

国家中药材 GAP 基地产川芎挥发油 化学成分的 GC-MS 分析

吴 琦, 杨秀伟*

(北京大学 药学院 天然药物学系 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100083)

[摘要] 目的:研究国家中药材 GAP 基地“川芎 GAP 都江堰示范基地”种植川芎挥发油的化学成分,为其质量控制和标准制定提供科学依据。方法:采用水蒸气蒸馏法提取挥发油,GC 毛细管柱色谱法进行分析,归一化法测定其相对含量,气相色谱-质谱联用技术辅助人工检索鉴定其化学成分。结果:检出 142 个色谱峰,鉴定了 62 个化合物,占挥发油总量的 87.36%。总结了川芎挥发油中苯酞类化合物及其衍生物的质谱裂解规律,主要存在侧链断裂脱烯、烃和开环脱水再脱羰基两个电子轰击裂解途径。并以此为依据,推测了 4,5-二氢-3,1-二羟基-3-戊基苯酞的结构。结论:“川芎 GAP 都江堰示范基地”种植川芎挥发油的主要化学成分为苯酞类化合物及其衍生物;4,5-二氢-3,1-二羟基-3-戊基苯酞为新的化合物。

[关键词] 川芎;中药材 GAP 基地;挥发油;4,5-二氢-3,1-二羟基-3-戊基苯酞;气相色谱-质谱

[中图分类号] R 284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-5302(2008)03-0276-06

中药川芎为伞形科藁本属植物川芎 *Ligusticum sinense* Hort 的根茎,系传统中药,苏颂谓:川芎“关、陕、蜀川、江东山中多有之,而以蜀川为胜”。川芎药用始载于《神农本草经》,并收载于历版《中国药典》。李时珍称川芎为“血中气药”。川芎性温,味辛,微苦,归肝、胆、心包经,具有活血行气、祛风止痛之功效;主治血瘀气滞所致月经不调、痛经经闭,肝郁气滞而致血行不畅的胸胁疼痛、头痛,风寒湿痹,跌打肿痛等疾病^[1];临床主要用于治疗心脑血管、呼吸系统、泌尿系统及妇科等方面的疾病。现代药理学研究表明:川芎挥发油有明显的解热作用,可使家兔下丘脑组织中 5-羟色胺和多巴胺含量增高^[2]。药代动力学研究表明:川芎挥发油小鼠腹腔注射和灌胃给药其体存量的表观药动学过程均符合一室开放模型,灌胃给药的绝对生物利用度为 60.02%^[3];大鼠鼻腔给药血药达峰时间较快、吸收迅速、起效时间短^[4];应用毒效学方法测定小鼠灌胃及腹腔注射川芎挥发油的表观药动学参数,腹腔注射和灌胃给药其体存药量的表观药动学过程均符合一室开放模型,灌胃给药的相对生物利用度为 17.50%^[5]。川芎挥发油中的藁本内酯、新蛇床子内

酯(neocnidilide)和正丁烯基苯酞等对安息香酸有透皮吸收促进作用^[6]。头痛灵口服液主要由川芎蒸馏液组成,对偏头痛具有治疗作用。因此,川芎挥发油是川芎的药效组分之一。关于川芎挥发油化学成分的研究报道较多^[7-9],作为国家中药材规范化种植(GAP)基地中药质量评价系统性研究的一部分,本研究报道“川芎 GAP 都江堰示范基地”种植川芎挥发油化学成分的研究。

1 仪器和材料

GC-MS 条件 美国 Finnigan 公司 TRACE MS 2000 型气相色谱-质谱联用(GC-MS)仪, Xcalibur 工作站 NIST 标准质谱图库。DB-5 (5% 苯基聚硅氧烷)MS 型弹性石英毛细管柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)。升温程序:起始柱温 50 °C,维持 3 min,以 8 °C · min⁻¹ 升温至 180 °C;再以 5 °C · min⁻¹ 升温至 240 °C。进样口温度 270 °C;载气高纯氮气,流速 1.0 mL · min⁻¹;分流比进样,分流比 1:40;进样量 0.3 μL。接口温度 250 °C;EI 电离;电子能量 70 eV;离子源温度 200 °C;溶剂延迟时间 0 min;质量扫描范围 *m/z* 35~450;扫描速度 2 000 amu · s⁻¹。

