

辛夷药材(望春花)不同栽培品种质量分析

王红霞, 郑岩, 陈随清*, 李腾飞, 张飞
(河南中医学院药学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的:建立辛夷药材(望春花)挥发油的含量测定及以桉油精为指标的气相色谱测定的质量分析方法。方法:应用《中国药典》的挥发油测定方法对望春花 10 个主流栽培品种的挥发油进行含量测定;应用气相色谱法对望春花 10 个主流栽培品种的桉油精进行含量测定。采用 HP-5 二苯基聚硅氧烷共聚物(0.25 $\mu\text{m} \times 0.32 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$)毛细管柱, FID 检测器, 载气为高纯度氮气, 程序升温:初始温度 80 $^{\circ}\text{C}$ 保留 6 min, 以 20 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率升温至 160 $^{\circ}\text{C}$, 保留 2 min; 再以 60 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率升温至 220 $^{\circ}\text{C}$, 保留 5 min; 进样口温度 240 $^{\circ}\text{C}$, 检测器温度 240 $^{\circ}\text{C}$ 。结果:挥发油含量依次为 3.24%, 4.64%, 6.12%, 3.64%, 5.48%, 6.98%, 3.64%, 3.24%, 7.68%, 2.88%。气相色谱测定桉油精含量:桉油精的进样量在 1.1 ~ 10.45 μg ($r = 0.9998$) 线性关系良好, 平均回收率为 100.02%, RSD 1.12%; 含量依次为 2.076%, 4.212%, 3.689%, 0.1041%, 1.590%, 3.523%, 2.930%, 1.940%, 4.520%, 1.494%。结论:根据望春花的挥发油及以气相色谱法桉油精的含量测定, 显示不同栽培品种的望春花挥发油和桉油精的含量都有一定的差别, 可用于望春花不同栽培品种质量评价和质量标准的制定。

[关键词] 辛夷药材; 望春花; 不同栽培品种; 挥发油含量测定; 气相色谱; 桉油精

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0115-04

Research on Quantitative Determination of Volatile Oil in Different Cultivated Species of Magnoliae Flos (*Magnolia biondii*)

WANG Hong-xia, ZHENG Yan, CHEN Sui-qing*, LI Teng-fei, ZHANG Fei

(Pharmaceutical College of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhegzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the determination of volatile oil and the determination of eucalyptol in volatile oil as an indicator of Magnoliae Flos (*Magnolia biondii*) by GC. **Method:** The content of volatile oil of the mainstream 10 cultivars of *M. biondii* was determined by determination of volatile oil from the 2010 edition of Chinese Pharmacopoeia, and the content of eucalyptol of the mainstream 10 cultivars was determined by GC. The GC-MS conditions with HP-5MS column (0.25 $\mu\text{m} \times 0.32 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$) was used, FID detector, the hold air consisted of high purity He, temperature programmed: initial temperature 80 $^{\circ}\text{C}$, retain 6 min, rise temperature to 160 $^{\circ}\text{C}$ at the rate of 20 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, retain 2 min; rise temperature to 220 $^{\circ}\text{C}$ at the rate of 60 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, retain 5 min; inlet temperature 240 $^{\circ}\text{C}$; detector temperature 240 $^{\circ}\text{C}$. **Result:** The content of volatile oil: 3.24%, 4.64%, 6.12%, 3.64%, 5.48%, 6.98%, 3.64%, 3.24%, 7.68%, 2.88%. Content of eucalyptol determined by GC: the linear range was 1.1-10.45 μg ($r = 0.9998$); the average recovery was 100.02%, RSD 1.12%. The content of volatile oil: 2.076%, 4.212%, 3.689%, 0.1041%, 1.590%, 3.523%, 2.930%, 1.940%, 4.520%, 1.494%. **Conclusion:** According to the volatile oil content and the content of eucalyptol determined by GC, there were differences in different cultivars of *M. biondii*, which provided scientific basis for the quality assessment and quality control standards of different cultivated species of *M. biondii*.

