

## 自然风干处理前后活血丹挥发油化学组分 GC-MS 分析\*

陈月华, 智亚楠, 陈利军, 陈思宇, 梁利香

(信阳农林学院, 信阳 464000)

**摘要 目的:** 研究活血丹风干前后挥发油的化学成分, 比较两者之间的异同。**方法:** 采用水蒸气蒸馏法提取自然风干处理前后活血丹的挥发油, 计算挥发油含油率并进行比较。利用 GC-MS 分析其化学组分, 峰面积归一法比较各组分间的相对含量。色谱条件: 采用毛细管柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), 柱温为程序升温 (起始柱温 60 °C, 保持 2 min, 以 10 °C · min<sup>-1</sup> 升温速率升至 230 °C, 保持 1 min), 载气为高纯氦气, 柱流速为 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 进样量 1.0 μL, 挥发油用乙醚稀释 100 倍, 不分流; 质谱条件: EI 离子源, 电子能量 70 eV, 扫描范围 33~350 amu, 四极杆温度和离子源温度分别为 150 °C 和 230 °C。**结果:** 自然风干前后活血丹挥发油平均含量分别为 0.15% 和 0.01%; 分别检出 32 个和 27 个色谱峰, 鉴定了其中的 23 个和 18 个化合物, 各占挥发油总量的 91.8% 和 90.2%。主要成分包括柠檬烯、薄荷酮、胡薄荷酮、γ-榄香烯、石竹烯等。**结论:** 经自然风干处理后, 活血丹的含油率下降, 自然风干处理前后的活血丹挥发油化学成分基本一致, 但各主要成分含量存在明显差异。

**关键词:** 活血丹; 连钱草; 挥发油; 自然风干处理; 含油率; 水蒸气蒸馏; 气相色谱-质谱分析

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2017)08-1476-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.08.17

## Analysis of the essential oil in *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr. before and after air drying by GC-MS\*

CHEN Yue-hua, ZHI Ya-nan, CHEN Li-jun, CHEN Si-yu, LIANG Li-xiang

(Xinyang College of Agriculture and Forestry, Xinyang 464000, China)

**Abstract Objective:** To investigate the chemical components of essential oil from *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr. before and after air drying, and to compare their differences. **Methods:** The essential oil was extracted via the steam distillation method and the yields were compared. The components were identified by GC-MS and determined via area normalization method. The chromatographic conditions were as follows: Capillary column (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) was used combining temperature programming (the initial temperature was 60 °C, kept for 2 min, then rose to 230 °C at a speed of 10 °C · min<sup>-1</sup>, and maintained for 1 min). The carrier gas was He with the flow of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. The essential oil was diluted with ethyl ether by 100 times. Splitless injection was used and the injection volume was 1 μL. The mass spectrometric conditions were as follows: The ionization voltage of the EI source was 70 eV, and the scan range was 33-350 amu. Temperature of quadrupole and ion source was 150 °C

\* 国家自然科学基金项目 (301401798)

第一作者 Tel: 15188277316; E-mail: chen Yuehua1981@126.com

and 230 °C, respectively. **Results:** The contents of essential oil from *G. longituba* before and after air drying were 0.15% and 0.01%, respectively. 32 and 27 chromatographic peaks were detected in the essential oil from *G. longituba* before and after air drying, respectively. Among them, 23 and 18 compounds were identified, which accounted for 91.8% and 90.2% of the total essential oil, respectively. The main components detected in the essential oil were limonene (24.43%, 31.01%), menthone (15.93%, 17.15%), pulegone (12.81%, 9.92%),  $\gamma$ -elemene (11.27, 6.50%) and caryophyllene (6.20%, 4.49%). **Conclusion:** After air drying, there was a significant reduction of the essential oil in *G. longituba*. The components of essential oil from *G. longituba* before and after air drying were basically the same, but their amounts varied.

**Keywords:** *Glechoma longituba*; Glechomae Herba; essential oil; air drying; oil yields; steam distillation; GC-MS analysis

