

3 讨论

3.1 穿心莲药用部位为植物的地上部分, 含叶绿素类成分较多, 供试品提取时先用正己烷萃取并经中性氧化铝柱去除叶绿素及其他脂溶性成分, 可减少干扰物的影响。样品液用二极管矩阵进行峰纯度检测均表明在本色谱条件下穿心莲内酯为单一色谱峰, 除去穿心莲空白样品测定显示无其他成分干扰。

3.2 穿心莲内酯微溶于水、乙醚和氯仿, 可溶于甲醇、乙醇、丙酮等。本文采用乙醇为溶媒进行提取, 我们考察了不同提取条件对供试品含量的影响, 结果以 70% 乙醇冷浸为好, 结果见表 3。故选择其作为提取条件。

表 3 不同提取条件的结果比较

Tab 3 Comparison of results in different extracting conditions							
不同提取方法	含量测定结果 (mg/片)			不同浓度乙醇	含量测定结果 (mg/片)		
	第一次	第二次	$\bar{x}$		第一次	第二次	$\bar{x}$
超声	0.3620	0.3608	0.3614	60%	0.3720	0.3690	0.3705
冷浸	0.3835	0.3727	0.3781	70%	0.4067	0.3985	0.4026
热回流	0.3625	0.3805	0.3715	80%	0.3506	0.3175	0.3341

3.3 本文建立了炎痢净片含量的测定方法, 具有简便、快速、准确的特点, 可作为含穿心莲药材的复方制剂的质量控制方法。

3.4 我们参考有关文献^[6]对其总内酯进行测定, 结果发现样品中穿心莲内酯的含量与总内酯的含量有一定的相关性, 说明控制炎痢净片中穿心莲内酯的含量对其质量控制有一定的意义。

参考文献:

[1] 阴 健. 中药现代研究与临床应用[M]. 第一册. 北京: 学苑出版社, 1993. 517

[2] 颜玉贞, 谢培山. 穿心莲质量控制的再评价[J]. 中药新药与临床药理, 1998, 9(4): 204

[3] 张 艺, 张希勇, 赖先荣, 等. 穿心莲提取工艺及其含量测定研究进展[J]. 中成药, 1993, 15(6): 6

[4] 李玲玲, 陈继翠. 薄层扫描法测定复方炎得平胶囊中穿心莲内酯的含量[J]. 中成药, 1994, 16(3): 18

[5] 张 艺, 孟宪丽, 杨文字, 等. RP-HPLC 测定穿心莲饮片中穿心莲内酯含量[J]. 中草药, 1995, 26(4): 191

(收稿日期: 2003- 08- 26; 修回日期: 2004- 11- 26)

(本文编辑 王绪明)

文章编号: 1008- 9926(2005) 01- 0062- 03 中图分类号: R927. 2 文献标识码: A

用气相色谱法同时测定石菖蒲挥发油中α-细辛醚和β-细辛醚的含量

魏立平^①, 吴玫涵

(中国人民解放军总后勤部卫生部药品仪器检验所 北京 100071)

摘 要: 目的 建立用气相色谱法同时测定石菖蒲挥发油中α-细辛醚和β-细辛醚含量的方法。方法 采用毛细管气相色谱法测定α-细辛醚和β-细辛醚的含量。色谱柱: HP- 35 毛细管气相色谱柱; 程序升温: 起始温度为 30℃, 6℃/ min 升至 220℃, 保持 5min; 进样口温度: 250℃; FID 检测器温度: 320℃; 进样量: 2. 0μl; 无分流进样; 溶剂: 甲醇; 载气: 氦气; 柱头压: 5. 5× 10⁴Pa; 内标物: α-萘酚。结果 α-细辛醚的回归方程: $Y_1 = 1. 56 \times 10^{-3} C + 4. 12 \times 10^{-3}$ ($n = 5, r = 0. 999\ 9$); 线性范围: 2. 0~ 20. 0μg· ml⁻¹; β-细辛醚的回归方程: $Y_2 = 0. 018\ 89 C + 1. 755 \times 10^{-3}$ ($n = 5, r = 0. 999\ 9$), 线性范围: 20~ 100μg· ml⁻¹; α-细辛醚和β-细辛醚的回收率分别为 99. 6% 和 99. 7%, 最低定量浓度分别为 2、20μg· ml⁻¹。结论 方法灵敏, 定量准确, 重复性好, 适用于石菖蒲挥发油中α-细辛醚和β-细辛醚的含量测定。

