

# 中药乳香质量标准提高

杨欣欣, 李超英\*, 王帅, 王书丹, 董婉  
(长春中医药大学药学院, 长春 130117)

**[摘要]** **目的:**对中药乳香的质量标准进行提高,使中药乳香饮片及其制剂高效和安全应用。**方法:**从乳香质量标准和刺激性两方面进行研究,采用薄层色谱法对乳香中乳香酸类成分进行鉴别,采用苯酚-硫酸法测定乳香总多糖含量,采用气相色谱法对乳香挥发油主要药效成分乙酸辛酯含量进行测定,并采用动物实验对乳香的刺激性进行研究。**结果:**乳香薄层色谱中,乳香酸类成分在与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的暗斑,空白对照无干扰;乳香中总多糖平均加样回收率为99.6%,RSD 1.2%,平均质量分数为7.0%;乳香挥发油中乙酸辛酯平均加样回收率为100.16%,RSD 0.9%,平均质量分数为0.08%;乳香生饮片挥发油有明显刺激性。**结论:**研究建立的乳香中乳香酸类成分薄层色谱鉴别方法、乳香总多糖和乙酸辛酯含量测定方法简便、准确,达到提高乳香中药饮片质量标准的目的,并为乳香提取物及其制剂的质量标准和高效安全用药提供依据和保障。

**[关键词]** 乳香; 质量标准; 薄层鉴别; 含量测定; 刺激性

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)12-0077-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017120077

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170324.1441.070.html>

**[网络出版时间]** 2017-03-24 14:41

## Improve Quality Standard of Olibanum

YANG Xin-xin, LI Chao-ying\*, WANG Shuai, WANG Shu-dan, DONG Wan

(College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

**[Abstract]** **Objective:** To improve the quality standards of Olibanum, and achieve efficient and safe application of Olibanum decoction pieces and its preparations. **Method:** Olibanum was studied from quality standard and irritation aspects. Boswellic acids in Olibanum were analyzed by TLC, and the total polysaccharide content was determined by phenol sulfuric acid method; gas chromatography was used to determine the content of octyl acetate in the volatile oil of Olibanum, and the irritation of Olibanum was studied by using animal experiment. **Result:** In the thin layer chromatography of Olibanum, the components of boswellic acid showed the same color spots in the corresponding positions of the chromatogram for reference substances, with no interference in the blank control. The average recovery rate of total polysaccharides in Olibanum was 99.6%, with RSD of 1.2% and average mass fraction of 7.0%. The average recovery rate of octyl acetate in Olibanum volatile oil was 100.16%, with RSD of 0.9%, and average content mass fraction of 0.08%. In addition, volatile oil of Olibanum pieces had irritation. **Conclusion:** The TLC method for identifying boswellic acids and the determination method for total polysaccharides and octyl acetate in Olibanum were simple and accurate. These methods can be used to improve the quality standards of Olibanum decoction pieces, and provide the basis and protection for quality standards of Olibanum extracts and formulations as well as their efficient and safety use.

**[Key words]** Olibanum; quality standard; TLC; determination of content; irritation

**[收稿日期]** 20170125(001)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81273883)

**[第一作者]** 杨欣欣, 硕士, 讲师, 从事药剂学研究, Tel:0431-86172750, E-mail:xinxin\_yang1980@126.com

**[通讯作者]** \*李超英, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制和中药新型递药系统研究, Tel:13504417829, E-mail:chaoying\_li@126.com