活血丹 [*Glechoma longituba* (Nakai) Kupr.] 又名金钱艾、金钱薄荷、透骨风等, 是唇形科活血丹属多年生草本植物。广泛分布于全国各地, 常常生长在海拔 50~2 000 m 范围内的林缘、疏林下、草地中、溪边等阴湿生境中。其干燥地上部分入药, 药材名连钱草<sup>[1-3]</sup>。作为中草药, 活血丹具有广泛的药理作用, 已被证明具有利尿利胆<sup>[2]</sup>、降血糖<sup>[4]</sup>、降脂排石<sup>[5-6]</sup>、抗菌、抗氧化<sup>[4, 7-10]</sup>、抗肿瘤等活性<sup>[11]</sup>, 现常用于治疗尿路感染、黄疸、小儿惊风、跌打扭伤、风湿性关节炎等疾病<sup>[1, 4, 8-10]</sup>。活血丹中含有丰富的化学成分, 包括萜类、黄酮类、有机酸类、甾体类、醇类等<sup>[8-10, 12-16]</sup>。活血丹全草含较丰富的挥发油, 是其药效的来源之一。本研究以信阳产活血丹为研究对象, 并对活血丹植物材料进行风干处理, 以水蒸气蒸馏法提取其挥发油, 采用 GC-MS 分析挥发油组分, 比较自然风干处理前后活血丹挥发油组成及含量的变化, 以期为活血丹的综合开发利用提供试验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试活血丹全草于 2015 年 10 月中旬采于信阳农林学院校园内, 带至室内, 分为 2 份, 一份直接提取挥发油(鲜叶), 另外一份自然风干(7~8 d)后提取挥发油(干叶)。提取挥发油前植物材料剪为不超过 0.5 cm 的小段。

### 1.2 挥发油的提取

准确称量植物材料, 按参考文献[17]方法提取挥发油, 得透明的淡黄色具浓郁气味的油状液体, 即挥发油样品。鲜叶、自然风干后的挥发油样品各平行测定 3 次, 计算含油率。挥发油样品 4 °C 冰箱保存备用。

### 1.3 仪器及分析条件

主要仪器: 安捷伦 6850/5975 气质联用仪(GC-

MS), NIST05 谱库。色谱条件: 安捷伦公司 HP-5 MS 毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm; 固定相:(5% 苯基)-甲基聚硅氧烷); 程序升温, 起始柱温 60 °C, 保持 2 min, 以 10 °C · min<sup>-1</sup> 升温速率升至 230 °C, 保持 1 min; 载气为高纯氦气; 柱流速为 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 进样量 1.0 μL, 挥发油用乙醚稀释 100 倍即得供试品溶液, 不分流。质谱条件: EI 离子源, 电子能量 70 eV, 扫描范围 33~350 amu, 四极杆温度和离子源温度分别为 150 °C 和 230 °C, EM 电压 1 729 V。

### 1.4 方法学考察

**1.4.1 分析时间考察** 吸取挥发油供试品溶液 1.0 μL, 注入气质联用仪, 运行 100 min, 记录色谱图, 20 min 以后已无明显色谱峰, 因此分析时间定为 20 min。

**1.4.2 精密度试验** 取活血丹鲜叶的挥发油供试品溶液, 按“1.3”项下色谱条件连续进样 5 次, 以 5 个主要成分柠檬烯、薄荷酮、胡薄荷酮、 $\gamma$ -榄香烯和石竹烯的保留时间和相对含量 RSD 为指标进行统计分析。结果表明, 5 个主要成分保留时间的 RSD < 0.3%, 相对含量的 RSD < 3.0%, 表明精密度较好。

**1.4.3 重复性试验** 取活血丹鲜叶样品 5 份, 按“1.2”项下方法制备活血丹鲜叶挥发油供试品溶液, 在所建立的测定条件下测定, 记录色谱图。结果表明, 5 个主要成分保留时间的 RSD < 0.3%, 相对含量的 RSD < 5.0%, 表明重复性良好。

**1.4.4 稳定性试验** 取活血丹鲜叶挥发油样品 5 份, 按“1.3”项下的色谱条件在 0、4、8、12、24 h 进样分析, 考察各特征色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的一致性。结果表明, 5 个主要成分保留时间的 RSD < 0.2%, 相对含量的 RSD < 3.0%, 表明挥发油样品在 24 h 内稳定性良好。