关键词: α-细辛醚; β-细辛醚; 石菖蒲; 气相色谱法

Determination of α-Asarone and β-Asarone in Volatile Oil from Acorus. Tatarinowii Schott. By Capillary GC

WEI Li-Ping, WU Mei-Han

(Institute for Drug and Instrument Control of Health Dept GLD of PLA, Beijing 100071 China)

ABSTRACT: Aim To develop a method for determine α-Asarone and β-Asarone in volatile oil from Acorus. Tatarinowii Schott. Methods A capillary GC method was applied to determine the concentration of α-Asarone and β-Asarone. The GC

^① 作者简介: 魏立平(1970-), 女, 北京人, 硕士, 主管药师。研究方向: 药物分析。Tel: (010) 66949077
©1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

system included: HP-35 column, Helium as carrier gas. Injection volume was 2.0 μl with splitless inject mode. α -naphthol was used as interior standard substance. **Results** The linear equation of α -Asarone: $Y_1 = 1.56 \times 10^{-3} C + 4.12 \times 10^{-3}$ ($n = 5$, $r = 0.9999$) was obtained in the range of 2.0~20.0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ (Y_1 : ratio of the peak area of α -Asarone and of α -naphthol, C_1 : concentration of β -Asarone). The linear equation of β -Asarone: $Y_2 = 0.01889 C + 1.755 \times 10^{-3}$ ($n = 5$, $r = 0.9999$) was obtained in the range of 20.0~100.0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ (Y_2 : ratio of the peak area of β -Asarone and of α -naphthol, C_2 : concentration of β -Asarone). The recovery of α -Asarone and β -Asarone were 99.6% and 99.7% respectively. The limit of quantification 2~25 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ of α -Asarone and β -Asarone were achieved respectively. **Conclusion** The method is accurate, sensitive and suitable.

KEY WORDS: β -Asarone; *Acorus. Tatarinowii* Schott.; Capillary GC

石菖蒲为天南星科植物石菖蒲 (*Acorus tatarinowii* Schott.) 的根茎。据文献报道, 石菖蒲挥发油具有镇静抗惊^[1], 解痉平喘^[2,3] 及抗心律失常^[4] 等作用, α -细辛醚和 β -细辛醚是其中的主要有效成分。本文建立了用气相色谱法同时测定石菖蒲挥发油中 α -细辛醚和 β -细辛醚浓度的方法, 操作简便, 定量准确。

1 材料与仪器

1.1 药品与试剂 石菖蒲(同仁堂药店, 经总后卫生部药品仪器检验所中药室靳守东副主任药师鉴定为天南星科植物石菖蒲的干燥根茎)。 α -细辛醚对照品(含量 99%) 和 β -细辛醚对照品(经标化, 含 β -细辛醚 70.9%) (均为 Fluka 试剂, 购自迪马科技有限公司)。甲醇(HPLC 级); α -萘酚、乙醚均为分析醇。超纯水, 自制。

1.2 仪器 HP5890 气相色谱仪(美国 HP 公司), FID 检测器(美国 HP 公司), Sartorius R200D 电子天平(德国 SARTORIUS 公司)。

2 方法

2.1 色谱条件 HP-35 毛细管气相色谱柱; 程序升温: 起始温度为 30 $^{\circ}\text{C}$, 6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 220 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5min; 进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 检测器温度: 320 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 2.0 μl ; 无分流进样; 溶剂: 甲醇; 载气: 氦气; 柱头压: $5.5 \times 10^4 \text{ Pa}$; 内标物: α -萘酚。

