

羌活饮片挥发油化学成分 GC-MS 数字化指纹图谱研究

张桂芝, 朱佳丽, 孟庆华

(徐州师范大学化学化工学院, 江苏 徐州 221116)

摘要:目的 建立羌活饮片挥发油的气相色谱-质谱(GC-MS)数字化指纹图谱,以控制羌活饮片的质量。方法 用水蒸气蒸馏法提取样品的挥发油后,采用 GC-MS 联用法测定挥发油的化学成分。色谱条件为采用 HP-5 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm φ, 1 μm);载气为氦气;体积流量 1.0 mL/min;分流比 50:1;进样温度 270 ℃。程序升温方式为初始柱温 70 ℃,维持 3 min,以 10 ℃/min 升至 250 ℃,维持 5 min。结果 建立了 11 批羌活饮片挥发油化学成分的 GC-MS 数字化指纹图谱,标定了 40 个共有峰,占总色谱峰面积的 80.8%~90.6%。其中峰面积较大的化合物为 1*R*-α-蒎烯、β-蒎烯、桉油醇、冰菖蒲酮、*D*-柠檬烯、4-松油醇、对伞花烃、乙酸龙脑酯、α-松油醇、γ-松油烯、龙脑、布黎醇。结论 所建立的 GC-MS 指纹图谱能用于羌活和宽叶羌活饮片的鉴定和质量控制。且方法灵敏度高,重复性良好。

关键词:羌活饮片;挥发油;化学成分;气相色谱-质谱;数字化指纹图谱

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2011)12-2034-04

Digitized fingerprint and GC-MS chemical components of essential oils from processed *Notopterygii Rhizoma et Radix*

ZHANG Gui-zhi, ZHU Jia-li, MENG Qing-hua

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Xuzhou Normal University, Xuzhou 221116, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish the digitized fingerprint of the essential oils of processed *Notopterygii Rhizoma et Radix* by GC-MS for the quality control. **METHODS** The essential oil were obtained by steam distillation, and chemical constituents and fingerprint of the essential oils were determined by GC-MS. The chromatography analysis was carried out on an HP-5 capillary column (30 m×0.25 mm φ, 1 μm), by using helium as the carries gas, the flow rate of 1.0 mL/min, the split ratio 50:1, sample inlet temperature of 270 ℃. The temperature program was as follows: 70 ℃ for three minutes, rose to 250 ℃ at 10 ℃/min, then retained at 250 ℃ for five minutes. **RESULTS** The GC-MS digitized fingerprint of the essential oils from 11 batches of processed *Notopterygii incisii Rhizoma et Radix* contained 40 common peaks, and was composed of 80.8%–90.6% of the total peak area. Some of these major compounds consisted of 1*R*-α-pinene, β-pinene, eudesmol, shyobunone, *D*-limonene, 4-terpineol, *p*-cymene, bornyl acetate, α-terpineol, γ-terpinene, borneol, and bulnesol. **CONCLUSION** The fingerprint can be used for the identification and quality control of processed *Notopterygii incisii Rhizoma et Radix* and *Notopterygii forbesii Rhizoma et Radix*, and it also has high sensitivity and good reproducibility.

KEY WORDS: *Notopterygii Rhizoma et Radix*; essential oils; chemical components; GC-MS; digitized fingerprint

羌活为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 或宽叶羌活 *Notopterygium franchetii* H. de Boiss. 的干燥根茎和根。具有解表散寒、祛风除湿、止痛的功能,用于风寒感冒、头痛项

强、风湿痹痛、肩背酸痛^[1]。现代药理研究表明:羌活所含的挥发油具有解热镇痛、抗炎、抗菌、抗过敏、抗心律失常、抗心肌缺血、抗血栓、增加冠脉血流量、促进脑循环等作用^[2-5]。有关羌活挥发油化学成分

收稿日期: 2010-10-07

基金项目: 江苏省教育厅项目(07KJD360211); 江苏省教育科学“十一五”规划项目(D/2008/01/180)

作者简介: 张桂芝(1955—),女,主任中药师,教授,主要从事中药鉴定、中药挥发油的化学成分及指纹图谱研究。Tel: (0516) 83536716, 13775988800, E-mail: zgz712@163.com

的研究已有文献报道^[6-10],高广慧等建立了羌活挥发油的气相色谱指纹图谱^[11],但作者尚未见羌活饮片挥发油化学成分 GC-MS 指纹图谱的研究报道。本实验采用水蒸气蒸馏法提取羌活饮片的挥发油,运用 GC-MS 法全面分析挥发油的化学成分,建立了 40 种共有化学成分的数字化指纹图谱。

