

# 蒲桃茎超临界CO<sub>2</sub>萃取物的GC-MS分析

林大都<sup>1,2\*</sup>, 刘嘉炜<sup>1#</sup>, 李武国<sup>1</sup>, 成金乐<sup>2</sup>, 陈蔚文<sup>1</sup>(1.广州中医药大学中药资源科学与工程研究中心/岭南中药资源教育部重点实验室, 广州 510006; 2.中山市中智药业集团有限公司, 广东中山 528437)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)31-2946-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.31.24

**摘要** 目的:分析蒲桃茎的挥发性成分。方法:采用超临界CO<sub>2</sub>萃取技术萃取蒲桃茎,用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对萃取物进行分析:色谱柱为TG WAXMS石英毛细管(30 m×0.25 mm×0.25 μm),程序升温,进样口温度为230℃,载气为高纯氦气(99.99%),载气流速为1 ml/min,分流比为30:1,离子源温度为200℃,接口温度为230℃,电离方式为电子轰击源,电子能量为70 eV,质量扫描范围为35~659 amu。结果:共分离出36个化学组分峰,鉴定了其中22个化合物,质量分数较高的成分有棕榈酸、亚油酸、正丁烯基苯酚等。结论:该方法能有效分离和鉴定蒲桃茎超临界CO<sub>2</sub>萃取物的挥发性成分,为其药效物质基础研究提供参考数据。

**关键词** 蒲桃;茎;挥发性成分;超临界CO<sub>2</sub>萃取技术;气相色谱-质谱联用技术

## Analysis of Supercritical CO<sub>2</sub> Fluid Extraction from the Stem of *Syzygium jambos* by GC-MS

LIN Da-du<sup>1,2</sup>, LIU Jia-wei<sup>1</sup>, LI Wu-guo<sup>1</sup>, CHENG Jin-le<sup>2</sup>, CHEN Wei-wen<sup>1</sup>(1.Research Centre of Medicinal Plant Resource Science and Engineering, Guangzhou University of TCM/Key Lab of Lingnan TCM Resource, Ministry of Education, Guangzhou 510006, China; 2. Zhongzhi Pharmaceutical Company Group of Zhongshan City, Guangdong Zhongshan 528437, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To analyze the volatile oil from the stem of *Syzygium jambos*. METHODS: Supercritical CO<sub>2</sub> fluid extraction (SFE-CO<sub>2</sub>) was used to extract volatile oil from the stem of *S. jambos*. The volatile oil was separated and determined by GC-MS method. The detection condition was as follows: TG WAXMS quartz capillary (30 m×0.25 mm×0.25 μm) column, by temperature programming, injector temperature of 230℃, high-purity helium (99.99%) as carrier gas, flow rate of 1 ml/min, split ratio of 30:1, ion source temperature of 200℃, interface temperature of 230℃, ionization mode: EI, electron energy of 70 eV, mass scan range of 35-659 amu. RESULTS: 36 subfractions were separated and 22 compounds were identified from the stem of *S. jambos*. The main constituents were hexadecanoic acid, linoleic acid and n-butylidenephthalide. CONCLUSIONS: The volatile oil of SFE-CO<sub>2</sub> fluid extraction is separated and identified effectively from the stem of *S. jambos* by GC-MS method. The results have provided reference for the study of effective components of this plant.

**KEY WORDS** *Syzygium jambos*; Stem; Volatile oil; SFE-CO<sub>2</sub>; GC-MS

因熊果苷在化学结构上属于苷类化合物,极性较大,易溶于水,本试验曾选取甲醇-水(40:60, V/V)作为流动相,但出峰太快,因此选取甲醇-水(70:30, V/V)作为流动相,同时降低流速为0.8 ml/min,即可满足试验要求。

目前,文献报道的熊果苷含量测定方法有HPLC法<sup>[5-6]</sup>、HPLC-串联质谱(MS/MS)法<sup>[7-8]</sup>、毛细管电泳法安培法<sup>[9]</sup>,但后两种方法由于受到仪器条件的限制并不常用。本试验选用HPLC法测定熊果苷乳膏中熊果苷的含量,方法简便、准确、精密度高、重复性好。本方法的建立可为熊果苷乳膏的下一步临床药效研究提供质量保证,同时可为熊果苷制剂新剂型的研发提供一定的理论依据和实践经验。

### 参考文献

[1] 吴品茹,徐慧,陈向东,等.熊果苷和甘草黄酮对B16黑色素瘤细胞株黑素合成的影响[J].组织工程与重建外科杂志,2008,4(5):279.

