

达立通颗粒挥发油 GC 指纹图谱及 GC-MS 成分分析

赵晗宇, 彭红*, 刘朝青 (江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

摘要: 目的 建立达立通颗粒挥发油 GC 指纹图谱, 并对挥发油成分进行分析。方法 以 Agilent HP-5(30 m×0.32 mm, 0.25 μm) 石英毛细管柱进行分离, 程序升温, 氢火焰离子化检测器检测。建立 10 批样品图谱共有模式, 结合化学计量学方法分析。运用 GC-MS 与 NIST11.L 标准谱库检索, 鉴定挥发油成分, 并推测各成分来源。结果 从 10 批样品共有图谱中选取 13 个共有峰, 各成分相似度均>0.998, 样品可分为 3 类。通过 GC-MS 共鉴定出 56 种成分, 包含 11 个共有峰。结论 建立的达立通颗粒挥发油 GC 指纹图谱仪器精密度、重复性与稳定性良好, 可为达立通颗粒挥发油质量控制提供参考依据。

关键词: 达立通颗粒; 挥发油; 指纹图谱; GC-MS

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2024)06-0797-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20221679

引用本文: 赵晗宇, 彭红, 刘朝青. 达立通颗粒挥发油 GC 指纹图谱及 GC-MS 成分分析[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(6): 797-804.

GC Fingerprint and GC-MS Composition Analysis of Volatile Oil in Dalitong Granules

ZHAO Hanyu, PENG Hong*, LIU Chaoqing (College of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the GC fingerprint of the volatile oil of Dalitong granules, and analyze the volatile oil components. **METHODS** The separation was performed on an Agilent HP-5(30 m×0.32 mm, 0.25 μm) quartz capillary column with programmed temperature and hydrogen flame ionization detector. A common pattern of 10 batches of samples was established and analyzed by a combination of chemometric methods. The volatile oil components were identified using GC-MS with NIST11.L standard library, and the origin of each component was inferred. **RESULTS** Thirteen common peaks were selected from the common chromatograms of 10 batches of samples, and the similarity of each component was >0.998, and the samples could be classified into three categories. A total of 56 components were identified by GC-MS, including 11 common peaks. **CONCLUSION** The GC fingerprint of Dalitong granules volatile oil was established with good instrument precision, reproducibility and stability, which can provide a reference basis for the quality control of Dalitong granules volatile oil.

KEYWORDS: Dalitong granules; volatile oil; fingerprint; GC-MS

中药挥发油分布广泛, 药理作用显著, 为中药研究中不可或缺的一部分。由于挥发油易挥发、成分复杂、含量差异大, 质量受多种因素影响, 致使难以控制中药挥发油及含挥发油制剂质量^[1-2]。达立通颗粒收载于中国药典 2020 年版一部, 该药清热解郁、和胃降逆、通利消滞^[3], 常用于治疗功能性消化不良、功能性胃十二指肠病、反流性胃病等^[4-6]。该药由十二味中药组成, 其中柴胡、枳实、木香、陈皮中挥发油为主要活性成分, 经现代药理研究可知, 柴胡挥发油可解热、镇痛^[7]; 枳实、木香挥发油均具有抑菌、抗溃疡活性^[8-11]; 陈皮挥发油则能有效增强胃肠道消化能力^[12]。

达立通颗粒制备工艺提取了柴胡、枳实、木香、陈皮 4 味药材挥发油, 但质量标准中未对挥发油进行定性定量分析, 建立该药物挥发油指纹图谱对其质量控制有重要意义。本实验以 GC 建立达立通颗粒挥发油指纹图谱, 评价 10 批达立通颗粒挥发油图谱相似度, 结合化学计量学方法, 并采用 GC-MS 对挥发油成分进行鉴定分析, 推测各成分来源, 可为达立通颗粒挥发油质量控制及制剂整体质量控制提供更全面参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

7890B 气相色谱仪、7890A-5975C 气相质谱仪、Agilent HP-5 毛细管柱 (30 m×0.32 mm,

作者简介: 赵晗宇, 女, 硕士生 E-mail: 609272552@qq.com
@qq.com

*通信作者: 彭红, 女, 硕士, 教授, 硕导 E-mail: 516531260

0.25 μm)(美国 Agilent 公司); SSKW 数显恒温电热套(北京永光明医疗仪器有限公司); 0.5~10 μL 移液枪(上海 BIO-DL 公司); BS214D 型万分之一电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); MS105DL 型十万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)等。

1.2 试剂

达立通颗粒(南昌弘益药业有限公司, 批号: 211139, 211140, 211128, 211243, 211246, 211249, 211250, 211251, 211252, 211253; 规格: 每袋 6 g; 编号: S1~S10); 正己烷(色谱纯, 上海麦克林生物科技有限公司)。