乳香具有活血定痛,消肿生肌的功效。常用于胸痹心痛,胃脘疼痛,痛经经闭,产后瘀阻,癥瘕腹痛,风湿痹痛,筋脉拘挛,跌打损伤,痈肿疮疡等。乳香始载于《名医别录》,列为上品。现代研究表明,乳香的主要成分为树脂、树胶及挥发油,其中树脂质量分数为60%~70%,树胶质量分数为27%~35%,挥发油质量分数为3%~8%<sup>[1-2]</sup>,树脂的主要化学成分为乳香酸类化合物,树胶的主要化学成分为多糖,挥发油的主要成分为乙酸辛酯<sup>[3-4]</sup>。其中乳香挥发油有明显的毒性作用和强烈刺激作用<sup>[5]</sup>。现代药理学研究表明,乳香具有镇痛、抗炎抗菌、抗肿瘤、抗氧化、抗胃溃疡、降血脂、活血化瘀等作用<sup>[6-9]</sup>。2015年版《中国药典》乳香质量标准中缺少乳香酸类成分定性的薄层鉴别指标,缺少多糖及乙酸辛酯含量测定的指标,为控制乳香产品质量,保障乳香饮片及其中成药的质量、药效和安全性,本研究建立乳香酸类成分的薄层鉴别方法,建立乳香多糖和乳香挥发油中乙酸辛酯含量测定方法学,并从刺激性方面对乳香的质量标准进行研究。

## 1 材料

AL204型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司], AB135-S型1/10万电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司], TU-1810型紫外-可见分光光度仪(北京普析通用仪器有限公司), 7820型气相色谱仪(美国安捷伦公司), 氢火焰离子化检测器(FID), PEG-20M毛细管柱(柱长为30 m,柱内径为0.32 mm,膜厚度为1.0 μm)。

SPF级雌性Wistar大鼠,32只,体重250~300 g,合格证号SCXK-(吉)2011-0004,购于长春市亿斯实验动物技术有限责任公司。实验中对实验动物的处置符合科技部颁布的《关于善待实验动物指导性意见》的中有关规定。

对照品无水葡萄糖(批号110866-200503),乙酸辛酯(批号111671-201403),茴香醛(批号110838-201106),11-羰基-β-乙酰乳香酸(AKBA,批号111760-201502,纯度99.3%)均购自中国食品药品检定研究院;薄层色谱用硅胶板GF<sub>254</sub>购于青岛海洋化工厂;实验所用试剂均为分析纯(北京化工厂),3批乳香药材购自吉林省宏检大药房有限公司,经长春中医药大学药学院药用植物教研室姜大成教授鉴定为橄榄科植物乳香树 *Boswellia carterii* 树皮渗出的树脂。产地埃塞俄比亚。

## 2 方法与结果

2.1 乳香性状 呈长卵形滴乳状、类圆形颗粒或黏

合成大、小不等的不规则块状物,表面黄白色,半透明,被有黄白色粉末,质脆,遇热软化,破碎面有玻璃样或蜡样光泽。具特异香气,味微苦。见图1。



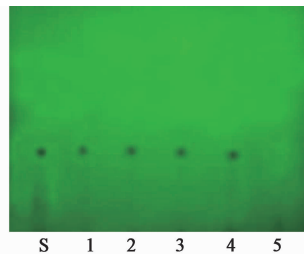
图1 乳香生品

Fig. 1 Frankincense raw product

2.2 乳香薄层色谱鉴别 乳香酸类化合物为乳香中主要功效成分之一,其中AKBA活性强,具有抗炎活性及对肿瘤细胞有抗增殖、分化诱导和细胞凋亡作用<sup>[6,8,10-12]</sup>。因此本实验增加乳香酸类成分的薄层鉴别研究。

2.2.1 供试品、对照品、空白溶液的制备 取乳香样品100 mg,加甲醇10 mL,超声处理10 min,滤过,滤液作为供试品溶液。取AKBA对照品,加甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。同法制备空白对照溶液。

2.2.2 色谱条件<sup>[13]</sup>和样品鉴别 分别吸取对照品溶液、供试品溶液、空白对照溶液各1 μL,点于同一硅胶GF<sub>254</sub>薄层板,选择环己烷-乙酸乙酯-冰乙酸(10:2:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯(254 nm)下观察。见图2。结果表明,供试品在与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的暗斑,可用于乳香中乳香酸类成分鉴别。



S. 对照品;1~4. 乳香药材样品;5. 空白对照

图2 乳香薄层色谱

Fig. 2 Thin layer chromatography of frankincense

2.3 乳香多糖的含量测定

2.3.1 对照品溶液的制备 取105℃干燥至恒重的葡萄糖对照品,精密称定,加蒸馏水溶解制成每1 mL含0.200 8 mg的对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取乳香饮片约20.0 g,

