

HS-SPME-GC-MS 法分析南、北葶苈子的挥发性成分

曹 利*,卢金清#,叶 欣,许俊洁,屠 寒(湖北中医药大学湖北省药用植物研发中心,武汉 430065)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)30-4302-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.30.41

摘要 目的:分析南、北葶苈子的挥发性成分,并比较其差异。方法:采用顶空固相微萃取法对葶苈子的挥发性成分进行提取,采用气相色谱-质谱联用法检测成分,采用面积归一化法计算各成分相对含量。结果:南、北葶苈子的挥发性成分分别为25、18种,分别占各自挥发性成分总量的75.76%、64.29%,其中含量最高的化学成分分别为 β -石竹烯、邻甲基苯腈。结论:该方法操作简便,结果可靠,可用于南、北葶苈子挥发性成分的分析;南、北葶苈子的挥发性成分在种类和含量上差异较大。该研究为快速鉴定南、北葶苈子提供了依据。

关键词 南葶苈子;北葶苈子;顶空-固相微萃取;气相色谱-质谱联用法;挥发性成分

Analysis of Volatile Components in *Descurainia sophia* and *Lepidium apetalum*

CAO Li, LU Jinjing, YE Xin, XU Junjie, TU Han (Hubei Provincial Research and Development Center of Medicinal Plant, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To analyze the volatile components in *Descurainia sophia* and *Lepidium apetalum* and compare its differences. METHODS: HS-SPME was conducted for extracting volatile components in *D. sophia* and *L. apetalum*, GC-MS was used for detecting components, and area normalization method was adopted for calculating relative content of each component. RESULTS: The volatile components in *D. sophia* and *L. apetalum* were 25 and 18, accounting for 75.76% and 64.29% of total volatile components, respectively, and chemical components with the highest contents were β -caryophyllene and *O*-tolunitrile. CONCLUSIONS: The method is simple, reliable, and can be used for the analysis of volatile components in *D. sophia* and *L. apetalum*. The volatile components show great differences in the kinds and contents, the study can provide basis for rapid identification of *D. sophia* and *L. apetalum*.

KEYWORDS *Descurainia sophia*; *Lepidium apetalum*; Headspace-solid phase microextraction; GC-MS; Volatile component

葶苈子为十字花科植物播娘蒿 *Descurainia sophia* (L.) Webb. ex Prantl. 或独行菜 *Lepidium apetalum* Willd. 的干燥成熟种子,前者习称“南葶苈子”,后者习称“北葶苈子”,味辛、苦,大寒,归肺、膀胱经,有泻肺平喘、行水消肿之功效,主治痰涎壅肺、胸肋胀满、胸腹水肿、小便不利等证^[1],其主产于山东、江苏、河北等地。

根据相关文献记载,葶苈子具有强心、抑制心室重构、抑制心肌肥大、降血脂、止咳平喘、利尿、抗癌、抗氧化等药理作用^[2-4]。有学者总结了葶苈子的妙用及用于治疗心力衰竭的经验^[5],而目前临床上用于治疗心衰的主要是左西孟旦、奈西立肽等化学药^[6],葶苈子在治疗心衰方面具有较大的开发前景。南、北葶苈子外形相似,临床上常有混用,但南葶苈子在临床上较北葶苈子应用广泛,且效果更好。为更好地将二者加以区别,本研究首次采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用法(HS-SPME-GC-MS)分析南、北葶苈子的挥发性成分,旨在为规范二者在临床上的应用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

6890/5973型GC-MS仪(美国Hewlett-Packard公司);65 μ m PDMS/DVB萃取纤维头(美国Supelco公司);手动固相微萃取

装置(德国IKA公司)。

1.2 药材

南、北葶苈子药材于2015年10月8日购于武汉强康药业有限公司,经湖北中医药大学药教研室张秀桥教授鉴定为十字花科植物播娘蒿 *Descurainia sophia* (L.) Webb. ex Prantl. 和独行菜 *Lepidium apetalum* Willd. 干燥成熟种子。