原药材: 北柴胡(芍花堂国药股份有限公司, 批号: 2210219)、木香(丽江华利生物开发药业有限公司, 批号: 210101)、枳实(产地: 江西新干; 批号: Q201035)、陈皮(亳州金芍堂中药饮片有限公司, 批号: 210107), 均由南昌弘益药业有限公司提供, 经江西中医药大学曹岚副教授鉴定分别为伞形科植物柴胡 *Bupleium chinense* DC. 的干燥根, 菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根, 芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 的干燥幼果, 芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 的干燥成熟果皮。

对照品: γ -萜品烯(批号: A29J11L119842; 含量 $\geq 95\%$)、芳樟醇(批号: Y01D7Y17500; 含量 $\geq 98\%$)、 β -榄香烯(批号: J14GB154783; 含量 $\geq 98\%$)均购自上海源叶生物科技有限公司; 对伞花烃(上海道垚测试技术有限公司, 批号: 12721; 含量: 99.2%); D-柠檬烯(美国 LGC 公司, 批号: G1037085; 含量: 98.55%)。

1.3 溶液制备

1.3.1 供试品溶液 称取适量达立通颗粒研细, 精密称取细粉 100 g, 置 2 000 mL 烧瓶中, 加入 8 倍量超纯水, 按中国药典 2020 年版四部挥发油测定法(甲法), 提取 7 h, 收集的挥发油, 采用无水硫酸钠脱水, 放置 12 h, 脱水后挥发油密封转移至 4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存。

精密量取挥发油 10 μL , 置 2 mL 量瓶中, 加正己烷稀释至刻度, 摇匀, 即得。同法制备 10 批供试品溶液 S1~S10。

1.3.2 对照品溶液 分别精密量取各对照品对伞花烃 0.75 mg、D-柠檬烯 1.64 mg、 γ -萜品烯 1.05 mg、芳樟醇 0.70 mg、 β -榄香烯 0.20 mg, 置于 2 mL 量

瓶中, 加正己烷稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液。

1.3.3 各药材挥发油溶液 取木香、枳实、陈皮、北柴胡药材, 用高速粉碎机粉碎, 过 2 号筛后分别称取 160 g, 置 3 000 mL 烧瓶中, 按“1.3.1”项下提取方法提取挥发油, 因北柴胡药材挥发油提取量较少, 难以收集, 在其挥发油提取器中加入 2 mL 正己烷, 相同处理方法脱水保存, 配制各药材挥发油溶液。北柴胡挥发油溶液配制则取脱水后正己烷层, 置 5 mL 量瓶中, 加正己烷稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2 方法与结果

2.1 气相色谱条件

色谱柱: Agilent HP-5 毛细管柱(30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25 μm); 载气: 氮气; 流速: 1.0 mL $\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量: 1 μL ; 前进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 检测器: 氢火焰离子化检测器; 程序升温(起始温度 40 $^{\circ}\text{C}$; 以 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升至 90 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min; 以 2 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升至 140 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min; 再以 5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 速率升至 180 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min; 最后以 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$)。检测器温度: 280 $^{\circ}\text{C}$; 分流比: 20 : 1。

2.2 质谱条件

色谱柱: Agilent HP-5 MS 毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm); 载气: 氦气; 采用 EI 离子源, 电子能量: 70 eV; 参数采集模式: 全扫描; 溶剂延迟: 4 min; 流速: 1.0 mL $\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量: 1 μL ; 程序升温条件与“2.1”项下条件一致, 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$, 四极杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$; 扫描范围: m/z 30~650。

2.3 方法学考察

2.3.1 仪器精密度考察 取达立通颗粒(编号: S1)配制供试品溶液, 按“2.1”项下条件连续进样 6 次, 以 7(S) 号 γ -萜品烯峰为参照峰, 分别计算各共有峰相对保留时间与相对峰面积。计算结果可知, 各共有峰相对保留时间 $\text{RSD} \leq 0.05\%$, 相对峰面积 $\text{RSD} \leq 1.18\%$ 。表示此仪器精密度良好。

2.3.2 重复性考察 取同一批次达立通颗粒(编号: S1), 平行配制 6 份供试品溶液。按“2.1”项下条件, 以 7(S) 号 γ -萜品烯峰为参照峰, 将 6 份供试品进样, 分别计算各份供试品溶液共有峰相对保留时间与相对峰面积。计算结果可知, 各共有峰相对保留时间 $\text{RSD} \leq 0.17\%$, 相对峰面积

