

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.15.016

气相色谱-质谱法检测川芎定痛胶囊的挥发油成分*

佟彬良¹, 杨泽康², 刘潇琳², 张卜文², 颜文¹, 周春华^{1△}

(1. 河北医科大学第一医院药学部, 河北 石家庄 050031; 2. 河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050017)

摘要:目的 建立检测川芎定痛胶囊中挥发油成分的气相色谱-质谱(GC-MS)法。方法 采用水蒸气蒸馏法提取样品中的挥发油, 采用GC-MS法鉴定挥发油中的化学成分。色谱柱为DB-17MS毛细管柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), 程序升温, 进样口温度为240 ℃, 载气为氦(He)气, 载气流速为1 mL/min, 分流比为20:1, 进样量为1 μL; 电子轰击离子源, 电子能量为70 eV, 接口温度为250 ℃, 离子源温度为230 ℃, 四极杆温度为150 ℃, 溶剂延迟6.5 min, 采用全扫描监测方式, 质荷比扫描范围为60~600。采用面积归一化法计算挥发油化学成分的相对含量。结果 分离出49个成分, 并确定31个峰对应的化合物。已鉴定的31个峰占流出峰峰面积的86.78%, 分离出的成分包括烯类、醇类、酮类、醚类、酚类、酯类、芳香化合物等。结论 所建立的方法可用于川芎定痛胶囊中挥发油成分的检测, 以及制剂的质量控制。

关键词: 川芎定痛胶囊; 挥发油; 气相色谱-质谱法

中图分类号: R932; R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)15-0076-04

Determination of Components in Volatile Oil from Chuanxiong Dingtong Capsules by the GC-MS

TONG Binliang¹, YANG Zekang², LIU Xiaolin², ZHANG Bowen², YAN Wen¹, ZHOU Chunhua¹

(1. Department of Pharmacy, The First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China 050031; 2. School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China 050017)

Abstract: Objective To establish a gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method for the determination of the components in the volatile oil from Chuanxiong Dingtong Capsules. **Methods** The volatile oil in the sample was extracted by the steam distillation method, and the chemical components in the volatile oil were identified by the GC-MS method. The chromatographic column was DB-17MS capillary column (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), the temperature was programmed, the injection inlet temperature was 240 ℃, the carrier gas was helium (He), the flow rate of the carrier gas was 1 mL/min, the split ratio was 20:1, and the injection volume was 1 μL. The ionization mode was adopted with electron-bombardment ion source. The electron energy was 70 eV, the interface temperature was 250 ℃, the ion source temperature was 230 ℃, the quadrupole rod temperature was 150 ℃, and the solvent delay time was 6.5 min. The full-scanning monitoring mode was adopted, and the scanning range of mass-to-charge ratio was 60-600. The relative contents of chemical components in volatile oil were calculated by the area normalization method. **Results** A total of 49 kinds of components were isolated, and the compounds corresponding to 31 peaks were identified. The identified 31 peaks area accounted for 86.78% of the outflow peak area, and the separated components included alkenes, alcohols, ketones, ethers, phenols, esters and aromatic compounds. **Conclusion** The established method can be used for the determination of components in volatile oil from Chuanxiong Dingtong Capsules and the quality control of preparations.

Key words: Chuanxiong Dingtong Capsules; volatile oil; GC-MS

川芎定痛胶囊是由河北医科大学第一医院制剂室研制的中药复方制剂(批准文号为冀药制字Z05000005),由川芎、绞股蓝、延胡索、白芷、细辛、全蝎6味药材组方,具有调和气血、平肝熄风、活络安神止痛等功效,用于偏头痛、紧张性头痛、丛集性头痛不伴外感症状者^[1]。中医认为,疼痛主要分为“不荣则痛”“不通则痛”,不荣为气血两虚,不通为气滞血瘀。本品主治气滞血瘀型疼痛,气滞血瘀可因外感风、湿、寒或情志内

