

# 丹七软胶囊脂溶性成分的GC-MS指纹图谱研究

庞颖<sup>1\*</sup>, 刘汉伟<sup>2</sup>, 高峰<sup>1#</sup>, 杨健<sup>3</sup> (1. 中国中医科学院西苑医院药剂科, 北京 100091; 2. 宁波出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 浙江 宁波 315012; 3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

中图分类号 R283.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)06-0766-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.06.11

**摘要** 目的: 建立丹七软胶囊脂溶性成分的气相色谱-质谱(GC-MS)指纹图谱。方法: 采用GC-MS法。色谱柱为DB-5 ms毛细管色谱柱, 载气为高纯度氦(99.999%), 程序升温, 流速为1.0 mL/min, 进样口温度为250 ℃, 进样量为1 μL, 分流比为1:40, 分流进样; 电离方式为电子轰击离子源, 离子源温度为280 ℃, 接口温度为300 ℃, 电子能量为70 eV, 溶剂延迟时间为3 min, 质荷比( $m/z$ )为50~550。以棕榈酸乙酯为参照, 测定11批样品的GC-MS图谱, 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A版)进行相似度评价, 确定共有峰, 并采用LC Solution 2工作站标准质谱图库(NIST05.LIB和NIST05s.LIB)确定共有峰成分。结果: 11批样品相似度均大于0.90; 经验证, 11批样品的GC-MS图谱均与对照图谱具有较好的一致性。11批样品的GC-MS图谱有49个共有峰, 鉴定出38个化学成分(占总峰面积的94.94%)。结论: 所建指纹图谱可为丹七软胶囊质量评价提供参考。

**关键词** 丹七软胶囊; 脂溶性成分; 气相色谱-质谱联用; 指纹图谱

## Study on Fingerprints of Liposoluble Constituents from Danqi Soft Capsule by GC-MS

PANG Ying<sup>1</sup>, LIU Hanwei<sup>2</sup>, GAO Feng<sup>1</sup>, YANG Jian<sup>3</sup> (1. Dept. of Pharmacy, Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China; 2. Inspection and Quarantine Technology Center, Ningbo Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Zhejiang Ningbo 315012, China; 3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish GC-MS fingerprints of liposoluble constituents from Danqi soft capsule. METHODS: GC-MS method was adopted. GC chromatogram column was DB-5 ms capillary column with high purity helium (99.999%) as carrier gas at the flow rate of 1.0 mL/min, with temperature programming. The injector temperature was 250 ℃. The sample size was 1 μL. The shunt ratio was 1:40, with distributary injection. Ionization mode was as follows as electron bombardment ion source, ion source temperature of 280 ℃, injector temperature of 300 ℃, electronic energy of 70 eV, solvent delay time of 3 min, mass charge ratio ( $m/z$ ) of 50-550. Using ethyl palmitate as reference, MS spectrums of 11 batches of samples were determined. Similarity evaluation was conducted by using TCM Fingerprint Chromatogram Similarity Evaluation System (2004 A edition) to determine common peak. The common peaks were determined by LC Solution 2 workstation standard mass spectrometry Library (NIST05.LIB or NIST05s.LIB). RESULTS: The similarity of 11 batches of samples was higher than 0.90. After validation, GC-MS chromatograms of 11 batches of samples were in good agreement with control fingerprint. There were 49 common peaks in GC-MS chromatogram, and 38 chemical constituents were identified, accounting for 94.94% of total peak areas. CONCLUSIONS: Established fingerprint can provide evidence for quality evaluation of Danqi soft capsule.

**KEYWORDS** Danqi soft capsule; Liposoluble constituents; GC-MS; Fingerprint

丹参、三七(合称“丹七”)是临床常用中成药的重要组成部分。丹七软胶囊, 系在普通丹七片的基础上对其制备方法进行科学改良而成, 并获得了国家知识产权局颁发的丹七软胶囊制备方法发明专利证书(证书公开号: CN17624A)。其具有活血化瘀、通脉止痛之功效, 多用于瘀血阻滞所致的胸痹, 症见胸部刺痛、痛处固定、眩晕头痛、经期腹痛等, 广泛应用于心内科、神经内科、骨伤科、妇科、眼科等属“血瘀证”范畴疾病的治疗<sup>[1-4]</sup>。目

