

天然没药与胶质没药 HPLC 特征图谱研究

张文婷¹, 史煜华², 袁颖³, 黄琴伟¹, 周建良¹, 郭增喜¹, 马临科¹(1.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052; 2.浙江中医药大学, 杭州 310052; 3.衢州南孔中药有限公司, 浙江 衢州 324000)

摘要: 目的 建立天然没药与胶质没药高效液相色谱特征图谱鉴别方法。方法 采用 Eclipse Plus C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱, 以乙腈-0.1%磷酸为流动相, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 240 nm, 建立天然没药与胶质没药的特征图谱, 统计分析比较 2 种没药的差别。结果 建立了天然没药特征图谱, 标定 7 个特征峰; 建立了胶质没药特征图谱, 标定 2 个特征峰。2 种没药的成分存在明显差异。结论 所建立的 2 种没药的高效液相色谱特征图谱重复性好, 专属性强, 可用于 2 种没药的鉴别。

关键词: 天然没药; 胶质没药; 特征图谱; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2019)03-0327-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.03.014

引用本文: 张文婷, 史煜华, 袁颖, 等. 天然没药与胶质没药 HPLC 特征图谱研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(3): 327-330.

Study on HPLC Characteristic Chromatograms of Myrrh and Gum opoponax

ZHANG Wenting¹, SHI Yuhua², YUAN Ying³, HUANG Qinwei¹, ZHOU Jianliang¹, GUO Zengxi¹, MA Linke¹(1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China; 2.Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310052, China; 3.Quzhou Nankong Chinese Traditional Drugs Co., Quzhou 324000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish HPLC characteristic chromatograms of Myrrh and Gum opoponax. **METHODS** The characteristic chromatograms of Myrrh and Gum opoponax were established by HPLC method. The separation was performed using Eclipse Plus C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5μm) column by gradient elution with acetonitrile and 0.1% phosphoric acid aqueous solution as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The UV detection wavelength was set at 240 nm. Statistical analysis was applied to evaluate the difference between Myrrh and Gum opoponax. **RESULTS** The HPLC characteristic chromatograms of Myrrh and Gum opoponax were established, in which seven and two characteristic peaks were assigned, respectively. There were significant differences between Myrrh and Gum opoponax. **CONCLUSION** The established HPLC characteristic chromatograms of Myrrh and Gum opoponax showed good reproducibility and specificity, and can be used for the identification of Myrrh and Gum opoponax.

KEYWORDS: Myrrh; Gum opoponax; characteristic chromatogram; HPLC

中国药典 2015 年版一部规定没药为橄榄科植物地丁树 *Commiphora Myrrh* Engl. 或哈地丁树 *Commiphora molmol* Engl. 的干燥树脂, 分为天然没药和胶质没药。没药是一种应用广泛、具有悠久历史的天然药物和香料, 主产于非洲东北部的索马里和埃塞俄比亚的干旱地区、肯尼亚北部、阿拉伯半岛南部, 其他地区如苏丹、马达加斯加、利比亚、印度等也有分布。文献报道^[1-5]天然没药为橄榄科植物地丁树的干燥树脂, 其化学成分主要有呋喃桉叶素二烯、蓬莪术烯、双环大音叶烯、β-杜松烯和 β-橄榄烯等; 胶质没药为橄榄科植物哈地丁树的干燥树脂, 其化学成分主要有 α-反-香柠檬烯、α-檀香烯-α-顺-香柠檬烯、反式-β-金合欢烯、

反-β-柏术烯、α-红没药烯、β-红没药烯、反式-γ-红没药烯、顺式-γ-红没药烯和 β-檀香醛等。

没药为多来源、多产地品种, 原产地非我国境内, 故原药材收集、品种鉴定都存在一定困难, 限制了进一步的深入研究。此外产地的地丁树与哈地丁树均为野生, 因地丁树周围常与其他可分泌树脂的植物共生, 故伪杂现象较为常见^[1]。于是市场销售的药材、饮片存在真伪难辨现象。虽然国家药监局已发布了补充检验方法, 主要用于检查松香掺假, 但是否存在其他掺假并不掌握, 前期调研显示市场上没药时有以松香、树皮、泥沙、其他杂胶等掺假问题, 严重影响了药品的安全 and 质量。而有关没药质量的检测方法研究报道有限,

