

山榉木油气相色谱与气质联用分析

谢孟峡¹,刘媛¹,刘俊英¹,韩杰¹,陈世忠^{2*}

(1. 北京师范大学分析测试中心,北京 100875; 2 北京大学药学院,北京 100083)

山榉木油又称杂酚油,是东南亚民间广为使用的一种中草药。由山榉木经蒸馏得到的一种挥发油,具有镇痛、解惊和杀菌的作用。对其成分的分析 and 在中成药中含量的定量测定有利于了解其药理作用,配制合理的药物制剂和进行质量控制。气相色谱常用定量测定药物中的挥发性成分^[1-5],并且可与质谱联机对未知成分进行定性分析^[6-9]。本文用气相色谱-质谱对山榉木油的主要成分进行了定性分析,用气相色谱对中成药止泻镇痛丸中的愈创木酚(2-甲氧基苯酚)和对甲愈创木酚(2-甲氧基对甲苯酚)进行了定量测定。

1 实验部分

1.1 试剂与样品:正己烷(分析纯),愈创木酚、对甲愈创木酚、邻硝基苯酚等均为色谱纯。1号样品、2号样品、3号样品分别为3个不同批次的止泻镇痛丸。

1.2 仪器:HP5890A气相色谱仪,FID检测器,3392A数据处理仪,XH-1高纯氢气发生器(北京信和诚科技发展有限公司);色谱柱:BP225毛细管柱,25 m×0.22 mm,0.25 μm;微量进样器(hp 19000A SYRINGE 10 μL)。色谱条件:载气:高纯 N₂;柱头压:131.0 kPa;进样量:0.3 μL;分流比:1:100;进样口温度:250 °C;检测器温度:280 °C。温度梯度:105 °C (15 min)→1 °C/min→130 °C (1 min)。

气质联用仪 TRACE MS (Thermo Quest Finnigan), EI源,电离电压 70 eV。色谱柱:DB-5MS 毛细管柱,30 m×0.22 mm,0.25 μm。进样口温度:250 °C;源温:200 °C,载气:高纯 He,流量 1 mL/min。温度梯度:50 °C (2 min)→10 °C/min→200 °C (15 min)。

1.3 提取方法:将药丸掰碎,在放有无水 CaCl₂ 的干燥器中干燥。准确称取一定量的样品,以正己烷为溶剂,分别用冷浸、超声、回流、索氏提取等4种方法提取其中的有效成分。

1.4 内标溶液的配制:称取邻硝基苯酚 407.4 mg,用正己烷定容于 100 mL 容量瓶中,作为内标溶液。

1.5 标准溶液的配制:分别称取愈创木酚 130.7 mg,对甲愈创木酚 118.2 mg,用正己烷定容于 10 mL,此混合液作为标准溶液的母液。

2 结果与讨论

2.1 色谱分离条件的选择:通过比较非极性和中等极性色谱柱的分离性能,发现在中等极性的毛细管色谱柱上,采用程序升温,被分离组分得到了良好的分离效果。

2.2 气相色谱-质谱对木油主要成分的定性分析:山榉木油为易挥发性混合物,对其主要组分的定性有利于准确分析在止痛药丸中的含量。气相色谱-质谱分析结果表明,山榉木油中主要为酚类化合物,谱库检索的匹配度都很高。其中2个主要组分愈创木酚和对甲愈创木酚用标准品进行对照,两组分的含量超过了50%,表1为气相色谱峰面积归一化法计算出的各组分的百分含量。

表1 山榉木油中各组分的百分含量 (%)

编号	组分	含量
1	2-羟基-3-甲基-2-环戊烯酮	1.05
2	3,4-二甲基-2-羟基-2-环戊烯酮	1.71
3	2-甲氧基苯酚	32.53
4	内标	
5	苯酚	13.6
6	2-甲氧基-6-甲基苯酚	2.05
7	2-甲基苯酚	7.56
8	2-甲氧基-5-甲基苯酚	1.22
9	2-甲氧基-4-甲基苯酚	21.27
10	4-甲基苯酚	3.56
11	3-甲基苯酚	5.63
12	2-甲氧基-4-乙基苯酚	1.06
13	2-乙基苯酚	3.22
14	4-乙基苯酚	3.93

2.3 气相色谱对山榉木油中愈创木酚和对甲愈创木酚的定量测定

2.3.1 标准曲线:将标准溶液母液分别稀释 2, 10, 50, 125, 250 倍,各加入 1 mL 内标溶液,定容于 10 mL。各组分的气相色谱相对峰面积与浓度的线性方程及其相关系数见表 2。

2.3.2 愈创木酚和对甲愈创木酚的定量测定:称取

* 收稿日期:2001-10-12

作者简介:谢孟峡,男,北京师范大学分析测试中心副教授,主要从事色谱及有机波谱研究。

表 2 线性回归方程及相关系数

组 分	线性方程	相关系数
愈创木酚	$A/A_{\text{内标}} = -0.04988 + 3.667C$	$r = 0.99997$
对甲愈创木酚	$A/A_{\text{内标}} = -0.02128 + 3.368C$	$r = 0.99994$

172.8 mg的木油加入 2.5 mL内标溶液并用正己烷定容于 25 mL,进行色谱分析。愈创木酚和对甲愈创木酚的相对峰面积分别为 8.87和 5.56,用回归方程计算两组分的含量为 35.2%和 24.4%,与气相色谱峰面积归一化法定量结果基本相近