川芎药材于 2007 年 5 月下旬采自国家中药材 GAP 基地“川芎 GAP 都江堰示范基地”,经北京大学药学院天然药物及仿生药物国家重点实验室杨秀伟教授鉴定为伞形科藁本属植物川芎 *L. sinense* Hort。

[收稿日期] 2007-10-05

[通讯作者] * 杨秀伟, Tel: (010) 82805106, 62070317, E-mail: xwyang@bjmu.edu.cn

的干燥根茎。凭证标本 (No. 20070701) 存放在北京
大学药学院天然药物及仿生药物国家重点实验室。

2 方法

2.1 挥发油的制备 称取已粉碎至 24 目数的生药
川芎粉末 100 g, 按固液比 1:5 加入蒸馏水 500 mL,
浸泡 4 h 后按 2005 年版《中国药典》一部附录方法
(不加二甲苯) 进行水蒸气蒸馏, 至馏出液无油珠止
(约 4 h), 得淡黄色透明状挥发油 0.7 mL, 收油率为
0.7%; 无水硫酸钠干燥, 备用。

2.2 挥发油化学成分分析 对总离子流图中的

各峰经质谱扫描后得到质谱图, 通过 Xcalibur 工作
站 NIST 标准质谱图库进行检索, 结合有关文献进行
人工检索和解析, 并查对有关质谱资料, 从基峰相对
丰度等几个方面进行直观比较, 确认各化合物; 通过
Xcalibur 工作站数据处理系统, 按峰面积归一化法
计算各化合物在挥发油中的百分含量。

3 结果

3.1 色谱峰的确认和含量 在上述优化的试验条件
下进行川芎挥发油的 GC-MS 分析, 共分离出 142 个
色谱峰, 鉴定了 62 个化合物, 相对含量见表 1。

表 1 川芎挥发油化学成分组成

No.	t/min	化合物名称	相对分子质量	分子式	相对含量 /%
1	1.88	2,2-二甲氧基丙烷 2,2-dimethoxypropane	104	C ₅ H ₁₂ O ₂	0.76
2	3.25	1,1-二甲氧基-2-甲基丙烷 1,1-dimethoxy-2-methylpropane	118	C ₆ H ₁₄ O ₂	0.72
3	6.28	α侧柏烯 α-thujene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.04
4	6.45	左旋石芥萜烯 (-)-orthodene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.12
5	7.33	β水芹烯 β-phellandrene	136	C ₁₀ H ₁₆	1.03
6	7.69	β蒎烯 β-pinene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.19
7	7.86	α乙基-2-己烯醛 α-ethyl-2-hexenal	126	C ₈ H ₁₄ O	0.05
8	8.07	α水芹烯 α-phellandrene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.05
9	8.31	4-萜烯 4-carene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.23
10	8.37	3-乙基-4-甲基-戊醇 3-ethyl-4-methyl-1-pentanol	130	C ₈ H ₁₈ O	0.05
11	8.47	对伞花烯 p-cymene	134	C ₁₀ H ₁₄	0.43
12	8.58	α柠檬烯 α-limonene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.07
13	8.62	β侧柏烯 β-thujene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.11
14	9.19	γ松油烯 γ-terpinene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.98
15	9.77	δ松油烯 δ-terpinene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.86
16	9.86	苯乙烯 styrene	132	C ₁₀ H ₁₂	0.04
17	10.05	β芳樟醇 β-linalool	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.14
18	10.59	顺式-2-对薄荷烯-1-醇 cis-2-pmenthen-1-ol	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.09
19	10.94	反式-2-对薄荷烯-1-醇 trans-2-pmenthen-1-ol	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.22
20	11.24	6-丁基-1,4-环庚二烯 6-butyl-1,4-cycloheptadiene	150	C ₁₁ H ₁₈	1.06
21	11.73	4-松油醇 4-terpineol	154	C ₁₀ H ₁₈ O	4.77
22	11.81	对伞花烯-8-醇 p-cymen-8-ol	150	C ₁₀ H ₁₄ O	0.13
23	11.98	α松油醇 α-terpineol	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.52
24	13.73	黄樟醚 safrole	162	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	0.96
25	14.10	对乙烯基愈疮木酚 p-vinylguaiacol	150	C ₉ H ₁₀ O ₂	4.14
26	14.49	γ榄香烯 γ-elemene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.37
27	14.70	1,3-环己二烯-1,2-二甲酸酐 1,3-cyclohexadiene-1,2-dicarboxylicanhydride	150	C ₈ H ₆ O ₃	0.95
28	14.79	对-丁香酚 p-eugenol	164	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	0.25
29	14.88	苯正戊酮 n-valerophenone	162	C ₁₁ H ₁₄ O	0.51
30	15.07	间苯二酚安息香酸单酯 resorcinol benzoate	214	C ₁₃ H ₁₀ O ₃	0.38
31	15.20	橙花醇乙酸酯 nerol acetate	196	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.19
32	15.35	3-癸烯-2-醇 3-decen-2-ol	156	C ₁₀ H ₂₀ O	0.28
33	15.47	β榄香烯 β-elemene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.51
34	15.60	甲基丁香酚 methyleugenol	178	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	3.72
35	16.12	萜橙蒎烯 cubenene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.99
36	16.46	β金合欢烯 β-farnesene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.29
37	16.88	白菖烯 calarene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.24
38	17.01	环癸烯 cyclodecene	204	C ₁₅ H ₂₆	0.16
39	17.05	α金合欢烯 α-farnesene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.18
40	17.16	左旋-β-芹子烯 (-)-β-selinene	204	C ₁₅ H ₂₆	3.95
41	17.25	γ古芸烯 γ-gurjunene	204	C ₁₅ H ₂₄	1.64
42	18.50	匙叶桉油烯醇 spathulenol	220	C ₁₅ H ₂₄ O	1.95
43	18.65	左旋蓝桉醇 (-)-globbubol	222	C ₁₅ H ₂₆ O	0.32
44	18.82	1-双环[4.1.0]庚烷-7-基-1-戊酮 1-bicyclo[4.1.0]hept-7-yl-1-pentanone	180	C ₁₂ H ₂₀ O	0.62