RSD≤0.40%。表示此方法重复性良好。

2.3.3 稳定性考察 取达立通颗粒(编号: S1) 配制供试品溶液, 按“2.1”项下条件分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 以 7(S) 号 γ -萜品烯峰为参照峰, 分别计算各次共有峰的相对保留时间和相对峰面积。计算结果可知, 各共有峰相对保留时间 RSD≤0.22%, 相对峰面积 RSD≤0.94%。表示此供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4 达立通颗粒挥发油 GC 指纹图谱建立

将 S1~S10 达立通颗粒挥发油气相色谱图数据以 AIA 格式按相应顺序导入至“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”中, 处理可得 10 批达立通挥发油 GC 图谱叠加。设置参照图谱 S1, 时间窗宽度 0.1 min, 选择中位数法, 进行多点校正, 设置 Mark 峰匹配, 匹配结果确定了 13 个共有峰, 生成对照图谱, 可得 10 批达立通颗粒批挥发油 GC 图谱及对照指纹图谱叠加图, 单独显示对照图谱, 得挥发油 GC 对照指纹图谱, 结果见图 1~2。通过达立通颗粒挥发油图谱与混合对照品图谱对比, 鉴定出了 5 种成分, 4 号峰为对伞花烃, 5 号峰为 D-柠檬烯, 7 号峰为 γ -萜品烯, 10 号峰为芳樟醇, 11 号峰为 β -榄香烯。其中 7 号峰位较高, 且峰形良好, 可作为参照峰(S), 见图 3。

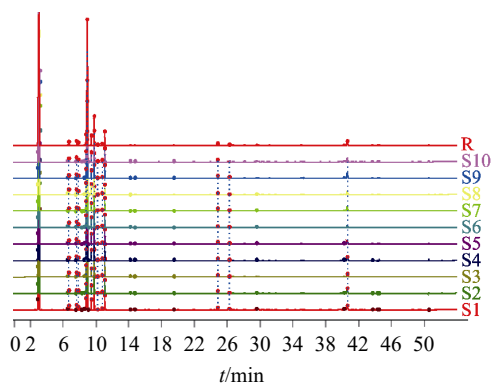


图 1 达立通颗粒 10 批挥发油 (S1~S10)GC 图谱及对照指纹图谱 (R) 叠加图

Fig. 1 GC chromatograms of 10 batches of volatile oil (S1~S10) and control fingerprint(R) overlay of Dalitong granules

2.5 相似度评价

对照指纹图谱建立后, 以其为参照, 选择进行相似度评价。S1~S10 各批次达立通颗粒挥发油指纹图谱与对照指纹图谱相似度在 0.998~0.999, 符合相似度计算要求。各共有峰分离度均>1.5, 分

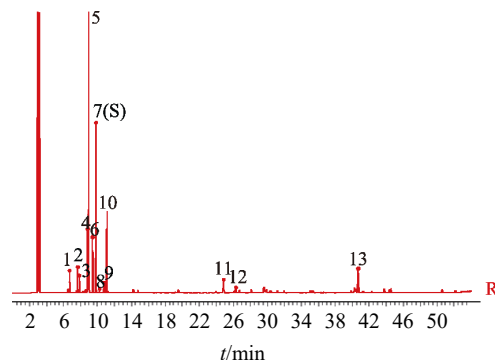


图 2 达立通颗粒挥发油 GC 对照指纹图谱 (R)

Fig. 2 GC control fingerprint of volatile oil of Dalitong granules(R)

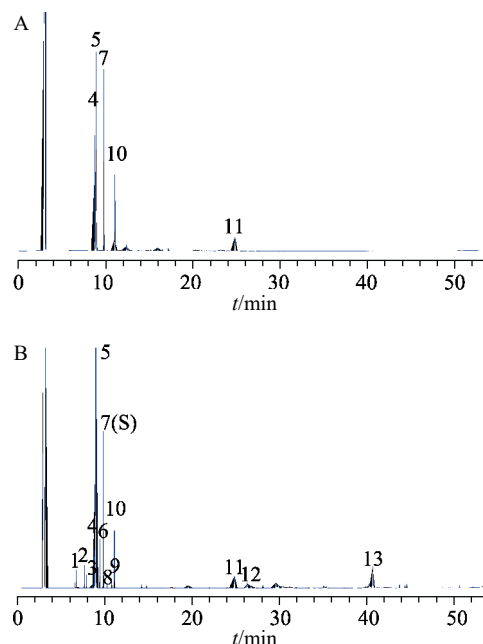


图 3 混合对照品 (A) 与达立通颗粒挥发油 (B)GC 图谱
4-对伞花烃; 5-D-柠檬烯; 7- γ -萜品烯; 10-芳樟醇; 11- β -榄香烯。

Fig. 3 GC chromatograms of mixed control(A) and volatile oil of Dalitong granules(B)
4-4-isopropyltoluene; 5-D-limonene; 7- γ -terpinene; 10-linalool; 11- β -elemene.

