

GC-MS法测定干姜超临界 CO_2 萃取物的化学成分及其姜酚类成分的追踪

史琪荣^①, 王 莉^②, 闫 荟^①, 杨 峰^①, 陈 艳^③, 孙晓迪^①, 孙世光^①

[摘要] 目的 分析干姜超临界 CO_2 萃取物的化学成分, 并追踪萃取物中的姜酚类成分。方法 采用超临界 CO_2 萃取干姜药材, 用气相色谱-质谱联用技术分析其成分, 6-姜酚和 10-姜酚直接进样分析, 将姜酚图谱与萃取物图谱进行对比分析。结果 从干姜超临界 CO_2 萃取物中鉴定了 52 种成分。在 6-姜酚和 10-姜酚的气相色谱-质谱分析过程中追踪到两者部分裂解或完全裂解为己醛、姜酮和癸醛、姜酮。结论 通过超临界 CO_2 萃取干姜中的干姜油, 既可获得挥发性成分, 又可获得非挥发性成分。姜酚类物质在气相色谱-质谱分析中, 完全或部分发生热裂解, 发生麦氏重排反应, 其产物是对应的醛和姜酮。

[关键词] 干姜; 超临界 CO_2 ; 气相色谱-质谱; 姜酚

[中图分类号] R284 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9926(2011)04-0296-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1008-9926.2011.04.05

Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of the CO_2 Supercritical Fluid Extract of *Zingiber officinale* Rosc and Tracing of gingerol

SHI QI RONG^①, WANG LI^②, YAN HUI^①, YANG FENG^①, CHEN YAN^③, SUN XIAO-DI^①, SUN SHI-GUANG^①

^① Department of Pharmacy, ^② Medical Insurance Office, ^③ Department of Pharmacy,

General Hospital of Beijing Military Command, Beijing 100700, China

[Abstract] **Objective** To analyze the CO_2 supercritical fluid extract of *Zingiber officinale* Rosc by gas chromatography-mass spectrometry and trace the ginger constituents in the extract. **Methods** *Zingiber officinale* Rosc was extracted by CO_2 supercritical fluid technology and was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. 6-gingerol and 10-gingerol were directly injected into gas chromatography-mass spectrometry. The chromatograms of the extract and gingerols were compared under the same condition. **Results** Fifty-two constituents were identified from the extract. 6-gingerol was partially decomposed to hexanal and zingerone, and 10-gingerol was completely decomposed to decanal and zingerone. **Conclusion** Volatile and non-volatile constituents in ginger are both obtained by CO_2 supercritical fluid technology. Gingerols are found to undergo complete or partial thermal dehydration to aliphatic aldehyde and zingerone under gas chromatography-mass spectrometry by McLafferty rearrangement.

[Key words] *Zingiber officinale* Rosc; CO_2 supercritical fluid extraction; gas chromatography-mass spectrometry; ginger

干姜是姜科植物姜 (*Zingiber officinale* Rosc) 的干燥根茎, 味辛, 性热, 有温中散寒, 回阳通脉, 温肺化饮的功能^[1]。干姜的化学成分复杂, 生物活性也具有多样性。挥发油和姜酚类成分为干姜中主要的生物活性物质。干姜挥发油能非竞争性的拮抗乙

酰胆碱和组胺对 M、H₁ 受体的激动效应^[2]; 对中枢神经有显著的抑制作用^[3]; 可抑制 CCl₄ 造成的大鼠慢性肝纤维化形成^[4]; 具有一定的解热镇痛作用^[5]。姜酚类成分对花生四烯酸 (arachidonic acid, AA)、二磷酸腺苷 (adenosine diphosphate, ADP) 诱导的大鼠血小板聚集有良好的抑制作用^[6]; 有强心^[7]、抗肿瘤^[8]和抗晕动作用^[9]。以传统的水蒸气蒸馏法制备干姜挥发油得率低, 而且以干姜的挥发性成分为主, 而超临界 CO_2 萃取技

作者简介: 史琪荣, 博士, 主管药师。研究方向: 中药药效的物质基础和中药制剂的开发。E-mail: sqrong@126.com

作者单位: 100700 北京, 北京军区总医院 ① 药剂科; ② 医保办公室; ③ 药理科

术既能获得干姜中的挥发性成分又能获得非挥发性的姜酚类成分^[10-11]。国内关于利用气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry GC-MS) 技术分析干姜水蒸气蒸馏法或者超临界 CO_2 萃取法获得的提取物的报道很多, 但大多止步于水蒸气蒸馏法、超临界 CO_2 萃取法及分子蒸馏法等方法提取方式的选择与比较, 或者报道 GC-MS 所鉴定的成分, 而对于姜油中含量很高的姜酚类成分在 GC-MS 的分析中没有出现而没有给予深入的思考。

