

香附挥发性成分气相色谱保留指数的研究

天津市药品检验所(300070) 金智珠* 屈颖 蔺勇

摘要 用毛细管气相色谱法,对香附的挥发性成分进行了研究,建立了香附挥发性成分的标准气相色谱图和气相色谱保留指数谱。可用于鉴别香附真伪及判别混乱品种。测定了3种不同产地的香附37个组分的RI的CV(%),平均为0~0.24。

关键词 香附 毛细管气相色谱法 挥发油 保留指数

香附为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎^[1],具有行气解郁,调经止痛的功效,是中医常用的妇科要药,还用于治疗肝郁滞,消化不良等症。中国药典1990年版一部收载。山东产的传统称为东香附,根茎含挥发油约1%。

Kovats保留指数(RI)^[2]用于鉴别GC峰^[3,4],美国Sadler实验研究室出版了标准GC-RI数据库^[5],把GC-RI正式作为各类化合物的标准化数据。

目前GC已普遍地应用于植物挥发油的化学成分分析,但还未见对药材挥发性成分的RI作系统研究的报道。本文采用了两种不同极性的毛细管色谱柱,对香附挥发性成分的RI进行测定并编标准GC图和GC-RI谱,对香附的鉴别和检定是一项客观有益的指标。现用中国药典90年版方法不能鉴别香附真伪及混乱品种,本方法可提供95年版药典作参考,并为RI在GC的应用方面开创了一个新领域。

1 仪器和试剂

日本岛津GC-15A型气相色谱仪,岛津SPL-G15型分流器,C-R4A型数据处理机,Megabyte IBM型计算机,正构烷烃C₈~C₂₃,萘为中国药品生物制品检定所标准品,乙醚AR级,预处理除去过氧化物。

2 实验部分

2.1 色谱条件:色谱柱1:Ultra-2 熔融石英毛细管柱(美国HP公司) Mc Reynold's 常数与SE-52、SE-54相同,25m×0.32mm×0.52μm;流速:载气为纯氮,线速度16cm/s,尾收氮气50ml/min,氢气50ml/min,空气500ml/min,分流比50:1;柱温范围:70~260℃,升温速率4℃,5℃/min;FID:检测温度300℃;进样口温度240℃。

色谱柱2:HP-20M 熔融石英毛细管柱(美国HP公司),Mc Reynold's 常数与Carbowax-20M相同,25m×0.32mm×0.3μm;流速:载气为纯氮,线速度30cm/s,尾收氮气50ml/min,氢气50ml/min,空气500ml/min,分流比50:1;柱温范围:80~205℃,升温速率4℃,5℃/min;FID:检测温度210℃;进样口温度200℃。

2.2 实验材料及挥发油提取: NO.1香附:山东省济宁市汶上县(东香附),由我所中药室鉴定; NO.2香附:湖南省衡山县,经湖南省药检所鉴定; NO.3香附:广西柳州地区武宣县,经广西壮族自治区药检所鉴定。上述3种药材按中国药典要求,秋季采挖,分别鉴定为香附 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎; NO.4香附:同NO.1为春季采集; NO.5竹节香附:黑龙江省尚志县,经黑龙江省药检所鉴定为两头尖(毛茛科植物多被银莲花 *Anemone raddeana* Reg. 的干燥根茎); NO.6大香附:广东省徐闻县,为粗根茎莎草 *Cyperus stoloniferus* Rtz 的干燥根茎。将以上6种药材,分别用水蒸汽蒸馏法提取,再用不含过氧化物的乙醚多次萃取,经无水硫酸钠干燥后,在室温通氮下挥干乙醚,所得挥发油用安瓿分装,

*Address, Jin Zhi zhu, Tianjin Municipal Institute for Drug Control, Tianjin

充氮熔封, 避光冷藏。

2.3 样品制备及测定: 正构烷烃内标溶液: 色谱柱1用 $C_{10} \sim C_{20}$ (测定NO. 4、5药材挥发油用 $C_8 \sim C_{21}$); 色谱柱2用 $C_{12} \sim C_{23}$, 分别按0.3% (V/V或W/V)左右的浓度配成2份乙醚溶液, 备用。

