

GC法测定浙江蜡梅中桉油精的含量^Δ

吕 兰^{1*}, 王伟影²(1.浙江中医药大学附属广兴医院/杭州市中医院中药房, 杭州 310007; 2.丽水市食品药品检验所, 浙江 丽水 323000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)21-2991-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.21.40

摘 要 目的:建立测定浙江蜡梅中桉油精含量的方法。方法:采用气相色谱法。色谱柱为Zebron ZB-WAX毛细管柱,采用程序升温;检测器为氢火焰离子化检测器,检测器温度为250℃,进样口温度为220℃,高纯氮气作载气。结果:桉油精质量浓度在0.017 69~1.415 mg/ml范围内与其峰面积呈良好的线性关系($r=0.999 1$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD $\leq 1.87\%$;平均加样回收率为99.72%,RSD为0.65%($n=6$)。相同月份不同地区采集的浙江蜡梅中的桉油精含量存在较大差异,最大可差1倍以上(1.064%~0.450%),同一地区不同月份采集的也存在较大差异(0.633%~1.064%)。结论:本方法简便、准确、快速、重复性好,适用于浙江蜡梅的质量控制。

关键词 浙江蜡梅;桉油精;气相色谱法;含量测定

Content Determination of the Eucalyptol in *Chimonanthus Zhejiangensis* by GC

LYU Lan¹, WANG Wei-ying² (1.Dept. of Chinese Medicine, Guangxing Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University/Hangzhou Hospital of TCM, Hangzhou 310007, China; 2.Lishui Institute for Food and Drug Control, Zhejiang Lishui 323000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for content determination of eucalyptol in *Chimonanthus Zhejiangensis*. METHODS: GC was conducted with Zebron ZB-WAX capillary column with temperature programmed; FID detector was used with the temperature of 250 °C; the volume temperature was 220 °C and the carrier gas was nitrogen with high purity. RESULTS: Eucalyptol had a good linear relationship in the range of 0.017 69-1.415 mg/ml($r=0.999 1$); the RSDs of precisions, stability and reproducibility tests were no more than 1.87% and the average recovery was 99.72% (RSD=0.65%, $n=6$). There were big differences in different areas of the same month and the maximum was more than one time (1.064%-0.450%); there were also big differences in the same area of different months (0.633%-1.064%). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, fast and reproducible and suitable for the quality control of *Chimonanthus Zhejiangensis*.

KEYWORDS *Chimonanthus Zhejiangensis*; Eucalyptol; GC; Content determination

磷脂酰胆碱本身存在于咽鼓管的细胞膜外质膜上,无论是患者还是健康人的咽鼓管灌洗液中均含有磷脂酰胆碱,其含量因人而异,且一位患者每次咽鼓管灌洗液所能获取的量很少。所以,本试验不同于测定药品中某一成分的含量,也不同于测定血清中某药物的含量,在进行回收率试验时只能用空白溶液作基础溶液计算回收率。

3.4 磷脂酰胆碱的稳定性

磷脂酰胆碱性质不稳定,其含有的不饱和脂肪酸结构使其易发生氧化^[5-9]。氮气是惰性气体,不会与磷脂酰胆碱产生反应,也不会催化其反应,用氮气吹干磷脂酰胆碱能避免磷脂酰胆碱在室温下长时间放置而发生分解和氧化。磷脂酰胆碱贮备液需放置于冰箱内避光保存,且应定期重新配制,在样本处理过程中应尽可能减少操作时间。

综上所述,本方法可操作性强、结果准确,可用于分泌性

中耳炎患者咽鼓管灌洗液中磷脂酰胆碱的含量测定。

参考文献

- [1] 《化学药物临床药代动力学研究技术指导原则》课题组.化学药物临床药代动力学研究技术指导原则[S].2005-03-18.
- [2] 冯立宁,陈文弦,张晓楠,等. β -受体激动剂对咽鼓管表面活性物质分泌的影响[J].中华航空航天医学杂志,2000,11(4):225.
- [3] 吉晓滨,王群芳,廖军,等.健康人鼻咽部表面活性物质的测定[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2007,14(3):169.
- [4] 叶人涌,沈惠风,许以平,等.哮喘豚鼠肺泡表面活性物质分泌的实验研究[J].实用预防医学,2009,16(3):666.
- [5] 李卫,邵友元,黄光斗,等.卵磷脂的提取及热稳定性研究[J].甘肃化工,2001(2):71.
- [6] 何新霞,徐丽珊,杨玲.大豆磷脂胶丸稳定性的初步考察[J].中国药学杂志,1999,34(8):538.