作者简介: 张文婷, 女, 主任中药师 Tel: (0571)87180337 E-mail: leozhwt@163.com

江先文等^[6]应用理化和紫外鉴别手段鉴别没药中的松香, 宿树兰等^[3]采用 GC-MS 法对没药中挥发性成分进行分析与鉴定, 并采用 HPLC-PDA 法建立了非挥发性成分的特征图谱, 相似度分析结果表明不同批次没药药材相似性较差。为了填补没药质量控制方法的欠缺, 本实验前期曾采用 GC 法对没药的定性方法进行试验, 但由于不同批次间成分差异较大, 不能形成有效的定性方法, 现通过 HPLC 对没药的可测成分进行分析, 分别建立 2 种没药的 HPLC 特征图谱, 为没药的真伪鉴别和质量评价提供参考依据。

1 仪器与材料

仪器: Agilent 1100 系列; 色谱柱: Agilent Eclipse Plus C₁₈(4.6 mm×200 mm, 5 μm); 天然没药对照药材(批号: 967-200202)、胶质没药对照药材(批号: 121250-200602)均来自中国药品生物制品检定研究院; 天然没药和胶质没药由各省市区食品药品检验院/所自各辖区抽得(S1~S38); 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱; 流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B), 梯度洗脱: 0~5 min, 45%A; 5~32 min, 45%→65%A; 32~40 min, 65%→80%A; 40~50 min, 80%→95%A; 柱温 30 ℃; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 240 nm; 进样体积 5 μL。

2.2 参照物溶液制备

取胶质没药和天然没药对照药材各约 1 g, 研细, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入甲醇 10 mL, 超声处理 30 min, 放冷, 离心, 取上清液, 即得。

2.3 供试品溶液制备

取供试没药约 1 g, 研细, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 10 mL, 超声处理 30 min, 放冷, 离心, 取上清液, 即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取同一份胶质没药供试品溶液(南通三越中药饮片有限公司, 批号: 150526)及天然没药供试品溶液(湖北金贵中药饮片有限公司, 批号: A40901), 按“2.1”项下色谱条件测定, 分别重复进样 6 次, 记录色谱图。胶质没药以峰 1 为参照峰计算相对保留时间, 结果峰 1、峰 2 相对

保留时间 RSD 分别为 0.00%、0.03%; 天然没药以峰 4 为参照峰计算相对保留时间, 结果峰 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 相对保留时间 RSD 分别为 0.03%, 0.02%, 0.04%, 0.00%, 0.02%, 0.01%, 0.02%, 说明胶质没药主峰及天然没药主峰精密度良好,

2.4.2 重复性试验 取同一批胶质没药(南通三越中药饮片有限公司, 批号: 150526)及天然没药(湖北金贵中药饮片有限公司, 批号: A40901)样品各 6 份, 分别依照供试品溶液制备法制备, 并按“2.1”项下色谱条件测定, 胶质没药以峰 1 为参照峰计算相对保留时间, 结果峰 1、峰 2 相对保留时间 RSD 分别为 0.00%, 0.03%; 天然没药以峰 4 为参照峰计算相对保留时间, 结果峰 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 相对保留时间 RSD 分别为 0.04%, 0.02%, 0.02%, 0.00%, 0.01%, 0.03%, 0.02%, 说明胶质没药主峰及天然没药主峰重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 取胶质没药(南通三越中药饮片有限公司, 批号: 150526)及天然没药(湖北金贵中药饮片有限公司, 批号: A40901)各一份, 依照供试品溶液制备法制备, 分别在 0, 1, 7, 21, 42, 56 h 进样 1 次, 记录峰面积, 计算各峰面积 RSD。结果胶质没药峰 1, 2 峰面积的 RSD 分别为 2.7%、1.1%; 天然没药峰 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 峰面积 RSD 分别为 0.9%, 0.7%, 0.4%, 0.5%, 1.1%, 1.3%, 0.5%。供试品溶液在 56 h 内均稳定。

2.5 样品测定

对收集到的没药样品按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 并进行测定。

3 分析与讨论

3.1 特征图谱的建立及共有特征峰的标定

对收集到的没药样品进行测定和分析, 并与参照物溶液进行对照, 基本可以分为 3 类: 一是与胶质没药对照药材对应的胶质没药类; 二是与天然没药对照药材对应的天然没药类; 三是基本无特征峰或有特征峰缺失的掺伪没药。根据样品测定结果, 确定胶质没药共有峰 2 个, 天然没药共有峰 7 个。与参照物对照, 1~9 号样品具胶质没药特征峰, 10~31 号样品具天然没药特征峰, 其余样品因特征峰缺失不符合没药特征图谱要求, 见图 1。

3.2 聚类分析

S1~S9 号样品为胶质没药, S10~S31 号样品为天然没药, S32~S38 号样品为掺伪没药。对测定的数据采用 SPASS 18.0 进行聚类分析, 结果见图 2。