[Key words] Magnoliae Flos; *Magnolia biondii*; different cultivated species; content determination of volatile oil; gas chromatography; eucalyptol

[收稿日期] 20120119(009)

[基金项目] 河南省教育厅科学技术重点项目(12B360009)

[第一作者] 王红霞, 本科, 教授, 从事中药品种整理与质量标准研究, Tel:0371-66364376, E-mail:whx5510@163.com

[通讯作者] * 陈随清, 博士, 教授, 从事中药品种整理与质量标准研究, Tel:0371-65676686, E-mail:suiqingchen@163.com

中药辛夷为木兰科植物望春花 *Magnolia biondii* Pamp、玉兰 *M. denudata* Desr、武当玉兰 *M. sprengeri* Pamp 的干燥花蕾,具有散风寒、通肺窍的功效,主治风寒头痛,鼻塞,鼻渊,鼻流浊涕^[1]。始载于《神农本草经》,列为上品。望春花为辛夷药材的主流品种,约占 80%,原产湖北,今分布于河南、湖北、陕西及四川等省,多为栽培,少有野生^[2]。辛夷的药用及香用有效成分均为其所含的挥发油。其主要化学成分有 1,8-桉叶素、樟脑、香桉烯、蒎烯等。现代临床药效和药理学研究,望春花油能减少炎症介质的产生,不用通过作用于机体下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴,缓解炎症反应^[3]。辛夷挥发油能从蛋白质水平上抑制 P-选择素的表达,干预炎症反应,在 DN 早期降低糖尿病大鼠 24 h 尿微量白蛋白水平,明显减轻肾小球毛细血管基底膜及系膜基质增生情况,对肾脏起到保护作用^[4]。辛夷挥发油对内皮细胞与中性粒细胞黏附有抑制作用^[5];中药辛夷雾化吸入治疗支气管哮喘^[6];辛夷挥发油对过敏性鼻炎等的研究^[7]。桉油精是辛夷挥发油的重要组成部分,桉油精与其他药物配合,主要用于流感、感冒、细菌性痢疾、肠炎、各种感染、肺结核及多种皮肤病的治疗等^[8]。望春花主要集中分布于河南南召县的云阳、小店、皇后、留山等乡镇,生长于海拔 600~1 200 m 的山坡、山谷及山脚阔叶林中^[9]。望春花在长期的应用和栽培的过程中,种内产生很大变异,出现了较多栽培品种,主要表现在形态学特征、挥发油含量及木兰脂素等主要有效成分上具有较大差异^[10]。本文主要对辛夷药材(望春花)不同栽培品种的挥发油及以桉油精为指标的气相色谱测定,为望春花的品种改良、开发利用、质量评价以及质量标准的控制提供一定的科学依据。

1 仪器与试剂

KQ-500DV 型数控超声波清洗器(昆明市超声仪器有限公司),挥发油提取器、KDM 型调温电热套(山东菏泽石油化工学校仪器设备厂),Agilent 6890N 型色谱仪(美国 Agilent 仪器有限公司),HP-5 二苯基聚硅氧烷共聚物毛细管柱等。

桉油精对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110788-9202),正己烷(色谱纯),环己酮(分析纯),甲醇(优级纯),无水硫酸钠。

经河南中医学院陈随清教授鉴定为木兰科木兰属多年生落叶灌木或小乔木植物望春花 *M. biondii* 不同栽培品种的干燥花蕾;望春花不同栽培品种是在通过本课题前期对望春花主产区的调查及望春花

不同栽培品种的鉴定^[3],依植物形态、药材性状特征区分,将药材分为以下 10 个主要品种。见表 1。

表 1 望春花不同栽培品种

No.	品种	产地	采集时间	入药部位
1	五号桃	南召县皇后乡天桥村	2011-01-13	干燥花蕾
2	青把串鱼	南召县皇后乡天桥村	2011-01-13	干燥花蕾
3	黄梗串鱼	南召县皇后乡天桥村	2011-01-13	干燥花蕾
4	猴巴掌	南召县皇后乡天桥村	2011-01-13	干燥花蕾
5	大毛桃	南召县皇后乡天桥村	2011-01-13	干燥花蕾
6	二毛桃	南召县云阳镇西花园	2011-01-13	干燥花蕾
7	洋药	南召县云阳镇西花园	2011-01-13	干燥花蕾
8	驴奶头	南召县云阳镇西花园	2011-01-13	干燥花蕾
9	翻毛鸡	南召县云阳镇西花园	2011-01-13	干燥花蕾
10	老鼠屎	南召县云阳镇西花园	2011.01.13	干燥花蕾

