

应用分析型超临界流体萃取测定苏合香丸中主要成分

马熙中 于小兵 陈建军 梁忠明* 曹铁城* 王瑛*

(北京化工学院应用化学系,北京 100029; *北京同仁堂制药厂药研所,北京 100051)

摘要 利用分析型超临界流体萃取技术和 GC/MS, GC/FID 非在线偶合的方法测定了中成药苏合香丸提取物中主要的挥发性组分及其含量。本工作对超临界流体动态萃取过程影响萃取效率的主要因素,如压力、流体流过样品的体积等进行了考察,确定了适宜的操作条件。与传统方法比较,本方法具有更多的优点。

关键词 分析型超临界流体萃取; 中成药质量控制; 苏合香丸

中成药化学成分分离和鉴定在中成药质量控制中占有重要地位。一些现代分析方法已用于中成药主要或有效成分的测定^(1,2)。但由于中成药为多种中药材组成的复方制剂,化学成分极为复杂,给提取、分离及检测工作带来很大困难。

本工作采用一种新的、分析型超临界流体萃取(analytical supercritical fluid extraction, SFE)技术提取中成药的化学组分,以气相色谱(GC/FID)、气相色谱/质谱(GC/MS)方法进行分析。分析型 SFE 是制备分析用样品的一种新技术,已在一些领域获得应用^(3~5),包括中草药化学成分的研究^(6~10)。用于中成药成分分析和质量控制是新的尝试。本工作选用苏合香丸作为主要样品是因其含有大量的挥发性组分,可利用 GC, GC/MS 方法确定该药有代表性的化学成分,并获得定性、定量结果。

实 验 部 分

仪器

分析型 SFE 装置由本实验室设计组装⁽⁷⁾。其主要部件是泵、恒温箱、萃取池、阀和节流管。在本工作中做了部分改进;用二通、三通阀替代了原来的六通阀,以便同时萃取几个样品,获得平行数据,提高工作效率。萃取池采用空的高效液相色谱用的子柱,便于安装和重复使用。气相色谱仪为 HP-5890A, FID(Hewlett-Packard USA)。45 m×0.24 mm ID, SE-30柱(Shimadzu Co, Japan)。分流进样,分流比为15。程序升温操作。典型的升温方式是:40 C(2 min)~260 C(6 min),升温速率为5 C/min。定量数据取自 HP-3392A 数据处理机。GC/MS 系统为 Perkin-Elmer 公司的 Autosystem GC/Q Mass-910 质谱仪。25 m×0.25 mm ID, SE-30柱。升温程序为60 C(1 min),以5 C/min 升至200 C,再以10 C/min 升至300 C。四极杆质量分析器,全扫描 EI 工作方式,电离电压70 eV,质量范围40~400 amu。

本文于1992年12月21日收到。

本文为北京市自然科学基金资助项目

试剂

二氧化碳(北京化工实验厂);异丙醇,分析纯(北京化工厂);苯,优级纯(北京化工厂);正十四烷、正十七烷,色谱纯(上海试剂一厂),用作内标物。苯甲酸苄酯(J. T. Baker Chemical Co., Philipsbrug, N. J.)、冰片、丁香酚、麝香酮(中国药品生物制品检定所提供)作为对照品。苏合香丸(北京同仁堂制药厂),苏合香丸对照品由北京同仁堂制药厂药研所提供。冠心苏合胶囊(天津市第五中药厂)。

样品予处理

取苏合香蜜丸1丸(约3 g),加硅藻土1.2 g,在研钵中研磨成粉(<20目),每次萃取用样品量0.2 g(含苏合香丸140 mg)。硅藻土使用前于300 C烘烤数小时。空白实验证明,在工作条件下,没有明显的干扰峰出现。

萃取条件

见实验结果与讨论部分和文中所列的图表。典型的工作条件:二氧化碳为流体物质,萃取压力16 MPa,温度50 C,消耗20 ml 二氧化碳(以液体 CO₂计量)。回收率在90%以上。

结果与讨论

苏合香丸由15味中药制成,其中苏合香油是主要成分。此外,沉香、麝香、檀香、安息香、木香、香附、乳香、冰片等均含有挥发性化学成分。根据数据处理机提供的数据,苏合香丸 SFE 萃取物中至少有150余个色谱峰(见图1)。峰面积比超过1%的约占1/3。