1 实验材料

1.1 样品 羌活饮片样品 1(青海吉祥大药房)样品 2(青海康源药店),样品 3(江苏江阴惠康大药房)样品 4(江苏南京药店)样品 5(江苏徐州铜山新区同康药店)样品 6(江苏无锡益民大药房)样品 7(江苏连云港建军大药房)样品 8(江苏南通宝芝林大药房)样品 9(徐州市中医院)样品 10(四川巴丹大药房)样品 11(徐州广济连锁矿大药房),样品 12(南京九天连锁药店)样品 13(徐州广济堂药店)均经第一作者鉴定,除样品 12 和 13 的来源为宽叶羌活 *N. franchetii* H. de Boiss. 外,其余样品均为羌活 *N. incisum* Ting ex H. T. Chang。

1.2 仪器与试剂 GC-MS 气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司);NIST(98)质谱库。乙醚(南京化学试剂有限公司 080122)为分析纯。

2 方法与结果

2.1 供试液的制备 分别取各样品粗粉 80 g,称定质量,按中国药典 2010 年版^[1]附录 X D 挥发油测定法中的甲法提取 5 h,收集乳状馏出液用乙醚萃取 2 次,合并乙醚液加入无水硫酸钠适量干燥后,取上清液挥尽乙醚,得挥发油,羌活饮片挥发油含量在 2.2%~3.6%(mL/g),均符合中国药典^[1]不得少于 1.4%(mL/g)之规定。精密吸取挥发油 0.15 mL 于 10 mL 量瓶中,加入乙醚定容,作为供试液。

2.2 GC-MS 测定条件 HP-5 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm 0.1 μm,弱极性),载气(高纯氦气)体积流量 1.0 mL/min,分流比 50:1,进样口温度 270℃。初始 3 min 柱温 70℃,以 10℃/min 升至 250℃,维持 5 min。离子源 EI 电离能量 70 eV,离子源温度 230℃,四极杆温度 150℃,扫描质量范围为 30~550 amu。

2.3 精密度测定 精密吸取同一样品(1号)供试液各 2 μL,分别连续进样 5 次。结果 40 个共有峰的相对保留时间的 RSD 为 0.01%~0.05%,相对峰面积的 RSD 为 2.01%~4.54%。表明仪器精密度良好。

2.4 稳定性试验 精密吸取同一样品(1号)供试液各 2 μL,分别于 0、2、4、8、24 h 进样。结果 40 个共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.03%~0.06%,相对峰面积的 RSD 为 2.14%~4.85%。表明供试品溶液在 24 h 内测定指纹图谱是稳定的。

2.5 重复性试验 分别取同一样品(1号)的 6 份平行供试液各 2 μL,进样测定。40 个共有峰的相对保留时间的 RSD 为 0.05%~0.07%,相对峰面积的 RSD 为 2.70%~4.93%。指纹图谱与共有模式的相似度(相关系数法)分别为 0.998 8、0.997 4、0.999 5、0.999 2、0.995 4,均大于 0.995,符合指纹图谱要求。

2.6 特征成分指纹峰的确定 按 2.1 项方法制备各批羌活饮片的供试液,按 2.2 项条件取供试液 2 μL 进样测定,得总离子流色谱图,13 批样品分别分离出 54~77 个色谱峰,以峰面积归一法计算各成分的相对质量分数。经计算机质谱库检索和人工解析,共鉴定出了 72 种化学成分,比较各样品的 TIC 图和 GC-MS 分析结果,选定 40 个相对质量分数和匹配度均较高的共有化学成分峰作为指纹峰。以基线分离度良好的 16 号峰(4-Terpineol 4-松油醇)为自身内标,指定各样品中 4-松油醇参照峰(S)的相对保留时间和相对峰面积为 1,并参考文献[12]计算 11 批羌活样品化学成分的相对保留时间 RT_R 值、相对峰面积与共有模式(即均值)的相似度和 RSD 值,结果见表 1、图 1。