## 2 结果与分析

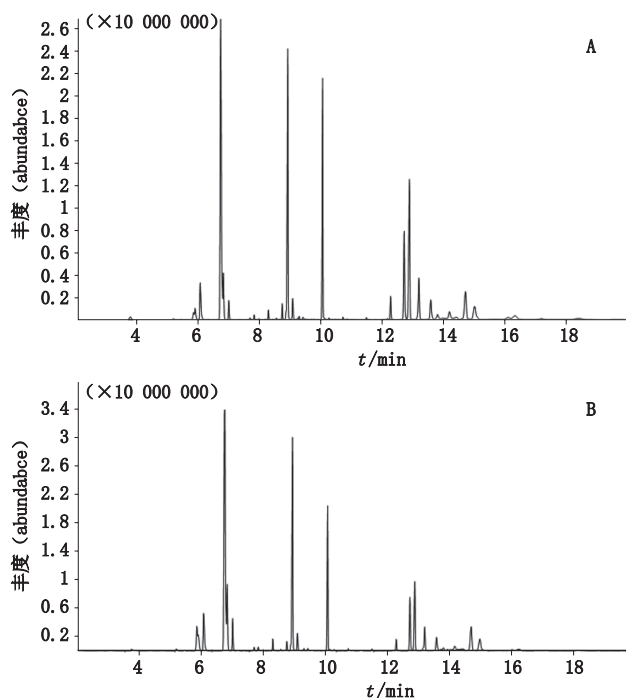
### 2.1 自然风干处理前后活血丹的含油率

采用水蒸气蒸馏法提取自然风干处理前后活血丹的挥发油,含油率分别为 0.15% 和 0.01%。

### 2.2 自然风干处理前后活血丹挥发油组分 GC-MS 分析

采用 GC-MS 对自然风干前后的活血丹挥发油的化学组分进行分析,分别分离到 32 和 27 个组分,其中共有组分 26 个,非共有组分 7 个(图 1,表 1)。采用峰面积归一法测得各组分的相对含量,所得质谱图经 NIST05 质谱数据库检索,并经 CAS 号检索,分别鉴定了其中的 23 和 18 个组分,各占挥发油总量的 91.8% 和 90.2%。

从表 1 可以看出,处理前后活血丹挥发油的组分基本相同,主要组分均为柠檬烯(24.43%, 31.01%)、薄荷酮(15.93%, 17.15%)、胡薄荷酮(12.81%, 9.92%)、 $\gamma$ -榄香烯(11.27, 6.50%)和石竹烯(6.20%, 4.49%)。但各主要组分在处理前后相对含量差异较大。组分(*E*)-3, 7-二甲基-1, 3, 6-辛三烯在处理前挥发油中相对含量较低(2.89%),处理后明显增加(5.26%)。其中 7 种非共有组分的相对含量均较低。



A. 处理前 (before air drying) B. 处理后 (after air drying)

图 1 自然风干处理前后活血丹挥发油总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of the essential oil from *G.longituba* before and after air drying

表 1 自然风干处理前后活血丹挥发油化学组分 (n=3)

Tab. 1 The chemical constituents of the essential oil from *G.longituba* before and after air drying

峰号 (peak No.)	$t_R$ /min	化合物 (compound)	分子式 (formula)	相对含量 (relative content) /%	
				处理前 (before air drying)	处理后 (after air drying)
1	3.845	未鉴定 (unknown)		0.41	0.23
2	5.243	$\alpha$ -蒎烯 ( $\alpha$ -pinene)	$C_{10}H_{16}$	0.12	0.23
3	5.906	未鉴定 (unknown)		0.66	2.73
4	5.949	$\beta$ -蒎烯 ( $\beta$ -pinene)	$C_{10}H_{16}$	0.88	—
5	6.122	$\beta$ -侧柏烯 ( $\beta$ -thujene)	$C_{10}H_{16}$	2.93	4.23
6	6.785	柠檬烯 (limonene)	$C_{10}H_{16}$	24.43	31.01
7	6.871	( <i>E</i> )-3, 7-二甲基-1, 3, 6-辛三烯(( <i>E</i> )-3, 7-dimethyl-1, 3, 6-octatriene, )	$C_{10}H_{16}$	2.89	5.26
8	7.051	( <i>Z</i> )-3, 7-二甲基-1, 3, 6-辛三烯(( <i>Z</i> )-3, 7-dimethyl-1, 3, 6-octatriene, )	$C_{10}H_{16}$	1.12	2.40
9	7.743	萜品油烯 (terpinolene)	$C_{10}H_{16}$	0.13	0.26
10	7.880	未鉴定 (unknown)		0.30	0.27
11	8.349	( <i>E,Z</i> )-2,6-二甲基-1,4,6-辛三烯(( <i>E,Z</i> )-2,6-dimethyl-1, 4, 6-octatriene, )	$C_{10}H_{16}$	0.50	0.76
12	8.795	未鉴定 (unknown)		0.82	0.67
13	8.975	薄荷酮 (menthone)	$C_{10}H_{18}O$	15.93	17.15
14	9.141	未鉴定 (unknown)		1.33	1.37
15	9.350	$\alpha$ -萜品醇 ( $\alpha$ -terpineol)	$C_{10}H_{18}O$	0.16	—