伤,肝郁气滞等引起。方中,川芎为君药,活血行气,与延胡索有协同作用;细辛驱风散寒;白芷驱风燥湿散寒;全蝎息风解痉、活血化瘀,但活血易导致气虚;绞股蓝起益气健脾作用,其性寒,其余5味药性温,药性调和,防止服药者阳重成火。现代药理学研究表明,川芎具有抗氧化、保护神经、抗炎、抗菌等作用,含阿魏酸、绿原酸、苯胺类成分如藁本内酯及其衍生物等^[2-3];延胡索的主要药效物质为生物碱类成分^[4];白芷含有挥发

*基金项目:河北省中医药管理局科研计划项目[Z2022014, 2017066]。

第一作者:佟彬良,男,硕士,主管药师,研究方向为药物分析和体内药物分析,(电子信箱)tbl18633885558@163.com。

△通信作者:周春华,男,博士,主任药师,研究方向为药物分析和体内药物分析,(电子信箱)zhouchunhua80@126.com。

油和香豆素类等化学成分,其中香豆素类生物活性最强^[5];绞股蓝主要成分为人参皂苷Rb及绞股蓝皂苷^[6];细辛中主要活性成分为挥发油^[7]。川芎定痛胶囊内容为上述6味中药的提取物,成分复杂,主要含有机酸类、生物碱类、香豆素类、三萜皂苷、挥发油等活性成分。目前,川芎定痛胶囊挥发油成分研究中多局限于单一成分药材或各个指标性成分进行定性定量检测,但单一成分难以代表制剂的有效成分。为此,本研究中采用气相色谱-质谱(GC-MS)法分离并分析了胶囊中挥发油的化学成分,为其物质基础、质量控制、药理活性的研究提供试验依据。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 7890B-7000C型气相色谱-质谱联用仪(美国Agilent公司),配有Mass Hunter质谱工作站,美国国家标准与技术研究院(NIST)标准质谱图库;10 mL挥发油提取器(天长市唐氏实验仪器有限公司);BP121S型电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司,精度为万分之一)。

1.2 试剂

川芎定痛胶囊(河北医科大学第一医院医院制剂,批号为191013);乙酸乙酯(色谱纯),石油醚(分析纯),购于天津科美尔化学试剂有限公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与质谱条件

2.1.1 GC条件

色谱柱:DB-17MS毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);程序升温:色谱柱初始温度为60℃、保持2 min,以3℃/min的速率升至120℃、保持2 min,以5℃/min的速率升至180℃、保持6 min,以20℃/min的速率升至260℃、保持2 min;进样口温度:240℃;载气:氦(He)气;载气流速:1 mL/min;分流比:20:1;进样量:1 μL。

2.1.2 MS条件

电子轰击(EI)离子源;离子源温度:230℃;四极杆温度:150℃;电子能量:70 eV;接口温度:250℃;溶剂延迟时间:6.5 min;全扫描监测方式,质荷比(m/z)扫描范围:60~600^[8-10]。

2.2 挥发油样品制备

取川芎定痛胶囊内容物30 g,精密称定,置挥发油提取器中,加入纯化水400 mL,浸泡4 h。按2020年版《中国药典(四部)》2204挥发油测定法(附录XD甲法)进行测定,水蒸气蒸馏5 h,收集挥发油。以石油醚作溶剂,萃取、收集挥发油;减压蒸馏挥去石油醚,所得样品用无水硫酸钠干燥,得浅黄色油状液体;移取至样品

瓶,密封,保存于4℃冰箱,备用。提取的挥发油样品,加乙酸乙酯稀释,用0.22 μm微孔滤膜滤过。

2.3 方法学考察

精密度试验:取2.2项下挥发油样品,连续进样测定6次,GC-MS色谱峰保留时间的 $RSD \leq 0.31\%$ ($n=6$),峰面积的 $RSD \leq 0.53\%$ ($n=6$),表明仪器精密度好。

稳定性试验:取2.2项下样品,分别于0,3,6,9,12 h时进样分析,各色谱峰保留时间的 $RSD \leq 0.83\%$ ($n=5$),峰面积的 $RSD \leq 1.02\%$ ($n=5$),表明稳定性良好。

