

安息香不同提取方法的 GC-MS 研究

彭颖, 夏厚林*, 周颖, 王建, 黄立华
(成都中医药大学, 成都 611137)

[摘要] 目的: 考察安息香不同提取方法的化学成分异同, 探索安息香挥发性成分分析的最宜提取方法。方法: 应用气相色谱-质谱联用技术, 分析安息香溶剂提取部位(石油醚和乙醚提取)、水蒸气蒸馏提取挥发油、顶空固相微萃取挥发性成分的同异。结果: 安息香溶剂提取鉴定出 5 个化合物(其中石油醚部位 4 个化合物、乙醚部位 4 个化合物), 水蒸气蒸馏提取的挥发油鉴定出 19 个化合物, 顶空固相微萃取鉴定出 12 个化合物。3 种方法所得成分中皆含有苯甲酸、苯甲酸苄酯、香草醛、肉桂酸苄酯 4 种成分, 3 种方法中常规水蒸气蒸馏得到的成分相对较多种类较全面。结论: 3 种提取方法中, 安息香经常规水蒸气蒸馏提取得到的成分最多且种类最全面, 提示此 3 种提取方法中常规水蒸气蒸馏是安息香挥发性成分分析的最宜方法。

[关键词] 安息香; 溶剂提取; 水蒸气蒸馏; 顶空固相微萃取; 气相色谱-质谱联用

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0073-04

The GC-MS Research on Different Extraction Methods of Benzoinum

PENG Ying, XIA Hou-lin*, ZHOU Ying, WANG Jian, HUANG Li-hua
(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To identify the differences and similarities of chemical components obtained through different extraction methods about Benzoinum and to explore the best extraction method to study the volatile

[收稿日期] 20111127(001)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2007CB512606)

[第一作者] 彭颖, 硕士研究生, 从事中药药效物质基础及质量标准研究, Tel: 13547959947, E-mail: pengying502214py@163.com

[通讯作者] * 夏厚林, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础及质量标准研究, Tel: 13568899011, E-mail: xhl64@163.com

- [3] 张聿梅, 鲁静, 蒋渝, 等. 川乌和制川乌中单酯及双酯型生物碱成分的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(7): 807.
- [4] 陈东安, 易进海, 黄志芳, 等. 附子煎煮过程中酯型生物碱含量的动态变化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 64.
- [5] 黄志芳, 易进海, 吴燕, 等. 附片质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 36(4): 478.
- [6] Kosuge T, Yokota M. Studies on cardiac principle of Aconite root. Chem Pharm Bull. 1976, 24(2): 176.
- [7] 姜文卿. 附子 1 号对缓慢性心律失常的作用初步临床观察[J]. 中华心血管病杂志, 1980, 8(2): 95.
- [8] 今野, 向坂. 附子的新强心成分[J]. 汉方研究, 1978, (5): 163.
- [9] Konno C, Shirasaka M, Hikino H. Cardioactive principle of Aconitum carmichaeli Roots. Planta Med, 1979, 35: 150.
- [10] 陈迪华, 李慧颖, 宋维良. 中国附子成分研究 II. 白附片的化学成分[J]. 中草药, 1982, 13(11): 481.
- [11] 吴艳琼, 梁洁雯. HPLC 测定盐酸多巴胺注射液的含量[J]. 广东药学, 2005, 15(3): 15.
- [12] 段晋燕, 郭琳娜, 张永谦, 等. 细胞中多巴胺及儿茶酚胺异喹啉类物质的 HPLC-MS/MS 检测[J]. 化学通报, 2010, 73(11): 1035.
- [13] 刘玉涛, 滕显伟. 简述用 HPLC 法测定盐酸多巴胺注射液有关物质的方法[J]. 黑龙江科技信息, 2009, (34): 299.
- [14] 陈薛钗, 王睿, 毛健, 等. Salsolinol 合成酶的高效液相色谱-电化学活性检测方法研究[J]. 化学通报, 2010, 73(10): 938.