(收稿日期:2014-12-19 修回日期:2015-06-22)

(编辑:周 箐)

^Δ 基金项目:丽水市科学技术局项目(No.2012cxtd09-05; No.2012cxtd11-03)

* 主管中药师,硕士研究生。研究方向:中成药、中药材(饮片)的质量分析。电话:0571-86728851。E-mail:45585781@qq.com

浙江蜡梅(*Chimonanthus Zhejiangensis*)为蜡梅科植物,产于浙江南部、福建北部,其叶入药,为一种历史悠久的兽药——食凉茶的原料。畜民主要用其治疗伤食所致的痞证和慢性胃炎、胃及十二指肠溃疡引起的胃胀、胃痛、泛酸等,及防治感冒和流行性感冒^[1]。2005年版《浙江省中药炮制规范》^[2]以兽药名“食凉茶”记载此品种,是11味被收录的兽药中唯一被收录在常用中药中的。在该标准中以传统的水蒸气蒸馏的方法测定挥发油含量,对其进行质量控制。关于浙江蜡梅的研究报道极少^[3-4],而关于兽药“食凉茶”的另一来源柳叶蜡梅(*Chimonanthus salicifolius*)研究较多。相关研究显示,桉油精是浙江蜡梅的挥发油中稳定存在的主要成分,且占据较大比例^[4-5]。本试验选取桉油精为指标性成分,采用气相色谱(GC)法,对浙江蜡梅中该成分的含量进行测定,探索以该成分的含量作为其质控标准的可行性。

1 材料

1.1 仪器

6890型GC仪,包括自动进样器(美国Agilent公司);XS105DU型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);DL-360D型智能超声波清洗器(上海之信仪器有限公司,功率:360 W,频率:40 kHz)。

1.2 试剂

桉油精对照品购自中国食品药品检定研究院(批号:110788-201004,纯度:99.6%);乙醇为色谱纯。

1.3 药材

浙江蜡梅(*Chimonanthus Zhejiangensis*)的干燥叶,自行采集,经由丽水市食品药品检验所李水福主任中药师鉴定,详见表1(注:水分采用甲苯法测得)。

表1 浙江蜡梅药材一览

Tab 1 List of *Chimonanthus Zhejiangensis*

编号	来源	采收年月	水分, %
1	浙江省庆元县	2014.5	10.2
2	浙江省云和县	2014.5	9.8
3	浙江省云和县	2014.6	10.5
4	浙江省青田县	2014.6	10.5
5	浙江省丽水市莲都区	2014.7	8.9
6	浙江省庆元县	2014.7	8.2
7	浙江省龙泉市	2014.8	8.0

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Zebron ZB-WAX 毛细管柱(60 m×0.32 mm, 0.5 μm);程序升温:60℃保持1 min,以10℃/min的速率升温至90℃,保持5 min,以50℃/min的速率升温至200℃,保持15 min;进样口温度:220℃;检测器:氢火焰离子化检测器;检测器温度:250℃;载气:99.999%的高纯氮气;流速:1.0 ml/min;对照品进样量:1 μl,样品进样量:0.5 μl,不分流。在此

色谱条件下,桉油精与其他成分可达到基线分离,分离度大于1.5,理论板数在300 000以上,具有良好的分离效果,详见图1。

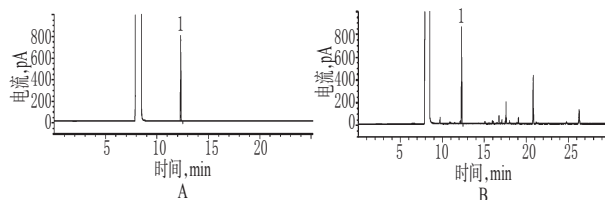


图1 气相色谱图

A.对照品;B.供试品;1.桉油精

Fig 1 GC chromatograms

A.reference;B.test sample;1.eucalyptol

2.2 对照品溶液的制备

精密称取桉油精对照品适量,加乙醇制成质量浓度为2.358 4 mg/ml的溶液作为对照品贮备液。精密吸取对照品贮备液,加乙醇制成0.176 9 mg/ml的溶液作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

本品过二号筛粉末,取约1.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入乙醇25 ml,密塞,称定质量,冷浸24 h后超声处理30 min,放冷至室温,再称定质量,用乙醇补足减失的质量,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2”项下对照品贮备液适量,制成质量浓度为0.017 69、0.035 38、0.070 75、0.176 9、0.353 8、0.707 5、1.415 mg/ml的系列对照品溶液,各进样1 μl,按“2.1”项下色谱条件进行测定。以桉油精质量浓度(x, mg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=10\ 108.6x-36.241\ 2$ ($r=0.999\ 1$)。结果表明,桉油精质量浓度在0.017 69~1.415 mg/ml范围内与其峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取“2.2”项下对照品溶液1 μl,按“2.1”项下色谱条件连续进样5次,记录峰面积。结果,桉油精峰面积的RSD为0.62%($n=5$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一供试品(编号:1)溶液适量,分别于放置0、4、8、12、18、24 h时,精密吸取0.5 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,桉油精峰面积的RSD为1.63%($n=6$),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批浙江蜡梅干燥药材(编号:1)1.5 g,平行取样6份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算含量。结果,按干燥品计,桉油精的质量分数为0.518%,RSD为1.87%($n=6$),表明本方法重复性较好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量的浙江蜡梅药材(编号:1)共6份,各约0.75 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入“2.2”项下对照品贮备液(2.358 4 mg/ml)1.5 ml,再分别精密加入乙醇23.5 ml,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算加样回收率,结果详见表2。