样品溶液: 分别取1体积挥发油与7体积的2种内标溶液, 混合, 组成2份混合液, 备用(挥发油浓度为12.5%)。

测定: 分别取以上6种挥发油的12份样品溶液, 按上述色谱条件, 进样 1μ 左右, 在2根色谱柱上用2~4种不同的升温速率, 分别制备成22张色谱图, 选含量较高的组分(1柱选37个, 2柱选22个), 根据各烷烃和组分的 t_R , 用计算机按Basica语言的程序算出各组分的RI。

2.4 方法确立的研究:

2.4.1 内标系列的选择和样品溶液浓度试验: 先作预试验, 在上述设定条件下, 根据挥发油中各组分的出峰时间, 选择相应的一系列烷烃作为内标物。并试验了挥发油与内标溶液的不同体积比, 结果以1份挥发油加7份内标溶液最为合适, 能达到内标峰高为满刻度的 $1/4 \sim 1/3$, 挥发油主峰不超过满刻度的要求。

2.4.2 色谱条件试验: 柱温: 先作预试验, 根据挥发油中各组分的沸点和固定液的最高使用温度, 选定Ultra-2柱用 $70 \sim 260^\circ\text{C}$, 由于最高使用温度的限制HP-20 M柱设定为 $80 \sim 250^\circ\text{C}$ 。

升温速率和对RI的影响: 分别试验了 2°C 、 4°C 、 5°C 、 $8^\circ\text{C}/\text{min}$ 4种不同的升温速率, 用以上2根色谱柱分别测定东香附挥发油, 并计算RI, 4种不同升温速率之间各组分RI的CV(%)分别为 $0.09 \sim 0.66$ (用色谱柱1)和 $0.07 \sim 0.98$ (用色谱柱2), 选用 4°C 、 $5^\circ\text{C}/\text{min}$, 这2种升温速率相近, 色谱图形变化不大, 可互相复核。

2.4.3 色谱塔板数, 分离度和柱稳定性能考察: 用上述色谱条件测定, Ultra-2柱: C_{15} 理论塔板数为26456/m, C_{15} 与 C_{16} 之间的分离度24.74; 萘的RI为1507.97(用 C_{15} 与 C_{16} 计算)。HP-20M柱: C_{15} 理论塔板数为1803/m, C_{15} 与 C_{16} 之间的分离度为12.81; 萘的RI为923.17(用 C_9 与 C_{10} 计算)。每次分析样品前用萘作为标准物测定RI, 用来考察色谱柱的稳定性, Ultra-2柱4次测定RI的CV(%)为0.013, HP-20M柱CV(%)为0.035($n=10$)

3 结果与讨论

3.1 香附的标准GC图与GC-RI谱(表1): 通过试验, 说明建立这两项指标作为一种药材。鉴定方法的可行性, 似可推广应用于其它中药材。

3.2 实验结果表明: 山东、湖南和广西3个不同产地的香附, 其挥发性成分的GC图与GC-RI谱一致(表2), 3种香附37个组分RI的CV(%)平均值分别为 $0 \sim 0.24$, 说明这两项指标可以作为香附的标准图谱和标准数据作鉴别用精度非常高。表中有星号的为含量较高的1个主要组分, 3种香附15个主要组分的含量都较高, 可从量的角度来说明不同产地香附挥发性成分的一致性

3.3 竹节香附与香附的GC图与GC-RI谱不同(表3), 说明它们是2种不同的品种, 这2项指标还可用来鉴别香附的真伪。竹节香附挥发性成分的含量低, 样品溶液浓度需增加至50%才能出峰, 所含低沸点成分多而且含量高, 在 $C_8 \sim C_{14}$ 之间比香附多出12个峰, 但36个组分中的19个与香附的RI一致, 说明2种挥发油有部分组分相似。

3.4 大香附在广东沿海地区又称咸香附^[6], 在当地有将其代香附用的习惯, 但商品销往外省则作伪品处理, 从GC与GC-RI谱分析(表3), 说明大香附与香附的挥发性成分基本一

