

萆澄茄质量的 GC 指纹图谱分析

于双慧¹, 姚奇¹, 陈晓辉², 毕开顺^{2*} (1.沈阳市化工学校, 沈阳 110122; 2.沈阳药科大学, 沈阳 110016)

摘要: 目的 建立评价萆澄茄质量的 GC 指纹图谱分析方法。方法 采用水蒸气蒸馏法提取挥发油, GC 测定 14 批萆澄茄药材。气相色谱条件: DB-Wax 石英毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 氢火焰离子化检测器(FID), 进样口温度 250 °C, 检测器温度 250 °C, 柱温起始温度为 50 °C, 以 3 °C·min⁻¹ 升温至 75 °C, 以 10 °C·min⁻¹ 升温至 130 °C, 以 5 °C·min⁻¹ 升温至 240 °C, 维持 15 min。载气为氮气, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 进样方式为分流进样, 分流比 10:1, 进样量为 1 μL。结果 依据 14 批药材的指纹图谱数据进行聚类分析, 将样品分为 2 类, 选定其中的 12 批优质样品建立共有模式, 相似度分析结果表明, 第 I 类为优质药材, 第 II 类为一般品。结论 本法专属性强、重复性好, 为科学评价与鉴定萆澄茄药材质量提供了依据。

关键词: 萆澄茄; 挥发油; 指纹图谱; 质量评价

中图分类号: R282.5; R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)08-0721-04

Quality Assessment and Identification by GC Fingerprint for *Litsae Fructus*

YU Shuanghui¹, YAO Qi¹, CHEN Xiaohui², BI Kaishun^{2*} (1.Shenyang Chemical Industry School, Shenyang 110122, China; 2.Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the method of quality assessment and identification of GC fingerprints for *Litsae Fructus*. **METHODS** The essential oil from 14 batches of *Litsae Fructus* was extracted by steam distillation, and determined by GC. The measurement conditions applied were as follows: DB-Wax capillary column (30 m×0.25 mm, 0.25 μm), FID detector, inlet temperature was 250 °C, the detector temperature was 250 °C, and temperature of column was increased linearly from 50 °C to 75 °C at a speed of 3 °C·min⁻¹, from 75 °C to 130 °C at a speed of 10 °C·min⁻¹, from 130 °C to 240 °C at a speed of 5 °C·min⁻¹ (15 min). Carrier gas was nitrogen(1.0 mL·min⁻¹). Split ratio was 10:1. Volume was 1 μL. **RESULTS** The 14 samples were classified by 2 grades according to cluster analysis and the 12 superior in producing area samples were selected to establish the mutual models. The results of similarity analysis showed that the grade I was commendatory and the grade II was general. **CONCLUSION** This method is simple, quick and specific. It is reliable to evaluate the quality of *Litsae Fructus*.

KEY WORDS: *Litsae Fructus*; essential oil; chromatographic fingerprint; quality assessment

萆澄茄, 为樟科植物山鸡椒 *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. 的干燥成熟果实^[1]。具有温中散寒、行气止痛之功效, 用于胃寒呕逆、脘腹冷痛、寒疝腹痛、寒湿郁滞、小便浑浊等病症^[2]。萆澄茄主要成分为挥发油和脂肪油类, 尚含生物碱和苷类^[3]。挥发油成分的研究在文献中已多见^[4-5], 而对其质量控制方法的研究比较少。本试验首次对萆澄茄挥发性成分进行了指纹图谱测定, 为萆澄茄质量控制提供参考。

1 仪器与材料

GC-2010 毛细管气相色谱仪(日本岛津公司), 氢火焰离子检测器(FID), Labsolution 色谱工作站。 α -蒎烯对照品(批号: 070202, 含量>96%), β -蒎烯对照品(批号: 070203, 含量>96%), 月桂烯对照品(批号: 070301, 含量>85%)均来源于上海友思生物技术公司; 柠檬烯对照品(ACROS ORGANICS, 批号: A0226819, 含量>97%); 芳樟醇对照品(中国药品生物制品检定所, 批号:

基金项目: 辽宁省教育科学“十一五”规划项目(JG10EB020)

作者简介: 于双慧, 女, 硕士, 副教授 Tel: (024)29873376
Tel: (024)23986259 E-mail: bikaishun@yahoo.com

E-mail: lyw484@126.com *通信作者: 毕开顺, 男, 博士, 教授, 博导

110759, 含量>98%); 6-甲基-5-庚烯-2-酮对照品(批号: 070102, 含量>98%)、 α 、 β -柠檬醛对照品(批号: 070304, 含量>98%)均购自北京百灵威化学技术有限公司; 正己烷(色谱纯)、无水硫酸钠(天津大茂化学试剂厂)。

本试验收集了不同产地草澄茄药材共 14 批, 见表 1。药材经沈阳药科大学孙启时教授鉴定为 *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. 的干燥成熟果实。样品预处理: 样品粉碎过 60 目筛, 置广口瓶中, 干燥阴凉处密闭保存。

表 1 样品来源

Tab 1 Resources of samples collected

样品编号	产地
1	福建龙岩
2	广东
3	广西 I
4	广西 II
5	广西 III
6	广西 IV
7	浙江 I
8	浙江 II
9	湖南
10	江西
11	四川
12	云南
13	湖北 I
14	湖北 II

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: DB-Wax 石英毛细管色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m); 检测器: FID; 进样口温度: 250 $^{\circ}$ C; 检测器温度: 250 $^{\circ}$ C; 柱温: 起始温度为 50 $^{\circ}$ C, 以 3 $^{\circ}$ C $\cdot$ min $^{-1}$ 升温至 75 $^{\circ}$ C, 以 10 $^{\circ}$ C $\cdot$ min $^{-1}$ 升温至 130 $^{\circ}$ C, 以 5 $^{\circ}$ C $\cdot$ min $^{-1}$ 升温至 240 $^{\circ}$ C, 维持 15 min。载气: 氮气; 流速: 1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$; 进样方式: 分流, 分流比 10:1; 进样量: 1 μ L; α -柠檬醛为内参比峰。

2.2 溶液配制

2.2.1 对照品溶液的配制 分别取 α -蒎烯、 β -蒎烯、月桂烯、柠檬烯、芳樟醇、6-甲基-5-庚烯-2-酮、 α -柠檬醛和 β -柠檬醛对照品适量, 精密称定, 用正己烷溶解并稀释成浓度为 2.078, 1.034, 1.101,

1.675, 1.656, 3.004, 3.956, 3.786 mg $\cdot$ mL $^{-1}$ 的溶液。

2.2.2 样品溶液的配制 取各批药材约 10 g, 精密称定, 按中国药典 2010 年版(一部)附录 XD 甲法提取各样品的挥发油^[2], 加适量无水硫酸钠脱水, 振摇, 静置, 过夜。将脱水后的挥发油置 5 mL 量瓶中, 加正己烷溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。取样品溶液在上述色谱条件下测定, 理论板数按柠檬烯计算 $>1.5 \times 10^5$ 。

2.3 方法学考察

2.3.1 仪器精密度试验 精密吸取草澄茄(编号 4)药材供试品溶液 1 μ L, 分别在“2.1”项下色谱条件重复进样 6 次, 记录色谱指纹图谱。结果表明, 各共有色谱峰与内参比峰(11 号峰)的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 $<5\%$ 。

2.3.2 重复性试验 分别取草澄茄(编号 4)各 6 份, 精密称定, 按“2.2.2”项下制备供试品溶液, 分别在“2.1”项下色谱条件进样分析, 计算各色谱峰与内参比峰(11 号峰)的相对保留时间和相对峰面积, 其 RSD 均 $<5.0\%$ 。