2 方法与结果

2.1 样品中挥发油含量的测定 按《中国药典》2010 年版一部 XD 项下挥发油测定法(甲法)项下测定^[9]。

2.2 气相色谱分析

2.2.1 色谱条件 HP-5 二苯基聚硅氧烷共聚物毛细管色谱柱(0.32 mm × 30 m, 0.25 μm), FID 检测器,程序升温(初始温度 80 °C 保留 6 min,以 20 °C · min⁻¹的速率升温至 160 °C,保留 2 min;再以 60 °C · min⁻¹的速率升温至 220 °C,保留 5 min),进样口温度 240 °C,检测器温度 240 °C。载气 N₂,载气流量 0.8 mL · min⁻¹,进样量 1 μL。

2.2.2 内标物的确定及内标物储备液的制备 取正己烷配制成每 1 mL 中含内标物环己酮 0.302 5 mg 和桉油精 4.23 mg 的溶液,按上述色谱条件进样 1 μL(图 1)。精密称取桉油精对照品 20 mg,加正己烷定容于 1 mL 量瓶中,配制成 20 g · L⁻¹的对照品储备液,精密称取 0.055 mL 对照品储备液于 1 mL 的量瓶中,加内标物储备液 0.5 mL,加正己烷稀释至刻度,摇匀,使内标物浓度为 0.302 5 g · L⁻¹,制成每 1 mL 含 1.1 mg 的桉油精对照品溶液。同法制备 2.3, 4.23, 5.98, 8.06, 10.45 g · L⁻¹的桉油精对照品溶液,进样 1 μL(图 2)。结果表明桉油精与环己酮分离度良好,且与样品峰无干扰。经过反复试验,结合气相色谱图,表明环己酮符合测定要求,故选用环己酮为内标物。精密称取环己酮 60.5 mg,加正己烷定容到 100 mL 量瓶中,作为内标物储备液,待用。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取桉油精对照品 20 mg,用正己烷定容于 1 mL 量瓶中,配制成 20 g · L⁻¹的储备液,精密称取 0.055 mL 对照品储备液于 1 mL 的量瓶中,加内标物储备液 0.5 mL,用正己烷稀释至刻度,摇匀,使内标物浓度为 0.302 5 g ·

L^{-1} ,制成每 1 mL 含 1.1 mg 的桉油精对照品溶液。同法制备 2.3,4.23,5.98,8.06,10.45 $g \cdot L^{-1}$ 的桉油精对照品溶液。

2.2.4 供试品溶液的制备 各取样品 25 g,粉碎至适度,按《中国药典》2010 年版一部挥发油(甲法)测定项下^[10]制备挥发油,加蒸馏水 500 mL,置电热套中 220 V 电压下加热至沸腾,再调节电压到 50 V 保持微沸状态 6.5 h,至挥发油量不再增加,得到的挥发油用无水硫酸钠脱水、滤过,精密吸取 60 μL ,置于 10 mL 量瓶中,加 5 mL 内标物储备液,以正己烷稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.5 专属性考察 按照上述方法制备对照品及样品各一份,依次进样,对照品及样品溶液各峰分离度良好,阴性样品无干扰。见图 1。

次,记录峰面积,测得桉油精与环己酮峰面积之比(相对峰面积)RSD 2.43%,表明本法精密度良好。

2.2.8 重复性试验 取 9 号辛夷药材,按 2.2.4 项下制备供试品溶液 6 份,分别进样 1.0 μL ,在上述色谱条件下在上述色谱条件下进行测定,连续进样 6 次,计算桉油精含量的平均含量为 3.595 4%,计算 RSD 2.82%。

2.2.9 稳定性试验 取供试品溶液,分别在 0,2,4,8,12,18 h 进样 1 μL ,在上述色谱条件下进行测定,得桉油精与环己酮峰面积之比,计算 RSD 2.20%,结果表明,供试品溶液在 18 h 内稳定性良好。

2.2.10 加样回收率试验 取已知桉油精含量为 4.520% (编号 9 号)样品约 2 g 精密称定,精密加入桉油精对照品适量,按上述的供试品溶液的制备方法制备成供试品溶液 6 份,依法测定峰面积并计算含量和回收率,结果平均回收率为 100.02%,RSD 1.12%,表明方法准确可靠。结果见表 2。

