

气相色谱质谱联用结合保留指数分析薄荷挥发性成分

张玉朋,张莹,容蓉,吕青涛,李峰

(山东中医药大学药学院,山东 济南 250355)

[摘要] 目的:分析薄荷中的挥发性成分。方法:采用水蒸气蒸馏技术采集薄荷的挥发性成分,气相色谱质谱联用(GC-MS)结合保留指数进行分析鉴定。结果:检出70个组分,质谱结合保留指数定性鉴定出36个主要挥发性成分,含量较高的组分为薄荷酮(26.08%)、长叶薄荷酮(11.58%)、 β -毕澄茄烯(6.11%)、石竹烯(8.04%)。结论:GC-MS结合保留指数对薄荷挥发性成分进行定性分析,使定性结果更为准确。

[关键词] 薄荷;挥发性成分;GC-MS;保留指数

[中图分类号] R285.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-659X(2011)03-0247-03

Volatile compounds in herba menthae analyzed by GC-MS combined with Kovats retention indices ZHANG Yu-peng, ZHANG Ying, RONG Rong, LV Qing-tao, LI Feng (Faculty of Materia Medica, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

[Abstract] Objective: To analyze the volatile compounds in herba menthae (HM). Methods: Using steam distillation, volatile components in HM were analyzed and identified by gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS) combined with Kovats retention indices (KI). Results: Total 70 components in HM were detected by GC-MS and 36 main volatile compounds were identified by MS combined with KI. Compounds with high contents were as follows: trans-5-methyl-2-(1-methylethyl)-cyclohexanone (26.08%), pulegone (11.58%), β -cadinene (6.11%) and caryophyllene (8.04%). Conclusion: Using MS combined with KI is a accurate way for the identification of volatile compounds in HM.

[Key words] herba menthae; volatile compounds; GC-MS; Kovats retention indices

薄荷始载于《神农本草经》,本品为唇形科植物薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 的干燥地上部分^[1],有清凉浓香气味,广泛分布于北半球温带的欧、美、亚各洲,喜欢生长于水旁潮湿地区。薄荷全草可入药,其味辛,性凉,用于治疗风热感冒、风温初起、头痛、目赤、喉痹、目疮、风疹、麻疹、胸胁胀闷等^[2]。对其挥发性成分进行分析测定,以认识其发挥药效的物质基础。本实验采用水蒸气蒸馏提取薄荷中的挥发性成分,对薄荷挥发性成分进行了气相色谱-质谱(Gas chromatography-Mass spectroscopy, GC-MS)分析,并结合保留指数(Kovats retention indices, KI)对其主要成分进行了定性鉴别。

1 仪器和试剂

GC 6890N 气相色谱仪, MS 5975 质谱仪, 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 $C_8 \sim C_{40}$ (美国 AccuStandard 公司, 编号: DRH-008S-R2, 500 $\mu\text{g/ml}$ in Chloroform)。药材由山东中医药大学药学院李峰教授鉴定为薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 产地: 江苏省海门市。

2 方法

2.1 挥发性成分的水蒸气蒸馏提取 精密称取薄荷粉末(过40目筛)50 g, 加蒸馏水500 ml 与玻璃珠数粒, 振摇混合后按《中华人民共和国药典》2005年版(一部)附录XD挥发油测定法(甲法)项下连接装置。自冷凝管上端加水至充满挥发油测定器的刻度部分, 置电热套中加热提取5 h, 至测定器中油量不再增加时停止加热, 放置片刻, 取上层挥发油作为供试液, 用于GC-MS分析。

2.2 GC-MS分析条件 色谱条件: 色谱柱 Agilent HP-5 MS (30 $\mu\text{m} \times 250 \mu\text{m} \times 0.25 \mu\text{m}$); 进样量 0.2 μl ; 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$; 载气为 He 气, 柱流量 1.0 ml/min; 程序升温条件: 初始温度 40 $^{\circ}\text{C}$, 保持 3 min, 以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 150 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min, 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到 280 $^{\circ}\text{C}$ 。质谱条件: 标准谱图调谐; 电离方式 EI, 电子能量 70 eV; 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$; 数据采集扫描模式: 全扫描; 溶剂延迟时间 1 min。

[收稿日期] 2010-09-02

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划)资助项目(编号:2007CB512601)

[作者简介] 张玉朋(1983-)男, 山东济宁人, 硕士研究生, 研究方向: 药物化学。

[通讯作者] 容蓉(1970-)女, 副教授, 医学博士。Tel: 0531-89628593; E-mail: r.rong@sduatcm.edu.cn

2.3 KI值测定 取正构烷烃混合对照品按照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KI值, $KI=100n+\frac{100(t_x-t_n)}{t_{n+1}-t_n}$, 其中 t_x 、 t_n 和 t_{n+1} 分别为被分析组分、碳原子数为 n 和 $n+1$ 的正烷烃 ($t_n < t_x < t_{n+1}$) 流出峰的保留时间 (min)。

