

市售不同产地辛夷中挥发油成分分析及 木兰脂素的含量测定

杨琼梁¹, 欧阳婷¹, 杨仁义², 张桃伏¹, 吕琦¹, 颜红^{1*}

(1. 湖南中医药大学药学院, 湖南长沙 410208; 2. 湖南中医药大学中西医结合学院, 湖南长沙 410208)

〔摘要〕 **目的** 分析比较市售湖南、广西两个不同产地辛夷中挥发油的化学成分, 并对其木兰脂素的含量进行测定。**方法** 采用 GC-MS 联用技术对湖南、广西两个产地的辛夷挥发油成分进行分析, 采用 HPLC 对两个产地辛夷中木兰脂素含量进行测定。**结果** 湖南、广西产地的辛夷挥发油分别分离鉴定出 62 和 64 种化合物, 主要成分为桉油精、 β -蒎烯、2-茨酮、香叶基芳樟醇、 α -松油醇等。采用 HPLC 测定辛夷中木兰脂素的含量, 结果显示, 木兰脂素在 2~256 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内与峰面积呈良好线性关系 ($r=0.999\ 96, n=6$), 平均加样回收率为 100.32%, RSD 为 0.04% ($n=6$)。木兰脂素含量为: 湖南产地 (0.87 ± 0.05)%、广西产地 (0.81 ± 0.02)%。**结论** GC-MS 法能快速、简便、高效地检测辛夷挥发油的化学成分, HPLC 简便可靠、重复性好, 可用于辛夷中木兰脂素的含量测定。

〔关键词〕 辛夷; GC-MS; HPLC; 挥发油; 木兰脂素; 含量测定

〔中图分类号〕 R284.1

〔文献标识码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.10.010

Component Analysis of Volatile Oil of Flos Magnoliae and Assay of Magnolin Content from Different Producing Areas

YANG Qiongliang¹, OUYANG Ting¹, YANG Renyi², ZHANG Taofu¹, LV Qi¹, YAN Hong^{1*}

(1. School of pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

〔Abstract〕 **Objective** To study the chemical component of volatile oil of Flos Magnoliae from Hunan and Guangxi, and the magnolin content was determined. **Methods** The volatile oil of the Flos Magnoliae in Hunan and Guangxi was analyzed by GC-MS, and the content of magnolin was determined by HPLC. **Results** 63 and 65 compounds were respectively separated and identified from Flos Magnoliae volatile oil that was collected from Hunan and Guangxi, mainly including eucalyptol, beta pinene, 2-camphor, geranyl linalool, alpha terpineol etc. Magnolin presented a good linearity with peak area between the concentration of 2~256 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.99996, n=6$). The average recovery was 100.32% with the RSD of 0.04%. The content of Magnolia from the province of Hunan and Guangxi was $0.87\%\pm 0.05\%$ and $0.81\%\pm 0.02\%$. **Conclusion** GC-MS can detect the composition of essential oil quickly and effectively. The analysis of magnolin with HPLC was simple, reliable and reproducible.

〔Keywords〕 Flos Magnoliae; GC-MS; HPLC; volatile oil; magnolin; content assaying

辛夷为木兰科植物望春花 *Magnolia biondii* Pamp. 或木兰 *Magnolia sprengeri* Pamp. 的干燥花蕾^[1], 性温, 味辛, 微苦, 入肺、胃经, 具有疏风散邪, 上行头目, 善

〔收稿日期〕 2016-05-09

〔基金项目〕 湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目(湘教通[2016]283号); 湖南省“中药学”重点学科项目(湘教通[2011]76号)。

