

## 顶空静态进样 GC-MS 分析羌活挥发性成分\*

蒋海强 张莹 容蓉\*\*

(山东中医药大学 济南 250355)

**摘要 目的:** 建立顶空静态进样快速分析羌活挥发性成分的方法。**方法:** 采用顶空静态进样技术提取羌活挥发性成分, 对其进行气相色谱-质谱(GC-MS)结合保留指数双重分析。**结果:** 通过GC-MS及保留指数双重定性, 鉴定出羌活中24个挥发性化学成分, 其中 $\alpha$ -蒎烯、 $\beta$ -蒎烯、 $\beta$ -萜烯、D-柠檬烯4种成分约占羌活挥发性化学成分的82.6%。**结论:** 顶空静态进样技术结合GC-MS及保留指数定性, 可以方便、快捷地提供羌活中挥发性成分的化学信息。

**关键词:** 羌活; 挥发性成分; 顶空静态进样技术; 气相色谱-质谱联用; 保留指数

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)04-0735-04

## GC-MS analysis for volatile compounds in Rhizoma et Radix notopterygii by headspace injection\*

JIANG Hai-qiang ZHANG Ying RONG Rong\*\*

(Shandong University of Traditional Chinese Medicine Jinan Shandong 250355, China)

**Abstract Objective:** To establish a rapid analytical method for volatile components in rhizoma et radix notopterygii. **Methods:** The volatile components were extracted by head-space injection technique and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) combined with Kovats retention indices. **Results:** Among the volatile components that detected 36 compounds were identified by GC-MS combined with Kovats retention indices; the content of four volatile compounds including  $\alpha$ -pinene  $\beta$ -pinene  $\beta$ -carene and D-limonene can reach up to 81% of the total. **Conclusions:** GC-MS and Kovats retention indices combined with static headspace injection technique can be used as a rapid, direct and convenient analytical method for the volatile components in Chinese herbal medicine.

**Key words:** rhizoma et radix notopterygii; volatile compounds; static head-space injection; gas chromatography-mass spectrometry; kovats retention indices

羌活为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 或宽叶羌活 *Notopterygium forbesii* Boiss. 的干燥根茎及根<sup>[1]</sup>, 始载于《神农本草经》, 列于独活项下。陶弘景《本草经集注》方指出羌活异于独活之处, 本品辛散祛风, 味苦燥湿, 性温散寒, 气雄而散, 发表力强, 有散风祛湿, 胜湿止痛之功<sup>[2]</sup>, 属中药热性药范畴; 其主要生理活性成分多属挥发油和香豆素类<sup>[3]</sup>。寒热温凉“四性”是中药药性理论核心内容之一, 运用现代科学方法和技术手段研究中药的“四性”, 揭示其科学内涵, 是中药理论自身创新、创新药物开发、中药现代化和国际化的现实要求<sup>[4]</sup>。

“中药四性性-效-物质三元论”假说认为<sup>[5]</sup>, 中药药性寒热是从药物作用于机体所发生的反应概括出来的, 主要依据是药效; 决定药效的是中药的物质基础, 具有相同药性的中药应具有相同或相类的物质基础及其性效发生机制。故对羌活挥发性成分进行分析测定, 将有助于认识决定其药性的物质基础。

传统分析挥发油的方法是采用水蒸气蒸馏或有机溶剂提取再进行气相色谱分析。水蒸气蒸馏和有机溶剂提取会损失掉一些相对分子质量低的萜类和小分子量的酯类等易挥发的化合物, 小分子化合物对挥发油的气味起着重要的作用, 而这些气味往往

\* 国家重点基础研究发展计划“973”计划资助项目(2007CB512601)

\*\* 通讯作者 Tel: 15966050664; E-mail: r.rong@sducm.edu.cn

是中药药性的直观表现。采用顶空分析(headspace analysis)法分析挥发油,可以为中药气味组成提供化学信息,提供中药药性判定的物质基础依据。顶空分析包括静态顶空分析<sup>[6]</sup>、动态顶空分析或者叫吹扫捕集、顶空-固相微萃取三大类<sup>[7,8]</sup>,其中静态顶空分析法具有快速、自动化程度高、样品消耗量少、检测费用低等优点,目前尚未有应用于羌活挥发性成分分析方面的报道。本实验采用顶空进样技术,对木香挥发性成分进行了GC-MS分析,最终结合保留指数(Kovats retention indices, KI)对其主要成分进行了定性分析。