本文采用超临界 CO_2 萃取干姜, 用 GC-MS 对干姜油进行了成分分析, 并对 6-姜酚和 10-姜酚直接进样, 追踪姜酚类成分在干姜油的 GC-MS 质谱行为。

1 仪器与试药

SHIMADZU GCMS-QP2010型色谱-质谱联用仪(日本岛津制作所); CL 10J3型超临界流体萃取机(北京合世科贸有限责任公司); 干姜片[产地: 四川, 购自北京仟草中药饮片有限公司, 经北京军区总医院药剂科吴海燕副主任药师鉴定为干姜(*Zingiber officinale Rosc.*)]。6-姜酚、10-姜酚对照品(纯度均>98%, 均为天津中新药业中药现代化技术工程中心, 批号: W00-45 W03-0-9)

2 方法和结果

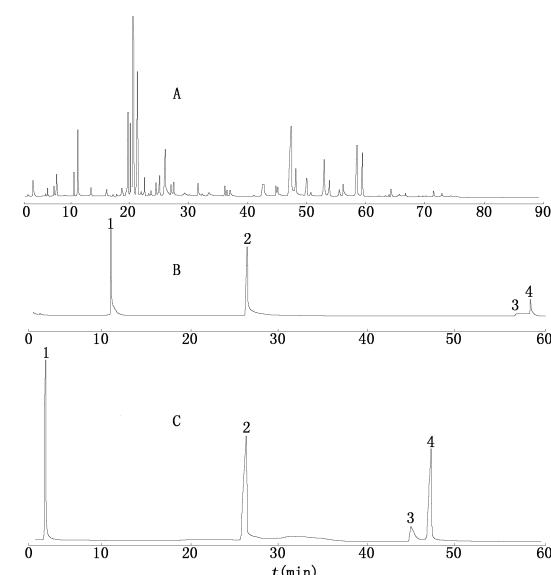
2.1 干姜挥发油的超临界 CO_2 萃取 取 100 g 干姜粗粉, CO_2 超临界萃取。萃取条件: 换能器: 45°C, 22 mPa 分离釜 1: 40°C, 6 mPa 分离釜 2: 42°C, 3 mPa 萃取时间: 2 h, 得油率 2.3%。

2.2 GC-MS 分析条件 (1)色谱柱型号 DB-5 ms $3 \times 104 \text{ mm} \times 0.25 \text{ mm}$; 色谱柱程序升温条件: 柱温: 50°C, 保持 10 min, 程序升温 10°C/min 至 110°C, 保持温度 0 min, 程序升温 3°C/min 升至 300°C, 保持温度 20 min。载气 N_2 , 分流比: 10:1; 进样口温度: 250°C。 (2)质谱条件 离子源温度: 200°C; 电子能量: 70 eV; 扫描范围: 20~650 m/z。

2.3 干姜油和 6-姜酚 10-姜酚的 GC-MS 结果 干姜超临界 CO_2 萃取物经 GC-MS 分析所得的总离子流色谱图见图 1A, 共分离出 63 个色谱峰。各色谱峰经峰纯度检测后得质谱图、经质谱数据库系统检索(质谱数据库 NIST 2008 版)和人工解析, 鉴定干姜超临界 CO_2 萃取物中的化学成分, 以峰面积归一化法测得挥发油各组分的相对含量。本次试验共鉴定

干姜超临界 CO_2 萃取物中的 52 种成分, 占汽化产物总质量的 73.7%。结果见表 1。本研究中含量高的成分包括 α -姜黄烯、姜烯、 β -甜没药烯、 β -倍半水芹烯、 β -桉叶醇、姜酮、二氢辣椒素等, 与文献报道的研究结果在化合物种类上一致, 含量因为干姜产地、采收季节、萃取条件等不同, 分析结果有很大差异^[12-14]。51 号峰, 根据质谱数据库的检索给出的化合物可能是 6-姜酚, 然而相似度只有 77%。于是我们对 6-姜酚和 10-姜酚进行了与姜油相同条件的直接进样分析。