表1 NO1 山东产(秋季)香附的GC-RI谱

顺序峰号的保留指数RI

Ultra-2柱 5°C/min		HP-20M柱 5°C/min	
1151.7	*1665.2	*1529.9	*2257.7
1207.4	1672.9	1623.2	*2269.8
1383.2	1682.7	*1635.4	*2292.2
1393.7	1690.8	1646.9	
*1424.6	*1707.3	1685.7	
*1484.6	*1733.2	*1713.6	
1492.6	*1748.6	1738.6	
*1511.0	*1759.7	1753.4	
1552.7	1765.9	*1848.9	
1541.6	1771.7	*1961.5	
*1559.7	*1783.9	2040.3	
1565.1	*1794.3	2073.7	
1578.6	1842.6	*2116.0	
1591.6	*1841.5	*2139.4	
*1612.4	1866.5	*2153.1	
1619.8	1876.8	*2173.7	
*1639.2	1957.8	*2185.7	
1644.6	1974.7	*2222.3	
*1653.0		*2217.1	

注 表中有*号的为含量较高的15个主要组分

致,其中15个主要组分的含量都较高,可望作为香附的一种代用品,以开发新资源。

3.5.不同季节采集的香附,其GC图与GC-RI谱基本一致(表3),但2种挥发油某些组分的含量高低有差异。

以上数据是用Ultra-2柱,5°C/min测定的结果,用其它3组不同色谱条件测定(Ultra-2柱4°C/min;HP-20M柱4°C/min和5°C/min此处图谱和数据从略),得出的结论与上述相同。

致谢:本文承所我范积芬所长审核,并提出修改意见,姚廉所长协助收集药材;我所郭景强同志鉴定东香附,吴贵华同志提供部分资料;山东省济宁市汶上县药检所,黑龙江省药检所,广西壮族自治区药检所,湖南省药检所,湖南省药材公司,广东省徐闻县药检所等单位协助提供实验样品。

表2 3种不同产地香附挥发性成分的GC-RI谱(Ultra-2柱5°C/min)

峰号	保留指数RI						RI 平均值	CV (%)
	NO1 山东产(秋)香附		NO2 湖南产香附		NO3 广西产香附			
	RI	百分含量(%)	RI	百分含量(%)	RI	百分含量(%)		
1	1151.7	0.13	1151.7	0.28	1151.7	0.16	1151.7	0
2	1207.4	0.11	1307.4	0.15	1207.3	0.15	1207.4	0
3	1383.2	0.09	1381.1	0.15	1388.8	0.15	1385.0	0.24
4	1393.7	0.23	1393.7	0.25	1393.6	0.22	1393.7	0
* 5	1424.6	1.24	1424.9	2.76	1424.7	1.84	1424.7	0.01
6	1484.6	0.21	1484.5	0.46	1484.6	0.46	1484.6	0
7	1492.6	0.30	1494.7	0.35	1494.7	0.20	1494.0	0.08
* 8	1511.0	1.79	1510.7	1.03	1510.7	0.85	1510.8	0
9	1525.7	0.16	1518.4	0.22	1522.7	0.2	1522.3	0.24
10	1541.6	0.18	1540.9	0.23	1541.0	0.16	1541.2	0.02
* 11	1559.7	0.28	1559.6	0.57	1559.5	0.36	1559.6	0.01
12	1565.1	0.12	1564.9	0.16	1665.0	0.15	1565.0	0.01
13	1578.9	0.10	1578.6	0.14	1578.7	0.13	1578.7	0.10
14	1591.5	0.14	1588.4	0.19	1588.6	0.14	1586.5	0.11
* 15	1612.4	0.74	1612.4	1.33	1612.3	1.01	1612.4	0
16	1619.8	0.19	1619.4	0.19	1619.6	1.17	1619.6	0.01
* 17	1639.2	0.55	1638.8	0.70	1639.1	0.58	1639.0	0.01
18	1644.6	0.24	1644.4	0.56	1644.7	0.47	1644.6	0.01

