

3 讨论

本实验中出现了一些杂质峰,可能是玻璃仪器清洗不干净,器壁上还残留有洗衣粉,因为洗衣粉中含有一定量的氯离子,所以杂峰会被检测出来;也可能是氯化钠中的氯吸附到有机相上,被引入氯离子所致。

在供试品溶液的制备中,当实验进行到精密量

取 35 mL,于 40 ℃水浴上减压浓缩时,只需浓缩到 2~3 mL 即可,不能把溶剂全挥干,因为挥干时会有一部分农药残留残留在瓶底,不易被有机相溶解。

由于胃肠安丸为原生药粉入药,故有机氯农药有少量残留,但经 5 批样品的检测,其结果符合我国外经贸行业《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》中的小于 0.1 mg/kg 的要求。

降香挥发油的指纹图谱研究

王文燕¹,王 靖²,张铁军¹

(1. 天津药物研究院,天津 300193; 2. 天津中医药大学,天津 300193)

降香为豆科植物降香檀 *Dalbergia odorifera* T. Chen 树干和根的干燥心材。主产于海南,具有行气活血,止痛,止血的功能,用于脱腹疼痛,肝郁肋痛,胸痹刺痛,跌打损伤,外伤出血等。降香在冠心病片、精制冠心颗粒、冠心丹芍片、冠心Ⅱ号方、冠心七味片中都有应用,是一味治疗心脑血管疾病的常用中药。降香挥发油是降香的主要有效成分,而气相指纹图谱法适合评价含挥发性成分药材的质量。因此,本实验对海南产降香药材挥发油的气相指纹图谱进行了研究,建立了挥发油气相指纹图谱,为该药材的质量评价提供了参考依据。

1 材料与方法

Agilent 公司 HP-6890 气相色谱仪;降香药材产于海南省东方九龙山,经本院中药现代研究部张铁军研究员鉴定为豆科植物降香檀 *D. odorifera* T. Chen 树干和根的干燥心材,符合《中国药典》2005 年版一部降香项下的有关规定;橙花叔醇(即苦橙油醇)对照品(Sigma 公司,顺反异构体混合液,质量分数为 98%);无水乙醇(分析纯)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:HP-1 石英毛细管柱(0.32 mm×30 m×0.25 μm);检测器:FID;检测器温度:250 ℃;气化室温度:250 ℃;柱前压:2.1×10⁴ Pa;载气:N₂;进样方式:直接进样;进样量:2 μL;升温程序:初始温度 90 ℃,保持 3 min 后以 30 ℃/min 升温到 214 ℃,保持 6 min 后,再以 4 ℃/min 升温到 218 ℃,再保持 46 min。

2.2 参照物溶液的制备:选用降香挥发油中主要成

分反式-橙花叔醇为参照物。精密称取橙花叔醇对照品 6 μL 于 1 mL 量瓶中,加入无水乙醇至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取降香药材 100 g,置 2 000 mL 圆底烧瓶中,加 800 mL 水浸泡过夜,照《中国药典》2005 年版一部附录 XD 甲法提取挥发油,收集挥发油,加入适量的无水硫酸钠干燥,离心,得降香挥发油。精密量取 10 μL 挥发油于 1 mL 量瓶中,加入无水乙醇至刻度,摇匀,即得。

2.4 测定法:分别吸取供试品溶液、参照物溶液各 2 μL 注入气相色谱仪,记录 60 min 色谱图。供试品色谱中,以参照物反式-橙花叔醇的的色谱峰(S)的峰面积和保留时间为 1,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验:取同一供试品溶液,连续进样 5 次,记录色谱图。结果表明,单峰面积大于 1% 的各色谱峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.05%,相对峰面积的 RSD 均小于 2%。

2.5.2 重现性试验:取同一批号的药材制备供试品溶液 5 份,分别进样,记录色谱图。结果表明,单峰面积大于 1% 的各色谱峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.05%,相对峰面积的 RSD 均小于 3%。

2.5.3 稳定性试验:取同一供试品溶液,分别在 0、12、24 h 进样,记录色谱图。结果表明,单峰面积大于 1% 的各色谱峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.06%,相对峰面积的 RSD 均小于 3.00%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6 指纹图谱的建立

