

饮片炮制 GC 法同时测定粗壮女贞苦丁茶中 4 种挥发性成分

刘 莉, 李 清, 陈晓辉, 史 芳, 果德安, 毕开顺*
(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 建立同时定量测定水蒸气蒸馏法提取的粗壮女贞挥发油中芳樟醇、 α -松油醇、 β -月桂烯和 *D*-柠檬烯的方法。方法 采用毛细管气相色谱法, 色谱柱为 Agilent DB-17 柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m); 程序升温方式, 初始柱温为 60 $^{\circ}$ C, 以 3 $^{\circ}$ C/min 上升至 75 $^{\circ}$ C, 保持 5 min, 以 5 $^{\circ}$ C/min 上升至 85 $^{\circ}$ C, 保持 3 min, 再以 8 $^{\circ}$ C/min 上升至 117 $^{\circ}$ C, 保持 5 min, 最后以 50 $^{\circ}$ C/min 上升至 240 $^{\circ}$ C; 进样口温度 250 $^{\circ}$ C; 检测器 FID; 检测器温度 300 $^{\circ}$ C; 载气为氮气, 体积流量为 1.0 mL/min; 分流比为 4:1。结果 芳樟醇、 α -松油醇、 β -月桂烯和 *D*-柠檬烯分别在 181.2~6 525 μ g/mL, 84.4~3 036 μ g/mL, 2.700~95.4 μ g/mL 和 4.000~144.0 μ g/mL 范围内线性关系良好, 平均回收率分别为 100.5%, 97.4%, 95.7%, 95.5%, RSD 分别为 1.7%, 1.3%, 1.8%, 1.1%。结论 该方法简便、快速、准确, 可用于同时测定粗壮女贞中 4 种挥发油成分。

关键词:粗壮女贞; 苦丁茶; 毛细管气相色谱法; 芳樟醇; α -松油醇; β -月桂烯; *D*-柠檬烯; 同时定量测定

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2011)06-0997-04

Determination of four components in *Ligustrum robustum* (Roxb.) Bl. by GC

LIU Li, LI Qing, CHEN Xiao-hui, SHI Fang, GUO De-an, BI Kai-shun*
(Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT: AIM To establish a method for simultaneously determining linalool, α -terpineol, β -myrcene and *D*-limonene in volatile oil by vapour distillation from *Ligustrum robustum* (Roxb.) Bl. **METHODS** The four components were separated on an Agilent DB-17 type capillary column (30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m). Analytes were operated at a constant nitrogen flow rate of 1.0 mL/min. One microliter of the sample was injected in the 4:1 split mode. The oven temperature was programmed as follows: started at 60 $^{\circ}$ C, first ramp up from 3 $^{\circ}$ C/min until 75 $^{\circ}$ C and held for 5 min, then ramp up from 5 $^{\circ}$ C/min to 85 $^{\circ}$ C and held for 3 min. After that, the temperature was elevated to 117 $^{\circ}$ C at the rate of 8 $^{\circ}$ C/min and held for 5 min. The temperature finally ramp up from 50 $^{\circ}$ C/min to 240 $^{\circ}$ C. Injector was set at 250 $^{\circ}$ C with FID temperature of detector at 300 $^{\circ}$ C. **RESULTS** Good linearities of the four components were obtained within the ranges of 181.2~6 525 μ g/mL, 84.4~3 036 μ g/mL, 2.700~95.4 μ g/mL and 4.000~144.0 μ g/mL, respectively. The average recoveries of the four components were 100.5%, 97.4%, 95.7% and 95.5%, respectively, and the RSDs were 1.7%, 1.3%, 1.8% and 1.1%, respectively. **CONCLUSION** The method is simple, rapid, accurate. It can be applied in the simultaneous determination of the four components in *L. robustum* (Roxb.) Bl.

