

# 大腹皮气相色谱指纹图谱质量控制研究

吴大章<sup>1\*</sup>, 苏泰安<sup>1</sup>, 代华均<sup>1</sup>, 吴品江<sup>2,3</sup>, 杨明<sup>3,4</sup>(1.太极集团重庆桐君阁药厂有限公司, 重庆 401366; 2.扬子江药业集团四川海蓉药业有限公司, 四川都江堰 611830; 3.成都中医药大学药学院, 成都 611137; 4.江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

中图分类号 R284.1;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)21-2996-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.21.42

**摘要** 目的:建立大腹皮石油醚部位气相色谱(GC)指纹图谱分析方法,为其质量评价提供依据。方法:采用GC法建立10批不同产地大腹皮石油醚部位的指纹图谱,并对指纹图谱数据进行聚类分析和相似度分析,研究大腹皮的GC指纹图谱的相似性。结果:建立了大腹皮的GC指纹图谱,标定了8个共有特征峰。各产地药材均有上述特征,但特征峰的相对峰面积存在一定差异。结论:GC指纹图谱分析法有良好的重现性和精密度,可作为大腹皮药材的质量控制方法。

**关键词** 大腹皮;气相色谱;指纹图谱;聚类分析

## Research on the Quality Control in Fingerprint of Areca Peel by Gas Chromatography

WU Da-zhang<sup>1</sup>, SU Tai-an<sup>1</sup>, DAI Hua-jun<sup>1</sup>, WU Pin-jiang<sup>2,3</sup>, YANG Ming<sup>3,4</sup>(1.Chongqing Tongjunge Pharmaceutical Factory Co., Ltd., Taiji Group, Chongqing 401366, China; 2.Yangtze River Pharmaceutical Group, Sichuan Hairong Pharmaceutical Co., Ltd, Sichuan Dujiangyan 611830, China; 3.College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 4.College of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the gas chromatography (GC) fingerprint for the petroleum ether part of Areca peel and provide reference for the quality evaluation. METHODS: GC was conducted to establish the fingerprint for the petroleum ether part of Areca peel from 10 different areas, the cluster analysis and similarity of fingerprint data were conducted to study the similarity of GC fingerprint of Areca peel. RESULTS: There were totally 8 common peaks. All the medicine materials had the characteristics, but there were differences among the relative peak area. CONCLUSIONS: The GC fingerprint has high importance and precision and can be used for the quality control of Areca peel.

**KEYWORDS** Areca peel; Gas chromatography; Fingerprint; Cluster analysis

大腹皮是棕榈科植物槟榔 *Areca catechu* L. 的干燥果皮, 始载于《开宝本草》<sup>[1]</sup>。大腹皮是太极集团骨干品种藿香正气口服液的重要药材之一<sup>[2]</sup>。但大腹皮的质量控制除了显微鉴别没有其他的鉴别方法及手段。为了更好地控制药材质量, 笔者收集不同产地的10批大腹皮样品, 对其石油醚部位进行气相色谱(GC)分析研究, 建立大腹皮的GC指纹图谱, 并对不同产地的大腹皮药材指纹图谱进行解析。

## 1 材料

6890N GC系列气相色谱仪, 包括柱温箱、自动进样器、氢火焰离子化检测器(美国Agilent公司); 0.45 μm 针式微孔滤膜; BT224S型电子天平(德国Sartorius, 精度: 0.001 mg); KQ-250B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

甲醇、氯仿、石油醚、正己烷等均为分析纯, 重庆川东化工集团公司生产。

药成方制剂: 第二十册[S]. 1999: 178.

[4] 朱敏英. HPLC法测定疮疗涂膜剂中盐酸麻黄碱的含量[J]. 湖北民族学院学报: 医学版, 2005, 22(3): 18.

[5] 魏文鹏. HPLC测定麻杏止咳糖浆中盐酸麻黄碱的含量[J]. 中成药, 2007, 29(3): 附4.

[6] 徐先祥, 孔树佳. 薄层扫描法测定咳喘平颗粒中盐酸麻黄碱含量[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(7): 677.

[7] 杨万军, 张伟东, 孙良, 等. 正交试验法优选麻黄提取工艺[J]. 解放军药学学报, 2011, 27(2): 138.

[8] 吴晓云. 正交试验法优选麻黄的提取工艺研究[J]. 中草药, 2010, 41(5): 747.

[9] 钟凌云, 祝婧, 龚千锋. 多指标正交试验法优选麻黄蜜炙工艺[J]. 中药材, 2008, 32(8): 1126.

[10] 王淑美, 李淑芳, 梁生旺, 等. AB-8大孔吸附树脂纯化复方脑脉通有效部位的工艺研究[J]. 中成药, 2009, 31(1): 47.