续表 1

No.	t/min	化合物名称	相对分子质量	分子式	相对含量 /%
45	19.02	8βH 雪松烷-8 醇 8βH-cedran-8-ol	222	C ₁₅ H ₂₆ O	0.32
46	19.34	八氢-3 甲基-1H-2 苯吡喃 octahydro-3-methyl-1H-2-benzopyran	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.86
47	19.61	2,2',4' 三甲基-1 苯基丙酮 2,2',4' trimethylpropionophenone	176	C ₁₂ H ₁₆ O	3.22
48	19.97	正丁烯基苯酐 butylenephthalide	188	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	5.86
49	20.03	4,5 二氢-3β-丁基苯酐 4,5-dihydro-3β-butyphthalide	192	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	6.28
50	20.22	4,5 二氢-3α-丁基苯酐 4,5-dihydro-3α-butyphthalide	192	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	2.25
51	21.22	Z 藁本内酯 Z-ligustilide	190	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	21.08
52	21.93	E 藁本内酯 E-ligustilide	190	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	4.42
53	22.03	3,1 二羟基-3-丁基苯酐 3,1'-dihydroxy-3-butyphthalide	222	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	0.77
54	23.09	正十六醇 1-hexadecanol	242	C ₁₆ H ₃₄ O	1.29
55	24.39	棕榈酸 palmitic acid	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.97
56	24.92	棕榈酸乙酯 ethyl hexadecanoate	286	C ₁₆ H ₃₆ O ₂	0.52
57	25.22	4,5 二氢-3,1 二羟基-3-丁基苯酐 4,5-dihydro-3,1'-dihydroxy-3-butyphthalide	224	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	0.83
58	25.53	4,5 二氢-3,1 二羟基-3-戊基苯酐 4,5-dihydro-3,1'-dihydroxy-3-pentyphthalide	238	C ₁₃ H ₁₈ O ₄	1.96
59	27.19	亚油酸 linoleic acid	280	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	0.50
60	27.28	油酸 oleic acid	280	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.24
61	27.68	亚油酸乙酯 ethyl linoleate	308	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	0.62
62	27.79	油酸乙酯 ethyl oleate	310	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	0.11

从表 1 结果,已鉴定的化合物占挥发油总量的 87.36%,相对含量最高的化合物类群为 8 个苯酐类化合物,分别为:正丁烯基苯酐、4,5 二氢-3β-丁基苯酐、4,5 二氢-3α-丁基苯酐、Z 藁本内酯、E 藁本内酯、3,1 二羟基-3-丁基苯酐、4,5 二氢-3,1 二羟基-3-丁基苯酐和 4,5 二氢-3,1 二羟基-3-戊基苯酐。

