

重复试验 3 次, 得率为 1.435 8%, 试验结果见表 3。

表 3 验证试验结果

Table 3 Results of verification

序号	得率/%	序号	得率/%
1	1.423	3	1.501
2	1.384	均值	1.436

3 讨论

将罐组逆流提取技术应用于荷叶提取工程, 可以克服提取时原料与溶剂中有效成分在接近平衡时浓度差小的不足, 有效提高提取效率。

通过正交试验结果得出本装置的最佳工艺条件: 提取时间 25 min, 提取温度 80 °C, 固液比 1 : 50, 乙醇体积分数为 70%。

参考文献:

- [1] 陶波, 陈慕英. 荷叶药用研究概况[J]. 中医药信息, 2001, 18(2): 4
- [2] 纪丽莲. 荷叶中抑菌成分的提取及其抑菌活性的研究[J]. 食品科学, 1998(8): 64-66
- [3] 谢秀琼. 现代中药制剂新技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004
- [4] 王伟, 谭晓梅. 荷叶总生物碱含量测定方法的研究[J]. 中药材, 2004, 27(1): 50-51

毛细管气相色谱法测定辛夷挥发油软胶囊中的 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯和 1, 8-桉叶素

曾蔚欣^{1,2}, 王弘¹, 孙路路², 赵冠勋¹, 陈世忠^{1*}

(1 北京大学医学部药学院, 北京 100191; 2 北京世纪坛医院 药剂科, 北京 100038)

摘要: 目的 建立测定辛夷挥发油软胶囊中 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯和 1, 8-桉叶素的测定方法。方法 采用毛细管气相色谱法测定。BP-5 毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.22 μ m); 进样器温度 180 °C; FID 检测器温度 200 °C; 柱温采用程序升温; 分流比 1 : 30; 苯乙酮为内标。结果 α -蒎烯在 0.054~2.505 μ g 线性关系良好, 平均加样回收率为 98.6%, RSD 为 0.72% ($n=9$); β -蒎烯在 0.070~3.204 μ g 线性关系良好, 平均加样回收率为 99.0%, RSD 为 0.65% ($n=9$); 柠檬烯在 0.068~3.190 μ g 线性关系良好, 平均加样回收率为 101.1%, RSD 为 0.56% ($n=9$); 1, 8-桉叶素在 0.301~10.205 μ g 线性关系良好, 平均加样回收率为 99.6%, RSD 为 1.24% ($n=9$)。结论 该方法简便、准确、重现性好, 可作为辛夷挥发油软胶囊的质量控制方法。

关键词: 辛夷挥发油软胶囊; α -蒎烯; β -蒎烯; 柠檬烯; 1, 8-桉叶素; 毛细管气相色谱法

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)08-1232-04

Determination of α -pinene, β -pinene, limonene, and 1, 8-cineole in *Flos Magnoliae* volatile oil soft capsula by capillary gas chromatography

ZENG Wei-xin^{1,2}, WANG Hong¹, SUN Lu-lu², ZHAO Guan-xun¹, CHEN Shi-zhong¹

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China;

2. Department of Pharmacy, Peking Millennium Monument Hospital, Beijing 100038, China)

Abstract: Objective To develop a method for determination of α -pinene, β -pinene, limonene, and 1, 8-cineole in *Flos Magnoliae* volatile oil soft capsula. **Methods** The contents of α -pinene, β -pinene, limonene, and 1, 8-cineole were determined at the same time by capillary gas chromatography with sequential increase of temperature programming. Capillary column BP-5 (30 m×0.25 mm, 0.22 μ m) was used, injector temperature 180 °C, flame ionization detector (FID) temperature 200 °C, split ratio 1 : 30, acetophenone as internal standard. **Results** A good linear relationship of α -pinene was at a range of 0.054—2.505 μ g, the average recovery was 98.6%, and RSD was 0.72% ($n=9$); A good linear relationship of β -pinene was at a range of 0.070—3.204 μ g, the average recovery was 99.0%, and RSD was 0.65% ($n=9$); A

* 收稿日期: 2008-11-04

基金项目: 国家“973”项目(2006CB504707)