离度良好。

2.6 共有峰归属

将正己烷溶剂和“1.3.3”项下各原药材溶液分别按照“2.1”项下气相色谱条件进样, 记录图谱结果见图 4。空白溶剂与对照品图谱、供试品溶液图谱相比, 未在对照品位置、各成分峰位置出现干扰峰, 可知空白试剂无干扰。

将北柴胡、陈皮、木香、枳实挥发油与供试品溶液图谱相对保留时间对比共有峰进行归属: 1~7, 9~13 号峰, 来自北柴胡; 1~5, 7, 9~11 号峰, 来自陈皮; 1~11, 13 号峰, 来自枳实; 1~7,

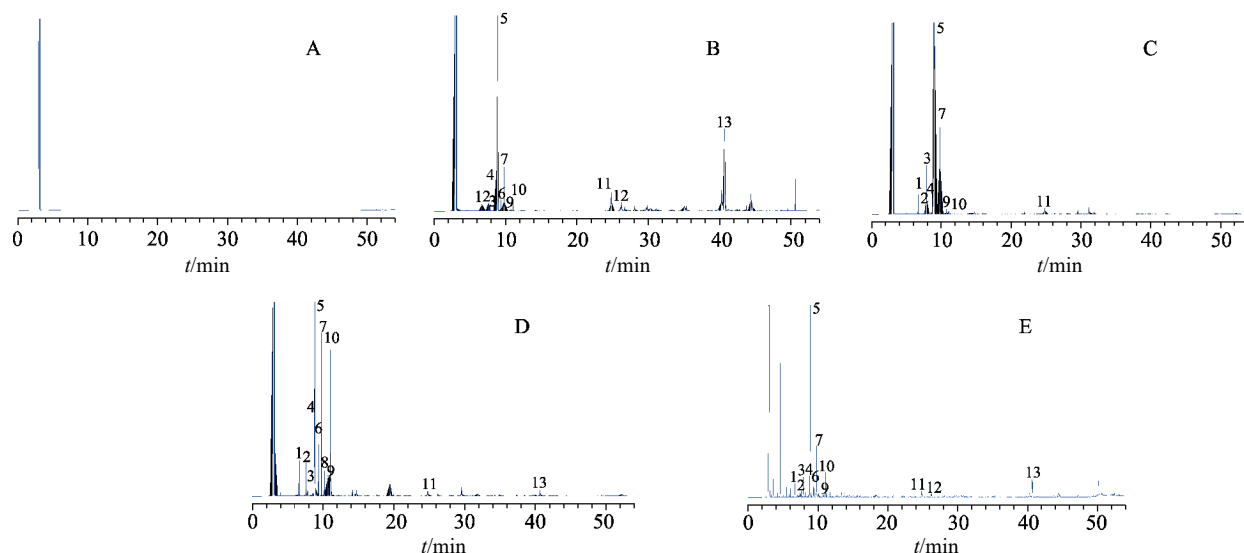


图 4 气相色谱图
A-空白溶剂(正己烷); B-木香; C-陈皮; D-枳实; E-北柴胡。

Fig. 4 GC chromatograms

A-blank solvent (*n*-hexane); B-Aucklandia Lappa; C-Pericarpium Citri Reticulatae; D-Aurantii Fructus Immaturus; E-Bupleurum chinese.

9~13 号峰, 来自木香。结果见表 1。

2.7 聚类分析

利用选定的 13 个共有峰峰面积, 对 10 批达立通颗粒进行聚类分析 (hierarchical clustering analysis, HCA)。将数据输入至 IBM SPSS Statistics 21 中, 数据标准化处理, 以 ward 法, 平方 Euclidean 距离进行计算, 建立聚类分析树状图, 见图 5。可得, 10 批达立通颗粒共分为 3 类, S1、S10、S5、S4 为一类, S6、S8、S3 为

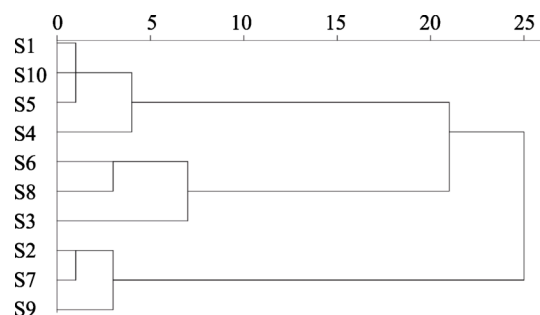


图 5 不同批次达立通颗粒 HCA 图

Fig. 5 HCA of different batches of Dalitong pellets

一类, S2、S7、S9 为一类。

2.8 主成分分析 (principal component analysis, PCA)