前, 对丹七类药物的研究主要集中于其极性部位, 尚未见对该类药物脂溶性成分的图谱研究。有研究报道, 三七药材中脂溶性成分对大脑和延髓具有一定的抑制作用, 可镇静、安神<sup>[5-6]</sup>, 其中 $\alpha$ -松油醇还具有抑菌作用<sup>[7-8]</sup>; 丹参药材中脂溶性成分 $\beta$ -石竹烯、 $\beta$ -榄香烯、 $\delta$ -榄香烯和 $\alpha$ -蛇麻烯等对肿瘤有抑制作用, 是具有化疗潜力的活性成分<sup>[9-10]</sup>。为准确反映丹七软胶囊的内在品质, 本研究首次对其中的脂溶性成分进行了探讨, 建立了气相色谱-质谱(GC-MS)指纹图谱, 以期为该类药物的质量控制及其有效成分的研究提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

\* 主管药师。研究方向: 中药鉴定、中药炮制、临床中药学。  
E-mail: pangyin16@sina.com

# 通信作者: 主管药师, 硕士。研究方向: 中药鉴定、中药资源。  
E-mail: gf\_80@163.com

TRACE 1310/TSQ 8000 型 GC-MS 仪(美国 Thermo 公司);BS210S 型十万分之一电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司)。

## 1.2 药品与试剂

丹七软胶囊[北京长城制药厂,批号:13110105、13110215、14080101、14080102、14090101、14090102、14100101、14100102、14110101、14110102、14110113(编号为S1~S11),规格:0.6 g/粒];棕榈酸乙酯对照品(批号:B21707-20160325,纯度:≥98%)、硅藻土(批号:S30557-201603)均购自上海源叶生物科技有限公司;试验所用试剂均为分析纯,水为纯化水。

## 1.3 药材

丹参、三七药材均购自河北安国药市,经中国科学院中药研究所唐仕欢副研究员鉴定为真品。

# 2 方法与结果

## 2.1 试验条件

2.1.1 GC 条件 色谱柱:DB-5 ms 毛细管色谱柱(30 mm × 0.25 mm, 0.25 μm);载气:高纯度氦(纯度:≥99.999%);流速:1.0 mL/min;程序升温:起始温度 40 ℃,保持 1 min,以 4 ℃/min 的速度升至 220 ℃,以 50 ℃/min 的速度升至 280 ℃,保持 5 min;进样口温度:250 ℃;进样量:1 μL;分流比:1:40,分流进样<sup>[11-12]</sup>。

2.1.2 MS 条件 电离方式:电子轰击离子源;离子源温度:280 ℃;接口温度:300 ℃;电子能量:70 eV;溶剂延迟时间:3 min;荷质比(*m/z*):50~550。

## 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取棕榈酸乙酯对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,加乙醇溶解并定容,即得。

2.2.2 供试品溶液 取样品内容物 2.0 g,精密称定,加入约 0.5 g 硅藻土,研匀,置于 100 mL 圆底烧瓶中,加乙酸乙酯 25 mL,回流提取 1 h,放至室温,滤过,取滤液加乙酸乙酯定容至 25 mL,摇匀,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

## 2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:14110113)适量,按“2.1”项下试验条件连续进样测定 6 次,以棕榈酸乙酯峰的保留时间和峰面积为参照,记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果,13 个共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 为 0.13%~1.95%(*n*=6),表明方法精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:14110113)适量,分别于室温下放置 0、2、4、6、8、12、16 h 时按“2.1”项下试验条件进样测定,以棕榈酸乙酯峰的保留时间和峰面积为参照,记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果,13 个共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 为 0.46%~2.62%(*n*=6),表明供试品溶液室温放置 16 h 内基本稳定。

2.3.3 重复性试验 精密称取样品(批号:14110113)内

容物适量,共 6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下试验条件进样测定,以棕榈酸乙酯峰的保留时间和峰面积为参照,记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果,13 个共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 为 0.26%~2.02%(*n*=6),表明本方法重复性良好。

## 2.4 GC-MS 指纹图谱的生成、相似度及共有峰相关数据分析

2.4.1 GC-MS 指纹图谱的生成 取 11 批样品内容物各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下试验条件进样测定,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A 版)对 11 批样品的 GC-MS 图谱进行分析,得 GC-MS 指纹图谱,详见图 1、图 2。