[责任编辑 顾雪竹]

components of Benzoinum. **Method:** The similarities and differences among solvent extraction (by petroleum ether and ethyl ether), extraction of volatile oils through steam distillation and extraction of volatile components through HS-SPME were analyzed and compared by the GC-MS technology. **Result:** 5 compounds were identified through the extraction of the solvent of Benzoinum, including 4 compounds in the part of petroleum ether and 4 compounds in the part of ethylether. 19 compounds were identified during the volatile oils extracted by steam distillation. 12 compounds were identified through SPME. The components obtained through three methods all include 4 chemical constitutions such as benzoic acid, benzyl benzoate, vanillin and benzyl cinnamate. The steam distillation obtained the most components in this three extraction methods. **Conclusion:** The steam distillation obtained the most components in this three extraction methods. It suggested that the steam distillation is the best method to study the volatile components of Benzoinum.

[**Key words**] Benzoinum; solvent extraction; steam distillation; HS-SPME; GC-MS

安息香为安息香科植物白花树的干燥树脂。其味辛、苦,性温,入心、脾、肺、胃经,具有开窍辟秽、行气活血、镇咳祛痰功效^[1],用于中风痰厥,气郁暴厥,中风昏迷,心腹疼痛,产后血晕,小儿惊风等症。是芳香开窍药中使用频率较高的一味药。

安息香中主要成分为具有挥发性的香脂酸类成分^[2],关于其挥发性成分 GC-MS 研究需待完善,采用溶剂提取低极性成分和固相微萃取对安息香进行 GC-MS 研究还未见报道。本文采用不同的提取方法,比较分析安息香中的挥发性成分,希望找出最适合安息香中挥发性成分的方法。安息香的有效部位为石油醚部位和乙醚部位^[3],而水蒸气蒸馏法作为挥发性成分研究最常见的提取方法^[4-6],另外顶空固相微萃取作为现在较新的挥发性成分研究技术^[7],所以本文同时采用 3 种方法,比较溶剂提取、水蒸气蒸馏和顶空固相微萃取对安息香中挥发性成分提取的异同。

1 仪器与试剂

Agilent GC6890/Agilent MS5973 气相色谱-质谱联用仪, HP-INNOWax (19091N-133) 色谱柱 (0.25 μm \times 0.25 mm \times 30 m); SPME 手动进样手柄; 75 μm Carboxen/PDMS 萃取头 (Supelco 公司), 索氏提取器, 所用试剂均为分析纯。

药材经成都中医药大学药用植物教研室卢先明教授鉴定为安息香科植物白花树 *Styrax tonkinensis* (Pierce) Graib ex Hart. 的干燥树脂。

2 样品制备方法

2.1 溶剂提取 取安息香 1 g, 加石油醚经索氏提取器提取完全, 减压回收溶剂, 加乙酸乙酯定容 10 mL, 作为安息香石油醚部位; 经石油醚提取后的残渣加乙醚经索氏提取器提取完全, 减压回收溶剂, 加乙酸乙酯定容至 10 mL, 作为安息香乙醚部位。

2.2 水蒸气蒸馏提取 取安息香药材 50 g, 经常规水蒸气蒸馏提取得安息香油状物 0.1 mL, 收油率为 0.2%。收集油层, 干燥备用。

2.3 顶空固相微萃取 (HS-SPME) 使用前先将 SPME 的萃取头在 GC 的进样口以 250 $^{\circ}\text{C}$ 的温度老化 40 min, 取安息香样品 0.5 g 置于 5 mL 样品瓶中, 盖上盖子, 插入萃取头, 150 $^{\circ}\text{C}$ 下顶空萃取 15 min, 取出后立即插入 GC 进样口, 解吸 5 min。

3 实验条件

3.1 色谱条件 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 程序升温 (初始温度为 50 $^{\circ}\text{C}$, 以 6 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 170 $^{\circ}\text{C}$, 再以 5 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 220 $^{\circ}\text{C}$, 最后以 20 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 270 $^{\circ}\text{C}$), 载气高纯氮气, 载气流量 1.0 mL $\cdot \text{min}^{-1}$, 无分流进样, 进样量 1 μL (除采用 HS-SPME 制备的样品)。

