

文章编号: 1004-4353(2022)04-0354-04

龙牙草石油醚提取物中的挥发成分研究

周杰¹, 方英玉¹, 尹秀梅², 王思宏¹

(1. 延边大学 分析测试中心, 吉林 延吉 133002; 2. 延边大学 药学院, 吉林 延吉 133002)

摘要: 为探讨龙牙草在石油醚中的溶解成分, 利用索氏提取器获取了龙牙草石油醚提取物, 并利用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对其进行了分析. 研究显示: 龙牙草石油醚提取物的收率为 3.20%; 在龙牙草石油醚提取物的 35 个强色谱峰中共鉴定出 27 个成分, 占石油醚提取物总含量的 45.28%. 27 个成分中相对百分含量较高的成分依次为三环[3,5,7]癸烷-1-羧酸辛酯(6.42%)、胆酸乙酯(3.87%)、棕榈酸(3.67%)、(E)-3,7,11,15-四甲基十六醇-2-烯-1-醇(3.37%)、 α -姜黄烯(2.93%)、绵马素(2.15%)等. 该结果可为龙牙草的药理研究和开发利用提供参考.

关键词: 龙牙草; 石油醚提取物; 气相色谱-质谱联用技术; 三环[3,5,7]癸烷-1-羧酸辛酯

中图分类号: O656.2

文献标识码: A

The investigation on volatile components analysis of *Agrimonia pilosa* Ledeb petroleum ether extract

ZHOU Jie¹, FANG Yingyu¹, YIN Xiumei², WANG Sihong¹

(1. *Analysis and Inspection Center, Yanbian University, Yanji 133002, China*;

2. *College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002, China*)

Abstract: In order to further explore the components components of the whole *Agrimonia pilosa* Ledeb dissolved in the petroleum ether solvent, the components of *Agrimonia pilosa* Ledeb petroleum ether extract was obtained by Soxhlet extractor and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that the extraction rate of the petroleum ether extract is 3.20%. 27 components are identified from 35 chromatographic peaks of the separated *Agrimonia pilosa* Ledeb petroleum ether extract, accounting for 45.28% of the petroleum ether extract. The components with relatively high percentage content in the extract are tricyclic[3,5,7]decan-1-carboxylic acid octyl ester(6.42%), ethyl cholate(3.87%), palmitic acid (3.67%), (E)-3,7,11,15-tetramethylhexadecanol-2-en-1-ol (3.37%), α -curcumene(2.93%), and miasmasu (2.15%), etc. Thus, the references for the investigation, development and utilization of *Agrimonia pilosa* Ledeb herbal medicine will be provided.

Keywords: *Agrimonia pilosa* Ledeb; petroleum ether extract; gas chromatography-mass spectrometry; tricyclic[3,5,7]decane-1-carboxylic acid octyl ester

龙牙草(*Agrimonia pilosa* Ledeb)为蔷薇科多年生草本植物, 又称金顶龙牙、地仙草、仙鹤草、

石打穿、瓜香草等. 龙牙草入药始载于《神农本草经》, 主要用于治疗止血、咯血、尿血、便血、崩漏等

收稿日期: 2022-09-08

基金项目: 延边大学科技发展计划项目(602022142)

第一作者: 周杰(1994—), 女, 助理实验师, 研究方向为天然物活性成分.

通信作者: 尹秀梅(1971—), 女, 正高级实验师, 研究方向为抗癫痫药物.

多种出血症以及赤白痢疾、劳伤脱力等病症^[1-3]。研究显示:龙牙草中含有黄酮苷类、三萜类、异香豆素和木质素等成分^[4-6],具有抗炎、抗氧化、抗菌和抗病毒等多种药理作用^[7-9]。另外,龙牙草也是一种食用野菜,具有强化人体免疫能力的功效^[10-12]。2022年Lee等研究显示,龙牙草乙醇提取物的抗原虫选择指数(3.35)高于磺胺嘧啶(2.08)^[13],该研究表明龙牙草具有良好的抗寄生虫作用。为了探讨龙牙草(全草)在石油醚中的溶解成分以及开发利用龙牙草,本文对延边产龙牙草石油醚提取物中的成分进行了研究。

1 试剂与仪器

1.1 试剂与药材

正己烷(色谱纯),Merck公司生产;0.45 μL 微孔滤膜、石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$),麦克林试剂公司生产;无水碳酸钠(分析纯),天津市科密欧化学试剂有限公司生产;龙牙草(采自吉林省延边大学药草园),经延边大学药学院吕惠子教授鉴定。

