

文章编号: 1674-7054(2015)02-0189-08

国产沉香 TLC 的指纹图谱分析

杨锦玲^{1,2} 梅文莉² 李 薇² 余海谦² 左文健² 戴好富²

(1. 海南大学 园艺园林学院 海南 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所/海南省沉香工程技术研究中心 海南 海口 571101)

摘 要: 通过2个展开系统和3种检视方法,建立10批国产沉香的薄层色谱(TLC)指纹图谱。结果表明,该方法精密性、稳定性和重复性良好,符合指纹图谱技术要求。10批样品中检测到17个共有斑点,初步鉴定了其中6个,包括3个色酮类成分、2个倍半萜类成分和1个甾醇。

关键词: 沉香; TLC 指纹图谱; 白木香; 乙醚提取物

中图分类号: R 917

文献标志码: A

国产沉香为瑞香科植物白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg 含有树脂的木材^[1],主产于我国海南、广东等地,是我国传统的名贵药材^[2-3]。2010 版药典中记载,沉香具有行气止痛、温中止呕、纳气平喘功效,用于胸腹胀闷疼痛、胃寒呕吐呃逆、肾虚气逆喘急^[4]等。研究表明,沉香中富含2-(2-苯乙基)色酮类化合物和倍半萜类化合物,这两类成分是沉香中的特征性成分^[5-6]。目前,分析沉香化学成分的方法主要有 GC-MS、HPLC-MS 和 DART-TOFMS 技术分析,GC-MS 方法主要分析沉香中的倍半萜类化合物、芳香族化合物和部分高温下可挥发的色酮类化合物^[2,7-9]; HPLC-MS^[10] 以及 DART-TOFMS^[11-12] 技术应用于分析色酮类化合物,上述这些方法都需要大型的仪器设备。薄层色谱(thin-layer chromatography,简称 TLC)作为一种快速简便的分析方法,只需要层析缸、展开剂、紫外分析仪或显色剂即可,具有更广泛的实用性。1963 年版药典中沉香药材只收藏了性状鉴别,1977 年版增加了显色鉴别和浸出物测定,1985 年版增加了显微鉴别,至2010 版才增加了薄层色谱鉴别,规定样品乙醚提取物通过对照药材对照,展开后在 UV365 nm 下检视是否显示与对照药材相同的荧光斑点来鉴别^[4,13],但并未具体地描述沉香中共有成分或特征性成分的显色情况。2013 年刘洋洋等^[13]报道了改进的薄层鉴别方法。至今,未见相关国产沉香 TLC 指纹图谱的报道,本研究以白木香为对照,对10批国产沉香样品进行 TLC 分析,以期对国产沉香的科学鉴定提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料和标准品来源 10 批沉香于2013 年采集,其中7个样品采自海南,其他3个样品分别采自广西、广东和云南,由中国热带农业科学院热带生物技术研究所戴好富研究员鉴定,其沉香原植物均为瑞香科沉香属白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg(表1)。8个标准品为课题组分离鉴定,经 HPLC 峰面积归一化法计算,各质量分数均大于98%,分别为:谷甾醇(F1); ent-4(15)-eudesmen-11-ol-1-one (F2); 11-hydroxy-valene-1(10)-en-2-one (F3); 2-(2-苯乙基)色酮(F4); 6-羟基-2-(2-苯乙基)色酮(F5); 6-羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]色酮(F6); 6,7-二甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮(F7); 6,8-二羟基-2-(2-苯乙基)色酮(F8)^[14-15]。

收稿日期: 2015-01-09

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201303117); 海南省重大科技项目(ZDX2013013); 海南省自然科学基金(313080)资助

作者简介: 杨锦玲(1990-),女,海南大学园艺园林学院2012级硕士研究生。E-mail: jinlyang@126.com

通信作者: 戴好富,男,博士,研究员,博士生导师,研究方向:天然产物化学。E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

