

HPLC 测定北细辛根中的甲基丁香酚

朱华李, 毛先兵, 李紫微, 王昌华

(重庆市中药研究院 重庆市中药良种选育与评价工程技术中心 重庆 400065)

摘要: 目的 采用 HPLC 法测定北细辛根中甲基丁香酚的含量。方法 用 C_{18} 色谱柱, 流动相为乙腈-水(45:55), 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 290 nm 。结果 甲基丁香酚的线性范围为 $1.017 \sim 10.17 \text{ mg}$, 回归方程为: $Y = 3.7 \times 10^5 X - 5.0 \times 10^5$ ($r = 0.9999$)。结论 所建方法专属性强、重复性好, 可用于测定北细辛中甲基丁香酚的含量。

关键词: 北细辛; 甲基丁香酚; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1006-0103(2011)04-0378-02

Determination of methyl eugenol in Radix Asarum heterotropoides by HPLC

ZHU Hua-li, MAO Xian-bing, LI Zi-wei, WANG Chang-hua

(Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing Engineering Research Center for Fine Variety Breeding Techniques of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish an RP-HPLC method for determination of methyl eugenol in Radix Asarum heterotropoides.

METHODS The chromatographic analysis was carried out on a C_{18} column with acetonitrile-water(45:55) as the mobile phase.

The flow rate was about $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, and the detection wavelength was set at 290 nm . **RESULTS** The calibration curve was linear over the ranges of $1.017 \sim 10.17 \text{ mg}$ for methyl eugenol. The regression equation was $Y = 3.7 \times 10^5 X - 5.0 \times 10^5$ ($r = 0.9999$).

CONCLUSION This method is exclusive and reproducible and can be applied to determine methyl eugenol in the Asarum heterotropoides.

Key words: Asarum heterotropoides; Methyl eugenol; RP-HPLC

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2011)04-0378-02

马兜铃科多年生草本植物北细辛 *Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag. 主产于吉林、辽宁、黑龙江, 含挥发油, 油中主要含甲基丁香酚、细辛醚、榄香素、黄樟醚、dl-去甲乌药碱和派立托胺等。甲基丁香酚是从细辛中分离得到的主要成分, 具有明显的镇咳、祛痰、镇静、镇痛的作用^[1-2]。文献^[3]用 RP-HPLC 法测定了甲基丁香酚及黄樟醚的含量, 流动相是甲醇-水(80:20), 在此基础上采用优化的流动相, 对该法进行了方法学的考察并测定了北细辛中甲基丁香酚的含量。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

2695 高效液相色谱仪(美国 Waters)。甲基丁香酚对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 111642-200301); 乙腈为色谱纯; 水为重蒸水; 其余试剂为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 溶液的制备 精密称定 10.07 mg 甲基丁香酚置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解定容, 作为对照品溶

液; 称取 10 g 细辛, 加 100 mL 水, 浸泡 1 h , 用轻油挥发油收集器收集挥发油, 冷却后, 收集挥发油和芳香香水作为供试品溶液。

1.2.2 色谱条件 采用 Symmetry C_{18} 色谱柱($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$), 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$, 检测波长 290 nm , 进样量 $10 \mu\text{L}$ 。乙腈在流动相中的比例大于 65% 时, 保留时间过短, 调整流动相极性, 加大水的比例; 乙腈-水为 $55:45$ 时, 保留时间为 8.094 min , 但进样细辛挥发油样品, 在 $7 \sim 10 \text{ min}$ 时杂质峰较多, 分离度差, 加大流动相的极性, 调整流动相乙腈-水为 $45:55$, 有利于细辛中成分的分离(图 1)。

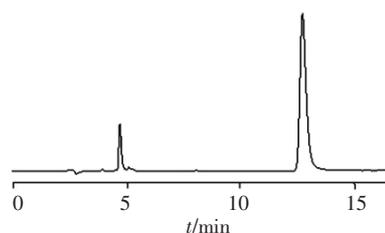


图 1 甲基丁香酚的色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of methyl eugenol

