

GC-MS 分析番石榴叶乙醇提取物的化学成分^{*}

黄建林, 张展霞

(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘要: 将 GC-MS 技术和硅烷化反应结合在一起分离、鉴定了番石榴叶乙醇提取物的化学成分。将样品质谱图与标准物质的质谱图和保留时间或与标准谱图库中的谱图进行对比鉴定了 53 种成分, 另有 10 种成分是根据离子碎裂机理推测出来的。归一化定量分析结果显示三萜酸、糖和多酚是番石榴叶乙醇提取物中的主要成分。

关键词: GC-MS 分析; 番石榴叶; 化学成分

中图分类号: O656.2 文献标识码: A 文章编号: 0529-6579 (2004) 06-0117-04

药用植物化学成分的组成是影响其药效的重要因素之一, 因此植物化学成分的鉴定对评价其药用价值具有重要意义。分离、提纯和波谱分析相结合的传统的鉴定方法的突出优点是分析结果准确可靠, 但植物样品用量大, 操作繁琐, 易丢失低含量成分, 鉴定周期长, 成本高。

色谱与质谱联用技术结合了色谱法分离效能高、质谱法定性能力强的优点, 是快速分离和鉴定药用植物化学成分的有力工具。成用 GC-MS 联用技术定性鉴定植物中的挥发性成分, 一般经过 0.5~1 h 的色谱分离即可获得数 10 种化合物的色谱峰, 然后通过计算机检索与标准谱图库中的谱图进行对比确定各色谱峰代表的化合物。GC-MS 分析具有快速、结果准确可靠的优点, 在植物挥发性成分的分离和鉴定方面得到了广泛应用^[1-3], 但鲜见采用 GC-MS 联用技术分离和鉴定极性大、难挥发化合物的文献报道。LC-MS 适合分离和鉴定极性大、挥发度低、热稳定性差的化合物。然而, LC-MS 联用仪很少采用标准的 EI 电离源, 所以 LC-MS 分析得到的质谱图往往不能采取与现有的标准质谱图进行对比的方法来解析, 而是要根据电离机理去解析, 这就使得 LC-MS 的定性分析鄙 GC-MS 的定性分析复杂得多, 因此, 目前在药用植物化学成分的定性鉴定方面的应用有限。

番石榴叶是传统的中药, 民间有用番石榴叶及其提取物治疗肠胃炎、痢疾、糖尿病等疾病的传统^[6,7]。番石榴叶中挥发油的 GC-MS 定性分析与定量分析已有文献报道^[8]。本文定性鉴定的重点在番石榴叶中的非挥发性成分。我们首先采用硅烷化法将番

石榴叶的乙醇提取物制成适合气相分析的三甲基硅烷衍生物, 然后应用 GC-MS 联用技术分离、鉴定了提取物中的 63 种化合物。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

GC-MS 联用仪 (岛津, 日本), DB-5MS 气相色谱柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), NIST27、NIST147、PMW-TOX2 标准谱图库。MARS-X 微波加速溶剂提取仪 (CEM, 美国)。

没食子酸 (瓯海精细化学试剂公司, 浙江)。3, 4-二羟基苯甲酸 (中国医药集团上海化学试剂公司)。2, 5-二羟基苯甲酸, *p*-羟基肉桂酸, 鞣花酸, 熊果酸, BSTFA (Sigma, 美国)。齐墩果酸, 儿茶素 (中国药检所, 北京)。槲皮素 (ACROS, 美国)。分析纯乙醇 (广州化学试剂厂)。

番石榴叶采自中山大学校园, 晾干粉碎后置干燥器中避光保存备用。

1.2 分析样品的制备

称取 0.500 0 g 40~60 目干燥的番石榴叶置于微波萃取罐中, 加 10 mL 乙醇。将密闭的萃取罐置于微波炉内, 于 80 °C 加热 15 min。待萃取罐冷却后, 过滤, 残渣用乙醇清洗 2~3 次, 合并滤液和洗涤液, 用乙醇定容至 10 mL。取 100 mL 提取液至 2 mL 样品瓶中, 用 N₂ 气吹干, 加 30 μL BSTFA, 盖紧盖子, 振摇 30 s, 70 °C 衍生化 30 min。