2.4 挥发油化学成分 GC-MS 分析

成分鉴定与相对含量测定:采用气相色谱-质谱联用仪对川芎定痛胶囊挥发油总离子流色谱进行分析和处理,根据相应的MS谱图,通过工作站NIST标准质谱图库检索,参考文献[7,11-16],确定各色谱峰代表的化学成分,并按面积归一化法计算各挥发油化学成分的相对含量。

结果分析:样品经GC-MS分析,得到总离子流图(图1),采用气相色谱-质谱联用仪对川芎定痛胶囊挥发油总离子流色谱进行分析,并采用峰面积归一化法确定挥发油各组分的相对百分含量。挥发油中共分离出49个峰,其中鉴定出31个成分,主要包括烯炔类、醇类、酮类、醚类、酚类、酯类、芳香化合物等,占总流出峰峰面积的86.78%,其中,烯炔类13个,峰面积之和占总流出峰面积的20.04%;醇类3个,占2.48%;酮类2个,占0.64%;芳香化合物4个,占12.95%;醚类3个,占15.79%;酚类2个,占10.63%;酯类(苯酚类)4个,占24.25%。*E*-藁本内酯峰面积最高(17.56%),其次是黄樟醚(10.62%)、甲基丁香酚(10.32%)、3,5-二甲氧基甲苯(7.58%)、角鲨烯(5.77%)、肉豆蔻醚(4.33%)、3,4,5-三甲氧基甲苯(4.08%)。详见表1。

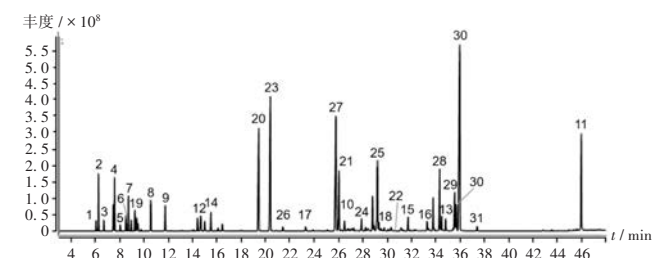


图1 川芎定痛胶囊挥发油气相色谱-质谱总离子流图

Fig. 1 GC-MS total ion chromatograms of volatile oil from Chuanxiong Dingtong Capsules

3 讨论

由表1可知,已鉴定出的31种化学成分中大多数化学成分来源于川芎、细辛。其中来源于川芎的成分19种,其他药材挥发油成分较少,与川芎为君药的事实相符。经鉴定,川芎定痛胶囊挥发油中*E*-藁本内酯占比最高(17.56%)。

表1 GC-MS法分析川芎定痛胶囊挥发油化学成分

Tab. 1 Chemical components in the volatile oil from Chuanxiong Dingtong Capsules by the GC-MS