运用 SIMCA 14.1 软件, 以选定的 13 个共有峰峰面积为变量, 为 10 批达立通颗粒挥发油进行 PCA。该模型建立提取得到 3 个主成分, 其特征值均>1, 见表 2。模型参数中 $R^2X=0.936$ 、 $Q^2=0.616$, 表明 3 个主成分可显示样品中 93.6% 的信息, 符合模型预测标准, 该模型稳定可靠。10 批

表 1 达立通颗粒挥发油 GC 指纹图谱共有峰归属

Tab. 1 Common peak attribution of volatile oil GC fingerprint of Dalitong granules

峰号	相对保留时间				
	共有峰	柴胡	枳实	木香	陈皮
1	0.684	0.684	0.684	0.684	0.684
2	0.780	0.781	0.780	0.780	0.780
3	0.802	0.804	0.802	0.803	0.802
4(对伞花烃)	0.898	0.898	0.898	0.898	0.899
5(D-柠檬烯)	0.913	0.911	0.911	0.913	0.915
6	0.960	0.960	0.960	0.960	—
7(γ -蒎品烯)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
8	1.043	—	1.043	—	—
9	1.098	1.099	1.096	1.099	1.098
10(芳樟醇)	1.131	1.130	1.132	1.131	1.130
11(β -榄香烯)	2.535	2.537	2.535	2.537	2.536
12	2.682	2.684	—	2.684	—
13	4.155	4.156	4.155	4.156	—

表 2 达立通颗粒挥发油 PCA 特征值及贡献率

Tab. 2 PCA characteristic values and contribution of volatile oil of Dalitong granules

成分	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	4.81	48.10	48.10
2	3.10	31.00	79.10
3	1.45	14.50	93.60

达立通颗粒可分为 3 类，与聚类分析结果一致，见图 6。

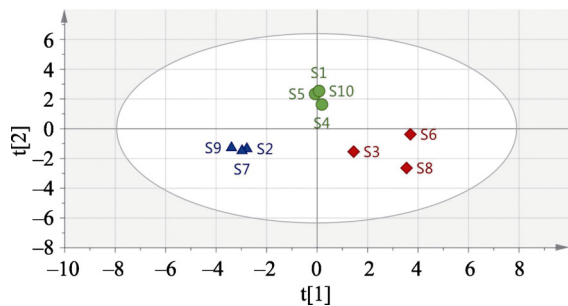


图 6 不同批次达立通颗粒 PCA 得分图
Fig. 6 PCA scores of different batches of Dalitong pellets

2.9 正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discrimination analysis, OPLS-DA)

HCA 与 PCA 均将样品分为 3 类，则进一步探究对组间差异影响能力大的成分。在 PCA 数据基础上建立 OPLS-DA 模型，进行统计及变量重要性 (variable importance in the projection, VIP) 投影分析。该模型 $R^2X=0.856$, $R^2Y=0.862$, $Q^2=0.768$, 置换检验中 $R^2=(0.0, 0.165)$, $Q^2=(0.0, -0.662)$, 表示符合模型预测标准，未过度拟合，该模型稳定可靠。VIP 值越高，则相应成分对组间质量差异影响越大^[13]。5 号峰、7 号峰、13 号峰 VIP 值 > 1，这些成分可能造成了 10 批达立通颗粒挥发油质量差异，结果见图 7。

2.10 挥发油 GC-MS 成分分析

根据以上质谱条件，将制备供试品溶液与各单味药材挥发油溶液直接进样，进样结果经

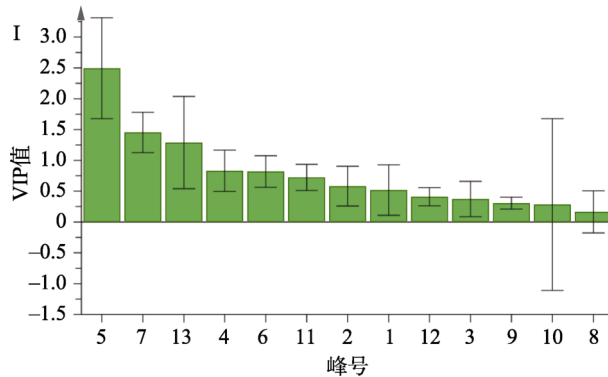
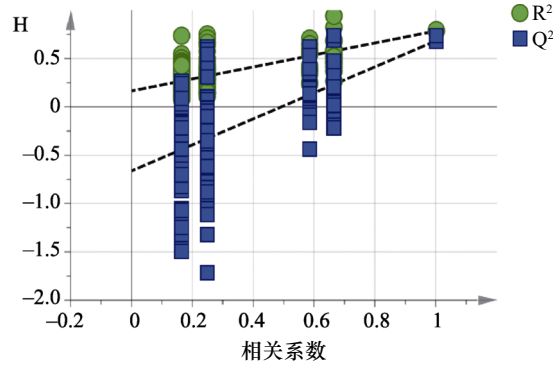


图 7 不同批次达立通颗粒 OPLS-DA 分析图
H-置换检验图；I-VIP 值图。
Fig. 7 OPLS-DA analysis of different batches of Dalitong granules
H-Displacement test graph; I-VIP value graph.