10-姜酚直接进样后, 在其总离子流图中没有 10-姜酚原形的离子峰, 而是裂解为两个峰, 分别为癸醛和姜酮。6-姜酚直接进样后, 在其总离子流图中也没有 6-姜酚原形的离子峰, 而是裂解为 4 个峰, 峰 1 为己醛, 峰 2 为姜酮, 峰 3 和峰 4 经质谱数据库的检索可能为 3, 7, 11, 15 四甲基十六烷醇-2, 6, 10, 14 四烯-乙酸酯和 6-姜酚, 两者的相似度都分别只为 80% 和 73%, 因此鉴定两离子峰的证据不足。6-姜酚和 10-姜酚的离子峰的保留时间与离子碎片、超临界 CO_2 萃取物的总离子流图峰具有很好的对应关系, 见图 1B, C。Connell 和 McLachlan^[15]认为 GC-MS 的进样口温度达到或超过 200°C, 6-姜酚就瞬间裂解为姜酮和己醛, 进入色谱柱; Jolad^[16]等的研究认为 10-姜酚在 GC-MS 分析中发生了完全的热裂解, 而 6-姜酚发生了部分裂解。这与我们的试验结果一致。



A: 干姜; B: 10-姜酚; C: 6-姜酚; B1: 癸醛; B2: 姜酮; C1: 己醛; C2: 姜酮; B3, B4, C3, C4: 暂不能鉴定结构

图 1 超临界萃取物总离子流图

表 1 干姜超临界 CO_2 萃取物中的化学成分及含量

峰号	化学成分	分子式	含量 (%)
1*	己醛	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	1.26
2	α -蒎烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	0.05
3	莰烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	0.14
4	辛醛	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}$	0.60
5	桧烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	0.59
6	2-莰醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	0.56
7	松油醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	0.26
8#	癸醛	$\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}$	1.98
9	2-癸烷酮	$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}$	0.39
10	香芳醇乙酸酯	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_2$	0.12
11	(+)-Cyclosativene	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.11
12	钴钯烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.18
13	=牛儿醇醋酸酯	$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_2$	0.34
14	β -榄香烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.12
15	香柠檬烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.08
16	十一醛	$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}$	0.09
17	γ -榄香烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.10
18	(E)-7,11-二甲基-3-亚甲基-1,6,10-十二碳三烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.38
19 ³	5-三甲基-9-亚甲基-2-4a-6,7,8,9a-六氢-1H-苯并[1,2,3]轮烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.23
20	α -姜黄烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}$	6.93
21	姜烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	21.28
22	吉马烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.98
23	α -法尼烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	1.25
24	β -甜没药烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	3.69
25	δ -杜松烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.26
26	β -倍半水芹烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	10.16
27	Spathulenol	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	0.15
28	[1R-(1a,3a,4b)]-4-乙烯基- α , α -4三甲基-3-(1-甲基乙烯基)环己烷甲醇	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	0.11
29	S-(Z)-3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷三烯-3醇	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	0.60
30	甜没药萜醇	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	0.18
31	9-甲基-5-亚甲基-8-烯-2-癸酮	$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}$	0.42
32	diampacol	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	0.27
33	epiglobulol	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	0.88
34	β -桉叶醇	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	3.77
35#	姜酮	$\text{C}_1\text{H}_{14}\text{O}_3$	1.87
36	β -bisabolol	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	0.31
37	脱氢芳樟醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	0.46
38	法呢醇	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	0.79
39	二氢- α -紫罗兰酮	$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}$	0.71
40	坚果醇	$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}$	0.40
42	(E,E,E)-3,7,11,15-四甲基十六烷-1-3,6,10,14-五烯	$\text{C}_{20}\text{H}_{32}$	0.26
43	棕榈酸	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	0.47
44	香叶基芳樟醇	$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$	0.63
45	亚油酸	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	0.11
46	亚麻酸	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	0.17
48	2-(2-氮-2-丙烯)-环己酮	$\text{C}_{9}\text{H}_{13}\text{NO}_3$	0.89
49	3,3,6-三甲基-4-5庚二烯-2-酮	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	0.54
50*	暂不能鉴定结构	-	0.16
51*	暂不能鉴定结构	-	12.33
53	二氢阿魏酸乙酯	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	1.90
58	2,5-二丁基呋喃	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	1.08
60	二氢辣椒素	$\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_3$	3.94
62	γ -谷甾醇	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	0.37
63	(2,6-6-三甲基环己基-1-基)甲基碘酰苯	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	0.25

* 6-姜酚热分解后的产物; # 10-姜酚热分解后的产物。

3 讨论

在气相色谱法中, 6-姜酚和 10-姜酚分别裂解为己醛、姜酮和癸醛、姜酮。根据裂解质谱裂解规律, 两者分别发生了麦氏重排。裂解过程以 10-姜酚为例, 见图 2。

