

白术 GC-MS 指纹图谱研究

段 启^{1,2}, 马兴田², 李彩萍³

(1. 广东食品药品职业学院, 广东 广州 510520; 2. 广东康美药业股份有限公司, 广东 普宁 515300;

3. 深圳市福永医院, 广东 深圳 518102)

摘要:目的 建立白术药材挥发性成分 GC-MS 指纹图谱分析方法, 为白术质量评价提供依据。方法 采用 GC-MS 联用技术对不同产地白术的挥发性成分进行分析, 建立其指纹图谱, 确定共有指纹峰。结果 白术挥发性成分中含有 18 个特征性指标成分, 初步建立了以此 18 个共有峰为特征指纹信息的 GC-MS 指纹图谱。结论 该方法准确可靠, 重现性好, 可作为白术内在质量评价的依据。

关键词:白术; 指纹图谱; 挥发性成分; GC-MS

中图分类号:R282.7

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)08-1249-03

白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根, 主产于浙江、安徽、湖北、湖南等省。其性味甘、苦、温, 具有健脾益气、燥湿利水、止汗、安胎的功效^[1]。主要含有挥发油成分和内酯类成分。为控制和保证产品质量的稳定性, 本实验在用 GC-MS 法对不同产地白术药材中挥发性成分分析鉴定的基础上, 建立白术挥发性成分 GC-MS 指纹图谱, 该方法可操作性强, 重现性好, 为有效地控制白术药材质量提供了科学依据。

1 仪器与试剂

GC-MS—QP2010 岛津气相色谱质谱联用仪(日本岛津); 挥发油测定装置。

乙醚为分析纯; 13 批白术样品分别由产区实地采集, 为栽培品, 经刘茂贵副主任中药师鉴定均为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根, 药材来源见表 1。

表 1 13 批药材产地批号

Table 1 Source of 13 batches of herbs

样品编号	产地	采集批号	样品编号	产地	采集批号
S1	江西修水	051110	S8	浙江磐安	041012
S2	江西修水	060615	S9	重庆酉阳	051126
S3	浙江东阳	060602	S10	湖南岳阳	050605
S4	浙江缙云	060602	S11	湖北利川	051130
S5	浙江磐安	060526	S12	浙江金华	050625
S6	浙江新昌	060526	S13	湖北恩施	051201
S7	浙江缙云	051225			

2 方法与结果

2.1 分析条件:气相色谱条件为弹性石英毛细管柱 Agilent HP-5 (30 mm×0.32 mm, 0.25 μm); 进样口温度 270 ℃; 升温程序: 初温 85 ℃, 2 ℃/min 升到 140 ℃, 保持 4 min, 再以 4 ℃/min 升到 200 ℃,

保持 5 min, 继以 8 ℃/min 升到 240 ℃, 保持 8 min; 载气为氦气, 恒流 1.0 mL/min; 分流比为 25:1; 尾吹气流量为 25 mL/min; 进样量 1.0 μL。质谱条件: 电离方式 EI; 离子源温度 200 ℃, 接口温度 250 ℃, 溶剂延迟 2 min, 扫描速度: 1 666, 电子倍增器电压 0.90 kV, 质量扫描范围 30~800 amu。

2.2 供试品溶液的制备:分别取 13 批白术样品粗粉 25 g, 称定质量, 至 500 mL 圆底烧瓶中, 加沸石少许, 加水 250 mL 搅拌, 浸泡 30 min, 用挥发油提取器提取 4 h 至测定器中油量不再增加, 停止加热, 放冷, 收集油水混合物到分液漏斗中, 加乙醚 10 mL 萃取挥发油, 反复 3 次至乙醚层无色为止, 合并乙醚液到已称定的烧瓶中, 35 ℃ 水浴旋转挥干溶剂, 残渣以乙醚溶解并定容至 25 mL 量瓶中, 得供试品溶液。

2.3 方法学考察:为考察分析方法的可靠性, 以药材 S1 为供试品, 按“2.1”项下色谱条件, 对仪器精密密度, 方法重现性和稳定性进行相应考察。

2.3.1 分析时间考察:吸取供试品溶液 1.0 μL, 注入气相色谱仪, 运行 120 min, 记录色谱图, 发现 60 min 以后已无明显色谱峰, 因此分析时间定为 60 min。