NIST11.L 标准谱库检索，选取匹配度 ≥ 90 的匹配数据，若同一物质存在多个匹配度较高成分选项，则选取最高匹配度成分，结合查阅相关文献资料确定化合物名称。对分离出的成分进行分析，运用面积归一化法检测各成分相对含量，达立通颗粒挥发油成分分析结果见表 3。

经 GC-MS 总离子流图与共有模式指纹图谱对

表 3 达立通颗粒挥发油 GC-MS 成分分析结果

Tab. 3 Results of GC-MS composition analysis of volatile oil of Dalitong granules

序号	保留时间/ min	化合物名称	分子式	相对 含量/%	推测成分来源
1	4.384	α -侧柏烯	$C_{10}H_{16}$	0.34	北柴胡、木香、枳实
2	4.489	(+)- α -蒎烯	$C_{10}H_{16}$	1.15	北柴胡、木香、枳实、陈皮
3	4.711	蒎烯	$C_{10}H_{16}$	0.02	北柴胡、陈皮、木香、枳实
4	5.071	β -水芹烯	$C_{10}H_{16}$	0.15	陈皮、木香
5	5.128	(-)- β -蒎烯	$C_{10}H_{16}$	1.61	北柴胡、木香、枳实、陈皮
6	5.324	β -月桂烯	$C_{10}H_{16}$	1.11	北柴胡、陈皮、木香、枳实
7	5.569	α -水芹烯	$C_{10}H_{16}$	0.09	北柴胡、木香、枳实
8	5.673	3-蒎烯	$C_{10}H_{16}$	0.04	陈皮
9	5.789	α -蒎品烯	$C_{10}H_{16}$	0.40	北柴胡、木香、枳实
10	5.955	对伞花烃	$C_{10}H_{14}$	8.92	北柴胡、木香、枳实、陈皮
11	6.091	D-柠檬烯	$C_{10}H_{16}$	35.79	北柴胡、木香、枳实、陈皮

