

[成分分析]

## 苗药双肾草挥发油化学成分研究

刘育辰<sup>1,2</sup>, 杨叶昆<sup>1</sup>, 李忠荣<sup>1</sup>, 邱明华<sup>1\*</sup>, 赵立春<sup>1,2</sup>, 邱德文<sup>2</sup>

(1. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204;  
2. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002)

关键词: 双肾草; 挥发油; 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取; 水蒸气蒸馏; 气相色谱 质谱

摘要: 目的: 通过研究苗药双肾草挥发油的化学成分, 为苗药双肾草的开发利用提供理论依据。方法: 采用超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取法 (SFE-CO<sub>2</sub>) 和水蒸气蒸馏法 (SD) 从苗药双肾草中提取挥发油, 应用气相色谱 质谱联用技术 (GC-MS) 对其化学成分进行分析鉴定, 测定了各化合物的相对百分含量, 并对两种方法提取的挥发油进行比较。结果: 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取法从双肾草挥发油中获得了 32 种已知成分, 水蒸气蒸馏法获得 33 种已知成分, 前者得率是后者 3 倍。结论: 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取法萃取得率高, 提取时间短, 温度低, 挥发油中棕榈酸含量达 52%, 是水蒸气蒸馏法的两倍多, 另外还含有多种萜烯类的活性成分, 是提取双肾草挥发油的理想方法。

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-1528(2008)05-0712-04

## Chemical constituents for volatile oil of Miao ethnomedicine *Hem inium bulleyi* (Rolfe) Tang et Wang

LU Yu-chen<sup>1,2</sup>, YANG Ye-kun<sup>1</sup>, LI Zhong-rong<sup>1</sup>, QU Ming-hua<sup>1\*</sup>, ZHAO Li-chun<sup>1,2</sup>, QU De-wen<sup>2</sup>

(1. State Key laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; 2. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

**KEY WORDS:** *Hem inium bulleyi* (Rolfe) Tang et Wang; volatile oil; SFE-CO<sub>2</sub>; SD; GC-MS

**ABSTRACT: A M:** To Study the chemical constituents of volatile oil in *Hem inium bulleyi* (Rolfe) Tang et Wang, ethnic drug from Miao Nationality. **METHODS:** The volatile oil of *Hem inium bulleyi* was extracted by CO<sub>2</sub>-supercritical fluid extraction method and steam distillation method, and their chemical constituents were analyzed and identified by GC-MS. **RESULTS:** SFE-CO<sub>2</sub> extraction gained 32 known constituents and steam distillation 33 ones. Volatile oil yield by SFE-CO<sub>2</sub> was three times that by steam distillation. **CONCLUSION:** The effect of SFE-CO<sub>2</sub> extraction on yield of volatile oil has obvious benefits both easy and quick. Cetylic acid content in volatile oil by SFE-CO<sub>2</sub> extraction is as high as 52%.

苗药双肾草为单子叶植物药兰科植物条叶角盘兰 (*Hem inium bulleyi* (Rolfe) Tang et Wang) 的块茎, 是贵州苗族人民的习用药材之一<sup>[1]</sup>。别名竹兰草, 小棕乡 (湖南蓝山), 奔猪觅 (蓝山瑶族语)。生于海拔 2 500 ~ 3 300 m 的山坡林下或草地上<sup>[2,3]</sup>, 分布于湖南、四川西南部、贵州、云南西北部、西藏东部等地<sup>[4]</sup>, 锡金、印度东北部、缅甸、越南、老挝、柬埔寨、马来西亚、日本亦有分布<sup>[5]</sup>。本品甘、温, 入肾经。具有温补肾阳的功效。用于肾虚阳痿遗泄,

肾阳不足, 精关不固, 常致阳痿、遗精、滑泄, 血不养筋, 精不生髓, 则腰膝酸软等症<sup>[6]</sup>。民间常将其用水煎服或泡酒服。

双肾草的化学成分尚未见报道, 采用超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取法和水蒸气蒸馏法对双肾草挥发油进行了提取, 并应用气相色谱 质谱联用技术分析鉴定了各化合物成分及其在挥发油中的相对百分含量。

### 1 实验部分

收稿日期: 2007-05-15

基金项目: 中国科学院“科技之黔工程”项目 (黔-01-2005-01)。

作者简介: 刘育辰 (1982 ~), 女, 硕士, 主要从事植物化学研究。E-mail: lyc8564732@163.com。

\* 通讯作者: 邱明华, 研究员、博士生导师。电话: 0871-5223327; 传真: 0871-5150227; E-mail: mhchui@mail.kib.ac.cn。