KEY WORDS: *Ligustrum robustum* (Roxb.) Bl.; *Ilicis Folium*; gas chromatography; linalool; α -terpineol; β -myrcene; *D*-limonene; simultaneous determination

粗壮女贞 *Ligustrum robustum* (Roxb.) Blume 为木犀科女贞属植物, 是我国西南地区小叶苦丁茶的

主流品种^[1], 具有降压、消炎、镇痛、减肥、保肝与抗氧化等药理作用^[2-4]。粗壮女贞苦丁茶中含有较多

收稿日期: 2010-12-06

基金项目: 国家重大新药创制科技重大专项(2009ZX09301-012)

作者简介: 刘 莉(1986—), 女, 硕士, 从事中药质量控制研究。E-mail: liuli_198697@163.com

* 通信作者: 毕开顺(1956—), 男, 博士生导师, 从事中药质量控制研究工作。E-mail: bikaishun@yahoo.com

挥发油,其组成主要为单萜烯、倍半萜烯类及其含氧衍生物、萜类化合物、脂肪族类化合物等^[7-9],其中芳樟醇质量分数达到 41.82%。芳樟醇具有抗菌、抗病毒和镇静等作用^[10-11]。目前尚无关于粗壮女贞苦丁茶挥发油类成分定量测定的文献报道。对粗壮女贞中主要挥发油成分进行定量分析,有利于系统地全面地评价粗壮女贞苦丁茶的质量。因此本实验建立了同时测定粗壮女贞中芳樟醇、 α -松油醇、 β -月桂烯和 *D*-柠檬烯的气相色谱法。所建立的方法简便、准确,为粗壮女贞苦丁茶的进一步开发利用提供了信息。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 7890A 气相色谱仪(Agilent 公司);电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);电子天平(天津市天马仪器厂);AGBP210S 电子天平(德国 Satorius 公司);挥发油提取器。

1.2 试剂 β -月桂烯和 *D*-柠檬烯对照品购自上海友思生物科技有限公司(纯度均大于 98%);芳樟醇(批号:1503-200001)购自中国药品生物制品检定所(纯度大于 99%); α -松油醇由湖南正清药业提供(纯度大于 99%);正庚醛(纯度大于 98%),购于常州新华活性材料研究所。正己烷(色谱纯),购自山东禹王实业有限公司化工分公司;无水硫酸钠(分析纯),购自天津大茂化学试剂厂。

14 批粗壮女贞苦丁茶分别购自云南,四川,沈阳等地中药材或茶叶市场,经沈阳药科大学药学教研室路金才教授鉴定为木犀科粗壮女贞 *Ligustrum robustum*(Roxb.) Blume。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 DB-47 毛细管色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m);程序升温,柱温初始 60 $^{\circ}$ C,以 3 $^{\circ}$ C/min 升温至 75 $^{\circ}$ C(保留 5 min),再以 5 $^{\circ}$ C/min 升至 85 $^{\circ}$ C(保留 3 min),以 8 $^{\circ}$ C/min 升温至 117 $^{\circ}$ C(保留 5 min),最后以 50 $^{\circ}$ C/min 升温至 240 $^{\circ}$ C;进样口温度:250 $^{\circ}$ C;FID 检测器,检测器温度 300 $^{\circ}$ C;分流比:4:1;进样量:1 μ L。

2.2 溶液的配制

2.2.1 混合对照品溶液 取 β -月桂烯、*D*-柠檬烯、芳樟醇和 α -松油醇适量,精密称定,置于同一 25 mL 量瓶中,加正己烷配成 β -月桂烯 0.106 8 mg/mL, *D*-柠檬烯 0.161 0 mg/mL,芳樟醇 7.250 mg/mL, α -松油醇 3.374 mg/mL 的混合对照品溶液,4 $^{\circ}$ C 冰箱中保存,备用。

2.2.2 内标溶液 取正庚醛约 100 mg,精密称定,

加正己烷配制成 10.08 mg/mL 的贮备液,4 $^{\circ}$ C 冰箱中保存,备用。

2.2.3 供试品溶液 取本品粉末约 7.5 g,精密称定,置圆底烧瓶中,加 10 倍量蒸馏水,连接挥发油测定器。自测定器上端加水充满刻度部分,加正己烷 1 mL,加热至沸,保持微沸 5 h,停止加热,冷却至室温,分取正己烷层,加无水 Na_2SO_4 约 0.4 g,除去水分,取上层溶液至 10 mL 量瓶,精密加入 0.25 mL 内标溶液,加正己烷定容,得供试品溶液。

