-84-0	1.15
2	9.124	C ₁₅ H ₂₄	204.3511	ylangene	14912-44-8	0.52
3	9.202	C ₁₅ H ₂₄	204.3511	α-copaene	1000360-33-0	0.51
4	9.711	C ₁₅ H ₂₄	204.3511	β-copaene	18252-44-3	1.11
5	9.887	C ₁₅ H ₂₄	204.3511	1-isopropyl-7-methyl-4-methylene-1,2,3,4,4a,5,6, 8a-octahydronaphthalene	30021-74-0	1.46
6	10.096	C ₁₅ H ₂₄	204.3511	an isomer of 1-isopropyl-7-methyl-4-methylene-1,2, 3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene	30021-74-0	1.12
7	10.128	C ₁₅ H ₂₄	204.3511	α-muurolene	31983-22-9	1.59
8	10.187	C ₁₅ H ₂₄	204.3511	an isomer of β-copaene	18252-44-3	10.28

续表 1

序号	保留时间 (min)	分子式	分子量	化合物名称	CAS 号	相对百分 含量(%)
9	10.330	C ₁₅ H ₂₄	204.351 1	an isomer of 1-isopropyl-7-methyl-4-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene	30021-74-0	6.16
10	10.376	C ₁₅ H ₂₄	204.351 1	(1S-cis)-1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)naphthalene	483-76-1	2.42
11	10.448	C ₁₅ H ₂₄	204.351 1	an isomer of 1-isopropyl-7-methyl-4-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene	30021-74-0	0.93
12	10.500	C ₁₅ H ₂₄	204.351 1	an isomer of (1S-cis)-1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)naphthalene	483-76-1	3.22
13	10.630	C ₁₅ H ₂₄	204.351 1	1-isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-naphthalene	17627-24-6	0.27
14	10.696	C ₁₅ H ₂₀	200.319 3	α-calacorene	21391-99-1	0.25
15	10.748	C ₁₅ H ₂₆ O	222.366 3	cubebol	23445-02-5	2.03
16	10.852	C ₁₅ H ₂₄	204.351 1	[1R-(1α,3aβ,4α,7β)]-1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-azulene	22567-17-5	2.68
17	10.943	C ₁₅ H ₂₆ O	222.366 3	an isomer of cubebol	23445-02-5	1.22
18	11.009	C ₁₅ H ₂₄ O	220.350 4	isopathulenol	88395-46-4	0.45
19	11.074	C ₁₅ H ₂₄	204.351 1	an isomer of [1R-(1α,3aβ,4α,7β)]-1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-azulene	22567-17-5	1.04
20	11.120	C ₁₅ H ₂₆ O	222.366 3	an isomer of cubebol	23445-02-5	0.37
21	11.256	C ₁₅ H ₂₄	204.351 1	β-guaiene	88-84-6	1.11
22	11.335	C ₁₅ H ₂₆ O	222.366 3	an isomer of cubebol	23445-02-5	14.05
23	11.380	C ₁₅ H ₂₄ O	220.350 4	an isomer of isopathulenol	88395-46-4	2.00
24	11.413	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	222.323 3	6-(3-acetyl-2-methyl-1-cyclopropen-1-yl)-6-methyl-2-heptanone	65868-86-2	0.37
25	11.478	C ₁₅ H ₂₆ O	222.366 3	t-muurolol	19912-62-0	0.48
26	11.602	C ₁₅ H ₂₄	204.351 1	1R,4S,7S,11R-2,2,4,8-Tetramethyltricyclo[5.3.1.0(4,11)]undec-8-ene	1000140-07-6	3.17
27	11.687	C ₁₅ H ₂₂ O	218.334 6	(1R,4S)-4-Isopropyl-1,6-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-ol	123931-36-2	0.32
28	11.726	C ₁₅ H ₂₂ O	218.334 6	an isomer of (1R,4S)-4-Isopropyl-1,6-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-ol	123931-36-2	0.46
29	11.863	C ₁₅ H ₂₄	204.351 1	an isomer of β-guaiene	88-84-6	1.68
30	11.902	C ₁₅ H ₂₆ O	222.366 3	an isomer of T-muurolol	19912-62-0	0.83
31	12.235	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	238.365 7	oplopanone	1911-78-0	1.74
32	13.363	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.450 6	hexadecanoic acid methyl ester	112-39-0	0.48
33	13.806	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.477 2	hexadecanoic acid ethyl ester	628-97-7	1.25
34	14.471	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294.472 1	methyl 9-cis,11-trans-octadecadienoate	1000336-44-0	1.44
35	14.856	C ₁₃ H ₁₀ O ₅	246.215 5	pimpinellin	131-12-4	13.92
36	15.541	C ₁₃ H ₁₀ O ₅	246.215 5	isopimpinellin	482-27-9	2.19
37	15.750	C ₁₆ H ₁₈ O ₄	274.311 7	5,8-dimethoxy-2,3,10,10a-tetrahydro-1H,4aH-phenanthrene-4,9-dione	93240-99-4	10.23
38	16.285	C ₁₇ H ₂₆ N ₂ O	274.401 2	N-(1-ethyl-2,2,4-trimethyl-3,4-dihydroquinolin-7-yl) propanamide	63134-09-8	1.99
39	16.448	C ₁₇ H ₂₆ N ₂ O	274.401 2	an isomer of N-(1-ethyl-2,2,4-trimethyl-3,4-dihydroquinolin-7-yl) propanamide	63134-09-8	1.94
40	16.571	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	272.295 8	6'-formyl-2,3,4'-trimethoxy-1,1'-biphenyl	145068-43-5	0.47
41	16.813	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	272.295 8	an isomer of 6'-formyl-2,3,4'-trimethoxy-1,1'-biphenyl	145068-43-5	1.10