3 试验结果

采用峰面积归一化法计算各组分相对含量。对相对含量大于0.1%的组分进行鉴定。对各峰质谱图进行NIST标准谱库检索,选取质谱匹配度高的可能物质计算其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,结果见表1。

表1 薄荷挥发性化学成分GC-MS分析结果

NO.	化合物	KI*	KI**	分子式	相对含量(%)
1	3-辛醇	995	992	C ₈ H ₁₈ O	0.20
2	D-柠檬烯	1 026	1 022	C ₁₀ H ₁₆	0.13
3	反式-5-甲基-2-(1-甲基乙基)-环己酮	1 148	1 147	C ₈ H ₁₈ O	26.08
4	(R)-5-甲基-2-(1-甲基乙烯基)-4-烯-1-醇	1 165	1 163	C ₈ H ₁₈ O	0.15
5	左旋薄荷醇	1 164	1 166	C ₁₀ H ₂₀ O	1.91
6	α,α,4-三甲基-3-环己烯-1-甲醇	1 185	1 184	C ₈ H ₁₈ O	0.16
7	长叶薄荷酮	1 233	1 231	C ₁₀ H ₁₆ O	11.58
8	3-甲基-6-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-酮	1 250	1 246	C ₁₀ H ₁₆ O	0.85
9	2,6,6-三甲基-2,4-环庚二烯-1-酮	1 329	1 332	C ₁₀ H ₁₄ O	0.28
10	α-萜澄茄油烯	1 343	1 341	C ₁₅ H ₂₄	3.44
11	β-波旁老鹳草烯	1 377	1 374	C ₁₅ H ₂₄	0.41
12	4-亚甲基-1-甲基-2-(2-甲基-1-丙烯基)-1-乙烯基-环庚烷	1 385	1 383	C ₁₅ H ₂₄	0.22
13	石竹烯	1 412	1 407	C ₁₅ H ₂₄	8.04
14	[1aR-(1α,4aβ,7α,7aβ,7bα)]-十氢化-1,1,7-三甲基-4-亚甲基-1H-环丙[e]萹	1 454	1 448	C ₁₅ H ₂₄	0.21
15	1,2,4a,5,6,8a-六氢化-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)-萘	1 470	1 466	C ₁₅ H ₂₄	0.54
16	[s-(E,E)]-1-甲基-5-甲基-8-(1-甲基乙基)-1,6-环癸二烯戊	1 474	1 469	C ₁₅ H ₂₄	1.92
17	(+)-喇叭烯	1 489	1 484	C ₁₅ H ₂₄	1.44
18	(1α,4aα,8aα)-1,2,4,5,6,8a-六氢化-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)-萘	1 494	1 490	C ₁₅ H ₂₄	0.53
19	(1α,4aβ,8aα)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢化-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-萘	1 507	1 503	C ₁₅ H ₂₄	2.38
20	β-杜松烯	1 524	1 514	C ₁₅ H ₂₄	6.11
21	α-白菖考烯	1 536	1 531	C ₁₅ H ₂₀	0.34
22	(E)-3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷三烯-3-醇	1 557	1 557	C ₁₅ H ₂₆ O	0.44
23	石竹烯氧化物	1 574	1 569	C ₁₅ H ₂₄ O	2.90
24	[1aS-(1α,4aα,7β)]-十氢化-1,1,7-三甲基-4-亚甲基-1H-环丙[e]萹-7-醇	1 576	1 576	C ₁₅ H ₂₄ O	2.90
25	石竹烯氧化物	1 593	1 595	C ₁₅ H ₂₄ O	0.40
26	T-杜松醇	1 631	1 630	C ₁₅ H ₂₄ O	1.26
27	β-桉叶醇	1 649	1 636	C ₁₅ H ₂₆ O	2.05
28	γ-桉叶油醇	1 633	1 640	C ₁₅ H ₂₆ O	1.99
29	α-杜松醇	1 653	1 643	C ₁₅ H ₂₆ O	0.53
30	棕榈酸	1 962	1 964	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	2.11
31	叶绿醇	2 112	2 105	C ₂₀ H ₄₀ O	1.28
32	二十三烷	2 300	2 292	C ₂₃ H ₄₈	1.32
33	二十四烷	2 400	2 392	C ₂₄ H ₅₀	0.92
34	二十五烷	2 500	2 493	C ₂₅ H ₅₂	0.49
35	二十六烷	2 600	2 592	C ₂₆ H ₅₄	0.12
36	二十七烷	2700	2692	C ₂₇ H ₅₆	0.11