3 讨论

3.1 本实验所采用的升温程序使 11 批羌活样品挥发油的 70 个左右的色谱峰均在 15 min 内出完,且在该条件下所分离的相对质量分数超过 1% 的大多数成分峰的分度均良好,匹配度均在 89.6~95.2。它们的出峰顺序和峰丰度极具规律性,形成了羌活挥发油独特的 GC-MS 指纹图谱。比较 TIC 图的全貌,可见羌活挥发油的色谱峰从左至右逐渐降低,而宽叶羌活油(样品 12、13)则中间高两端低,二者具有明显可分的指纹性特征。比较化学成分的相对质量分数,11 批羌活油最高的均为 1R-α-蒎烯 11.4%~26.6%,β-蒎烯 5.2%~16.8%;而宽叶羌活(样品 12、13)中 1R-α-蒎烯分别为 6.2%、2.7%,β-蒎烯为 1.9%、1.1%。两种羌活中其它成分的相对质量分数均低于 10%。

表 1 11 批羌活挥发油特征成分的相对峰面积和相似度比较

Tab. 1 Relative peak areas and similarity of components of essential oils from sample No. 1 ~ 11

序号	化学成分	RT _R	相对峰面积											共有 模式	RSD /%
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
1	1R- α -蒎烯	0.537	4.147	3.315	6.873	6.959	4.165	8.445	3.597	2.212	7.673	2.858	6.224	5.133	41.90
2	樟烯	0.563	0.291	0.238	0.432	0.659	0.102	0.339	0.234	0.229	0.313	0.121	0.293	0.296	51.60
3	β -蒎烯	0.610	2.015	1.500	3.680	3.532	2.087	3.754	1.479	1.173	4.861	1.231	3.615	2.630	48.82
4	辛醛	0.636	0.169	0.140	0.187	0.000	0.156	0.289	0.270	0.235	0.000	0.244	0.000	0.154	71.00
5	3-蒎烯	0.662	0.137	0.094	0.885	1.259	0.506	1.010	0.527	0.120	1.520	0.250	1.365	0.698	76.51
6	α -松油烯	0.671	0.158	0.112	0.299	0.277	0.149	0.286	0.104	0.153	0.530	0.116	0.273	0.223	56.97
7	对伞花烃	0.686	1.113	0.885	0.613	1.201	0.603	0.761	0.569	0.901	0.889	0.308	0.750	0.781	32.72
8	D-柠檬烯	0.694	1.639	1.185	1.462	1.928	1.139	1.914	2.189	1.126	0.000	0.606	2.122	1.392	48.34
9	γ -松油烯	0.749	0.759	0.633	0.737	0.927	0.506	0.701	0.293	0.577	1.391	0.235	0.591	0.668	46.71
10	异松油烯	0.809	0.301	0.262	0.353	0.383	0.222	0.309	0.335	0.359	0.443	0.205	0.280	0.314	22.48
11	脱氢芳樟醇	0.832	0.156	0.146	0.157	0.000	0.144	0.116	0.225	0.200	0.000	0.172	0.000	0.120	68.55
12	D-小茴香醇	0.867	0.182	0.196	0.133	0.064	0.064	0.110	0.251	0.186	0.000	0.082	0.052	0.120	63.54
13	α -龙脑烯醛	0.890	0.165	0.162	0.178	0.000	0.229	0.319	0.206	0.212	0.000	0.278	0.000	0.159	70.58
14	反松香芹醇	0.923	0.158	0.188	0.118	0.000	0.229	0.206	0.130	0.165	0.000	0.239	0.000	0.130	70.22
15	龙脑	0.979	0.483	0.531	0.387	0.576	0.437	0.548	0.679	0.579	0.135	0.629	0.319	0.482	32.37
16	4-松油醇	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.00
17	对伞花素-8-醇	1.010	0.109	0.117	0.103	0.000	0.165	0.116	0.146	0.122	0.000	0.168	0.000	0.095	68.01
18	α -松油醇	1.026	1.130	1.412	0.683	0.788	0.357	0.495	1.101	0.990	0.305	0.440	0.136	0.713	56.90