表 1 (续)

峰号 (peak No.)	$t_R$ /min	化合物 (compound)	分子式 (formula)	相对含量 (relative content) /%	
				处理前 (before air drying)	处理后 (after air drying)
16	9.473	6,6-二甲基-双环[3.1.1]庚-2-烯-2-甲醛(6,6-dimethyl-bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-carboxaldehyde)	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.18	0.18
17	10.114	胡薄荷酮(pulegone)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	12.81	9.92
18	10.777	1,7,7-三甲基-双环[2.2.1]庚-2-醇-乙酸酯(1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-ylester acetic acid)	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	0.15	—
19	11.541	未鉴定(unknown)		0.14	—
20	12.333	β-榄香烯(β-elemene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.43	0.84
21	12.780	石竹烯(caryophyllene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	6.20	4.49
22	12.946	γ-榄香烯(γ-elemene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	11.27	6.50
23	13.256	α-石竹烯(α-caryophyllene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	3.43	2.34
24	13.645	大根香叶烯 D(germacrene D)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.99	1.49
25	13.868	牛儿烯(bicyclgermacrene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.59	0.30
26	14.027	(E,Z)-α-金合欢烯((E,Z)-α-farnesene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.13	—
27	14.250	萜澄茄烯(cadinene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.83	0.54
28	14.776	未鉴定(unknown)		3.78	3.61
29	15.079	2-异丙基-5-甲基-9-亚甲基-双环[4.4.0]癸-1-烯(2-isopropyl-5-methyl-9-methylene-bicyclo[4.4.0]dec-1-ene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	2.54	2.29
30	16.160	未鉴定(unknown)		0.47	0.22
31	16.246	未鉴定(unknown)		—	0.44
32	16.390	α-杜松醇(α-cadinol)	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1.11	—
33	18.451	未鉴定(unknown)		0.32	0.28

### 3 讨论

本研究中活血丹植物材料经自然风干处理后,含油率下降,表明在干燥过程中挥发油含量有散失。处理后分离到的化学组分数量减少,主要为个别相对含量较低的组分。处理前后主要化学组分种类没有发生变化,但相对含量有较大变化。

试验所分析的信阳地区活血丹鲜叶和干叶挥发油的化学组分及含量与前人的研究结果有明显的不同,如周子晔等<sup>[18]</sup>报道浙产活血丹挥发油的主要成分是石竹烯及其氧化物、早熟素 I 和 II、喇叭烯、异松蒎酮、β-萜澄茄油烯等;樊钰虎等<sup>[19]</sup>分析的重庆缙云山产活血丹挥发油的主要成分为 6,10-二甲基-2-异丙基螺[4,5]-6-癸烯-8-酮、松蒎酮、(+)-喇叭烯、β-萜草烯等。这些差异可能与植物的生长环境、采收生育期、挥发油的提取方法等的不同有关。本次研究对活血丹挥发油成分的分析,可以为活血丹在中药中的作用提供理论依据,为活血丹药用价值的进一步开发和质量评定提供基础依据。

### 参考文献

- [1] 中国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 158  
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 158
- [2] 中华本草编辑部. 中华本草·第七卷[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 6058  
Editorial Board of Chinese Herbal. Chinese Herbal. Vol. 7 [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999: 6058
- [3] 左威, 宋文静, 金则新, 等. 活血丹小尺度空间遗传结构[J]. 生态学报, 2015, 35(17): 5761  
ZUO W, SONG WJ, JIN ZX, et al. Fine-scale spatial genetic structure of *Glechoma longituba* [J]. Acta Ecolog Sin, 2015, 35(17): 5761
- [4] 袁春玲, 王佩琪, 郭伟英, 等. 连钱草的降血糖作用及其机制研究[J]. 中药药理与临床, 2008, 24(3): 57  
YUAN CL, WANG PQ, GUO WY, et al. Study on anti-hyperglycemic effect and mechanism of Herba Glechomae [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2008, 24(3): 57
- [5] 葛少祥, 彭代银, 刘金旗, 等. 连钱草治疗胆固醇结石的实验研究[J]. 中药材, 2007, 30(7): 88  
GE SX, PENG DY, LIU JQ, et al. Experimental study of Glechomae Herba on cholesterol calculus [J]. J Chin Med Mater, 2007, 30(7): 88