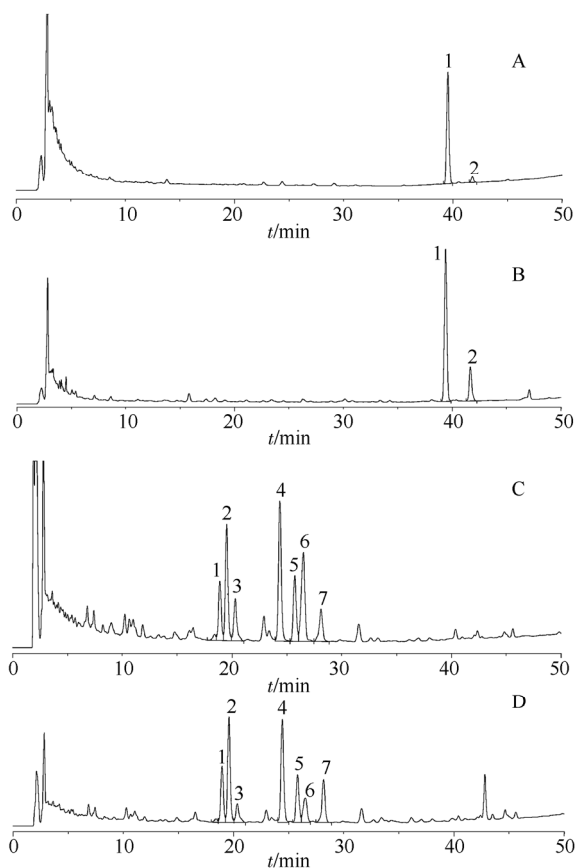


图1 天然没药与胶质没药特征图谱

A-胶质没药对照药材; B-胶质没药; C-天然没药对照药材; D-天然没药。

Fig. 1 Specific chromatogram of Myrrh and Gum opoponax A-control of Gum opoponax; B-Gum opoponax; C- control of Myrrh; D-Myrrh.

由图 2 可知, 胶质没药独自聚为一类, 掺伪没药由于部分峰与天然没药重叠, 与天然没药聚为一类, 但单独聚为一枝, 进一步分析发现, 天然没药由于成分比例的不同又分为不同类别。说明胶质没药与天然没药化学成分存在明显差异, 而天然没药成分比例不同造成的差异是否与产地或加工炮制相关有待进一步研究。

3.3 相似度分析

结合聚类分析结果, 分别选取代表性的胶质没药样品和天然没药样品建立共有模式, 将所收集的没药样品色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2.0 版), 针对色谱图中的图像信息进行数据处理, 以上述标定的特征峰作为计算模式, 对胶质没药和天然没药分别进行相似度分析, 结果见图 3、图 4、表 1。9 批没药与胶质没药对照图谱相似度在 0.95 以上, 可判定为胶质没药; 22 批没药与天然没药对照图谱相似度在 0.80 以上,

可判定为天然没药; 另有 7 批没药既未体现胶质没药特征峰, 也未体现天然没药特征峰(或仅有个别峰有对应), 部分批次还出现对照药材(参照物)所不具有的色谱峰, 推测为掺伪没药。