3.2 新化合物 根据化合物的质谱裂解规律,推测了一个新化合物的结构,确定为 4,5 二氢-3,1 二羟基-3-戊基苯酐 (4,5-dihydro-3,1'-dihydroxy-3-pentyphthalide)。

4 讨论

4.1 川芎挥发油的主要生物活性化学成分 从表 1 结果,8 个苯酐类化合物合计相对含量占挥发油总量的 43.45%。因此,川芎挥发油中的主要化学成分为苯酐类化合物。文献 [10, 11] 报道丁基苯酐对血栓性脑缺血和偏头痛有预防和治疗作用,提示苯酐类化合物是川芎活血行气、临床上用于治疗心脑血管疾病的有效成分。

4.2 川芎中苯酐类化合物的质谱特征和新化合物的结构推断 正丁烯基苯酐是川芎中苯酐类化合物的基本结构,质谱裂解首先从侧链开始,失去侧链饱和和炔片段后给出基峰碎片 m/z 159。其可能的裂解途径如图 1,碰撞裂解的两个主要途径为:侧链断裂脱烯基和开环脱水再脱羰基。

在 GC-MS 色谱图上,保留时间 (t_R) 为 20.03 和 20.22 min 的 2 个色谱峰有基本相同的质谱图。但是,各碎片峰丰度不同,基峰亦不同,分别为 m/z 108 和 m/z 79。经查阅文献 [8],应为 4,5 二氢-3-

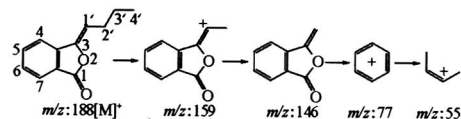


图 1 正丁烯基苯酐可能的裂解途径

丁基苯酐。两者的相对百分含量分别为 6.28% 和 2.25%,从分子稳定性上考虑, t_R 20.03 min 的色谱峰应为 4,5 二氢-3β-丁基苯酐, t_R 20.22 min 的色谱峰应为 4,5 二氢-3α-丁基苯酐。其质谱裂解亦首先从侧链开始,见图 2, 3。

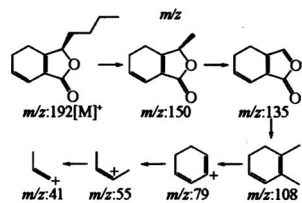


图 2 4,5 二氢-3β-丁基苯酐的质谱图和可能的裂解途径

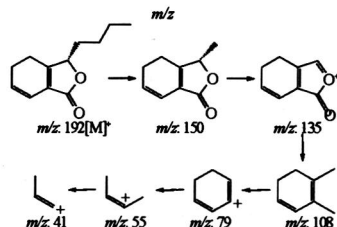


图 3 4,5 二氢-3α-丁基苯酐可能的裂解途径

在 GC-MS 色谱图上, t_R 21.22, 21.93 min 的 2 个色谱峰有基本相同的质谱图,经查阅文献 [7],应为藁本内酯。两者的相对含量分别为 21.08%, 4.42%,参照有关文献 [12],天然的 Z 藁本内酯的

含量高于 *E* 萘本内酯;且分离得到的皆为 *Z* 萘本内酯^[13]。因此,推断 t_R 21.22 min 的色谱峰应为 *Z* 萘本内酯, t_R 21.93 min 的色谱峰应为 *E* 萘本内酯。*Z* 萘本内酯质谱裂解亦首先从侧链开始,碰撞裂解的两个主要途径为:侧链断裂脱烯基和开环脱水再脱羰基见图 4、5。

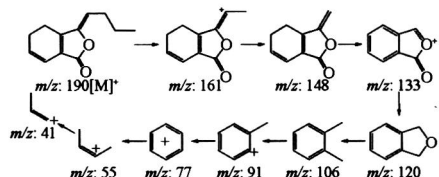


图 4 *Z* 萘本内酯可能的裂解途径

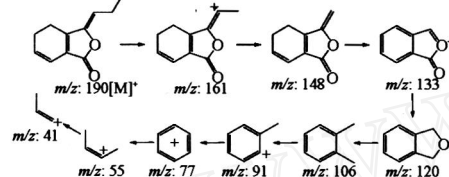


图 5 *E* 萘本内酯可能的裂解途径

在 GC-MS 色谱图上, t_R 22.03 min 色谱峰的质谱,与文献[7]报道的 3,1-二羟基-3-丁基苯酞的一致。裂解从侧链开始,但不是丁基的完全断裂,而是伴随失去羟基后再失去 m/z 12,给出 m/z 193 碎片峰;随后是呋喃氧环开裂,进行逐级裂解,见图 6。侧链裂解驱动母核呋喃氧环开裂,分子结构脆弱,易断裂,给出 m/z 55 为基峰。