- [ 6 ] 吴茗希,周仁义,夏洁,等.微波萃取法提取连钱草中总三萜酸成分[J].中华中医药学刊,2011,29(3):608  
WU MX, ZHOU RY, XIA J, *et al.* To extract total triterpenoidic acid content from longtube ground ivy herb by microwave-assisted method[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2011, 29(3): 608
- [ 7 ] 陶勇,肖玉秀,石米扬,等.连钱草提取物对炎症递质的影响[J].医药导报,2007,26(8):9  
TAO Y, XIAO YX, SHI MY, *et al.* Effects of *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr. extractions on inflammatory mediators [J]. *Her Med*, 2007, 26(8): 9
- [ 8 ] 宋锐,张云,丛晓东,等.连钱草的化学成分及生物活性研究进展[J].中华中医药学刊,2010,28(12):2511  
SONG R, ZHANG Y, CONG XD, *et al.* Research progress on the chemical constituents and pharmacological activities of Herba *Glechomae* [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2010, 28(12): 2511
- [ 9 ] 陈利华,李欣.连钱草化学成分及药理作用研究[J].亚太传统医药,2014,10(15):33  
CHEN LH, LI Y. Research of chemical constituents and pharmacological activities of Herba *Glechomae* [J]. *Asia Pac Tradit Med*, 2014, 10(15): 33
- [ 10 ] 张前军,杨小生,朱海燕,等.活血丹属植物的化学成分及其药理研究进展[J].中草药,2006,37(6):950  
ZHANG QJ, YANG XS, ZHU HY, *et al.* Chemical constituents and their pharmacological research progress in medicinal plants of *Glechoma* Linn. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2006, 37(6): 950
- [ 11 ] JO D, LEE J, NOH J, *et al.* Chemical composition and electron donating and nitrite scavenging activities of *Glechoma hedercea* var. *longituba* N. [J]. *J Food Sci Nutr*, 2001, 6(3): 142
- [ 12 ] 杨念云,段金廛,李萍,等.连钱草中的黄酮类化学成分[J].中国药科大学学报,2005,36(3):210  
YANG NY, DUAN JA, LI P, *et al.* Flavonoids from *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr. [J]. *J Chin Pharm Univ*, 2005, 36(3): 210
- [ 13 ] 张前军,杨小生,朱海燕,等.连钱草化学成分研究[J].天然产物开发与研究,2006,18(1):55  
ZHANG QJ, YANG X S, ZHU HY, *et al.* Chemical constituents of *Glechoma longituba* [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2006, 18(1): 55
- [ 14 ] 杨念云,段金廛,李萍,等.连钱草的化学成分[J].中国天然药物,2006,4(2):98  
YANG NY, DUAN JA, LI P, *et al.* Chemical constituents of *Glechoma longituba* [J]. *Chin J Nat Med*, 2006, 4(2): 98
- [ 15 ] 杨曦亮,吴云霏.高效液相色谱法分析不同产地连钱草中三萜酸类成分[J].医药导报,2009,28(4):429  
YANG XL, WU YF. HPLC analysis of triterpenic acid in Herba *Glechomae* from various habitats [J]. *Her Med*, 2009, 28(4): 429
- [ 16 ] 王庆,段金廛,钱大玮,等.不同产地连钱草中三萜酸类及黄酮类成分的分析与评价[J].南京中医药大学学报,2006,2(1):44  
WANG Q, DUAN JA, QIAN DW, *et al.* Analysis and evaluation of triterpenic acid and anthoxanthin contents in cat's-foot grown in different areas [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2006, 22(1): 44
- [ 17 ] 陈利军,智亚楠,王国君,等.土荆芥花序和叶挥发油的抑菌作用及组分分析[J].植物保护,2014,40(5):40  
CHEN LJ, ZHI YN, WANG GJ, *et al.* The antifungal activity and chemical constituent analysis of essential oils from flowers and leaves of *Chenopodium ambrosioides* [J]. *Plant Protect*, 2014, 40(5): 40
- [ 18 ] 周子晔,林观样,林迦勒,等.浙产连钱草挥发油化学成分的分析[J].中国现代应用药学,2011,28(8):737  
ZHOU ZY, LIN GY, LIN JL, *et al.* Analysis of chemical constituents in volatile oils from *Glechome longituba* (Nakai) Kupr. in Zhejiang province [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2011, 28(8): 737
- [ 19 ] 樊钰虎,周刚,张璐,等.连钱草挥发油的气相色谱-质谱连用分析[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(13):41  
FAN YH, ZHOU G, ZHANG L, *et al.* Analysis of chemical components of volatile oils from *Glechoma longituba* by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2010, 16(13): 41

(本文于2016年9月16日收到)