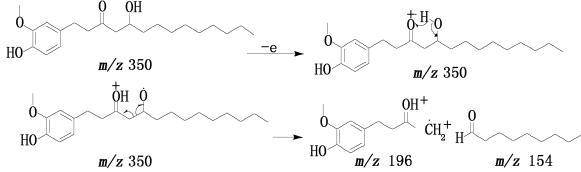


图 2 10-姜酚发生麦氏重排图

由此可以类推, 干姜油的 GC-MS 总离子流图中的峰 4 辛醛, 也不是干姜油中的原形成分, 是 8-姜酚的裂解产物。因此 GC 色谱不适用于姜酚类成分的定量分析。

研究表明, 通过超临界 CO_2 萃取干姜中的干姜油, 既可获得挥发性成分, 又可获得非挥发性成分^[17], 方法稳定, 提取效率高。对获得的干姜油进行 GC-MS 分析, 鉴定干姜超临界 CO_2 萃取物中的 52 种成分, 占汽化产物总质量的 73.7%。通过对照品比对, 进一步明确了姜酚类物质在 GC-MS 分析中, 完全或部分发生热裂解, 发生麦氏重排反应, 其产物是对应的醛和姜酮。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010. 13-14
- [2] 姚秀娟, 迟立群, 姚国杰, 等. 干姜醇提物对豚鼠离体回肠收缩的影响 [J]. 西北药学杂志, 1994, 9(1): 26-29
- [3] 蒋苏贞, 周婷婷. 姜油对小鼠中枢神经系统的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 180-182
- [4] 耿涛, 谢梅林, 孙晓飞. 生姜油治疗大鼠肝纤维化实验研究 [J]. 中国药物与临床, 2010, 10(3): 280-283
- [5] 余悦, 白筱璐, 李兴平, 等. 干姜油的解热作用 [J]. 中药药理与临床, 2009, 25(3): 28-30
- [6] 蒋苏贞, 宓穗卿, 王宁生. 姜酚抗血小板作用及其药效动力学研究 [J]. 中药药理与临床, 2009, 26(3): 10-13
- [7] Kobayashi M, Ishida Y, Shoji N, et al. Cardiotonic action of 8-gingerol, an activator of the Ca^{2+} +-pumping adenosine triphosphatase of sarcoplasmic reticulum, in guinea pig atrial muscle [J]. J Pharmacol Exper Ther, 1988, 246(2): 667-673
- [8] Park K, Chun K, Lee J, et al. Inhibitory effects of 6-gingerol, a major pungent principle of ginger, on phorbol ester-induced inflammation, epidermal ornithine decarboxylase activity and skin tumor promotion in ICR mice [J]. Cancer Letters, 1998, 129(2): 139-144

(下转 302 页)

TAX注射液的 $t_{1/2}$ 为 (51.68 \pm 7.189) min, 复方 TAX 胶囊的 $t_{1/2}$ 为 (310.08 \pm 43.09) min, 口服制剂在体内的消除速率显著低于注射剂, 在体内滞留时间延长, 有利于药物发挥疗效。

考察制剂相对生物利用度时最好以相同给药途径的制剂作为参比制剂, 由于目前市场上无口服 TAX 制剂出售, 所以曾考虑给予 TAX 原料药 (0.5% CMC-Na 为混悬剂) 做为参比制剂, 但给药剂量达到正常剂量 20 倍时仍无吸收, 故选择上市的 TAX 注射剂作为参比制剂。

口服给药被认为是最方便的给药途径, 而 TAX 口服时却存在生物利用度极差的问题, 难于经口服给药。文献 [15] 报道, 由于胃肠道上皮细胞中存在 P-糖蛋白 (P-gp) 抑制剂, 导致紫杉醇几乎不被吸收入血。由图 2 图 3 可以看出, 本制剂中将 TAX 制备成包合物, 提高了其溶解度和稳定性, 同时汉防己甲素联合应用, 确实提高了 TAX 的口服生物利用度。此外, P-gp 抑制剂除了增强口服生物利用度外, 还可以通过抑制存在于癌细胞中的 P-gp 有利于克服 TAX 多药耐药性的缺点。

[参考文献]

- [1] Ramesh Pandaguna. Pharmacological aspects of Paclitaxel [J]. *Int J Pharm*, 1998, 172: 1-15
- [2] 杨春江, 王志刚, 李攀, 等. 载药脂质微泡造影剂在小鼠体内的药代动力学及定位释放实验研究 [J]. 临床超声医学杂志, 2006, 8(9): 513-516
- [3] 全新勇, 周建平, 谭燕, 等. 不同量羧甲基壳聚糖修饰紫杉醇

