

HS-SPME-GC-MS 联用分析稳心颗粒中的挥发性成分

吴红华, 王忠平, 南国, 陈应鹏, 卢成淑, 朱彦*

1. 天津中医药大学 天津市现代中药重点实验室, 天津 300193;
2. 天津国际生物医药联合研究院 中药新药研发中心, 天津 300457)

[摘要] **目的:**对稳心颗粒进行挥发性成分的快速分析,明确其主要成分及相对含量。**方法:**采用顶空固相微萃取(HS-SPME)与气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对稳心颗粒中的挥发性成分进行提取及快速分析,检索 NIST08.L 质谱库(匹配度 $\geq 80\%$),并结合文献报道鉴定了其中的化学成分。**结果:**从稳心颗粒挥发性成分中共鉴定出 52 种化合物,占总挥发性成分的 67.39%,其中匙叶桉油烯醇、异丁香烯、氧化丁香烯、香橙烯等 8 个化合物为其主要成分,与文献报道的甘松挥发油主要成分基本一致。**结论:**通过对其挥发性成分进行分析,为进一步研究稳心颗粒的药效物质基础提供了科学依据,并为其质量控制研究打下实验基础。

[关键词] 稳心颗粒; 顶空固相微萃取; 气相色谱质谱联用; 挥发性成分

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)11-0073-04

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.2015110073

Analysis of Volatile Components of Wenxin Granule by HS-SPME-GC-MS Technique WU Hong-hua, WANG Zhong-ping, NAN Guo, CHEN Ying-peng, LU Cheng-shu, ZHU Yan* (1. Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Tianjin 300193, China; 2. Research and Development Center of TCM of Tianjin International Joint Academy of Biotechnology and Medicine, Tianjin 300457, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical components of the volatile oil from Wenxin granule including the main constituents and their relative content percentages among total oil. **Method:** The chemical components of the volatile oil from Wenxin granule were extracted and analyzed by applying Head Space Solid Phase Micro Extraction (HS-SPME) and GC-MS techniques. The chemical components were identified by retrieving NIST08.L mass spectral library (matching $\geq 80\%$), combined with the reported literature data. **Result:** The 52 components were identified from the volatile oil of Wenxin granule, accounting for 67.39%. Among which, spathulenol, isocaryophyllene, caryophyllene oxide and other five compounds were the main constituents. The result was basically identical with the data reported in the literatures of the volatile oil of Nardostachyos Radix et Rhizoma. **Conclusion:** The research provides basis for the further material basis study of the Wenxin granule, and accumulates laboratory data for optimization of quality control.

[Key words] Wenxin granules; HS-SPME; GC-MS; volatile oil

挥发油是天然产物的复杂混合物,主要含萜类、酮类、脂类、酚酸、各类氧化物等挥发性成分,具有抗氧化、抗菌、抗炎镇痛、抗抑郁焦虑、抗心律失常等多种生物活性。复方制剂常常因制剂工艺的制约,未对挥发油进行收集或挥发油损失过多,大多数复方

制剂的挥发油中都能检出单味药特征成分或主要成分,还有为数不少的复方制剂中仅检出脂肪酸类挥发性成分,导致治疗效果大打折扣^[1]。顶空固相微萃取气相质谱/Headspace-solid Phase Microextraction-Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (HS-

[收稿日期] 20140916(015)

[基金项目] 国家科技部国际合作项目(2013DFA31620)

[第一作者] 吴红华,博士学位,助理研究员,从事中药及复方药效物质基础研究,Tel:022-59596153,E-mail:wuhonghua2003@163.com

[通讯作者] *朱彦,博士学位,教授,从事中药及复方心脑血管药理学作用机制研究,Tel:022-59596153,E-mail:yanzhu.harvard@gmail.com

SPME-GC-MS)联用技术因其快速、高效、低毒和操作简单等特点,可广泛应用于中药复方制剂挥发油的工艺研究与质量控制。

稳心颗粒主要由党参、黄精、三七和甘松等药材组成^[2],具有益气养阴、定悸复脉、活血化瘀的功效,为首个通过中美两国实验室论证的抗心律失常中成药^[3],临床常用来治疗室性早搏,疗效显著^[4]。

除辅料外,稳心颗粒中主要成分为多糖、皂苷和挥发性成分(甘松挥发油),2010年版《中国药典》收载稳心颗粒项下,规定以党参、三七和黄精进行鉴别,以三七皂苷 R₁,人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁ 的总含量来进行含量测定,对来源于甘松的挥发性成分的规范并未涉及。甘松在方中为“使药”,近年来在抗心律失常方面的临床作用和药理报道^[5-8]较多,越来越受到关注。因此,明确甘松在方中的“地位”,解决资源紧缺等问题,对稳心颗粒进行优化精简,具有十分重要的意义。