表 1 沉香药材样品信息

Tab. 1 The introduction of medicinal materials of agarwood

编号 No.	样品描述 description of samples	产地 origin
S1	不规则条状木块,长、宽、厚分别约为 13 ~ 17 μ 8 0.8 ~ 1.8 cm,表面黄白色,散布褐色油脂,较硬,气微香,俗称板头	海南
S2	树皮状薄片藕连在一起,长、宽、厚分别约为 16 ~ 18,13 ~ 15 0.3 cm,表面灰黄色,散布棕褐色油脂,较疏松,气香,俗称皮油	海南
S3	不规则长木块,长、宽、厚分别约为 50 5 4.5 cm,表面黄白色,密布褐色油脂,有刀痕,中间为黄白色木质部,较硬,气香,俗称黄熟香	广西
S4	不规则吊刺状,高、长、最宽分别约为 8 ~ 11,13 ~ 16 cm,10 cm,表面灰白色,密布棕褐色油脂,较坚硬,气香,俗称吊口	海南
S5	椭圆状薄片,长、宽、厚分别约为 25 ~ 27,17 ~ 19 0.5 cm,表面黄棕色,黑褐色油脂,较硬,干而脆,气微香,俗称板头	海南
S6	不规则山峰状,长、宽、高分别约为 13 9 6.0 cm,表面黄棕色,散布褐色油脂,较硬,干而脆,气微香,俗称黄熟香	广东
S7	不规则薄片,长、宽、厚分别约为 10 ~ 15,7 ~ 13 0.3 ~ 0.8 cm,表面灰黄色,密布褐色油脂,较硬,干而脆,气香,俗称虫漏	云南
S8	不规则条状,长、宽、高分别约为 8 ~ 12,3 ~ 6 0.8 ~ 5 cm,表面黄褐色,密布黑褐色油脂,较坚硬,气香,俗称老头	海南
S9	不规则山峰状,长、宽、高分别约为 12,10 7 cm,表面黄白色,凹凸不平,散布黄褐色油脂,质硬,气微香,俗称黄熟香	海南
S10	不规则状,长约 23 cm,表面黄白色,散布黑色油脂,有虫洞,偏硬,气香,俗称虫漏	海南

1.2 仪器与试剂 ZF8 型紫外分析仪(康华生化仪器制造公司,上海),Sartorius BP221S 电子天平(塞多利斯天平有限公司,德国);BRANSONIC-5510E-DTH 超声波清洗仪(必能信超声有限公司,美国),通风柜 BGM-150E(华盈实验家具设备公司,广州),电子调温万用电炉(泰斯特仪器有限公司,天津),玻璃点样毛细管(0.3 mm $\times$ 100 mm),玻璃展缸,吹风机 BW8903,薄层层析硅胶板(50 $\times$ 100 mm,海洋化工厂,青岛),薄层层析硅胶板 Si60 F₂₅₄(10 $\times$ 20 cm,默克化工技术有限公司,上海),香草醛(晶纯生化科技有限公司,上海),其他有机溶剂均为国产分析纯(金华大化学试剂有限公司,广东)。香草醛-硫酸显色剂配制方法:7% 的硫酸乙醇溶液中加入 5% 香草醛,充分溶解。

1.3 标准品溶液与样品溶液的配制 10 批国产沉香样品和对照品白木香提取采用《中国药典》2010 年版规定的乙醚超声波提取法。将沉香药材粉碎,精确称量粉末 1.000 g,置于三角瓶中,加乙醚 30 mL,封口膜密封,15 $^{\circ}$ C 超声提取 30 min,滤过,重复 3 次。待乙醚挥干,得棕黄色油状物。分别准确称取乙醚提取物适量,加入氯仿溶剂配制成 0.1 mg $\cdot$ μ L⁻¹ 溶液,充分溶解,作为供试样品溶液和对照品溶液。准确称取 8 个标准品适量,分别加入氯仿或甲醇溶剂配制成 0.01 g $\cdot$ L⁻¹ 溶液,充分溶解,作为标准品溶液。

1.4 实验方法 实验所用薄层板选用 Si60 F₂₅₄(10 $\times$ 20 cm),展开系统为 I: $V_{\text{氯仿}}: V_{\text{乙醚}} = 10: 1$ 和 II: $V_{\text{石油醚}}: V_{\text{乙酸乙酯}}: V_{\text{乙醚}} = 6: 4: 1$ 检视方法采用 UV 254 nm,UV 365 nm 和喷洒 5% 香草醛硫酸乙醇显色剂后 70 $^{\circ}$ C 缓慢烘烤显色,观察并扫描或拍照记录结果,实验温度为室温 25 $^{\circ}$ C,层析时间为 30 ~ 40 min,当溶剂前沿距薄层板顶端 1 cm 时结束层析。