2 方法与结果

2.1 试验条件

2.1.1 HS-SPME条件 称取样品粉末1.5 g,置于15 ml顶空瓶中,用带有65 μ m PDMS/DVB萃取纤维头的手动进样器插入瓶内,100 $^{\circ}$ C下平衡15 min,再顶空萃取20 min,取出,立即插入GC仪进样口(温度为250 $^{\circ}$ C)中,解吸3 min。

2.1.2 色谱条件 色谱柱:HP-5M毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m);柱温:程序升温,初始温度为50 $^{\circ}$ C,先以3 $^{\circ}$ C/min升温至80 $^{\circ}$ C,后以6 $^{\circ}$ C/min升温至92 $^{\circ}$ C,再以7 $^{\circ}$ C/min升温至180 $^{\circ}$ C,最后以10 $^{\circ}$ C/min升温至200 $^{\circ}$ C;进样口温度:250 $^{\circ}$ C;载气:高纯氮气(纯度:99.999%);载气流速:1.0 ml/min;不分流进样。

2.1.3 质谱条件 离子源:电子轰击源(EI);离子源温度:230 $^{\circ}$ C;四级杆温度:150 $^{\circ}$ C;电子能量:70 eV;倍增管电压:1.2 kV;接口温度:250 $^{\circ}$ C;扫描范围:45~400 *m/z*。

2.2 成分分析

按上述试验条件进行分析处理,设定积分参数初始峰宽为0.080,初始阈值为16.0,得南、北葶苈子挥发性成分总离子流图(见图1),南葶苈子共分离出33个色谱峰,北葶苈子共分

* 硕士研究生。研究方向:中药及其天然产物活性成分。E-mail: 15377575302@qq.com

通信作者:教授。研究方向:中药及其天然产物活性成分。电话:027-68890101。E-mail: ljq59169@sohu.com

离出28个色谱峰,将相关色谱峰数据碎片信息与Wiley7Nist05和NIST05数据库进行检索、比对,采用峰面积归一化法计算各成分的相对质量分数,对质谱相似度>80%的化合物进行收集整理,分别从南葶苈子中鉴定出25种成分,从北葶苈子中鉴定出18种成分,分别占各自挥发性成分总量的75.76%和64.29%,详见表1。

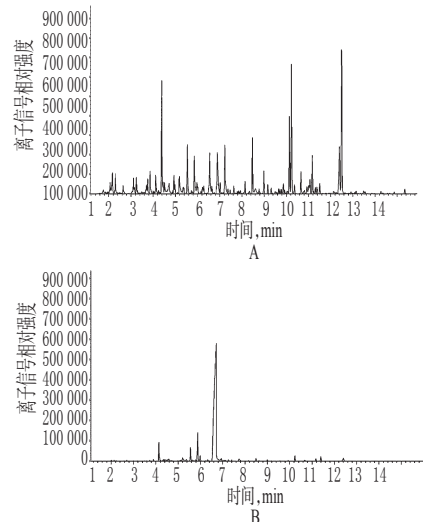


图1 总离子流图

A.南葶苈子挥发性成分;B.北葶苈子挥发性成分

Fig 1 Total ion spectra

A.volatilable components in *D. sophia*;B.volatilable components in *L. apetalum*

