



# 乳香中 $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯含量测定方法研究

宋志前<sup>1</sup>, 夏磊<sup>2</sup>, 魏征<sup>2</sup>, 曹玉娜<sup>2</sup>, 张琳琳<sup>1</sup>, 刘振丽<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院 中医基础理论研究所, 北京 100700;

2. 天津中医药大学 中药学院, 天津 300193)

**[摘要]** 目的:建立乳香中  $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯含量测定方法,为制订乳香和制乳香质量标准提供参考。方法:采用气相色谱-质谱法测定, Rxi-5ms 石英毛细管柱,进样口温度 250 °C,程序升温,起始温度 50 °C,保持 1 min,以 5 °C · min<sup>-1</sup> 程序升温至 130 °C,保持 1 min。进样量 1  $\mu$ L;分流比 1:60;载气为氦气。质谱电离方式为 EI,离子源温度 200 °C,接口温度为 250 °C,电子能量 70 eV,电离电压 0.78 KV,扫描范围  $m/z$  45 ~ 450。结果:以 50 倍量正己烷超声提取 30 min;10 批次乳香中  $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯的质量分数分别为 0.021 3 ~ 0.149 5, 2.519 6 ~ 9.098 0 mg · g<sup>-1</sup>, 10 批制乳香中分别为 0.015 9 ~ 0.065 9 和 0.801 0 ~ 12.812 2 mg · g<sup>-1</sup>。结论:建立了乳香中  $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯含量测定方法,方法稳定、可靠。

**[关键词]** 乳香;制乳香; $\alpha$ -蒎烯;乙酸辛酯;含量

乳香为橄榄科植物乳香树 *Boswellia carterii* Birdw 及同属植物 *B. bhaw-dijiana* 树皮渗出的树脂,具有活血定痛,消肿生肌的功效<sup>[1]</sup>。研究发现其挥发油成分具有抗肿瘤的活性<sup>[2]</sup>。 $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯为不同来源乳香挥发油中主要成分<sup>[3]</sup>。2010 年版《中国药典》采用气相色谱法定性鉴别这 2 种成分,用于区分乳香是来源于埃塞俄比亚还是索马里的依据,但未建立含量测定方法<sup>[1]</sup>。有报道采用水蒸气蒸馏法提取挥发油后,测定挥发油中这 2 种成分含量<sup>[3,4]</sup>。乳香有生品与炮制品。本文建立了直接溶剂提取,测定 2 种成分含量的方法,并对市售乳香与制乳香各 10 个批次样品中  $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯进行含量测定,为乳香质量标准的制订提供参考。

## 1 材料与试剂

QP2010 型气相色谱-质谱联用仪(日本岛津); TCQ-250 超声波清洗器(北京医疗设备二厂); Sartorius CP 225D 1/10 万电子天平,所用试剂均为分析纯(北京化工厂)。

所收集到市售乳香样品包括生品与炮制品,见表 1。经北京中医药大学刘春生教授鉴定为橄榄科

植物乳香树 *B. carterii* 及同属植物 *B. bhaw-dijiana* 树皮渗出的树脂。乙酸辛酯,  $\alpha$ -蒎烯对照品均购于中国药品生物制品检定所,含量测定用,批号分别为 111671-200602, 897-200001。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Restek Rxi-5ms 石英毛细管柱(0.25 mm × 30 m, 0.25  $\mu$ m);进样口温度 250 °C;程序升温,起始温度 50 °C,保持 1 min,以 5 °C · min<sup>-1</sup> 程序升温至 130 °C,保持 1 min;进样量 1  $\mu$ L;分流比 1:60;载气氦气;电离方式为 EI,离子源温度 200 °C,接口温度 250 °C,电子能量 70 eV,电离电压 0.78 KV,扫描范围  $m/z$  45 ~ 450。按上述 GC-MS 条件进行分析,得其总离子流图,见图 1。