2.4 分析方法的重现性:称 3号样品 1.997 g,加 60 mL正己烷,索氏提取 2 h 蒸去多余溶液,加 2 mL内标溶液,定容于 25 mL 连续进样 6次,各组分 RSD 分别为:愈创木酚 1.0%,对甲愈创木酚 1.2%。

2.5 提取方法的比较:采用 4种提取方法对 1号样品药丸进行提取 冷浸:称取 2.001 g样品,用 60 mL正己烷分 3次提取,每次提取 1 h,过滤、合并提取液 旋转蒸发多余的溶剂,加入 2 mL内标溶液,定容于 25 mL 超声:称取 2.009 g样品,用 60 mL正己烷分 3次提取,每次提取 20 min,过滤、合并提取液 旋转蒸发多余的溶剂,加 2 mL内标溶液,定容于 25 mL 回流:称取 2.003 g样品,用 60 mL正己烷回流 2 h,过滤 蒸出多余的溶剂,加入 2 mL内标溶液,定容于 25 mL 索氏提取:称取 2.021 g样品,加入 60 mL正己烷提取 2 h,过滤 蒸去多余溶剂,加入 2 mL内标溶液,定容于 25 mL 分别对以上 4种方法所得的提取液进行气相色谱分析,各组分与内标的色谱峰面积比见表 3

表 3 提取方法对各组分相对峰面积的影响

组 分	冷 浸	超 声	回 流	索氏提取
愈创木酚	1.84	3.68	3.42	5.44
对甲愈创木酚	1.88	3.05	2.76	4.11

从表中数据可看出,样品经索氏提取后各组分的提取效率最高,且两组分的相对比例最接近木油中两组分的比例

2.6 提取时间的比较:分别称取 2号样品 2.001, 2.002, 2.007 g,各加入 60 mL正己烷,用索氏提取器提取 2, 4, 6 h,除去多余的溶剂,加入 2 mL内标溶液,定容于 25 mL 色谱分析结果见表 4

表 4 提取时间对各组分相对峰面积的影响

组 分	2 h	4 h	6 h
愈创木酚	5.97	2.92	2.33
对甲愈创木酚	4.52	2.71	2.16

从色谱结果看出随着提取时间的增加,各组分

的相对峰面积减小 可能是由于这些组分不稳定,易被氧化降解 所以,选用索氏提取 2 h

2.7 样品的稳定性实验:称取 1号样品 2.120 g,加入 60 mL正己烷,用索氏提取器提取 2 h,过滤 除去多余溶剂,加 2 mL内标,定容于 25 mL 每隔 2 h 进一次样,各组分的相对峰面积如表 5

表 5 日内各组分的稳定性

组 分	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
愈创木酚	5.43	5.45	5.47	5.42	5.42
对甲愈创木酚	4.10	4.11	4.13	4.10	4.09

样品的色谱分析结果基本一致,说明在分析时间内,各组分稳定性良好。

2.8 加样回收率:称取 1号样品 1.988 g,加入 60 mL正己烷,用索氏提取器提取 2 h,过滤 除去多余溶液,定容于 25 mL 取该溶液 9 mL,加入 1 mL内标,作色谱分析,得其浓度。再取 5 mL该溶液加内标 1 mL和标准样品定容于 10 mL,用色谱分析各组分含量,得其加样回收率:愈创木酚 99.3%,对甲愈创木酚 101.9%。

2.9 样品的定量测定:称取 1号样品 2.021 g 2号样品 2.008 g 3号样品 2.002 g,各加入 60 mL正己烷,用索氏提取器提取 2 h,除去多余溶剂,加 2 mL内标溶液,定容于 25 mL,色谱分析结果见表 6

表 6 3批样品中愈创木酚和对甲愈创木酚的含量测定 (mg/g)

组 分	1号	2号	3号
愈创木酚	13.70	16.19	15.39
对甲愈创木酚	10.46	12.26	11.57

参考文献:

- [1] 钱小平,赵远征,李珠华.气相色谱法测定第一巴布贴剂中的樟脑、薄荷醇、水杨酸甲酯和麝香草酚[J].色谱,2000,18(3): 267-269.
- [2] 申书昌,张晓慧.气相色谱法测定肌醇[J].色谱,2000,18(3): 265-266.
- [3] 李永庆,赵文,朱霁虹.毛细管气相色谱法测定戒毒药(康灵片)中微量东莨菪碱的含量[J].药物分析杂志,1999,19(4): 239-240.
- [4] 杜黎明,许庆琴.气相色谱法分离和测定 3种植物内源激素[J].色谱,2000,18(1): 69-73.
- [5] 李永庆,田子新,赵文,等.高效液相色谱法测定雷登泰口服液中愈创木酚甘油醚、盐酸伪麻黄碱、氢溴酸右美沙芬的含量[J].药物分析杂志,2000,20(2): 97-99.
- [6] 李金兰,范尚坦,陈彩珍,等.竹叶胡椒挥发油成分研究[J].中草药,1999,30(12): 896-899.
- [7] 李吉来,陈飞龙,罗佳波.白兰花挥发油化学成分研究[J].中草药,2000,31(1): 11-13.
- [8] 陈敏,李晓瑾,姜林,等.新疆党参挥发油成分的研究[J].中草药,2000,31(4): 254-257.
- [9] 刘廷礼,邱琴,崔兆杰,等.气相色谱-质谱联用分析麝香挥发油成分含量[J].中草药,1999,30(12): 903-905.