2.3 方法学验证

2.3.1 专属性考察 分别取空白溶剂、对照品溶液和供试品溶液,在 2.1 项色谱条件下测得正庚醛、 β -月桂烯、*D*-柠檬烯、芳樟醇和 α -松油醇的保留时间分别为 6.10 min, 7.55 min, 9.33 min, 14.52 min 和 19.77 min,结果显示在对照品和内标保留时间处无杂质峰干扰,供试品溶液中其他成分对测量无干扰,表明方法专属性良好。典型色谱图见图 1。

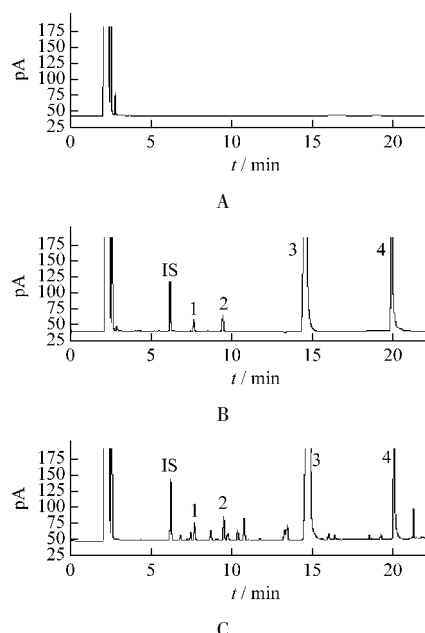


图 1 空白溶剂(A),对照品溶液(B)和样品溶液(C)的色谱图

Fig. 1 GC chromatograms of blank solution (A), reference solution (B), sample solution (C)

IS. 内标峰 1. β -月桂烯 2. *D*-柠檬烯 3. 芳樟醇 4. α -松油醇
IS. internal standard 1. *beta*-myrcene
2. *D*-limonene 3. linalool 4. α -terpineol

2.3.2 标准曲线与线性范围 分别精密量取混合对照品溶液 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、9.0 mL 置 10 mL 量瓶中,精密加入 0.25 mL 内标溶液正己烷定容至刻度,即得系列混合对照品溶液,在 2.1 项色谱条件下测定。以对照品与内标峰面积比 (*Y*) 为纵

坐标,以各对照品浓度为横坐标(X :mg/mL),得回归方程。见表 1。结果表明, β -月桂烯、 D -柠檬烯、芳樟醇和 α -松油醇分别在 2.700 ~ 95.4 μ g/mL, 4.000 ~ 144.0 μ g/mL, 181.2 ~ 6 525 μ g/mL 和 84.4 ~ 3 036 μ g/mL 范围内线性关系良好。

表 1 粗壮女贞苦丁茶中 4 种成分的回归方程和相关系数

Tab. 1 Regression equation of four components

in *Ligustrum robustum* (Roxb.) Bl.

待测成分	回归方程	相关系数
β -月桂烯	$Y = 5.793X + 0.008\ 900$	0.999 6
D -柠檬烯	$Y = 6.665X + 0.016\ 00$	0.999 5
芳樟醇	$Y = 6.099X + 0.531\ 4$	0.999 6
α -松油醇	$Y = 6.775X + 0.194\ 7$	0.999 6

2.3.3 精密密度试验 精密吸取混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,连续进样 6 次,测得 β -月桂烯、 D -柠檬烯、芳樟醇和 α -松油醇的峰面积与内标峰面积比值的 RSD 分别为 1.7%, 1.5%, 1.1% 和 1.3%,结果表明仪器精密密度良好。

2.3.4 重复性试验 分别取 6 份同一批号样品,每份约 7.5 g,精密称定,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,在 2.1 项色谱条件下测定,测得 β -月桂烯、 D -柠檬烯、芳樟醇和 α -松油醇 RSD 分别为 2.0%, 1.3%, 1.5% 和 1.9%,结果表明方法重复性好。

2.3.5 稳定性试验 取同一供试品溶液,室温下放置,分别于 0、2、4、8、12、24、48 h 在 2.1 项色谱条件

下测定,测得 β -月桂烯、 D -柠檬烯、芳樟醇和 α -松油醇与内标峰面积比的 RSD 分别为 1.9%, 1.4%, 2.0% 和 1.4%,表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.3.6 回收率试验 分别取已知量的同一批次粗壮女贞共 9 份,每份约 3.8 g,精密称定,以低、中、高浓度分别精密加入对照品溶液,每一浓度 3 份,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液并在 2.1 项色谱条件下进样分析,计算回收率,结果见表 2。