19	乙酸龙脑酯	1.430	0.583	0.494	0.767	0.870	0.655	0.751	1.155	0.542	0.873	0.655	0.688	0.730	25.55
20	β -榄香烯	1.458	0.073	0.069	0.145	0.000	0.118	0.113	0.037	0.087	0.000	0.080	0.000	0.066	77.32
21	β -雪松烯	1.521	0.083	0.054	0.154	0.000	0.097	0.163	0.051	0.076	0.000	0.106	0.000	0.071	80.89
22	α -布黎烯	1.555	0.177	0.146	0.302	0.266	0.232	0.365	0.220	0.204	0.205	0.254	0.234	0.237	25.36
23	α -石竹烯	1.587	0.115	0.085	0.335	0.050	0.118	0.239	0.206	0.132	0.102	0.168	0.086	0.149	55.76
24	β -愈创木烯	1.598	0.088	0.108	0.169	0.833	0.128	0.140	0.093	0.117	0.112	0.144	0.080	0.183	118.76
25	桉叶 4,11-二烯	1.652	0.370	0.190	0.402	0.000	0.340	0.276	0.079	0.270	0.000	0.233	0.000	0.196	78.18
26	水菖蒲酮	1.666	0.165	0.123	0.260	0.230	0.000	0.100	0.101	0.179	0.333	0.149	0.284	0.175	54.93
27	α -芹子烯	1.669	0.233	0.206	0.625	0.000	0.322	0.422	0.392	0.305	0.000	0.412	0.000	0.265	76.54
28	β -没药烯	1.682	0.233	0.181	0.420	0.215	0.300	0.419	0.296	0.217	0.098	0.315	0.117	0.256	41.80
29	花侧柏烯	1.690	0.103	0.087	0.124	0.000	0.144	0.189	0.155	0.124	0.000	0.153	0.000	0.098	69.88
30	水菖蒲酮	1.703	0.397	0.327	0.728	0.980	0.322	0.412	0.645	0.452	0.670	0.472	0.536	0.540	36.99
31	β -杜松烯	1.710	0.323	0.271	0.734	0.910	0.513	0.561	1.127	0.355	0.748	0.515	0.536	0.599	43.47
32	9-雪松烷酮	1.729	0.487	0.423	0.535	0.000	0.537	0.648	0.468	0.619	0.000	0.683	0.000	0.400	67.05
33	榄香醇	1.746	0.154	0.188	0.314	0.132	0.274	0.282	0.163	0.177	0.122	0.300	0.096	0.200	38.98
34	斯巴醇	1.783	0.126	0.144	0.157	0.000	0.333	0.326	0.166	0.167	0.000	0.328	0.000	0.159	80.63
35	愈创木醇	1.849	0.145	0.146	0.227	0.508	0.553	0.568	0.825	0.183	0.319	0.591	0.265	0.394	57.44
36	未鉴定	1.947	0.511	0.569	0.828	0.000	0.872	0.728	0.727	0.693	0.000	0.912	0.000	0.531	67.93
37	τ -杜松醇	1.949	0.079	0.087	0.208	0.069	0.248	0.186	0.645	0.146	0.083	0.248	0.091	0.190	87.26
38	β -桉油醇	1.962	0.000	0.481	0.716	0.116	0.816	0.638	1.656	0.526	0.000	0.784	0.085	0.529	92.51
39	α -桉油醇	1.988	0.803	0.590	1.097	1.243	0.882	0.847	0.000	0.683	0.246	0.920	0.000	0.665	62.94
40	布黎醇	1.992	0.160	0.173	0.293	0.430	0.610	0.472	1.172	0.283	0.194	0.625	0.173	0.417	72.84
相似度	夹角余弦		0.975	0.959	0.992	0.982	0.983	0.988	0.898	0.916	0.945	0.930	0.969	1.000	
	相关系数		0.964	0.942	0.990	0.980	0.977	0.989	0.854	0.897	0.950	0.914	0.976	1.000	