2.3.2 空白试验:吸取乙醚空白溶液 1.0 μL, 注入气相色谱仪, 记录色谱图, 结果溶剂出峰集中在 5 min 之前, 对检测基本无干扰。

2.3.3 精密密度试验:取同一批次供试品溶液, 连续进样 5 次, 分别对共有峰的相对保留时间和峰面积比值进行考察, 结果表明, 各共有峰的相对保留时间 RSD 小于 0.1%; 相对质量分数 RSD 均小于 5%, 提示仪器精密密度良好。

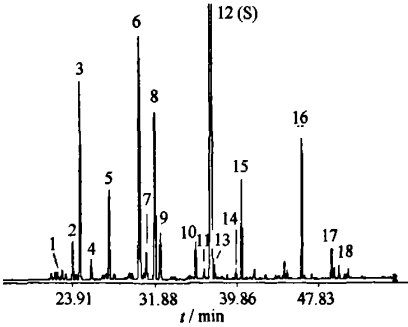
2.3.4 重现性试验:取同一批次供试品药材粉末 6 份,按上述方法制备供试品溶液,各样品进样 2 次,分别对共有峰的相对保留时间和峰面积比值进行考察。结果表明,各共有峰相对保留时间 RSD 小于 0.1%,质量分数的 RSD 均小于 5%,说明重现性良好。

2.3.5 稳定性试验:取同一供试品溶液,分别于 0、3、6、9、12、15、18、21、24 h 进样分析,考察共有峰的相对保留时间和峰面积比值,结果表明,各共有峰相对保留时间 RSD 小于 0.1%,质量分数的 RSD 均小于 5%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.4 指纹图谱的建立:按选定的 GC-MS 条件对白术挥发油成分进行分析,测得所有供试品的 GC-MS 总离子流图;再对总离子流图中的各峰经质谱扫描后得质谱图,所用组分质谱数据经计算机处理和 NIST-98 标准质谱图库检索鉴定,并与有关标准谱图核对,初步确定白术挥发性成分中 17 种化合物。根据白术挥发性成分 GC-MS 总离子流图所绘出的峰数、峰保留时间和峰面积值等相关参数以及成分鉴定结果,进行分析、比较,制定 GC-MS 指纹图谱,结果见图 1。

2.5 指纹图谱分析

2.5.1 共有指纹峰的标定:经对挥发性成分 GC-MS 总离子流图的分析、比较,标定 18 个共有峰作为白术指纹图谱的特征峰^[2],除 1 号峰成分未鉴定外,2~18 号峰化学成分依次为:石竹烯、 γ -榄香烯、 α -石竹烯、桉叶烷-4(14),11-二烯、十氢-1,1,3a-三甲基-7-甲叉基-1*H*-环丙烷[a]并萘、4,5-脱氢异长叶烯、吉马烯 B、脱氢香橙烯、十氢-1,1,7-三甲基-4-甲叉



S-参照物峰 1~18-各特征指纹峰
S-reference peak 1—18-every characteristic peak

图 1 白术药材共有模式指纹图谱

Fig. 1 Common fingerprint of *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*

基-1*H*-环丙烷[e]并萘、9,10-脱氢环异长叶烯、苍术酮、 $\alpha,\alpha,4,8$ -四甲基-3,7-二烯-环十烷-1-甲醇、斯巴醇、(5*a*)-*D*-去甲雄甾烷-16-酮、8,9-脱氢环异长叶烯、8,9-脱氢-9-甲酰基-环异长叶烯、3*a*,4,5,8,9,11*a*-六氢-6,10-二甲基-3-甲叉基-环十烷[b]咪喃-2(3*H*)-酮。以苍术酮(S 峰)为参照峰,分别求出各共有峰与之相比的相对保留时间(α)值,见表 2。

2.5.2 共有峰的相似度:13 批白术药材与对照指纹图谱之间的相似度均达到 0.996 以上,说明共有峰的建立是科学、合理的,见表 3。

2.5.3 共有峰面积:经统计共有峰总峰面积占有峰面积比为 90.638%~98.545%,非共有峰面积与总峰面积的百分比为 1.5%~9.4%。符合指纹图谱研究的非共有峰占总峰面积百分比<10%的技术

表 2 白术药材 GC 指纹图谱共有特征峰

Table 2 Common characteristic peaks of GC fingerprint of *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*