表2 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 2 Results of recovery test(n=6)

称样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.750 3	3.505 7	3.537 6	7.043 6	100.01		
0.751 2	3.509 9	3.537 6	7.073 8	100.74		
0.746 9	3.489 8	3.537 6	7.002 5	99.30	99.72	0.65
0.749 1	3.500 1	3.537 6	7.033 1	99.87		
0.752 0	3.513 6	3.537 6	7.010 3	98.84		
0.748 7	3.498 2	3.537 6	7.019 9	99.55		

2.9 样品含量测定

分别取不同编号的样品约1.5 g,各3份,精密称定,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以干燥品计算样品含量,结果详见表3。

表3 样品含量测定结果(n=3)

Tab 3 Results of content determination of samples(n=3)

编号	桉油精质量分数, %
2	0.633
3	1.064
4	0.450
5	0.596
6	0.933
7	1.088

3 讨论

3.1 提取方法的选择

2005年版《浙江省中药炮制规范》中采用传统的水蒸气蒸馏方法测定食凉茶挥发油,样品取样量至少25 g,提取时间约为5.5 h;2010年版《中国药典》(一部)豆蔻^[6]挥发油项下采取的提取方法为传统的水蒸气蒸馏,以正己烷为接收溶剂的提取方法,样品取样量为5 g,提取时间约为2.5 h。此两种方法提取过程均相当烦琐。本试验根据桉油精易溶于乙醇的性质,以乙醇为溶剂考察提取方法。由于桉油精是挥发性物质,故选择超声的方式,并考察了超声时间、乙醇用量。大量预试验后发现,冷浸24 h后超声30 min的提取效果最佳,与以正己烷为接收溶剂的水蒸气蒸馏几乎无差别。因此,选择简便的冷浸加超声法作为样品的提取方法。

3.2 程序升温方法的选择

桉油精的沸点为176~178 ℃,本试验结合相关文献报道^[7-10],尝试了多种程序升温方法,最终发现以“60 ℃保持1 min,以10 ℃/min的速率升温至90 ℃,保持5 min,以50 ℃/min

的速率升温至200 ℃,保持15 min”为最佳方法。按此方法,其他组分对桉油精完全无干扰,理论板数在300 000以上,具有良好的分离效果。

3.3 产地与采收时间对桉油精含量的影响

表3结果显示,相同月份不同地区采集的浙江蜡梅中的桉油精含量存在较大差异,最大可差1倍以上(1.064%与0.450%)。同一地区不同月份采集的也存在较大差异(0.633%与1.064%)。桉油精质量分数最低的为0.518%,最高的为1.088%,产地、采收期均对含量有一定影响。当然,浙江蜡梅中桉油精含量变化趋势的确定还需科学地收集更多批次的浙江蜡梅进行测定。

畚药食凉茶作为畚族民间用药具有悠久的历史,且功效明确,而浙江蜡梅作为其重要来源之一,在浙江省分布较广,具有一定的开发意义。目前,关于浙江蜡梅的研究甚少,且尚无相关质量控制方法,故本试验首次建立了该药材中桉油精含量的GC测定法。研究表明,本方法简便、准确、快速、重复性好,适用于浙江蜡梅的质量控制。

参考文献

- [1] 胡剑影,李水福.畚药食凉茶[J].传统医药,2009,18(10):78.
- [2] 浙江省食品药品监督管理局.浙江省中药炮制规范[S].2005年版.杭州:浙江科学技术出版社,2005:310-311.
- [3] 程东庆,方浩,潘佩蕾,等.浙江蜡梅叶提取物抑菌试验[J].实用中医药杂志,2005,21(5):314.
- [4] 欧阳婷,麦曦.浙江蜡梅叶挥发油化学成分GC-MS分析[J].中药材,2010,33(3):385.
- [5] 竺叶青,黄沁,王智华,等.中国蜡梅属植物开花期与营养期叶挥发油化学成分的比较[J].中成药研究,1987(7):31.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:156-157.
- [7] 魏惠珍,饶毅,陈燕军,等.气相色谱法测定山蜡梅叶中桉油精和芳樟醇[J].中草药,2010,41(7):1 190.
- [8] 黄家宇,李莉,刘青,等.气相色谱法测定艳山姜中的桉油精[J].华西药学杂志,2014,29(37):326.
- [9] 赖东美,胡珊梅,李玲玲.GC法测定万金油中桉油精和丁香酚的含量[J].中国药房,2011,22(13):1 211.
- [10] 王伟影,毛菊华,余华丽,等.GC法测定柳叶蜡梅中桉油精的含量[J].中国药师,2015,18(1):154.

(收稿日期:2014-12-02 修回日期:2015-02-09)

(编辑:余庆华)

《中国药房》杂志——《化学文摘》(CA)收录期刊,欢迎投稿、订阅