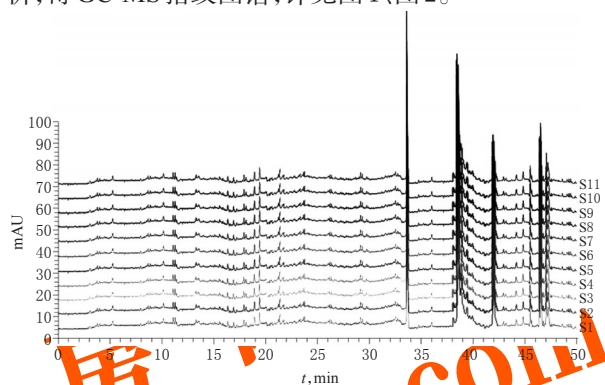


图1 11批样品的GC-MS叠加指纹图谱

Fig 1 GC-MS superposed fingerprints of 11 batches of samples

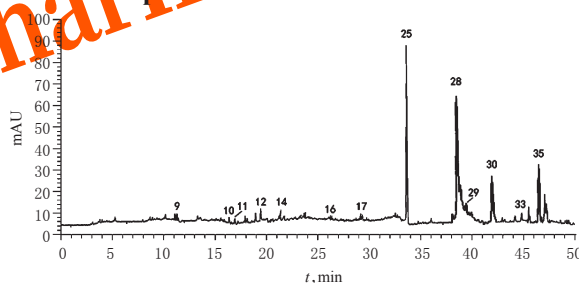


图2 样品GC-MS对照指纹图谱

Fig 2 GC-MS control fingerprint of samples

2.4.2 相似度分析 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A 版),以样品共有模式为对照,进行整体相似度评价。结果显示,11 批样品相似度均大于 0.90,表明各样品间差异较小、质量稳定性良好,详见表 1。

## 2.5 GC-MS 指纹图谱中共有峰的归属和指认

采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A 版)对 11 批样品的 GC-MS 图谱进行比较分析。11 批样品有 49 个共有峰,确定 25 号峰为棕榈酸乙酯,其峰面积较大,为所有药材样品共有,因此以 25 号峰为参照峰,根据共有峰的保留时间和通过检索 LC Solution 2 工作站标准质谱图库(NIST05.LIB 和 NIST05s.LIB)对比相关质谱图,鉴定出 38 个化合物(占总峰面积的 94.94%)并指认其归属,详见表 2。

表1 11批样品相似度评价结果

Tab 1 Similarity evaluation result of 11 batches of samples

| 编号  | S1    | S2    | S3    | S4    | S5    | S6    | S7    | S8    | S9    | S10   | S11   | 对照    |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| S1  | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       | 0.934 |
| S2  | 0.985 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       | 0.946 |
| S3  | 0.974 | 0.980 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       | 0.961 |
| S4  | 0.952 | 0.967 | 0.982 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       | 0.975 |
| S5  | 0.961 | 0.963 | 0.991 | 0.993 | 1.000 |       |       |       |       |       |       | 0.967 |
| S6  | 0.986 | 0.992 | 0.979 | 0.961 | 0.972 | 1.000 |       |       |       |       |       | 0.939 |
| S7  | 0.975 | 0.988 | 0.993 | 0.976 | 0.989 | 0.985 | 1.000 |       |       |       |       | 0.955 |
| S8  | 0.969 | 0.982 | 0.999 | 0.984 | 0.991 | 0.976 | 0.988 | 1.000 |       |       |       | 0.961 |
| S9  | 0.983 | 0.992 | 0.985 | 0.969 | 0.975 | 0.978 | 0.983 | 0.981 | 1.000 |       |       | 0.946 |
| S10 | 0.978 | 0.985 | 0.992 | 0.985 | 0.990 | 0.981 | 0.995 | 0.989 | 0.985 | 1.000 |       | 0.957 |
| S11 | 0.989 | 0.995 | 0.971 | 0.964 | 0.974 | 0.990 | 0.979 | 0.973 | 0.987 | 0.979 | 1.000 | 0.939 |
| 对照  | 0.934 | 0.946 | 0.961 | 0.975 | 0.967 | 0.939 | 0.955 | 0.961 | 0.946 | 0.957 | 0.939 | 1.000 |

