文章编号: 1008-1542(2005)03-0219-03

气相色谱法测定莪术挥发油中榄香烯含量

魏福祥[1], 邓小丽[1], 陈　晓[2], 潘继飞[3], 赵富宽[1], 左旭乾[1]

(1. 河北科技大学环境科学与工程学院, 河北石家庄　050018; 2. 河北科技大学理学院, 河北石家庄 050018; 3. 山东正大福瑞达制药有限公司研发部, 山东济南　250014)

摘　要: 以 SE-30 毛细管色谱柱为分析柱, 正十六烷为内标物质, 采用程序升温气相色谱法测定莪术挥发油中榄香烯的含量。在榄香烯质量浓度为 0.50~ 3.00 mg/mL 范围内呈线性关系, 线性方程为 Y= 0.899 6C- 0.000 7(r= 0.998 8), 加样回收率为 104.3 %, 日内及日间精密度 RSD ≤ 5.00%(n= 5)。

关键词: 气相色谱法; 榄香烯; 含量测定; 莪术挥发油

中图分类号: R927.2　　文献标识码: A

Determination of element in essential oil from curcuma by GC

WEI Fu-xiang[1], DENG Xiao-li[1], CHEN Xiao[2], PAN Ji-fei[3], ZHAO Fu-kuan[1], ZUO Xu-qian[1]

(1. College of Environment Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang Hebei 050018, China; 2. College of Sciences, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang Hebei 050018, China; 3. R&D Department, c. p. Freda Pharmaceutical Co., Ltd, Jinan Shandong 250014, China)

Abstract: The determination method is used with SE-30 as capillary column, and n-hexadecane as internal standard by temperature programming of GC. The method has good linearity with the concentration range 0.5~ 3.00 mg·mL^{-1}, linear equation Y = 0.899 6C- 0.000 7(r= 0.998 8), the average recovery with added sample 104.3%, and within-day precision and day to day precision bellow 5% (n= 5). The results show that elemene is separated well and its retention time is shortened.

Key words: gas chromatography(GC); elemene; determination of content; essential oil from curcuma

榄香烯是从中药莪术中提取的倍半萜烯类化合物, 主要成分为 β-榄香烯, 另外还有少量的 δ-榄香烯及 γ-榄香烯[1]。药理学及临床研究证明, 榄香烯是一种非细胞毒性抗肿瘤药物, 具有良好的抗癌活性, 其抗癌作用还有一定的特异性, 如在体外对肿瘤细胞的 IC_{50}(最大半数抑制浓度)多在 20~ 50 μg, 而对人外周血白细胞的 IC_{50}　250 μg/mL[2]。作为国家二类新药的榄香烯乳剂在临床上得到了应用。

目前, 对于榄香烯的含量测定主要是填充气相色谱法, 且主要是对榄香烯注射液、榄香烯乳剂中榄香烯含量的研究[3,4], 但普遍存在榄香烯出峰时间长的缺点。本研究建立了毛细管气相色谱法, 采用程序升温测定超临界 CO_2 流体萃取的莪术挥发油中榄香烯含量的方法。结果表明, 方法简便、快速、准确。

1　实验仪器与试剂

1.1　仪　器

GC-17A 气相色谱仪(日本岛津); CLASS-GC10 色谱工作站(日本岛津); CBM-101 数据转换接口(日本岛津); SPG-3Q 氮氢空气气体发生器(北京中亚); 超临界 CO_2 萃取装置(型号: HA221-50-06, 江苏南通华安

收稿日期: 2004-07-11; 修回日期: 2004-09-15; 责任编辑: 陈玉堂
基金项目: 石家庄高新技术产业开发区科技攻关项目(0330712)
作者简介: 魏福祥(1955-), 男, 河北吴桥人, 教授, 主要从事生物传感器及天然植物提取与应用方面的研究。

超临界流体萃取有限公司)。

1.2 药品与试剂

β-榄香烯标准品(大连医药科学研究所,纯度 99%);正十六烷(上海试剂一厂,色谱标准);乙醇(天津试剂二厂,分析纯);莪术(自购)。

2 实验方法

2.1 莪术挥发油的超临界 CO_2 流体萃取

精确称取一定粒度的莪术粉 200 g 装入萃取器中,于设置的萃取条件下进行动态萃取,溶有莪术挥发油的超临界 CO_2 经减压降温后与莪术油分离,萃取结束后,收集萃取物,得莪术挥发油。

