

GC法测定不同来源苍术饮片中茅术醇和 β -桉叶醇的含量^Δ

姚佳*, 刘玉强, 才谦[#](辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)03-0246-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.03.18

摘要 目的:建立测定苍术饮片中茅术醇和 β -桉叶醇含量的方法,并对不同来源苍术饮片中二者含量进行测定。方法:以正十六醇为内标物,采用气相色谱法进行测定。色谱柱为HP-5石英弹性毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μ m),载气为氮气,检测器为氢火焰检测器(FID),采用程序升温方式,分流进样(10:1),进样口温度为220 $^{\circ}$ C,检测器温度为250 $^{\circ}$ C。结果:茅术醇和 β -桉叶醇的进样量分别在0.40~2.40、0.08~0.48 μ g范围内同内标物的比值与各自峰面积积分值呈良好的线性关系(r 分别为0.999 8、0.999 1);精密密度、稳定性、重复性试验的RSD<3%;平均加样回收率分别为99.15%、101.04%,RSD分别为1.51%、1.52%(n 均为6)。不同来源苍术饮片中茅术醇和 β -桉叶醇的含量差异较大,以湖北英山药材中二者含量最高。结论:该方法简便、准确、重复性好,可用于苍术饮片的质量控制。

关键词 苍术;茅术醇; β -桉叶醇;气相色谱法;含量测定;内标

Content Determination of Hinesol and β -eudesmol in Atractylodis Rhizoma Decoction Pieces from Different Sources by GC

YAO Jia, LIU Yu-qiang, CAI Qian (College of Pharmacy, Liaoning University of TCM, Liaoning Dalian 116600, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of hinesol and β -eudesmol in Atractylodis Rhizoma decoction pieces, and to determine the contents of them in samples from different sources. METHODS: GC was applied with n-hexadecanol as the internal standard. HP-5 quartz elasticity capillary column (30 m×0.32 mm×0.25 μ m), nitrogen as carrier gas, FID detector, temperature programming, split sampling (10:1), injector temperature of 220 $^{\circ}$ C, detector temperature of 250 $^{\circ}$ C. RESULTS: The linear range was 0.40-2.40 μ g for hinesol ($r=0.999$ 8) and 0.08-0.48 μ g for β -eudesmol ($r=0.999$ 1). The average recovery rate of hinesol was 99.15% (RSD=1.51%, $n=6$) and that of β -eudesmol was 101.04% (RSD=1.52%, $n=6$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were <3%. The contents of hinesol and β -eudesmol from different sources were significantly different from each other, among which those of samples from Hubei Yingshan was the highest. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and suitable for the quality control of Atractylodis Rhizoma decoction pieces.

KEYWORDS Atractylodis Rhizoma; Hinesol; β -eudesmol; GC; Content determination; Internal standard

苍术为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 或北苍术 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. 的干燥根茎,具有燥湿健脾、祛风散寒、明目之功效^[1]。现代药理研究表明,苍术具有抗胃溃疡、改善脾虚、促进肝蛋白合成、抗病毒、降糖、抗炎、利尿等作用^[2]。挥发油为苍术的主要成分之一,茅术醇和 β -桉叶醇是其中含量较高的成分,二者在改善消化道系统功能^[3]、保护肝细胞^[4]等方面均有良好的活性。近年来,茅术醇和 β -桉叶醇的测定方法主要为气相色谱(GC)+外标法^[5-6],但准确性较差。笔者通过研究,以正十六醇作为内标物,建立了测定苍术饮片中茅术醇和 β -桉叶醇含量的GC法,并采用此方法测定了17个不同来源的苍术饮片中二者的含量。

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81202919);中医药行业科研专项项目(No.20110700712)

* 硕士研究生。研究方向:中药化学。电话:0411-87586318。E-mail: sammie.op@163.com

[#] 通信作者:教授,博士。研究方向:中药化学。电话:0411-87586318。E-mail: caiqianmail@sina.com

1 材料

1.1 仪器

6820型GC仪及工作站(美国Agilent公司);AR2140型电子分析天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司];KQ-250DB型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:50 W,频率:20 kHz)。

1.2 试剂

β -桉叶醇和茅术醇对照品均为笔者自制,经GC用归一化法测定纯度均>98%;正十六醇(GC级,纯度>99%);其他试剂均为分析纯。

1.3 中药饮片

17批苍术饮片分别购自浙江宁波、河北、内蒙古等地,经辽宁中医药大学李峰教授鉴定均为茅苍术 *A. lancea* (Thunb.) DC. 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:HP-5石英弹性毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μ m);

进样口温度:220 ℃;检测器:氢火焰检测器(FID);检测器温度:250 ℃;载气:氮气;进样量:1 μl;进样方式:分流进样;分流比:10:1;柱流量:1 ml/min;程序升温:柱初始温度为120 ℃,持续2 min,以10 ℃/min升至166 ℃,持续8 min,再以20 ℃/min升至250 ℃,持续1 min。采用内标法定量,以正十六醇为内标物。色谱见图1。