表1 南北葶苈子挥发性成分分析

Tab 1 Volatile components in *D. sophia* and *L. apetalum*

序号	名称	分子式	相对百分含量,%(相似度,%)	
			南葶苈子	北葶苈子
1	Methylall cyanide 丁烯腈	C ₄ H ₇ N	1.12(83)	-
2	Hexyl alcohol 正己醇	C ₆ H ₁₄ O	1.71(80)	-
3	Ethyl 2-furyl ketone 2-丙酰呋喃	C ₇ H ₈ O ₂	1.20(80)	-
4	2-Pinene 2-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	2.27(95)	-
5	1-Acetyl-1-cyclohexene 1-乙酰环己烯	C ₈ H ₁₂ O	1.70(82)	-
6	Benzaldehyde 苯甲醛	C ₇ H ₆ O	1.99(91)	3.45(95)
7	4-Isothiocyanato-1-butene 3-丁烯基异硫氰酸酯	C ₄ H ₇ NS	8.85(81)	-
8	Hexanoic acid 己酸	C ₆ H ₁₂ O ₂	1.89(84)	-
9	Cyclol decene 双戊烯	C ₁₀ H ₁₆	1.98(93)	-
10	1-Octen-3-ol 1-辛烯-3-醇	C ₈ H ₁₆ O	-	1.20(80)
11	4-Octyne 4-辛炔	C ₈ H ₁₄	-	1.28(82)
12	Benzyl alcohol 苯甲醇	C ₇ H ₈ O	2.16(96)	1.85(96)
13	Ethyl butyrolactone 丙位己内酯	C ₈ H ₁₀ O ₂	-	0.54(81)
14	3,5-Octadien-2-one 3,5-辛二烯-2-酮	C ₈ H ₁₂ O	3.45(91)	5.38(90)
15	1-Nonanal 壬醛	C ₉ H ₁₈ O	1.38(80)	1.07(82)
16	Phenethyl alcohol 苯乙醇	C ₈ H ₁₀ O	1.38(81)	-
17	Alcanfor 樟脑	C ₁₀ H ₁₆ O	4.33(96)	-
18	Mesityl fluoride 1-氟-2,4,6-三甲基苯	C ₈ H ₇ F	-	0.65(80)
19	CNT 邻甲基苯腈	C ₈ H ₇ N	-	71.61(97)
20	Borneol 冰片	C ₁₀ H ₁₆ O	5.49(82)	1.70(80)
21	2-Methyl-5-(2-allyl-2-) cyclohexene-1- alcohol acetate 2-甲基-5-(2-丙烯基)-2-环己烯-1-醇乙酸酯	C ₁₈ H ₃₀ O	0.50(80)	-
22	Decanal 癸醛	C ₁₀ H ₂₀ O	-	0.30(84)
23	Benzothiazole 苯并噻唑	C ₇ H ₅ NS	-	1.04(91)
24	L-Borneol acetate 左旋乙酸冰片酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	3.48(99)	0.63(99)
25	Z-2-Methyl-5-(1-methylethenyl)-acetate, cis-2-cyclohexen 顺-2-甲基-5-(1-甲基乙烯基)-2-环己	C ₁₂ H ₂₀ O	0.54(91)	-
26	D-2-Carene 2-萜烯	C ₁₀ H ₁₆	0.39(81)	-
27	2-Methylnaphthalene 2-甲基萘	C ₁₁ H ₁₀	-	0.18(82)

续表1

Continued Tab 1

序号	名称	分子式	相对百分含量,%(相似度,%)	
			南葶苈子	北葶苈子
28	Eicosane 二十烷	C ₂₀ H ₄₂	-	0.13(90)
29	β -Caryophyllene β -石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	14.6(99)	1.00(99)
30	Cis-b-Farnesene 1,6,10-十二碳三烯	C ₁₅ H ₂₄	0.62(92)	-
31	Pentamethylcyclopentadiene 五甲基环戊二烯	C ₁₀ H ₁₆	1.02(80)	-
32	γ -Cadinene γ -杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	0.63(98)	-
33	BHT 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚	C ₁₅ H ₂₄ O	-	0.98(80)
34	Diethyl phthalate 邻苯二甲酸二乙酯	C ₁₂ H ₁₄ O	4.85(96)	1.08(96)
35	8-Propoxy-cedrane 8-丙氧基-柏木烷	C ₁₈ H ₃₂ O	11.08(80)	-