2.6.1 10 批药材指纹图谱的测定:依法测定 10 批药材的指纹图谱,结果见图 1 和表 1。

2.6.2 共有指纹峰的标定:根据以上 10 批药材指纹图谱的检测结果,共标定了 4 个共有指纹峰(包括反式-橙花叔醇峰即峰 S),这 4 个峰峰面积显著大于其他峰,单峰面积占总峰面积大于 5%,非共有峰面积小于 5%,结果见表 2、3。结果表明,10 批成品的检测数据均符合指纹图谱要求。

2.6.3 非共有峰:根据 10 批降香挥发油指纹图谱的检测结果,计算了各批样品所有非共有峰面积占总峰面积的百分比。结果表明,10 批药材所有非共

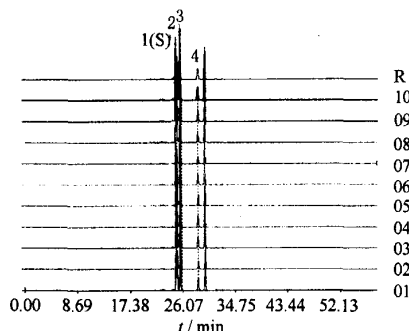


图 1 降香挥发油的气相色谱指纹图谱

Fig. 1 GC Fingerprint chromatograms of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* volatile oil

表 1 降香挥发油指纹图谱测定结果

Table 1 Results of fingerprints of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* volatile oil

峰号	相对保留时间									
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10
1		0.833 9	0.833 0	0.833 1	0.833 7	0.833 3	0.833 9			0.832 8
2			0.857 6	0.857 7	0.858 2	0.858 0	0.858 3		0.857 9	0.857 5
3		0.899 4				0.898 7	0.899 6	0.899 1	0.898 7	0.898 0
4	0.905 1	0.903 5	0.902 5	0.902 8	0.903 3	0.902 6	0.903 5	0.903 0	0.903 0	0.902 1
5		0.912 9	0.912 1	0.912 2	0.912 5	0.912 3	0.913 1	0.912 3	0.912 2	0.911 8
6					0.922 7				0.922 3	
7			0.937 9	0.937 8	0.938 3					
8	0.978 6	0.977 7	0.976 9	0.977 0	0.977 5	0.977 0	0.977 9	0.977 1	0.977 0	0.976 5
9	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
10	1.009 0	1.009 0	1.008 7	1.008 5	1.009 0	1.008 7	1.009 0	1.008 7	1.008 7	1.008 4
11	1.029 3	1.029 6	1.029 9	1.029 7	1.029 7	1.029 8	1.029 5	1.029 9	1.030 0	1.030 0
12		1.039 9	1.039 6	1.039 4	1.039 9	1.039 4	1.039 9	1.039 7	1.039 7	1.039 4
13		1.118 8	1.117 7	1.117 6		1.117 5		1.118 1	1.117 6	1.117 3
14	1.148 7	1.148 3	1.147 3	1.147 2	1.147 8	1.147 4	1.148 5	1.147 6	1.147 3	1.147 0
15		1.160 4								
16		1.271 1	1.270 0	1.269 4	1.270 2	1.270 0	1.271 6	1.270 6	1.270 3	1.269 4
17		1.311 8	1.310 9	1.310 7	1.311 3	1.310 7	1.311 9	1.311 2	1.310 5	1.310 0
18		1.499 1	1.497 2	1.497 3		1.497 7	1.499 7	1.498 1	1.497 5	1.496 5

