

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.03.022

高效液相色谱法测定面煨肉豆蔻中去氢二异丁香酚含量

董清, 杜攀, 李培[△]

(山东省聊城市检验检测中心, 山东 聊城 252000)

摘要:目的 建立测定面煨肉豆蔻中去氢二异丁香酚含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Waters C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水溶液(72:28, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 274 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μL。结果 去氢二异丁香酚进样量在 0.132 0~0.792 0 μg 范围内与峰面积线性关系良好($r = 1.000\ 0$, $n = 6$), 平均加样回收率为 98.34%, RSD 为 1.05% ($n = 12$); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2%。结论 该方法操作简便, 结果准确, 重复性和稳定性均良好, 可用于测定面煨肉豆蔻中去氢二异丁香酚的含量。

关键词: 肉豆蔻; 炮制; 面煨法; 高效液相色谱法; 去氢二异丁香酚; 含量测定

中图分类号: R932; R283

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)03-0091-03

Content Determination of Dehydroisoeugenol in Myristicae Semen Roasted with Flour by HPLC

DONG Qing, DU Pan, LI Pei

(Liaocheng City Food and Drug Inspection and Testing Center, Liaocheng, Shandong, China 252000)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the content determination of dehydroisoeugenol in Myristicae Semen roasted with flour. **Methods** The chromatographic column was Waters C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-water (72:28, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 274 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** The injection volume of dehydroisoeugenol showed a good linear relationship with the peak area in the range of 0.132 0~0.792 0 μg ($r = 1.000\ 0$, $n = 6$), and the average recovery of dehydroisoeugenol was 98.34% with an RSD of 1.05% ($n = 12$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 2%. **Conclusion** The method is simple, accurate, reproducible and stable, which can be used for the content determination of dehydroisoeugenol in Myristicae Semen roasted with flour.

Key words: Myristicae Semen; processing; roasted with flour; HPLC; dehydroisoeugenol; content determination

肉豆蔻作为药材使用始载于唐代王焘《外台秘要方》,具有温中行气、涩肠止泻之功效,用于脾胃虚寒、久泻不止、脘腹胀痛、食少呕吐^[1]。其炮制方法最早见于南北朝刘宋《雷公炮炙论》的面煨法^[2],后又出现麸煨、湿纸煨、滑石粉炒、麸炒、蛤粉炒、制霜等法。2005年及以前版本《中国药典(一部)》中炮制方法均为面煨法,2010年版以后改为麸煨法^[3]。《山东省中药饮片炮制规范》采用面煨法^[4],虽操作烦琐,面结不易除去,但该炮制工艺沿用已久,且面煨能除去部分油脂,免于滑肠,减轻刺激,增强固肠止泻功效,故有必要继续保留。肉豆蔻主要含有挥发性成分和非挥发性成分,非挥发性

成分中去氢二异丁香酚具有较强的抑菌、抑制肝内脂质氧化作用,为肉豆蔻的活性成分^[5],且在煨制过程中不易挥发。本研究建立了测定面煨肉豆蔻中去氢二异丁香酚含量的高效液相色谱法^[6-7],以提高面煨肉豆蔻的质量标准。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1200sl 型色谱工作站(美国安捷伦科技公司),配有 G1314B 型紫外检测器; BT 125D 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司,精度为 0.1 mg); KQ-500GVDV 型双频恒温数控超声提取仪(昆山市超

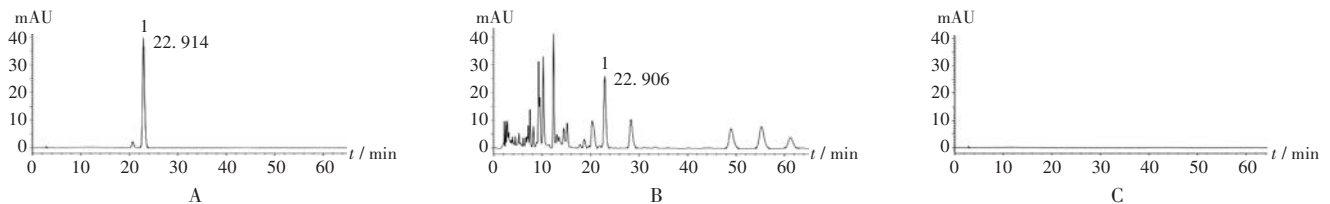
第一作者:董清,女,大学本科,药师,研究方向为中成药、中药材、中药饮片的质量控制及标准,(电话)0635-8535528(电子信箱)524197100@qq.com。

[△]通信作者:李培,女,大学本科,主管药师,研究方向为中成药、中药材、饮片的质量控制及标准,(电子信箱)lipei.5924277@163.com。

- [10] European Pharmacopoeia Commission. EP9. 0(Volume II)[M]. Strasbourg:European Directorate Health Care,2017:1634-1635.
- [11] The Japanese Pharmacopoeia. JP17[M]. Tokyo: Ministry of Health, Labour and Welfare,2016:368-369.
- [12] The United States Pharmacopoeial Convention. USP42(Volume I)[M]. Rockville:The United States Pharmacopoeial Convention, 2019:83-84.