2.3.3 稳定性试验 精密吸取草澄茄(编号 4)供试品溶液 1 μ L, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样分析, 计算各色谱峰与内参比峰(11 号峰)的相对保留时间和相对峰面积, 其 RSD 均 $<5.0\%$, 结果表明, 样品溶液在 24 h 内稳定。

2.4 草澄茄药材指纹图谱的建立

根据 14 批不同产地的草澄茄供试品指纹图谱的检测结果, 共确定了 26 个共有峰, 其中指认了 8 个色谱峰, 结果见图 1 和图 2。将 α -柠檬醛(11 号峰)作为内参比峰, 以其色谱峰对内参比峰的相对保留时间和相对峰面积定性。

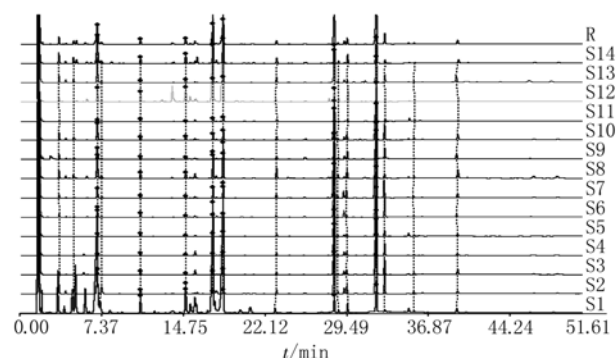


图 1 14 批不同产地草澄茄样品指纹图谱

Fig 1 Fingerprints of 14 different samples of *Litsea Fructus*

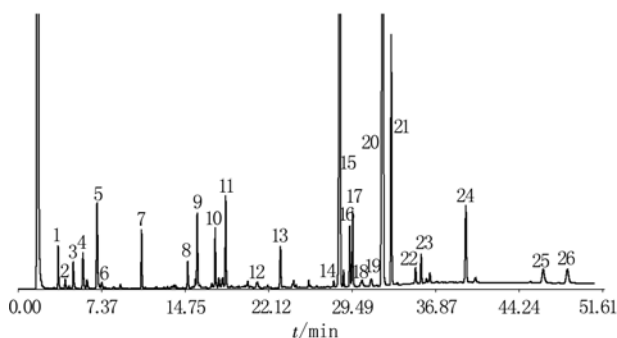


图2 荜澄茄标准指纹图谱

1- α -蒎烯; 3- β -蒎烯; 4-月桂烯; 5-6-甲基-5-庚烯-2-酮; 7-柠檬烯; 8-芳樟醇; 10- β -柠檬醛; 11- α -柠檬醛

Fig 2 Standard fingerprint of Litsae Frctus

1- α -pinene; 3- β -pinene; 4-myrcene; 5-6-methyl-5-hepten-2-one; 7-limonene; 8-linalool; 10- β -citral; 11- α -citral

2.5 药材评价与鉴定方法的建立

2.5.1 聚类分析 本研究应用 SPSS 软件, 采用离差平方和(Ward's)法, 利用夹角余弦作为样品测度, 14 批荜澄茄样品可以分为 2 类, 第 1 类包括样品编号 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13 和 14, 第 2 类包括样品编号 1, 12。聚类谱系图见图 3。

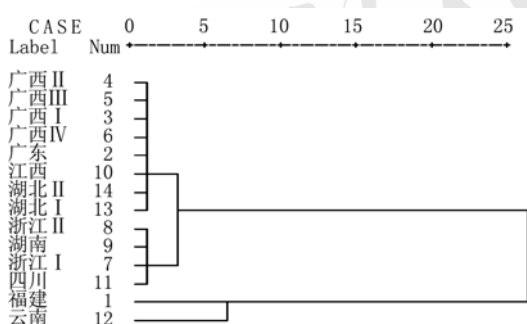


图3 荜澄茄聚类谱系图

Fig 3 Hierarchical cluster analysis finger of Litsae Frctus

2.5.2 相似度评价 结合聚类分析结果, 选取第 1 类 12 批药材建立共有模式, 见图 1。计算各样品与共有模式之间的相似度, 先使用夹角余弦(相似度 1)和相关系数(相似度 2)计算相似度, 从定性的角度判断药材的相似情况; 再以欧式距离(相似度 3)为测度计算样品与共有模式的相似度, 从定量的角度考察药材的质量, 结果见表 2, 若样品与共有模式间的相似度在 0.90 以上, 则为推荐药材, 0.90 以下的为一般品。实验结果表明, 相似度分析结果与系统聚类结果一致, 两种方法得到了相互验证。