* 19	1653.0	0.46	1652.9	1.05	1652.9	0.74	1652.9	0
* 20	1665.2	0.59	1665.0	0.64	1665.0	0.60	1665.1	0.01
21	1672.9	0.23	1671.3	0.29	1672.0	0.21	1672.1	0.05
22	1682.7	0.69	1682.3	0.62	1682.3	0.49	1682.4	0.01
23	1690.8	0.34	1689.9	0.36	1690.1	0.35	1690.3	0.03
* 24	1707.3	1.98	1706.8	1.89	1706.8	1.56	1707.0	0.02
* 25	1733.2	2.90	1734.2	6.25	1733.8	4.61	1733.7	0.03
* 26	1748.6	0.62	1748.4	0.70	1748.5	0.64	1748.0	0.01
* 27	1759.7	1.01	1759.3	0.97	1759.5	0.91	1759.5	0.01
28	1765.9	0.18	1765.6	0.30	1765.7	0.26	1765.7	0.01
29	1771.7	0.19	1771.2	0.30	1771.4	0.29	1771.4	0.01
* 30	1783.9	4.93	1783.0	3.85	1783.3	3.82	1783.4	0.02
* 31	1794.3	0.26	1793.8	0.44	1794.0	0.33	1794.0	0.01
32	1842.6	0.21	1819.6	0.18	1824.7	0.21	1823.0	0.16
* 33	1841.5	0.72	1835.3	0.32	1840.7	0.32	1836.1	0.18
* 34	1866.5	0.25	1866.8	0.52	1866.5	0.42	1866.6	0.01
35	1876.8	0.09	1877.0	0.14	1876.8	0.15	1876.9	0.01
36	1957.8	0.12	1958.0	0.21	1957.7	0.33	1957.9	0.02
37	1974.7	0.13	1974.7	0.21	1974.7	0.27	1974.7	0

注：表中有*号的为含量较高的15个主要组分

表3 不同季节采集的香附和2个相关品种挥发性成分的GC-RI谱 (Ultra-2柱 5°C/min)

峰号	NO1 山东产(秋)香附		NO4 山东产(春)香附		NO5 竹节香附		NO6 大香附	
	RI	百分含量 (%)	RI	百分含量 (%)	RI	百分含量 (%)	RI	百分含量 (%)
					823.0	0.09		
					861.7	0.44		
					886.9	0.49		
					976.7	0.63		
					1058.9	0.12		
					1067.3	0.13		
					1119.6	0.11		
1	1151.1	0.13	1151.0	0.61				
			1153.9	0.15				
			1167.9	0.02	1161.8	0.18		
2	1207.4	0.11	1207.0	0.26			1206.08	0.02
			1221.9	0.29	1217.0	0.08		
					1272.4	0.13		
					1322.1	0.49		
					1350.5	0.31		
					1366.4	0.14		
					1370.6	0.14		
3	1383.2	0.09	1386.0	0.02	1382.1	0.17	1382.1	0.18
4	1393.7	0.23	1392.1	0.13	1394.1	0.17	1392.7	0.31
* 5	1424.6	1.24	1423.6	0.11	1423.3	0.83	1423.7	2.91
* 6	1484.6	0.21	1432.4	0.04	1483.3	0.33	1438.6	1.12
7	1492.6	0.30	1491.2	0.24	1493.7	0.35	1493.5	0.34
* 8	1511.0	1.79	1509.4	1.91	1509.6	1.11	1509.4	1.09
9	1525.7	0.16	1524.1	0.20			1524.3	0.21
10	1541.6	0.18	1539.0	0.08	1540.2	0.30	1539.8	0.18

