

降香挥发油的指纹图谱研究

周欣¹, 王道平¹, 梁光义¹, 张雪琴¹, 张中林²

(1. 贵州省、中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550002; 2. 贵州神奇制药有限公司, 贵州 贵阳 550002)

降香为豆科植物降香檀 *Dalbergia odorifera* T. Chen 树干和根的干燥心材, 性温、味辛, 可行气止痛、活血止血, 用于心胸闷痛、腕肋刺痛, 外用跌扑出血。降香油的主要活性成分为苦橙油醇、氧化苦橙油醇及其异构体。中药的成分复杂, 传统中药质量评价方法是对某一化学成分进行定性或定量分析。而对于大多数中药来说, 任何单一活性成分或指标成分都难以准确地评价中药的真伪和优劣。目前指纹图谱已成为国际公认的控制中药或天然药物质量的最有效手段, 特征指纹图谱能反映某种(或某产地)中药材或中成药所共有的、具有特异性的某类或数类成分。因此, 本实验采用 GC-MS 法建立降香挥发油的指纹图谱以作为降香内在质量控制的标准。

1 仪器与试剂

HP6890/HP5973 气质联用仪(美国惠普公司)。降香对照药材购自中国药品生物制品检定所(批号 0952-200204), 降香药材产自海南省, 由贵州神奇制药有限公司提供, 并由贵阳中医学院陈德媛教授鉴定为豆科植物降香檀 *D. odorifera* T. Chen 树干和根的干燥心材。

2 方法与结果

2.1 与对照药材的对照结果: 按照《中国药典》2005 年版降香项下, 照薄层色谱法对降香药材进行鉴定, 结果表明, 供试品药材与对照药材的色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

2.2 挥发油的提取: 取药材约 100 g, 粉碎过 40~60 目筛, 称取约 9 g, 置挥发油提取器中加 10 倍量蒸馏水回流提取 5 h, 取出油层, 用无水硫酸钠除去水分。10 批降香药材挥发油提取率为 4.79%~5.01% mL/g。

2.3 气相色谱条件: 分离柱为 HP-INNOWAX Crosslinked Polyethylene Glycol 弹性石英毛细管柱。升温程序为 100 °C (保持 1 min), 以 10 °C/min 升至 240 °C (保持 1 min)。汽化室温度 250 °C; 柱前

压 52.6 kPa, 载气流量 2.0 mL/min; 进样量 1 μL (用乙醚稀释 25 倍的溶液); 分流比 40:1, 载气为高纯 He (纯度为 99.999%)。

2.4 质谱条件: 离子源为 EI 源; 离子源温度 230 °C; 四极杆温度 150 °C; 电子能量 70 eV; 发射电流 34.6 μA; 倍增器电压 1 424 V; 接口温度 280 °C; 溶剂延迟 3 min; 质量范围 10~550 amu。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验: 取 1 号样品, 在所建立的测定条件下, 连续进样 5 次, 结果 TIC 图中各色谱峰相对保留值的 RSD < 0.19%, 色谱峰面积 RSD < 4.76%。

2.5.2 重现性试验: 取 2 号样品, 制备 5 份供试品溶液, 在所建立的测定条件下测定, 结果 TIC 图中各色谱峰相对保留值的 RSD < 0.23%, 色谱峰面积的 RSD < 4.33%。

2.5.3 稳定性试验: 取 3 号样品, 在所建立的测定条件下, 分别在 0、1、2、4、8、12、24 h 进行测定, 考察各主要色谱峰相对保留值, 结果表明各主要色谱峰相对保留值较稳定, RSD < 4.83%。

2.6 指纹图谱的建立: 按所建立的测定条件测定 10 个降香药材样品, GC-MS 的 TIC 图见图 1。有 18 个峰, 其中有 12 个主要的共有特征峰(占总峰面积的 95% 以上), 选择 7 号峰为参照峰, 此峰为 10 个降香药材药品所共有, 通过 HP MSD 化学工作站检

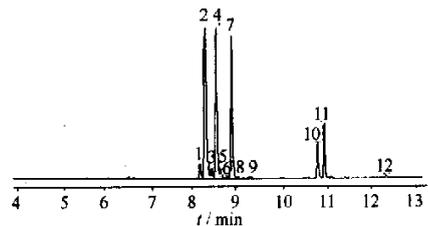


图 1 1 号降香挥发油的 GC-MS 指纹图谱

Fig. 1 GC-MS Fingerprints of No. 1

D. odorifera essential oil

收稿日期: 2005-10-13

基金项目: 贵州省省长专项资金项目(2001-6)

作者简介: 周欣(1962-), 女, 教授, 博士, 硕士生导师, 多年从事天然产物的分析研究。

Tel: (0851) 6690018 E-mail: alice9800@sina.com

索 Nist98 标准质谱图库和 WILEY 质谱图库,并结合有关文献谱图^[1]解析,7 号峰是苦橙油醇(nerolidol),分别计算各特征峰的调整保留时间之比(α 值)和相对峰面积(峰面积之比),结果见表 1。

表 1 10 批降香挥发油的特征峰

Table 1 Characteristic peaks of ten batches of samples of *D. odorifera* essential oil