〔作者简介〕 杨琼梁, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中药新剂型与新技术的研究。

〔通讯作者〕 * 颜红, 女, 副教授, 硕士研究生导师, E-mail: yh8632@126.com。

通鼻窍,专治鼻渊之功效,是中医治疗各类鼻炎的常用中药。辛夷的主要有效成分为挥发油、木脂素类和黄酮类化合物^[2]。现代研究表明^[3],辛夷中挥发油成分具有收缩鼻黏膜血管及抗组胺作用,主要成分木兰脂素具有较好的抗炎、抗过敏作用^[4]。本文采用GC-MS联用技术对湖南、广西两个产地辛夷中挥发油成分进行分析,运用HPLC对辛夷的木兰脂素含量进行测定,旨在探讨产地对辛夷挥发油成分及木兰脂素含量的影响,以期为我国辛夷药材的资源开发提供参考,为辛夷中药制剂研发提供实验依据。

1 材料

1.1 药材

辛夷,湖南产地(购自湖南津湘制药有限公司,批号:20160101);广西产地(购自湖南省弘华中药饮片有限公司,批号:150105),经湖南中医药大学药学院刘塔斯教授鉴定为木兰科植物望春花 *Magnolia biondii* Pamp.的干燥花蕾。

1.2 仪器

岛津GC-MS-QP2010型气相色谱质谱联用仪,GC-MS Solution色谱工作站,标准谱库为美国NIST质谱检索数据库;Waters高效液相色谱仪(Waters 2489检测器),Breeze 2色谱工作站;YP601N电子天平(上海恒平科学仪器有限公司);KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);AR11401C型电子天平(奥豪斯国际贸易有限公司);挥发油测定器(上海玻璃仪器厂);HDM-3000电子调温电热套(金坛市荣华仪器制造有限公司)。

1.3 试剂

木兰脂素(批号:LI90P40,百灵威化学技术有限公司);无水硫酸钠(江苏强盛功能化学股份有限公司);乙酸乙酯(国药集团化学试剂有限公司);甲醇、乙腈均为色谱纯;其他试剂为分析纯;重蒸水(自制)。

2 方法

2.1 辛夷挥发油成分分析

2.1.1 供试品溶液的制备 取粉碎后的辛夷药材200 g,按《中华人民共和国药典》2015版四部通则

2204项下挥发油提取甲法进行提取,蒸馏5 h,收集挥发油,无水Na₂SO₄脱水,得浅黄色透明的挥发油,以乙酸乙酯为溶剂稀释即得供试液。

2.1.2 GC-MS条件 色谱柱:Rxi-5Sil MS毛细管柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm);载气He;分流比50:1;流速1.0 mL/min;进样量1 μL;进样口温度230 ℃;柱温60 ℃;升温程序:起始温度60 ℃,以10 ℃每分钟升至280 ℃,保持5 min。质谱条件:电离方式为EI,电离能量为70 eV,倍增电压0.8 kV,扫描质量范围35 m/z~500 m/z,扫描间隔0.25 s,扫描速度2 000 amu/s。

采用美国NIST 11.lib和NIST 11s.lib标准谱库进行检索,结合相似度和参考相关文献^[5-8],对样品成分进行定性分析并根据峰面积归一化法计算各成分的含量。

2.2 辛夷木兰脂素含量的测定

2.2.1 对照品溶液和供试品溶液的制备 对照品溶液:精密称取木兰脂素对照品0.010 4 g,置于10 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制成浓度为1.04 mg/mL的对照品溶液。

供试品溶液^[1]:取辛夷粗粉约1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入乙酸乙酯20 mL,称定重量,浸泡30 min,超声处理(功率250 W,频率33 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液3 mL,加在中性氧化铝柱(100~200目,2 g,内径为9 mm,湿法装柱,用乙酸乙酯5 mL预洗)上,用甲醇15 mL洗脱,收集洗脱液,置25 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.2 色谱条件 色谱柱:Hypersil ODS2 C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5.0 μm);流动相:乙腈-水(33:67);流速1.0 mL/min;柱温35 ℃;进样量6 μL;波长为278 nm;理论塔板数按木兰脂素峰计算不低于9 000。

