

## 裂解色谱法测定连翘的指纹图谱

袁 敏<sup>1</sup>,张铭光<sup>2</sup>,杨 挺<sup>1</sup>,曾 志<sup>1</sup>,黄晓玲<sup>3\*</sup>

(1. 华南师范大学 分析测试中心,广东 广州 510631; 2. 华南师范大学生命科学院,广东 广州 510631; 3. 广州香雪制药股份有限公司,广东 广州 510530)

**摘要:**目的 研究比较不同产地的连翘指纹图谱,并考察了裂解温度、裂解时间对指纹图谱的影响。方法 采用裂解色谱法 (PGC)。结果 13种样品的指纹图谱接近,重叠率在 8% 以上,  $RSD < 1.7\%$ 。结论 该方法具有快速、简便、准确等特点,裂解温度、裂解时间对实验起着重要作用。

**关键词:** 连翘; 指纹图谱; 裂解色谱

中图分类号: R282.710.3 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)01-0070-04

### Determination of chromatographic fingerprint of *Forsythia suspensa* by pyrolysis-gas chromatography

YUAN Min<sup>1</sup>, ZHANG Ming-guang<sup>2</sup>, YANG Ting, ZENG Zhi<sup>1</sup>, HUANG Xiao-ling<sup>3</sup>

(1. Center of Analysis & Test, South China Normal University, Guangzhou 510631, China;

2. College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China;

3. Guangzhou Xiangxue Pharmaceutical Co., Ltd., Guangzhou 510530, China)

**Abstract Object** To study comparatively the chromatographic fingerprint of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl in different producing areas. **Methods** Pyrolysis-gas chromatography (PGC) was used. **Results** The similar fingerprint of 13 samples (PGC) appeared. The chromatographic overlap of them was over 8%,  $RSD < 1.7\%$ . **Conclusion** This method is simple, rapid and accurate. The temperature and time play an important role in the experiment. It is suitable for the quality control of *F. suspensa*.

**Key words** *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl; fingerprint; pyrolysis-gas chromatography (PGC)

中药化学成分具有多样性和复杂性,通常是利用各种化学手段可以确定其主要化学成分,找出有效成分去鉴定一个药材的质量。但在中医理论指导下的中药,尤其是复方制剂,任何一种活性成分都不能反映整体疗效<sup>[1]</sup>。在中药现代化研究和产业化开发进程中,中药材色谱指纹图谱质控新技术是对中药及其制剂进行综合宏观分析的可行手段之一,并受到了中药界的广泛重视。近年来,高效液相色谱 (HPLC)、核磁共振 (NMR)、薄层色谱 (TLC)、气相色谱 (GC)、随机扩散增多态 DNA 技术 (RAPD) 在中药指纹图谱鉴定做了不少工作,为中药提供了有效的分析手段<sup>[2,3]</sup>。但这些方法普遍存在样品前处理工作量大,复杂的提取过程容易产生误差。裂解色谱 (Pyrolysis gas chromatography, PGC) 具有样品处理简单、用量少、灵敏度高、重现性好等特点,其在生物医药方面的应用早有报道<sup>[4]</sup>。利用该技术,Hashimoto 等人考察了 PGC 分析黄

连根和小茴香的重现性,李兆林等人则用高分辨 PGC 和 PGC-MS 闪蒸技术系统地研究了中药的真伪鉴别和质量评价。如川木香、虫草、桔梗、干姜、锁阳、潞党参等中药都可以通过裂解图谱加以区别<sup>[5]</sup>。本研究利用 PGC 技术,对不同产地的中药连翘裂解指纹图谱进行研究比较,并考察了裂解温度、裂解时间对谱图的影响,以及分析方法的重现性。

#### 1 实验部分

1.1 仪器与材料: 色谱仪: GC-16A 气相色谱仪,氢火焰检测器 (FID), PRY-2A 裂解装置 (日本岛津), 色谱柱: ZYT-1 石英毛细管柱 (25 m × 0.32 mm), 样品: 13 种不同产地的连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl (香雪制药股份有限公司提供)。

1.2 测试条件: 柱温:  $T_c = 60^\circ\text{C} \xrightarrow{30^\circ\text{C}/\text{min}} 250^\circ\text{C}$ ; 检测器温度  $T_D = 250^\circ\text{C}$ ; 进样器温度  $T_I = 230^\circ\text{C}$ ; 裂解温度:  $400^\circ\text{C}$ ; 进样量 1 mg

\* 收稿日期: 2002-04-16

基金项目: 广东省科技计划重大专项与重点项目 (A301020101); 广东省自然科学基金项目 (011442); 广东省教育厅高校自然科学研究项目 (0124); 广东省中药药局科研项目 (401039)