表 2 粗壮女贞苦丁茶中 4 种成分回收率实验结果 ($n=9$)

Tab. 2 Results of recoveries of four components in

Ligustrum robustum (Roxb.) Bl. ($n=9$)

待测成分	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
β -月桂烯	0.603 0	0.569 4	94.2	95.7	1.8
	0.549 9	0.522 7	95.1		
	0.496 2	0.484 3	97.6		
D -柠檬烯	0.831 0	0.784 2	94.3	95.5	1.1
	0.764 6	0.730 6	95.5		
	0.697 2	0.672 7	96.5		
芳樟醇	38.39	37.96	98.9	100.5	1.7
	36.40	36.55	100.4		
	32.35	33.09	102.3		
α -松油醇	7.488	7.404	98.9	97.4	1.3
	7.009	6.777	96.7		
	6.282	6.065	96.4		

2.4 样品测定 分别取 14 批粗壮女贞药材,每份约 7.5 g,精密称定,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,在 2.1 项色谱条件下测定,以内标对比法计算样品质量分数,结果见表 3。

表 3 粗壮女贞苦丁茶中 4 种挥发油成分测定结果 ($n=3$)

Tab. 3 Determinination of four components in *Ligustrum robustum* (Roxb.) Bl. ($n=3$)

样品来源	月桂烯/(μ g/g)	RSD/%	柠檬烯/(μ g/g)	RSD/%	芳樟醇/(μ g/g)	RSD/%	松油醇/(μ g/g)	RSD/%
云南大关(嫩芽叶)	13.34	0.8	18.29	1.0	989	1.1	163.6	0.9
云南盐津(新嫩芽叶)	20.97	1.2	20.64	1.5	1 354	0.9	205.5	0.8
云南盐津(陈嫩芽叶)	13.35	1.1	17.56	0.9	1 454	0.8	206.3	1.1
云南楚雄(野生嫩芽)	11.99	0.9	10.70	1.2	754.8	1.1	156.4	0.7
云南临泡(嫩芽叶)	19.61	1.3	19.10	1.2	1 331	1.2	212.8	1.2
四川绵阳(老叶)	70.78	1.4	90.6	1.6	4 571	1.2	849	1.3
四川青城山(老叶)	78.10	1.1	89.7	1.3	5 479	0.8	1 018	1.0
四川宜宾(老叶)	57.18	0.8	63.58	0.9	3 324	1.0	592.5	1.0
四川(沈阳 1)(嫩芽叶)	31.91	1.0	32.25	1.4	2 317	1.2	375.4	1.2
四川(沈阳 2)(嫩芽叶)	16.83	1.2	15.49	1.5	1 027	1.3	151.4	1.1
四川(沈阳 3)(嫩芽叶)	31.76	0.7	31.22	1.3	2 134	1.1	356.2	0.9
四川(沈阳 4)(嫩芽叶)	21.16	1.8	20.53	0.8	1 442	0.9	200.3	1.5
四川(沈阳 5)(嫩芽叶)	24.15	1.3	23.45	1.0	1 636	0.8	250.6	0.9
四川(沈阳 6)(嫩芽叶)	9.60	0.9	10.07	1.2	592.4	1.0	106.1	0.8

3 讨论

3.1 本实验分别考察了 HP-5, DB-1, DB-17 毛细管色谱柱,结果表明 DB-17 色谱柱对待分离组分分离效果最好,因此选用 DB-17 中等极性毛细管色谱

柱。

3.2 分别考察了提取用水量,萃取溶剂和提取时间对提取效率的影响,其中提取时间对提取效率影响较大。分别考察了提取时间为 3、4、5、6 h 时挥发油

的提取量,结果表明提取 5 h 提取效率较高,继续提取挥发油量无明显变化。因此选择 5 h 作为提取时间。最终确定以 10 倍量水提取 5 h,并用正己烷萃取作为挥发油提取条件。