表2 样品GC-MS指纹图谱中38个共有峰指认结果  
Tab 2 Identification result of 38 common peaks in GC-MS fingerprints of samples

| 序号 | 保留时间,min | 化合物                                                              | 分子式                                            | 相对含量,% | 归属    |
|----|----------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|--------|-------|
| 1  | 3.18     | 1,2-丁二醇(1,2-Butanediol)                                          | C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>  | 0.74   | 三七    |
| 2  | 5.04     | 2,3-二甲基辛烷(2,3-Dimethyloctane)                                    | C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>                 | 1.05   | 丹参    |
| 3  | 5.51     | 1,3,8-对孟三烯(1,3,8- <i>p</i> -Menthatriene)                        | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>                | 0.94   | 丹参    |
| 4  | 5.89     | 1,4-环己二烯(1,4-Cyclohexadiene)                                     | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub>                  | 0.83   | 丹参    |
| 5  | 6.90     | 己醛(Hexanal)                                                      | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O               | 0.89   | 丹参    |
| 6  | 8.14     | 壬基环丙烷(Nonylcyclopropane)                                         | C <sub>12</sub> H <sub>24</sub>                | 0.45   | 丹参    |
| 7  | 10.66    | $\alpha$ -蒎烯( $\alpha$ -Pinene)                                  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                | 0.73   | 三七    |
| 8  | 11.76    | 铁锈醇(Ferruginol)                                                  | C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O              | 1.17   | 丹参    |
| 9  | 12.33    | 富马酸二甲酯(Dimethyl Fumarate)                                        | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>   | 2.45   | 三七    |
| 10 | 16.40    | 异龙脑(Isoborneol)                                                  | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O              | 3.67   | 丹参,三七 |
| 11 | 17.31    | $\alpha$ -松油醇( $\alpha$ -Terpineol)                              | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 2.75   | 三七    |
| 12 | 19.54    | 1,7,7-三甲基双[2.2.1]庚-2-醇(1,7,7-Trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol) | C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O              | 0.25   | 三七    |
| 13 | 20.30    | 斯巴醇(Spathulenol)                                                 | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 0.67   | 三七    |
| 14 | 22.13    | $\beta$ -石竹烯( $\beta$ -Caryophyllene)                            | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                | 2.01   | 丹参    |
| 15 | 24.30    | $\beta$ -榄香烯( $\beta$ -Elemene)                                  | C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>                | 1.66   | 丹参    |
| 16 | 26.30    | 对羟基苯甲酸乙酯(Ethylparaben)                                           | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>  | 3.72   | 丹参    |
| 17 | 27.72    | $\beta$ -榄香酮( $\beta$ -Elemenone)                                | C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O              | 2.67   | 丹参    |
| 18 | 28.06    | $\alpha$ -愈创木烯( $\alpha$ -Eucenene)                              | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                | 1.35   | 丹参    |
| 19 | 28.89    | $\alpha$ -蒎烯( $\alpha$ -Pinene)                                  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                | 0.97   | 三七    |
| 20 | 29.81    | 氧化石竹烯(Caryophyllene oxide)                                       | C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub> | 1.02   | 丹参    |
| 21 | 30.46    | 9-己基十七烷(9-Hexyl-heptadecane)                                     | C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>                | 0.85   | 丹参    |
| 22 | 30.82    | 角鲨烯(Squalene)                                                    | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>                | 0.65   | 丹参    |
| 23 | 32.58    | 正二十烷( <i>n</i> -Eicosane)                                        | C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>                | 0.96   | 三七    |
| 24 | 32.98    | 邻苯二甲酸二丁酯(Dibutyl phthalate)                                      | C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> | 0.81   | 三七    |
| 25 | 33.55    | 棕榈酸乙酯(Hexadecanoic acid ethyl ester)                             | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub> | 15.28  | 丹参    |
| 26 | 36.05    | 桉叶油-11-烯-1-醇(Eudesm-11-en-1-ol)                                  | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 0.71   | 丹参    |
| 27 | 36.60    | 正二十一烷( <i>n</i> -Heneicosane)                                    | C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>                | 0.99   | 丹参,三七 |
| 28 | 38.62    | 9,12-亚油酸乙酯(9,12-Octadecadienoic acid ethyl ester)                | C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub> | 14.57  | 丹参    |
| 29 | 40.46    | 正二十八烷( <i>n</i> -octacosane)                                     | C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>                | 2.57   | 丹参    |
| 30 | 42.24    | 油酸乙酯(Ethyl Oleate)                                               | C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub> | 7.90   | 丹参    |
| 31 | 42.90    | 顺丁烯二酸二丁酯(Maleic acid dibutyl ester)                              | C <sub>17</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub> | 1.25   | 丹参    |
| 32 | 43.68    | 1-二十三烷醇(1-Tricosanol)                                            | C <sub>23</sub> H <sub>48</sub> O              | 0.86   | 三七    |
| 33 | 44.56    | 镰叶芹醇(Falcarinol)                                                 | C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O              | 1.92   | 丹参    |
| 34 | 45.61    | 2-环己基二十烷(2-Cyclohexyl-eicosane)                                  | C <sub>26</sub> H <sub>52</sub>                | 0.80   | 三七    |
| 35 | 46.52    | 硬脂酸乙酯(Octadecanoic acid ethyl ester)                             | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub> | 7.95   | 丹参    |
| 36 | 47.90    | 3-羟基-螺[8-烯]-11-酮(3-Hydroxy-spiro[8-en-11-one])                   | C <sub>17</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub> | 0.69   | 三七    |
| 37 | 48.60    | 1-三十七烷醇(1-Heptatriacontanol)                                     | C <sub>37</sub> H <sub>76</sub> O              | 0.86   | 三七    |
| 38 | 49.05    | $\beta$ -谷甾醇( $\beta$ -Sitosterol)                               | C <sub>28</sub> H <sub>50</sub> O              | 1.35   | 丹参,三七 |