精密称定,照 2015 年版《中国药典》(四部)挥发油测定法提取,得到乳香提取挥发油后剩余的水溶液,即乳香水提液样品。取乳香水提液 0.5 mL,置于 50 mL 量瓶中,加水定容至刻度。取稀释液 1.0 mL,置于具塞试管中,加入新配的 6% 苯酚溶液 1.4 mL,立即加入浓硫酸 7.0 mL,混匀,沸水浴,加热 30 min,取出后冰水浴冷却 10 min,即得供试品溶液。除加入样品外以同法操作,制得空白溶液。

**2.3.3 线性关系考察** 精密吸取 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mL 的葡萄糖对照品溶液,分别置于具塞试管中,依次加蒸馏水至 1.0 mL。各试管中加入新配的 6% 苯酚溶液 1.4 mL,立即加入浓硫酸 7.0 mL,混匀,沸水浴,加热 30 min,取出后冰水浴冷却 10 min,即得系列浓度葡萄糖对照品溶液。除加入葡萄糖外以同法操作,制得空白溶液。以空白校正零点,于 483 nm 处测定吸光度,绘制标准曲线。以葡萄糖对照品含量为横坐标( $X$ ),以吸光度为纵坐标( $Y$ ),经统计分析得到回归方程为  $Y = 0.0485X + 0.1015$  ( $r = 0.9994$ )。实验结果表明,葡萄糖在 2.1362 ~ 17.0894  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  线性关系良好。

**2.3.4 精密度考察** 精密量取葡萄糖对照品溶液,在 483 nm 处连续测定 6 次,记录吸光度,计算 RSD 0.2%,表明仪器精密度良好。

**2.3.5 加样回收率考察** 精密量取乳香水提液样品 0.25 mL 共 9 份,分别精密加入葡萄糖对照品溶液,按供试品溶液制备方法处理,进行含量测定,测得平均加样回收率为 99.62%,RSD 1.2%,表明该含量测定方法准确可靠。结果见表 1。

表 1 乳香中葡萄糖的加样回收率试验

Table 1 Recovery test of glucose in Olibanum

加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.764 4	2.285 3	98.98		
0.763 5	2.274 3	97.65		
0.762 1	2.286 3	99.41		
1.526 8	3.061 6	100.40		
1.525 0	3.047 3	99.58	99.62	1.2
1.527 5	3.075 1	101.24		
2.292 0	3.808 6	99.47		
2.291 5	3.786 5	98.53		
2.292 4	3.853 2	101.40		

注:取样量均为 0.25 mL,样品中量均为 1.5287 mg。

**2.3.6 重复性考察** 精密量取同一批样品 6 份,按供试品制备方法处理并在 483 nm 处测定,测得样品平均质量分数为 7.0%,RSD 0.3%,结果表明样品含量测定重复性好,测定方法可行。

**2.3.7 稳定性考察** 取供试品溶液,分别在 0, 10, 20, 30, 40, 60, 90, 120 min 测定吸光度,其 RSD 0.5%,表明供试品溶液在 120 min 内稳定。

**2.3.8 样品含量测定** 取 3 批乳香中药饮片,精密称定,按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液,483 nm 处测定。结果乳香样品中多糖的平均质量分数为 7.0%。

## 2.4 乳香挥发油中乙酸辛酯的含量测定

**2.4.1 色谱条件及系统适用性试验** 采用 PEG-20M 毛细管柱(0.32 mm × 30 m, 1.0  $\mu\text{m}$ ),氢火焰离子化检测器(FID),载气为氮气,进样方式分流进样,分流比 20:1,进样器温度 200  $^{\circ}\text{C}$ ,检测器温度为 220  $^{\circ}\text{C}$ ;程序升温:初始温度 50  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 3 min,以 25  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  的速率升温至 200  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 1 min;进样量 1  $\mu\text{L}$ 。理论板数按乙酸辛酯峰计算不低于 7 000,各峰与其相邻色谱峰的分离度均 > 1.5。