1.2.3 线性范围的考察 吸取 $1, 2, 4, 6, 8, 10 \mu\text{L}$

作者简介: 朱华李, 女, 四川隆昌, 从事药物化学与分析工作。Email: huahua0911@163.com

1.017 mg·mL⁻¹甲基丁香酚对照品溶液,进样,记录色谱图,以峰面积值对进样量进行回归,得标准曲线方程为: $Y = 3.691 \times 10^5 X - 4.982 \times 10^5$ ($r = 0.9999$)。结果表明:1.017~10.17 mg 甲基丁香酚与峰面积呈良好的线性关系。

1.2.4 精密度试验 分别精密吸取10 μL对照品、供试品溶液,重复进样5次,记录峰面积值,计算峰面积的RSD=0.89%。结果表明:对照品和供试品溶液峰面积的RSD小于2%,仪器的精密度符合要求。

1.2.5 稳定性的考察 取供试品溶液,于0、2、4、6、8 h时分别进样10 μL,记录供试品的峰面积,计算得RSD=1.3%。在8 h内测得RSD小于2%,样品基本稳定。

1.2.6 重复性的考察 各取10 g同一批药材5份,精密称定,按“1.2.1”“1.2.2”项方法制备供试品溶液并测定,记录并计算。峰面积和含量的RSD均小于2%,测定方法的重复性符合要求。

1.2.7 回收率试验 精密称取5 g同一批已知挥发油含量的北细辛粉末6份,按高、中、低水平分别加入5.21、5.18、4.31、4.51、3.64、3.56 mg 甲基丁香酚对照品,按“1.2.1”“1.2.2”项方法制备供试品溶液并测定甲基丁香酚的含量。计算得平均加样回收率为100.30%,RSD=1.0%,表明方法的回收率良好。

1.2.8 样品的测定 称取10 g细辛,加100 mL水,浸泡1 h,电热套加热,用挥发油收集器收集挥发油,冷却后,收集油层,稀释进样;称取10 g细辛,加100 mL水,浸泡1 h,用收集器加二甲苯收集挥发油,冷却后,取二甲苯层稀释进样。收集器和二甲苯收集的甲基丁香酚占细辛药材的百分含量分别为0.72%、0.86%。实验过程中,挥发油中有小部分轻油浮在水面上,大部分沉在水下,甲基丁香酚密度是1.0386,较水大,小部分的挥发油浮于水面,所以

用收集器不能收集完全;而加入二甲苯收集后能较完全。在测定样品中挥发油含量的时候可以采用此法,但是收集挥发油供药用就只能用轻油挥发油收集器。

2 讨论

甲基丁香酚的测定主要采用GC法^[4]。2005年版《中国药典》中采用挥发油体积的总量来控制细辛的质量,挥发油含量不得少于2%,过于笼统^[5]。现以甲基丁香酚为指标性成分,评价北细辛的质量更为准确。2010年版《中国药典》以挥发油含量不得少于2%计,并同时用HPLC法测定细辛脂素的含量^[6]。细辛脂素为非挥发性有效成分,具抗病毒和抗结核杆菌的作用,对于某些制剂中仅用细辛挥发油就不能很好地控制其质量^[7]。甲基丁香酚的最大吸收波长为282 nm,根据干扰成分的情况,选择在290 nm下检测。

参考文献:

- [1] 周慧秋,于滨,乔婉红,等.甲基丁香酚药理作用研究[J].中国药学报,2000,2:79-80.
- [2] 谢伟.细辛挥发油的化学与药理作用[J].宁夏医学杂志,1995,17(2):121-124.
- [3] 吴振刚.高效液相色谱法测定细辛挥发油中甲基丁香酚及黄樟醚含量[J].第四军医大学学报,2008,29(13):1175-1177.
- [4] 杨厚玲,邱琴,陈婷婷,等.不同方法提取的北细辛挥发油的气质联用成分分析[J].中国药学杂志,2007,42(13):1031-1033.
- [5] 中华人民共和国国家药典委员会.中国药典[S].北京:化学工业出版社,2005:149.
- [6] 中华人民共和国国家药典委员会.中国药典[S].北京:中国医药科技出版社,2010:214.
- [7] 王桂芳,张守尧.HPLC法测定北细辛中芝麻脂素和细辛脂素的含量[J].药物分析杂志,1999,19(04):251-253.

收稿日期:2010-09-11