2.2 样品溶液的制备 用水蒸汽蒸馏法提取石菖蒲中的挥发油, 称取适量, 以 α -萘酚, 以甲醇溶解, 进样。

2.3 对照品溶液的制备 称取 α -细辛醚、 β -细辛醚对照品适量, 加 0.2 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ α -萘酚的甲醇溶液制成含 α -细辛醚 0.1 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的对照品溶液(1)和含 β -细辛醚 0.5 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的对照品溶液(2)。

3 结果

3.1 方法专属性 取对照品溶液(1)、(2)等量混匀及样品溶液 2.0 μl 进样, 记录色谱图, 见图 1。结果 α -细辛醚、 β -细辛醚及 α -萘酚分离良好, 保留时间分别为 33.2、31.8、30.2min, 溶剂中无杂质干扰测定。

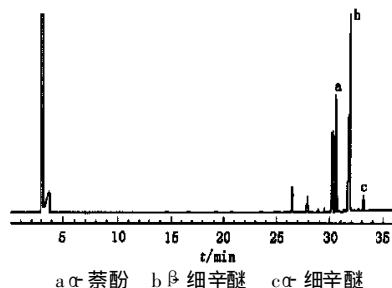


图 1 石菖蒲挥发油样品溶液的气相色谱图

Fig 1 GC Chromatograms of volatile oil from *Acorus Tatarinowii* Schott. and α -naphthol (IS)

3.2 标准曲线 以 α -萘酚的甲醇溶液为溶剂, 配制 α -细辛醚浓度分别为 2.0、5.0、10.0、15.0、20.0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的对照品溶液, 按试验方法所述测定 ($n = 5$)。以 α -细辛醚与内标峰的峰面积比 (Y_1) 对 α -细辛醚的浓度 (C_1) 作图。其回归方程:

$$Y_1 = 1.56 \times 10^{-3} C + 4.12 \times 10^{-3}, r = 0.9999$$

以 α -萘酚的甲醇溶液为溶剂, 配制 β -细辛醚浓度分别为 20.0、40.0、60.0、80.0、100.0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的对照品溶液, 按所述试验方法测定 ($n = 5$)。以 β -细辛醚与内标峰的峰面积比 (Y_2) 对 β -细辛醚的浓度 (C_2) 作图。其回归方程:

$$Y_2 = 0.01889 C + 1.755 \times 10^{-3}, r = 0.9999$$

3.3 精密度试验 以 α -萘酚的甲醇溶液为溶剂, 配制浓度为 10.0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的 α -细辛醚对照品溶液 1, 按试验方法所述重复进样, 测得 α -细辛醚与内标峰的峰面积比, 计算精密度。RSD 为 0.2% ($n = 6$)。

以 α -萘酚的甲醇溶液为溶剂, 配制浓度分别为 60.0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的 β -细辛醚对照品溶液(2), 按试验方

法所述重复进样,测得 β -细辛醚与内标峰的峰面积比,计算精密度。 RSD 为 0.1% ($n = 6$)。

3.4 重复性试验 取石菖蒲挥发油样品 1 批,重复测定,计算方法重现性。 α -细辛醚: RSD 为 2.9% ($n = 6$); β -细辛醚: RSD 为 2.0% ($n = 6$)。结果表明,方法重现性可满足含量测定要求。

3.5 溶液稳定性 配制石菖蒲挥发油样品溶液,置室温保存,于第 1、2、4、6、8d 重复测定,计算日间差异。结果表明, α -细辛醚及 β -细辛醚日间 RSD 分别为 2.5% 和 2.0%。

3.6 加样回收率 称取已知含量的石菖蒲挥发油样品 9 份,按高、中、低 3 个水平分别加入 α -细辛醚对照品,按以上方法测定,计算回收率。结果见表 1。另称取已知含量的石菖蒲挥发油样品 9 份,按高、中、低 3 个水平分别加入 β -细辛醚对照品,按以上方法测定,计算回收率。结果见表 2。

表 1 α -细辛醚的加样回收率试验结果

Tab 1 Results of average recovery examination for α -Asarone						
序号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
1	5.20	5.12	10.40	101.3	99.6	1.5
2	5.35	5.01	10.24	98.0		
3	5.06	5.63	10.53	97.4		
4	5.46	6.12	11.57	99.8		
5	5.70	6.53	12.15	98.9		
6	5.12	6.31	11.49	101.0		
7	5.63	7.36	13.07	101.2		
8	5.15	7.01	12.19	100.5		
9	5.60	7.16	12.68	98.7		