(上接 298 页)

- [9] AbdelAziz H, Wiedeck T, Ploch M, et al. Mode of action of gingerols and shogaols on 5-HT3 receptors binding studies, cation uptake by the receptor channel and contraction of isolated guinea-pig ileum [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 530(1-2): 136-143
- [10] 宣伟东, 卞俊, 刘娟, 等. 生姜抗晕动病有效部位化学成分分析 [J]. 中国药房, 2009, 20(30): 2362-2364
- [11] 梅树莲, 郑秋霞, 邹纲明. 姜精油的 GC-MS 分析 [J]. 吉林化工学院学报, 2005, 22(1): 11-12
- [12] 邱琴, 张国英, 刘辛欣, 等. 超临界 CO_2 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): 55-57
- [13] 吴惠勤, 张桂英, 史志强, 等. 超临界 CO_2 流体萃取姜油及其成分的 GC/MS 分析 [J]. 质谱学报, 2000, 21(3, 4): 85-86
- [14] 张忠义, 雷正杰, 王鹏, 等. 超临界 CO_2 分子蒸馏对干姜有

脂质体对大鼠体内药动学的影响 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11(3): 328-331

- [4] 叶敏, 朱珠, 傅强, 等. HPLC 测定人血浆中紫杉醇浓度 [J]. 中国药学杂志, 1999, 34(1): 41-43
- [5] 何蕾, 王桂玲, 张强. 紫杉醇纳米乳剂的体内外考察 [J]. 药学学报, 2003, 38(3): 227-230
- [6] 张学农, 唐丽华, 阎雪莹, 等. 紫杉醇冻干注射剂在大鼠体内的药物动力学研究 [J]. 中国药学杂志, 2004, 45(13): 10-12
- [7] 厉保秋, 高彦慧, 甘一如, 等. 紫杉醇纳米制剂的药动学、荷瘤小鼠组织分布及系统毒性 [J]. 食品与药品, 2005, 7(10A): 35-39
- [8] 葛召恒, 李桦, 王宁, 等. 紫杉醇在犬体内的药动学 [J]. 中国药学杂志, 1997, 32(10): 603-605
- [9] 周卫, 吕琦, 翁帼英. 紫杉醇脂质体在大鼠体内的药动学 [J]. 中国药科大学学报, 2000, 31(6): 443-446
- [10] 李凤前, 陆彬, 陈文彬, 等. 肺靶向汉防己甲素缓释微囊的小鼠体内分布 [J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(5): 259-261
- [11] 熊慧瑜, 李艳芳. 建立离子对高效液相色谱法检测小鼠血浆中粉防己碱浓度的方法 [J]. 中国临床药理学杂志, 2004, 20(1): 56-59
- [12] 谭桂山, 戴智勇. 高效液相色谱法测定人血浆中汉防己甲素 [J]. 湖南医科大学学报, 2000, 25(4): 409-510
- [13] 董慧, 赵春景, 马文秀, 等. 高效液相色谱法测定人血浆中紫杉醇浓度 [J]. 第三军医大学学报, 1999, 21(5): 379-380
- [14] 高彦慧, 厉保秋, 甘一如, 等. 紫杉醇纳米粒注射液在荷瘤小鼠体内的组织分布及抗肿瘤作用 [J]. 山东大学学报 (医学版), 2006, 44(8): 823-830
- [15] 郑蕙婵, 郑曙荣, 权栩赞, 等. 增溶紫杉醇的组合物及其制备方法 [P]. PCT Int Cl A61K 31/337.

(收稿日期: 2009-10-21; 修回日期: 2010-09-09)

(本文编辑 梁爱君)

效成分的萃取与分离 [J]. 中药材, 2001, 24(8): 576-577

- [15] Connell DW, MacLachlan R. Natural pungent compounds. IV. Examination of the gingerols, shogaols, paradols and related compounds by thin-layer and gas chromatography [J]. *J Chromatography A*, 1972, 67(1): 29-35
- [16] Jolad SD, Lantz RC, Solyom AM, et al. Fresh organically grown ginger (*Zingiber officinale*): composition and effects on LPS-induced PGE2 production [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(13): 1937-1954
- [17] 战琨友, 王超, 徐坤, 等. 气相色谱法-质谱技术分析姜油树脂中的挥发性及非挥发性成分 [J]. 色谱, 2008, 26(6): 692-696

(收稿日期: 2011-02-14; 修回日期: 2011-06-07)

(本文编辑 梁爱君)