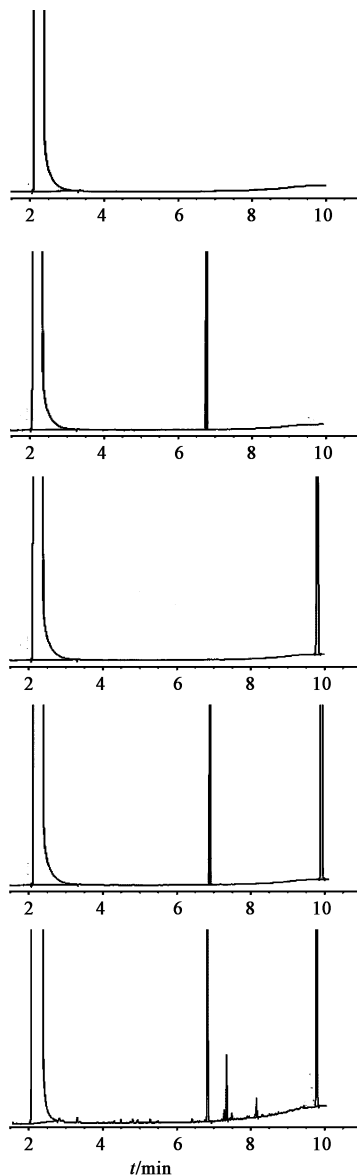
**2.4.2 对照品溶液的制备** 取乙酸辛酯对照品适量,精密称定,加无水乙醇溶解并制成每 1 mL 含 4.80 mg 的对照品储备液。精密量取对照品储备液 1.0 mL,加无水乙醇溶解并制成每 1 mL 含 0.480 mg 的对照品溶液。

**2.4.3 内标品溶液的制备** 取茴香醛内标物适量,精密称定,加无水乙醇溶解并制成每 1 mL 含 0.782 mg 的内标溶液。

**2.4.4 供试品溶液的制备** 取乳香样品约 20.0 g,精密称定,照 2015 年版《中国药典》(四部)挥发油测定法提取,得到乳香挥发油样品。取乳香挥发油约 1.0  $\mu\text{L}$ ,置 2.0 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 1.0 mL,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。气相色谱见图 3。

**2.4.5 校正因子测定** 精密吸取对照品溶液 0.6 mL,置 5.0 mL 量瓶中,精确加入内标溶液 1.0 mL,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,取 1  $\mu\text{L}$  注入气相色谱仪,连续进样 6 次,计算得平均校正因子为 0.926, RSD 1.6%。

**2.4.6 线性关系考察** 精密称取质量浓度为 0.480, 0.600, 0.960, 1.200, 2.400  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的乙酸辛酯对照品溶液 0.6 mL,分别置 2.0 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 1.0 mL,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,分别吸取 1  $\mu\text{L}$  注入气相色谱仪,按 2.4.1 项下色谱条件测定。以对照品乙酸辛酯进样量为横坐标( $X$ ),对照品乙酸辛酯与内标物茴香醛峰面积的比值为纵坐标( $Y$ ),绘制标准曲线,得回归方程为  $Y = 2.160X + 0.151$  ( $r = 0.9990$ )。表明乙酸辛酯在



A. 溶剂; B. 乙酸辛酯对照品; C. 茴香醛内标物; D. 对照品加内标溶液; E. 乳香生饮片

图 3 乳香饮片 GC

Fig. 3 GC of frankincense

0.144 ~ 0.720  $\mu\text{g}$  线性关系良好。

**2.4.7 精密度考察** 精密吸取对照品和内标混合溶液重复进样 6 次, 以乙酸辛酯与内标的峰面积比值计算精密度测得 RSD 1.7%, 表明该仪器的精密度良好。

**2.4.8 加样回收率考察** 精密量取样品 0.5  $\mu\text{L}$ , 平行 9 份, 按 1:0.5, 1:1, 1:1.5 的比例加入乙酸辛酯对照品适量, 按 2.4.4 项下方法处理, 计算平均加样回收率。结果见表 2。

**2.4.9 重复性考察** 取同一批样品 6 份, 按供试品溶液制备方法处理, 进行含量测得, 乙酸辛酯平均质量分数为 0.557 2  $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , RSD 1.9%。表明该方法