3 讨论

本试验采用GC-MS法对丹七软胶囊脂溶性成分进行指纹图谱研究,为了更好地反映其脂溶性成分,笔者对提取条件和分析条件(色谱条件和质谱条件)进行了多次优化。同时,考察了正己烷、石油醚、二氯甲烷、乙醚和乙酸乙酯在样品超声和回流提取后的提取效率,结果表明乙酸乙酯提取最为完全、出峰数最多,故选择其作为提取溶剂。本试验采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A 版)生成了丹七软胶囊脂溶性成分指纹图谱的共有模式,计算了11批样品的GC-MS指纹图谱的相似度,结果均大于0.90,表明与对照图谱具有较好的一致性;且各色谱峰相对保留时间稳定,说明本方法所建立的指纹图谱具有较好的稳定性和可控性。

本研究同时对丹七软胶囊脂溶性成分指纹图谱进行了指认,得到49个共有峰,其中13个峰占总峰面积的71.71%(以13个峰进行方法学考察),38个峰占总峰面积的94.94%(鉴定38个峰化合物成分)。

综上所述,本研究所建指纹图谱可为丹七软胶囊的真伪鉴别和质量评价提供参考。

参考文献

[1] 梁军,王英锋. HPLC测定丹七软胶囊中丹参素的含量[J]. 中国中药杂志,2007,33(13): 1359-1360.

[2] 武符火,刘雪酶,贾钊. 丹七胶囊的药效学研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(23): 1869-1873.

[3] 付志红,吴飞华. 丹七软胶囊在治疗原发性痛经中的作用探讨[J]. 中国医药指南,2013,11(13): 310-312.

[4] 晏跃辉. 丹七软胶囊治疗突发性耳聋的临床观察[J]. 中国实用医药,2014,9(31): 182-183.

[5] 张伟. 三七药用的最新研究进展[J]. 按摩与康复医学,2010,1(11): 43-45.

[6] 李丽明,任斌,郭洁文,等. 顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用法测定三七挥发性成分[J]. 广州中医药大学学报,2013,30(1): 63-67.

[7] 段贤春,汪永忠,居靖,等. 人参炔醇研究进展[J]. 安徽医药,2008,12(1): 1-3.

[8] 刘纯友,马美湖,靳国锋,等. 角鲨烯及其生物活性研究进展[J]. 中国食品学报,2015,15(5): 147-156.

[9] 梁倩,王俊儒,梁宗锁. 丹参花挥发油GC指纹图谱的建立[J]. 西北林学院学报,2008,23(4): 152-155.

[10] 陈康健,王喆之. GC-MS分析丹参不同部位中的挥发性成分[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版),2011,39(1): 66-70.

[11] 刘源,周光宏,徐幸莲,等. 顶空固相微萃取气质联用检测鸭肉挥发性风味成分[J]. 江苏农业学报,2005(2): 131-134.

[12] 冯蕾,冀海伟,王德才,等. GC-MS法分析白花丹参不同部位挥发性成分[J]. 中国药房,2010,21(39): 3706-3709.

(收稿日期:2017-05-09 修回日期:2017-07-07)  
(编辑:张 静)