表2 相似度分析结果

Tab 2 Results of similarity analysis

样品编号	相似度 1	相似度 2	相似度 3
2	0.98	0.98	0.97
3	0.99	0.98	0.98
4	0.97	0.96	0.97
5	0.98	0.98	0.97
6	0.98	0.97	0.98
7	0.99	0.99	0.97
8	0.93	0.92	0.92
9	0.99	0.98	0.97
10	0.99	1.00	0.97
11	0.98	0.96	0.98
13	0.92	0.91	0.93
14	0.93	0.92	0.94
1	0.86	0.83	0.85
12	0.88	0.76	0.83

3 讨论

为了使荜澄茄中挥发油组分具有良好的分离度和合适的保留时间, 考察了美国 Agilent 公司的 DB-1(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m)、HP-5(30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25 μ m)、DB-17(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m) 和 DB-Wax(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m)4 根不同型号的石英毛细管色谱柱。结果表明 DB-Wax 石英毛细管色谱柱能够对样品实现良好的分离。

将所建立的毛细管气相色谱法用于 7 个产地荜澄茄挥发油样品中的 6-甲基-5-庚烯-2-酮、柠檬烯、芳樟醇、柠檬醛的含量测定^[6], 结果表明, 柠檬醛是荜澄茄中主要活性成分。不同产地的荜澄茄挥发油, 各指标成分的含量有很大差别, 与指纹图谱相结合, 分析结果一致。这些可能是由于产地、生长环境、采收期和储藏方法的不同而引起的质量差异, 为药材的合理采收和储藏提供了依据。

利用 GC-MS 技术对荜澄茄中的挥发油成分进行了分析, 挥发油共分离出 36 个化学成分, 鉴定了其中的 32 个, 15 号峰、20 号峰分别为癸酸、十二碳酸, 21 号为未鉴定成分, 考虑到癸酸、十二碳酸为非药理活性成分, 故未进行指认。

中药材的鉴别很大程度上还依赖于经验。采用指纹图谱鉴别中药材的优劣具有明显优势。本研究建立的荜澄茄 GC 指纹图谱方法, 可用于评价荜澄茄的药材质量, 且快速、简便、重现性和稳定性均很好, 特征性强, 可作为荜澄茄药材鉴别

优劣的依据。

REFERENCES

- [1] SONG L R, HONG X, DING X L. Modern Dictionary of Chinese Pharmacy(现代中药学大辞典) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000: 2397.
- [2] Ch.P (2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 219, Appendix XD.
- [3] WANG H M, FENG J. Analysis of fatty acids from *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. oil [J]. Tianjin Med Univ(天津医科大学学报), 2001, 7(4): 509-510.
- [4] ZHONG Y H, WANG L S, LIU X M. Analysis of Guangxi *Litsea cubeba*(Lour.)Pers. by GC-MS [J]. J Chem Ind Forest Prod(林产化工通讯), 2003, 37(1): 19-21.
- [5] LI B Y, LI Y Z, Chromatographic quantification of citral in essential oil from *Litsea cubeba*(Lour.)Pers. [J]. Chem World (化学世界), 1998(2): 99-100.
- [6] YU S H, CHEN X H, TONG L, et al. Simultaneous determination of the 6-methyl-5-hepten-2-one limonene linalool citral in essential oil from *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. by capillary gas chromatography [J]. Asian J Tradit Med(亚洲传统医药), 2007, 2(2): 66-69.

收稿日期: 2010-11-22