3.2 由于本实验的 GC-MS 色谱工作站所获得的数据与多种相似度评价系统均不兼容。故利用 Excel 工作表的 fx 和数据分析中的相关系数程序,计算 11 批样品挥发油中 40 个化学成分峰(其峰面积之和占总峰面积的 80.8%~90.6%)的相对峰面积与指纹图谱共有模式的相似度。结果 11 批羌活夹角余

弦法的相似度均在 0.92~0.99,相关系数法的相似度均在 0.85~0.99;而 12 与 13 两批宽叶羌活样品与羌活指纹图谱的相似度分别为 0.65,0.50(夹角余弦法);0.43,0.15(相关系数法)。显然,依据羌活样品挥发油指纹图谱的相似度能区分两种来源不同的羌活饮片。

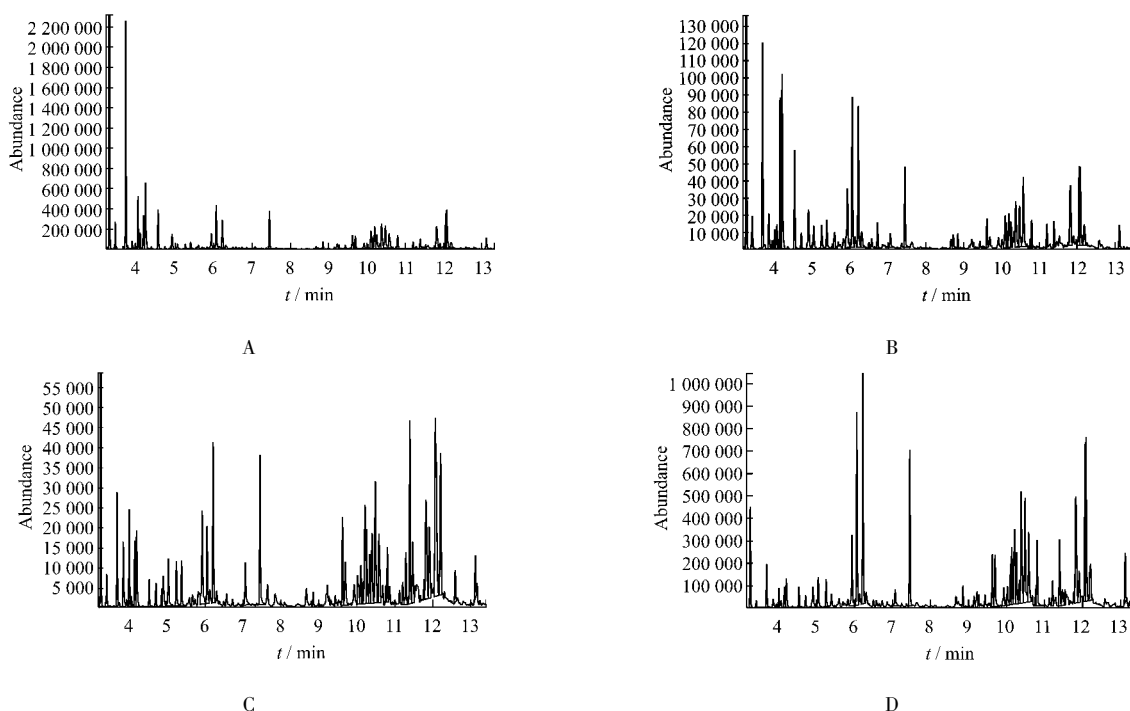


图 1 样品挥发油的总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatograms of essential oils

A. 样品 3 B. 样品 8 C. 样品 12 D. 样品 13

A. sample No. 3 B. sample No. 8 C. sample No. 12 D. sample No. 13

4 结论

该实验所采用的 GC-MS 分析方法精密度、稳定性和重复性均良好,所建立的羌活挥发油化学成分 GC-MS 数字化指纹图谱能用于市售羌活饮片的鉴定与质量控制,以羌活挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯等化学成分的指纹图谱为依据,能更科学、更准确地评价羌活饮片的内在质量。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 170-171; 附录 63.
- [2] 肖培根. 新编中药志: 第一卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 528-534.
- [3] 马玉林, 李建民, 马 莉, 等. 药用植物羌活的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(24): 13092-13093.
- [4] 周 毅, 蒋舜媛, 马小军, 等. 川产羌活基源及镇痛作用研究[J]. 中药药理与临床, 2003, 19(6): 22-23.
- [5] 李云霞, 高春华, 沙 明. 中药羌活化学成分及药理作用研究进展[J]. 辽宁中医学院学报, 2004, 6(1): 22-23.
- [6] 王 曙, 王天志. 新疆羌活挥发油的分离和结构鉴定[J]. 华西药学杂志, 1997, 12(2): 92-93.
- [7] 杨仕兵, 刘德铭, 刘 洋, 等. 青海羌活挥发油化学成分的 GC/MS 分析[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2006, 28(S1): 237-240.
- [8] 李国辉, 曾 笑, 张 斌, 等. 气相色谱-质谱法分析羌活挥发油成分[J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(6): 19-22.
- [9] 胡敏敏, 蔡宝昌, 张志杰, 等. 两种方法提取羌活挥发油化学成分的比较[J]. 中医药学刊, 2006, 24(10): 1931-1932.
- [10] 王小仙, 张晓红. 不同时期采购的羌活挥发油含量比较[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(8): 617-618.
- [11] 高广慧, 邓捷圆, 王秀敏, 等. 中药材羌活质量控制的气相色谱指纹图谱[J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(6): 438-441.
- [12] 谢培山. 中药色谱指纹图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 468-496.