3.2 质谱条件 电离方式为 EI 源, 电离能量为 70 eV, 离子源温度为 230 $^{\circ}\text{C}$, 四极杆温度为 150 $^{\circ}\text{C}$, 传输线温度为 150 $^{\circ}\text{C}$, 电子倍增器电压为 1 765 V, 质量扫描范围为 m/z 20 ~ 450, 计算机质谱数据系统为 G1033A, D 01.00NIST98 标准质谱检索库。

4 结果与讨论

经气相色谱数据处理系统, 以面积归一化法测得各组分相对含量。得安息香石油醚部位、乙醚部位、安息香挥发油和顶空固相微萃取的总离子流图 (图 1 ~ 4)。对总离子流图中的各峰质谱扫描后得到质谱图, 经计算机质谱数据系统 (G1033A, D 01.00NIST98 标准质谱检索库) 检索, 人工谱图解析, 并查对有关资料, 安息香溶剂提取石油醚部位鉴定出 4 个化合物、乙醚部位 4 个化合物, 水蒸气蒸馏提取的挥发油鉴定出 19 个化合物, 顶空固相微萃取鉴定出 12 个化合物, 结果见表 1 ~ 表 4。

表 1 和表 2 为安息香石油醚部位和乙醚部位鉴

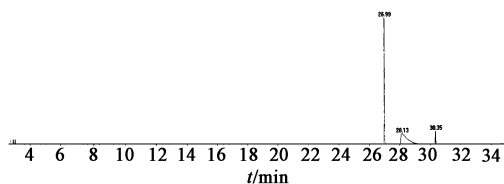


图1 安息香石油醚部位总离子流

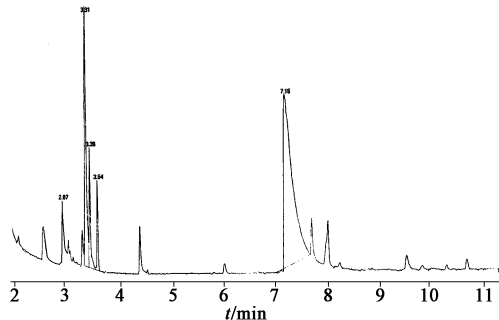


图4 安息香固相微萃取总离子流

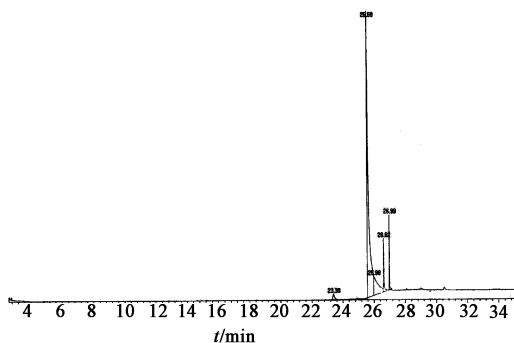
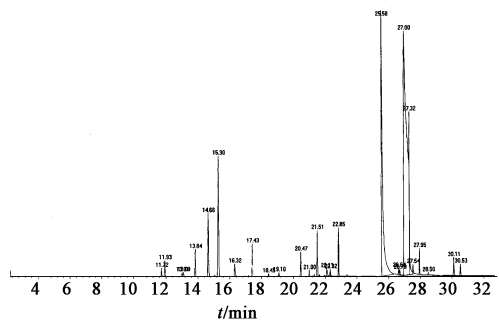


图2 安息香乙醚部位总离子流



续表 3

No	t_R /min	化合物	分子式	相对分子质量	相对含量/%
9	19.10	苯甲酸正戊酯 <i>n</i> -amyl benzoate	$C_{12}H_{16}O_2$	192	0.29
10	21.00	4-乙基-2-甲氧基苯酚 4-ethyl-2-methoxyphenol	$C_9H_{12}O_2$	152	0.32
11	22.11	2-甲氧基-4-丙基-苯酚 dihydroeugenol	$C_{10}H_{14}O_2$	166	0.62
12	22.32	顺式-3-己烯醇苯甲酸酯 <i>cis</i> -3-hexenyl benzoate	$C_{13}H_{16}O_2$	204	0.28
13	22.85	丁香酚 eugenol	$C_{10}H_{12}O_2$	164	1.73
14	25.58	苯甲酸 benzoic acid	$C_7H_6O_2$	122	23.73
15	26.64	香草醛 vanillin	$C_8H_8O_3$	152	0.36
16	27.00	苯甲酸苄酯 benzyl benzoate	$C_{14}H_{12}O_2$	212	52.66
17	27.95	柳酸苄酯 benzyl salicylate	$C_{14}H_{12}O_3$	228	0.68
18	30.54	肉桂酸苄酯 benzyl cinnamate	$C_{16}H_{14}O_2$	238	1.45
19	32.45	肉桂酸肉桂酯 cinnamyl cinnamate	$C_{18}H_{14}O_2$	264	1.34