表 2 桉油精加样回收试验

取样量 /g	样品中 含量 /mg	标准品 加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
2.002 1	90.44	45	134.68	98.32		
2.010 7	90.59	45	135.43	99.64		
2.004 3	90.48	45	136.20	101.61		
2.001 8	90.43	45	134.70	98.37	100.02	1.12
2.000 8	90.42	45	135.63	100.48		
2.002 5	90.44	45	135.58	100.30		

2.3 样品中桉油精的含量测定 吸取 2.2.3 项下制备的 1.1,2.3,4.23 $g \cdot L^{-1}$ 的对照品溶液,在上述色谱条件下,分别进样 1 μL ,根据对照品与内标物的峰面积比计算相对校正因子 f 。取 3 次计算平均值作为结果,经计算 f 为 18.502 9。

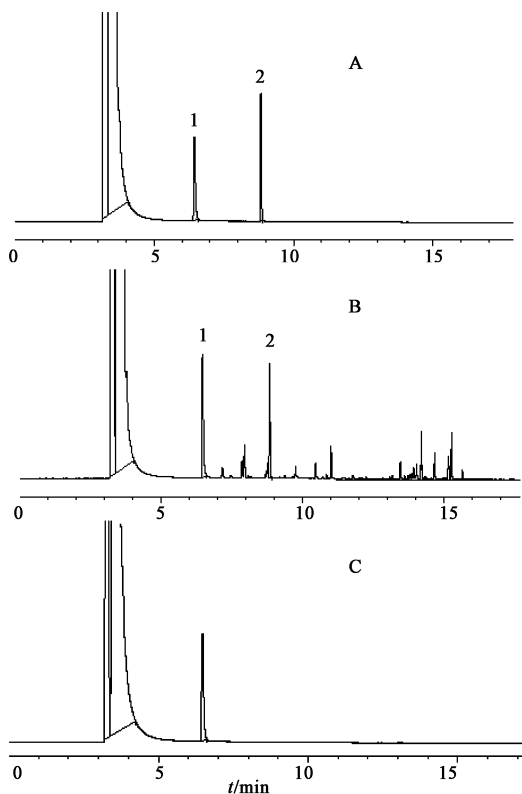
$$f = \frac{A_S/C_S}{A_R/C_R}$$

A_S 为内标物环己酮的峰面积, A_R 为对照品桉油精的峰面积, C_S 为内标物环己酮的浓度, C_R 为对照品桉油精的浓度。

取不同栽培品种的供试品溶液,分别连续进样 3 次,取 3 次计算的平均值,结果见表 3。

3 讨论

对望春花 10 个主流栽培品种样品中挥发油含量进行测定,含量依次为 3.24%,4.64%,6.12%,3.64%,5.48%,6.98%,3.64%,3.24%,7.68%,2.88%,结果翻毛鸡(7.68%)、二毛桃(6.98%)



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性含内标样品;

1. 内标; 2. 桉油精

图 1 辛夷挥发油气相色谱

2.2.6 线性关系的考察 取 2.2.3 项下制备的桉油精对照品溶液,在上述色谱条件下进样 1 μL ,以桉油精峰面积与环己酮峰面积之比为纵坐标,桉油精浓度 $X(g \cdot L^{-1})$ 为横坐标作图,得回归方程 $Y = 0.177 1X + 0.005 5 (r = 0.999 8)$ 结果表明桉油精在 1.1 ~ 10.45 $g \cdot L^{-1}$ 线性关系良好。

2.2.7 精密度试验 取 9 号样品供试品溶液,在上述色谱条件下进行测定,分别进样 1 μL ,连续进样 6

表 3 样品中桉油精的含量测定

品种	色谱峰	t_R	峰面积	挥发油含量	桉油精含量
		/min		/%	/%
五号桃	内标	6.466	165.2	3.24	2.076
	桉油精	8.835	115.2		
青把串鱼	内标	6.461	162.2	4.64	4.212
	桉油精	8.837	157.3		
黄梗串鱼	内标	6.467	169.5	6.12	3.689
	桉油精	8.836	110.4		
猴巴掌	内标	6.467	161.1	3.64	0.104 1
	桉油精	8.853	5.0		
大毛桃	内标	6.46	163.2	5.48	1.590
	桉油精	8.837	51		
二毛桃	内标	6.477	150.2	6.98	3.523
	桉油精	8.845	80.2		
洋药	内标	6.476	158.8	3.64	2.930
	桉油精	8.843	134.2		
驴奶头	内标	6.464	165.5	3.24	1.940
	桉油精	8.835	105.1		
翻毛鸡	内标	6.463	165.3	7.68	4.520
	桉油精	8.84	105.5		
老鼠屎	内标	6.465	160.5	2.88	1.494
	桉油精	8.839	86.4		