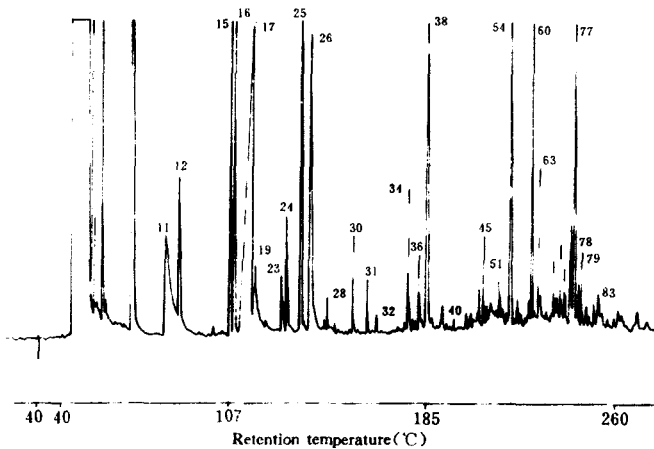


Fig 1 Chromatogram of Suhexiang Wan (a Chinese patent medicine) with SFE-GC/FID. SFE conditions: 16 MPa, 50 C. Chromatographic conditions: SE-30 column with 45 m × 0.24 mm ID, 40 C (2 min) ~ 260 C (6 min) at 5 C/min.

超临界流体萃取

SFE 在高压、低温下进行,在使用纯 CO₂作为萃取介质时,对非极性和中等极性物质有很好的萃取能力。

超临界流体溶解样品的能力主要依赖于它的密度,即在给定温度条件下,依赖于它所处的压力。压力增加有利于提高萃取效率。萃取压力对萃取产物分布影响的部分实验结果见图2。压力较低时(图2A),高温色谱区重组分的提取效率很低,低温区轻组分占有较大的比例。在使用气相色谱分析提取物时,压力高于某一范围影响将不明显。比较图3中A,B两色谱图可以看出,在压力从16 MPa 升至20 MPa 时,谱图中并没有新的溶质峰出现。

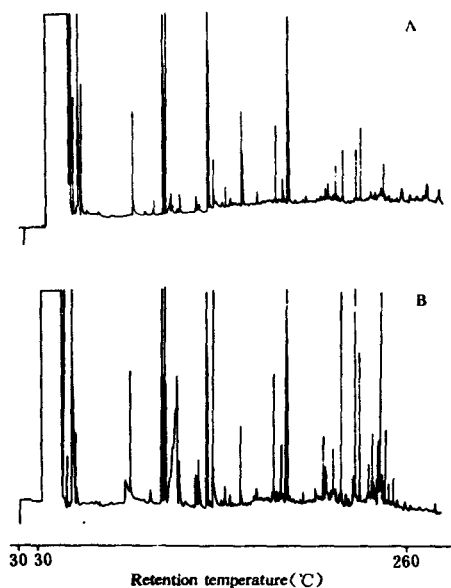


Fig 2 Effect of extraction pressure on the SFE products of Suhexiang Wan. (A) 8 MPa and (B) 12 MPa, 50 C and 10 ml CO₂. GC conditions: SE-30 column with 45 m × 0.24 mm ID, 30 C (2 min) ~ 260 C (6 min) at 5 C/min.

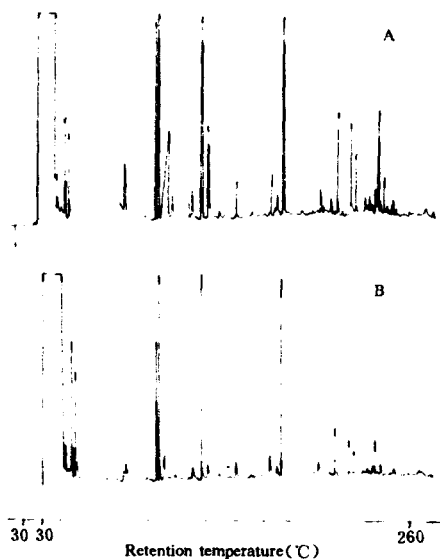


Fig 3 Extraction efficiency of Suhexiang Wan with different pressure. (A) 16 MPa and then (B) 20 MPa, at 50 C. Chromatographic conditions; See Fig 2.