作者简介: 袁 敏 (1962-), 女, 广东中山人, 高级实验师, 主要从事气相色谱分析工作。 Tel: (020) 85211543

1.3 样品制备: 分别取不同产地的连翘 2 g, 研磨粉碎, 备用。13种样品来源见表 1

表 1 样品来源

Table 1 Source of *F. suspensa* samples

编号	规格	产地
1	青翘	陕西安康
2	老翘	山西临汾
3	青翘	河南三门峡
4	老翘	河南焦作
5	青翘	河南焦作
6	青翘	河南嵩县
7	老翘	河南嵩县
8	老翘	河南三门峡
9	青翘	陕西渭南
10	老翘	河南焦作
11	青翘	河南南阳
12	青翘	河南焦作
13	青翘	广州天河

## 2 实验结果

2.1 指纹图谱的建立: 在上述条件下测定 13种经厂家筛选过的连翘 (色谱柱: 25 m× 0.32 mm ZYT-1 石英毛细管柱, 进样量: 1 mg, 色谱图见图 1)。13种连翘裂解峰近 35个, 现选择 16个比较明显的共有峰讨论, 选择峰 13 为参照峰, 此峰为所有连翘共有的, 且峰值比较稳定。设定其  $\alpha$  为 1 然后分别求出各组分的  $\alpha$  值 (各组分的调整保留值与峰 13 的调整保留值的比值), 并求出各组分的相对峰面积  $S_r$  (各组分峰面积与参照峰 13 峰面积的比值) 和  $S\%$  (各组分峰面积在共有峰峰面积之和中的百分比), 制成各样品的 PGC-FPS 表进行分析讨论<sup>[6]</sup>, 见表 2, 3

从表 2, 3 可看到,  $\alpha$  值为 0.4 和 0.4 时, 样品

表 2 13种连翘的 PGC-FPS

Table 2 PGC-FPS of 13 species of *F. suspensa*

样品	不同 $\alpha$ 值的 $S_r$																
	0.14	0.40	0.49	0.69	0.79	0.91	0.94	1.00	1.11	1.16	1.17	1.35	1.43	1.5	1.59	1.67	1.93
1	0.37	4.57	1.94	0.24	0.64	0.20	0.42	1.00	0.13	0.18	0.20	0.23	0.40	0.37	0.11	0.08	0.07
2	0.38	4.27	1.80	0.24	0.73	0.20	0.44	1.00	0.17	0.33	0.36	0.23	0.36	0.22	0.15	0.05	0.09
3	0.33	3.71	1.99	0.28	0.86	0.23	0.38	1.00	0.43	0.24	0.27	0.44	0.84	0.19	0.16	0.11	0.15
4	0.50	4.63	2.28	0.43	0.76	0.19	0.45	1.00	0.15	0.18	0.22	0.14	0.47	0.22	0.17	0.09	0.12
5	0.34	3.22	1.62	0.17	0.54	0.26	0.12	1.00	0.99	0.52	0.23	0.20	0.65	0.39	0.10	0.10	0.13
6	0.5	4.9	2.5	0.3	0.9	0.3	0.4	1.00	0.4	0.3	0.2	0.6	0.8	0.3	0.2	0.1	0.1
7	0.29	2.90	1.31	0.20	0.60	0.26	0.34	1.00	0.57	0.24	0.17	0.17	0.43	0.34	0.12	0.09	0.13
8	0.31	3.42	1.42	0.18	0.52	0.17	0.34	1.00	0.10	0.14	0.15	0.25	0.40	0.23	0.08	0.04	0.07
9	0.46	5.19	2.25	0.22	0.82	0.09	0.38	1.00	0.33	0.22	0.18	0.33	0.97	0.35	0.10	0.05	0.11
10	0.45	4.62	2.40	0.34	0.73	0.18	0.48	1.00	0.13	0.22	0.30	0.22	0.49	0.26	0.17	0.08	0.12
11	0.34	3.20	1.44	0.21	0.80	0.20	0.48	1.00	0.34	0.21	0.22	0.87	0.66	0.37	0.15	0.10	0.18
12	1.41	6.26	4.32	0.45	1.10	0.18	0.47	1.00	0.41	0.32	0.37	0.14	0.54	0.23	0.23	0.03	0.10
13	1.05	6.63	3.01	0.23	0.83	0.13	0.34	1.00	0.22	0.24	0.25	0.30	0.69	0.34	0.17	0.04	0.15