2.2 色谱条件

25 m×0.25 mm(内涂层厚为 0.25 μm) SE-30 毛细管柱;氢火焰离子化检测器;程序升温,160 ℃保持 7 min,然后以 20 ℃/min 速度升温至 240 ℃,保持 15 min,进柱 N_2 流量 1.9 mL/min,分流体积比为 1∶30,气化室温度 240 ℃,检测室温度为 240 ℃,进样量为 2 μL。

2.3 内标物溶液及标准品溶液的制备

精确称取正十六烷 500 mg,置于 50 mL 容量瓶中,用乙醇稀释至刻度,得质量浓度为 11.02 mg/mL 的内标溶液。精确称取 β-榄香烯标准品 150 mg,置于 10 mL 容量瓶中,用乙醇稀释至刻度,制得质量浓度为 14.37 mg/mL 的标准品溶液。

2.4 莪术挥发油样品溶液的制备

精确称取莪术挥发油 500 mg,置于 10 mL 容量瓶内,精确加入质量浓度为 11.02 mg/mL 内标溶液 0.45 mL 置于同一个容量瓶中,用乙醇稀释至刻度,制得莪术挥发油样品溶液。

3 结果讨论

3.1 校正因子的测定

分别取内标物溶液和标准品溶液 1 mL,置于 10 mL 容量瓶中,加入乙醇溶解至刻度,进样量为 2 μL,测定校正因子为 1.111 8(n=5)。图 1 所示为含内标物的榄香烯标准溶液色谱图。

3.2 标准曲线与相关系数的测定

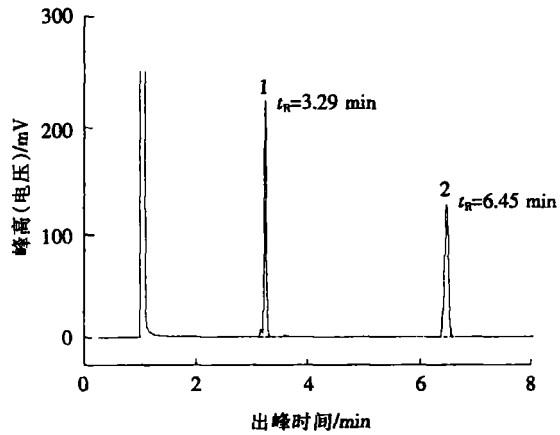
分别吸取一定量的标准品溶液置于 10 mL 容量瓶中,加入内标液 0.4 mL,用乙醇溶解至刻度,得到含内标物质量浓度为 0.441 mg/mL 的一系列标准品溶液,β-榄香烯质量浓度分别为 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, 3.00 mg/mL,进样 2 μL 测定。以 β-榄香烯的峰面积与内标物的峰面积之比为 Y,对 β-榄香烯质量浓度 C 绘制标准曲线,并进行线性回归,线性方程为 Y= 0.899 6C− 0.000 7,r= 0.998 8。结果表明:榄香烯质量浓度在 0.50~ 3.00 mg/mL 范围内呈良好线性关系。

3.3 莪术挥发油中榄香烯的测定

分别取不同萃取条件下的莪术挥发油 500 mg 左右,按照“2.4”制备样品溶液,在“2.2”色谱条件下测定,进样量 2 μL,测得的样品色谱图见图 2,榄香烯测定结果见表 1。

3.4 回收率测定

取已知榄香烯含量的莪术挥发油 5 份,每份 1 mL,



1—榄香烯;2—正十六烷

图 1 含内标物的榄香烯标准溶液色谱图

Fig. 1 Chromatogram picture of elemene standard solution with internal standard

表 1 莪术挥发油中榄香烯含量测定结果($\bar{x}\pm s$, n= 5)