续表3

峰号	NO1 山东产(秋)香附		NO4 山东产(春)香附		NO5 竹节香附		NO6 大香附	
	RI	百分含量 (%)	RI	百分含量 (%)	RI	百分含量 (%)	RI	百分含量 (%)
* 11	1559.7	0.28	1563.6	0.15	1558.2	0.50	1558.0	0.39
12	1565.1	0.12	1576.8	0.08			1563.7	0.13
13	1578.9	0.10	1583.7	0.27			1577.0	0.11
14	1591.5	0.14	1593.8	0.02			1587.2	0.19
* 15	1612.4	0.74	1610.3	0.84	1610.8	0.84	1610.6	0.80
16	1619.8	0.19	1618.8	0.15			1618.8	0.14
* 17	1639.2	0.55	1638.0	0.49	1642.6	4.60	1637.0	0.67
18	1644.6	0.24	1642.5	0.15			1643.0	0.31
* 19	1658.0	0.46	1654.8	0.39	1652.5	0.86	1651.5	1.01
* 20	1665.2	0.59	1663.6	0.73	1664.3	0.54	1663.4	0.61
21	1672.9	0.23	1671.3	0.27	1681.6	0.72	1670.2	0.38
22	1682.7	0.69	1681.6	0.51			1681.1	0.88
23	1690.8	0.34	1691.1	0.41			1689.1	0.48
* 24	1707.3	1.98	1705.5	3.41	1705.7	1.05	1706.0	2.16
* 25	1733.2	2.90	1731.1	0.56	1732.3	3.87	1732.2	5.47
* 26	1748.6	0.62	1735.5	1.33	1747.3	0.44	1747.2	0.87
* 27	1759.7	1.01	1758.1	1.54	1757.9	0.026	1757.8	0.78
28	1765.9	0.18	1764.7	0.32	1763.8	0.22	1763.7	0.33
29	1771.7	0.19					1770.2	0.26
* 30	1485.3	4.93	1783.9	7.32	1782.3	3.89	1781.3	3.68
* 31	1794.1	0.26			1808.3	0.26	1791.8	0.31
32	1824.6	0.21	1822.8	0.53			1822.8	0.24
* 33	1841.5	0.72	1838.7	0.39	1352.4	0.10	1839.0	0.28
3	1866.5	0.25	1863.8	0.17			1865.0	0.37
35	1876.8	0.09	1879.9	0.17			1880.5	0.017
36	1957.8	0.12	1955.2	1.029			1955.9	0.17
37	1974.7	0.13	1926.3	0.21	1980.9	7.62		

注：表中有*号的为含量较高的15个主要组分

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院编. 中药大辞典. 下册. 上海: 上海人民出版社, 1977. 1672
- 2 奥耶·卡F I, 等. 毛细管气相色谱法. 北京: 学术出版社, 1989. 180
- 3 Tarjan G J. Chromatogr, 1989, 472(1): 1
- 4 Evans M B, et al. J Chromatogr, 1989, 472(1): 93
- 5 The Sadtler Standara Gas Chromatograph Retention Index Library Volamn 4 index, Volumn 2GC 651
- 6 温尚开, 等. 中药材, 1990, 13(11): 9

(1993-07-17收稿)

《中西医结合肝病杂志》公开出版发行

《中西医结合肝病杂志》经一年半的试刊和内部发行, 现已由国家科委和新闻出版署批准正式刊号为CN42—1322/R, 从92年第四季度起向国内外公开发行。正式出版的《中西医结合肝病杂志》仍为季刊, 每期56页, 定价1.50元, 全年6元。欢迎广大医务工作者来稿和订阅, 通讯地址为: 武汉市武昌区云架桥110号(湖北中医学院内)中西医结合肝病杂志社, 邮编440061、帐号: 54699026100194, 武汉建设银行武昌支行。

Studies on the Chemical Constituents of Pricklyfruit Licorice
(*Glycyrrhiza pallidiflora*)

Kan Yuming, Zhao Haibao, Liu Xunhong, et al

Forty-two compounds (I~XXXXII) were isolated from the root and rhizome of *Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim.. Three (III, VIII, X) of them were elucidated by spectroscopic and chemical methods as homopterocarpin (III), 3 β -hydroxy-oleana-11, 13(18)-diene-30-oic acid (VIII) and soyasapogenol B (X), III and X were isolated for the first time from *G. pallidiflora* Maxim., VIII is a new compound, named glypallidifloric acid.

Studies of the chemical structure of the other thirty-nine components are in progress.