1.3 GC-MS 分析

取 1 mL 衍生化溶液注入进样口, 高纯氦气为载气, 柱流量为 1.0 mL/min。进样口和接口温度均

* 收稿日期: 2004-04-14

基金项目: 广东省重大科技基金资助项目 (A301020301)

作者简介: 黄建林 (1961 年生), 女, 博士研究生; 通讯联系人: 张展霞, 博士生导师; E-mail: ceszxx@zsu.edu.cn

为 280 ℃。柱升温程序，起始温度 80 ℃，停留 3 min，以 10 ℃/min 速度升温至 300 ℃，保持 20 min。电子轰击能量为 70 eV。MS 质量扫描范围，35 ~ 1 000。

2 结果与讨论

乙醇提取物的总离子流色谱图如图 1 所示。将样品质谱图与标准谱图库中的谱图进行对比鉴定了表 1 中 1—47、49、50 和 52 号共 50 种成分，其中 2, 5-二羟基苯甲酸、3, 4-二羟基苯甲酸、*p*-羟基肉桂酸，没食子酸、(+) -儿茶素和槲皮素另有标准物质的质谱图和保留时间与之对比。

44 和 46 号化合物具有相同的质谱，是蔗糖的 2 个异构体。

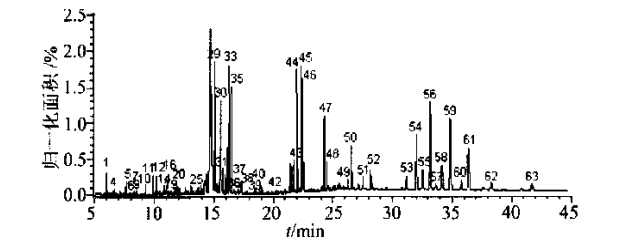


图 1 番石榴叶乙醇提取物的总离子流色谱图
Fig 1 Total ion current chromatogram of ethanol extract of guava leaves