序号	化学成分	保留时间 (min)	分子式	来源	峰面积 比(%)	序号	化学成分	保留时间 (min)	分子式	来源	峰面积 比(%)
1	桉烯 sabinene	6.052	C ₁₀ H ₁₆	川芎,细辛	0.45	18	3,4-(亚氧基氧代)苯 丙酮	30.326	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	细辛	0.30
2	蒎烯 pinene	6.256	C ₁₀ H ₁₆	川芎,细辛,白芷,延 胡索	2.53	19	邻异丙基甲苯 1-isopro- pyl-2-methylbenzene	9.247	C ₁₀ H ₁₄	川芎	1.05
3	茨烯 comphene	6.697	C ₁₀ H ₁₆	细辛,白芷	0.49	20	3,5-二甲氧基甲苯 3,5- dimethoxytoluene	19.440	C ₉ H ₁₂ O ₂	细辛	7.58
4	左旋-β-蒎烯(1S)- (1)-β-pinene	7.583	C ₁₀ H ₁₆	川芎,细辛	2.54	21	3,4,5-三甲氧基甲苯 3, 4,5-trimethoxytoluene	26.04	C ₁₀ H ₁₄ O ₃	细辛	4.08
5	β-月桂烯 myrcene	8.042	C ₁₀ H ₁₆	川芎,细辛	0.33	22	榄香素 1,2,3-trimethoxy- 5-(2-propenyl)ben- zene	31.155	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	细辛	0.24
6	α-水芹烯 α-phel- landrene	8.514	C ₁₀ H ₁₆	川芎,细辛,白芷	0.77	23	黄樟醚 safrole	20.393	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	细辛	10.62
7	3-薷烯 3-carene	8.719	C ₁₀ H ₁₆	细辛,白芷	1.74	24	肉豆蔻醚异构体 myristicin	27.893	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	细辛	0.84
8	γ-蒎烯 γ-terpi- nene	10.562	C ₁₀ H ₁₆	川芎,白芷,延胡索	1.65	25	肉豆蔻醚 myristicin	29.204	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	细辛	4.33
9	蒎品油烯 terpinolene	11.750	C ₁₀ H ₁₆	川芎,细辛	1.44	26	对乙烯基愈创木酚 4- hydroxy-3-methoxy- styren	21.422	C ₉ H ₁₀ O ₂	川芎	0.31
10	宁烯 cubenene	26.490	C ₁₅ H ₂₄	白芷	0.65	27	甲基丁香酚 methyl eugenol	25.789	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	细辛,白芷	10.32
11	角鲨烯 squalene	45.972	C ₃₀ H ₅₀	川芎	5.77	28	丁烯基肽内酯 butylidene	34.324	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	川芎	3.53
12	5-戊基环己-1,3-二 烯 5-pentylcyclo- hexa-1,3-diene	14.668	C ₁₁ H ₁₈	川芎	1.04	29	川芎内酯 ligustilide	35.558	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	川芎	2.86
13	6-buty-1,4-cyclo- heptadiene	34.811	C ₁₁ H ₁₈	川芎	0.64	30	E-藁本内酯 E-ligusti- lide	35.978	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	川芎	17.56
14	4-蒎烯醇 terpinen- 4-ol	15.508	C ₁₀ H ₁₈ O	川芎,细辛,白芷	1.12	31	Z-藁本内酯 Z-ligusti- lide	37.406	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	川芎	0.30
15	匙桉醇 spathuleno	31.718	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	川芎	0.77						
16	卡枯醇 kakoul	33.290	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	细辛	0.59						
17	苯戊酮 valerophenone	23.290	C ₁₁ H ₁₄ O	川芎	0.34						

藁本内酯及其衍生物为川芎挥发油的主要活性成分,同其生物碱均具有脑保护作用,如抑制脑 I / R 损伤、抗偏头痛、保护神经,其在抑制血栓形成和血小板聚集、抗心肌缺血及抑制子宫平滑肌收缩等方面的作用也使川芎常被用于活血化瘀调经药^[17]。另有研究表明,藁本内酯可剂量依赖性地减轻动脉粥样硬化模型大鼠动脉血栓的质量,抑制腺苷二磷酸所致血小板聚集^[18],从而发挥抗动脉粥样硬化作用。其衍生物洋川芎内酯 I 对于偏头痛模型大鼠具有显著的治疗效果,同时,李海刚等^[3]提出藁本内酯可能具有抗凝血和抗血小板凝集作用,MA 等^[19]提出 Z-藁本内酯具有抗抑郁作用。

黄樟醚、甲基丁香酚、3,5-二甲氧基甲苯和 2,4,6-三甲氧基甲苯等为细辛的主要活性成分。网络药理学分析显示,黄樟醚和甲基丁香酚被认为具有抗炎作用,是能发挥抗炎镇痛作用的主要药效物质。现代药理学研究证明,甲基丁香酚能抑制中枢神经系统,对不同物种的实验动物静脉注射后可起到不同程度的麻醉效果,能有效限制神经病理性疼痛,可作为有效的局部麻