- [2] 雷铁池,朱文元,夏明玉.甘草酸、熊果苷及氢醌对小鼠黑色素瘤细胞黑素生成影响的比较研究[J].临床皮肤科杂志,2000,29(2):69.
- [3] 王佩,赖瑛,吴锡铭.熊果苷抗炎作用的研究[J].中华中医药学刊,2008,26(9):1933.
- [4] 董钦,张春晶,周宏博,等.熊果苷拮抗H2O损伤的研究[J].哈尔滨医科大学学报,2005,8(2):241.
- [5] 林彩,刘松青,贺红军,等.复方维生素E霜中熊果苷和维生素E的含量测定[J].中国药业,2010,19(9):29.
- [6] 刘敏,王晓军,刘力,等.厚叶岩白菜组织培养再生苗中熊果苷测定[J].中成药,2013,35(4):800.
- [7] 任艳平,曹亮,常路,等.液相色谱-质谱联用法同时测定岩白菜中熊果苷等9种成分的含量[J].中国药学杂志,2013,48(6):477.
- [8] 孔祥虹,何强,乐爱山,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定浓缩苹果汁中的熊果苷[J].色谱,2010,28(6):632.
- [9] 陈赞光,张孔,莫金垣,等.毛细管电泳法安培法测定鸡矢藤中熊果苷的含量[J].分析化学,2002,30(7):866.

(收稿日期:2013-01-26 修回日期:2013-06-07)

\* 硕士研究生。研究方向:天然药物化学。电话:020-39358547。  
E-mail:342139823@qq.com

# 通信作者:副研究员。研究方向:生物有机化学和天然药物化学。电话:020-39358547。E-mail:jiawei.liu@ymail.com

岭南中草药蒲桃 *Syzygium jambos* (L.) Alston 为桃金娘科蒲桃属常绿乔木<sup>[1]</sup>, 收载于《广东省中药材标准》(第一册)<sup>[2]</sup>, 其主要药用部位是干燥茎。蒲桃茎的功效为温中散寒、降逆止呕、温肺止咳, 用于治疗胃寒呃逆、肺虚寒咳等证。目前, 关于蒲桃茎现代药理作用和药效物质基础研究的文献报道非常有限, 仅有关于其抗菌作用<sup>[3-4]</sup>和挥发油成分<sup>[5]</sup>的报道。

超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术 (Supercritical fluid extraction, SFE-CO<sub>2</sub>) 是一种新兴的提取分离技术, 在中药成分分析应用中有着很好的发展前景, 尤其适合于低极性成分的提取<sup>[6]</sup>。与传统的萃取方法如减压蒸馏、水蒸气蒸馏和有机溶剂萃取等相比, 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术具有无溶剂残留、无热分解破坏、对挥发性和低极性小分子化合物的提取效率较高等优点, 因而近年来迅速发展成为一种新型的现代“绿色分离”技术<sup>[7]</sup>。为了尝试从不同途径诠释蒲桃茎的药效物质基础, 本试验利用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术对蒲桃茎粉末进行萃取, 并采用气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术对其进行分析, 一共鉴定了 22 个化合物。

## 1 材料

### 1.1 仪器

HA121-50-05 型超临界流体萃取仪 (江苏华安科研仪器有限公司); Voyager 型 GC-MS 联用仪 (美国 Finnigan 公司)。

### 1.2 试剂

CO<sub>2</sub> (纯度: 99.9%)、氦气 (纯度: 99.99%)、95% 乙醇、无水硫酸钠、乙醚及其他试剂均为分析纯。

### 1.3 药材

样品药材于 2011 年 9 月采自广东云浮市郁南县, 树龄约为 20 年, 经中国科学院华南植物园叶华谷教授鉴定为桃金娘科蒲桃属植物蒲桃 *S. jambos* (L.) Alston 的干燥茎。