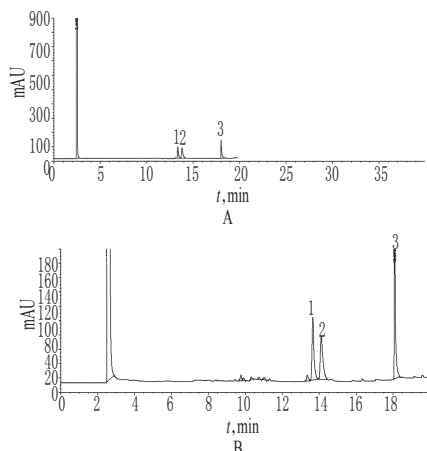


图1 气相色谱图

A.混合对照品;B.供试品(湖北英山);1.茅术醇;2. β -桉叶醇;3.正十六醇

Fig 1 GC

A.mixed control; B.test samples (Hubei Yingshan); 1.hinesol; 2. β -eudesmol; 3. n-hexadecanol

2.2 混合对照品贮备液的制备

称取茅术醇、 β -桉叶醇对照品各适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释制成每1 ml含茅术醇10 mg和 β -桉叶醇2 mg的混合对照品贮备液。

2.3 内标溶液的制备

称取正十六醇适量,精密称定,加甲醇制成每1 ml含15.09 mg的溶液,即得。

2.4 混合对照品溶液的制备

精密量取混合对照品贮备液2 ml、内标溶液1 ml,置于同一5 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.5 供试品溶液的制备

取苍术粉末(过60目筛)0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入40倍甲醇溶液,称定质量,超声处理30 min,取出,再次称质量,用甲醇补足缺失的质量,滤过,置10 ml量瓶中,加1 ml内标溶液,用甲醇稀释至刻度,即得。

2.6 线性关系考察

精密吸取混合对照品贮备液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 ml,置于5 ml量瓶中,加入1 ml内标溶液,用甲醇稀释至刻度,摇匀,备用。精密吸取1 μl注入GC仪中,按“2.1”项下色谱条件测定峰面积。以进样量(x)为横坐标,对照品与内标峰面积之比(y)为纵坐标,绘制标准曲线,得茅术醇的回归方程为 $y=1.123 0x+0.245 6$ ($r=0.999 8, n=6$)、 β -桉叶醇的回归方程为 $y=0.603 8x+0.050 6$ ($r=0.999 1, n=6$)。结果表明,茅术醇、 β -

桉叶醇的进样量分别在0.40~2.40、0.08~0.48 μg范围内同内标的比值与各自峰面积积分值呈良好线性关系。

2.7 校正因子测定

吸取含正十六醇的混合对照品溶液1 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定6次,计算校正因子。结果,茅术醇的平均校正因子为0.847, RSD=1.0%($n=6$); β -桉叶醇的平均校正因子为0.540, RSD=1.8%($n=6$)。

2.8 稳定性试验

取同一供试品溶液(产地:湖北英山)5 μl,分别按“2.1”项下色谱条件于0、4、8、12、24、48 h进样分析,测定峰面积,并与内标物的峰面积作比较。结果显示,茅术醇、 β -桉叶醇对应的RSD分别为0.62%、0.78%(n 均为6),表明供试品溶液在48 h内测定。

2.9 精密度试验

精密吸取同一供试品溶液(产地:湖北英山)5 μl,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,测定峰面积,并与内标物的峰面积作比较。结果显示,茅术醇、 β -桉叶醇对应的RSD分别为0.47%、0.25%(n 均为6),表明本方法精密度良好。

2.10 重复性试验

精密称取样品(产地:湖北英山)6份,每份0.2 g,分别按“2.5”项下方法制成供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,并与内标物的峰面积作比较。结果显示,茅术醇的平均含量为19.6 mg/g, RSD=2.9%($n=6$); β -桉叶醇的平均含量为11.2 mg/g, RSD=2.2%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.11 加样回收率试验

取已知含量的样品(产地:湖北英山,茅术醇含量:19.6 mg/g, β -桉叶醇含量:11.2 mg/g)6份,每份0.1 g,精密称定,置于锥形瓶中,加入混合对照品溶液2 ml(茅术醇质量浓度:0.98 mg/ml, β -桉叶醇质量浓度:0.56 mg/ml),按“2.5”项下方法制成供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果分别见表1、表2。

表1 茅术醇的加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Result of recovery tests of hinesol($n=6$)

取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
0.102	2.00	1.96	3.93	98.47		
0.101	1.98	1.96	3.90	97.96		
0.107	2.10	1.96	4.09	101.53	99.15	1.51
0.101	1.98	1.96	3.91	98.47		
0.106	2.08	1.96	4.05	100.51		
0.108	2.12	1.96	4.04	97.96		

表2 β -桉叶醇的加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery tests of β -eudesmol($n=6$)