[11] 邱华荣, 田吉, 冯文字, 等. 青银注射液中绿原酸与樟脑的含量测定[J]. 中成药, 2004, 26(8): 621.

[12] 姚瑶, 周卫, 丁逸梅. 固相萃取-高效液相色谱法测定紫杉醇脂质纳米粒体外释放度[J]. 中国药房, 2012, 23(7): 608.

(收稿日期: 2014-11-19 修回日期: 2015-01-03)

(编辑: 余庆华)

\*副主任中药师, 博士。研究方向: 中药生产新技术和新剂型、药品营销。电话: 023-88360223。E-mail: wdz100@163.com

试验所用大腹皮由课题组自采收,共10批来自不同产地的样品,经成都中医药大学卢先明教授鉴定为棕榈科植物檳榔 *Areca catechu* L. 的干燥果皮。10批不同产地大腹皮样品来源详见表1。

表1 10批不同产地大腹皮样品来源

Tab 1 Source of 10 batches of *Areca peel*

编号	产地	采收年月	编号	产地	采收年月
S1	海南澄迈	2008.3	S6	海南琼海	2008.3
S2	福建泉州	2008.2	S7	海南海口	2008.3
S3	海南东方	2008.3	S8	云南西双版纳	2008.4
S4	海南屯昌	2008.3	S9	海南万宁	2008.3
S5	海南三亚	2008.3	S10	海南文昌	2008.3

## 2 方法与结果

### 2.1 供试液的制备

取干燥的大腹皮药材粉末约5.0 g,精密称定,置于150 ml带塞锥形瓶中,加石油醚约100 ml,超声(功率:500 W,频率:40 kHz)提取60 min,滤过;滤渣加入石油醚50 ml,超声(功率:500 W,频率:40 kHz)处理20 min,滤过;合并滤液,自然挥干,用氯仿于1 ml的量瓶中定容,摇匀,并用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

### 2.2 色谱条件优化

2.2.1 色谱柱的选择 经过对弹性石英毛细管柱HP-5、HP-1、DM-17、HP-INNOWAX 4种气相色谱柱在适宜的条件下进行筛选,选择出峰最多、各峰之间分离度最好、色谱信息呈现最丰富的色谱柱。结果HP-1、HP-5的色谱柱能达到要求,但HP-1效果更好,其他各个色谱柱对大腹皮中某些成分或某些部位成分难以达到理想的分离,故确定色谱柱为HP-1。

2.2.2 不同升温程序的考察 分别考察以下升温程序:①初始温度70℃,保持0.5 min;以每分钟3℃的速率升温至85℃,保持0.5 min;再以每分钟20℃的速率升温至315℃,保持5 min。②初始温度180℃,保持0.5 min;以每分钟8℃的速率升温至210℃,保持0.5 min,再以每分钟5℃的速率升温至230℃,保持0.5 min;以每分钟15℃的速率升温至280℃,保持1 min;以每分钟3℃的速率升温至315℃,保持3 min。③初始温度180℃,保持1 min,以每分钟1℃的速率升温至315℃,保持5 min。④初始温度190℃,保持3 min,以每分钟15℃的速率升温至250℃,保持1 min;以每分钟1℃的速率升温至275℃,保持0.5 min;以每分钟5℃的速率升温至285℃,保持3 min。⑤初始温度70℃,保持0.5 min,以每分钟3℃的速率升温至85℃,保持0.5 min;以每分钟20℃的速率升温至210℃,保持5 min;以每分钟20℃的速率升温至250℃,保持1 min,再以每分钟1℃的速率升温至275℃,保持0.5 min;以每分钟5℃的速率升温至285℃,保持7 min。比较5个升温程序下的分离谱图,结果表明,以程序④分离最好。

2.2.3 最优色谱条件 色谱柱:弹性石英毛细管柱HP-1(柱长30 m,内径0.32 mm,膜厚度0.25 μm);载气:高纯度氮气;程序升温(初始温度190℃,保持3 min,以每分钟15℃的速率升温至250℃,保持1 min;以每分钟1℃的速率升温至275℃,保持0.5 min;以每分钟5℃的速率升温至285℃,保持15 min);进样口温度315℃;分流比10:1。

### 2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取大腹皮对照药材按“2.1”项下方法制备

对照品供试液,取2 μl连续进样6次,考察色谱峰保留时间的一致性,各主要色谱峰保留时间的RSD在0.08%~1.84%之间;计算相似度,在同一台仪器测得的色谱指纹图谱与其共有模式图谱的相似度大于0.98。

2.3.2 稳定性试验 将S1供试品溶液1 ml在室温放置后分别进样2 μl,在0.3、9、12、18 h不同时间点进行测定,考察色谱峰保留时间的一致性,各主要色谱峰保留时间的RSD在0.02%~0.18%之间;计算相似度,在同一台仪器测得的色谱指纹图谱与其共有模式图谱的相似度大于0.99(中位数),表明在18 h内供试品溶液的成分稳定。