续表 3

序号	保留时间/ min	化合物名称	分子式	相对 含量/%	推测成分来源
12	6.176	反式-β-罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	0.17	北柴胡、陈皮、木香、枳实
13	6.405	β-罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	4.52	北柴胡、木香、枳实
14	6.681	γ-蒎品烯	C ₁₀ H ₁₆	12.40	北柴胡、陈皮、木香、枳实
15	6.970	2-(5-甲基-5-乙炔基四氢呋喃-2-基)丙-2-基碳酸乙酯	C ₁₃ H ₂₂ O ₄	0.62	枳实
16	7.368	蒎品油烯	C ₁₀ H ₁₆	1.43	北柴胡、木香、陈皮、枳实
17	7.695	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	8.99	北柴胡、陈皮、木香、枳实
18	8.817	对薄荷-1,3,8-三烯	C ₁₀ H ₁₄	0.70	陈皮、枳实
19	10.070	4-蒎烯醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.05	北柴胡、木香、枳实
20	10.345	三甲基苯甲醇	C ₁₀ H ₁₄ O	0.12	北柴胡、陈皮、木香
21	10.545	α-蒎品醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.66	北柴胡、枳实、木香、陈皮
22	11.103	正癸醛	C ₁₀ H ₂₀ O	0.05	北柴胡、陈皮
23	11.608	(-)-顺式香芹醇	C ₁₀ H ₁₆ O	0.13	陈皮、北柴胡
24	11.995	橙花醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.05	陈皮
25	12.614	(-)-香芹酮	C ₁₀ H ₁₄ O	0.05	陈皮、枳实
26	13.099	香叶醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.14	枳实
27	14.815	百里酚	C ₁₀ H ₁₄ O	0.89	北柴胡、陈皮、枳实
28	14.539	3-甲基-4-异丙基苯酚	C ₁₀ H ₁₄ O	0.08	陈皮、枳实
29	15.237	香芹酚	C ₁₀ H ₁₄ O	0.13	陈皮
30	16.849	δ-榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	0.18	陈皮、木香、枳实
31	18.685	α-古巴烯	C ₁₅ H ₂₄	0.24	陈皮、枳实
32	19.577	β-榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	2.79	北柴胡、木香、枳实、陈皮
33	20.843	β-石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	1.23	北柴胡、木香
34	21.423	α-紫罗兰酮	C ₁₃ H ₂₀ O	0.47	北柴胡、木香
35	21.695	1-乙炔基-1-甲基-2-(1-甲基乙炔基)-4-(1-甲基亚乙基)-环己烷	C ₁₅ H ₂₄	0.06	—
36	21.841	2,6-二甲基-6-(4-甲基-3-戊烯基)双环[3.1.1]庚-2-烯	C ₁₅ H ₂₄	0.12	北柴胡、木香
37	22.594	律草烯	C ₁₅ H ₂₄	0.32	北柴胡、枳实、木香
38	22.833	香叶基丙酮	C ₁₃ H ₂₂ O	0.25	木香
39	23.841	2-异丙烯基-4a, 8-二甲基-1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢萘	C ₁₅ H ₂₄	0.13	北柴胡、木香
40	24.091	大根香叶烯D	C ₁₅ H ₂₄	1.11	枳实
41	24.195	β-姜黄烯	C ₁₅ H ₂₄	0.15	木香
42	24.333	蛇床烯	C ₁₅ H ₂₄	0.65	木香
43	24.51	β-紫罗兰酮	C ₁₃ H ₂₀ O	0.22	木香
44	24.821	α-芹子烯	C ₁₅ H ₂₄	0.52	木香
45	25.055	十五烯	C ₁₅ H ₃₀	0.05	北柴胡、木香
46	25.896	α-金合欢烯	C ₁₅ H ₂₄	0.41	北柴胡、枳实
47	26.474	(+)-δ-杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	0.41	北柴胡、木香、枳实
48	27.84	榄香醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0.19	木香
49	29.184	桉油烯醇	C ₁₅ H ₂₄ O	0.24	枳实
50	29.411	石竹素	C ₁₅ H ₂₄ O	0.52	木香
51	33.018	β-桉叶醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0.21	枳实
52	37.687	6-异丙烯基-4, 8a-二甲基-1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 8a-八氢萘-2-醇	C ₁₅ H ₂₄ O	0.21	—
53	46.373	棕榈酸甲酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.07	北柴胡、枳实
54	47.581	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.06	北柴胡
55	50.399	亚油酸甲酯	C ₁₉ H ₃₃ O ₂	0.05	北柴胡、枳实
56	50.505	亚麻酸甲酯	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	0.05	枳实

比,可对共有峰推测:1号峰为(+)- α -蒎烯,2号峰为(-)- β -蒎烯,3号峰为 β -月桂烯,4号峰为对伞花烃,5号峰为D-柠檬烯,6号峰为 β -罗勒烯,7号峰为 γ -蒎品烯,9号峰为蒎品油烯,10号为芳樟醇,11号峰为 β -榄香烯,12号峰为 β -石竹烯。

3 讨论

3.1 提取条件及色谱条件考察

本实验采用中国药典2020年版中挥发油提取法提取供试品挥发油,考察提取时间(5,7,9 h)、料液比(6:1,8:1,10:1),经实验筛选,取100 g达立通颗粒时,加8倍水,提取7 h为最佳提取条件。为得到色谱峰较多且分离度更好的指纹图谱,通过改变气相色谱条件进行比较,分流比(10:1,20:1,30:1)、进样口温度(250,260,270 $^{\circ}\text{C}$)、程序升温条件、溶剂选择(无水乙醇、石油醚、乙酸乙酯、正己烷),最终选出出色谱峰最多,分离度最好的条件。

3.2 相似度分析

基于中药挥发油特点,本实验建立了达立通颗粒挥发油GC指纹图谱,在其生产的10批达立通颗粒中,相似度均 ≥ 0.998 ,说明各批次达立通颗粒挥发油质量较稳定,化学成分整体性特征差异小。挥发油虽性质不稳定,易受热影响等,只要严格把控原药材生产加工、挥发油提取、制剂工艺等环节,确保各原药材品种来源一致,工艺中间产物及动态过程可控,制剂质量可溯源,产品质量可做到均一稳定。HCA、PCA结果均将10批达立通颗粒分为3类,OPLS-DA法中根据VIP值得出,5号峰为(-)- β -蒎烯,7号峰为D-柠檬烯,13号峰可能为导致达立通颗粒挥发油质量差异成分。

3.3 GC-MS 成分分析结果

经过NIST11.L标准谱库匹配结合查找文献,从挥发油中分析出56种成分,占图谱中总峰面积的91.79%。其中相对百分含量较高的5种成分(D-柠檬烯、芳樟醇、 γ -蒎品烯、对伞花烃、 β -罗勒烯)在木香、枳实、陈皮、北柴胡各药材挥发油溶液GC-MS分析中均有出现,为其共有成分,在各原药材中含量也相对较高。对达立通颗粒挥发油指纹图谱中13个共有峰成分进行了初步确认,推测出11个共有峰成分,共有挥发性成分以单蒎类、倍半蒎类物质居多,其中D-柠檬烯