1.5 方法学考察 选取样品 S4 对 TLC 方法学进行考察,展开系统为 $V_{\text{氯仿}}: V_{\text{乙醚}} = 10: 1$,通过分析 254 nm 检视方法下 R_f 值约为 0.33 特征斑点,365 nm 检视方法下 R_f 值约为 0.65 特征斑点,以及 5% 香草醛硫酸乙醇溶液显色剂检视方法下 R_f 值约为 0.22 特征斑点的 RSD 值是否符合指纹图谱要求进行考察。

1.5.1 精密度考察 取同一样品(S4)溶液,采用 TLC 方法重复分析 5 次。3 种方法检视各特征性成分 R_f 值的 RSD 是否符合指纹图谱要求。

1.5.2 稳定性考察 取同一样品(S4) 溶液 , 采用相同的 TLC 方法 , 分别在 0 , 1 2 4 8 h 进行指纹图谱分析。3 种方法检视各特征性成分 R_f 值的 RSD 是否符合指纹图谱要求。

1.5.3 重复性考察 称取同一沉香样品 (S4) 5 份 , 按 1.3 提取方法制备样品 , 按照相同的 TLC 方法分析。3 种方法检视各特征性成分 R_f 值的 RSD 是否符合指纹图谱要求。

2 结果与分析

2.1 硅胶板考察结果 本研究对默克化工技术公司硅胶板 Si60 F₂₅₄ 和青岛海洋化工产硅胶板进行考察分析 , 采用 7% 硫酸乙醇显色剂显色 , 考察结果见图 1 默克化工技术公司硅胶板 Si60 F₂₅₄ 比青岛海洋化工产硅胶板分离效果更佳 , 故选用默克公司生产薄层层析硅胶板 Si60 F₂₅₄ 进行分析。

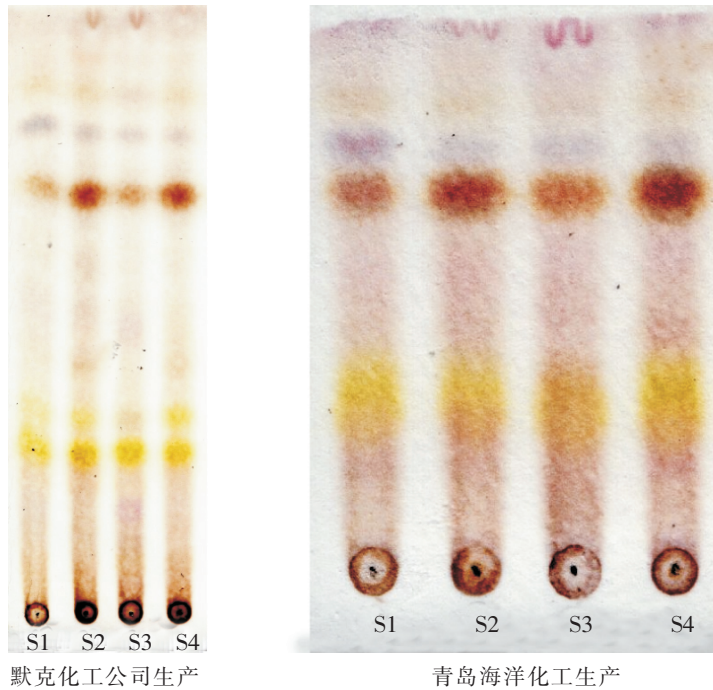


图 1 硅胶板考察结果

Fig. 1 The result of investigation of silica gel plate

2.2 TLC 方法学考察结果

2.2.1 精密度考察 精密度试验结果(表 2) 表明 3 种检视方法下各特征性成分 R_f 值的 RSD 均少于 1% , 符合指纹图谱要求。

表 2 精密度试验结果
Tab. 2 The results of precision test

检视方法 method of view	1	2	3	4	5	RSD /%
UV254 nm	0.332	0.331	0.330	0.332	0.332	0.27
UV365 nm	0.652	0.653	0.653	0.650	0.652	0.19
5% 香草醛硫酸乙醇显色剂 chromogenic agent with 5% vanillin of sulfuric acid ethanol	0.224	0.223	0.224	0.222	0.225	0.51