## 2 方法

### 2.1 蒲桃茎超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物的提取

将蒲桃茎粉碎后过 50 目筛, 取一定量投入至超临界流体萃取仪的萃取釜中, 萃取压力为 15 MPa, 萃取温度为 45 °C, 加夹带剂 95% 乙醇, 萃取时间为 2 h。其中, 分离釜 I 的温度为 50 °C, 压力为 7.3 MPa; 分离釜 II 的温度为 40 °C, 压力为 7.2 MPa。

### 2.2 样品处理

超临界萃取物经 40 °C 旋转蒸发仪回收夹带剂乙醇, 得浸膏。取适量浸膏, 用乙醚制备成质量浓度为 50 mg/ml 的溶液, 加适量无水硫酸钠脱水干燥, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取滤液, 用于 GC-MS 分析检测。

### 2.3 GC-MS 分析条件

2.3.1 GC 条件 色谱柱: TG WAXMS 石英毛细管 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 程序升温: 初始温度为 50 °C, 保持 3 min, 以 10 °C/min 升至 260 °C, 保持 5 min; 进样口温度: 230 °C; 载气: 高纯氦气 (99.99%); 载气流速: 1 ml/min; 恒流模式; 分流进样; 分流比: 30:1; 进样量: 1 μl。

2.3.2 MS 条件 离子源温度: 200 °C; 接口温度: 230 °C; 电离方式: 电子轰击 (EI) 源; 电子轰击能量: 70 eV; 检测模式: 全谱图扫描 (Scan); 扫描速度: 1 975.50 amu/s; 质量扫描范围: 35 ~ 659 amu; 溶剂延迟时间: 3 min。

2.3.3 挥发性成分质量分数的计算 各化学成分通过标准 MS 图库 NIST Search 2.0 进行检索匹配, 同时结合查对文献数据<sup>[8]</sup>, 人工解析 MS 图谱, 鉴定并确证化合物的结构; 采用峰面

积归一化法计算各化学成分的质量分数。

## 3 结果

在上述分析条件下, 蒲桃茎粉末 1 kg 经超临界 CO<sub>2</sub> 萃取, 分离釜 I 得到浸膏 2.36 g, 分离釜 II 得到浸膏 0.65 g, 总得率为 0.3%; 然后对分离釜 I 和分离釜 II 得到的萃取物进行 GC-MS 分析, 得 GC 总离子流图 (图 1)。蒲桃茎超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物中, 从分离釜 I 分离检测出 25 个峰, 从分离釜 II 分离检测出 33 个峰, 合并后总共有 36 个化学组分峰, 鉴定并确证了 22 个化合物, 尚有 14 个组分峰的化合物结构未能解析和确证。蒲桃茎超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物的 GC-MS 分析结果见表 1 (表中“-”表示未检出)。

