

气相法同时测定不同产地藏茴香中葛缕酮和柠檬烯含量

阎卉^{1,2}, 靳文仙², 王成港^{2*}

(1. 天津医科大学药学院, 天津 300071;

2. 天津药物研究院 释药技术及药代动力学国家重点实验室, 天津 300193)

[摘要] 目的: 建立方法同时测定藏茴香中葛缕酮和柠檬烯的含量, 研究不同产地的藏茴香中葛缕酮和柠檬烯的含量差异。方法: 采用气相法, 色谱柱为 HP-FFAP (聚乙二醇 20000, 柱长 25 m, 内径 0.20 mm, 膜厚度 0.33 μm), 柱温 65 ~ 115 $^{\circ}\text{C}$; 载气 N_2 , 流速 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 氢火焰离子化检测器 (FID), 进样口及检测器温度均为 250 $^{\circ}\text{C}$ 。结果: 5 批不同产地藏茴香药材中葛缕酮和柠檬烯质量分数在 50% ~ 60% 及 35% ~ 42%。结论: 本方法简便, 准确, 重复性好, 可用于藏茴香中葛缕酮和柠檬烯含量的测定。不同产地藏茴香中葛缕酮和柠檬烯含量差异不大。

[关键词] 藏茴香; 葛缕酮; 柠檬烯; 含量; 气相

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0097-03

GC Method for Simultaneous Determination of Carvone and Limonene Contents in Caraway from Different Origin

YAN Hui^{1,2}, JIN Wen-xian², WANG Cheng-gang^{2*}

(1. Tianjin Medical University, Tianjin 300071, China; 2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for simultaneous determination of carvone and limonene contents in caraway, research difference areas of carvone and limonene contents in caraway from different origin. **Method:** The analysis was carried out on a chromatographic column for HP-FFAP (PEG 20000, 0.20 mm \times 25 m, 0.33 μm); the column temperature 65-115 $^{\circ}\text{C}$, the carrier gas was N_2 , flow rate of 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, detector FID, the inlet and the temperature detector were all set at 250 $^{\circ}\text{C}$. **Result:** The quality scores of carvone and limonene content in 5 batches of caraway from different origin were 50% -60% and 35% -42%. **Conclusion:** The

[收稿日期] 20111124(007)

[基金项目] 天津科委新药专项(033187411)

[第一作者] 阎卉, 硕士, 从事药物制剂研究, Tel:13642169945, E-mail:yanh@tjipr.com

[通讯作者] * 王成港, 硕士, 副研究员, 从事药物制剂研究, Tel:022-23006879, E-mail:wcg666@gmail.com

度较稳定, 因此实验选用显色时间为 15 min; 对不同显色温度考察表明, 在温度为 60 $^{\circ}\text{C}$ 时, 吸光度达到最大值, 因此实验选取 60 $^{\circ}\text{C}$ 为显色温度。

[参考文献]

- [1] 包骏, 冉懋雄. 贵州苗族医药研究与开发 [M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 1998: 26.
- [2] 黄明进, 罗春丽, 郭刚, 等. 黑骨藤抗类风湿性关节炎作用及其分子机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 174.

- [3] 梁勇, 廖颖, 张宏, 等. 黑骨藤的抗肿瘤活性成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 119.
- [4] 甘秀海. 黑骨藤化学成分研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2009: 20.
- [5] 姚新生, 吴立军. 天然药物化学. 4 版 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 306.
- [6] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准 [M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003: 381.

[责任编辑 蔡仲德]

method is simple, accurate, reproducible, and can be used for content determination of caraway. Different areas of caraway are small difference.

[Key words] caraway; limonene; carvone; content; GC

藏茴香(caraway)为伞形科植物贡蒿的果实,其植物为多年生草本,分布西亚、欧洲,我国东北、华北、西北、四川、西藏等地。该药性温、味微辛,有芳香健胃祛风理气之功,用于治疗胃痛、腹痛、食欲不振、胃脘疼痛、腹胀、消化不良及小肠疝气等症^[1]。《中华本草》中藏茴香的功能主治为理气、止痛、解毒,主治“龙”病、眼病、食欲不振、胃痛、中毒症^[2]。藏茴香含挥发油,油中含葛缕酮(carvone)、柠檬烯(limonene)及 β 蒎烯等萜烯化合物,其中葛缕酮含量最高,为主要成分,其次是柠檬烯^[3]。近年来,已研制出了以藏茴香油为有效成分的制剂(德国 Dr Will man Schwab GmbH & Co 公司,商品名 Enterplant),用于治疗功能性消化不良。目前,关于该药材质量控制研究的报道较少,本研究采用气相法对不同产地的藏茴香中主要成分葛缕酮和柠檬烯进行含量测定比较,为控制藏茴香药材及其制剂的内在质量提供了依据。

