

气相色谱法测定行军散中丁香酚的含量

王喆桅, 金城, 焦懿, 王伽伯, 朱珊薇, 谭睿, 肖小河

[摘要] 目的 建立行军散中丁香酚的含量测定方法。方法 色谱柱为 HP-5 (25 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.52 μ m); 固定相为 5% 苯基甲基聚硅氧烷; FD 检测器; 进样口温度 240 ; 起始柱温 110 ; 程序升温; 载气为氩气。结果 在该色谱条件下, 提取物挥发油中丁香酚的含量在 65.9 ~ 395.4 μ g 范围内呈良好线性关系 ($r^2 = 0.9991$)。结论 该方法具有便捷、准确、重复性高等优点, 可以作为行军散中丁香酚含量的测定方法。

[关键词] 行军散; 丁香酚; 气相色谱法

[中图分类号] R927.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9926(2010)02-0137-02

[DOI] 10.3969/j.issn.1008-9926.2010.02.015

Assaying of Eugenol in Xingjunsan by Gas Chromatography Method

WANG Zhe-wei, JIN Cheng, JIAO Yi, WANG Jia-bo, ZHU Shan-wei, TAN Rui, XIAO Xiao-he

(PLA Institute of Chinese Materia Medica, Hospital 302 of PLA, Beijing 100039, China;

School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China;

College of Pharmaceutical Sciences, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

[Abstract] **Objective** To determine the content of eugenol in Xingjunsan by gas chromatography Method **Methods** The gas chromatography column was HP-5 (25 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.52 μ m), and the static phase was 5% phenylmethylpolysiloxane With the FD detector, the temperature of sample injection was 240 while the initiation temperature was 110 . The programmed heating method was used with argon as carrier gas **Results** The linearity of eugenol content was good within the range of 65.9 - 395.4 μ g ($r^2 = 0.9991$). **Conclusion** This method is simple, accurate and reproducible, and can be used for assaying of eugenol in Xingjunsan

[Key words] Xingjunsan; eugenol; gas chromatography method

行军散是军队在热带丛林作战条件下总结出的一种传统方剂,主要用于高热暑湿环境引起的疾病,具有醒神消暑,止痛止泻等功效。丁香 (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) 是行军散中主要药味之一,丁香酚 ($C_{10}H_{12}O_2$) 为其主要有效成分,具有广泛的药理作用,其中麻醉、松弛肠平滑肌、解热、抗炎抗过敏等作用与本方功效密切相关^[1]。本文采用气相色谱法建立了药材 CO_2 超临界萃取物中丁香酚的含量测定方法,为行军散的进一步研制开发与生产提供有益的借鉴。

1 试药与仪器

1.1 试药 丁香、藿香、肉桂、木香、白芷药材 (购自北

京仟草中药饮片有限公司,均经解放军中药研究所肖小河研究员鉴定,符合《中国药典》规定)。丁香酚对照品 (中国药品生物制品检定所)。 CO_2 气体 (纯度: 99.5%, 购自北京丰台气站)。正己烷为分析纯。

1.2 仪器 HA221-50-06型 CO_2 超临界萃取仪 (江苏南通华安超临界实业有限公司), HP5890 气相色谱仪, 氢火焰离子化检测器 (FD, 均为美国惠普公司), 7694E 顶空进样器 (安捷伦科技有限公司), LGJ-18型冷冻干燥机 (北京四环科学仪器厂), AL204型电子天平 (梅特勒 托利多仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备 (1) 对照品溶液 精密称取丁香酚标准品 6.59 mg, 置于 10 ml 量瓶中, 加入正己烷至刻度, 摇匀, 制成 0.659 mg/ml 即得。(2) 供试品及阴性对照品溶液 将试药中 5 味药材干燥、粉碎成粗粉后按照行军散处方比例称量, 装料, 采用 CO_2 超临界萃取, 控制萃取压力与温度以及分离压力与温度等参数, 共制得 9 个萃取样品, 依次编为 1~9 号。在原处方药

基金项目: 重大新药创制专项, No. 2009ZXJ09004-057

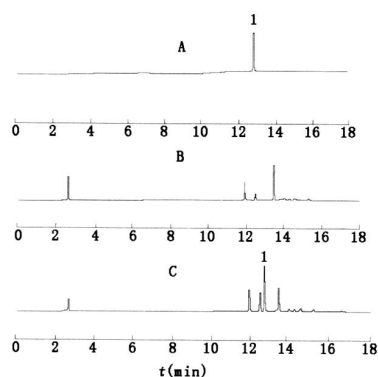
作者简介: 王喆桅, 在读硕士。研究方向: 药物新制剂研究。Tel: (010) 66933324; E-mail: Radish052@163.com

作者单位: 100039 北京, 解放军 302 医院中药研究所; 610031 四川成都, 西南交通大学生命科学与工程学院; 410007 湖南长沙, 湖南中医药大学药学院

通讯作者: 金城, Tel: (010) 66933325; E-mail: Pijincheng@126.com

材中除去丁香,余下 4味药材采用相同工艺制备了无丁香的阴性对照品超临界萃取物。精密吸取各 CO_2 超临界萃取物样品 100 μl ,注入 10 ml量瓶中,加入正己烷至刻度,超声处理后用正己烷补足至刻度,即得。