本实验室前期对稳心颗粒进行了初步分析,结果揭示方中挥发性成分含量仅次于皂苷,是药效主成分之一。基于此,本研究采用 HS-SPME-GC-MS 联用技术,对挥发性成分进行快速分析,以期对稳心颗粒药效物质基础的深入研究提供科学依据。

1 材料

7890A-5975C 型三重串联四极杆气质联用质谱

仪,HP-5MS 毛细管柱(美国 Agilent),50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头(美国 Supelco),AL204 型 1/万电子天平(瑞士 Mettler Toledo),HJ-3 型磁力搅拌加热器(金坛市医疗仪器厂)。

稳心颗粒由步长制药集团生产(9 g/袋,生产批号 1301045),现存放于天津中医药大学天津市现代中药重点实验室。

2 方法与结果

2.1 SPME 条件 将稳心颗粒 1.0 g,氯化钠 3.6 g 及水 12 mL 放入顶空瓶,加入搅拌子,60 °C 磁力搅拌,50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头萃取 30 min。

2.2 GC-MS 条件 HP-5MS 毛细管柱(325 °C,320 μm × 60 m,0.25 μm),载气 He,流量 1 mL·min⁻¹,气化温度 250 °C,接口温度 280 °C;色谱柱初始温度 40 °C,以 4 °C·min⁻¹升温至 90 °C(保持 1 min),以 2 °C·min⁻¹升温至 200 °C(保持 1 min),以 5 °C·min⁻¹升温至 240 °C,最后保持 3 min;分流比不分流。电离方式 EI 源,能量 70 eV,离子源温度 230 °C,四极杆温度 150 °C,质量范围 m/z 30 ~ 500,电子倍增器电压 1 400 V。

2.3 测定结果 通过检索 NIST08.L 质谱库并与标准图谱对照(匹配度 ≥ 80%),结合文献[9-14]报道,以面积归一化法计算各峰的相对百分含量。从稳心颗粒中共鉴定出挥发性成分 52 个,占总挥发性成分的 67.39%,见表 1 和图 1。

表 1 稳心颗粒中的挥发性化学成分

Table 1 Volatile oil of Wenxin granules

No.	化合物名称	保留时间 /min	相对质量 分数/%	相对分子 质量	分子式	匹配度 /%
1	6-methyl-2-heptanone 6-甲基-2-庚酮	13.78	0.15	128	C ₈ H ₁₆ O	91
2	benzaldehyde 苯甲醛	14.32	0.05	106	C ₇ H ₆ O	97
3	β-pinene β-蒎烯	14.79	0.02	136	C ₁₀ H ₁₆	92
4	methylheptenone 甲基庚烯酮	15.17	0.02	126	C ₈ H ₁₄ O	90
5	octanal 正辛醛	15.83	0.03	128	C ₈ H ₁₆ O	95
6	p-cymene 对伞花烃	16.87	0.13	134	C ₁₀ H ₁₄	97
7	limonene 柠檬烯	17.07	0.07	136	C ₁₀ H ₁₆	94
8	eucalyptol 桉叶油醇	17.20	0.15	154	C ₁₀ H ₁₈ O	99
9	(E)-2-nonenal 反-2-壬烯醛	23.87	0.06	140	C ₉ H ₁₆ O	95
10	terpinen-4-ol 薜品烯-4-醇	24.99	0.05	154	C ₁₀ H ₁₈ O	94
11	2-isopropyl-5-methylanisole 2-异丙基-5-甲基茴香醚	28.21	0.06	164	C ₁₁ H ₁₆ O	97
12	2-isopropyl-4-methylanisole 2-异丙基-4-甲基茴香醚	28.78	0.29	164	C ₁₁ H ₁₆ O	94