注:“-”为未检测出

Note:“-”means no detected

由表1可知,通过GC-MS法分析、计算机检索和核对质谱库,从南葶苈子中共鉴定出的占其挥发性成分总量的75.76%,主要成分为萜烯类(30.3%)、酯类(15.15%)、醇类(9.09%)等;其中相对百分含量最高的成分是 β -石竹烯(14.6%),其次是8-丙氧基-柏木烷(11.08%)、3-丁烯基异硫氰酸酯(8.85%)等。从北葶苈子中共鉴定出的成分占其挥发性成分总量的64.29%,其主要成分为苯类(21.43%)、醛类(10.71%)、炔类(3.57%)等;其中邻甲基苯腈(71.61%)的相对百分含量最高。

3 讨论

赵海誉等^[7]采用水蒸气蒸馏法结合GC-MS法分析北葶苈子挥发油成分,鉴定出其中的17种化合物,主要为含苯环的化合物,与本试验检测出的含量高达71.61%的邻甲基苯腈吻合;弓建红等^[8]通过GC-MS法分析南葶苈子挥发油成分,分离检测出33个成分,鉴定出27种主要成分,发现含量最高的物质为3-亚甲基-壬烷(68.14%),其次为噻啉(29.32%)、2-庚烯醛(0.58%)、哌啉-3-甲酸甲酯(0.43%)等,此法与本试验方法得出的挥发性成分存在一定差异,可能是由于提取方法不同造成的,也可看出南此葶苈子的挥发性成分在种类和含量上差异较大。

由于南、北葶苈子形态细小,肉眼不易观察,在中药材流通领域内易与形态相似的药材混淆,有学者采用高效毛细管电泳法鉴别南葶苈子和车前子^[9]。而本试验运用HS-SPME-GC-MS法分析比较南、北葶苈子挥发性成分的差异,因为HS-SPME法是一种非常简单、快速、灵敏的前处理方法,其结合GC-MS法可迅速分析挥发性成分。加上南、北葶苈子挥发性成分种类多,特有成分含量大,因此运用此方法来分析南、北葶苈子的挥发性成分并以每种药材的典型挥发性成分为标准来鉴定其真伪是简便可靠的。综上所述,HS-SPME-GC-MS法在分析南、北葶苈子挥发性成分中具有广阔的应用前景。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 313.

[2] 郭娟, 陈长勋, 沈云辉. 葶苈子水提液对动物实验性心室重构的影响[J]. 中草药, 2007, 38(10): 1519.

[3] 张晓丹, 范春兰, 余迎梅, 等. 葶苈子水提液对CHF大鼠利尿作用的影响[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(3): 210.

[4] 马梅芳, 李洁. 葶苈子对昆明种小鼠移植H22肝癌移植瘤抑瘤作用的研究[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(2): 385.

[5] 周淑平. 于作盈教授应用香加皮、葶苈子治疗心衰的经验

HPLC法测定他米巴罗汀片的溶出度

陈丽姣^{1*}, 杨冬霞², 赵艳霞^{3#} (1. 山东理工职业学院, 山东 济宁 272067; 2. 山东创新药物研发有限公司, 济南 250101; 3. 山东省医学科学院研究生教育中心, 济南 250062)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)30-4304-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.30.42

摘要 目的: 建立测定他米巴罗汀片溶出度的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Diamonsil C₁₈, 流动相为甲醇-水-冰乙酸(85:15:1, V/V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 235 nm, 柱温为 25 ℃, 进样量为 20 μl。溶出度测定采用桨法, 以 pH6.8 磷酸盐缓冲液为溶出介质, 溶出介质体积为 900 ml, 转速为 50 r/min, 60 min 取样。结果: 他米巴罗汀检测质量浓度线性范围为 0.801~2.804 μg/ml ($r=0.999\ 6$); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD<3%; 回收率分别为 99.58%~100.90% (RSD=0.25%, $n=9$); 3 批样品的溶出度测定结果分别为 98.25%、96.54%、92.38% ($n=6$)。结论: 该方法简便、准确, 灵敏度高, 专属性强, 适用于他米巴罗汀片的溶出度测定。
关键词 高效液相色谱法; 他米巴罗汀片; 溶出度