2.2.3 系统适应性试验 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各6 μL,按“2.2.2”项色谱条件分析测定。

2.2.4 线性关系的考察 分别精密移取上述对照品溶液适量,以甲醇稀释成浓度分别为2、16、32、64、128、256 μg/mL的对照品溶液。分别取上述对照品

各 6 μL 进样,按“2.2.2”项下色谱条件测定。以峰面积积分值(y)为纵坐标,对照品浓度值(x)为横坐标,绘制标准曲线,进行回归分析。

2.2.5 精密度试验 精密吸取上述木兰脂素对照品溶液,分别在“2.2.2”项下色谱条件下测定 RSD 值:

(1) 日内 RSD 值:取上述对照品溶液,重复进样 6 次,每次 6 μL ,计算对照品峰面积的 RSD 值;(2) 日间 RSD 值:取上述对照品溶液,每天进样 1 次,连续 6 d,计算对照品峰面积的 RSD 值。

2.2.6 稳定性试验 取待测同一批次辛夷供试品溶液,按“2.2.2”项下色谱条件进行测定,分别在 0、2、4、6、8、12、24 h 进样,测定木兰脂素的峰面积,计算供试品峰面积的 RSD 值。

2.2.7 重复性试验 取待测同一批次辛夷粗粉约 1.0 g,平行称定 6 份,按供试品溶液制备项下方法处理,精密吸取供试品溶液 6 μL ,按“2.2.2”项下色谱条件分析测定,记录峰面积,计算 RSD 值。

2.2.8 加样回收试验 精密称取已知含量的辛夷粗粉 6 份,每份 0.5 g,分别加入相同量的木兰脂素对照品 4.5 mg,按供试品溶液制备项下方法处理,按“2.2.2”项下色谱条件分析测定,记录峰面积,计算平均回收率与 RSD 值。

2.2.9 样品测定 取不同产地的辛夷,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.2”项下色谱条件进样分析测定,记录峰面积,计算样品中木兰脂素的含量。

3 结果与分析

3.1 辛夷挥发油的成分

分别对两种不同产地辛夷的挥发油进行了 GC-MS 分析,通过气质联用给出质谱数据和计算机检索出的可能结构,并查阅有关文献资料与标准品的质谱图进行比较,共鉴定出 81 种化合物,GC-MS 总离子流图分别见图 1,化学成分及相对百分含量见表 1。

由图 1 可知,不同产地的辛夷在挥发油的成分组成与含量上均存在不同程度的差别。由表 1 可知,湖南、广西辛夷的挥发油分别鉴定出 62 和 64 种成分,其中湖南产地主要成分为桉油精(11.31%)、香

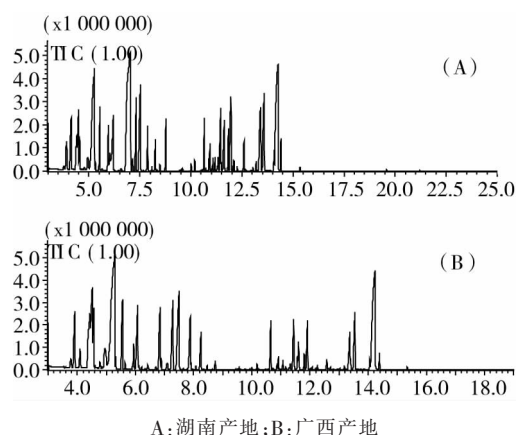


图 1 两种不同产地辛夷挥发油总离子流图

叶基芳樟醇(11.18%)、 α -松油醇(5.23%)、 τ -杜松醇(4.31%)、 β -松油醇(20.00%);广西产地主要成分为桉油精(5.27%)、柑橘柠烯(14.56%)、香叶基芳樟醇(12.67%)、 α -松油醇(6.56%)、 β -蒎烯(5.61%)、 α -水芹烯(5.35%)、(-)-4-萜品醇(4.39%)。上述结果与文献报道的辛夷挥发油主要成分较一致,但成分种类及含量有差别,可能与采收季节、药材贮存时间等因素有关。