**2.2 对照品溶液的制备和线性关系考察** 分别取  $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯对照品,精密称定,加正己烷溶解,制成每 1 mL 各含 68.1, 47.6  $\mu$ g 的对照品溶液,避光保存。分别精密吸取  $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯对照品溶液 0.8, 1.6, 3.2, 4.8, 6.4, 8  $\mu$ L 注入气相色谱仪,以测得的峰面积积分为纵坐标,进样量为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。 $\alpha$ -蒎烯  $Y = 3 \times 10^7 X - 181\ 622$ ,  $r = 0.999\ 8$ , 0.054 ~ 0.545  $\mu$ g 内线性关系良好;乙酸辛酯  $Y = 2 \times 10^7 X - 236\ 842$ ,  $r = 0.999\ 9$ , 0.038 ~ 0.380  $\mu$ g 内线性关系良好。

**2.3 供试品溶液制备** 取供试品粉末约 0.50 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入正己烷 25 mL,称重,超声 30 min,放冷后正己烷补足失重,摇匀,0.22  $\mu$ m 膜滤过。

**[稿件编号]** 20111024009

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09103-314)

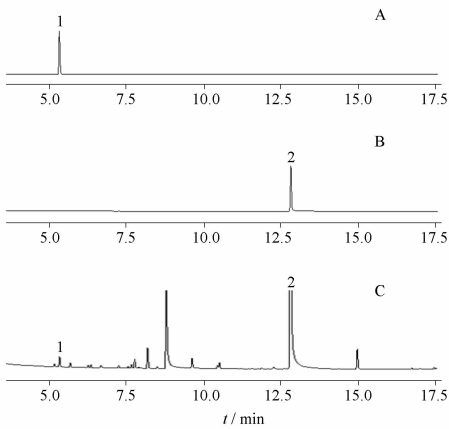
**[通信作者]** \* 刘振丽,研究员, Tel: (010) 64014411-2503, E-mail: zhenli\_liu@sina.com.cn



表1 乳香及制乳香的来源

Table 1 Origin of raw and processed *Boswellia serrata*

No.	乳香	购买地	No.	乳香	购买地
1	生品	北京崇光药业有限公司-1	1	制品	北京崇光药业有限公司-1
2	生品	北京仟草中药饮片有限公司	2	制品	北京仟草中药饮片有限公司
3	生品	北京白象大药房	3	制品	北京白象大药房
4	生品	河北安国药材市场	4	制品	酒泉市中医院
5	生品	北京崇光药业有限公司-2	5	制品	江西心连心大药房
6	生品	呼伦贝尔1	6	制品	河南省睢县站前药店
7	生品	呼伦贝尔2	7	制品	北京全新大药房
8	生品	河南省睢县站前药店	8	制品	江西省上饶市
9	生品	海南	9	制品	河北永安堂
10	生品	河南省睢县北门药店	10	制品	南昌市开心大药房



A.  $\alpha$ -蒎烯对照品; B. 乙酸辛酯对照品; C. 乳香。

图1 乳香样品与对照品总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of standards and sample

**2.4 精密度试验** 精密吸取同一乳香供试品溶液重复进样6次,  $\alpha$ -蒎烯与乙酸辛酯峰面积积分值RSD分别为1.5%, 1.6%。

**2.5 稳定性试验** 取同一乳香供试品溶液, 分别在制备后0, 2, 4, 6, 8, 24 h进样测定1次,  $\alpha$ -蒎烯与乙酸辛酯峰面积积分值RSD分别为1.0%, 2.8%, 表明样品溶液在24 h内稳定性良好。

**2.6 重复性试验** 精密称取同一乳香样品6份, 按2.3项制备方法处理, 进行含量测定。 $\alpha$ -蒎烯与乙酸辛酯含量RSD分别为2.5%, 1.8%。

**2.7 回收率试验** 取已知含量的乳香样品粉末0.25 g 6份, 精密称定, 分别精密加入 $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯对照品, 按供试品溶液处理, 进行含量测定, 计算 $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯的回收率, 结果见表2。

表2  $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯加样回收率( $n=6$ )

Table 2 The recoveries of  $\alpha$ -pinene and octyl acetate ( $n=6$ )

成分	取样量 /g	样品中量 /mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD /%
$\alpha$ -蒎烯	0.259 47	0.023 202	0.021	0.043 9	98.67	99.53	1.9
	0.249 98	0.022 354	0.021	0.043 3	99.84		
	0.251 38	0.022 479	0.021	0.043 8	101.6		
	0.253 96	0.022 709	0.021	0.044 1	101.8		
	0.247 35	0.022 118	0.021	0.042 6	97.56		
	0.248 79	0.022 247	0.021	0.042 8	97.68		
乙酸辛酯	0.249 67	1.727 7	1.713	3.369 3	95.83	95.66	1.5
	0.245 78	1.700 8	1.713	3.313 6	94.15		
	0.253 96	1.757 4	1.713	3.387 7	95.17		
	0.242 89	1.680 8	1.713	3.295 8	94.28		
	0.255 71	1.769 5	1.713	3.433 3	97.12		
	0.256 34	1.773 9	1.713	3.442 4	97.41		