采用动态(dynamic)萃取技术,提取过程发生于流体与溶质接触的瞬间,流体的流速和流量(即流体流过样品池的总体积)对萃取效率有一定影响。文献⁽¹¹⁾以单一化合物为对象研究过这种影响。本实验结果见表1(表1中的峰号与图1相对应)。从表1可见:在用10 ml CO₂萃取0.14 g 样品时,大多数组分提取率为50~70%,使用20 ml CO₂基本上达到90%以上。只有含量大的几个组分低于90%。

苏合香丸的分析

根据苏合香丸原料药的组成、GC/MS 鉴定结果以及部分纯品对照分析,图1中主要色谱峰分别为苯甲醇(12[#])、异龙脑(15[#])、龙脑(16[#])、苯甲酸(17[#])、丁香酚(25[#])、乙酰基丁香酚(30[#])、 α -檀香萜醇(34[#])、 β -檀香萜醇(36[#])、苯甲酸苄酯(38[#])、麝香酮(40[#])、乳香醇(60[#])和乳香醇乙酸酯(63[#])。它们分别是冰片、安息香、丁香、檀香、苏合香、麝香和乳香的主要或有代表性的化学成分。

Tab 1 Influence of volume of CO₂ on the extraction efficiency of major components of Suhexiang Wan using SFE

Peak No.	Retention time(min)	Extraction efficiency (%)		
		First 10 ml	Second 10 ml	Third 10 ml
		CO ₂	CO ₂	CO ₂
11	10.46	88.3	11.7	0.0
12	11.49	86.5	13.5	0.0
15	15.33	45.2	40.7	14.1
16	15.61	49.3	37.3	13.4
17	17.01	100.0	0.0	0.0
23	19.46	90.9	9.1	0.0
24	19.85	84.6	15.4	0.0
25	20.96	70.6	23.0	6.4
26	21.68	96.0	4.0	0.0
28	25.23	57.9	31.5	10.6
30	26.41	85.7	14.3	0.0
34	29.43	57.1	34.7	7.2
36	30.32	64.0	32.0	4.0
38	30.93	62.3	28.6	9.1
45	35.55	66.7	29.6	3.7
51	36.79	59.1	36.4	4.5
54	37.66	57.6	32.2	10.2
60	39.37	60.2	27.2	13.6
63	39.97	42.9	42.9	14.3
77	42.79	63.3	26.6	10.1
79	43.41	52.8	41.7	5.5

Extraction conditions: 16 MPa, 50 C. Amount of sample: 140 mg. Chromatographic conditions: 45 m×0.24 mm ID, SE-30 column, 40 C (2 min)~260 C (6 min), at 5 C/min. Average of duplicate supercritical fluid extraction (SFE).

回收率

采用加入法,即将对照品溶液定量地加入到硅藻土中,待溶剂挥发进行萃取和分析。过程和条件与分析样品相同,并以正十七烷作为定量测定回收率的内标物。另取等量的对照品,以溶液形式不经过萃取直接进行色谱分析。比较两种方法所得结果(以峰面积比表示)计算回收率。结果见表2。表中可见,在使用20 ml CO₂时,只有异龙脑的回收率偏低,其余均在90%以上,并与表1所列结果相一致。

Tab 2 Recovery of some important components of Suhexiang Wan using SFE-GC/FID

Component	Wt. added	Ai/As	Ai/As	Recovery (%)
	(mg)	added	measured	
Isoborneol	0.106	0.48±0.01	0.42±0.01	87.5
Borneol		0.82±0.02	0.75±0.01	91.5
Tetradecane	0.072	1.09±0.02	0.98±0.03	89.9
Benzyl benzoate	0.120	1.12±0.00	1.06±0.03	94.6
Muscone	0.091	1.16±0.00	1.11±0.02	95.7

Extraction conditions: 16 MPa, 50 C, CO₂20 ml. GC conditions: SE-30 column, 45 m×0.24 mm ID, 40 C (2 min)~260 C (6 min), at 5 C/min. Internal standard: heptadecane.

萃取过程所用的三种试剂,即异丙醇、硅藻土和二氧化碳均做了空白试验,除异丙醇在谱图前部有几个组分峰外,其余未出现明显的干扰峰。

相对响应因子的测定

由于对照品的限制,本工作只测定了几个化学成分的相对响应因子。测定采用标准曲线法以消除溶液配制及操作过程引入的误差。实验结果见图4和表3。标准曲线具有很好的相关性和较宽的线性范围,并基本通过0点。表3所列的数据在文献中尚未见到。表4列出了苏合香丸模拟样品中几种化学成分的定量结果。

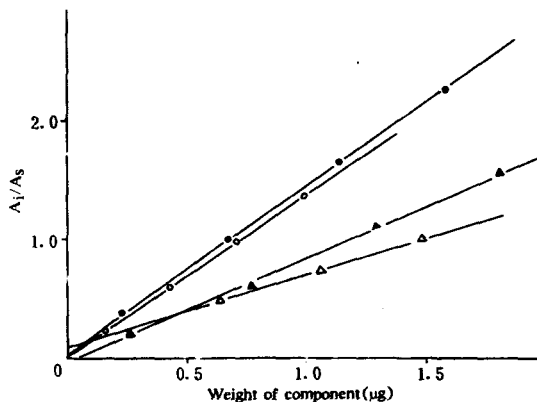


Fig 4 Calibration curves. A_i is peak area of component analyzed and A_s refer to tetradecane as an internal standard. ●—● Isoborneol and borneol; ○—○ Muscone; ▲—▲ Benzyl benzoate and △—△ Eugenol. GC conditions as Fig 1.