2.2.2 稳定性考察 稳定性试验结果(表 3) 表明 3 种检视方法下各特征性成分 R_f 值的 RSD 均少于 1% , 符合指纹图谱要求。

表 3 稳定性试验结果
Tab. 3 The results of ruggedness test

检视方法 method of view	0 h	1 h	2 h	4 h	8 h	RSD /%
UV254 nm	0.332	0.335	0.334	0.332	0.330	0.59
UV365 nm	0.652	0.657	0.656	0.653	0.650	0.44
5% 香草醛硫酸乙醇显色剂 chromogenic agent with 5% vanillin of sulfuric acid ethanol	0.224	0.226	0.225	0.223	0.221	0.86

2.2.3 重复性考察 重复性试验结果(表 4) 表明 3 种检视方法下各特征性成分 R_f 值的 RSD 均少于 1% , 符合指纹图谱要求。

标准品鉴定了沉香样品中 4 个共有成分; 在 5% 香草醛硫酸乙醇显色剂条件下 根据标准品鉴定了沉香样品中 3 个共有成分。

表 5 10 批沉香样品在 UV254 nm 条件下 TLC 显色情况
Tab. 5 The TLC coloration of ten batches of agarwood samples by UV 254 nm

R _f	展开剂 I (V _{氯仿} : V _{乙醚} = 10: 1)								展开剂 II (V _{石油醚} : V _{乙酸乙酯} : V _{乙醚} = 6: 4: 1)							
	0.22	0.29	0.33	0.42	0.49	0.56	0.63	0.69	0.72	0.19	0.24	0.26	0.35	0.47	0.65	0.68
显色	灰黑色	灰黑色	蓝色	浅蓝色	亮蓝色	深蓝色	深蓝色	黑色	灰黑色	蓝色	灰黑色	灰黑色	灰色	深蓝色	深蓝色	黑色
鉴别			F7			F4				F7	F2	F5			F4	
S1	-	-	++	+	+	++	+	-	+	+	++	++	+	+	+	-
S2	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	++	+	+	+	+	-
S3	-	-	++	+	+	+	+	-	+	++	++	+	+	+	+	-
S4	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	++	+	+	+	++	-
S5	-	-	++	++	+	+	+	-	++	++	++	+	++	++	++	-
S6	-	-	++	++	+	++	++	-	++	++	++	+	+	+	+	-
S7	-	-	+	+	+	+	++	-	++	+	++	+	+	+	+	-
S8	-	-	++	++	+	+	++	-	++	++	++	+	+	++	++	-
S9	-	-	++	+	+	++	+	-	+	++	++	++	+	+	++	-
S10	-	-	+	+	+	+	++	-	+	+	++	+	+	++	+	-
CK	+	+	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	++

注: F2: ent-4(15)-eudesmen-11-ol-1-one; F4: 2-(2-苯乙基)色酮; F5: 6-羟基-2-(2-苯乙基)色酮; F7: 6,7-二甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮; CK: 白木香; +: 显色较浅; ++: 显色较深; R_f 值字体加粗所代表的成分为沉香共有成分
Note: F2: ent-4(15)-eudesmen-11-ol-1-one; F4: 2-(2-phenylethyl)chromones; F5: 6-hydroxyl-2-(2-phenylethyl)chromone; F7: 6,7-dimethoxy-2-(2-phenylethyl)chromone; CK: *Aquilaria sinensis*; +: The color development is lighter; ++: The color development is darker; R_f in bold font represent that the components were the common components of agarwood

表 6 10 批沉香样品在 UV365 nm 条件下 TLC 显色情况
Tab. 6 The TLC coloration of ten batches of agarwood samples by UV 365 nm.

R _f	展开剂 I (V _{氯仿} : V _{乙醚} = 10: 1)				展开剂 II (V _{石油醚} : V _{乙酸乙酯} : V _{乙醚} = 6: 4: 1)					
	0.19	0.29	0.66	0.71	0.11	0.35	0.40	0.66	0.84	
显色	黑色	黑色	亮绿色	黑色	亮绿色	黑色	黑色	黑色	亮绿色	
S1	-	-	+	-	+	-	-	-	+	
S2	-	-	+	-	+	-	-	-	+	
S3	-	-	+	-	+	-	-	-	+	
S4	-	-	+	-	+	-	-	-	+	
S5	-	-	+	-	++	-	-	-	++	
S6	-	-	+	-	++	-	-	-	++	
S7	-	-	+	-	+	-	-	-	++	
S8	-	-	+	-	++	-	-	-	++	
S9	-	-	+	-	+	-	-	-	++	
S10	-	-	+	-	+	-	-	-	+	
CK	+	+	+	++	-	+	+	++	+	

