

文章编号: 1006-2858(2006)06-0373-03

HPLC 法测定香附二氧化碳超临界流体萃取物中 α 型 β 香附酮与香附烯酮含量

侯晓虹¹, 李 岩², 唐 星¹, 张悦杨¹

(1. 沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 沈阳药科大学 制药工程学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 测定香附二氧化碳超临界流体萃取物中 α 型 β 香附酮和香附烯酮的含量。方法 采用 HPLC 法。色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水(体积比为 70:30); 流速: 0.8 mL · min⁻¹; 检测波长: 247 nm; 柱温: 40 °C。结果 α 型 β 香附酮进样量在 20.84~208.4 ng 内线性关系良好($r = 0.999\ 9$), 平均回收率为 98.4%(RSD = 1.83%, $n = 6$); 香附烯酮进样量在 5.220~52.20 ng 内线性关系良好($r = 0.999\ 9$), 平均回收率为 99.0%(RSD = 2.12%, $n = 6$)。3 批供试品中 α 型 β 香附酮和香附烯酮含量的质量分数分别为 11.96%(RSD = 1.22%, $n = 3$)、11.31%(RSD = 1.24%, $n = 3$)、11.30%(RSD = 0.96%, $n = 3$) 和 2.23%(RSD = 1.62%, $n = 3$)、2.27%(RSD = 1.16%, $n = 3$)、2.15%(RSD = 1.42%, $n = 3$)。结论 HPLC 法可同时测定香附二氧化碳超临界流体萃取物中 α 型 β 香附酮和香附烯酮的含量; 供试品中 α 型 β 香附酮和香附烯酮与其他组分的色谱峰分离度良好。

关键词: 香附; 二氧化碳超临界流体; 萃取物; α 型 β 香附酮; 香附烯酮; 高效液相色谱法

中图分类号: R 917; R 284.1

文献标识码: A

香附(Rhizoma Cyperi)为莎草科植物莎草(*Cyperus rotundus* L.)的干燥根茎,具行气解郁、调经止痛之功效^[1]。其活性成分挥发油中主要含有 α 型 β 香附酮(cyperone)、广藿香烯酮(patchoulene)、香附烯酮(cyperotundone)、香附烯(cyperene)、考巴二烯(copadiene)等成分^[2]。文献报道测定香附中香附酮含量的方法有气相色谱法^[3]、薄层色谱-紫外分光光度法^[4]、气质联用法^[2],而香附烯酮的含量测定方法尚未见报道。在对香附二氧化碳超临界流体萃取(SFECO₂)物进行新药研究中,需要建立准确、快速、灵敏的质量控制方法。作者采用 HPLC 法同时测定了香附二氧化碳超临界流体萃取物中 α 型 β 香附酮和香附烯酮含量。 α 型 β 香附酮和香附烯酮的结构式见图 1^[5]。

1 仪器与材料

LC-10A 高效液相色谱仪(包括 LC-10A Tvp 泵、SPD-10Avp 检测器、Chrom King 色谱工作站,日本 Shimadzu 公司)。

Diamonsil(钻石) C₁₈ 色谱柱(200 mm ×

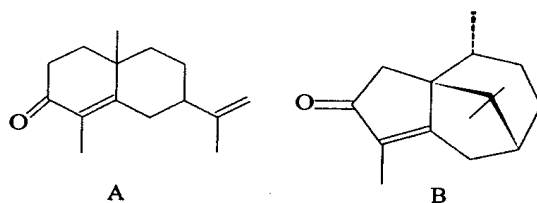


Fig. 1 Structures of cyperone(A) and cyperotundone(B)

4.6 mm, 5 μ m, 中国迪马公司)。

α 型 β 香附酮和香附烯酮(对照品,自制,纯度质量分数均为 100.0%,且一化法得;经 UV、MS、NMR 确定结构,且与文献报道一致),香附二氧化碳超临界流体萃取物(供试品,自制),甲醇(色谱纯,天津康科德科技有限公司),重蒸水(自制)。

2 方法与结果

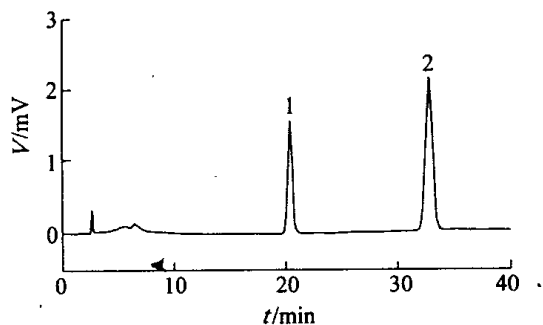
2.1 色谱条件选择及系统适用性试验

色谱柱: Diamonsil(钻石) C₁₈ 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水(体积比为 70:30); 流速: 0.8 mL · min⁻¹; 检测波长: 247 nm; 柱温: 40 °C。