表 2 β -细辛醚的加样回收率试验结果

Tab 2 Results of average recovery examination for β -Asarone						
序号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
1	10.09	8.21	18.35	100.56	99.7	0.9
2	10.26	8.10	18.26	98.75		
3	10.35	8.09	18.33	99.70		
4	10.41	10.11	20.48	99.64		
5	10.06	10.22	20.15	98.76		
6	10.16	10.16	20.42	101.03		
7	10.56	12.06	22.65	100.26		
8	10.62	11.86	22.32	98.63		
9	10.31	12.20	22.46	99.57		

3.7 样品测定 取石菖蒲药材 6 批,用水蒸汽蒸馏法提取挥发油,按试验方法所述进行测定,以内标法计算 α -细辛醚及 β -细辛醚含量。结果见表 3。

4 讨论

4.1 据文献^[5,6]报道, α -细辛醚和 β -细辛醚是石菖

表 3 样品测定结果

Tab 3 Results of determination for samples			
批号	挥发油提取率 (%)	α -细辛醚含量 (%)	β -细辛醚含量 (%)
011009(北京)	2.0	60.0	2.9
011120(北京)	1.6	52.1	3.5
020105(北京)	1.5	46.6	5.2
020106(天津)	2.5	55.5	1.4
011020(广州)	2.2	37.2	2.6
011126(广州)	3.0	51.2	8.6

蒲挥发油中的主要有效成分。二者互为顺反异构体,性质极为相近,双键顺反异构体可通过碱催化重排等方式相互转化,在某些有机溶剂中, β -细辛醚亦会以较快的速度向 α -细辛醚转化。本文考查了 β -细辛醚、 α -细辛醚在甲醇、氯仿、乙腈、二甲亚砜、乙酸乙酯、乙醚和二氯甲烷为溶剂等 7 种不同溶剂中的稳定性,以其在乙醚和甲醇中相对稳定。因乙醚挥发性较强,不易准确定容,所以选择甲醇为溶剂。

4.2 共筛选了十四烷、正庚烷、二甲苯、甲苯、萘、苯酚、 α -萘酚等 7 种化合物,其中,以 α -萘酚与待测样品峰最为接近,色谱峰型对称,又与样品中各组分完全分离,不影响测定,故选作内标物质。

4.3 本文中所测的 6 种石菖蒲挥发油样品中 α -细辛醚和 β -细辛醚的含量差异较大,原因是多方面的,文献^[7]中也有相关报道。其主要原因是产地与采收期的不同。此外,应考虑 α -细辛醚和 β -细辛醚在特定条件下的相互转化也是原因之一。

4.4 用毛细管气相色谱法测定石菖蒲挥发油中 α -细辛醚和 β -细辛醚的含量,方法灵敏度高,专属性强,定量准确,可用于控制石菖蒲的质量。

参考文献:

[1] 刘国卿,蒋莹.几种中药挥发油的急性毒性及对戊巴比妥钠的协同作用[J].中国药科大学学报,1989,20(1):57
[2] 刘国卿,孙建宁,何正正,等.石菖蒲挥发油有效成份的解痉作用[J].中国药理学报,1983,4(2):95
[3] Keller K. Spasmolytische Wirkung des Isoasaronefreien kalmus [J]. Planta Med , 1985, (1): 6
[4] 申军,肖柳英,张丹.石菖蒲挥发油抗心律失常的试验研究[J].广州医药,1993,24(3):44
[5] 董小萍,邓放.石菖蒲质量标准研究进展[J].成都中医药大学学报,2001,24(1):60
[6] 杨晓燕,陈发奎.菖蒲的化学成分研究概况[J].中国药科大学学报,1999,16(1):71
[7] 杨春澍,张家俊,潘炯光,等.中国细辛属挥发油的气相色谱-质谱分析(第四报)[J].中药通报,1986,11(7):39

(收稿日期:2004-04-22;修回日期:2004-11-29)

(本文编辑 王绪明)