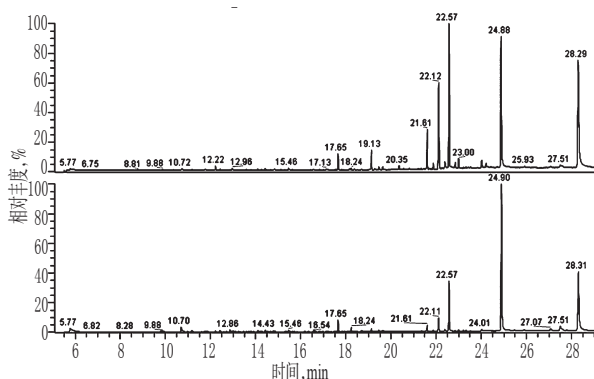


图 1 蒲桃茎超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物的总离子流图

Fig 1 TIC of SFE-CO<sub>2</sub> fluid extraction from the stems of *S. jambos*

由表 1 可见, 蒲桃茎超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物分离釜 I 所含主要化学成分为棕榈酸 (n-hexadecanoic acid, 41.9%)、亚油酸 (linoleic acid, 27.3%)、正丁烯基苯酐 (n-butylidene phthalide, 4.0%)、(E)-9-十八碳烯酸 [(E)-9-octadecenoic acid, 2.8%]、肉桂醛 (cinnamaldehyde, 2.1%), 这几种化学成分占所检测化合物总量的 78.1%; 分离釜 II 所含主要化学成分为亚油酸 (30.0%)、棕榈酸 (20.9%)、正丁烯基苯酐 (15.7%)、9, 12-十八碳二烯酸甲酯 [9, 12-octadecadienoic acid (Z, Z)-, methyl ester, 4.0%], 这几种化学成分占所检测化合物总量的 70.6%。

## 4 讨论

蒲桃作为一种岭南地区药用植物, 在民间中医药实践中使用广泛, 历史悠久, 但目前对蒲桃的药效物质基础研究报道非常有限。最近, 笔者以植物化学研究方法分别从蒲桃茎乙酸乙酯和醇提取物中分离鉴定出一组三萜类化合物 (待发表实验数据), 同时发现该药材化学成分复杂、结构相似, 难以纯化获得单体进行结构鉴定。因此, 笔者在植物化学研究基础之上利用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术萃取蒲桃茎粉末, 然后利用 GC-MS 联用技术分离和鉴定萃取物的化学成分。试验结果表明, 从蒲桃茎超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物中共分离检测到 36 个化学组分峰, 鉴定并确证了 22 个化合物, 其中正丁烯基苯酐、棕榈酸和亚油酸等为主要成分。刘艳清<sup>[9]</sup>用水蒸气蒸馏法萃取蒲桃茎挥发油, 然后用 GC-MS 联用技术分离鉴定出棕榈酸、亚油酸、柠檬烯和丁香烯醇等化合物, 其中棕榈酸和亚油酸是两种不同萃取分离方法获得的共有成分。与传统植物化学方法分离鉴定的成分相比, 蒲桃茎水蒸气蒸馏和超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物 GC-MS 联用技术分析有利于发现和鉴定更多挥发性、低极性的小分子化合物, 较全面地反映蒲桃茎药材中的化学成分, 阐

表1 蒲桃茎超临界CO<sub>2</sub>萃取物的GC-MS分析结果Tab 1 GC-MS analysis of SFE-CO<sub>2</sub> extraction from the stems of *S. jambos*

峰号	分离釜I		分离釜II		化合物名称	分子式	相似度, %
	保留时间, min	质量分数, %	保留时间, min	质量分数, %			
1	10.7	1.5	10.7	0.4	乙酸 Acetic acid	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	87.5
2	11.2	0.4	11.2	0.2	胡椒烯 Copaene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	89.9
3	12.2	0.2	12.2	0.5	2,3-丁二醇 2,3-Butanediol	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	91.6
4	12.4	0.3	12.4	0.2	丙二醇 Propylene glycol	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	90.1
5	12.9	0.4	-	-	乙二醇 1,2-Ethandiol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	89.0
6	14.4	0.3	14.4	0.2	萘 Naphthalene	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	91.2
7	15.5	0.3	15.5	0.3	正己酸 Hexanoic acid	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	91.2
8	17.7	2.1	17.7	1.8	肉桂醛 Cinnamaldehyde	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O	91.3
9	18.2	0.7	-	-	四乙二醇二甲醚 Tetraethylene glycol dimethyl ether	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>	92.5
10	19.1	0.6	19.1	1.8	十六酸甲酯 Hexadecanoic acid methyl ester	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	94.2
11	19.5	0.2	19.5	0.3	十六酸乙酯 Hexadecanoic acid ethyl ester	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	86.1
12	21.6	1.0	21.6	4.0	9,12-十八碳二烯酸甲酯 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	91.6
13	21.9	0.3	21.9	0.7	9,12-十八碳二烯酸乙酯 9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	89.8
14	22.1	4.0	22.1	15.7	正丁烯基苯酞 n-Butylideneophthalide	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	80.9
15	22.4	0.5	22.4	1.0	异香茅醛 Isovanillin	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	92.9
16	-	-	22.9	0.7	4-庚基苯酚 4-Heptyl-phenol	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O	77.3
17	24.0	0.5	24.0	1.3	十五酸 Pentadecanoic acid	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	90.6
18	-	-	24.2	0.5	1,2-二甲氧基-4-丙苯 1,2-Dimethoxy-4-n-propylbenzene	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	74.3
19	24.9	41.9	24.9	20.9	棕榈酸 n-Hexadecanoic acid	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	89.8
20	27.1	1.0	-	-	硬脂酸 Octadecanoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	86.2
21	27.5	2.8	-	-	(E)-9-十八碳烯酸 (E)-9-Octadecenoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	86.3
22	28.3	27.3	28.3	30.0	亚油酸 Linoleic acid	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	88.8