收稿日期: 2005-12-08

作者简介: 侯晓虹(1966-),女(汉族),辽宁沈阳人,副教授,主要从事药物分析教学工作, Tel. 024-23986259, E-mail hou_xiaohong@hotmail.com。

在选定的色谱条件下, α 型 β -香附酮和香附烯酮色谱峰的理论塔板数分别为8 996和8 329,与



1—Cyperotundone; 2— β -cyperone

Fig. 2 Chromatograms of β -cyperone and cyperotundone standard substances

2.2 溶液的制备

α 型 β -香附酮储备液:取 α 型 β -香附酮对照品约5 mg,精密称定,置10 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取1.0 mL,置10 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,备用。

香附烯酮储备液:取香附烯酮对照品约10 mg,置25 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取1.0 mL,置25 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,备用。

对照品溶液:分别精密量取 α 型 β -香附酮储备液4.0 mL、香附烯酮储备液3.0 mL,共置10 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀。

2.3 线性关系考察

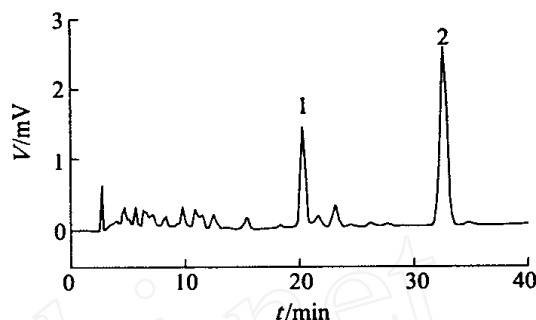
分别精密吸取对照品溶液1、2、4、6、8、10 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图,测量峰面积(A),以进样量(m , ng)对峰面积进行线性回归。得回归方程: α 型 β -香附酮 $A = 12\,269m - 3\,314$ ($r = 0.999\,9$);香附烯酮 $A = 23\,532m - 1\,583$ ($r = 0.999\,9$)。

结果表明, α 型 β -香附酮进样量在20.84~208.4 ng内、香附烯酮进样量在5.220~52.20 ng内呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验

精密吸取对照品溶液1、4、10 μ L各3针,分别注入液相色谱仪,记录色谱图,测量峰面积,计算RSD值, α 型 β -香附酮和香附烯酮高、中、低质量浓度的RSD分别为1.72%、1.59%、1.67%和1.36%、1.00%、1.23%。由结果可知,本法测定 α 型 β -香附酮的RSD值不大于1.72%,测定香附烯酮的RSD值不大于1.36%。

相邻色谱峰的分离度均大于1.5。 α 型 β -香附酮、香附烯酮对照品和供试品色谱图分别见图2、3。



1—Cyperotundone; 2— β -cyperone

Fig. 3 Chromatograms of β -cyperone and cyperotundone in sample

2.5 溶液稳定性考察

精密称取香附二氧化碳超临界流体萃取物约20 mg,置10 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取该溶液1 mL,置25 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀。分别在配制后0、1、2、4、8 h测定,考察供试品稳定性。测定结果表明,供试品溶液在8 h内稳定。

2.6 回收率试验

取3批香附二氧化碳超临界流体萃取物中的1批(α 型 β -香附酮和香附烯酮的含量的质量分数分别为11.30%、2.15%)约20 mg,精密称定,置25 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取1.0 mL,置10 mL量瓶中,分别精密加入 α 型 β -香附酮和香附烯酮对照品储备液2.0 mL和1.0 mL,用甲醇稀释至刻度,摇匀;取10 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图,计算回收率。测定结果表明, α 型 β -香附酮和香附烯酮的平均回收率分别为98.4%(RSD = 1.83%, $n = 6$)和99.0%(RSD = 2.12%, $n = 6$)。