表 1 番石榴叶乙醇提取物的化学成分和相对含量									
Tab 1 Chemical components and relative contents in the ethanol extract of guava leaves									
编号	保留时间 min	化合物名称	匹配度	归一化 面积/%	编号	保留时间 min	化合物名称	匹配度	归一化 面积/%
1	5.983	二环[4.2.0]-7,8-二羟基-3,7-辛二烯	74	0.64	29	15.083	6-脱氧β-L-甘露呋喃糖	87	4.25
2	6.133	二硫代赤藓糖醇	72	0.09	30	15.600	D-葡萄糖	98	2.10
3	6.542	苯胺羧酸	81	0.12	31	15.750	D-吡喃木糖	88	0.69
4	6.683	2-氨基丁酸	76	0.20	32	16.117	p-羟基肉桂酸	85	0.03
5	7.667	甘油	96	0.36	33	16.292	没食子酸	91	4.09
6	7.992	苯乙酸	93	0.12	34	16.350	阿拉伯糖酸内酯	77	0.13
7	8.292	丁二酸	93	0.12	35	16.508	吡喃葡萄糖	97	3.56
8	8.408	1-甲基-1-(4-甲基-3-环己烯-1-基)乙醇	85	0.04	36	17.042	2-脱氧吡喃半乳糖	83	0.14
9	8.533	2,3-二羟基丙酸	95	0.09	37	17.233	棕榈酸	92	0.46
10	9.250	咕吧烯	94	0.28	38	17.358	β-D-呋喃半乳糖	84	0.37
11	9.892	石竹烯	94	0.64	39	18.875	油酸	86	0.08
12	10.158	十氢-1,1,7-三甲基-4-甲叉-1H-环丙基c]	93	0.58	40	48.992	β-D-吡喃半乳糖苷	84	0.21
13	10.650	7-甲基-4-甲叉-1-(1-甲基乙基)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢化萘	90	0.06	41	19.125	十八烷酸	87	0.11
14	10.808	苹果酸	96	0.28	42	20.375	α-甲基葡萄糖苷	79	0.11
15	10.950	绿叶烯	83	0.05	43	21.742	D-松二烯	78	0.99
16	11.008	丁化羟基甲苯	91	0.21	44	22.025	蔗糖	88	4.25
17	11.067	赤藓醇	94	0.05	45	22.408	β-D-呋喃果糖基α-D-吡喃葡萄糖苷	90	4.81
18	11.283	1,6-二甲基-4-(1-甲基乙基)-1,2,3,4-四氢化萘	86	0.06	46	22.492	蔗糖	92	3.71
19	11.425	二甲基-4-(1-甲基乙基)-1,2,3,4,4a,7-六氢化萘	75	0.15	47	24.275	(+)-儿茶素	87	2.55
20	11.742	2,3,4-三羟基丁酸	82	0.21	48	24.550	没食子儿茶素		0.1
21	11.825	表蓝桉醇	87	0.06	49	26.292	二十八烷醇	83	0.34
22	11.908	2,3,5-三羟基-D-核酸γ-内酯	78	0.21	50	26.575	槲皮素	57	2.35
23	12.092	氧化石竹烯	90	0.14	51	27.575	鞣花酸		0.44
24	12.142	蓝桉醇	91	0.16	52	28.157	β-谷甾醇	94	1.03
25	13.675	阿糖醇	90	0.24	53	31.183	齐墩果酸		1.43
26	13.942	2-脱氧核糖	75	0.08	54	32.050	熊果酸		5.23
27	14.317	2,5-二羟基苯甲酸	79	0.06	55	32.567	三萜酸-1		2.09
28	14.817	3,4-二羟基苯甲酸	78	0.04	56	33.192	三萜酸-2		9.19
					57	33.617	三萜酸-3		0.70
					58	34.150	三萜酸-4		4.56
					59	34.875	三萜酸-5		8.87
					60	35.783	三萜酸-6		1.27
					61	36.408	三萜酸-7		5.81
					62	38.325	三萜酸-8		1.12
					63	41.733	三萜酸-9		1.17

图 2 (a) 是(+) -儿茶素的质谱图。(+) -儿茶

素的 BSTFA 衍生物的分子离子($m/z=650$)通过逆 Diels-Alder(RDA)裂解产生了 m/z 为 368 的强碎片离子峰,如图 3 (a)所示。没食子儿茶素与(+)-儿茶素同属于黄烷醇,分子结构中只是在 B 环比(+)-儿茶素多了一个羟基,因此分子离子($m/z=738$)的碎裂方式与(+)-儿茶素相同,即通过 RDA 裂解产生 m/z 为 456 的强碎片离子峰,如图 3 (b)所示。表 1 中的第 48 号化合物的色谱峰与(+)-儿茶素相邻,并且图 2 (b)显示,其质谱特征与没食子儿茶素的相符,由此推测该化合物为没食子儿茶素。

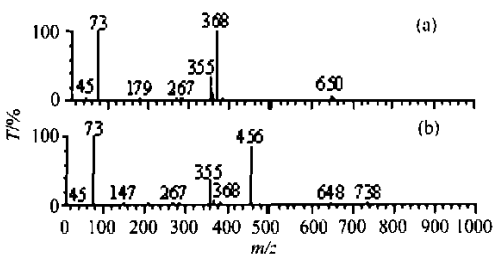


图 2 (+)-儿茶素(a)和 49 号化合物(b)的质谱
Fig 2 Electron impact mass spectra of (+)-catechin(a) and component 49(b)