### 1 仪器和试剂

GC 6890 气相色谱仪, MS 5975 质谱仪, 7694E 顶空进样器, 色谱数据处理系统(MSD Chemstation D. 03. 00. 611) (美国 Agilent 公司), 质谱检索数据库: NIST MS search 2. 0。正构烷烃混合对照品 C8 ~ C40(美国 AccuStandard 公司, 编号: DRH - 008S - R2, 500  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  in Chloroform)。羌活由山东中医药大学李峰教授鉴定为羌活 [*Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang] (产地: 四川)。

### 2 方法

**2.1 挥发性成分的提取** 取新鲜粉碎的羌活粉末(过40目筛)0.5 g 准确称定, 放入10 mL 顶空瓶中密封, 置顶空进样器中按如下条件进样: 样品瓶加热温度120  $^{\circ}\text{C}$ ; 样品环温度140  $^{\circ}\text{C}$ ; 传输线温度160  $^{\circ}\text{C}$ ; 样品瓶加热时间30 min, 样品环平衡时间0.05 min, 进样时间1 min。

#### 2.2 GC-MS 分析条件

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱 Agilent HP-5 MS (30 m  $\times$  250  $\mu\text{m}$   $\phi$  25  $\mu\text{m}$ ); 进样口温度250  $^{\circ}\text{C}$ ; 载气为 He 气, 柱流量1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>。程序升温条件: 初始温度40  $^{\circ}\text{C}$ , 保持3 min, 以2  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至150  $^{\circ}\text{C}$ , 保持2 min, 最后以10  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升到280  $^{\circ}\text{C}$ 。

**2.2.2 质谱条件** 调谐方式: 标准谱图调谐; 电离方式 EI, 电子能量70 eV; 离子源温度: 230  $^{\circ}\text{C}$ ; 四级杆温度: 150  $^{\circ}\text{C}$ ; 数据采集扫描模式: 全扫描; 溶剂延迟时间: 1 min。

#### 2.3 KI 值测定

精密移取正构烷烃混合对照品20  $\mu\text{L}$  加入10 mL 顶空瓶中密封, 按照“2.2”项下条件分析, 记录各正烷烃保留时间, 采用线性升温公式计算各组分的 KI 值,  $\text{KI} = 100n + \frac{100(t_x - t_n)}{t_{n+1} - t_n}$ , 其中  $t_x$ 、 $t_n$  和  $t_{n+1}$  分别为被分析组分和碳原子数处于  $n$  和  $n+1$  之间

的正构烷烃 ( $t_n < t_x < t_{n+1}$ ) 的流出峰的保留时间 (min)。

### 3 结果与讨论

**3.1 实验结果** 按“2.2”项下分析条件, 对羌活挥发性成分进行 GC-MS 分析, 总离子流图见图1, 以峰面积归一化法计算挥发油各组分相对含量。采用化学工作站对各峰质谱图进行 NIST 标准谱库检索, 选取质谱匹配度高的前10个可能物质, 计算其 KI 值, 并与 NIST 库 KI 值检索结果相比较, 以质谱和 KI 值匹配度最高的化学结构为最佳鉴定结果, 从而确定羌活挥发性化学成分的结构, 结果见表1。

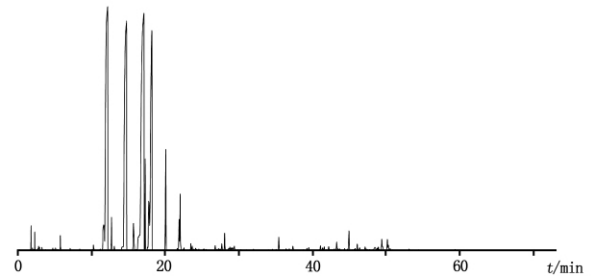


图1 羌活挥发性成分 GC-MS 总离子流图

Fig 1 Total ion current chromatogram for GC-MS analysis of volatile compounds from *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang

#### 3.2 讨论

**3.2.1 中药挥发性物质是中药复杂分支代谢途径的产物, 具有中药种类的特异性, 即每种中药都有各自挥发性次生物质, 并以一定比例构成该中药的挥发性化学成分指纹图谱<sup>[9]</sup>, 可能是构成中药药性的物质基础之一。对羌活的挥发性成分进行 GC-MS 分析, 结果表明: 采用顶空静态进样技术, 分离出61个色谱峰, 鉴定出24种化合物, 约占色谱峰总量的96.71%; 含量较高的组分为  $\alpha$ -蒎烯 ( $\alpha$ -pinene, 21.25%)、 $\beta$ -蒎烯 ( $\beta$ -pinene, 20.90%)、3-萜烯 (3-carene, 27.41%)、D-柠檬烯 (D-limonene, 13.06%), 这4种成分约占羌活挥发性化学成分成分的80%以上。**