3.3 实验结果表明,四川粗壮女贞老叶中挥发油各成分质量分数均明显高于其嫩芽叶中挥发油各成分量,可能与干燥方法、干燥程度和储存方法有关;而云南产和四川产粗壮女贞的嫩芽叶比较,挥发油的量差异不明显,川产粗壮女贞挥发油量略高。市场上粗壮女贞苦丁茶作为茶叶和袋泡茶饮用的商品主要来源于其嫩芽叶,而老叶则主要用以开发具有降脂、减肥、解酒、保肝等作用^[12-13]的保健品。从定量测定的结果可以得知,芳樟醇在各批次粗壮女贞中质量分数均较大,表明芳樟醇与粗壮女贞苦丁茶挥发油的药理活性可能有着密切的关系。

参考文献:

- [1] 郑道君,梁远发,刘国民,等. 木犀科苦丁茶种质资源的 RAPD 分析 [J]. 中国农业科学,2008,41(12):4164-4172.
- [2] 陈 一,何兴全,谢唐贵,等. 粗壮女贞的降压作用 [J]. 中草药,1995,26(7):360.

- [3] 吴建云. 粗壮女贞抗炎及镇痛作用的观察 [J]. 中国医院药学杂志,1999,19(8):458.
- [4] 黄林芳,万德光. 西南民间药苦丁茶的抗炎作用研究 [J]. 中国民族民间医药杂志,2004,23(3):180.
- [5] 黄林芳,万德光. 川产苦丁茶的减肥作用的实验研究 [J]. 成都中医药大学学报,2004,27(3):49.
- [6] Lau K T, He Z D, Dong H, et al. Anti-oxidative, anti-inflammatory and hepato-protective effects of Ligustrum robustum [J]. J Ethnopharmac, 2002, 16(3):268.
- [7] 童华荣,高爱红,袁海波,等. 女贞苦丁茶挥发油成分分析 [J]. 植物资源与环境学报,2004,13(1):53-55.
- [8] 李 丽. 小叶苦丁茶质量控制方法研究与紫草科苦丁茶的亲缘学意义初探 [D]. 北京:北京协和医学院,2009.
- [9] 黄林芳. 川产苦丁茶品种、品质研究 [D]. 四川:成都中医药大学,2002.
- [10] 朱亮锋. 芳香植物及其化学成分 [M]. 海口:海南人民出版社,1988:87.
- [11] 中国医学科学院药物研究所. 中药志:第三册 [M]. 北京:人民卫生出版社,1984:35.
- [12] 陈瑞仪,谭剑斌,王凤岩,等. 苦丁茶提取物对酒精性肝损伤的保护作用 [J]. 中国现代内科学杂志,2007,4(4):301-302.
- [13] 杨杏林,范海鹰. 中药苦丁茶的研究开发述评 [J]. 内蒙古中医药杂志,2003,(3):35-37.

维吾尔药芝麻菜子质量标准研究

赵翡翠, 王国栋, 姜 林*

(新疆医科大学附属中医医院药学部,新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要:目的 对维吾尔药芝麻菜子的质量进行研究,为其临床安全、可控应用提供科学依据。方法 采集不同产地的 10 批芝麻菜子样品,对原植物和性状进行鉴定;对粉末进行显微鉴别;以芥子碱硫氰酸盐为对照品对芝麻菜子药材进行薄层色谱鉴别;建立芝麻菜子中芥子碱 HPLC 测定方法。结果 以乙酸乙酯-甲酸-水(10:2:3)的上层溶液为展开剂,对芝麻菜子中芥子碱硫氰酸盐进行薄层色谱鉴别;建立了芝麻菜子中芥子碱 HPLC 测定方法,经方法学验证,方法可行。结论 所制定芝麻菜子药材的质量控制标准可用于评价民族药芝麻菜子的质量。

关键词:芝麻菜子;质量标准;芥子碱硫氰酸盐;脂肪油

中图分类号:R284.1

文献标志码:A

文章编号:1001-1528(2011)06-1000-05

Quality standard for *Eruca sativa* seed

ZHAO Fei-cui, WANG Guo-dong, JIANG Lin*

(The Hospital of TCM Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China)

收稿日期:2010-11-18

基金项目:国家药品(维药)标准提高研究课题项目(789)

作者简介:赵翡翠(1973—),女,副主任中药师,硕士,研究方向:中药质量标准。E-mail:zhaofeicui000@163.com

* 通信作者:姜 林,副主任药师。Tel:13999299106,E-mail:zzffcc@126.com