1 材料

1.1 仪器 美国 HP 6890 型气相色谱仪, Sartorius AT 460 型 1/万电子天平, Sartorius AG 245 型 1/10 万电子天平。

1.2 药品与试剂 环己酮(天津康科德,色谱纯);正己烷(天津康科德,色谱纯);葛缕酮对照品(自制,经峰面积归一化法计算含量为 99.6%);柠檬烯对照品(批号 200701,中国药品生物制品检定所)。

藏茴香样品购自新疆、西藏、四川。经天津药物研究院王成港副研究员鉴定为伞形科植物贡蒿的果实。

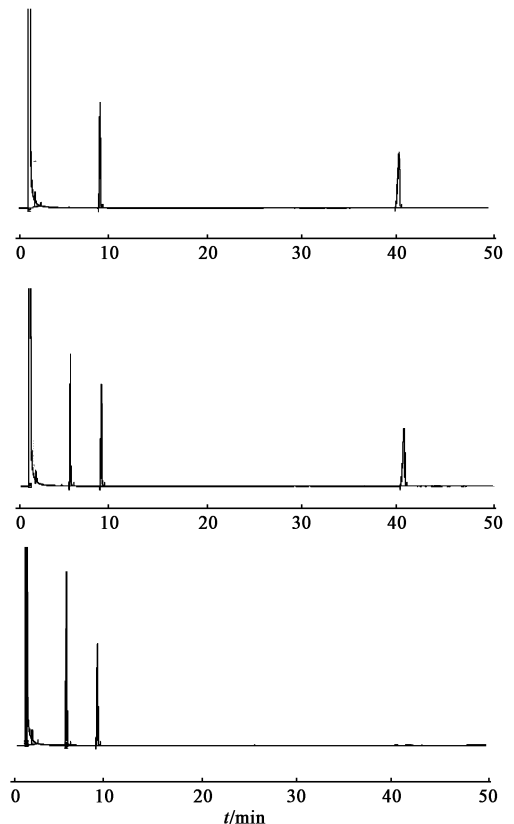
2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 HP-FFAP(聚乙二醇 20000,柱长 25 m,内径 0.20 mm,膜厚度 0.33 μm),柱温 65 ~ 115 $^{\circ}\text{C}$ (0 ~ 50 min,每分钟升温 1 $^{\circ}\text{C}$);载气 N_2 ,流速 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测器氢火焰离子化检测器(FID),进样口及检测器温度均为 250 $^{\circ}\text{C}$ 。理论板数按葛缕酮计算不应低于 80 000,按柠檬烯计算应不低于 20 000,各主峰与其他峰的分度应符合要求。

2.2 对照品溶液及样品溶液的制备 精密称取适量环己酮,置量瓶中,加正己烷溶解并稀释至刻度,配成质量浓度为 10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的内标母液,摇匀,备用。

取葛缕酮、柠檬烯对照品约 10 mg,精密称定,置同一 10 mL 量瓶中,精密量取内标溶液 1 mL,加正己烷稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液;精密称取藏茴香油约 20 mg,置 10 mL 量瓶中,精密加内标溶液 1 mL,加正己烷稀释至刻度,作为样品溶液。

2.3 专属性 精密称定葛缕酮 10 mg,置 10 mL 量瓶,加正己烷溶解并稀释至刻度,摇匀,备用;精密称定柠檬烯 10 mg,置 10 mL 量瓶,加正己烷溶解并稀释至刻度,摇匀,备用。分别取正己烷、内标溶液、葛缕酮对照品溶液、柠檬烯对照品溶液及样品溶液分别注入气相色谱仪中,各峰与葛缕酮、柠檬烯峰分离良好,溶剂、内标对二者测定无干扰。见图 1。



A. 葛缕酮; B. 柠檬烯; C. 藏茴香油样品

图 1 各成分及样品气相色谱

2.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样,记录峰面积,以对照品溶液的峰面积为纵坐标,以加入的对照品量为横坐标进行线性回归,葛缕酮回归方程 $Y = 1.0586 X + 0.0174$ ($r = 0.9999$);柠檬烯回归方程为 $Y = 1.259 X + 0.0299$ ($r = 0.9999$);表明在 0.6 ~ 1.4 μg 葛缕酮