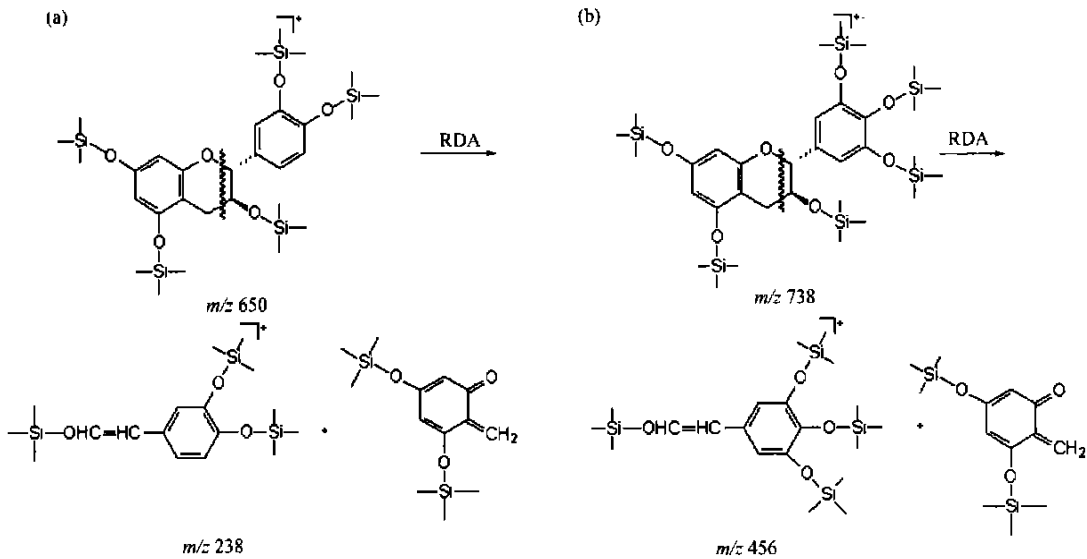


图 3 (+)-儿茶素(a)和没食子儿茶素(b)的主要质谱碎片
Fig 3 Principal mass spectral fragments of (+)-catechin(a) and gallicocatechin (b)

第 51 号化合物的分子离子峰的 m/z 为 590,强碎片离子峰的 m/z 为 575,与标准物质的质谱图和保留时间比较后确定该化合物为鞣化酸。

第 53 和 54 号化合物的质谱图几乎完全相同,只是在碎片离子的相对强度上存在微小的差异,如图 4 (a)和(b)所示,与标准物质的质谱图和保留时间比较后确定这 2 种化合物分别为齐墩果酸和熊果酸。齐墩果酸的 BSTFA 衍生物的分子离子($m/z=600$)通过 RDA 裂解得到 m/z 分别为 203、320、189 和 133 的碎片离子,如图 5 所示。

表 1 中的第 55—63 号化合物 BSTFA 衍生物的质谱与齐墩果酸、熊果酸的相似, m/z 为 203、320、133 和 189 的离子是主要的共同碎片离子,如图 4 (c)所示。由此推测,这些化合物是齐墩果酸和熊果酸的同系物,是具有环内双键的五环三萜酸。

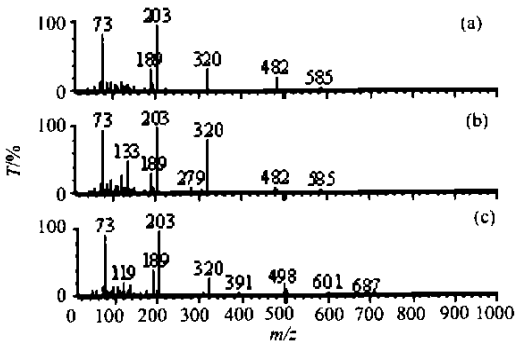


图 4 齐墩果酸(a)、熊果酸(b)和
第 56 号化合物(c)的质谱
Fig 4 Electron impact mass spectra of oleanolic acid (a), ursolic acid (b) and component 56