峰号	相对峰面积									
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10
1		0.009 7	0.005 8	0.006 2	0.005 1	0.009 7	0.009 0			0.003 0
2			0.004 9	0.005 0	0.004 3	0.005 7	0.006 0	0.006 1	0.006 4	
3		0.012 8				0.011 7	0.012 1	0.013 9	0.013 4	0.013 1
4	0.024 0	0.013 2	0.020 5	0.020 1	0.018 9	0.013 9	0.012 1	0.014 3	0.014 6	0.016 3
5		0.016 5	0.010 3	0.010 3	0.011 0	0.015 4	0.015 7	0.017 6	0.017 0	0.017 5
6					0.004 8				0.006 3	
7			0.007 9	0.005 3	0.005 3					
8	0.025 5	0.026 6	0.028 3	0.027 5	0.027 3	0.026 5	0.025 9	0.030 4	0.030 3	0.030 9
9	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
10	0.530 9	0.518 9	0.530 3	0.528 9	0.530 5	0.514 0	0.518 1	0.521 4	0.515 4	0.514 2
11	1.334 0	1.217 2	1.216 2	1.215 5	1.224 7	1.208 1	1.223 6	1.323 9	1.309 7	1.304 2
12		0.009 2	0.006 8	0.006 1	0.006 2	0.009 1	0.009 8	0.013 0	0.013 0	0.012 9
13		0.004 8	0.004 0	0.004 1		0.005 4		0.005 7	0.005 7	0.005 5
14	0.342 0	0.336 5	0.317 3	0.315 7	0.324 2	0.342 0	0.357 5	0.344 1	0.338 8	0.323 5
15		0.006 1								
16		0.017 8	0.015 7	0.015 3	0.016 5	0.017 6	0.019 2	0.016 4	0.015 7	0.015 1
17		0.006 7	0.007 2	0.006 8	0.007 1	0.009 1	0.008 7	0.008 1	0.008 1	0.007 5
18		0.011 8	0.004 1	0.004 0		0.011 6	0.013 3	0.006 6	0.006 2	0.005 9

有峰面积占总峰面积的百分比在 1.52%~4.24%，各批样品非共有峰面积百分比均小于 5%，符合药材指纹图谱的研究要求。

2.6.4 相似度计算:采用夹角余弦法和相关系数法

表 2 降香挥发油共有指纹峰相对保留时间

Table 2 Common relative retention time of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* volatile oil

批号	相对保留时间			
	峰 S	峰 2	峰 3	峰 4
01	1.000 0	1.009 0	1.029 3	1.148 7
02	1.000 0	1.009 0	1.029 6	1.148 3
03	1.000 0	1.008 7	1.029 9	1.147 3
04	1.000 0	1.008 5	1.029 7	1.147 2
05	1.000 0	1.009 0	1.029 7	1.147 8
06	1.000 0	1.008 7	1.029 8	1.147 4
07	1.000 0	1.009 0	1.029 5	1.148 5
08	1.000 0	1.008 7	1.029 9	1.147 6
09	1.000 0	1.008 7	1.020 0	1.147 3
10	1.000 0	1.008 4	1.030 0	1.147 0

表 4 降香挥发油相似度计算结果

Table 4 Results of similarity of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* volatile oil

峰号	相似度										对照 模板
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	
1	0.024 0	0.009 7	0.005 8	0.006 2	0.005 1	0.009 7	0.009 0	0.000 0	0.000 0	0.003 0	0.007 2
2	0.000 0	0.000 0	0.004 9	0.005 0	0.004 3	0.005 7	0.000 0	0.006 0	0.006 1	0.006 4	0.003 8
3	0.000 0	0.012 8	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.011 7	0.012 1	0.013 9	0.013 4	0.013 1	0.007 7
4	0.000 0	0.013 2	0.020 5	0.020 1	0.018 9	0.013 9	0.012 1	0.014 3	0.014 6	0.016 3	0.014 4
5	0.000 0	0.016 5	0.010 3	0.010 3	0.011 0	0.015 4	0.015 7	0.017 6	0.017 0	0.017 5	0.013 1
6	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.004 8	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.006 3	0.000 0	0.001 1
7	0.000 0	0.000 0	0.007 9	0.005 3	0.005 3	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.001 9
8	0.025 5	0.026 6	0.028 3	0.027 5	0.027 3	0.026 5	0.025 9	0.030 4	0.030 3	0.030 9	0.027 9
9	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
10	0.530 9	0.518 9	0.530 3	0.528 9	0.530 5	0.514 0	0.518 1	0.521 4	0.515 4	0.514 2	0.522 3
11	1.334 0	1.217 2	1.216 2	1.215 5	1.224 7	1.208 1	1.223 6	1.323 9	1.309 7	1.304 2	1.257 7
12	0.000 0	0.009 2	0.006 8	0.006 1	0.006 2	0.009 1	0.009 8	0.013 0	0.013 0	0.012 9	0.008 6
13	0.000 0	0.004 8	0.004 0	0.004 1	0.000 0	0.005 4	0.000 0	0.005 7	0.005 7	0.005 5	0.003 5
14	0.342 0	0.336 5	0.317 3	0.315 7	0.324 2	0.342 0	0.357 5	0.344 1	0.338 8	0.323 5	0.334 2
15	0.000 0	0.006 1	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 6
16	0.000 0	0.017 8	0.015 7	0.015 3	0.016 5	0.017 6	0.019 2	0.016 4	0.015 7	0.015 1	0.014 9
17	0.000 0	0.006 7	0.007 2	0.006 8	0.007 1	0.009 1	0.008 7	0.008 1	0.008 1	0.007 5	0.006 9
18	0.000 0	0.011 8	0.004 1	0.004 0	0.000 0	0.011 6	0.013 3	0.006 6	0.006 2	0.005 9	0.006 3
相关系数	0.999 4	0.999 8	0.999 7	0.999 7	0.999 8	0.999 7	0.999 7	0.999 6	0.999 7	0.999 7	1.000 0
夹角余弦	0.999 4	0.999 8	0.999 8	0.999 8	0.999 8	0.999 8	0.999 8	0.999 7	0.999 7	0.999 7	1.000 0