表 3 13种连翘的  $S_r$  值的比较

Table 3  $S_r$  comparison of 13 species of *F. suspensa*

样品	不同 $\alpha$ 值 $S_r\%$																
	0.14	0.40	0.49	0.69	0.79	0.91	0.94	1.00	1.11	1.16	1.17	1.35	1.43	1.5	1.59	1.67	1.93
1	4.13	41.31	17.54	2.79	5.94	1.98	3.36	8.41	1.32	1.45	1.91	1.91	3.43	2.96	1.05	0.51	
2	4.29	39.58	17.46	3.05	6.38	1.99	3.62	8.57	1.84	1.64	1.97	1.69	3.34	1.90	1.41	1.26	
3	4.74	36.69	20.78	2.93	6.96	1.24	2.02	6.72	2.65	1.47	1.09	2.57	6.99	1.58	0.76	0.82	
4	5.42	36.92	18.06	4.30	6.75	1.51	3.51	8.18	1.70	1.15	2.00	1.74	3.53	2.37	1.88	1.00	
5	6.43	31.57	17.54	4.04	8.10	2.18	2.54	8.78	4.46	2.23	1.83	1.96	3.55	2.60	1.34	0.86	
6	4.79	35.39	17.93	3.21	6.15	1.91	2.79	7.03	3.09	1.79	1.64	3.92	5.89	2.45	1.32	0.71	
7	3.18	30.92	14.32	2.19	6.65	1.64	3.76	10.98	6.28	2.64	1.87	3.51	5.66	3.93	1.46	1.01	
8	4.41	37.64	15.83	2.99	5.62	1.91	3.71	11.00	1.62	1.67	1.71	2.88	4.64	2.70	1.09	0.60	
9	4.38	33.53	15.71	4.23	7.04	1.91	3.76	8.79	3.30	2.09	1.83	3.13	7.52	0.80	1.19	0.79	
10	5.16	37.69	18.94	3.66	6.49	1.38	3.67	8.02	1.63	1.53	1.79	1.76	3.85	2.09	1.38	0.96	
11	3.98	29.91	13.20	1.90	7.33	1.98	4.10	8.95	3.16	1.19	2.71	8.49	6.25	3.10	2.13	1.64	
12	7.98	36.50	24.79	4.63	6.14	1.57	2.88	1.10	2.18	1.78	2.02	1.86	2.94	1.75	1.30	0.60	
13	6.10	35.54	18.94	2.25	6.86	1.74	3.28	7.70	2.47	1.91	1.86	2.14	4.51	2.48	1.33	0.92	
最大 $\Delta S_r\%$	3.6	7.78	9.08	2.33	1.1	0.67	1.74	7.69	2.98	0.94	0.88	5.36	3.58	3.13	0.94	0.85	

相对峰面积最高, 占整个组分 30% ~ 40%, 其中 5 个样品中 13, 1, 10, 9, 12 含量是最高的;  $S_r > 1$ , 最多

的样品是 13, 12;  $0.5 < S_r < 1$ , 最多的是 5, 6, 11, 13, 9 样品;  $0.3 < S_r < 0.5$ , 最多的是 6, 9, 10, 12, 2 样

品;  $0.2 < S_r$ , 最多的是 7, 1, 10, 13, 11 样品;  $0.1 < S_r < 0.2$ , 最多的是 4, 2, 3, 10, 11 样品。从中我们筛选出指纹图谱较好的几个样品是 9, 10, 11, 13。以 9 号样品的连翘指纹图谱为基准, 按照指纹图谱技术要求, 对其他产地的连翘指纹图谱进行比较,  $\alpha$  值为 0.4 时,  $S\% \geq 20\%$  的共有峰, 其最大差值  $\Delta S < 8\%$ , (各产地连翘的  $S\%$  值与 9 号样品的连翘的  $S\%$  值的最大差值); 当  $\alpha$  值为 0.49 时,  $10\% \leq S\% < 20\%$ ,  $\Delta S > 9\%$ , 完全达到指纹图谱的技术要求。与此同时, 从连翘的质谱分析我们知道<sup>[7]</sup>, 连翘挥发油的主要成分是  $\alpha$ -水芹烯、蒎烯、对聚伞花烯和芳香醇, 其中对聚伞花烯和芳香醇显示抗菌、抗病毒作用。我们用水蒸汽蒸馏法蒸出挥发油, 毛细管气相色谱测定发现这些组分的含量在这些样品中也是比较高的。