明蒲桃茎的药效物质基础。

蒲桃茎超临界CO<sub>2</sub>萃取物中质量分数较高的正丁烯基苯酞,在分离釜I占4.0%,在分离釜II占15.7%,该成分也是当归和川芎的主要活性成分之一<sup>[9-10]</sup>。新近有报道证实,该化合物能够激活干细胞Jak2/Stat3信号,促进胚胎干细胞和诱导性全能干细胞(iPS cells)的增殖<sup>[11]</sup>,同时还具有抑制血管生成、抑制肿瘤细胞生长、保护血管、松弛平滑肌、抑制血小板聚集、抗心绞痛和抗动脉粥样硬化等药理作用<sup>[9]</sup>。文献报道结果提示正丁烯基苯酞可能为蒲桃茎的药效物质基础之一,值得进一步探索。

综上所述,蒲桃茎超临界CO<sub>2</sub>萃取物含有较丰富的低极性小分子化合物。本试验结果可为蒲桃茎药材药效物质基础的研究和质量标准的建立提供基础参考数据。

### 参考文献

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会.中国植物志:第五十三卷:第一分册[M].北京:科学出版社,1984:68.
- [2] 广东省食品药品监督管理局.广东省中药材标准:第一册[M].广州:广东科技出版社,2004:200.
- [3] Djipa CD, Delmee M, Quetin-Leclercq J. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) alston (Myrtaceae)[J]. *J Ethnopharmacol*, 2000, 71(1/2):307.
- [4] Murugan S, Devi P, Parameswari NK, et al. Antimicrobi-

al activity of *Syzygium jambos* against selected human pathogens[J]. *Int J Pharm Sci*, 2011, 3(2):44.

- [5] 刘艳清.蒲桃茎、叶和花挥发油化学成分的气相色谱-质谱分析[J].*精细化工*, 2008, 25(3):243.
- [6] 李平华,赵汉臣,闫荟.CO<sub>2</sub>超临界流体萃取法萃取乳香的工艺研究[J].*中国药房*, 2007, 18(33):2584.
- [7] 张俊,蒋桂华,敬小莉,等.超临界流体萃取技术在天然药物提取中的应用[J].*时珍国医国药*, 2011, 11(8):2020.
- [8] 丛浦珠,李笋玉.天然有机质谱学[M].北京:中国医药科技出版社,2003:1329.
- [9] 萨日娜,王亚丽,朱书强,等.不同生长期当归挥发油中Z-藁本内酯和正丁烯基苯酞含量的动态变化研究[J].*中药材*, 2012, 35(11):1738.
- [10] 侯晓虹,李岩,高艳,等.RP-HPLC法测定川芎CO<sub>2</sub>超临界流体萃取物中丁烯基苯酞的含量[J].*沈阳药科大学学报*, 2006, 23(12):788.
- [11] Liu SP, Harn HJ, Chien YJ, et al. n-Butylideneophthalide (BP) maintains stem cell pluripotency by activating Jak2/Stat3 pathway and increases the efficiency of iPS cells generation[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(9):e44024.

(收稿日期:2013-03-12 修回日期:2013-05-06)

《中国药房》杂志——RCCSE 中国核心学术期刊, 欢迎投稿、订阅