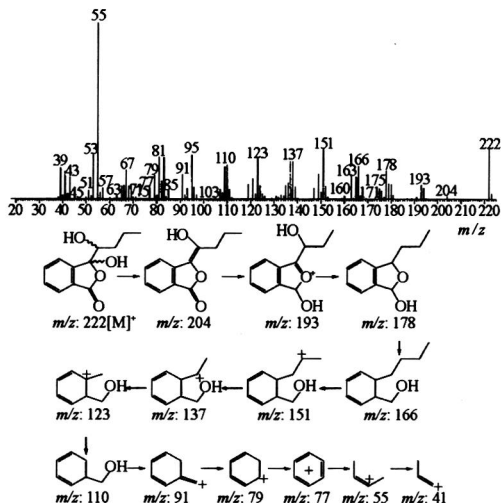


图 6 3,1-二羟基-3-丁基苯酞的质谱图和可能的裂解途径

在 GC-MS 色谱图上, t_R 25.22 min 色谱峰的质谱如图 7,与文献[7]报道的 4,5-二氢-3,1-二羟基-

3-丁基苯酞的一致。裂解途径与 3,1-二羟基-3-丁基苯酞的类似,但侧链邻羟基失去后转化为较稳定结构,给出 m/z 180 为基峰。

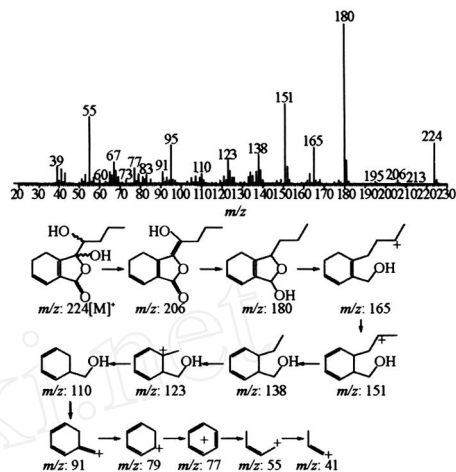


图 7 4,5-二氢-3,1-二羟基-3-丁基苯酞的质谱图和可能的裂解途径

在 GC-MS 色谱图上, t_R 25.53 min 色谱峰的质谱如图 8,与 3,1-二羟基-3-丁基苯酞和 4,5-二氢-3,1-二羟基-3-丁基苯酞的质谱图比较,有许多类似或相同的碎片峰, m/z 179 或 180 以后的断裂几乎是相同的。经逆向连接,确定该化合物的结构为 4,5-二氢-3,1-二羟基-3-戊基苯酞(4,5-dihydro-3,1-dihydroxy-3-pentylphthalide),该化合物为一新的化合物,C-3 和 C-1 的立体构型没有确定,需要通过核磁共振波谱法的 H-3 和 H-1 的耦合常数来确定其相对构型,其他方法确定其绝对构型。详细的结构研究将另行报道。

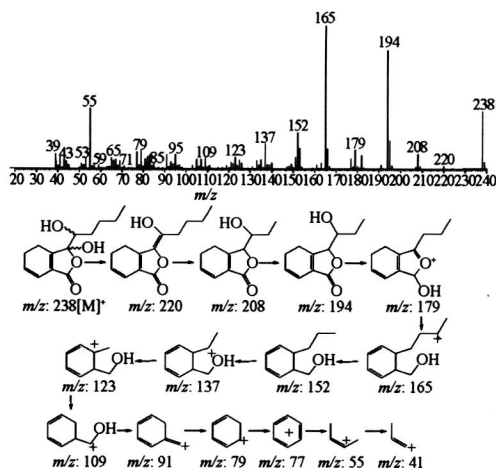


图 8 4,5-二氢-3,1-二羟基-3-戊基苯酞的质谱图和可能的裂解途径

上述川芎挥发油中苯酐及其衍生物质谱裂解规律的总结,为采用 GC-MS 法分析生药川芎、川芎饮片、含有川芎中药复方等中苯酐及其衍生物的定性分析提供了依据;亦为质谱库收载这些化合物的质谱信息提供了数据。同时,上述规律的总结,为新化合物 4,5-二氢-3,1-二羟基-3-戊基苯酐的结构推断提供了科学依据。该新化合物的发现,丰富了川芎化学结构多样性的内容;含有丰富苯酐及其衍生物化学成分的传统中药当归和藁本等中是否亦含有该新化合物的研究工作正在进行中。