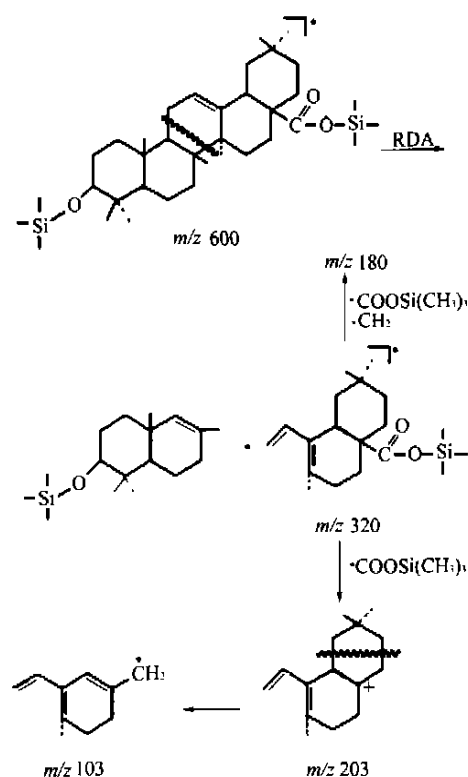


图5 齐墩果酸的主要质谱碎片

Fig. 5 Principal mass spectral fragments of oleanolic acid

乙醇提取物共检测到 78 个色谱峰, 采用归一化法测定了各物质的相对含量 (见表 1)。将鉴定了的化合物分为有机酸、糖、多酚、三萜酸、挥发油和其它 6 类, 各类化合物相对含量从高到低的排列顺序为三萜酸 (40.27%)、糖 (28.25%)、多酚 (10.53%)、其它 (2.57%)、挥发油 (2.39%)、有机酸 (1.97%)。主要的多酚化合物为没食子酸、槲皮素、(+)-儿茶素、没食子儿茶素和鞣化酸。

3 结 论

将 GC-MS 联用技术与硅烷化反应结合在一起, 扩大了 GC-MS 分析的应用范围, 不仅分离、鉴定了番石榴叶乙醇提取物中的挥发性成分, 还快速分离、鉴定了其中含量较高的三萜酸、多酚和碳水化合物等非挥发性成分。

参考文献:

- [1] BILIA A R, FLAMINI G, TAGLIOLI V, et al. GC-MS analysis of essential oil of some commercial Fennel teas [J]. Food Chemistry, 2002, 76 (3): 307—310.
- [2] LOCKWOOD G B. Techniques for gas chromatography of volatile terpenoids from a range of matrices [J]. J Chromatogr A, 2001, 936(1—2): 23—31.
- [3] 黄亚非, 张永明, 陶玲, 等. 广东野菊花挥发油的化学成分 [J]. 分析测试学报, 2001, 20 (6): 40—41.
- [4] 任三香, 王发松, 胡海燕, 等. 川桂皮挥发油的化学组成 [J]. 分析测试学报, 2002, 21 (3): 83—85.
- [5] JORDÁN M J, MARGAÑA C A, SHAW P E, et al. Volatile components and aroma active compounds in aqueous essence and fresh pink guava fruit puree (*Psidium guajava* L.) by GC-MS and multidimensional GC/GC-Q [J]. J Agric Food Chem, 2003, 51 (5): 1421—1426.
- [6] 全国中草药汇编委员会. 全国中草药汇编 (上册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1975: 856.
- [7] YORIKO D, KUNIKO O, KAZUMI U, et al. Effects of extract of guava leaves on the development of diabetes in the db/db mouse and on the postprandial blood glucose of human subjects [J]. Nippon Noeikagaku Kaishi, 1998, 72 (8): 923—931.
- [8] SILVA J D, LUZ A I R, SILVA M H L, et al. Essential oils of the leaves and stems of four *Psidium* spp [J]. Flavour Fragr J, 2003, 18: 240—243.

Gas Chromatographic-mass Spectroscopic Analysis of the Chemical Components in the Ethanol Extract of Guava Leaves

HUANG Jian-lin, ZHANG Zhan-xia

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The chemical components in the ethanol extract of guava leaves were analyzed by combining GC-MS technique with silylation reactions. Individual components were identified by comparison of both mass spectra and GC retention time with those of authentic compounds or by comparison of mass spectra with those existing in the data system libraries. Other identifications were made according to the ionization mechanism. The major components in the ethanol extract of guava leaves included triterpenic acids, carbohydrates and polyphenols.

Key words: GC-MS; guava leaves; chemical components