作者简介: 曾蔚欣(1972—), 女, 湖南省益阳市人, 主管药师, 硕士, 北京世纪坛医院药剂科工作, 主要从事药品检验及中药与天然药物研发工作。Tel: (010)63926353 E-mail: cindy_zwx@sina.com

* 通讯作者 陈世忠 Tel: (010)82802723 E-mail: chenshizhong66@163.com

good linear relationship of limonen was at a range of 0.068—3.190 μg , the average recovery was 101.1%, and RSD was 0.56% ($n=9$); A good linear relationship of 1,8-cineole was at a range of 0.301—10.205 μg , the average recovery was 99.6%, and RSD was 1.24% ($n=9$). **Conclusion** The method is simple and accurate one with good reproducibility and could be used for the quality control of *Flos Magnoliae* volatile oil soft capsula

Key words: *Flos Magnoliae* volatile oil soft capsula; α -pinene; β -pinene; limonene; 1,8-cineole; capillary gas chromatography

辛夷挥发油是常用中药材辛夷治疗急慢性鼻炎、过敏性鼻炎及鼻窦炎的主要有效成分,可缓解大鼠、豚鼠实验性过敏性鼻炎模型局部症状,减轻鼻痒、喷嚏、清涕等症状;改善局部黏膜充血、水肿状况;减少嗜酸性粒细胞及肥大细胞在炎症局部的浸润;减少模型动物鼻部症状分值等^[1]。还具有明显抑制实验性哮喘豚鼠气道浸润 Eos 细胞数,减轻哮喘气道的炎症反应的作用,表现出对气道炎症的抑制与改善^[2]。辛夷挥发油软胶囊以辛夷为原料,经水蒸气蒸馏得到挥发油,再精馏后制备而成。制剂中 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、1,8-桉叶素 4 个主要成分的量约占挥发油的 70% 以上。为更好地控制该制剂质量,本实验建立了毛细管气相色谱测定法测定辛夷挥发油软胶囊中 4 种主要有效成分,以达到有效成分组成稳定、疗效明确、质量可控的目的。

1 仪器与试剂

SP-2100 型气相色谱仪(北京北分瑞利分析仪器(集团)有限责任公司),SPB-3 型全自动空气源(北京中惠普分析技术研究所),GCN1300 型全自动氮气发生器(北京中惠普分析技术研究所),GCD-300B 型全自动氢气发生器(北京中惠普分析技术研究所),DM-624 型毛细管柱(美国 Dikma 公司),BP5 型毛细管柱(澳大利亚 SGE 公司),BP3100P 型电子天平(德国 Sartorius 公司),BT25S 型电子天平(德国 Sartorius 公司)

α -蒎烯(质量分数为 99.7%)、 β -蒎烯(质量分数为 99.0%)、柠檬烯(质量分数为 99.0%)、1,8-桉叶素(质量分数为 99.0%)对照品均来自德国 Sigma-Aldrich 公司,辛夷挥发油软胶囊由北京大学药学院中药研究室自制,500 mg/粒,批号 080613、080623、080626、080630。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 内标溶液的制备:精密称取苯乙酮 1.021 70 mg,置 50 mL 量瓶中,加醋酸乙酯至刻度,摇匀,即得。