[参考文献]

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2005: 28.
- [2] 杨金蓉,李祖伦,胡 荣,等. 川芎挥发油解热作用及其对家兔下丘脑 5-HT、DA 含量的影响 [J]. 中药药理与临床, 2003, 19(2): 17.
- [3] 潘 嘉,王家葵,王一涛. 药效学方法测定川芎挥发油药动学参数 [J]. 中药药理与临床, 1999, 15(2): 13.
- [4] 潘 嘉,潘晓鹏,张白嘉,等. 药效学方法测定川芎挥发油鼻腔给药的药动学参数 [J]. 医药导报, 2006, 25(10): 977.
- [5] 潘 嘉,王家葵,王一涛. 药效学方法测定川芎挥发油药动学参数 [J]. 中药药理与临床, 1999, 15(1): 18.
- [6] Namba T, Sekiya K, Kadota S, et al. Studies on the baths with crude drug. The effects of senkyu extracts as skin penetration enhancer [J]. Yakugaku Zasshi, 1992, 112(9): 638.
- [7] 李桂生,马成俊,李香玉,等. 藁本内酯的稳定性研究及异构化产物的 GC-MS 分析 [J]. 中草药, 2000, 31(6): 405.
- [8] 肖永庆,李 丽,游小琳,等. 川芎化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(7): 519.
- [9] 洪 鹰,季 芳. 川芎中挥发性化学成分的研究 [J]. 中国药业, 2003, 12(6): 31.
- [10] 杨秀伟. 中药成分的吸收、分布、代谢、排泄、毒性与药效 [M]. 北京:中国医药科技出版社, 2006: 260.
- [11] 谢秀琼,詹 珂,尹蓉莉,等. 川芎挥发油的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(6): 1508.
- [12] 杨 帆,肖远胜,章飞芳,等. 当归化学成分的 HPLC-MS/MS 分析 [J]. 药学学报, 2006, 41(11): 1078.
- [13] 金灯萍,彭国平,陆晓峰. 川芎中藁本内酯对照品的制备 [J]. 中草药, 2006, 37(1): 64.
- [14] 苗爱东,梁乾德,刘 勇,等. SPE-HPLC 制备色谱法从当归挥发油中分离纯化 Z-藁本内酯 [J]. 中药材, 2005, 28(9): 778.

GC-MS analysis of essential oil from rhizomes of *Ligusticum chuanxiong* cultivated in GAP Base for Chinese Medicinal Materials of China

WU Qi, YANG Xiu-wei

(State Key Laboratory of Natural and Bioimetic Drugs, Department of Natural Medicines,
School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100083, China)

[Abstract] Objective: To analyze the constituents of the essential oil extracted from the rhizomes of *Ligusticum chuanxiong* cultivated in "GAP base for Chinese medicinal materials of China" (GAP demonstrative base of *L. chuanxiong* in Dujiangyan City of China), and to provide scientific foundation for the quality control and standard establishment of ones. **Method:** The essential oil was extracted by water-steam distillation and separated by GC capillary column chromatography. The components were determined with normalization method, and identified by GC-MS and co-artificial searches. **Result:** One hundred forty-two chromatographic peaks were isolated, among them sixty-two components were identified, which was composed of 87.36% of the total essential oil. The mass fragmentation rules of phthalides and its derivatives in the essential oil were summarized, which primarily underwent two electron impact fragmentation pathways: side-chain cleavage with losses of alkenes/alkanes and ring-opening with elimination of H₂O followed by losses of CO. On the basis of these rules, the plane structure of 4,5-dihydro-3,1-dihydroxy-3-pentylphthalide as a new compound was determined. **Conclusion:** The main components of the essential oil extracted from the rhizomes of *L. chuanxiong* cultivated in "GAP Demonstrative Base of *L. chuanxiong* in Dujiangyan City of China" were phthalides and its derivatives. 4,5-dihydro-3,1-dihydroxy-3-pentylphthalide was a new compound.

[Key words] rhizome of *Ligusticum chuanxiong*; GAP base for Chinese medicinal materials of China; essential oil; 4,5-dihydro-3,1-dihydroxy-3-pentylphthalide; GC-MS

[责任编辑 王亚君]