1.2 仪器

气相色谱-质谱联用仪(6890N-5937),安捷伦科技有限公司生产;微型注射器(100 μL),Hamilton公司生产;超纯水机(Milli-Q系列),Millipore公司生产;低温冷却液循环泵,上海豫康科教仪器设备有限公司生产;索式提取器,上海熙扬仪器有限公司生产;RV-3旋转蒸发器,艾卡仪器设备有限公司生产;DZF-1真空干燥箱,北京永光明医疗仪器有限公司生产;WJX-A500高速多功能粉碎机,上海缘沃工贸有限公司生产;AL204-IC电子天平,梅特勒-托利多仪器有限公司生产。

2 方法

2.1 龙牙草石油醚提取物的制备

龙牙草晒干后粉碎,过0.15 mm筛,称取100 g

粉末置于索式提取器中,加入400 mL石油醚后置于电热套中(保持石油醚微沸5 h)。共收集石油醚提取物3.20 g,并将提取物用正己烷定容于5 mL的容量瓶中;摇匀后过0.45 μL 微孔滤膜,所得溶液用于GC-MS分析。

2.2 检测分析条件

气相色谱条件:HP-5MS石英毛细管柱(0.25 $\mu\text{m}\times 0.25\text{ mm}\times 30\text{ m}$),载气为氦气,流速为1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样口温度为280 $^{\circ}\text{C}$,分流进样(分流比为50:1)。

程序升温条件:40 $^{\circ}\text{C}$ 保持2 min,再以10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至300 $^{\circ}\text{C}$ (保持15 min)。

质谱条件:离子源为EI源,电子能量为70 eV,离子温度为230 $^{\circ}\text{C}$,四级杆温度为150 $^{\circ}\text{C}$,倍增管电压为1.6 kV,扫描质量范围为 m/z 35~550。

3 结果与分析

经计算得龙牙草石油醚提取物的收率为3.20%。图1为龙牙草石油醚提取物的总离子流色谱图。由图1可以看出:色谱峰集中出现在30.00~45.00 min和55.00~65.00 min 2个时间段;在GC-MS联用技术色谱图中出现了35个较强的色谱峰。将质谱扫描图中的各峰与美国国家标准与技术研究院(National Institute of Standards and Technology, NIST)的质谱数据库进行对照后确定了其中27个成分的结构信息。

上述确定的27个成分的结构式见图2。综合比较各成分的结构式可以发现,其成分主要为烃类、醇类、酸类、酯类、甾类及酮类化合物。其中:烃类化合物有7个(其中3个为大于30个碳的单链烷烃),醇类化合物有5个,酸类化合物有2个,酯类化合物有6个,甾类化合物有3个,酮类化合物有4个。

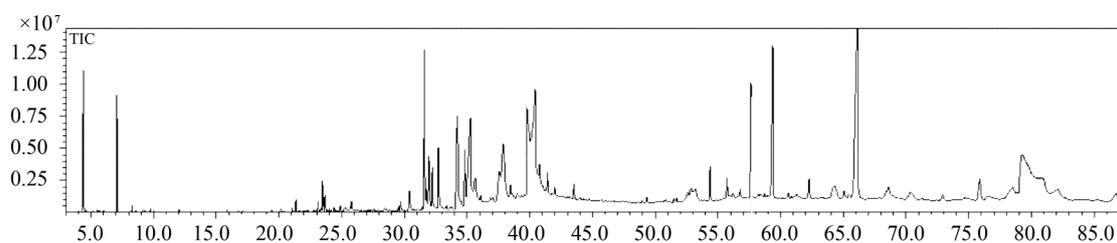


图1 龙牙草石油醚提取物的总离子流色谱图

依据 GC-MS 联用技术,采用峰面积归一化法计算的 27 个成分的相对百分含量见表 1. 由表 1 可知:27 个成分占龙牙草总成分的 45.28%, 相对含量大于 3% 的有 4 种,大于 2% 的有 2 种; 相对含量最多的种类是酯类化合物,其次是烃类和醇类化合物,分别占总石油醚提取物的 11.43%、10.63% 和 7.84%; 相对含量最多的成分是环[3,5,7]癸烷-1-羧酸辛酯(占总石油醚提取物的 6.42%,保留时间为 40.43 min), 其次是胆酸乙酯(占总石油醚提取物的 3.87%,保留时间为 59.37 min).