2.2 指纹谱中色谱峰的重叠率: 以 9 号连翘谱图为基准, 按以下公式计算, 分别求出另外 12 种样品的重叠率, 结果见表 4。13 种连翘的重叠率比较高, 说明该色谱指纹图谱具有代表性。

$$\text{重叠率} \% = \frac{\text{待测样品与标准样品共有峰数} \times 2}{\text{待测样品峰数} + \text{标准样品峰数}} \times 100\%$$

表 4 12 种样品的重叠率

Table 4 Overlap rate of 12 samples

样品	重叠率 %	样品	重叠率 %
1	91.4	7	88.9
2	86.4	8	97
3	88.9	10	91.4
4	88.9	11	94.1
5	94.1	12	96.9
6	91.4	13	90.8

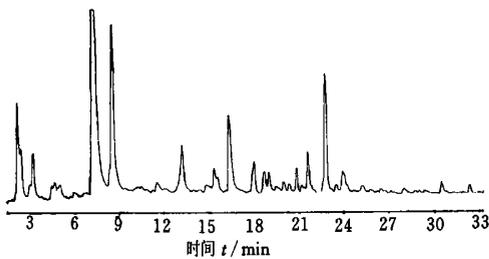


图 1 9 号连翘裂解色谱图

Fig. 1 PGC of No. 9 *F. suspensa*

2.3 裂解温度对实验的影响: 在裂解色谱实验中, 裂解温度 ( $T_p$ ) 对实验的成败起着重要的作用,  $T_p$  过高, 样品的初级反应加剧, 二次反应大为增加;  $T_p$  过低, 样品裂解不完全, 合适的  $T_p$  应该使裂解过程的初级反应为主。尤其在中药材中, 裂解反应主要是碳化反应, 大部分产物都一样, 只是各产物之间含量有差异, 但不同的药材需要不同的裂解温度。在实验中我们还发现如郁金、地黄、芦根, 其裂解温度则比

连翘高, 我们选择不同的裂解温度, 其他条件不变, 做出不同裂解温度对裂解峰数的关系图, 见图 2。从图 2 可看到, 温度低于  $400^\circ\text{C}$  时, 裂解不完全, 温度高于  $500^\circ\text{C}$  时, 有些裂解峰分解, 温度在  $400^\circ\text{C} \sim 500^\circ\text{C}$  时, 裂解峰数最多, 且重复性也比较好。

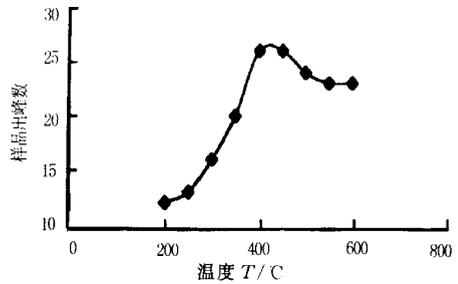


图 2 裂解温度对出峰数的影响

Fig. 2 Effect of pyrolysis temperature on peak number

2.4 裂解时间对样品出峰的影响: 选择同一批号样品, 改变裂解时间, 其它测试条件不变, 测定不同裂解时间对出峰的影响, 结果见图 3。从图 3 可看到, 裂解时间  $< 20$  s 时, 出峰数较少, 裂解时间  $> 30$  s 时, 出峰数减少, 这可能是由于裂解时间较长, 裂解时间在 30 s 时, 出峰数最佳。

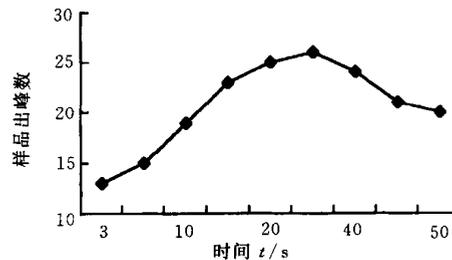


图 3 裂解时间与出峰数的关系

Fig. 3 Effect of pyrolysis time on peak number

2.5 实验的重现性测定: 取同一批号样品 5 份, 在同一条件下测定, 考察色谱峰调整保留时间的一致性, 结果各色谱峰调整保留时间的 RSD 均  $< 1.7\%$ 。

### 3 讨论

3.1 从以上实验, 我们可看到裂解色谱用于中药材指纹图谱测定具有快速、灵敏度高、操作简单、重现性好的优点; 尤其是样品不需要进行复杂的前处理过程, 这样既避免了使用溶剂萃取时造成污染环境, 而且还可以减少由于提取过程造成的误差。