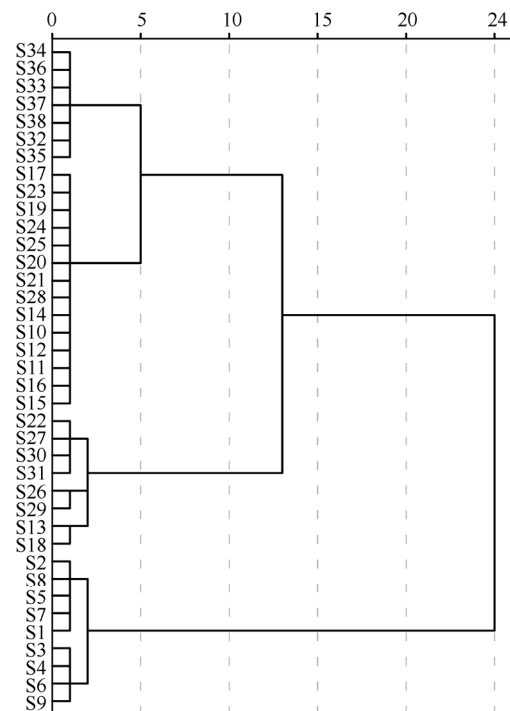


图2 没药样品聚类分析结果树状图

Fig. 2 Cluster analysis dendrogram of Myrrh and Gum opoponax

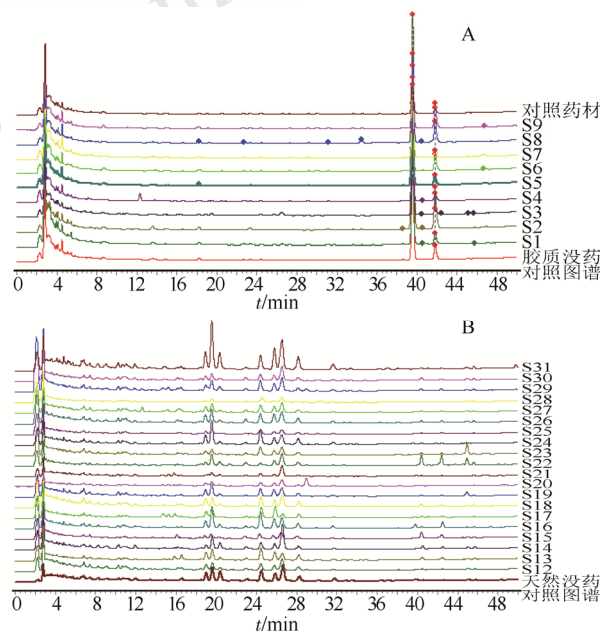


图3 胶质没药及天然没药色谱峰匹配结果

A-胶质没药; B-天然没药。

Fig. 3 Chromatographic peaks matching result of myrrh and Gum opoponax

A-Gum opoponax; B-Myrrh.

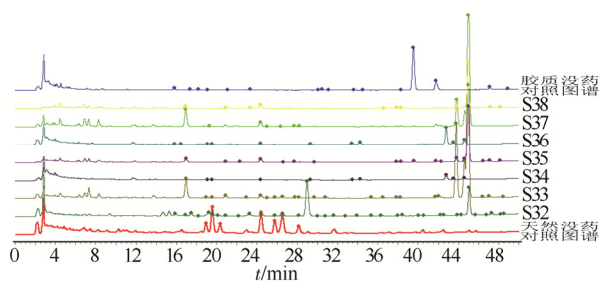


图4 掺伪没药色谱峰匹配结果

Fig. 4 Chromatographic peaks matching result of adulterants

表1 没药相似度评价结果

Tab. 1 Similarity evaluation results of Myrrh and Gum opoponax

样品编号	基源	相似度	样品编号	基源	相似度
S1	胶质没药	0.999	S20	天然没药	0.965
S2	胶质没药	0.997	S21	天然没药	0.942
S3	胶质没药	0.999	S22	天然没药	0.975
S4	胶质没药	1.000	S23	天然没药	0.867
S5	胶质没药	0.999	S24	天然没药	0.948
S6	胶质没药	0.961	S25	天然没药	0.813
S7	胶质没药	0.997	S26	天然没药	0.992
S8	胶质没药	0.996	S27	天然没药	0.969
S9	胶质没药	0.976	S28	天然没药	0.908
S10	天然没药	0.873	S29	天然没药	0.988
S11	天然没药	0.960	S30	天然没药	0.940
S12	天然没药	0.979	S31	天然没药	0.965
S13	天然没药	0.978	S32	掺伪没药	—
S14	天然没药	0.839	S33	掺伪没药	—
S15	天然没药	0.902	S34	掺伪没药	—
S16	天然没药	0.948	S35	掺伪没药	—
S17	天然没药	0.937	S36	掺伪没药	—
S18	天然没药	0.895	S37	掺伪没药	—
S19	天然没药	0.925	S38	掺伪没药	—

4 小结

天然没药与胶质没药均为中国药典收载品种,中国药典2015年版一部通过显色反应进行鉴别,但只要含有少量没药即显阳性反应,尤其是经过炮制后,外观性状和现有检测手段难以识别非法添加的杂质(包括杂胶)。通过特征图谱检查可以识别天然没药或胶质没药,同时也能通过色谱峰的匹配,判断是否为掺伪没药。该方法简便、重复性好,可为没药的质量评价提供依据。

REFERENCES

- [1] 贾宗才. 赴索马里考察没药简报[J]. 中药通报, 1987, 12(11): 56-57.
- [2] SHEN T, LOU H X. Chemical constituents from resin of commiphora species and their biological activities [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2008, 20: 360-366.
- [3] SU S L, JIANG H F, YAN H. Quality analysis and evaluation of marh [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2012, 43(2): 364-371.
- [4] HAN L, SUN J Y, ZHOU L. Advances on chemistry and pharmacological research of Myrrh [J]. Asia-Pacific Tradit Med(亚太传统医药), 2015, 11(3): 38-42.
- [5] YU X L, SUN L, XU J M. Plant origin research of Myrrh, Gum opoponax and Guggul [J]. Chin Pharmaceut Affair(中国药事), 2016, 30(5): 466-471.
- [6] 江先文, 陶永江, 祝炳文. 伪品没药的鉴别[J]. 中药材, 1990, 13(2): 22.

收稿日期: 2018-04-22

(本文责编: 李艳芳)