3.2 木兰脂素的含量

3.2.1 系统适应性结果 系统适应性结果见图 2。木兰脂素与其相邻色谱峰的分度均大于 1.5,拖尾因子在 1.0~1.1,理论塔板数以各色谱峰计均在 9 000 以上。

3.2.2 方法学考察结果 经计算得到线性回归方程 $y=3\ 139\ x-2947.3(r=0.999\ 96)$

结果表明木兰脂素在 2~256 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($n=6$)进样浓度范围内线性关系良好。精密度结果表明,对照品峰面积的日内 RSD 值为 0.03%($n=6$),日间 RSD 值为 0.18%($n=6$),表明精密度良好。同一批次辛夷供试品 24 h 内峰面积 RSD 值为 0.15%($n=6$),表明木兰脂素在 24 h 内稳定性良好。重复性试验结果表明,供试品 RSD 值为 0.01%($n=6$),表明该测定方法的重现性良好。经计算平均回收率为 100.32%,RSD 值为 0.04%($n=6$),表明该测定结果准确可靠。

3.2.3 样品含量测定 经测定,湖南、广西产地辛夷中木兰脂素的含量分别为 $(0.87\pm 0.05)\%$ 、 $(0.81\pm 0.02)\%$ ($n=3$)。由此可知,不同产地辛夷中的木兰脂素含量有差异。