- [13] European Pharmacopoeia Commission. EP10. 3 (Volume II)[M]. Strasbourg:European Directorate Health Care,2020:4900-4901.
- [14] 方 硕,魏荣卿,刘晓宁,等. 高聚物型色谱柱分离乙酰半胱氨酸及其有关物质[J]. 分析试验室,2010,29(1):25-27.

(收稿日期:2021-06-20;修回日期:2021-08-02)



1. 去氢二异丁香酚
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 空白溶剂

图1 高效液相色谱图

1. Dehydrodiisoeugenol
A. Reference solution B. Test solution C. Blank solvent

Fig. 1 HPLC chromatograms

声仪器有限公司,功率为500 W,频率为80 kHz)。

1.2 试药

去氢二异丁香酚对照品(中国食品药品检定研究院,批号为111838-201804,含量为98.6%);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯;肉豆蔻(安徽省亳州药材市场,共10批,产地为广西),经山东省聊城市检验检测中心李广华主管中药师鉴定为正品,均符合2020年版《中国药典(一部)》标准。

2 方法与结果

2.1 面煨肉豆蔻制备

取面粉,用清水和成面团,压成薄饼状,用面饼逐个包裹肉豆蔻,皮厚1.5~3.0 mm^[8],凉至半干,投入已炒热的滑石粉或沙中,煨炒至面皮呈焦黄色,透出芳香气味时取出,筛去滑石粉或沙子,剥去面皮,放凉;或趁热剥去面皮,及时切成厚片,放凉。共制备10批(分别编号为1-10号)。

2.2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Waters C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水溶液(72:28,V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:274 nm;柱温:30℃;进样量:10 μL。理论板数以去氢二异丁香酚峰计不低于3 000,在此色谱条件下的色谱图见图1。

2.3 溶液制备

取去氢二异丁香酚对照品25 mg,精密称定,加甲醇溶解并定容至50 mL容量瓶中,摇匀,作为对照品贮备液;精密量取3 mL,加甲醇定容至50 mL容量瓶中,摇匀,即得对照品溶液。取样品粉末(过2号筛)0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,称定质量,超声处理(功率为250 W,频率为40 kHz,温度为2~10℃)30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,即得供试品溶液。以甲醇作为空白溶剂。

2.4 方法学考察

线性关系考察:精密吸取2.3项下对照品贮备液1,2,3,4,5,6 mL,分别置20 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,按2.2项下色谱条件进样测定。以去氢二

异丁香酚对照品的进样量($X, \mu\text{g}$)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 3\,675.9X - 4.921\,3$ ($r = 1.000\,0, n = 6$)。结果表明,去氢二异丁香酚对照品进样量在0.132 0~0.792 0 μg范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取2.3项下对照品溶液10 μL,按2.2项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果的 RSD 为0.71%($n = 6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(编号为7号),按2.3项下方法制备供试品溶液,平行6份,按2.2项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果的 RSD 为0.78%($n = 6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:吸取2.3项下供试品溶液10 μL,分别于0,6,12,18,24,30,36 h时按2.2项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 RSD 为0.67%($n = 7$),表明供试品溶液在36 h内稳定性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(编号为7号,去氢二异丁香酚含量为0.228%)0.5 g,精密称定,共12份,置50 mL容量瓶中,分别加入去氢二异丁香酚对照品溶液(质量浓度为0.105 6 mg/mL)7.5,15.0 mL,各6份,加甲醇适量,超声处理(功率为250 W,频率为40 kHz,温度为2~10℃)30 min,加甲醇定容,滤过,取续滤液,即得待测溶液。按2.2项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表1。

2.5 样品含量测定

取10批样品(编号为1-10),依法制备供试品溶液,分别吸取上述溶液10 μL,按2.2项下色谱条件进样测定。结果10批样品的含量分别为0.16%,0.21%,0.19%,0.40%,0.18%,0.39%,0.23%,0.24%,0.35%,0.36%,平均含量为0.27%。

3 讨论

肉豆蔻是种子类药材,含有大量脂肪类成分,且沸点极低,室温放置即可析出油脂,检测时易堵塞液相色谱仪。曾采用正己烷提取油脂,再用甲醇超声提取的方法处理样品,后改用直接超声提取、冰箱冷藏再过滤的