(35.79%)相对百分含量最高,为达立通颗粒挥发油主要成分。有文献报道,D-柠檬烯具有抑菌、免疫调节多种作用^[14];可通过诱导细胞凋亡及抑制细胞周期产生抗肿瘤活性^[15],并在治疗胃肠道疾病中发挥抗炎镇痛及胃保护功效^[16-17]。

本实验所建立的达立通颗粒挥发油GC指纹图谱,方法简便,结果可靠,结合化学计量学法互为补充,为挥发油在达立通颗粒中质量控制提供理论依据。并对化学成分进行分析与归属,推测出56种成分,为进一步探究达立通颗粒挥发药效成分及来源提供参考。

REFERENCES

- [1] LI C, LIU H N, CHEN L H, et al. Analysis of the difference in the composition of volatile oils of traditional Chinese medicine caused by processing technology[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2021, 30(6): 520-527.
- [2] MENG M, LI H L, LI F L. Some thoughts on the problems of the volatile oil of traditional Chinese medicine in the study of the modernization of traditional Chinese medicine[J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2020, 32(10): 18-22.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2020: 883-885.
- [4] GUO S, ZHANG J M, ZHENG G A, et al. Study on the mechanism of dalitong granule in the treatment of functional dyspepsia[J]. Chin J Drug Eval(中国药物评价), 2018, 35(3): 183-189.
- [5] HONG L L. Effect of Dalitong granules on gastric motility and gastrointestinal hormones in patients with bile reflux gastritis after cholecystectomy[J]. Med. J. Chin. People's Armed Police Forces(武警医学), 2021, 32(7): 612-615.
- [6] WU H J. Clinical effect and safety analysis of Dalitong granules in the treatment of functional gastroduodenal diseases[J]. Med Forum(基层医学论坛), 2020, 24(22): 3120-3122.
- [7] ZHOU W Y, LI X X, MO H M, et al. Pharmacodynamic study on two different content of volatile oil in Bupleurum[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2012, 28(1): 104-106.
- [8] QU Z Y, FENG X M, ZHOU X, et al. Research progress in Aurantii Fructus Immaturus[J]. Food and Drug(食品与药品), 2017, 19(6): 455-459.
- [9] TANG F, LIU M C, AO H. Comparative study on chemical composition and antibacterial activity of essential oil from Aucklandiae Radix and Vladimiriae Radix[J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2020, 38(6): 165-168,273.
- [10] BONAMIN F, MORAES T M, DOS SANTOS R C, et al. The effect of a minor constituent of essential oil from *Citrus aurantium*: The role of β -myrcene in preventing peptic ulcer disease[J]. Chem Biol Interact, 2014(212): 11-19.

- [11] XU Z Z, FAN X L, WANG S M. Chemical components and advances in research progress of extracting volatile oil from *Aucklandia lappa* Decne[J]. Guangdong Chem Ind(广东化工), 2017, 44(3): 77-78.
- [12] ZHOU F Q, GU N. Extraction technology of volatile oils from *Citri Reticulatae Pericarpium* and *Aurantii Fructus* and β -cyclodextrin inclusion process for Sangji Granules[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2017, 37(24): 2439-2442.
- [13] LI L J, XIE T F, WANG Y H, et al. Establishment of fingerprint, chemometric analysis and multi-component content determination of Zhuang medicine Jinmu granules[J]. China Pharm(中国药房), 2022, 33(4): 439-445,464.
- [14] HUANG Q J, SUN Z G, LONG Y, et al. Recent progress in research on anticancer mechanism of D-limonene[J]. Food Sci(食品科学), 2015, 36(7): 240-244.
- [15] ANANDAKUMAR P, KAMARAJ S, VANITHA M K. D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects[J]. J Food Biochem, 2021, 45(1): e13566.
- [16] ADRIANA ESTRELLA G R, MARÍA EVA G T, ALBERTO H L, et al. Limonene from *Agastache mexicana* essential oil produces antinociceptive effects, gastrointestinal protection and improves experimental ulcerative colitis[J]. J Ethnopharmacol, 2021(280): 114462.
- [17] DE SOUZA M C, VIEIRA A J, BESERRA F P, et al. Gastroprotective effect of limonene in rats: Influence on oxidative stress, inflammation and gene expression[J]. Phytomedicine, 2019(53): 37-42.
- 收稿日期: 2022-11-25
(本文责编: 沈倩)