**3.2.2 采用气质联用技术结合保留指数比较的方法可显著提高挥发性成分的定性的准确度, 尤其在同分异构体直接的鉴别有着显著优越性。羌活挥发性成分含多个同分异构体, 分子量为136的化合物有12个, 结构相似, 质谱图差别不大, 仅质谱检索定性, 出现错误的几率较大。羌活挥发性成分中保留时间在21.25 min (KI 测定值为933) 的成分, 质谱检索匹配度最高的物质为1R- $\alpha$ -蒎烯 (KI 值948), 同时还有多个同分异构体,  $\alpha$ -蒎烯 (KI 值931)、 $\beta$ -蒎烯 (KI 值978), 根据保留指数定性, 确定该化合物为  $\alpha$ -蒎烯。**

表 1 羌活挥发性化学成分 GC-MS 分析结果  
Tab 1 GC-MS analysis results of volatile compounds from rhizoma et radix notopterygii

编号 (No.)	化合物 (compounds)	分子式 (molecular formula)	相对分子量 (relativemole cular weight)	KI*	KI**	相对含量 (opposite content) / %
1	庚醛(heptanal)	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	110	904	901	0.11
2	2-甲基-5-(1-甲基乙基)-双环[3.1.0]己-2-烯{bicyclo[3.1.0]hex-2-ene 2-methyl-5-(1-methylethyl)}	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub>	136	925	924	1.51
3	α-蒎烯(α-Pinene)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	931	933	21.25
4	2,2-二甲基-3-亚甲基-双环[2.2.1]庚烷{bicyclo[2.2.1]heptane 2,2-dimethyl-3-methylene-(1S)-(1S)-}	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	114	943	942	0.63
5	β-蒎烯(β-Pinene)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	978	976	20.90
6	β-月桂烯(β-Myrcene)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	992	991	0.95
7	α-水芹烯(α-Phellandrene)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1003	1002	0.45
8	3-蒎烯(3-carene)	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	1008	1013	27.41
9	1-甲基-4-(1-甲基乙基)-1,3-环己二烯[1,3-cyclohexadiene 1-methyl-4-(1-methylethyl)-]	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1016	1016	1.51
10	1-甲基-3-(1-甲基乙基)-苯[benzene 1-methyl-3-(1-methylethyl)-]	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1022	1023	2.24
11	D-柠檬烯(D-Limonene)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1028	1029	13.06
12	1-甲基-4-(1-甲基乙基)-1,4-环己二烯[1,4-cyclohexadiene 1-methyl-4-(1-methylethyl)-]	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1058	1057	2.56
13	1-甲基-4-(1-甲基亚甲基)-环己烯[cyclohexene 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-]	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1084	1083	1.98
14	丁酸 β-甲基-3-甲基丁基酯(butanoic acid β-methyl-3-methylbutyl ester)	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	1103	1107	0.14
15	2-甲基苯并呋喃(benzofuran 2-methyl-)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1189	1168	0.15
16	4-甲基-1-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇[3-cyclohexen-1-ol 4-methyl-1-(1-methylethyl)-]	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1174	1173	0.39
17	(1S-内型)-1,7,7-三甲基-双环[2.2.1]庚烷-2-醇乙酸酯{bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol 1,7,7-trimethyl- acetate (1S-endo)-}	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1284	1282	0.30
18	2-甲氧基-4-乙烯基苯酚(2-methoxy-4-vinylphenol)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1316	1311	0.10
19	可巴烯(copaene)	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	172	1370	1370	0.11
20	1,2,3,3a,4,5,6,7-八氢-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙基)-1S-(1α,3αβ,4α,7β)-萘{azulene 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)-1S-(1α,3αβ,4α,7β)}	C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> Cl	172	1479	1451	0.14
21	(-)-3,7,7-三甲基-11-亚甲基-螺[5.5]十一碳-2-烯{spiro[5.5]undec-2-ene 3,7,7-trimethyl-11-methylene-( -)-}	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O	132	1490	1490	0.17
22	(S)-1-甲基-1,4-(5-甲基-1-亚甲基-4-乙基)-1-环己烯[cyclohexene 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-(S)-]	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	150	1509	1506	0.28
23	(1S-cis)-1,2,3,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)-萘[naphthalene 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-(1S-cis)-]	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	196	1523	1519	0.27
24	(R)-1,5,5,9-四甲基-螺[5.5]十一碳-1,8-二烯[spiro[5.5]undeca-1,8-diene 1,5,5,9-tetramethyl-(R)-]	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	150	1523	1522	0.13