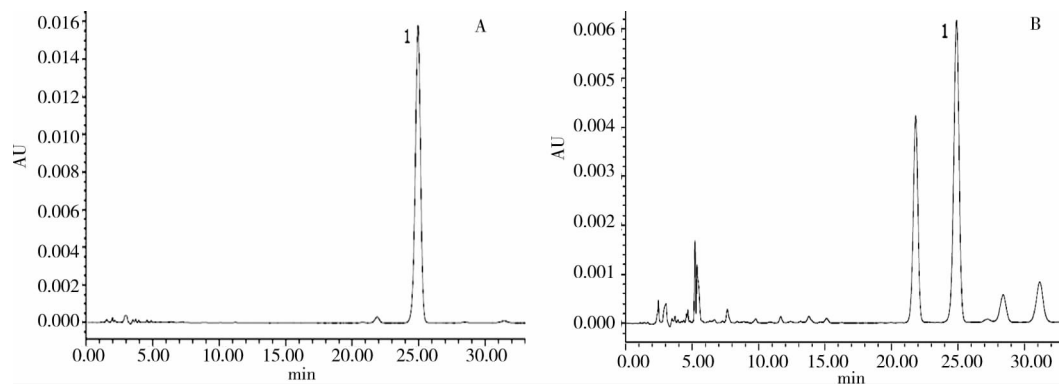
表1 不同产地辛夷挥发油成分分析

编号	化合物名称	相对百分含量(%)	
		湖南	广西
1	2-甲基-5-异丙基双环[3.1.0]己-2-烯	2.26	0.44
2	α -蒎烯	1.52	2.88
3	蒎烯	2.55	0.81
4	α -水芹烯	0.11	5.35
5	β -蒎烯	2.6	5.61
6	β -月桂烯	0.95	2.49
7	2,3-脱氢-1,8-桉叶素	0.02	0.06
8	1,1-二甲基-2(3-甲基-1,3-丁二烯)-环丙烷	-	0.06
9	4-萜烯	2.23	2.76
10	桉油精	11.31	5.27
11	柑橘柠檬烯	-	14.56
12	罗勒烯	0.15	0.27
13	γ -松油烯	2.16	3.84
14	2-甲基-5-(1-异丙基)-(1 α ,2 α ,5 α)-二环[3.1.0]己-2-醇	0.13	0.58
15	1,3,3-三甲基-二环[2.2.1]庚-2-酮	-	0.06
16	顺式氧化芳樟醇	0.25	-
17	芳樟醇	3.93	3.74
18	反式玫瑰醚	-	0.05
19	2-蒎酮	-	3.81
20	2,3,3-三甲基-二环[2.2.1]庚-2-醇	-	0.26
21	β -松油醇	20.00	-
22	L- α -松油醇	0.41	0.42
23	(-)-4-萜品醇	2.84	4.39
24	α -松油醇	5.23	6.56
25	4-甲基-1-异丙基-双环[3.1.0]-2-己烯	0.03	-
26	1,3,3-三甲基-2-氧-6-羰基-二环[2.2.2]辛烷	-	0.03
27	顺己烯基辛炔酯	0.01	-
28	香茅醇	1.37	2.79
29	2-异丙基-5-甲基茴香醚	0.02	0.02
30	柠檬醛	0.24	1.92
31	橙花醇	0.9	-
32	胡椒酮	0.02	0.03
33	乙酸瑞香草酯	-	0.01
34	乙酸龙脑酯	1.46	0.28
35	萜品油烯	0.02	0.02
36	乙酸香茅酯	0.01	0.03
37	乙酸松油酯	0.05	0.09
38	α -葑澄茄油烯	0.04	0.02
39	5-甲基-2-(1-甲基乙烯基)-4-己烯-1-醇乙酸酯	-	0.02
40	蒎烯	-	0.1
41	古巴烯	0.23	0.06
42	β -榄香烯	0.23	0.2
43	(Z,E)- α -金合欢烯	0.02	0.07
44	反式- α -香柠檬烯	0.03	-
45	1,7-二甲基-7-(4-甲基-3-戊烯基)-三环[2.2.1.0(2,6)]庚烷	0.04	0.03
46	石竹烯	1.60	1.99
47	香叶基丙酮	0.29	0.19
48	反式- β -金合欢烯	0.68	0.48
49	顺-3,5-依兰油二烯	0.07	0.03

续表 1

编号	化合物名称	相对百分含量 (%)	
		湖南	广西
50	律草烯	0.29	0.30
51	γ -依兰油烯	1.67	1.02
52	[3aS-(3a α ,3b β ,4 β ,7 α ,7aS*)]-八氢-7-甲基-3-亚甲基-4-(1-甲基乙基)-1-氢-环戊[1,3]环丙[1,2]苯	2.70	2.36
53	异丁香酚甲醚	0.18	-
54	1,4a-二甲基-7-(1-异丙基)六氢萘	-	0.02
55	α -金合欢烯	-	0.5
56	α -依兰油烯	2.17	1.00
57	(1 α ,4a β ,8a α)-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-异丙基)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢萘	1.24	0.51
58	[1S-(1 α ,4a β ,8a α)]-4,7-二甲基-1-(1-异丙基)-1,2,4a,5,8,8a-六氢萘	4.06	2.31
59	表圆线藻烯	-	0.02
60	1,6-二甲基-4-(1-异丙基)-六氢萘	0.10	0.05
61	[1S-(1 α ,4a α ,8a α)]-4,7-二甲基-1-(1-异丙基)-1,2,4a,5,6,8a-六氢萘	0.21	-
62	乙酸橙花叔酯	-	0.15
63	(E)- β -金合欢烯	0.10	-
64	2-亚甲基-6,8,8-三甲基-三环[5.2.2.0(1,6)]十一碳-3-醇	0.03	-
65	1,1,3a,7-四甲基-1H-环丙基[a]八氢萘	0.03	-
66	[1aR-(1 α ,4 β ,4a β ,7 α ,7b α)]-1,1,4,7-四甲基十氢-1H-环丙基[e]萘-4-醇	-	0.14
67	1,3-二(2-环丙基,2-甲基环丙基)丁烯-2-酮-1	0.02	-
68	雪松醇	-	0.03
69	柏木烯醇	0.02	-
70	葎澄茄油烯醇	0.09	0.06
71	4-表葎澄茄油烯醇	-	0.12
72	α -柏木烯	0.21	-
73	(2R-cis)-,1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢- α,α , 4a,8-四甲基-2-萘甲醇	-	0.03
74	[1R(1 α ,4 β ,4a β ,8a β)]-1,6-二甲基-4-(1-异丙基)-八氢萘酚	4.05	2.07
75	τ -杜松醇	4.31	3.19
76	香叶- α -松油烯	-	0.30
77	反式-长叶松香芹醇	0.52	-
78	香叶基芳樟醇	11.18	12.67
79	金合欢醛	0.76	0.47
80	亚硫酸酯	0.03	-
81	亚硫酸 2-乙基己酸己酯	0.02	-