### 1.1 实验装置及仪器

仪器:超临界 CO<sub>2</sub> 萃取设备及水蒸气蒸馏设备均由中国科学院昆明植物研究所提供。超临界 CO<sub>2</sub> 提取装置(5L-SFE广州轻工研究所),容量 5 L,最高压力 42 MPa,最高温度 70 ;气相色谱-质谱仪:HP GC6890/MS5972;水浴锅(北京市长风仪器仪表公司)。

### 1.2 实验材料及试剂

实验材料:双肾草,购于贵阳万东桥药材市场,经贵阳中医学院生药教研室主任刘芑教授鉴定为兰科植物条叶角盘兰(*Hem inium bulleyi* (Rolfe) Tang et Wang)的块茎,生药材凭证标本保存在中国科学院昆明植物研究所植物化学重点实验室。

试剂:CO<sub>2</sub> 由昆明氧气厂提供,纯度为 99.5%;其余化学试剂均为分析纯。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 SFE-CO<sub>2</sub> 法

取 1.37 kg双肾草干燥粗粉投入萃取釜,设定工艺参数见表 1,从解析釜出料口出料得萃取物,用无水硫酸钠脱水后得黄色油状物 6.85 g,得率为 0.5%。将所得黄色油状物用乙醚稀释后进行 GC-MS分析。

表 1 超临界 CO<sub>2</sub> 法工艺参数

Tab 1 Technological parameter by SFE-CO <sub>2</sub>				
项目	压力 /MPa	温度 /	流量 /L/h	时间 /h
Item	Pressure	Temperature	Flow rate	Time
萃取釜	20	36~43	22	2
解析釜	5~7	40	22	2

#### 1.3.2 SD法

取 50 g双肾草粉末,放于挥发油提取器中提取 8 h,用无水硫酸钠脱水后得无色油状物 0.08 g,得率为 0.16%,用乙醚稀释后进行 GC-MS分析。

### 1.4 GC-MS分析条件

气相色谱-质谱仪:HP GC6890/MS5972。色谱柱:HP-5毛细管石英柱(30 m ×0.25 mm ×0.25 μm)弹性石英毛细管柱。载气 He;进样口温度 250 ;接口温度 280 ;恒定柱流量 1 mL/min;分流比 50:1。离子源:EI,电子能量:70 eV,扫描范围:35-455 amu Wiley 275 and NIST 98 library。采用升温程序:50 (1 min) 180 (5 /min) 260 (15 /min, 15 min)。

## 2 结果

本实验用 GC-MS法对双肾草挥发油化学成分进行分析,通过 NIST98.L和 WILEY275.L质谱图库

检索,以及相关文献进行图谱解析,并通过数据处理系统,以峰面积归一化法确定了各组分在挥发油中的相对百分含量,各方法的总离子流图见图 1,2;成分鉴定结果见表 2。

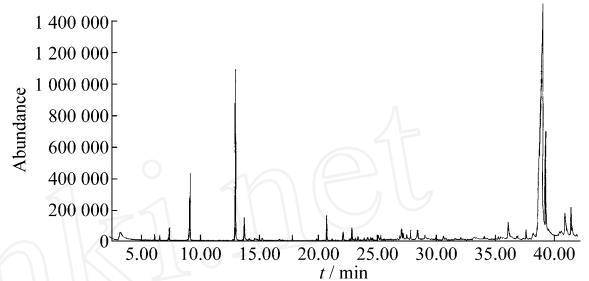


图 1 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取双肾草挥发油 GC-MS总离子流图

Fig 1 The Hydronium chart of the volatile oil Hem inium bulleyi by SFE-CO<sub>2</sub>

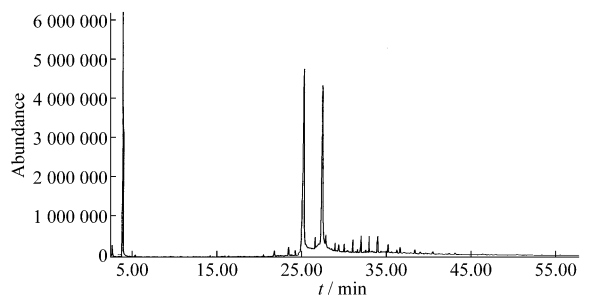


图 2 水蒸气蒸馏法提取双肾草挥发油 GC-MS总离子流图

Fig 2 The Hydronium chart of the volatile oil Hem inium bulleyi by SD

## 3 小结与讨论

水蒸气蒸馏法提取挥发油是一种提取挥发油的常用方法,但随着近年来的不断发展,超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法越来越广泛地应用到提取挥发油中。这一新型的分离技术,由于其系统密闭,在低温无氧的惰性环境中萃取,无溶剂残留、提取快速简便、无污染、不改变萃取物性质、对一些热敏性化学成分及遇氧化及见光反应的化学成分具有良好的保护作用,从而在医药卫生、化工、食品、香料、石油等领域得到了广泛的应用<sup>[7-10]</sup>。