将本文研究结果与文献[14-15]中的研究结果进行对比可知,不同产地的龙牙草其化学挥发成分存在显著差异. 其中文献[14]的作者利用 GC-MS 联用技术对安徽亳州产龙牙草中的挥发油成分进行分析显示,其相对百分含量较多的成分是 6-10-14-三甲基-2-十五烷酮和 α -没药醇; 而文献[15]的作者利用 GC-MS 联用技术对湖南产龙牙草中的挥发油成分进行分析显示,其相对百分含量较多的成分是醇类和单萜类化合物. 不同产地的龙牙草其挥发成分存在显著差异的原因可能与龙牙草的品种、产地、采收时间、提取工艺等有关.

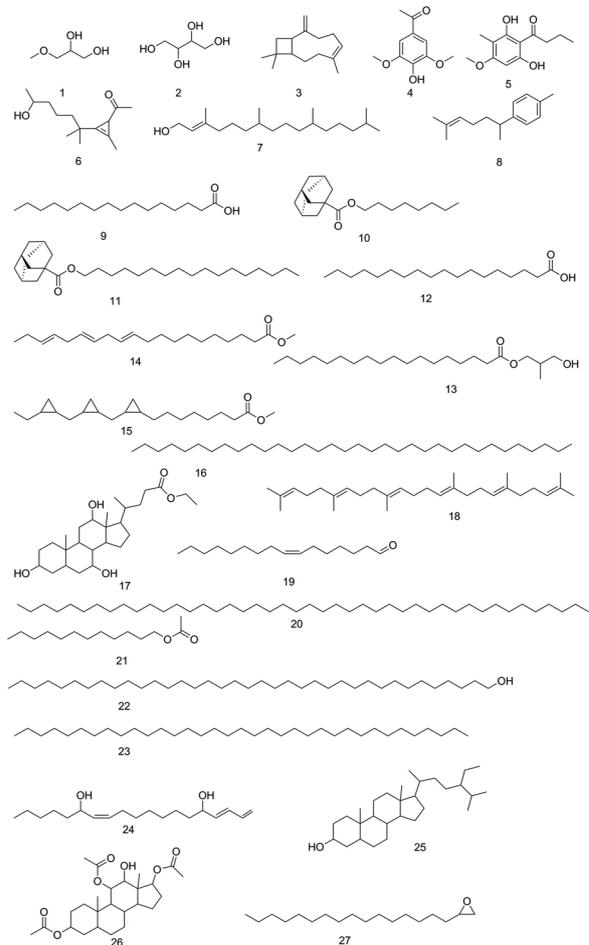


图 2 27 个成分的结构

表 1 27 个成分的相对百分含量和保留时间

序号	化学名称	分子式	相对百分含量/%	保留时间/min
1	3-甲氧基-1,2-丙二醇	$C_4H_{10}O_3$	1.66	4.42
2	赤藓醇	$C_4H_{10}O_4$	0.71	7.09
3	(Z)-4,11,11-三甲基-8-亚甲基-二环[7.2.0]4-十一碳四烯	$C_{15}H_{24}$	1.63	31.59
4	乙酰丁香酮	$C_{11}H_{14}O_3$	0.91	31.94
5	绵马素	$C_{12}H_{16}O_4$	2.15	34.22
6	1-乙酰基-[2-(5-羟基-1,1-二甲基己基)]-3-甲基-2-环丙烯	$C_{15}H_{26}O$	0.89	34.80
7	(E)-3,7,11,15-四甲基十六醇-2-烯-1-醇	$C_{20}H_{40}O$	3.37	35.26
8	α -姜黄烯	$C_{15}H_{22}$	2.93	37.88
9	棕榈酸	$C_{16}H_{32}O_2$	3.67	39.76
10	三环[3,5,7]癸烷-1-羧酸辛酯	$C_{19}H_{32}O_2$	6.42	40.43
11	三环[3,5,7]癸烷-1-羧酸十六酯	$C_{28}H_{50}O_2$	1.85	40.76
12	十八烷酸	$C_{18}H_{36}O_2$	0.60	41.98
13	3-羟基-2-甲基丙基硬脂酸盐	$C_{22}H_{44}O_3$	0.72	52.59
14	11,14,17-二十碳三烯酸甲酯	$C_{21}H_{36}O_2$	0.76	53.21
15	2-[[2-[(2-乙基环丙基)甲基]环丙基]甲基]环丙烷辛酸甲酯	$C_{22}H_{38}O_2$	0.81	54.37
16	三十四烷	$C_{34}H_{70}$	1.79	57.64
17	胆酸乙酯	$C_{26}H_{44}O_5$	3.87	59.37