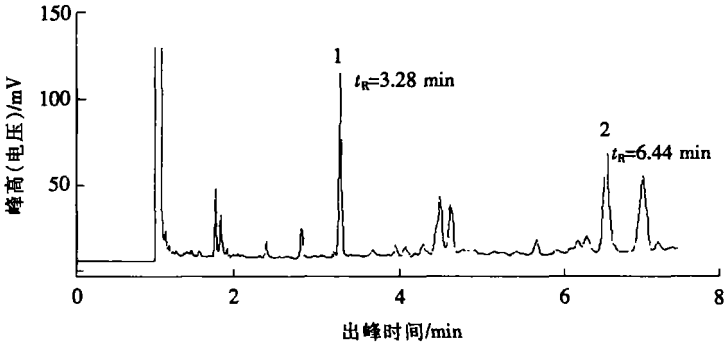
Tab. 1 Determination results of elemene in essential oil from curcuma ($\bar{x}\pm s$, n= 5)

样品编号	ρ(挥发油)/(mg·mL⁻¹)	ρ(榄香烯)/(mg·mL⁻¹)	RSD/%
1#	49.15	1.63±0.028	1.74
2#	50.58	0.94±0.035	3.75
3#	55.95	1.27±0.046	3.62

置于 10 mL 容量瓶中, 加入相应量的 β-榄香烯标准溶液, 用乙醇溶解至刻度, 进样量 2 μL, 在“2.2”色谱条件下测定。以 β-榄香烯与内标物的峰面积之比带入标准曲线, 计算回收率, 结果 5 份样品的加样回收率的平均值为104.3%, RSD= 1.41%。

3.5　精密度试验

分别取不同条件下提取的莪术挥发油, 按“2.4”制备方法得质量浓度为 34.22, 45.94 和 53.30 mg/mL 样品溶液, 分别于 1 d 内对每种质量浓度的溶液测定 5 次, 计算日内精密度。3 种质量浓度溶液每天各测定 1 次, 连续测定 5 d, 计算日间精密度。结果见表 2。



1—榄香烯; 2—正十六烷

图 2　莪术挥发油色谱图

Fig. 2　Chromatogram picture of essential oil from curcuma

表 2　精密度测定结果($\bar{x}\pm s$, n= 5)

Tab. 2　Determination results of precision($\bar{x}\pm s$, n= 5)

样品标号	ρ(挥发油)/(mg·mL^{-1})	日内精密度		日间精密度	
		ρ(榄香烯)/(mg·mL^{-1})	RSD/%	ρ(榄香烯)/(mg·mL^{-1})	RSD/%
1#	34.22	0.89±0.01	1.29	0.86±0.02	2.81
2#	45.94	1.22±0.03	2.60	1.23±0.04	3.58
3#	53.30	2.01±0.02	1.00	2.05±0.03	1.31

4　结　论

毛细管气相色谱法测定莪术挥发油中榄香烯的含量, 不需要任何前处理, 该方法在榄香烯质量浓度为 0.50~3.00 mg/mL 范围呈良好线性, 加样回收率平均值为 104.3%, 方法简便快速, 测定结果准确、可靠。

参考文献:

[1]　郭永　, 吴秀英, 陈玉仁. 温莪术挥发油中榄香烯的分离及鉴定[J]. 中药通报, 1983, 8(3): 31-33.

[2]　ZHENG S, YANG H, ZHANG S, et al. Initial study on naturally occurring products from traditional Chinese herbs and vegetables for chemoprevention[J]. J Cell Biochem Suppl, 1997, 27: 106-108.

[3]　李庆民, 孙苓苓, 刘德君. GC 法测定榄香烯注射液中的有效成分[J]. 沈阳药科大学学报, 1997, 14(2): 118-119.

[4]　孙　弘, 廉晓红. β-榄香烯和 γ-榄香烯稳定性研究[J]. 沈阳化工, 1999, 28(3): 11-12.

·简　讯·

中国科学院刘振兴等十五位院士建议将自然科学学术期刊纳入公益性事业管理

根据 2005 年新闻出版改革在改革试点工作的基础上拟于全面推开的情况, 2005 年 4 月 18 日中国科学院刘振兴、陈运泰、曾庆存、赵忠贤、吴国雄、黄荣辉、朱日祥、王佛松、陈翰馥、张广学、陆启铿、梁敬魁、朱邦芬、杨福愉、张仁和十五位院士联名向中央及国家有关部门建议: 一、将自然科学学术期刊纳入非盈利性、政策性出版事业, 作为公益性事业来管理; 二、自然科学学术期刊作为科技工作的一个重要组成部分, 应由管理科学技术的部门——科学技术部来统一进行管理; 三、建议科技部更新、完善科技期刊的管理办法或条例; 四、科技期刊需要分类管理。

(王节录)