和柠檬烯进样量与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 重复性 精密称取样品 6 份,制备供试品溶液进样,计算藏茴香油中葛缕酮和柠檬烯含量,6 次测定值的 RSD 分别为 1.35%,0.31%,进样重复性良好。

2.6 精密度 精密吸取对照品溶液,连续进样 6 次,计算各色谱峰的峰面积的 RSD,计算日内精密度。葛缕酮峰面积 RSD 0.78%,柠檬烯峰面积 RSD 0.91%,结果表明精密度良好。

2.7 溶液稳定性 取同一份供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8 h 进样,测定峰面积值,葛缕酮峰面积 RSD 1.35%,柠檬烯峰面积 RSD 0.31%,结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.8 加样回收率 称取已测知含量的藏茴香油样品,分别精密加入葛缕酮对照品及柠檬烯对照品适量,按供试品溶液制备方法操作,并按上述色谱条件测定。葛缕酮平均加样回收率 100.34%,RSD 0.97%;柠檬烯平均加样回收率 100.42%,RSD 1.0%,见表 1,2。

表 1 葛缕酮加样回收试验 (n=9)

样品名称	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得值 /mg	回收率 /%	$\bar{x}/\%$	RSD/%
60%-1	12.58	7.90	20.69	101.03		
60%-2	13.28	7.26	20.81	101.31		
60%-3	12.82	7.22	20.11	100.35		
100%-1	13.37	13.20	26.44	99.51		
100%-2	11.45	12.39	24.23	101.64	100.34	0.97
100%-3	13.73	11.60	25.38	100.20		
140%-1	12.64	16.21	28.98	100.45		
140%-2	12.71	16.54	29.29	100.14		
140%-3	12.68	16.74	28.96	98.44		

表 2 柠檬烯加样回收试验 (n=9)

样品名称	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得值 /mg	回收率 /%	$\bar{x}/\%$	RSD/%
60%-1	15.24	7.42	22.92	101.15		
60%-2	16.08	7.34	23.70	101.20		
60%-3	15.52	7.40	23.42	102.18		
100%-1	16.19	12.43	28.49	99.55		
100%-2	13.87	12.34	26.11	99.62	100.40	1.0
100%-3	16.63	11.50	27.98	99.47		
140%-1	15.31	17.12	32.48	100.15		
140%-2	15.39	17.44	33.19	101.10		
140%-3	15.36	17.41	32.56	99.36		

2.9 样品含量测定 取 5 批不同产地的藏茴香油,按样品溶液制备项下操作,在上述色谱条件下进样,记录各色谱峰的峰面积,每个样品重复 2 次,峰面积取平均值,外标法计算含量。结果见表 3。

表 3 不同产地藏茴香含量测定质量分数 %

产地	批号	葛缕酮	柠檬烯
新疆	20100220	51.68	36.29
拉萨	20100221	56.98	37.88
康定	20100225	57.41	40.75
德格	20100305	57.88	41.03
色达	20100313	57.00	40.80

3 讨论

3.1 测定条件的选择 笔者曾采用高效液相色谱法对葛缕酮含量进行测定,其结果与毛细管气相色谱法测定葛缕酮含量无明显差异。由于柠檬烯无双键而无紫外吸收,不适宜采用液相色谱法测定,因此改用毛细管气相色谱法同时测定柠檬烯、葛缕酮,测定方法《欧洲药典 6.0》中藏茴香油含量测定方法,二者仪器色谱柱均一致,本试验对升温速率进行适当调整,以改善各峰分离度。

3.2 不同产地药材中葛缕酮和柠檬烯含量的差异

表 2 为不同产地药材的含量测定结果,不同产地药材中两主要成分含量差别不大。

[参考文献]

[1] 钟淮滨,富志军,许江. 藏茴香中葛缕酮的含量测定[J]. 安徽中医学院学报,1997,16(4):53.

[2] 嘎玛进培. 中华本草 藏药卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,1993:360.

[3] 赵守训. 中药辞海. 第 69 卷[M]. 北京:中国医药科技出版社,1997:1623.

[4] 韩娜,赵建邦,宋平顺. 气相色谱法测定火麻仁中亚油酸及 α -亚麻酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(3):83.

[5] 李庆斌,黄英栋,唐丽丽. 气相色谱法测定冠心苏和胶囊中土木香内酯和异土木香内酯的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):101.

[责任编辑 蔡仲德]