续表 1

序号	化学名称	分子式	相对百分含量%	保留时间/min
18	角鲨烯	C ₃₀ H ₅₀	0.69	61.27
19	7-十六烯醛	C ₁₆ H ₃₀ O	0.99	64.29
20	四十四烷	C ₄₄ H ₉₀	1.62	68.61
21	乙酸十二酯	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	0.87	70.35
22	三十七烷醇	C ₃₇ H ₇₆ O	0.82	75.86
23	三十五烷	C ₃₅ H ₇₂	0.98	78.47
24	(3E,12Z)-壬-1,3,12-三烯-5,14-二醇	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	1.28	79.22
25	豆甾醇	C ₂₉ H ₅₀ O	0.96	79.37
26	3β,11α-双(乙酰氧基)-12β-羟基-5α-雄甾烷-17β-羧酸甲酯	C ₂₅ H ₃₈ O ₇	1.34	79.76
27	1,2-环氧十八烷	C ₁₈ H ₃₆ O	0.99	80.88

4 结论

本文利用 GC-MS 联用技术对延边产龙牙草的石油醚提取物中的挥发成分进行了分析,且在较强的 35 个色谱峰中共鉴定出 27 个成分(占总石油醚提取物的 45.28%)。在鉴定出的 27 个成分中,相对百分含量最多的成分是环[3,5,7]癸烷-1-羧酸辛酯,其次为胆酸乙酯。本文研究结果可为龙牙草石油醚提取物的活性测试提供药效物质信息。在今后的研究中,我们将通过扩大质谱数据库容量以及选用不同提取方法来更全面地鉴定和分析龙牙草中的有效成分,以为开发和利用龙牙草提供更为全面的物质组成信息。

参考文献:

- [1] 陈文鹏,卢健棋,庞延,等. 仙鹤草化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2022,24(6):118-122.
- [2] 李君,杨杰. 仙鹤草主要化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2020,39(4):54-60.
- [3] SEO U M, NGUYEN D H, ZHAO B T, et al. Flavanonol glucosides from the aerial parts of *Agrimonia pilosa* Ledeb and their acetylcholinesterase inhibitory effects[J]. Carbohydrate Research, 2017, 445:75-79.
- [4] ZHANG J, YANG Y N, FENG Z M, et al. The triterpenoids and sesquiterpenoids from the plant of *Agrimonia pilosa* [J]. Fitoterapia, 2022, 157:104-105.
- [5] LI H R, LI Y K, XIAO J, et al. Secondary metabolites isolated from *Agrimonia pilosa* Ledeb [J].

- Natural Product Research, 2021,36(1):263-270.
- [6] PARK M J, KANG Y H. Isolation of isocoumarins and flavonoids as alpha-glucosidase inhibitors from *Agrimonia pilosa* L[J]. Molecules, 2020,25(11):2572.
- [7] 张佳,杨桢楠,姜建双,等. 仙鹤草中木脂素类化学成分的研究[J]. 中草药, 2021,52(17):5176-5184.
- [8] 唐当柱. 仙鹤草正丁醇提取部位抗炎作用及其化学成分研究[J]. 云南中医药杂志, 2020,41(1):64-66.
- [9] WEN S, ZHANG X, WU Y, et al. *Agrimonia pilosa* Ledeb: a review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology, and toxicology[J]. Heliyon, 2022,8(8):e09972.
- [10] JIN T, CHI L, MA C. *Agrimonia pilosa*: a phytochemical and pharmacological review[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2022,2022:3742208.
- [11] NHOEK P, CHAE H S, YEONG A N C, et al. Chemical constituents from *Agrimonia pilosa* with inhibitory activity against interleukin 1β production via NLRP3 and NLRC4 inflammasomes[J]. Natural Product Sciences, 2021,27(4):228-233.
- [12] 徐乐乐,朴燕,尹雄杰,等. 长白鱼鳞云杉挥发性成分的气相色谱-质谱分析[J]. 延边大学学报(自然科学版), 2022,48(1):72-94.
- [13] LEE H S, KIM O. Anti- protozoal efficacy of *Agrimonia pilosa* ethanol extract against *Toxoplasma gondii* [J]. Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2022,46(1):22-25.
- [14] 赵莹,李平亚,刘金平. 仙鹤草挥发油化学成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2001,36(10):672.
- [15] 李雅文,黄兰芳,梁晟,等. 仙鹤草挥发油化学成分的气相色谱-质谱分析[J]. 中南大学学报(自然科学版), 2007,38(3):502-506.