峰位	α	各批相对峰面积									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0.91	0.10	0.11	0.10	0.10	0.10	0.11	0.10	0.11	0.10	0.11
2	0.93	2.11	2.06	2.09	2.10	2.07	2.16	2.14	2.10	2.12	2.14
3	0.95	0.07	0.07	0.08	0.07	0.07	0.08	0.08	0.07	0.07	0.07
4	0.96	1.29	1.28	1.29	1.27	1.28	1.24	1.22	1.28	1.20	1.24
5	0.97	0.07	0.07	0.08	0.08	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.07
6	0.99	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02
7	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
8	1.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02
9	1.05	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01
10	1.23	0.24	0.25	0.25	0.23	0.25	0.26	0.25	0.26	0.29	0.21
11	1.25	0.35	0.37	0.37	0.36	0.36	0.32	0.38	0.31	0.39	0.32
12	1.42	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02

可知, α 值为 1.00 的组分是苦橙油醇,是降香挥发油药效的主要活性成分。单峰面积占总峰面积大于 20% 的共有峰有 2 个,分别是 α 值为 0.93 的组分和 α 值为 0.96 的组分,其相对峰面积 < 20%; 单峰面积占总峰面积大于 10% 的共有峰有 1 个,是 α 值为 1.00 时的组分,其峰面积占总峰面积是 18.08%~18.93%。在 10 批降香挥发油中,12 个共有特征峰的相对峰面积(峰面积之比)符合《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》。

2.7 指纹图谱相似度分析:指纹图谱的评价指标是供试品指纹图谱与该品种对照用指纹图谱(共有模式)及供试品之间指纹图谱的相似性。采用国家食品药品监督管理局推荐的“中药指纹图谱计算机辅助相似度计算软件”对测定结果进行计算,得到降香挥发性成分的共有指纹图谱(图 2)。对照共有指纹图谱,10 批降香挥发油的相似性分析结果见表 2。

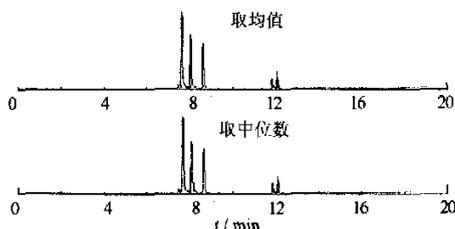


图 2 10 批降香挥发油的共有指纹图谱
Fig. 2 Mutual fingerprint of ten batches of *D. odorifera* essential oil

3 讨论

3.1 在挥发油提取试验中,对药材粒度、溶剂量及

表 2 10 批降香挥发油的相似性分析结果

Table 2 Similarity analysis of ten batches of *D. odorifera* essential oil

批号	相关系数		相合系数	
	中位数	均值	中位数	均值
1	0.990 7	0.992 8	0.991 7	0.993 6
2	0.995 9	0.996 1	0.996 3	0.996 4
3	0.993 8	0.991 1	0.994 5	0.992 0
4	0.993 4	0.992 2	0.994 1	0.993 0
5	0.994 9	0.996 3	0.995 5	0.996 7
6	0.995 5	0.993 9	0.996 0	0.994 5
7	0.986 4	0.989 2	0.987 6	0.990 2
8	0.987 4	0.990 2	0.988 3	0.991 0
9	0.995 6	0.996 1	0.996 0	0.996 4
10	0.991 0	0.993 1	0.991 9	0.993 9

提取时间进行正交试验考察,根据结果方差分析发现,药材粒度影响因素最为显著,依次是提取时间和溶剂量,因此选定最佳提取工艺为:40~60 目粉碎度,10 倍量溶剂回流提取 5 h。

3.2 选择两种色谱柱进行考察,HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane (30 m×0.25 mm×0.25 μ m)弹性石英毛细管柱和 HP-INNOWAX Cross-linked Polyethylene Glycol (30 m×0.25 mm×0.25 μ m)弹性石英毛细管柱。结果发现后一种色谱柱分离效果好,分析时间短。

3.3 中药的成分复杂,其活性也常常是多种成分共同作用的结果,其质量的全面控制难度很大。色谱指纹图谱分析是对中药及其制剂进行综合分析的可行手段之一^[2],采用仪器联用方式可获得更多的指纹图谱信息^[3]。GC-MS 具有定性功能的优点,因而采用 GC-MS 建立挥发油指纹图谱,基本不受不同仪器等条件的限制。即使未鉴定出某些成分,也可根据其质谱“棒形图”进行辨认。

3.4 本研究按照《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》和《中药注射剂色谱指纹图谱试验操作规程指南(试行)》的规定,采用国家食品药品监督管理局推荐的“中药指纹图谱计算机辅助相似度计算软件”进行计算,使所得到的指纹图谱能全面、综合和准确地反映降香药材的质量情况,为降香药材的质量控制提供科学依据,同时也为降香中药制剂制定指纹图谱奠定基础。

References:

[1] Adams R P. Identification of essential oil components by gas chromatography-mass spectrometry [M]. Illinois: IL, Allured Publishing Co., 1995.
[2] 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): 391-395.
[3] Luo G A, Wang Y M, Cao J. The characteristic fingerprint of multi-dimensional and multi-data and its application [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22 (6): 395-397.