Dissolution Determination of Tamibarotene Tablet by HPLC

CHEN Lijiao¹, YANG Dongxia², ZHAO Yanxia³ (1. Shandong Polytechnic College, Shandong Jining 272067, China; 2. Shandong Chuangxin Pharmaceutical Research and Development Co. Ltd., Jinan 250101, China; 3. Graduate Education Center, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the dissolution determination of Tamibarotene tablet. METHODS: HPLC was performed on the column of Diamonsil C₁₈ with mobile phase of methanol-water-acetic acid (85:15:1, V/V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 235 nm, column temperature was 25 ℃, and injection volume was 20 μl. The paddle method was used to determine the dissolution, using pH6.8 phosphate buffer dissolution as medium, medium volume was 900 ml, the rotating speed was 50 r/min, taking samples after 60 min. RESULTS: The linear range of tamibarotene was 0.801-2.804 μg/ml ($r=0.999\ 6$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 3%; recovery was 99.58%-100.90% (RSD=0.25%, $n=9$); the accumulative dissolution rate of 3 batches of samples was 98.25%, 96.54%, 92.38% ($n=6$). CONCLUSIONS: The method simple, accurate with high sensitivity and specificity, and suitable for the dissolution determination of Tamibarotene tablet.
KEYWORDS HPLC; Tamibarotene tablet; Dissolution

急性早幼粒细胞白血病 (APL) 是一种特殊类型急性髓系白血病, 病程发展迅速, 死亡率高^[1]。APL 患者存在染色体 t(15; 17) 易位, 该易位导致分别定位于染色体 15q22 和 17q21 的病变蛋白与维 A 酸受体 (RAR) α 嵌合, 形成 PML-RARα 融合基因^[2-4]。他米巴罗汀 (Tamibarotene) 化学名为 4-[(5, 6, 7, 8-四氢-5, 5, 8, 8-四甲基-2-萘基) 甲酰] 苯甲酸, 它是一个新的 RARα 促进剂, 对复发或难治性急性前骨髓细胞性白血病 (即 APL) 具有显著的分化诱导能力, 从而可产生治疗作用。其片剂由日本新药株式会社研制开发, 于 2005 年在日本首次上市 (商品名: Amnolake, 规格: 2 mg)^[5-6], 该药口服后吸收迅速、疗效确切、副作用小^[7]。目前, 其仿制药我国有几家研发单位正在申

报临床, 国内市场空间巨大。为了保障药品质量和用药安全, 笔者参照 2015 年版《中国药典》(四部) “溶出度与释放度测定法”^[8] 和《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》^[9] 中的相关要求, 采用高效液相色谱法 (HPLC) 建立了国产他米巴罗汀片的溶出度测定方法。

1 材料

1.1 仪器

600E-2487 型 HPLC 仪, 包括 600E 多溶剂输送系统 (有梯度控制器的高压输液泵)、在线脱气机、Rheodyne 7725i 手动进样阀、2487 双通道紫外检测器等 (美国 Waters 公司); ZRS-8G 型智能溶出试验仪 (天津市天大天发科技有限公司); AX105

研究[J]. 中国中医急症, 2014, 23(2): 271.
[6] 黄震华. 心力衰竭治疗现状和展望[J]. 中国新药与临床杂志, 2010, 29(5): 321.
[7] 赵海誉, 王秀坤, 陆景珊. 北葶苈子中挥发油及脂肪油类成分的研究[J]. 中草药, 2005, 36(6): 827.
* 讲师, 硕士研究生。研究方向: 仪器分析。电话: 0537-3617622。
E-mail: hahachenlijiao@126.com
通信作者: 副研究员, 硕士。研究方向: 药物分析。电话: 0531-58672115。E-mail: mls_zhaoyx@ujn.edu.cn

[8] 弓建红, 张艳丽, 冯卫生, 等. GC-MS 分析南葶苈子挥发油成分的研究[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2014, 16(9): 1942.
[9] 郭丹, 陈娜. HPLC 法鉴别南葶苈子和车前子[J]. 中国药房, 2009, 20(9): 683.
(收稿日期: 2016-01-14 修回日期: 2016-03-23)
(编辑: 张 静)