注射剂指纹图谱的研究要求。

2.6.5 降香挥发油标准指纹图谱的制定:根据以上实验,确定降香挥发油指纹图谱要求:供试品指纹图谱应与标准指纹图谱相似;指纹图谱应有 4 个共有峰;共有指纹峰的标定(示峰面积大于 5%总峰面积的相对保留时间);与反式-橙花叔醇峰(1 号峰/S 峰/参照物峰)相比,其他 3 个共有指纹峰相对保留时间分别为 0.958 4~1.059 2,0.977 3~1.080 1,1.090 3~1.205 1。共有指纹峰面积的比值(示峰面积大于 5%总峰面积的相对峰面积):4 个共有指纹峰的面积均超过总峰面积的 5%,与反式-橙花叔醇峰(1 号峰/S 峰/参照物峰)相比,组峰(S 峰和 2 号峰)、3 号峰、4 号峰的相对峰面积分别为 1.217 8~1.826

计算了 10 批药材的相似度,结果见表 4。结果表明,10 批药材与标准图谱的相似度值均大于 0.9,符合

表 3 降香挥发油共有相对峰面积

Table 3 Common peaks of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* volatile oil

批号	相对峰面积			
	峰 S	组峰 S-2	峰 3	峰 4
01	1.000 0	1.530 9	1.334 0	0.342 0
02	1.000 0	1.518 9	1.217 2	0.336 5
03	1.000 0	1.530 3	1.216 2	0.317 3
04	1.000 0	1.528 9	1.215 5	0.315 7
05	1.000 0	1.530 5	1.224 7	0.324 2
06	1.000 0	1.514 0	1.208 1	0.342 0
07	1.000 0	1.518 1	1.223 6	0.357 5
08	1.000 0	1.521 4	1.323 9	0.344 1
09	1.000 0	1.515 4	1.309 7	0.338 8
10	1.000 0	1.514 2	1.304 2	0.323 5
平均值	1.000 0	1.522 3	1.257 7	0.334 2
上限		1.217 8	1.006 2	0.250 6
下限		1.826 8	1.509 2	0.417 8

8,1.006 2~1.509 2,0.250 6~0.417 8。各供试品图谱中非共有峰的面积不得大于总峰面积的 5%。

3 讨论

降香挥发油中主含反式-橙花叔醇,该成分在气相色谱中与另一成分(2 号峰)未能达到基线分离,因此在指纹图谱参数计算上以组峰计算峰面积。参照物选择橙花叔醇,购于 Sigma 公司,为顺反异构混合液,质量分数为 98%,并从中标定出反式-橙花叔醇风的保留时间,有效地制定出指纹图谱的技术参数。

从 10 批海南省东方九龙山所产的降香挥发油指纹图谱分析表明,所测药材挥发油的质量较为一致、稳定,此结果可作为该地区降香药材开发利用的参考。