表 4 安息香固相微萃取的化学成分

No	t_R /min	化合物	分子式	相对分子质量	相对含量/%
1	2.50	乙酸, 醋酸 acetic acid	$C_2H_4O_2$	60	0.21
2	2.87	苯甲醛 benzaldehyde	C_7H_6O	106	1.41
3	3.30	氨基甲酸乙酯 ethyl carbamate	$C_3H_7NO_2$	89	0.13
4	3.39	2-茨醇 borneol	$C_{10}H_{18}O$	154	0.91
5	3.53	异龙脑 isoborneol	$C_{10}H_{18}O$	154	0.35
6	4.35	苯甲醇 benzenemethanol	C_7H_8O	108	1.08
7	5.96	苯甲酰甲酸 benzoylformic acid	$C_8H_6O_3$	150	0.47
8	7.16	苯甲酸 benzoic acid	$C_7H_6O_2$	122	78.90
9	7.67	香草醛 vanillin	$C_8H_8O_3$	152	4.23
10	7.95	苯甲酸苄酯 benzyl benzoate	$C_{14}H_{12}O_2$	212	7.46
11	9.49	十六烷酸(棕榈酸) <i>n</i> -hexadecanoic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	256.42	0.29
12	14.78	肉桂酸苄酯 benzyl cinnamate	$C_{18}H_{12}O_2$	264	2.13

表 5 安息香 3 种提取方法相同成分比较分析

成分	溶剂提取	水蒸气蒸馏	顶空固相微萃取
丙酸乙酯 ethyl propionate	+	-	-
苯甲酸苄酯 benzyl benzoate	+	+	+
苯甲酸 benzoic acid	+	+	+
肉桂酸苄酯 benzyl cinnamate	+	+	+
香草醛 vanillin	+	+	+
异龙脑 isoborneol	-	+	+
苯甲醛 benzaldehyde	-	+	+

注:表中“+”表示检出,“-”表示未检出。

通过对安息香溶剂提取得到的有效部位(石油醚部位和乙醚部位)、常规水蒸气蒸馏得到的挥发油和固相微萃取得到的挥发性成分进行 GC-MS 分析,得出常规水蒸气蒸馏得到的成分与文献报道的成分较为相似,固相微萃取得到的成分较溶剂提取得到的低极性成分要丰富。从成分种类上来看还是传统水蒸气蒸馏得到的成分更全面。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2010:138.
 [2] 陈胜璜,杨德俊,黄志超.安息香树叶中总香脂酸的含量测定[J].临床检验,2007,4(12):108.
 [3] 李明,魏宁漪,牛剑钊.马蔺子种皮乙醚提取物化学成分分析[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):108.
 [4] 袁婷,王成芳,费超,等.杨叶肖槿叶挥发油成分的分析[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(3):48.
 [5] 范小春,梁光义,曹佩雪,等.气相色谱-质谱联用法测定广玉兰果壳和种子中挥发性化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(7):93.
 [6] 张丽勇,林秀梅,战月,等.不同方法提取青蒿挥发油成分分析及抗菌活性比较[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(22):60.
 [7] 田璞玉,顾雪竹,王金梅,等.HS-SPME-GC-MS 分析茸毛木蓝地上部分和根挥发性成分[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(6):86.
 [8] 娄方明,李群芳,邱维维.气质联用分析安息香的挥发性成分[J].中成药,2010,32(10):1829.

[责任编辑 顾雪竹]