2.1.2 对照品溶液的制备:精密称取 α -蒎烯对照

品 1.07、5.07、10.46、20.16、50.10 mg,分别置 10 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 1 mL,再加醋酸乙酯至刻度,摇匀,作为 α -蒎烯对照品溶液。精密称取 β -蒎烯对照品 1.40、6.45、12.46、25.17、64.09 mg,同法制成 β -蒎烯对照品溶液。精密称取柠檬烯对照品 1.35、6.83、12.61、25.60、63.80 mg,同法制成柠檬烯对照品溶液。精密称取 1,8-桉叶素对照品 6.02、25.11、50.20、101.63、204.10 mg,同法制成 1,8-桉叶素对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备:精密称取辛夷挥发油软胶囊(批号 080630)内容物 1.00 g,置挥发油提取器圆底烧瓶中,加入去离子水 50 mL,装上挥发油提取器,从挥发油提取器上部加入去离子水至溢出,然后加入醋酸乙酯 2 mL,装上冷凝器,按照挥发油提取法甲法(《中国药典》2005 年版一部附录 X D)提取 2.5 h,分取醋酸乙酯部分,转移至 10 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 1 mL,再加醋酸乙酯至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.2 色谱条件与系统适用性试验:BP5 型毛细管柱(5% Phenyl dimethyl polysiloxane)(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.22 μm);进样器温度 180 $^{\circ}\text{C}$;FID 检测器温度 200 $^{\circ}\text{C}$;柱温采用程序升温,起始温度 80 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min,以 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 120 $^{\circ}\text{C}$,再以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 180 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min;氮气流量:20 mL/min;分流比:30:1;进样量 0.5 μL 。各峰理论塔板数均不少于 1×10^6 ,与相邻峰的分离度大于 1.5,各测定峰及内标的拖尾因子分别为 1.02、1.00、1.03、1.07。结果见图 1。

2.3 标准曲线的制备:精密吸取上述各对照品溶液注入气相色谱仪,测定其峰面积,记录 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、1,8-桉叶素与内标的峰面积。以 4 个主要成分与内标物的峰面积比值(Y)为纵坐标,质量浓度(X)为横坐标,计算回归方程。 α -蒎烯: $Y = 0.4453X + 0.0015$, $r = 1$; β -蒎烯: $Y = 0.5683X - 0.0024$, $r = 0.9999$;柠檬烯: $Y = 0.5679X - 0.0135$, $r = 0.9999$;1,8-桉叶素: $Y = 0.4679X +$

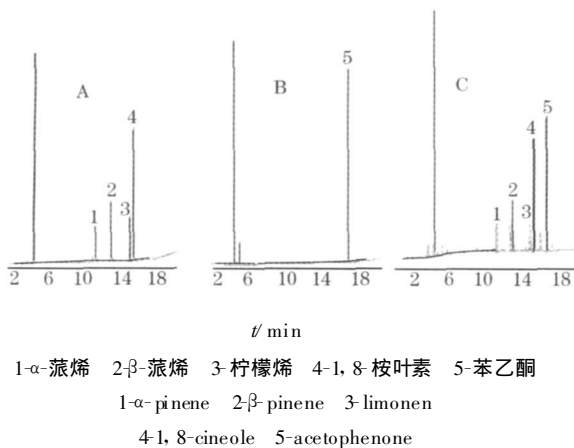


图 1 对照品(A)、苯乙酮(内标)(B)和辛夷挥发油软胶囊(加内标)(C)的气相色谱图

Fig 1 Capillary GC chromatograms of reference substances (A), acetophenone (internal standard B), and *Flos Magnoliae* volatile oil soft capsula (with internal standard C)

0.001 2, $r=1$ 。结果表明 α -蒎烯在 0.054~2.505 μg , β -蒎烯在 0.070~3.204 μg , 柠檬烯在 0.068~3.190 μg , 1,8-桉叶素在 0.301~10.205 μg 呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验: 取辛夷挥发油软胶囊(批号 080630)供试品溶液, 连续进样 5 次, 计算得 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、1,8-桉叶素对内标的相对峰面积 RSD 分别为 1.69%、0.97%、0.64%、0.55%。

2.5 稳定性试验: 取辛夷挥发油软胶囊(批号 080630)供试品溶液, 于 0、1、2、3、4、5、6、7、8 h 测定, 计算得 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、1,8-桉叶素对内标的相对峰面积 RSD 分别为 1.60%、0.84%、0.78%、0.87%。结果表明, 供试品溶液在 8 h 内稳定性较好。

取辛夷挥发油软胶囊(批号 080630)供试品溶液, 在 5 d 内每日进样 3 次, 测定, 计算得 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、1,8-桉叶素对内标的相对峰面积 RSD 分别为 1.64%、0.87%、0.56%、0.89%。结果表明, 供试品溶液在 5 d 内稳定性较好。