和黄梗串鱼(6.12%)挥发油含量较高;老鼠屎(2.88%)挥发油含量最低。以桉油精为指标成分,用GC内标法,测定望春花10个主流栽培品种挥发油中桉油精的含量,依次为2.076%,4.212%,3.689%,0.1041%,1.590%,3.523%,2.930%,1.940%,4.520%,1.494%,翻毛鸡(4.520%)、青把串鱼(4.212%)、黄梗串鱼(3.689%)、二毛桃(3.523%)挥发油中桉油精的含量高,猴巴掌(0.1041%)的含量最低,表明同一产地不同栽培品种辛夷药材中挥发油及桉油精的含量均有较大差别。

辛夷挥发油的成分比较复杂,含有桉油精、樟脑、萜烯茄烯、香桉烯、蒎烯等。选择桉油精作为指标成分,主要由于桉油精具有刺激、清凉和抗炎作用,含量相对较高,与辛夷的功效密切相关,且其为挥发性成分,生产储存过程中容易损失,故控制它的量具有实际意义。

将供试品溶液进行流速1.0,0.8 mL·min⁻¹的考察,汽化室温度240℃,检测器温度240℃,柱温80℃保留6min,以40℃·min⁻¹的速率升到220℃,保留2min^[11],流速降为0.8 mL·min⁻¹后,桉油精峰前后的一些峰分离度得到提高,保留时间增加;程序升温条件的考察:汽化室温度和检测器温度保持在240℃不变,流速控制在0.8 mL·min⁻¹,柱温80℃保留6min,以40℃·min⁻¹的速率升到220℃,保留2

min,改变为柱温80℃保留6min,以30℃·min⁻¹的速率升到160℃,保留2min;再以60℃·min⁻¹的速率升到220℃,保留5min,取供试品溶液,进样1μL,进行色谱分析;然后再改变柱温80℃保留6min,以20℃·min⁻¹的速率升到160℃,保留2min;再以60℃·min⁻¹的速率升到220℃,保留5min,取供试品溶液,进样1μL,进行色谱分析,改变柱温80℃到220℃的色谱条件后,以30℃·min⁻¹的速率升到160℃后,色谱图变得清晰,峰与峰之间得到很好的分离,影响积分的因素得到改善。再改变柱温,以20℃·min⁻¹的速率升到160℃,选定为辛夷药材望春花不同栽培品种的测定色谱条件,本实验选用的内标物环己酮经过反复试验,并结合气相色谱图,符合测定要求。辛夷挥发油的成分比较复杂,而桉油精在生产储存过程中又容易损失,因此本实验采取内标法加校正因子可有效的降低误差,使测定结果更为准确、可信。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:171.

[2] 王红霞,郑岩,陈随清,等. 望春花不同栽培品种的鉴别[J]. 中药材,2010,33(12):1861.

[3] 忘文魁,沈映君,齐云,等. 望春花油的抗炎机理[J]. 中国兽医学报,2005,25(3):302.

[4] 孙雪鹏,汪年松,薛勤,等. 辛夷挥发油抑制糖尿病肾病大鼠血清及肾组织P-选择素蛋白表达[J]. 中西医结合学报,2008,6(5):524.

[5] 陈志东,王锋,汪年松,等. 辛夷挥发油对内皮细胞与中性粒细胞黏附的抑制作用[J]. 陕西中医,2005,26(10):1119.

[6] 姜静,尚宁,范欣生. 中药辛夷雾化吸入治疗支气管哮喘[J]. 临床肺科杂志,2001,6(2):17.

[7] 王少莉. 辛夷治疗过敏性鼻炎80例[J]. 时珍国医国药,1999,10(8):599.

[8] 章思规. 精细有机化学品技术手册. 上册[M]. 北京:科学出版社,1991:524.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010,附录63.

[10] 吴杰,马翠兰. 浅谈河南南召辛夷主要病害的防治[J]. 中国中医药现代远程教育,2011,18(9):71.

[11] 王红霞,张飞,陈随清,等. 中药辛夷的HPLC指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):87.

[责任编辑 顾雪竹]