* 为 NIST 谱库 KI 检索值(非极性 HP-5 MS 柱);** 为 KI 计算值

4 讨论

4.1 薄荷药材中的主要挥发性成分 本试验通过 GC-MS 分析从薄荷药材中检出 70 个组分,通过 MS 与 KI 指数双重定性的方法鉴定出 36 种主要成分,其相对含量总和占总检出物的 87.2%。由表 1 可知,含量较高的组分为薄荷酮(26.08%)、长叶薄荷酮(11.58%)、 β -毕澄茄烯(6.11%)、石竹烯(8.04%)。梁呈元^[3]采用水蒸气蒸馏和超临界 CO₂ 提取,GC-MS 分析发现薄荷醇与 2S-反式-5-甲基-2-(1-甲基乙炔基)-环己酮相对含量较高。魏兴国^[4]对野生薄荷挥发油化学成分进行 GC-MS 分析,发现含量较高的为薄荷酮和柠檬烯。分析其成分差异的原因,除了样品前处理方式和测定方法等因素外,薄荷药材的品种和产地不同也是造成成分差异的原因;且不同采收期、药材存储方式等因素都会对药材成分,特别是挥发性成分造成一定影响。

4.2 KI 在定性分析中的应用 对于中药挥发性成分的分析与鉴定,以往多采用 GC-MS 联用技术,通过计算机辅助检索质谱库,方便快捷地进行化合物的鉴定。但由于中药挥发性组分非常复杂,以及受分离度不佳或色谱条件变化等因素的影响,会使组分的质谱图发生变化,使检索结果出现偏差。而且计算机辅助检索质谱库,有时一个组分会同时出现多个可能的化合物对应,导致定性困难,甚至出现

错误。为此本实验采用 Kovats 保留指数作为辅助手段,缩小检索范围,对质谱检索结果进行印证,使结果更加准确可信。例如:峰 7 的质谱分析结果经 NIST 库检索显示,匹配度较高的化合物有 Cyclohexanone,5-methyl-2-(1-methylethylidene)- (匹配度为 92%)和 Pulegone(匹配度为 91%),但仅根据质谱匹配度很难确定化合物的正确结构,而经 NIST 库检索,前者 KI 值为 1 212、后者 KI 值为 1 231,通过计算该色谱峰的 KI 值为 1 233,故可确定该色谱峰的结构为后者-Pulegone(长叶薄荷酮)。

因此,本试验采用质谱解析与保留指数分析相结合的方式,对薄荷中的挥发性成分进行定性鉴别,提高了挥发性成分结构鉴定的准确性,使定性的结果更加可信。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005年版一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005:176.
- [2] 楚遵雷. 薄荷的化学成分和临床药理作用[J]. 齐鲁药事,2009,28(9):545-546.
- [3] 曾志,赵富春,蒙绍金. 薄荷水蒸气蒸馏和超临界 CO₂ 提取物化学成分的比较研究[J]. 林产化学与工业,2006,26(3):81-84.
- [4] 魏兴国,董岩,崔庆新,等. 野生薄荷挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 烟台师范学院学报(自然科学版),2003,19(2):116-118.

信息之窗

“危险地形图”有助放疗“精确制导”

中山大学肿瘤防治中心华南肿瘤学国家重点实验室马骏教授领衔的课题组,采用磁共振(MRI)技术,在国际上首次摸清了鼻咽癌局部侵犯的三大规律,并依据规律,在头颅部位绘制出了易受鼻咽癌侵犯的“危险地形图”。

鼻咽癌以我国华南地区最为高发,放疗治疗是首选疗法,照射范围(临床靶区)的确定在鼻咽癌放疗中的作用尤为关键。由于缺乏鼻咽癌侵犯方式的资料,也没有相关文献报道过鼻咽癌局部侵犯的规律,为临床医生精确勾画出临床靶区带来困难。

该课题研究人员连续收集了该中心 2003 年 1 月至 2004 年 12 月收治的初诊鼻咽癌患者 943 人,所有患者都接受了鼻咽部和颈部磁共振成像(MRI)扫描。研究人员分析发现,鼻咽癌局部侵犯具有三大规律:一是鼻咽癌各解

剖结构受侵危险度与其距离鼻咽腔的位置相关,距离鼻咽腔较近的咽旁间隙受侵发生率高达 67.7%,而距离较远的眶下裂受侵发生率仅为 3.7%;二是神经孔道是鼻咽癌重要的扩散路径,其中翼腭窝、圆孔、卵圆孔等是肿瘤局部扩散的重要通路;三是虽然鼻咽黏膜容易双侧受侵(高达 95.9%),但是黏膜周围的肌肉、骨质却很少双侧同时被累及(<10%)。

马骏指出,这一研究为鼻咽癌“个体化临床靶区”的制定打下基础,在治疗中最大可能保护头颈部正常组织器官,减少后遗症、提高生活质量,将使广大鼻咽癌患者直接获益并产生深远的社会影响。该研究成果已发表在放射治疗学权威杂志《国际放射肿瘤生物物理学》上。

(摘自《健康报》2011年2月24日第1版)