注(notes): \* 为 NIST 谱库检索的 KI 值(非极性 HP-5MS 柱) [The KI that composes a database index for NIST is worth( sex MS HP-5 pillar not and very) ]; \*\* 为计算的 KI 值( Be worth for the calculating KI)

3.2.3 根据传统中药药性理论,中药四性取象于春 温、夏热、秋凉、冬寒,源于天之四时<sup>[10]</sup>,天之四时必

然对中药复杂代谢产生一定影响,进而产生植物体内代谢化学成分差异,影响中药的气味等性状特征。其气味的直观表现,主要来自于低温易挥发性成分的影响。本实验采用顶空静态进样技术分析易挥发性成分,其分析结果更接近于中药药性的直观表现,是建立中药药性物质基础 GC-MS 表征体系的有效手段和有力补充。

**3.2.4** 本实验采用顶空静态进样方式分析中药羌活的挥发性成分,有别于顶空固相微萃取技术,是一种快速有效的分析方法,操作简单且无溶剂残留,可广泛用于中药材中挥发性成分的研究。实验结果表明,在羌活分析过程中,样品消耗量仅为 0.5 g,整个过程高度自动化,可作为快速检测羌活挥发性成分的方法。

**参考文献**

- 1 ChP(中国药典). 2005. Vol I (一部): 127
- 2 YANG Lin-lin(杨林林), LI Fu-an(李福安), WEI Quan-jia(魏全嘉). Research overview on clinical applications of Rhizoma et Radix notopterygii(羌活临床应用的研究概况). *Qinghai Med J* (青海医药杂志) 2009, 39(7): 91
- 3 HU Min-min(胡敏敏), CAI Bao-chang(蔡宝昌), ZHANG Zhi-jie(张志杰) et al. Comparison of two methods for chemical constituents of the essential oil from *Notopterygium incisum*(两种方法提取羌活挥发油化学成分的比较). *Chin Arch Chin Med* (中医学刊) 2006, 24(10): 1931
- 4 ZHANG Ming-fa(张明发). Pharmacological study of the interior-warming drugs for deispelling cold(温里药“温中散寒”药理研究). *Chin J Inf Tradit Chin med*(中国中医药信息杂志) 2000, 7(2): 30
- 5 OU Yang-bing(欧阳兵), WANG Zhen-guo(王振国), LI Feng(李峰) et al. The hypothesis and discussion on trialism of property effect and substance about Traditional Chinese Medicine natures(中药四性“性-效-物质三元论”假说及其论证). *J Shandong Univ Tradit Chin Med*(山东中医药大学学报) 2008, 32(3): 182
- 6 Bruno Kolb. Headspace sampling with capillary columns. *J Chromatogr A*, 1999, 842(1-2): 163
- 7 Graham A. Mills, Valerie Walker. Headspace solid-phase microextraction procedures for gas chromatographic analysis of biological fluids and materials. *J Chromatogr A* 2000, 902(1): 267
- 8 Ulrich S. Solid-phase microextraction in biomedical analysis. *J Chromatogr A* 2000, 902(1): 167
- 9 FAN Hui(樊慧), JIN You-ju(金幼菊), LI Ji-quan(李继泉), et al. Advances on plant volatile semiochemicals attracting herbivorous insects(引诱植食性昆虫的植物挥发性信息化合物的研究进展). *J Beijing Forestry Univ*(北京林业大学学报) 2004, 26(3): 76
- 10 TANG Shi-huan(唐仕欢), HUANG Lu-ming(黄璐明), YANG Hong-jun(杨洪军), et al. The effect of image thinking to the property of traditional Chinese medicine(论象思维对中药药性形成的影响). *J Tradit Chin Med*(中医杂志) 2009, 50(6): 485

(本文于 2010 年 3 月 8 日收到)

**《药物分析杂志》稿件在线管理系统已开通**

本刊于 2008 年 10 月 23 日开通稿件在线管理系统。从即日起,凡投稿本刊,请登录 <http://www.ywfxzz.cn> 进行网上投稿。

该系统采用 E-mail 作为用户名进行注册。

网上投稿的同时需寄单位介绍信及稿件处理费 50 元。

作者在线投稿后,可在线了解稿件情况:编辑-送审-专家已审-待编辑处理稿件-退修-编辑加工完成-已刊出等。

读者可在线查看本刊目录,了解本刊编委及其他信息,并可在在线订阅本刊。

投稿过程中如遇技术问题,请与技术支持联系:010-69296712。

谢谢合作!

《药物分析杂志》编辑部