3.2 裂解色谱适用面广, 对一些气相色谱不能测定的药材, 如板兰根、地黄、芦根等只能用液相色谱测定的药材也能直接测定, 这样给中药材品质鉴定带来很大的方便。

3.3 裂解色谱测定的条件选择要求比较高, 本试验

发现,裂解温度、裂解时间是实验获得成功的关键,不同的药材,要求不同的裂解温度与时间。

3.4 选用裂解色谱测定中药材指纹图谱时,最好结合气质联用,对所测定的药材所含的组分有所了解,这样对采用裂解色谱指纹图谱判断药材的质量会更全面。

## References

- [1] Xie P S. On the feasibility of application of chromatographic fingerprint identification to herbal medication [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22(6): 391-394.
- [2] Zhou Y X, Yuan Y S, Gao X. Studies on the fingerprint of *Panax notoginseng* and its preparation [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(2): 122-123.
- [3] Qin H L, Wan Z T. Fingerprint identification on characteristic

- component of the Chinese herbal medication [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(1): 4-6.
- [4] Xu Z Y. Lecture on pyrolysis gas chromatography. Part 4. Biomedical and other application [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 1999, 8(1): 21-24.
- [5] Fu R N. *High Resolution Gas Chromatography and Pyrolysis Gas Chromatography* (高分辨气相色谱及高分辨裂解气相色谱) [M]. Beijing: Beijing University of Science and Engineering Publishing House, 1992.
- [6] Zhang C, Wang Z H, Jin D Z. Comparative study on HPLC-FPS of Chinese *Radix Ginseng* and Korean *Ginseng* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(3): 160-163.
- [7] Shi S X, He F J. Studies on chemical constituents of essential oil of *Forsythia suspense* (Thunb.) Vahl [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1995, 15(3): 10-12.

## 臭冷杉的组织学研究

巴雪青<sup>1,2</sup>,王 威<sup>2</sup>,师海波<sup>2</sup>,历锡亮<sup>1</sup>,曾宪录<sup>1\*</sup>

(1. 东北师范大学遗传与细胞研究所,吉林 长春 130024; 2. 吉林省中医中药研究院,吉林 长春 130021)

**摘要:**目的 通过对臭冷杉的叶和小枝进行组织学研究,为正确用药提供鉴定依据。方法 扫描电镜观察 Jeffrey 液处理后的叶表皮内表面及干燥小枝木材;光镜观察幼茎的横切、叶的横切及小枝木材的徒手切。结果 发现臭冷杉叶气孔下陷,副卫细胞 4 个。下皮层细胞只有上、下表皮的中段有一层分布。内皮层无凯氏加厚;叶肉叶树脂道 2 个,中生;维管束 2 木材中无树脂道;木射线完全由薄壁细胞组成,细胞端壁和水平壁具节状加厚;交叉场纹孔松木型。结论 以上结果可作为臭冷杉药材的鉴别依据。

**关键词:**臭冷杉;扫描电镜观察;组织学研究

中图分类号: R282.710.3 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)01-0073-04

## Study on histological anatomy of *Abies nephrolepis*

BA Xue-qing<sup>1,2</sup>, WANG Wei<sup>2</sup>, SHI Hai-bo<sup>2</sup>, LI Xi-liang<sup>1</sup>, ZEN G Xian-lu<sup>1</sup>

(1. Institute of Genetics and Cytology, Northeast Normal University, Changchun 130024, China; 2. Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica of Jilin Province, Changchun 130021, China)

**Abstract Object** Identification basis for the proper employment of *Abies nephrolepis* (Trautv.)

Maxim. were provided by the histological anatomy study of the leaf and the young stem of *A. nephrolepis*.

**Methods** The intra-surface of the leaves' epidermis and the dried wood of the twig were observed by the scanning electron microscope; the cross sections of the leaf and the young stem and cross-radial-tangent sections of the wood were observed by the optical microscope. **Results** The stoma was sunk under the four subsidiary cells which surround around the stoma. The hypodermis was only distributed under the middle parts of the upper and lower epidermis. Casparian thickening was not found on the endodermis. There were two mesial resin canals and two bundles, and there were not normal resin canals in the wood. The xylem ray was completely composed with parenchyma cells, whose end walls and level walls have nodal thickening. The cross-field pitting was pinoid. **Conclusion** The above results can be used as basis for the identification of the herbal medicine *A. nephrolepis*.

**Key words** *Abies nephrolepis* (Trautv.) Maxim.; scanning-electron-microscope observation; histological anatomy

收稿日期: 2002-03-25

作者简介: 巴雪青(1968-),女,吉林长春人,助理研究员,东北师范大学生物系植物学硕士,1993年硕士毕业后在吉林省中医中药研究院工作至今,2001年开始在东北师范大学遗传与细胞研究所攻读博士学位。