峰编号	化合物名称	保留时间/min	相对保留时间	相对峰面积	单峰占总峰面积/%
1	未鉴定	22.499	0.602	0.002~0.004	0.21
2	石竹烯	23.980	0.641	0.012~0.019	0.98
3	γ -榄香烯	24.712	0.661	0.070~0.100	5.27
4	α -石竹烯	25.787	0.689	0.007~0.010	0.56
5	桉叶烷-4(14),11-二烯	27.550	0.737	0.032~0.062	2.45
6	十氢-1,1,3a-三甲基-7-甲叉基-1 <i>H</i> -环丙烷[a]并萘	30.454	0.814	0.081~0.180	8.55
7	4,5-脱氢异长叶烯	31.083	0.831	0.010~0.022	0.85
8	吉马烯 B	31.884	0.852	0.079~0.116	5.80
9	脱氢香橙烯	32.379	0.866	0.021~0.030	1.65
10	十氢-1,1,7-三甲基-4-甲叉基-1 <i>H</i> -环丙烷[e]并萘	35.783	0.957	0.008~0.035	1.04
11	9,10-脱氢环异长叶烯	36.597	0.979	0.002~0.013	0.30
12(S)	苍术酮	37.403	1.000	1.000	62.26
13	$\alpha,\alpha,4,8$ -四甲基-3,7-二烯-环十烷-1-甲醇	37.641	1.006	0.002~0.022	0.34
14	斯巴醇	39.747	1.063	0.001~0.017	0.23
15	(5 <i>a</i>)- <i>D</i> -去甲雄甾烷-16-酮	40.294	1.077	0.016~0.087	2.23
16	8,9-脱氢环异长叶烯	46.218	1.236	0.029~0.069	2.76
17	8,9-脱氢-9-甲酰基-环异长叶烯-3 <i>a</i> ,4,5,8,9,11 <i>a</i> -	49.095	1.313	0.005~0.041	0.73
18	六氢-6,10-二甲基-3-甲叉基-环十烷[b]咪喃-2(3 <i>H</i>)-酮	49.816	1.331	0.002~0.021	0.34

表 3 13 批白术药材与对照指纹图谱之间的相似度

Table 3 Similarities of 13 batches of samples compared with reference fingerprint

样品编号	相似度	样品编号	相似度
S1	0.999	S8	0.997
S2	0.999	S9	1
S3	1	S10	0.996
S4	1	S11	0.999
S5	0.990	S12	0.999
S6	0.996	S13	1
S7	0.999	对照指纹图谱	1

要求。但各共有峰在不同产地中丰度差异较大,其中只有参照物峰(S)的峰面积占总峰面积 10% 以上,其余峰面积均小于 10%,其比值范围不作要求。

3 讨论

3.1 本实验在样品制备、测试条件方面经过大量实验探索,通过对色谱图全貌(出峰数、分离度等)的反复考察,认为目前所选用的测试条件较为理想。方法学考察结果表明,仪器精密度高,样品稳定性、重现性亦较好,谱图中各组分的相似度极高,从而说明

该方法建立的指纹图谱准确可靠,特征指纹信息丰富,专属实用,这对从挥发性成分角度判断白术药材的质量有一定的参考价值。

3.2 不同产地白术中均含有石竹烯等 18 种成分,占挥发性总成分的 90% 以上,具有突出的代表性,故以此 18 个特征性指标成分作为共有特征峰建立白术 GC-MS 指纹图谱。苍术酮高达 60% 以上,为最突出的指标,故以此作为参照峰分析指纹图谱。当然以上 18 种成分是否能完全揭示白术挥发性成分的特征,还有待进一步深入研究,还需要考虑栽培条件、采收加工、储藏等多种因素的影响。

3.3 本实验初步建立了白术挥发性成分的 GC-MS 指纹图谱的分析方法,为白术药材质量评价方法和 GAP 实施提供参考依据。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 崔庆新,董岩,王怀生. 白术挥发油化学成分的 GC/MS 分析[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(1): 124-126.

道地产区地黄不同品种间多糖量的比较

李晓琳¹, 王敏¹, 刘红彦², 黄璐琦^{1*}, 王飞², 吴志刚¹

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 河南农业科学院植物保护研究所, 河南 郑州 450002)

摘要:目的 比较道地产区不同品种地黄中多糖的量。方法 苯酚-硫酸比色法, 线性范围 5.3~106.0 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.9997$)。结果 以葡萄糖计, 北京 1 号、大红袍、红薯王、北京 2 号、9302、狮子头、金状元、85-5 地黄中多糖质量分数分别为: 12.73%、10.04%、8.32%、7.10%、4.87%、4.11%、2.48%、1.58%。结论 不同品种地黄中多糖的量差异明显, 其中以北京 1 号中多糖的量最高。