续表 1

No.	化合物名称	保留时间 /min	相对质量 分数/%	相对分子 质量	分子式	匹配度 /%
13	6-(5-methyl-furan-2-yl)-hexan-2-one 6-(5-甲基呋喃-2-)-己烷-2-酮	30.98	0.02	180	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	90
14	1,1,3-trimethyl-1H-indene 1,1,3-三甲基-1H-茚	33.34	0.04	158	C ₁₂ H ₁₄	94
15	α -cubebene α -葎澄茄油烯	35.26	0.40	204	C ₁₅ H ₂₄	99
16	cyclocopacamphene 环古茨烯	36.29	0.10	204	C ₁₅ H ₂₄	99
17	ylangene 衣兰烯	36.63	0.06	204	C ₁₅ H ₂₄	98
18	copaene 胡椒烯	37.01	3.93	204	C ₁₅ H ₂₄	99
19	β -patchoulene β -广藿香烯	37.30	0.07	204	C ₁₅ H ₂₄	99
20	β -bourbonene β -波旁烯	37.48	0.54	204	C ₁₅ H ₂₄	91
21	eemene 榄香烯	37.96	3.20	204	C ₁₅ H ₂₄	91
22	β -maaliene β -橄榄烯	39.07	0.79	204	C ₁₅ H ₂₄	99
23	isocaryophyllene 异丁香烯	39.82	8.92	204	C ₁₅ H ₂₄	99
24	calarene 水菖蒲烯	40.49	3.56	204	C ₁₅ H ₂₄	98
25	dehydro-aromadendrene 脱氢香橙烯	40.64	0.38	202	C ₁₅ H ₂₂	90
26	Z,Z,Z-1,5,9,9-tetramethyl-1,4,7-cycloundecatriene Z,Z,Z-1,5,9,9-四甲基-1,4,7-环十一碳三烯	41.78	4.63	204	C ₁₅ H ₂₄	98
27	α -gurjunene α -古芸烯	41.95	0.79	204	C ₁₅ H ₂₄	96
28	aromadendrene 香橙烯	42.23	4.55	204	C ₁₅ H ₂₄	99
29	γ -cadinene γ -杜松烯	42.96	0.98	204	C ₁₅ H ₂₄	99
30	germacrene D 吉马烯 D	43.30	1.68	204	C ₁₅ H ₂₄	97
31	β -ionone β -紫罗兰酮	43.45	0.81	192	C ₁₃ H ₂₀ O	96
32	selinene 芹子烯	43.58	0.60	204	C ₁₅ H ₂₄	99
33	β -cadinene β -杜松烯	43.79	0.22	204	C ₁₅ H ₂₄	99
34	γ -gurjunene γ -古芸烯	44.05	0.94	204	C ₁₅ H ₂₄	91
35	bicyclogermacrene 双环吉马烯	44.16	0.36	204	C ₁₅ H ₂₄	93
36	α -muurolene α -衣兰油烯	44.28	0.53	204	C ₁₅ H ₂₄	96
37	eremophilene 雅榄蓝烯	44.64	0.16	204	C ₁₅ H ₂₄	99
38	butylated hydroxytoluene 丁基化羟基甲苯	44.98	0.13	220	C ₁₅ H ₂₄ O	90
39	α -cadinene α -杜松烯	45.11	0.42	204	C ₁₅ H ₂₄	96
40	δ -cadinene δ -杜松烯	45.65	1.42	204	C ₁₅ H ₂₄	94
41	cadina-1,4-diene 杜松烷-1,4-二烯	46.13	0.22	204	C ₁₅ H ₂₄	96
42	2,3,4,4a,5,6-hexahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)naphthalene 2,3,4,4a,5,6-六氢-1,4a-二甲基-7-异丙基萘	48.24	2.09	204	C ₁₅ H ₂₄	90
43	spathulenol 匙叶桉油烯醇	49.33	9.40	220	C ₁₅ H ₂₄ O	87
44	caryophyllene oxide 氧化丁香烯	49.52	6.93	220	C ₁₅ H ₂₄ O	93
45	ledene 喇叭茶烯	50.36	0.54	204	C ₁₅ H ₂₄	94
46	3,4-dimethylcyclohex-3-enecarbaldehyde 3,4-二甲基环己烷-3-烯-1-甲醛	50.84	5.11	138	C ₉ H ₁₄ O	86
47	α -guaiene α -愈创木烯	51.67	0.31	204	C ₁₅ H ₂₄	90
48	alloaromadendrene 别香橙烯	52.97	0.34	204	C ₁₅ H ₂₄	95
49	(3aS,3bR,4S,7R,7aR)-7-methyl-3-methylidene-4-(propan-2-yl)octahydro-1H-cyclopenta[1.3]cyclopropano[1.2]benzene (3aS,3bR,4S,7R,7aR)-7-甲基-3-亚甲基-4-(丙烷-2-基)-八氢-1H-环戊烷并[1.3]-环丙烷并[1.2]苯	55.66	0.38	204	C ₁₅ H ₂₄	92
50	8-isopropyl-5-methyl-2-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene 8-异丙基-5-甲基-2-亚甲基-1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢萘	56.30	0.28	204	C ₁₅ H ₂₄	96
51	2-(bromomethyl)-2-adamantanol 2-溴乙基-金刚烷-2-醇	62.63	0.44	244	C ₁₁ H ₁₇ BrO	90
52	ethyl palmitate 棕榈酸乙酯	70.02	0.04	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	99