注: CK: 白木香; +: 显色较浅; ++: 显色较深; R_f 值字体加粗所代表的成分为沉香共有成分
Note: CK: *Aquilaria sinensis*; +: The color development is lighter; ++: The color development is darker; R_f in bold font represents that the component that the components were the common components of agarwood

表 7 10 批沉香样品在 5% 香草醛硫酸乙醇显色剂条件下 TLC 显色情况

Tab. 7 The TLC coloration of ten batches of agarwood samples by chromogenic agent of 5% vanillin-sulphuric acid ethanol

R _f	展开剂 I (V _{氯仿} : V _{乙醚} = 10: 1)								展开剂 II (V _{石油醚} : V _{乙酸乙酯} : V _{乙醚} = 6: 4: 1)								
	0.11	0.15	0.16	0.23	0.42	0.51	0.56	0.72	0.12	0.19	0.24	0.29	0.46	0.55	0.64	0.72	0.84
显色	黄棕色	灰黑色	灰色	桃红色	黑色	灰色	黑色	灰黑色	蓝灰色	灰黑色	黄棕色	亮黄色	灰色	棕黄色	桃红色	黑色	黑色
鉴别	F2				F1				F3		F2					F1	
S1	++	+	+	++	++	+	+	+	+	+	++	+	+	++	++	+	+
S2	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+
S3	++	+	+	++	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+	++	+	+
S4	++	++	++	++	+	+	+	+	+	++	++	++	+	+	++	+	+
S5	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
S6	+	+	++	++	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	++	+	+
S7	+	+	++	++	++	+	+	++	+	+	+	+	+	+	++	++	+
S8	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++
S9	+	+	++	+	+	+	+	++	++	++	+	+	+	+	+	++	+
S10	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	++	+	++	++	++	+	++
CK	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-

注: F1: 谷甾醇; F2: ent-4(15)-eudesmen-11-ol-1-one; F3: 11-hydroxy-valene-1(10)-en-2-one; CK: 白木香; +: 显色较浅; ++: 显色较深; R_f 值字体加粗所代表的成分为沉香共有成分。

Note: F1: sitosterol; F2: ent-4(15)-eudesmen-11-ol-1-one; F3: 11-hydroxy-valene-1(10)-en-2-one; CK: *Aquilaria sinensis*; +: The color development is lighter; ++: The color development is darker; R_f in bold font represent that the components were the common components of agarwood

3 讨论

本研究对产自海南、广西、广东和云南的 10 批沉香乙醚提取物进行了 TLC 分析,建立了国产沉香 TLC 指纹图谱。这 10 批沉香样品中 7 个产自海南省 3 个分别产自广西省、广东省和云南省,样品较多,产地较广,能反应国产沉香 TLC 指纹图谱的特征。该方法精密度、稳定性和重复性良好,符合指纹图谱技术要求。10 批样品通过 2 个展开系统、3 种检视方法分析,检测到 17 个共有显色斑点,通过 8 个标准品初步鉴定了其中 6 个,包括 1 个甾醇 2 个倍半萜和 3 个色酮,分别为: 谷甾醇, ent-4(15)-eudesmen-11-ol-1-one, 11-hydroxy-valene-1(10)-en-2-one, 2-(2-苯乙基)色酮, 6-羟基-2-(2-苯乙基)色酮, 6,7-二甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮。谷甾醇是所有植物中常见的成分,色酮和倍半萜类成分为沉香中的特征性成分,10 批沉香样品中所有特征性成分显色深浅不同,说明各样品中共有成分含量差异较大。在该 TLC 分析方法下,可以通过分析样品中是否有沉香中的特征性共有成分来快速区别沉香与白木香。与显微结构鉴别、GC-MS、HPLC-MS、DART-TOFMS 等分析方法相比, TLC 具有简单、快速、经济、可靠等特点,能直观、全面地从整体上分析样品,是快速检测沉香真伪的方法之一。