关键词: 地黄; 多糖; 苯酚-硫酸法

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)08-1251-03

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根^[1], 是常用中药, 具有滋阴清热、补血止血等功效。地黄多糖作为地黄的重要活性成分^[2], 具有增强免疫力、抗肿瘤、抗衰老、促进造血机能、降血糖等活性^[3]。地黄主产于河南, 以旧称“怀庆府”的河南温县、武陵、博爱等地为道地产区, 称为“怀地黄”。目前地黄的栽培品种较多, 仅从温县境内收集到的地黄品种就多达十余种。这些栽培品种是否存在品质上的差异, 是需要深入探讨的

问题。本课题组曾比较了温县的 8 个栽培品种梓醇量的差异^[4], 结果表明不同品种在梓醇量上表现出不同的特性。本实验在此基础上采用苯酚-硫酸法考察上述不同品种的地黄多糖量, 从而研究其品质差异。

1 仪器、试剂与材料

PGENERAL T6 紫外-可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限公司); 5810R 低温离心机 (德国 Eppendorf 公司); KQ-100 DE 型超声仪 (昆山市超声仪器有限公司)。无水葡萄糖, 分析纯 (购自国

收稿日期: 2007-12-24

基金项目: 国家科技部基础性工作专项重点项目 2001DEA20010

作者简介: 李晓琳(1979—), 女, 辽宁省鞍山市人, 中国中医科学院中药研究所实习研究员, 从事中药分析和生药学研究。

Tel: (010) 64014411-2956 E-mail: water_in_sky_koala@yahoo.com.cn

* 通讯作者 黄璐琦 Tel: (010) 64014411-2853 E-mail: huangluqi@263.net

白术GC-MS指纹图谱研究

作者: 段启, 马兴田, 李彩萍
作者单位: 段启(广东食品药品职业学院, 广东广州, 510520; 广东康美药业股份有限公司, 广东普宁, 515300), 马兴田(广东康美药业股份有限公司, 广东普宁, 515300), 李彩萍(深圳市福永医院, 广东深圳, 518102)
刊名: 中草药 **ISTIC PKU**
英文刊名: CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS
年, 卷(期): 2008, 39(8)
被引用次数: 3次

参考文献(2条)

1. 中华人民共和国药典(一部) 2005
2. 崔庆新;董岩;王怀生 白术挥发油化学成分的GC/MS分析[期刊论文]-药物分析杂志 2006(01)

本文读者也读过(8条)

1. 黎琼红. 马兴田. 谢晨. 龚秀琦. LI Qiong-hong. MA Xing-tian. XIE Chen. GONG Xiu-qi 白术药材的指纹图谱研究[期刊论文]-中草药2007, 38(6)
2. 闫克里. 刘玉瑛. 史天良. 张菊仙. 张鸿翔. 张素华 气-质联用对不同提取法的白术油化学成分的分析[期刊论文]-中国药物与临床2002, 2(5)
3. 周枝凤. 沈菊文. 龚范. 梁逸曾. 邱细敏 白术挥发油成分分析及其色谱指纹图谱研究初探[期刊论文]-中草药2004, 35(1)
4. 王敏娟. 宿廷敏. 阮时宝. WANG Min-juan. SU Ting-min. RUAN Shi-bao 白术挥发油成分的研究[期刊论文]-长春中医药大学学报2008, 24(4)
5. 叶燕. 程雪梅. 俞桂新. 王峥涛 白术药材HPLC指纹图谱研究[期刊论文]-江苏中医药2009, 41(4)
6. 田兰. 毕开顺. 孙稳健. 赵少春. 武国芳. 吕颖 白术的化学模式识别[期刊论文]-中国中药杂志2003, 28(2)
7. 左坚. 纪从兰. ZUO Jian. JI Cong-lan 白术高效毛细管电泳指纹图谱的建立和产地差异分析[期刊论文]-现代中药研究与实践2008, 22(1)
8. 黄艳萍. 袁萍. HUANG Yan-ping. YUAN Ping 白术不同炒制品HPLC指纹图谱研究[期刊论文]-中国实验方剂学杂志2010, 16(7)

引证文献(3条)

1. 任非. 智丽敏. 付颖. 张兰桐 中药指纹图谱色谱技术及其在质量控制中的应用与研究[期刊论文]-河北医药2010(21)
2. 孙磊. 乔善义. 赵毅民 中药指纹图谱应用研究进展[期刊论文]-国际药学研究杂志 2009(3)
3. 陈建明. 陈彬. 陈建真. 吕圭源 不同产地白术的化学成分研究进展[期刊论文]-中医药学报 2010(5)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808043.aspx