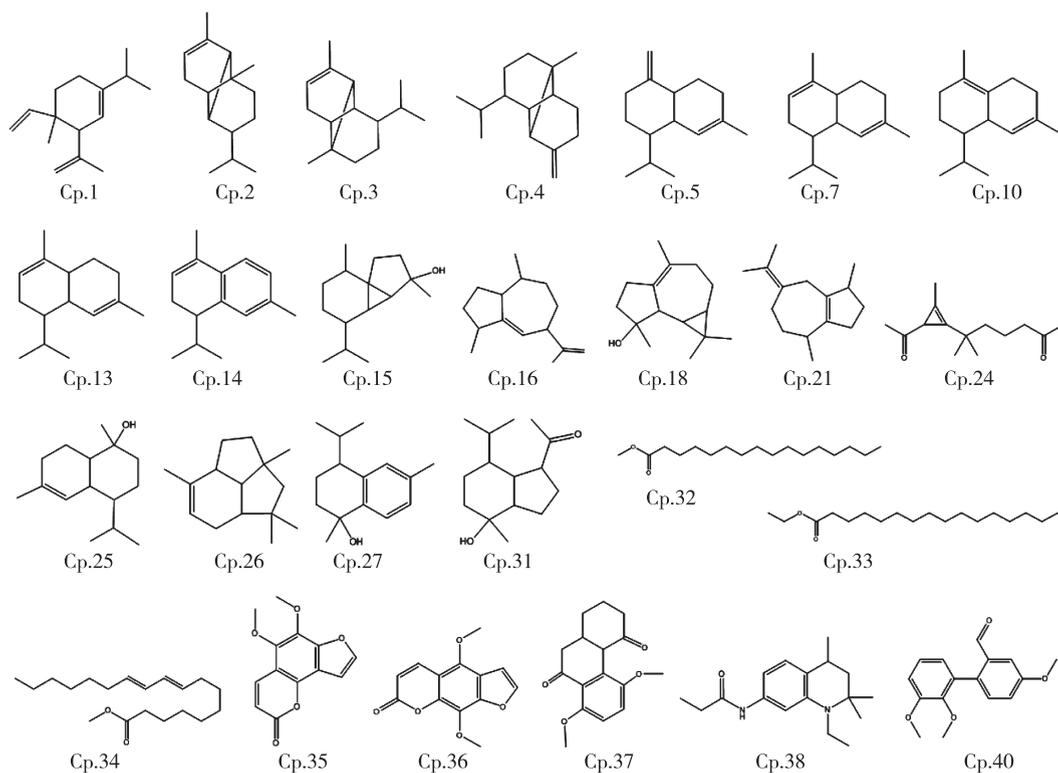


图 2 GC-MS 鉴定出的飞龙掌血根皮油中化学成分的结构

Fig. 2 Structure of chemical constituents in root bark oil of *Toddalia asiatica* identified by GC-MS

3 讨论

飞龙掌血根皮是我国西南地区民间传统外治治疗中药,其根皮一直作为药用部位用药安全、有效。本课题组围绕飞龙掌血根皮开展了系统的药效物质基础研究。鉴于飞龙掌血根皮含有较丰富的脂溶性油,常规分离策略并不适用于该油类成分的基础研究,最终选择 GC-MS 方法用于此次飞龙掌血根皮油的定性定量分析中。本研究发现飞龙掌血根皮含有大量 $C_{15}H_{24}$ 系列化合物及其衍生物,大部分都属于双环脂环烃类,这些结果跟现有文献报道一致^[11-13],提示飞龙掌血中油类成分主要存在于该植物的根皮中,也部分分布于叶中,该药材来源植物的非根皮部位的药用价值值得后续进一步研究。