注：“-”表示未检测出。



A 木兰脂素对照品; B 辛夷药材; 1 木兰脂素

图 2 对照品与供试品 HPLC 图谱

4 结论

药材中挥发油成分稳定性较差,易受采收季节、加工方法、贮藏等条件的影响^[5]。本试验结果表明,市售湖南、广西两种不同产地辛夷的挥发油成分组成、含量及木兰脂素含量均存在不同程度的差异,湖南、广西辛夷的挥发油分别鉴定出62和64种成分,挥发油的主要成分为单萜、倍半萜类及其含氧衍生物和脂肪族类化合物,如桉油精、 β -蒎烯、2-蒎酮、香叶基芳樟醇、 α -松油醇等,与文献资料报道基本一致^[6-8],但成分种类及含量有较大差别,除了产地的影响,可能与采收季节、药材贮存时间等因素有关。木兰脂素在2~256 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内与峰面积呈良好线性关系($r=0.999\ 96, n=6$),平均加样回收率为100.32%,RSD为0.04%($n=6$),本文建立的HPLC简便可靠、重复性好,可用于辛夷中木兰脂素的含量测定。两个产地的木兰脂素含量均达到《中华人民共和国药典》2015版要求(按干燥品计算,辛夷粗粉中含木兰脂素不得少于0.40%)。

本实验结果可为辛夷药材的开发利用及相关制剂的研究提供实验依据。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].北京:中国医药科技出版社,2015:182.
- [2] 冯卫生,王建超,何玉环,等.辛夷化学成分的研究[J].中国药学杂志,2015,50(24):2103-2106.
- [3] 王永慧,叶方,张秀华.辛夷药理作用和临床应用研究进展[J].中国医药导报,2012,9(16):12-14.
- [4] 李小莉,张永忠.木兰脂素抗炎、抗过敏作用的实验研究[J].中草药,2002,33(11):1014-1015.
- [5] 李佐军,周玉婷,邓雪姣,等.市售不同产地吴茱萸挥发油成分的气相色谱-质谱分析[J].时珍国医国药,2013,24(8):1835-1837.
- [6] 齐天,杨光,胡志,等.加速溶剂萃取/气相色谱-质谱法分析辛夷中挥发油成分[J].广东药学院学报,2014,30(2):184-189.
- [7] 杨柳,刘建,李艳福,等.4种不同方法提取辛夷挥发油成分研究[J].河南工程学院学报(自然科学版),2016,28(1):33-37.
- [8] 何娟,杨柳,李艳福,等.中药材辛夷挥发油GC-MS指纹图谱的建立[J].分析测试学报,2008,27(4):423-425,429.

(本文编辑 苏维)

《湖南中医药大学学报》2015年核心影响因子

据最新2016年版《中国科技期刊引证报告》(核心版)显示:《湖南中医药大学学报》2015年核心影响因子0.425,核心他引率0.90,核心总被引频次1139,核心影响因子比2014年提高0.1,在全国中医药大学学报综合评价排名中比2014年上升了4位,排名第七。