层析系统的选择以尽可能多地分离较好的峰为原则,笔者参考《中华人民共和国药典》2010 版中沉香药材鉴别方法,选取 11 种不同的溶剂展开系统进行考察,分别为 V_{氯仿}: V_{乙醚} = 10: 1, V_{石油醚}: V_{乙酸乙酯} = 8: 2, V_{石油醚}: V_{乙酸乙酯} = 7: 3, V_{石油醚}: V_{乙酸乙酯} = 1: 1, V_{石油醚}: V_{乙酸乙酯}: V_{乙醚} = 5: 5: 1, V_{石油醚}: V_{乙酸乙酯}: V_{乙醚} = 6: 4: 1, V_{氯仿}: V_{甲醇} = 10: 0.3, V_{氯仿}: V_{甲醇} = 10: 0.6, V_{氯仿}: V_{甲醇} = 10: 1, V_{氯仿}: V_{甲醇}: V_{乙醚} = 8: 1: 1, V_{氯仿}: V_{甲醇}: V_{乙醚} = 10: 1: 1。发现 V_{氯仿}: V_{乙醚} = 10: 1 对于样品低极性成分分离度更好, V_{石油醚}: V_{乙酸乙酯}: V_{乙醚} = 6: 4: 1

对相对较高级性成分的分离度更好,而且这2个系统展开时,各成分成点性佳。与《药典》^[4]中规定的展开系统以及报道^[13]的展开系统相比,这2个系统相结合进行分析能更全面地反映沉香的化学成分,因此,最终选取这2个系统进行展开。

笔者利用7%硫酸显色剂对硅胶板进行考察后,选取UV254 nm和UV365 nm检视,以及碘、7%硫酸显色剂、5%香草醛硫酸乙醇显色剂和5%三氯化铁乙醇溶液对显色方法进行观察,发现UV365 nm为药典规定的检视方法,但能显色的共有不多,可用作对比参考;在UV254 nm条件下,色酮类标准品显色明显;在5%香草醛硫酸乙醇显色剂条件下,倍半萜类标准品显色明显,故最终选取紫外灯下254 nm和365 nm,以及5%香草醛硫酸乙醇显色剂3种方法进行研究。

在《药典》规定的UV365 nm条件下检视,能观察到的显色成分不多,最明显的为亮绿色的荧光点(R_f 值在展开剂I中为0.66,展开剂II中为0.84),而对照品白木香在相同的 R_f 处也能观察到该显色点,容易造成假阳性结果,这与刘洋洋等^[13]的报道结果一致。在该显色条件下,只有标准品6-羟基-2-(2-苯乙基)色酮(F5)、6-羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]色酮(F6)、6,8-二羟基-2-(2-苯乙基)色酮(F8)显示微弱的亮蓝色,其他的标准品均不显色,故推测该检视条件较适合检测带有羟基的色酮类成分。在UV254 nm检视方法下,检测到的显色成分较多,标准品中色酮类化合物F4~F8和倍半萜F2显色明显,由此推断UV254 nm是沉香中所有flindersia类型色酮成分以及部分倍半萜成分较好的检视方法。在喷洒5%香草醛硫酸乙醇显色剂烘烤显色的方法下,沉香样品中大多数化合物显色明显,但标准品中只有谷甾醇(F1)和2个倍半萜ent-4(15)-eudesmen-11-ol-1-one(F2)、11-hydroxy-valene-1(10)-en-2-one(F3)显色,其他色酮类化合物显色不明显,因此,推测该方法可检测到样品中的非色酮类化合物,是紫外显色法的有益补充。沉香中的特征性成分是色酮类化合物和倍半萜类化合物,与《药典》检视方法对比发现,将UV254 nm和5%香草醛硫酸乙醇显色剂显色的方法相结合进行分析,能更全面、更客观地反映沉香中的特征性成分。

在UV254 nm方法下检视,对照品白木香与各沉香样品相比,沉香样品中的共有成分在白木香中均未检测到,而白木香中3个黑色斑点(R_f 值在展开剂I中为分别0.22、0.29和0.69)在沉香样品中也均未检测到,因此,认为在该检视条件下,可通过分析共有显色斑点来区别沉香与白木香。在喷洒5%香草醛硫酸乙醇显色剂并烘烤显色的条件下,沉香中只有1个黑色共有斑点(R_f 值在展开剂I中为0.42,展开剂II中为0.72)能在白木香中检测到,经标准品鉴定,该成分为谷甾醇,是植物中最常见的成分之一,该成分不能用于鉴别沉香,其他共有成分可用于区别沉香与白木香。

参考文献:

- [1] 梅文莉,刘俊,李小娜,等. 海南国产沉香的化学成分研究[J]. 热带亚热带植物学报,2010,18(5): 573-576.
- [2] 梅文莉,杨德兰,左文健,等. 奇楠沉香中2-(2-苯乙基)色酮的GC-MS分析鉴定[J]. 热带作物学报,2013,34(9): 1819-1824.
- [3] CHEN H Q, WEI J H, YANG J S, et al. Chemical constituents of agarwood originating from the endemic genus *Aquilaria* plants[J]. Chem Biodivers, 2012, 9(2): 236-250.
- [4] 国家药典编委会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 172-173.
- [5] MEI W L, YANG D L, WANG H, et al. Characterization and determination of 2-(2-phenylethyl) chromones in Agarwood by GC-MS[J]. Molecules, 2013, 18(10): 12324-12345.
- [6] NAEF R. The volatile and semi-volatile constituents of agarwood, the infected heartwood of *Aquilaria* species: a review[J]. Fla. Frag. J., 2011, 26(2): 73-87.
- [7] 杨德兰,梅文莉,杨锦玲,等. GC-MS分析四种奇楠沉香中致香的倍半萜和2-(2-苯乙基)色酮类成分[J]. 热带作物学报,2014,35(6): 1235-1243.
- [8] 林峰,戴好富,王辉,等. 两批接菌法所产沉香挥发油化学成分的气相色谱-质谱联用分析[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(8): 1901-1902.
- [9] WETWITAYAKLUNG P, THAVANAPONG N, CHAROENTEERABOON J. Chemical constituents and antimicrobial activity of essential oil and extracts of heartwood of *Aquilaria crassna* obtained from water distillation and supercritical fluid carbon dioxide extraction[J]. Silpakorn U Science & Tech J., 2009, 3(1): 25-33.
- [10] LI J, CHEN D, JIANG Y, et al. Identification and quantification of 5,6,7,8-tetrahydro-2-(2-phenylethyl) chromones in

- Chinese eaglewood by HPLC with diode array detection and MS [J]. J. Sep. Sci. 2013 ,36: 3733 – 3740.
- [11] LANCASTER C , ESPINOZA E. Evaluating agarwood products for 2-(2-phenylethyl) chromones using direct analysis in real time time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2012 ,26: 2649 – 2656.
- [12] ESPINOZA E O , LANCASTER C A , KREITALS N M , et al. Distinguishing wild from cultivated agarwood (*Aquilaria spp.*) using direct analysis in real time and time of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2014 ,28: 281 – 289.
- [13] 刘洋洋,杨云,陈怀琼,等. 对《中国药典》2010 年版沉香药材薄层鉴别方法的改进 [J]. 时珍国医国药, 2013 , 24 (11) : 2721 – 2722.
- [14] YANG D L , MEI W L , ZENG Y B , et al. 2-(2-phenylethyl) chromone derivatives in Chinese agarwood “QiNan” from *Aquilaria sinensis* [J]. Planta Med , 2013 , 79(14) : 1329 – 1334.
- [15] YANG D L , WANG H , GUO Z K , et al. A new 2-(2-phenylethyl) chromone derivative in Chinese agarwood ‘QiNan’ from *Aquilaria sinensis* [J]. J Asian Nat Prod Res , 2014 , 7(16) : 770 – 776.

TLC Fingerprint of Agarwood of *Aquilaria sinensis*

YANG Jinling^{1 2} , MEI Wenli² , LI wei² , YU Haiqian² , ZUO Wenjian² , DAI Haofu²

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture , Hainan University , Haikou 570228; 2. Hainan Engineering Research Center of Agarwood , Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology , Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences , Haikou 571101 , China)

Abstract: The TLC fingerprints of ether extract of ten agarwood samples from *Aquilaria sinensis* were established by using the thin-layer chromatography (TLC) with two developing solvents and three observation methods , UV 254 nm , UV 365 nm and visualization reagent 5% vanillin sulfuric acid/ethanol. The results show that the TLC fingerprinting method was precise , repeatable and stable , meeting the fingerprint qualification. The ten batches of agarwood samples showed 17 common fluorescent spots , of which seven spots were characterized , including 4 chromones , 2 sesquiterpenes and a sitosterol. The TLC fingerprinting could quickly , intuitively and reliably reflect the whole characteristics , distinguish agarwood from *Aquilaria sinensis* expediently , and it was a quick and effective method for true and false identification of agarwood.

Key words: agarwood; TLC fingerprint; *Aquilaria sinensis*; extract with ether