(Original article on page 3)

Studies on the Chemical Constituents of Lilac Daphne (*Daphne genkwa*)

Ma Tianbo, Liu Sizhen, Xu Guoyong, et al

Three crystalline compounds were isolated from the ethyl acetate soluble part of stem of *Daphne genkwa*. Two of them were identified by spectrum analysis, as daphnoretin (II) and daphnodorin B (III).

(Original article on page 7)

Studies on the Chemical Constituents of Leaves of
Manchurian Walnut (*Juglans mandshurica*)

Wu Naiju, Chen Hongying and Wang Zhenguo

Six compounds were isolated from the leaves of *Juglans mandshurica* Maxim.. They were characterized by their physico-chemical properties and spectral data as, nonacosanol, 2-octacosanol, β -sitosterol, juglone, 3-methoxy-7-methyljuglone, butanedioic acid. Except juglone, this seemed to be the first reported isolation of the other five compounds from the title plant to date.

(Original article on page 10)

Studies on the Gas Chromatographic Retention Index of Volatile
Component of Nutgrass Galingale (*Cyperus rotundus*)

Jin Zhizhu, Qu Ying and Lin Yong

GC retention index of volatile component of *Cyperus rotundus* was studied by capillary Gas Chromatography, and the standard Gas Chromatographic diagram and GC retention index spectrum, which provide a new identification method for traditional Chinese medicine was established. This method may be used to differentiate the genuine *C. rotundus* from other false or confusion products. The average CV (%) of RI from 37 sets of *C. rotundus* from three different producing areas were 0~0.24. The method possesses well accuracy, comparability and

Analysis of Active Constituents in Mycelium and Fermentation Broth of Lingzhi (*Ganoderma lucidum*)

Li Zhaolan and Zheng Tao

Active constituents in mycelium and fermentation broth of *Ganoderma lucidum* were determined. Results showed that the amount of polysaccharides obtained from mycelium by 1mol/L NaOH extraction and hot-water extraction were 2% and 0.64% respectively, while the fermentation broth contains 0.1% polysaccharide. The mycelium contains 17 kinds of amino acids, totalling at 14.7%. The fermentation broth contains 29 kinds of amino acids, totalling at 0.93%. The mycelium and fermentation broth contain 22 and 17 kinds of trace elements respectively, predominately P, Fe, Zn and Ca.

(Original article on page 17)

Effects of Daphnetin on Activities of Protein Kinase A and Protein Kinase C in Vitro

Xu Xueping, Xiao Dianmo, Zhou Wenhua, et al

Daphnetin, isolated from *Daphne koreana* Nakai, has been reported to dilate blood vessels, inhibit thrombosis and have antiinflammatory effect. In this study, type I and type II protein kinase A partially purified from rat skeletal muscle and protein kinase C from rat brain were incubated with varying concentrations of daphnetin. Type II protein kinase A was significantly inhibited by daphnetin at the concentration of 0.0056 μ mol/L, while type I protein kinase A and protein kinase C were inhibited at the concentrations of 5.6 μ mol/L and 56 μ mol/L, respectively. The results indicated that daphnetin might be used as a specific inhibitor of type II protein kinase A.

(Original article on page 23)

Protective Effect of "Compound Antioxidant Herb" on Rat Gastric Injury Caused by Stress

Li Yifan, Shi Jin, Lu Binghuai, et al

Protective effect of Chinese medicinal herbs against gastric stress injury was studied. The compound antioxidant prescription used was composed of ten herbs, each of which had proven antiperoxidation action. Bound-soaked rats were used as victims of stress injury. In the two groups of rats under protection of the "prescription and injection of salvia" the indexes of gastric mucosa injury were 8.50 ± 2.31 and 19.00 ± 4.25 , LPO in serum were 10.74 ± 0.94 and 11.80 ± 1.06 nmol/ml respectively. Both were significantly decreased as compared with the control group (39.00 ± 6.50 , LPO 19.06 ± 1.10 nmol/ml). These results signified that the antioxidant medicinal herbs, especially in compounded form, may prevent gastric stress injury.

(Original article on page 26)