2.2 色谱条件 HP-5柱 (25 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.52 μm , crosslinked 5% Ph Me Silicone);程序升温;起始柱温: 110 ,保持 5 min后,以 10 /min 的速率升温至 240 ;进样口温度: 240 ;载气为氦气,分流比 20 1;柱前压 50 kPa。顶空进样方法:顶空气化室温度 80 ,平衡时间 20 min,定量环温度为 90 ,传输线温度为 100 ,将以上对照品、供试品、阴性对照溶液各 1.0 μl 进样,理论板数按丁香酚峰面积计算不低于 1500。行军散超临界萃取物中供试品色谱中丁香酚峰与相邻峰分离度不低于 1.5,阴性样品色谱基本无干扰,见图 1。



A:对照品; B:阴性对照品; C:样品; 1:丁香酚

图 1 气相色谱图

2.3 线性关系考察 分别精密量取对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 ml至 10 ml的量瓶中,用正己烷稀释到刻度,配制含丁香酚对照品不同浓度的对照品溶液。分别吸取上述对照品溶液各 1 μl ,注入气相色谱仪中,测定计算,以对照品的量 (μg)为横坐标,对照品的峰面积 (A)为纵坐标,绘制标准曲线。计算得回归方程:

$$Y = 29.461X - 7513.3, r^2 = 0.9991$$

线性范围 65.9 ~ 395.4 μg

2.4 精密度试验 精密吸取对照品溶液 (0.2636 mg/g),按上述色谱条件,连续重复进样 6次,测定丁香酚的峰面积,得 RSD 为 1.08% ($n = 6$),结果表明本方法精密度良好。

2.5 稳定性试验 取 6号提取物样品,按 2.1(2)项下方法和上述色谱条件制备成供试品溶液,分别在 0.3、6.9、12 h进样,按上述色谱条件测定并计算丁香酚含量为 4.36 mg/g, RSD 为 0.89%,表明样品 12 h内稳定。

2.6 重复性试验 取 6号提取物样品,按上述方

法,进行 5次平行测定,丁香酚平均含量为 4.41 mg/g, RSD 为 1.94%,表明该方法的重复性良好。

2.7 回收率试验 用移液器吸取 6号提取物样品 5份分别至 10 ml量瓶中,精密称定,每份样品再精密加入 1 ml丁香酚 (0.2636 mg/ml)对照品溶液,均加入正己烷至刻度,摇匀后按上述方法测定,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 ($n = 5$)

取样量 (g)	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
0.05966	0.2631	0.2636	0.5184	96.84		
0.05982	0.2638	0.2636	0.5219	97.93		
0.05973	0.2634	0.2636	0.5310	101.51	99.37	2.23
0.05971	0.2633	0.2636	0.5318	101.86		
0.05984	0.2639	0.2636	0.5241	98.72		

2.8 样品测定结果 取 9个样品,照 2.1(2)项下方法制备供试品溶液,注入气相色谱仪,每个样品测定 5次,计算含量,结果见表 2。

表 2 超临界萃取物中丁香酚含量测定结果 ($n = 5$)

样品	萃取油量 (g)	丁香酚平均含量 (mg/g)	RSD (%)
1	3.31	1.56	1.72
2	5.36	2.37	1.93
3	8.74	2.46	2.33
4	5.29	2.55	2.41
5	7.03	2.62	1.85
6	14.90	4.48	2.06
7	6.70	2.89	2.26
8	5.12	2.59	1.98
9	8.85	3.83	2.29

3 讨论

本文采用程序升温法进行丁香酚含量测定,与恒温法相比,能使柱温与组分的沸点相互对应,具有改善峰形、降低检测限等优点^[2-4]。顶空气相进样法与常规气相进样法相比,检出限更低^[5],且适用于不宜直接进入气相色谱柱的粘度较高的油类物质。因本文样品来源为行军散处方中多味药材的超临界提取物,难以逐个研究,故本文采取顶空进样法,取得较好分析结果。本文建立的方法操作性强,分离度高,重复性好,结果准确可靠。

【参考文献】

- [1] 邱电,张魁华,方炳虎. 丁香酚的药理作用 [J]. 动物医学进展, 2007, 28 (8): 101-103
- [2] 周敏. 气相色谱程序升温法测定风油精成分含量 [J]. 热带农业工程, 2004, (2): 27-28
- [3] 杨晶晶,郭坚固,刘献阳,等. GC法测定麝香祛风湿膏中薄荷脑、丁香酚等组分的含量 [J]. 食品与药品, 2008, 10 (9): 51-53
- [4] 周国平,张晓华. 气相色谱法测定正红花油中丁香酚的含量 [J]. 江西中医学院学报, 1997, 9 (3): 38
- [5] 范令刚,蔡孝华. 静态顶空进样气质联用法测定连翘花的头香成分 [J]. 长春中医药大学学报 [J], 2009, 25 (1): 177-178

(收稿日期: 2009-08-31;修回日期: 2009-12-03)

(本文编辑 梁爱君)