取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
0.102	1.14	1.12	2.30	103.57		
0.101	1.13	1.12	2.24	99.11		
0.107	1.20	1.12	2.32	100.00	101.04	1.52
0.101	1.13	1.12	2.26	100.89		
0.106	1.19	1.12	2.33	101.79		
0.108	1.21	1.12	2.34	100.89		

2.12 样品含量测定

取17批不同来源的苍术饮片,分别按“2.5”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,以内标法计算茅术中茅术醇和 β -桉叶醇的含量,结果见表3。

表3 不同来源的苍术饮片中茅术醇和 β -桉叶醇的含量测定结果(mg/g, n=3)

Tab 2 Content determination of hinesol and β -eudesmol in *Atractylodes Rhizoma* decoction pieces from different sources (mg/g, n=3)

样品来源	茅术醇	β -桉叶醇
江苏徐州	0.494	0.617
山西太原	0.207	0.280
河北廊坊	0.689	1.878
福建德化	0.091	0.096
浙江宁波	5.526	5.859
上海	0.593	0.884
辽宁丹东	0.455	0.619
湖南衡阳	0.140	0.138
山东青岛	0.406	0.602
云南瑞丽	4.826	7.619
河北安国1	0.399	0.855
河北安国2	0.542	1.004
内蒙古赤峰	0.368	1.661
山东淄博	0.625	1.889
黑龙江大庆	0.545	2.047
湖北英山	19.600	11.200
河南郑州	0.101	0.195

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择

取苍术粉末0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别加入8 ml 甲醇、乙酸乙酯、石油醚、环己烷、正己烷,称定质量,超声提取30 min,再次称定质量,用溶剂补足损失的质量,以茅术醇和 β -桉叶醇的含量为指标进行提取溶剂的考察。结果显示,甲醇的提取效果最好,故选取甲醇作为提取溶剂。

3.2 提取方法的选择

取苍术粉末0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,以甲醇为溶剂,分别采用索氏提取4 h、回流2 h和超声30 min的方法提取样品,以茅术醇和 β -桉叶醇的含量为指标进行提取方法的考察。结果显示,3种方法的提取效果接近,但是超声法较简便,所以选择此方法。

3.3 提取时间的选择

采用超声提取的方法,以甲醇为溶剂,分别提取20、30、40 min,以茅术醇和 β -桉叶醇的含量为指标进行提取时间的考察。结果显示,超声30 min和40 min提取结果相近,所以确定提取时间为30 min。

3.4 提取溶剂用量的选择

取苍术粉末0.2 g,精密称定,分别加入10倍、20倍、40倍甲醇,超声提取30 min,以茅术醇和 β -桉叶醇的含量为指标进行提取溶剂用量的考察。结果显示,0.2 g药材用40倍甲醇提取最完全,故选择提取溶剂用量为40倍。

3.5 小结

本试验采用GC法,以正十六醇为内标物进行茅术醇和 β -桉叶醇的含量测定,较外标法更准确。且本试验采用的是程序升温,使茅术醇和 β -桉叶醇这两个极性相近的化合物得到了很好的分离^[7-10]。

本试验结果表明,17个不同来源的苍术饮片中茅术醇和 β -桉叶醇的含量差异较大,其中湖北英山药材中二者含量最高,福建德化药材中二者含量最低。故临床应用时应严格控制药材质量,以确保药效。

本试验中药材来源较分散,涵盖面较广,故试验结果可为苍术饮片的质量控制提供依据。

参考文献

- [1] 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,2010:150.
- [2] 刘国生,孙备,明亮,等.苍术挥发油与水溶性成分的主要药理作用比较[J].安徽医科大学学报,2003,38(2):124.
- [3] 张明发,沈雅琴,朱自平,等.苍术抗腹泻和抗炎作用研究[J].中国药房,2000,11(3):109.
- [4] Kiso Y, Tohkin M, Hikino H. Antihepatotoxic principles of *Atractylodes rhizomes*[J]. *J Nat Prod*, 1983, 46(5):651.
- [5] 傅梅红,王金华,张颖,等.气相色谱法测定苍术中有效成分 β -桉叶醇含量的方法学研究[J].中国中药杂志,2000,25(11):680.
- [6] 刘树芬,杨晓红,李晓红,等.气相色谱法测定苍术挥发油 β -环糊精包结构物中 β -桉叶醇和苍术素的含量[J].中国中药杂志,1992,17(9):54.
- [7] 吕美红,严启新,梁慧,等.毛细管气相色谱法同时测定苍术中茅术醇和 β -桉叶醇含量[J].药物分析杂志,2010,30(3):460.
- [8] 闫雪生,刘青.苍术挥发油中 β -桉叶醇的含量测定[J].中成药,2004,26(5):414.
- [9] 吕美红,严启新,梁慧,等.苍术气相指纹图谱研究[J].中成药,2010,32(10):1652.
- [10] 潘雪英.野生茅苍术挥发油成分分析[J].中国药房,2008,19(30):2380.

(收稿日期:2013-01-22 修回日期:2013-04-17)