从超临界 CO<sub>2</sub> 法萃取所得挥发油中,共检测出 46 个化合物,鉴定了其中的 32 种成分,已鉴定的化合物占总组分的 69.6%,其中主要成分是:棕榈酸(52.16%)、樟脑(8.30%)、十六烷酸乙酯(7.27%)、桉油精(2.97%)、二异丁基邻苯二甲酸酯(2.51%)、冰片(1.32%),这些组分总含量占挥发油总组分的 73.21%;水蒸气蒸馏法提取挥发油共检测出 59 个化合物,鉴定了其中的 33 种成分,已

表 2 双肾草挥发油成分及其相对百分含量

Tab 2 Chemical constituents of volatile oil of *Herm inium bulleyi*

峰号 Peak No	化学成分 Constituent	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	相对百分含量 / % Relative Content / %	
				SFE-CO <sub>2</sub>	SD
1	2,3-丁二醇	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	90	0.17	—
2	1,3-丁二醇	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	90	2.44	—
3	蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.27	—
4	莜烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.21	—
5	蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.58	—
6	桉油精	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	2.97	—
7	樟脑	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	8.30	—
8	冰片	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	1.32	—
9	异冰片基醋酸酯	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	172	0.26	—
10	胡椒烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1.25	—
11	顺-檀香醇	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	0.59	—
12	石竹烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.13	—
13	吉马烯 D	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.21	—
14	菴蒲萜烯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	202	0.33	—
15	(+)斯杷土烯醇	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	0.24	—
16	石竹烯氧化物	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	0.83	—
17	十六烷	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226	0.47	0.02
18	杜松萜烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.87	—
19	桉叶醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	0.41	—
20	二十烷	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	0.24	0.03
21	十四碳酸	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	228	0.37	0.49
22	十四烷	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	198	0.37	0.03
23	二异丁基邻苯二甲酸酯	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	278	2.51	0.58
24	乙基癸酸	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	242	0.23	—
25	二十四烷	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	338	0.30	0.45
26	棕榈酸甲酯	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270	0.51	0.29
27	二丁基邻苯二甲酸酯	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	278	0.76	—
28	棕榈酸	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256	52.16	26.66
29	十六烷酸乙酯	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	284	7.27	—
30	甲基苯乌拉坦	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	151	2.26	—
31	油酸	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282	0.59	—
32	十七烷酸	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270	2.98	—
33	乙缩醛	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	118	—	0.37
34	十三烷	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184	—	0.03
35	二叔丁基对甲苯酚	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	—	0.04
36	十七烷	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240	—	0.02
37	3-苯基喹啉	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> N	219	—	0.11
38	二十六烷	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	366	—	0.07
39	二十七烷	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	380	—	0.13
40	反亚油酸甲酯	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	264	—	1.83
41	亚油酸	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	280	—	24.23
42	2-甲基-四氢化噻吩	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> S	124	—	1.41
43	十八烷	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254	—	0.87
44	二十五烷	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	352	—	1.49
45	二十二烷	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	310	—	0.62
46	二十八烷	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	394	—	0.46
47	邻苯二甲酸二异辛酯	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	390	—	0.51
48	四十四烷	C <sub>44</sub> H <sub>90</sub>	618	—	1.72
49	11-(1-乙基丙基)二十一烷	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	366	—	0.50
50	三十烷	C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>	422	—	0.78
51	十五烷	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212	—	0.72
52	三十五烷	C <sub>35</sub> H <sub>72</sub>	492	—	0.95

续表

53	三十四烷	C <sub>34</sub> H <sub>70</sub>	478	—	0.74
54	7-己基二十二烷	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	394	—	0.44
55	三十六烷	C <sub>36</sub> H <sub>74</sub>	506	—	0.49
56	三十二烷	C <sub>32</sub> H <sub>66</sub>	450	—	0.56
57	三十一烷	C <sub>31</sub> H <sub>64</sub>	436	—	0.34