醉剂和镇痛剂。在相关动物实验中,细辛中的挥发油成分被证明对神经系统、心血管系统等均有影响,可实现镇静抗惊厥、解热镇痛、预防和治疗炎症、抗变态反应等作用^[20-21],同时也具有一定毒性,需谨慎使用^[20]。

川芎、细辛的挥发油成分可能在川芎定痛胶囊的药效中起到了重要作用。另外,其他几味药材挥发油含量较少,但所含有的其他化学成分也对川芎定痛胶囊的药效起到了辅助作用。

延胡索的主要药效物质为生物碱类成分,对人体各大系统均有显著效果。现代药理学研究表明,叔胺类成分具有镇痛、镇静、催眠、抗焦虑作用^[22],针对消化系统的抗胃肠道溃疡作用^[23]和心脑血管系统的抗心肌缺血、脑缺血作用等^[24],临床常用于治疗心血管疾病、炎症、失眠症等,但由于生物碱具有一定毒性,应关注其禁忌证^[4,25];香豆素类是白芷中生物活性最强的成分,对神经中枢的影响强,具有解热、镇痛、平喘作用,在扩血管、抗血小板聚集、降血压等方面有一定效果,但需注意可能带有肝毒性等毒副作用^[26]。动物实验证明,绞

股蓝的主要成分为人参皂苷Rb、绞股蓝皂苷,在调血脂、保肝、抗疲劳、抗氧化、保护心脑血管等有一定作用,广泛用于高血脂等治疗^[6,27]。

上述挥发油中许多化学成分具有不同程度的毒性。黄樟醚可抑制呼吸中枢,中毒初期会有头痛、呕吐、气短、体温升高、心悸等,严重时会导致明显的中枢神经系统抑制,呼吸逐渐困难甚至死亡;甲基丁香酚也被证明有肝毒性、基因和细胞毒性、致癌致突变等毒性^[28];榄香素在一定条件下具有致癌毒性^[29];藁本内酯可使细胞凋亡,肉豆蔻醚能使人致幻等。多成分挥发油的毒性往往不是某个成分单独起作用,多个挥发油成分单独或协同作用极有可能使毒副作用变得复杂且更严重。因此,对于挥发油含有多种化学成分的川芎痛定胶囊,应更明确和规范其成分种类和含量。作为中药复方制剂,川芎定痛胶囊在选材和制药过程中,已通过配伍、煎煮等传统手段减毒。而利用更精确的现代分析技术,可对其含量进行精确测量和控制,最大程度地发挥其效应,在保障安全性的同时提高有效成分含量。