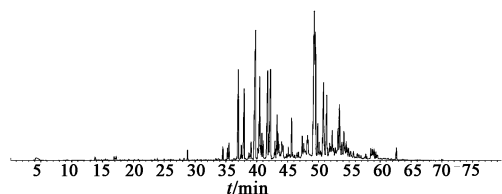


图1 稳心颗粒 HS-SPME-GC-MS 总离子流
Fig. 1 HS-SPME-GC-MS total ion chromatogram of Wenxin granules

3 讨论

稳心颗粒挥发性成分来源于甘松, Ken Tanaka 等^[8]对甘松属植物的固相微萃取条件进行了系统研究, 本实验参考相关方法并经前期预实验, 最后确定萃取条件为 60 °C 萃取 30 min。3.6 g 氯化钠与 12 mL 水配成近饱和溶液, 增加了溶液中的离子强度, 减小有机物在水中的溶解度, 增加萃取探头的吸附量, 提高检测能力。

稳心颗粒中挥发性成分主要为匙叶桉油烯醇 (9.40%), 异丁香烯 (8.92%), 氧化丁香烯 (6.93%), 3,4-二甲基-3-环己烯-1-甲醛 (5.11%), Z,Z,Z-1,5,9,9-四甲基-1,4,7-环十一碳三烯 (4.63%), 香橙烯 (4.55%), 胡椒烯 (3.93%), 水菖蒲烯 (3.56%) 等, 与甘松相关文献^[9-13]所报道的挥发性成分相比, 主成分一致, 但是在种类和含量上还存在较大差异, 可能与仪器条件、药材品种、制备工艺等因素有关。制备颗粒剂过程中因须经干燥等工序, 挥发性成分在含量上会有所变化, 但是否因此影响药效, 有待结合药理及生物活性筛选, 开展后续试验研究。

与 2005 年版《中国药典》相比, 2010 年版《中国药典》将原甘松药材的 2 种基源植物, 即甘松 (*Nardostachys chinensis*) 和匙叶甘松 (*N. jatamansi*), 更改为匙叶甘松 1 种。但匙叶甘松已在《濒危野生动植物种国际贸易公约》名单上, 资源较紧缺。故基于本实验定性分析结果, 结合抗心律失常药理及生物活性筛选, 探讨稳心颗粒中挥发性成分的药效

贡献度, 以期找到组分/成分替代方案, 优化精简稳心颗粒提供参考。

[参考文献]

[1] 魏刚, 曾经考, 黄月纯. GC-MS 在中药复方制剂挥发油研究中的应用分析[J]. 中药新药与临床药理, 2000, 11(5):295-298.

[2] 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, 2010:1205-1206.

[3] 宋雪莲. 步长稳心颗粒: 首个通过中美两国实验室论证的中成药[J]. 中国经济周刊, 2008, 2008(22): 44-45.

[4] 孟令飞. 步长稳心颗粒治疗室性早搏疗效观察[J]. 吉林: 吉林大学, 2013:18.

[5] 葛郁芝, 周萍, 陈军喜, 等. 甘松挥发油浸润和吸入法对大鼠心室肌有效不应期的影响[J]. 中国心血管病研究, 2008, 6(5):374-376.

[6] 竹元裕明. 吸入甘松香具有镇静作用[J]. 国际中医中药杂志, 2006, 28(2):113.

[7] 杨涛, 叶媛, 许美霞, 等. 不同时间应用甘松挥发油对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(23):1897-1899, 1932.

[8] Ken Tanaka, Katsuko Komatsu. Comparative study on volatile components of *Nardostachys Rhizome* [J]. J Nat Med, 2008, 62(1):112-116. [9] 韩泳平, 肖丹, 向永臣, 等. 甘松挥发油成分分析[J]. 中药材, 2000, 23(1):34-35.

[10] 武子敬. 甘松挥发油化学成分 GC-MS 分析[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(31):17465-17466.

[11] 武姣姣, 石晋丽, 刘云召, 等. 不同产地甘松挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(10):2196-2200.

[12] 耿晓萍, 石晋丽, 刘勇, 等. 甘松地上和地下部位挥发油化学成分比较研究[J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(1):56-59.

[13] 邱琴, 刘廷礼, 崔兆杰, 等. 甘松挥发油的提取及其化学成分剖析[J]. 山东大学学报: 自然科学版, 1999, 34(2):192-197.

[责任编辑 顾雪竹]