鉴定的化合物占总组分的 55.90%,其中主要成分是棕榈酸(26.66%)、亚油酸(24.23%),这两种组分含量占挥发油总组分的 50.89%。由表 2 可知,超临界 CO<sub>2</sub> 法检出的不仅有很多萜烯类化合物,如樟脑、桉油精、冰片等,而且还有一些长链脂肪酸类化合物,这些萜烯类化合物及其衍生物普遍存在于植物界中,具有良好的生物活性,是很多中药的有效成分<sup>[11]</sup>。如冰片具有开窍醒脑,清热止痛的功效,其药理作用有发汗、兴奋、镇痛及抗缺氧作用,是人丹、冰硼散、苏冰滴丸、速效救心丸等许多中成药的主要成分,也用于化妆品和香精的配置;樟脑能反射性兴奋呼吸中枢或循环系统,临床上用于强心剂,用于抢救呼吸功能或循环功能衰竭者,它还具有局部刺激和驱虫作用,因此也用于治疗神经痛及冻疮等,还作为衣物、书籍等的防蛀剂使用,樟脑也是重要的化工原料;桉油精具有抗菌、抗炎、抗寄生虫、改善呼吸功能,促进透皮吸收的作用,还用于祛风止痛、止痒、解暑。而水蒸气蒸馏法提取的挥发油多为一些长链脂肪酸类化合物,这可能是由于超临界 CO<sub>2</sub> 法提取温度低,在密闭条件下操作,因而所提取的各种物质较完全,特别是对这些具有良好生物活性又易损失的萜稀类成分效果较好。目前,双肾草在民间多用水煎服或泡酒服,而超临界 CO<sub>2</sub> 提取的这些萜烯类的挥发性成分是民间服用方式不能获取的,但如果改变给药形式,如打粉口服即可获得。以往人们普遍认为长链脂肪酸类物质没有任何活性,但最近王爱武<sup>[12]</sup>等人在对猫爪草的研究中发现其脂肪酸具有明显的抗肿瘤活性,其中棕榈酸就是主要的有效成分。而双肾草挥发油中含有 52%的棕榈酸,这提示双肾草可能也会有一定的抗肿瘤活性。由于没有进行活性实验,因此采用超临界 CO<sub>2</sub> 法萃取的挥发油成分具体有什么活性有待进一步研究,或许可以从中发现双肾草更广泛的作用功效。

由表 2 可知,用两种方法提取挥发油已鉴定的成分中含量最高的化合物均为棕榈酸,说明棕榈酸是双肾草挥发油中的大量成分,从而我们不妨可以假定将棕榈酸作为评价双肾草挥发油的指标性成分,但棕榈酸到底是否可以作为指标性成分还有待进一步研究。从挥发油的得率分析,超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取挥发油的得率(0.5%)是水蒸气蒸馏法得

率(0.16%)的 3 倍多,并且两种方法提取的挥发油无论成分还是其相对百分含量均存在一定差异。但两种提取方法各有其特点:超临界 CO<sub>2</sub> 法主要萃取具有生物活性的萜烯类和脂肪酸及其衍生物类;水蒸气蒸馏法主要萃取脂肪酸及其衍生物和烷烃类,因此,在萃取双肾草挥发油中的活性物质时,超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法优于水蒸气蒸馏法,是理想的萃取方法。

在提取双肾草挥发油时,超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取法与传统水蒸气蒸馏法比较,具有简便、快捷、提取率高,提取成分完全,低挥发性成分多等特点,本研究为苗药双肾草质量标准的建立和控制提供了一条新的途径。同时也为双肾草进一步的研究与开发奠定了一定基础。

**致谢:**本项目得到中国科学院“科技之黔工程”项目资助!

#### 参考文献:

- [1] 江苏新医学院主编. 中药大辞典(第一版)[M]. 上海:上海人民出版社,1977.
- [2] 中国科学院北京植物研究所主编. 中国高等植物图鉴(第五册)[M]. 北京:科学出版社,1976:1544.
- [3] 中国药材公司编著. 中国中药资源志要[M]. 北京:科学出版社,1994.
- [4] 冉先德主编. 中华药海[M]. 哈尔滨:哈尔滨出版社,1993:693.
- [5] 王文采主编. 武陵山地区维管植物检索表[M]. 北京:科学出版社,1995:550.
- [6] 吴征镒主编. 新华本草纲要(第三册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1990:601.
- [7] 邱 琴,杨厚玲,陈士恒,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取法和水蒸气蒸馏法提取山奈挥发油化学成分的研究[J]. 山东大学学报(理学版),2006,41(6):119.
- [8] 高彦祥,马清香,樊书旗. 天然色素超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术研究进展[J]. 中国食品添加剂,2006,3:63.
- [9] 于翼勇. 超临界流体萃取技术在油脂化工中的应用[J]. 食品与机械,2006,22(2):109.
- [10] 佟 健. 香叶中挥发性组分的超临界萃取及气相色谱-质谱分析[J]. 质谱学报,2006,27(2):94.
- [11] 邱 琴,张国英,刘欣欣,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取法与水蒸气蒸馏法提取干姜片挥发油化学成分的比较[J]. 上海中医药杂志,2005,39(3):55.
- [12] 2005年第八届全国中药和天然药物学术研讨会、第五届全国药用植物和植物药化学学术研讨会论文集[C],2005:137.