表 2 乙酸辛酯加样回收率试验

Table 2 Sample recovery test results of octyl acetate

加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率%	RSD/%
0.222 9	0.504 8	101.48		
0.222 9	0.502 7	100.53		
0.222 9	0.501 2	99.86		
0.276 8	0.551 2	98.48		
0.276 8	0.555 2	99.93	100.16	0.9
0.276 8	0.555 2	99.93		
0.334 3	0.617 0	101.23		
0.334 3	0.613 1	100.06		
0.334 3	0.612 8	99.97		

注: 样品中量均是 0.278 6 mg。

重复性好。

**2.4.10 稳定性考察** 取同一供试品溶液, 分别在 0, 1, 2.5, 3.5, 5, 10 h 时进行含量测定, RSD 0.8%, 表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

**2.4.11 样品含量测定** 取 3 批乳香中药饮片, 精密称定, 按照 2.4.4 项下方法制备供试品溶液, 按 2.4.1 项下色谱条件测定, 结果乳香中乙酸辛酯的平均质量分数为 0.08%。

**2.5 乳香刺激性试验** 本实验选择阴道给药途径, 对乳香样品挥发油刺激性进行研究。

**2.5.1 药液的制备** 取乳香样品约 20.0 g, 精密称定, 照 2015 年版《中国药典》(四部) 挥发油测定法提取挥发油。将乳香挥发油以适量乙醇溶解后, 加入羧甲基纤维素钠溶液, 混均, 加蒸馏水至 10.0 g, 混均, 制成供试品溶液。不加乳香挥发油同法操作制备空白对照溶液。

**2.5.2 分组与实验** 取雌性 Wistar 大鼠 32 只, 体重 250 ~ 300 g, 随机分为 4 组, 分别为空白对照组、第一批样品组、第二批样品组、第三批样品组, 每组 8 只。每组按 0.1 mL/只的给药剂量分别用软管连接的注射器通过阴道给予相应药物, 空白组经阴道给予等量的生理盐水, 每日 1 次, 连续 7 d。末次给药 24 h 后脱臼处死动物, 剖开阴道, 肉眼观察给药处阴道黏膜有无充血、红斑或水肿和分泌物等。具体评分标准为, 0 分, 无改变或明显改变; 1 分, 轻度充血, 少量分泌物; 2 分, 中度充血, 分泌物较多; 3 分, 重度瘀血, 水肿, 分泌物很多, 黏膜变性。0.00 ~ 0.40 分, 为无刺激性。0.41 ~ 1.50 分, 为轻度刺激性。1.51 ~ 2.50 分, 为中度刺激性。平均分 > 2.5 分, 为重度刺激性。结果见表 3。

3 批样品刺激性评分的平均分值分别为 1.25, 1.00, 1.38, 按照局部黏膜刺激反应分级标准, 确定乳香样品挥发油有中度刺激性。

表 3 阴道刺激性试验评分 (n = 8)

Table 3 Vaginal irritation test results (n = 8)

组别	各组动物刺激性反应评分								平均分
	1	2	3	4	5	6	7	8	
空白对照	0	0	0	0	0	0	0	0	0
第 1 批样品	1	2	2	1	0	1	2	1	1.25
第 2 批样品	2	1	1	0	0	1	1	2	1.00
第 3 批样品	2	1	2	1	1	2	2	0	1.38

### 3 讨论

本实验开展增加乳香薄层鉴别指标的研究。乳香中树脂质量分数为 60% ~ 70%, 乳香树脂中主要功效成分为乳香酸类化合物, 具有独特的抗炎和抗肿瘤活性等, 已经成为乳香药效成分的研究重点。因此, 乳香酸类成分的薄层鉴别指标增加具有重要意义。

本实验开展增加乳香多糖含量测定指标研究。乳香中树胶质量分数为 27% ~ 35%, 其主要成分为多糖类物质, 具有免疫调节作用、抗肿瘤、抗感染、抗病毒、抗缺氧、抗损伤、抗衰老、抗炎症和抗凝血等作用<sup>[14]</sup>。因此, 开展增加乳香多糖的含量测定评价指标对其质量控制和药效作用具有重要意义。建议乳香多糖质量分数限度不低于 7.0%。