2.7 供试品测定

取香附二氧化碳超临界流体萃取物约20 mg,置10 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀;精密吸取1.0 mL,置25 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;取10 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图,测量峰面积,采用标准曲线法计算含量。结果见表1。3批供试品中, α 型 β -香附酮和香附烯酮含量的质量分数分别为11.96%(RSD = 1.22%, $n = 3$)、11.31%(RSD = 1.24%, $n = 3$)、11.30%(RSD = 0.96%, $n = 3$)和2.23%(RSD = 1.62%, $n = 3$)、2.27%(RSD = 1.16%, $n = 3$)、2.15%(RSD = 1.42%, $n = 3$)。

Table 1 Contents of β -cyperone and cyperotundone in Rhizoma Cyperi CO₂ supercritical fluid extracts

Samples	<i>m</i> (Rhizoma Cyperi) / mg	β -cyperone		Cyperotundone	
		<i>m</i> _{mes} / mg	w/ %	<i>m</i> _{mes} / mg	w/ %
1	19. 7	2. 333	11. 84	0. 4413	2. 24
	20. 1	2. 394	11. 91	0. 4543	2. 26
	19. 7	2. 388	12. 12	0. 4314	2. 19
2	19. 5	2. 203	11. 30	0. 4388	2. 25
	20. 2	2. 315	11. 46	0. 4646	2. 30
	20. 2	2. 258	11. 18	0. 4565	2. 26
3	20. 3	2. 342	11. 39	0. 4425	2. 18
	19. 6	2. 197	11. 18	0. 4155	2. 12
	20. 1	2. 281	11. 33	0. 4342	2. 16

3 讨论

对 α 型 β -香附酮对照品溶液和香附烯酮对照品溶液在波长 200~400 nm 扫描, α 型 β -香附酮对照品在 248.8 nm、香附烯酮对照品在 244.6 nm 有最大吸收。为同时测定两组分的含量,故将检测波长选定在 247 nm。

香附二氧化碳超临界流体萃取物所含化学成分复杂,除 α 型 β -香附酮和香附烯酮外,尚有多种其他挥发油成分。应用 HPLC 法,在选定的色谱条件下,供试品中 α 型 β -香附酮和香附烯酮与其他组分的色谱峰分离度良好。该法可作为中药香附质量控制的方法。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部 [Z]. 北京:化学工业出版社,2000. 212.

[2] 李卫民,高英,曾建青,等. 香附 CO₂ 超临界萃取物的化学成分研究 [J]. 中草药,2000,31(10):734 - 735.

[3] 陈胜璜,蒋孟良,袁干军,等. 香附不同炮制品中 α 型-香附酮的含量测定 [J]. 中药材,1999,22(7):343 - 44.

[4] 张玉洁. 七制香附丸中 α -香附酮的含量测定 [J]. 河南中医药学刊,1999,14(4):17 - 18.

[5] 赵陆华. 高效液相色谱法分析中药成分手册 [M]. 北京:中国医药科技出版社,1998. 455 - 457.

Determination of contents of β -cyperone and cyperotundone in Rhizoma Cyperi CO₂ supercritical fluid extracts by HPLC

HOU Xiao-hong¹, Li Yan², TANG Xing¹, ZHANG Yue-yang¹
(1. School of Phamarcy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. School of Phamarceutical Engineering, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract : Objective To determine the contents of β -cyperone and cyperotundone in Rhizoma Cyperi CO₂ supercritical fluid extracts by reversed-phase HPLC method. **Methods** The sample was separated on a C₁₈ column with the mobile phase of methanol in water solution (V : V = 70 : 30). The flow rate was 0.8 mL · min⁻¹ and the detection wavelength was set at 247 nm. **Results** The calibration curve was linear in the range of 20.84 - 208.4 ng for β -cyperone (r = 0.999 9) and 5.220 - 52.20 ng for cyperotundone (r = 0.999 9). The average recoveries of β -cyperone and cyperotundone were 98.4 % (RSD = 1.83 %, n = 6) and 99.0 % (RSD = 2.12 %, n = 6), respectively. The contents of β -cyperone and cyperotundone in three batches of the Rhizoma Cyperi CO₂ supercritical fluid extracts were 11.96 % (RSD = 1.22 %, n = 3), 11.31 % (RSD = 1.24 %, n = 3), 11.30 % (RSD = 0.96 %, n = 3), 2.23 % (RSD = 1.62 %, n = 3), 2.27 % (RSD = 1.16 %, n = 3), 2.15 % (RSD = 1.42 %, n = 3), respectively. **Conclusions** The method is simple and accurate. It can be used as a method of quality control for products containing β -cyperone and cyperotundone.

Key words : Rhizoma Cyperi; CO₂ supercritical fluid; extracts; β -cyperone; cyperotundone; HPLC