综上所述,采用GC-MS法分析川芎定痛胶囊的挥发油成分,扩大了挥发油化学成分的测定范围,明确了其成分种类、含量占比,可用于川芎定痛胶囊的成分和质量控制研究。

参考文献

- [1] 刘红森,李艳玲,杨继章,等. 川芎定痛胶囊对偏头痛大鼠模型行为学的影响及作用机制研究[J]. 中国药业,2020,29(11):5-7.
- [2] 佟彬良,吴梦琦,颜文,等. UPLC法测定川芎定痛胶囊中四种成分[J]. 河北医药,2021,43(22):3498-3501.
- [3] 李海刚,胡晒平,周意,等. 川芎主要药理活性成分药理研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学,2018,23(11):1302-1308.
- [4] 陈斯. 延胡索化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2021,38(7):78-82.
- [5] 练有扬,杨娜,赵雨晴,等. 白芷的化学成分及药理活性研究进展[J]. 科学技术创新,2019(3):36-37.
- [6] 沈子琳,王振波,侯会芳,等. 绞股蓝的化学成分和药理作用及应用研究新进展[J]. 人参研究,2020,32(5):59-64.
- [7] 王风,李楠,李雪,等. HS-SPME/GC-MS法测定北细辛挥发性成分[J]. 日用化学工业,2021,51(11):1150-1157.
- [8] 赵花,魏建华,徐涛,等. 人参挥发油成分的GC-MS分析[J]. 人参研究,2014,26(3):45-48.
- [9] 李生茂,刘琳,潘媛,等. 川芎挥发油化学成分GC-MS分析及抗氧化活性研究[J]. 中国民族民间医药,2018,27(2):16-20.
- [10] 张琳,周欣,卢焘韬,等. 川芎挥发油提取工艺优化及其地上部分GC-MS分析[J]. 中药材,2019,42(3):607-611.
- [11] 高岩,王知斌,杨春娟,等. GC-MS联用法分析白芷挥发油的化学成分[J]. 化学工程师,2016,30(11):20-22.
- [12] 李君辉,闫微,崔恩姬,等. 不同产地细辛挥发油成分的GC-MS分析[J]. 时珍国医国药,2019,30(1):188-190.
- [13] 周宝珍. 不同叶片数绞股蓝中挥发性成分的SPME-GC-MS分析[J]. 陕西农业科学,2015,61(9):23-28.
- [14] 夏珊,李生茂,张馨予,等. 不同方法提取川芎挥发油化学成分及抗氧化活性的比较[J]. 川北医学院学报,2021,36(9):1243-1248.
- [15] 刘晓芬,张颖,胡明勋,等. 川芎挥发性成分的水蒸气蒸馏提取与顶空进样GC-MS分析[J]. 中国民族民间医药,2020,29(1):44-47.
- [16] 苏莉,郭新异. 不同产地延胡索挥发油成分分析[J]. 安徽农业科学,2011,39(33):20418-20420.
- [17] 蒲忠慧,代敏,彭成,等. 川芎生物碱的物质基础及药理作用研究进展[J]. 中国药房,2020,31(8):1020-1024.
- [18] ZHANG L, DU JR, WANG J, et al. Z-ligustilide Extracted from Radix Angelica Sinensis Decreased Platelet Aggregation Induced by ADP *Ex Vivo* and Arterio-venous Shunt Thrombosis *In Vivo* in Rats[J]. Yakugaku Zasshi,2009,129(7):855-859.
- [19] MA JC, ZHANG HL, HUANG HP, et al. Antidepressant-like effects of Z-ligustilide on chronic unpredictable mild stress-induced depression in rats[J]. Experimental and Therapeutic Medicine,2021,22(1):677.
- [20] 钱深思,刘美怡,容蓉,等. 细辛挥发油的化学成分及其药理和毒理现代研究进展[J]. 中国药物警戒,2021,18(4):388-395.
- [21] AH-REUM H, JEOUNG KH, MINKYU S, et al. Constituents of Asarum sieboldii with inhibitory activity on lipopolysaccharide (LPS)-induced NO production in BV-2 microglial cells[J]. Chemistry & Biodiversity,2008,5(2):346-351.
- [22] 张天龙,赵继荣,陈祁青,等. 延胡索有效成分及镇痛作用机制研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2020,28(5):141-144.
- [23] 邱鹏程. 元胡止痛片治疗溃疡型胃痛的物效机制[D]. 西安:第四军医大学,2013.
- [24] LI Q, GUAN H, WANG X, et al. Fingerprint-efficacy study of the quaternary alkaloids in Corydalis yanhusuo[J]. Journal of Ethnopharmacology,2017,207:108-117.
- [25] 万莉,钱晓萍,刘宝瑞. 延胡索生物碱化学成分及其抗肿瘤作用的研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2012,20(5):1042-1044.
- [26] 王蕊,刘军,杨大宇,等. 白芷化学成分与药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2020,37(2):123-128.
- [27] 朱彦陈,胡慧明,彭琳,等. 绞股蓝的药理作用及临床治疗高血脂症研究概况[J]. 海峡药学,2014,26(5):61-64.
- [28] 李艳可. 中药材细辛的毒性研究评述[J]. 中国民康医学,2020,32(19):1-5.
- [29] 赵绍哲,王琳,赵秀娟,等. 细辛挥发油不同富集组分对小鼠急性毒性实验的比较研究[J]. 中国药物警戒,2020,17(3):137-142.

(收稿日期:2022-01-18;修回日期:2022-03-18)