本实验开展增加乳香挥发油中乙酸辛酯含量测定指标研究。2015 年版《中国药典》将乳香中挥发油含量测定作为唯一评价指标, 并对乳香挥发油中主要有效成分乙酸辛酯进行定性鉴别。但是缺少乙酸辛酯的定量评价指标, 本实验在此基础上, 以茴香醛为内标, 采用内标法, 建立乳香挥发油中乙酸辛酯定量测定方法。建议乳香乙酸辛酯质量分数限度不低于 0.08%。

本实验还对乳香的刺激性进行研究, 有报道乳香生品有刺激性<sup>[5]</sup>, 其刺激性是由挥发油成分所致。由于黏膜给药具有药物吸收起效快的特点, 且黏膜神经较敏感, 易于观察刺激性结果, 本实验选择阴道给药途径, 对乳香挥发油刺激性进行研究, 确定乳香挥发油具有中度刺激性。

总之, 本实验研究旨在为乳香高效和安全用药提供依据和保障, 也为《中国药典》中乳香质量标准的提高提供参考。另外, 由于乳香生品挥发油有明显刺激性, 因此乳香生品不宜药用。《中国药典》2015 年版记载乳香炮制品入药是必要的, 应该引起重视, 同样在乳香提取物及其中成药制剂中也应该引起重视和实施。还应注重充分利用乳香中全部有效成分, 不仅包括乳香挥发油, 而且包括其树胶中总

多糖类物质和树脂中乳香酸类成分等, 极大提高乳香及其中成药制剂的药效, 也防止乳香原料的浪费。

### [参考文献]

[1] 王勇, 潘国梁, 陈彦, 等. 4 种方法提取乳香化学成分及其 GC-MS 研究[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(14): 1054-1056.

[2] Tucker A O. Frankincense and myrrh [J]. Econ Bot, 1986, 40(4): 425-433.

[3] Basar S. Phytochemical investigations on *Boswellia species*; comparative studies on the essential oils, pyrolysates and boswellic acids of *Boswellia carterii* Birdw, *Boswellia serrata* Roxb, *Boswellia frereana* Birdw, *Boswellia neglecta* S Moore and *Boswellia rivae* Engl [D]. Hamburg: University of Hamburg, 2005.

[4] 王峰, 华会明, 王淑美, 等. 乳香的化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42(7): 1293-1296.

[5] 钱百炎. 乳香炮制方法及成分分析的探讨[J]. 中成药, 1982(12): 15-16.

[6] 常允平, 韩英梅, 张俊艳. 乳香的化学成分和药理活性研究进展[J]. 现代药物与临床, 2012, 27(1): 52-59.

[7] 王彦改. 多蕊蛇菰及乳香的化学成分研究[D]. 北京: 协和医学院药物研究所, 2013.

[8] 王文芳, 傅杰, 张春霞, 等. 乳香酸药理活性研究进展[J]. 生命的化学, 2015, 35(4): 537-542.

[9] 张玉柱. 中药乳香的化学成分及生物活性研究[D]. 上海: 东华大学, 2014.

[10] Al-Saidi S, Rameshkumar K B, Hisham A, et al. Composition and antibacterial activity of the essential oils of four commercial grades of omani luban, the oleo-gum resin of *Boswellia sacra* FLueck [J]. Chem Biodivers, 2012, 9(3): 615-624.

[11] SHAO Y, Ho C T, Chin C K, et al. Inhibitory activity of boswellic acids from *Boswellia serrata* against human leukaemia HL-60 cells in culture [J]. Planta Med, 1998, 64(4): 328-331.

[12] PANG X F, YI Z F, ZHANG X L, et al. Acetyl-11-keto- $\beta$ -boswellic acid inhibits prostate tumor growth by suppressing vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated angiogenesis [J]. Cancer Res, 2009, 69(14): 5893-5900.

[13] 佟昕, 刘汶, 梁晓旭, 等. 乳香中三萜类成分的薄层色谱鉴别和含量测定[J]. 中国现代中药, 2012, 14(7): 11-14.

[14] 刘锐. 多糖类物质的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(9): 1722-1725.

[责任编辑 顾雪竹]