2.6 重现性试验: 取辛夷挥发油软胶囊(批号 080630)内容物 5 份, 分别制备供试品溶液, 各进样 3 次, 测定, 计算得 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、1,8-桉叶素对内标的相对峰面积, 并计算质量分数, 结果其 RSD 值分别为 2.02%、1.22%、0.85%、1.72%。

2.7 加样回收率试验: 精密称取 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、1,8-桉叶素对照品 69.09、103.68、69.90、281.01 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加醋酸乙酯至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。取辛夷挥发油软胶囊(批号

080630)内容物 1 g, 精密称定, 共称取 9 份, 分成 3 组, 每组分别加入上述对照品溶液 1、2、3 mL, 制备供试品溶液, 分别进样, 测定, 计算回收率。结果 α -蒎烯平均加样回收率为 98.6%, RSD 为 0.72% ($n=9$); β -蒎烯平均加样回收率为 99.0%, RSD 为 0.65% ($n=9$); 柠檬烯平均加样回收率为 101.1%, RSD 为 0.56% ($n=9$); 1,8-桉叶素平均加样回收率为 99.6%, RSD 为 1.24% ($n=9$)。

2.8 样品测定: 取 3 批辛夷挥发油软胶囊样品, 制备供试品溶液, 测定, 并计算样品中 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、1,8-桉叶素的质量分数, 结果见表 1。可知, 3 批样品中, 每粒辛夷挥发油软胶囊中 α -蒎烯的量为 2.19~2.28 mg、 β -蒎烯的量为 3.64~3.69 mg、柠檬烯的量为 2.48~2.60 mg、1,8-桉叶素的量为 10.35~11.57 mg。

表 1 辛夷挥发油软胶囊中 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯和 1,8-桉叶素的测定结果

Table 1 Determination of α -pinene β -pinene limonene and 1,8-cineole in *Flos Magnoliae* volatile oil soft capsula

批号	α -蒎烯/ (mg·粒 ⁻¹)	β -蒎烯/ (mg·粒 ⁻¹)	柠檬烯/ (mg·粒 ⁻¹)	1,8-桉叶素/ (mg·粒 ⁻¹)
080613	2.28	3.64	2.48	10.91
080623	2.19	3.66	2.60	11.57
080626	2.22	3.69	2.52	10.35

3 讨论

有关辛夷药材及含辛夷的制剂质量标准研究, 文献中多为对辛夷中木兰脂素的薄层鉴别或 HPLC 法测定^[3,4], 或对辛夷挥发油中的单一成分(如桉油精)进行测定^[5], 或对辛夷总黄酮进行测定^[6]。本实验采用毛细管气相色谱法对辛夷挥发油软胶囊中 4 种主要有效成分进行测定, 结果表明该方法具有简便、快速、准确和重现性好等优点, 适合对于辛夷及其制剂的质量控制。

本研究分别选用了 DM-624 型毛细管色谱柱和 BP5 型毛细管色谱柱以考察对制剂中 4 种成分的分 离效果。结果显示 DM-624 型毛细管色谱柱分离效果不佳, 溶剂峰与 α -蒎烯峰分离度低(1.31), 个别峰峰形不正, 有拖尾现象, 或不能达到基线分离。BP5 型毛细管色谱柱分离效果好, 能达到基线分离, 峰形好, 无拖尾现象, 故本实验采用 BP5 型毛细管色谱柱。

曾选择了多个化合物作为内标物, 包括甲苯、十六醇、肉桂醇、薄荷醇、异戊醇、异冰片、丁香酚、水杨酸甲酯、苯甲酸乙酯、异辛烷、环己酮、苯乙酮、萘。

根据试验结果, 确定苯乙酮为本实验的内标物。

参考文献:

- [1] 熊天琴, 秦旭华, 庞 龙, 等. 辛夷挥发油对实验性过敏性鼻炎的作用[J]. 中医学刊, 2006, 24(6): 1031-1032
- [2] 李寅超, 赵宜红, 薛敬礼. 辛夷挥发油对哮喘豚鼠嗜酸性粒细胞影响的实验研究[J]. 现代预防医学, 2006, 33(8): 1338-1341
- [3] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [4] 刘晋华, 尤光甫, 李玉萍. 鼻炎口服液检测方法的研究[J]. 中国药事, 2007, 21(9): 749-751.
- [5] 王兴宁, 张明时, 夏品华, 等. 毛细管气相色谱法测定辛夷药材中桉油精含量[J]. 时珍国医国药, 2008 年, 19(1): 48-49
- [6] 王 琪, 李洪玲. 中药辛夷质量标准研究—比色法测定辛夷中总黄酮的含量[J]. 中草药, 2003, 34(5): 424-425

红车轴草提取物中多环芳烃脱除工艺的研究

许 龙^{1,2}, 陈应庄¹, 曾建国^{1,2*}, 罗 琪¹

(1 湖南省中药提取工程研究中心, 湖南 长沙 410331; 2 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410007)

摘要: 目的 优选红车轴草提取物中多环芳烃(PAHs)脱除工艺。方法 以 PAHs 脱除率为指标, 考察提取物粒度、脱除溶剂、脱除方法对 PAHs 脱除工艺的影响。结果 最佳工艺为: 红车轴草提取物超微粉碎至 300 目以上, 用六号溶剂超声提取, 对 PAHs 的脱除率达到 98.0% 以上, PAHs 的残留量为 10.0 ng/g 以下。结论 超微粉碎-六号溶剂-超声提取法脱除红车轴草提取物中 PAHs 脱除率高, 工艺稳定、可行。

关键词: 红车轴草; 多环芳烃; 超微粉碎; 超声提取

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)08-1235-04

Technique of removing polycyclic aromatic hydrocarbons from *Trifolium pratense* extract

XU Long^{1,2}, CHEN Ying-zhuang¹, ZENG Jian-guo^{1,2}, LUO Qi¹

(1. Hunan Engineering Research Center of Chinese Materia Medica Extract, Changsha 410331, China;

2. Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

Abstract: **Objective** To optimize the removal technique for extracting polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from *Trifolium pratense*. **Methods** The influence of various factors, including the size, solvent, extraction methods, and their effects on the removal efficiency, were investigated. **Results** The best process for extraction: the ground extract of PAHs was over 300 meshes by ultra-fine grinding firstly and then the removal rate of PAHs was above 98.0% and the total removal of PAHs was below 10.0 ng/g by ultrasonic extraction with solvent No. 6. **Conclusion** The removal rate of PAHs in *T. pratense* extract by ultra-fine grinding-ultrasonic extraction with solvent No. 6 is much higher. The title process is stable and available.

Key words: *Trifolium pratense* L.; polycyclic aromatic hydrocarbons; ultramicro-pulverization; ultrasonic extraction

红车轴草 *Trifolium pratense* L. 为豆科多年生草本植物, 主要含有鹰嘴豆芽素 A、刺芒柄花素等多种异黄酮类成分, 刘晗等^[1] 研究发现红车轴草在鲜活状态下的异黄酮的量最高, 并确定最佳采收期为花蕾期至初花期。红车轴草中异黄酮成分具有抗肿瘤、治疗骨质疏松和更年期综合症等作用^[2,3], 因此被广泛用于保健食品中。近年来发现红车轴草提

取物中有微量多环芳烃(PAHs)存在, 其来源可能与红车轴草植物生长过程中的富集作用或在生产过程中受到污染有关^[4]。PAHs 具有强致癌性^[5,6], 严重影响红车轴草提取物的质量, 因此开展 PAHs 脱除工艺研究非常重要。本实验考察了提取物粒度、提取溶剂和提取方法对 PAHs 脱除的影响, 并对其最优的超声提取法进行了研究, 为 PAHs 脱除工

* 收稿日期: 2009-03-09

基金项目: 湖南省科技厅重大专项(2007FJ1005); 湖南省科技计划重点项目(2008SK2009)

作者简介: 许 龙(1982—), 男, 湖南耒阳人, 在读硕士, 主要从事天然产物开发利用研究。

Tel: 13808475843 E-mail: longxu23@yahoo.com.cn

* 通讯作者 曾建国 Tel: (0731)84686478 E-mail: ginkgo@worldway.net