飞龙掌血根皮油的提取方法不同于一般天然药物挥发油的制备方法,因此在飞龙掌血根皮油 GC-MS 色谱图的 0~8 min 保留时间里,除了扣去空白溶剂色谱峰外(0~3 min),没有其他色谱峰的存在。制备得到的飞龙掌血根皮油能够代表、并合

理解释飞龙掌血根中油类成分,也是对现有飞龙掌血挥发油研究结果的最大补充、完善。

本研究从飞龙掌血根皮油中发现了 pimpinellin 及 isopimpinellin,这与课题组前期在飞龙掌血根皮乙酸乙酯部位、飞龙掌血根皮正丁醇部位都分离得到上述两个化合物相吻合,提示 pimpinellin 及 isopimpinellin 在飞龙掌血根皮中含量比较突出,可以合理解释飞龙掌血根皮在临床上治疗风湿疼痛、跌打损伤、伤口出血等的物质基础^[8,14]。本研究结果为飞龙掌血根皮油的鉴别和开发应用提供必要理论依据。

4 参考文献

- [1] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003: 63.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 《中华本草》[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 965-967.
- [3] 张璐, 杨常泉, 诸燕飞, 等. 飞龙掌血根的香豆素类成分研究[J]. 中药材, 2017, 40(10): 2335-2338.
- [4] 田培燕, 余跃生, 邓祖国, 等. 苗药飞龙掌血抗大鼠急性痛风性关节炎的作用[J]. 中国老年学杂志, 2018,

- 38(12): 3019-3022.
- [5] 郝小燕,曹晓红,梁妍,等. 高效液相色谱法测定飞龙掌血中异茴芹香豆素含量[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(8): 768-769.
- [6] 孙文博,杨洲,梁妍,等. 飞龙掌血根皮的正丁醇部位化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2018, 53(13): 1052-1056.
- [7] 孙文博. 飞龙掌血根皮止血活性成分及作用机制的研究[D]. 贵阳:贵州医科大学, 2018.
- [8] 周威,孙文博,曾庆芳,等. 飞龙掌血的药学研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(8): 3515-3522.
- [9] ZHANG X Y, SUN W B, YANG Z, et al. Hemostatic chemical constituents from natural medicine *Toddalia asiatica* root bark by LC-ESI Q-TOF MS^E [J]. *Chemistry Central Journal*, 2017, 11: 55-60.
- [10] 赵美雪,张晓燕,刘绍欢,等. 飞龙掌血根皮的生药学鉴别与止血活性考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(24): 32-36.
- [11] 叶绘晟,黄敏,蒙田秀,等. 不同产地飞龙掌血挥发油化学成分分析[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26: 38-41.
- [12] 刘志刚,李莹,朱芳芳,等. 飞龙掌血挥发性化学成分的 GC-MS 分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(11): 150-151.
- [13] 刘志刚,李莹,朱芳芳,等. GC-MS 法分析贵州产飞龙掌血叶中挥发油成分[J]. 贵阳学院学报(自然科学版), 2011, 6(2): 28-30+61.
- [14] 房士明,方刚,刘睿,等. 飞龙掌血化学成分的研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(2): 239-248.
(2018-12-09 收稿, 2019-02-14 修回)
中文编辑: 周 凌; 英文编辑: 雷 妍

(上接第 146 页)

- [18] FAUBEL S, LEWIS E C, REZNIKOV L, et al. Cisplatin-induced acute renal failure is associated with an increase in the cytokines interleukin (IL)-1beta, IL-18, IL-6, and neutrophil infiltration in the kidney [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 322(1): 8-15.
- [19] NIMMERJAHN F, RAVETCH J V. Fc gamma receptors: old friends and new family members [J]. *Immunity*, 2006, 24(1): 19-28.
- [20] ZHOU L, ZHUO H, OUYANG H, et al. Glycoprotein non-metastatic melanoma protein b (Gpmb) is highly expressed in macrophages of acute injured kidney and promotes M2 macrophages polarization [J]. *Cell Immunol*, 2017, 316: 53-60.
- [21] HALLER H, BERTRAM A, NADROWITZ F, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 and the kidney [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2016, 25(1): 42-49.
- [22] LU L H, OH D J, DURSUN B, et al. Increased macrophage infiltration and fractalkine expression in cisplatin-induced acute renal failure in mice [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 324(1): 111-117.
- [23] MAURER M, VON STEBUT E. Macrophage inflammatory protein-1 [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(10): 1882-1886.
- [24] PAUL J, MAGLIONE J X, CASADEVALL A, et al. Fc gamma receptors regulate immune activation and susceptibility during mycobacterium tuberculosis infection [J]. *The Journal of Immunology*, 2015, 56(7): 13-17.
(2018-11-15 收稿, 2019-01-19 修回)
中文编辑: 周 凌; 英文编辑: 张启芳