Tab 3 Relative response factor (RRF) and relative correction factor (RCF) for quantitative analysis of some important components of Suhexiang Wan

Component	RRF	RCF	Correlation coefficient
Isoborneol, borneol	1.418	0.705	0.9999
Eugenol	0.614	1.629	0.9978
Tetradecane		1.000	
Benzyl benzoate	0.876	1.142	0.9994
Muscone	1.356	0.738	0.9998

Experiment conditions as Fig 4.

Tab 4 Quantitative analysis of some components in Suhexiang Wan*

Component	A_i/A_s	Amount** (mg/g sample)
Isoborneol, borneol	5.40	5.48
Eugenol	3.38	7.31
Benzyl benzoate	2.48	2.90
Muscone	0.06	0.064

* Experiment conditions as Fig 4. ** Average of 3 samples.

此方法也应用于冠心苏合胶囊(散剂)的分析。它源于苏合香丸,是简化方成药,其挥发性组分少于苏合香丸。又,散剂样品比蜜丸更容易处理和萃取。测定结果见文献(12)。

参 考 文 献

- 1 孟宪纾,等编. 中成药分析. 北京:人民卫生出版社,1990.
- 2 刘国杰,等编. 中成药学. 北京:中国医药科技出版社,1991.
- 3 King JW. Fundamentals and application of SFE in chromatographic science. *J Chromatogr Sci* 1989;27:355.
- 4 Hawthorne SB. Analytical-scale supercritical fluid extraction. *Anal Chem* 1990;64:633A.
- 5 Chester TL, et al. Supercritical fluid chromatography and extraction. *Ibid* 1992;64:153R.
- 6 马熙中,等. 应用分析型超临界流体萃取技术测定中药的组分. 北京化工学院学报 1990;11(4):111.
- 7 X Ma, et al. Analytical supercritical fluid extraction of Chinese herbal medicine. *Chromatographia* 1991;32:40.
- 8 马熙中,等. 分析型超临界流体萃取技术在测定中药肉苁蓉化学成分中的应用. 高等学校化学学报 1991;12:1443.
- 9 马熙中,等. 分析型超临界流体萃取技术在研究中药乳香、没药化学成分中的应用. 药物分析杂志 1992;12:83.
- 10 马熙中,等. 在线 SFE GC 技术在中药吴茱萸化学成分研究中的应用. 分析测试学报 1993;12:31.
- 11 Hawthorne SB, et al. Quantitative extraction of linear alkybenzenesulfonates using supercritical carbon dioxide and a simple device for adding modifiers. *J Chromatogr* 1991;541:185.
- 12 X Ma, et al. Supercritical fluid extraction in Chinese medicine analysis. Proceedings of the second joint meeting on applied science and technology. Beijing: Chemical Industry Press, 1992:65.

DETERMINATION OF MAJOR VOLATILE COMPONENTS IN SUHEXIANG WAN (STORAX PILL) USING ANALYTICAL SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION(SFE)

XZ Ma, XB Yu, JJ Chen, ZM Liang*, TC Coa* and Y Wang*

(Department of Applied Chemistry, Beijing Institute of Chemical Technology, Beijing 100029;
* Beijing Tongrentang Pharmaceutical Factory, Beijing 100051)

ABSTRACT A new method based on the off-line coupling of analytical SFE and GC has been developed for qualitative and quantitative analysis of major volatile components in Suhexiang Wan, a Chinese patent medicine. The factors affecting extraction efficiency were examined to seek the optimal operating parameters. Quantitative recovery (90%) was achieved with 20 ml CO₂ in ca 1 h using a self-designed analytical SFE system. Compared with the conventional methods, the SFE as an alternative technique for sample preparation will be most useful in the quality control of Chinese patent medicine.

Key words Analytical supercritical fluid extraction; Quality control of Chinese patent medicine; Suhexiang Wan (storax pill)