2.3.3 重复性试验 取S1同一份供试品6份,同法检测,考察色谱峰保留时间的一致性,各主要色谱峰保留时间的RSD在0.03%~0.19%之间;计算相似度,在同一台仪器测得的色谱指纹图谱与其共有模式图谱的相似度大于0.99。

### 2.4 GC指纹图谱的共有指纹峰的标定

在优化的色谱条件下,分别将供试品溶液进样2 μl,测定各供试样品并记录70 min内的色谱峰,详细比较各产地样品,确定大腹皮中有8个共有峰,详见图1。

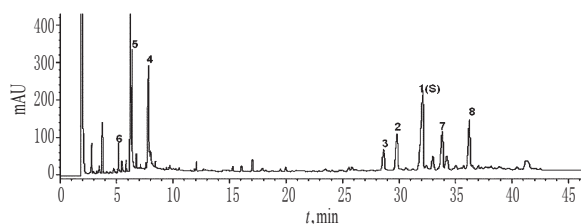


图1 大腹皮代表性指纹图谱

Fig 1 Representative GC fingerprint of *Areca peel*

按上述方法分别检测10个产地大腹皮的指纹图谱。10批次大腹皮药材指纹图谱的色谱峰均在50 min内全部出完。对各样品的各个峰进行对比分析,找到8个共有峰,将峰1作为S峰。

### 2.5 大腹皮GC指纹图谱的建立

取不同大腹皮样品,按照样品的制备方法制备供试液,采用上述优化色谱条件,建立大腹皮药材的指纹图谱,然后进行谱图积分获得保留时间、峰面积等信息。根据10批不同供试品指纹图谱测定结果发现,样品所有指纹图谱有明显的8个共有峰。不同大腹皮样品指纹图谱的特征峰详见图2。

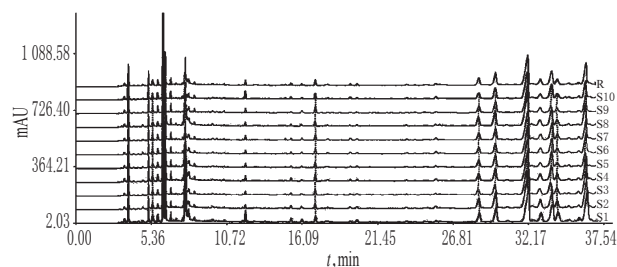


图2 不同产地大腹皮药材代表性指纹图谱

Fig 2 Representative GC fingerprint of *Areca peel* from different areas

### 2.6 共有指纹峰的相对峰面积及相对保留时间

以对照色谱峰(S)的保留时间和峰面积为1,计算10个产地大腹皮药材指纹图谱中共有指纹峰的相对保留时间及峰面积比值,详见表2、表3。

表2结果表明,各色谱峰的保留时间匹配较好,RSD均小

于0.4%,符合规定。表3结果表明,不同产地间共有峰的峰面积比值差异较大。

表2 不同大腹皮指纹图谱相对保留时间

Tab 2 Relative retention time of different Areca peel fingerprints

编号	相对保留时间							
	峰6	峰5	峰4	峰3	峰2	峰1(S)	峰7	峰8
S1	0.161	0.194	0.242	0.892	0.929	1	1.105	1.129
S2	0.160	0.193	0.243	0.891	0.927	1	1.104	1.128
S3	0.161	0.195	0.241	0.892	0.928	1	1.105	1.127
S4	0.160	0.194	0.242	0.893	0.929	1	1.104	1.129
S5	0.159	0.193	0.242	0.892	0.926	1	1.104	1.128
S6	0.160	0.193	0.241	0.892	0.927	1	1.106	1.128
S7	0.161	0.194	0.243	0.891	0.929	1	1.105	1.129
S8	0.160	0.195	0.242	0.893	0.928	1	1.104	1.127
S9	0.159	0.194	0.242	0.891	0.926	1	1.106	1.129
S10	0.161	0.193	0.241	0.892	0.929	1	1.105	1.128
RSD,%	0.20	0.11	0.35	0.01	0.13	0	0.09	0.08

表3 不同大腹皮指纹图谱相对峰面积

Tab 3 Relative peak areas of different Areca peel fingerprints

编号	相对峰面积							
	峰6	峰5	峰4	峰3	峰2	峰1(S)	峰7	峰8
S1	0.105	1.860	0.627	0.212	0.340	1	0.425	0.874
S2	0.067	1.200	0.303	0.188	0.314	1	0.304	0.603
S3	0.139	2.574	0.335	0.178	0.332	1	0.516	0.982
S4	0.128	2.407	0.549	0.193	0.339	1	0.454	0.693
S5	0.109	2.011	0.485	0.196	0.365	1	0.506	0.427
S6	0.113	2.109	0.408	0.181	0.313	1	0.539	0.693
S7	0.101	1.870	0.251	0.175	0.315	1	0.490	0.577
S8	0.080	1.467	0.606	0.202	0.360	1	0.435	0.511
S9	0.139	2.451	0.218	0.186	0.331	1	0.189	0.537
S10	0.123	2.282	0.208	0.171	0.324	1	0.539	0.528
RSD,%	21.28	21.76	39.97	6.71	5.47	0	25.60	26.82

### 2.7 各产地大腹皮药材的指纹图谱相似度评价

用国家药典会编写的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统2004A版”软件对从各产地的大腹皮药材的指纹图谱进行数据处理,生成对照指纹图谱(图2),各产地大腹皮药材与对照指纹图谱的相似度详见表4。从表4可以看出,除S2、S8、S9产地大腹皮药材指纹图谱的相似度较低(小于0.981),其他产地的相似度均较高,结果详见表3。

表4 不同产地大腹皮药材GC指纹图谱共有峰的相似度

Tab 4 Similarity of the GC fingerprint common peaks of Areca peel form different areas

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
相似度	0.989	0.976	0.990	0.996	0.994	0.998	0.995	0.980	0.981	0.989

### 2.8 各产地大腹皮药材的指纹图谱聚类分析

将上述不同产地大腹皮药材的GC指纹图谱的7个共有峰与色谱峰(S)的比值,将各峰面积量化,得到29×7阶原始数据矩阵,运用DPS软件对其进行主成分分析。用各样品的主成分得分再进行系统聚类分析,采用最短距离法,利用欧氏距离

(Euclidean)作为样品的测度。根据样本之间的欧式距离计算结果,选择距离最小的2个样本并类,再采用离差平方和法来计算类和类之间的距离,不断将距离最小者并类,直至所有样本都归为一类。分析结果表明,10批样品中1、5、6、7、10可聚为一类,3、4、9可聚为一类,2、8可聚为一类,该结果与指纹图谱的相似度分析结果基本一致,结果详见图3。

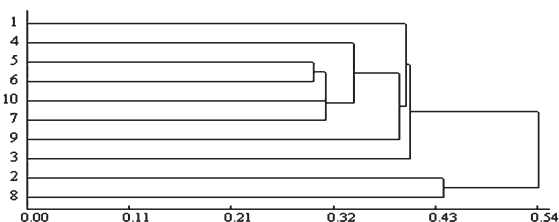


图3 不同产地大腹皮药材指纹图谱主成分聚类图

Fig 3 Main components cluster map of the GC fingerprint common peaks of Areca peel form different areas

### 3 讨论

中药材成分复杂,仅凭单一的有效成分控制药材的质量是不完善的<sup>[3]</sup>,而指纹图谱强调的是色谱的完整面貌而不是精确的细微差别,所反映的质量信息是综合的结果<sup>[4-5]</sup>。2010年版《中国药典》(一部)仅收录了大腹皮性状和显微鉴别,为进一步评价不同产地大腹皮质量,本研究测定了不同产地大腹皮样品的GC指纹图谱,结果可以看出各批样品都有相应的色谱特征峰,虽峰面积比值有所差异;共有峰和非共有峰峰数也有所增减,但经相似度计算表明各个产地大腹皮药材相似性较好<sup>[6-7]</sup>,说明这10个产地大腹皮无显著差异。本试验建立了大腹皮石油醚部位的GC指纹图谱,可结合以后实验对大腹皮水溶性部分的研究结果,对大腹皮药材进行全面的评价。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:24.
- [2] 杨建省,王秋菊. 砂仁、槟榔、山楂等6味中草药促进胃肠蠕动作用的研究[J]. 饲料博览, 2013(2):5.
- [3] 杨东风,梁宗锁. 中药指纹图谱研究进展[J]. 中国药房, 2007, 18(6):467.
- [4] 孙国祥,任培培,雒翠霞,等. 中药统一化色谱指纹图谱和相对统一化特征判据研究[J]. 中南药学, 2007, 5(2):168.
- [5] O'Hanlon PC, Peakall R, Briese DT. A review of new PCR-based genetic markers and their utility to weed ecology [J]. *Weed Res*, 2000(40):239.
- [6] 徐小娜. 中药色谱指纹图谱研究及化学计量学方法的应用[D]. 长沙:中南大学, 2010.
- [7] 孙国祥,侯志飞,张春玲,等. 色谱指纹图谱定性相似度和定量相似度的比较研究[J]. 药学报, 2007, 42(1):75.

(收稿日期:2014-08-11 修回日期:2014-12-23)

(编辑:余庆华)