**2.8 含量测定** 各供试品溶液用0.22  $\mu$ m微孔滤膜滤过, 取续滤液和各对照品溶液1  $\mu$ L注入GC-MS, 测定峰面积, 计算含量, 结果见表3。

表3 乳香和制乳香中 $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯质量分数

Table 3 The contents of  $\alpha$ -pinene and octyl acetate in raw and processed *Boswellia serrata*  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

乳香	$\alpha$ -蒎烯	乙酸辛酯	制乳香	$\alpha$ -蒎烯	乙酸辛酯
1	0.021 3	9.098 0	1	0.021 0	8.135 0
2	0.023 4	8.331 5	2	0.026 4	8.715 7
3	0.027 4	5.798 6	3	0.020 3	5.483 1
4	0.029 0	8.726 8	4	0.029 8	12.812 2
5	0.021 6	6.246 5	5	0.030 7	2.952 7
6	0.028 1	5.908 2	6	0.031 5	3.686 3
7	0.043 6	5.384 4	7	0.020 4	5.514 3
8	0.141 9	2.519 6	8	0.015 9	0.801 0
9	0.077 3	4.962 0	9	0.029 6	5.984 2
10	0.149 5	4.219 6	10	0.065 9	3.242 5



### 3 讨论与结论

对供试品溶液制备方法采用正交设计进行考察,比较了提取溶剂(正己烷,无水乙醇,乙酸乙酯),提取时间(30,45,60 min),加入溶剂倍量(50,100,150倍),方差分析结果表明各因素对2个成分测定结果均无显著影响,确定提取方法为0.5 g供试品以正己烷25 mL超声提取30 min。

市售的10个批次乳香中 $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯的质量分数分别为0.021 3~0.149 5,2.519 6~9.098 0  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ;10个批次制乳香中 $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯的质量分数分别为0.015 9~0.065 9,0.801 0~12.812 2  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。表明市售不同批次乳香和制乳香中所含 $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯存在一定差异。对于炮制后2种成分含量是否变化,需对同批次生品炮制后的制品进行分析才能确定。

2010年版《中国药典》在乳香含量测定项下规

定了挥发油的限量标准。文献[5]研究表明,索马里乳香挥发油主要成分为 $\alpha$ -蒎烯,埃塞俄比亚乳香则为乙酸辛酯。本文所有样品中乙酸辛酯含量都显著高于 $\alpha$ -蒎烯。本文建立的乳香中 $\alpha$ -蒎烯和乙酸辛酯的含量测定方法,对于控制和评价乳香质量具有实用价值。

#### [参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:207.
- [2] 肖娟,刘选明,颜冬兰,等. 乳香挥发油抑制人肝癌 SMMC-7721 细胞株增殖及诱导凋亡的作用[J]. 中国天然药物, 2007,5(1):68.
- [3] 石上梅,田金改,王宝琴. 进口乳香药材的检测方法研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(3):170.
- [4] 刘青,于宗渊. 气相色谱法测定乳香挥发油中乙酸辛酯的含量[J]. 时珍国医国药,2007,18(6):1416.
- [5] 朱孝芸,吴锦涛,袁俊贤. 新、老乳香的化学鉴定[J]. 中成药, 1993,15(7):33.

## Determination of $\alpha$ -pinene and octyl acetate contents in *Boswellia serrata*

SONG Zhiqian<sup>1</sup>, XIA Lei<sup>2</sup>, WEI Zheng<sup>2</sup>, CAO Yuna<sup>2</sup>, ZHANG Linlin<sup>1</sup>, LIU Zhenli<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Basic Theory, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To establish method for determining the contents of  $\alpha$ -pinene and octyl acetate in *Boswellia serrata*, in order to provide preference for making quality standards for *B. serrata* and processed *B. serrata*. **Method:** Application of orthogonal design was employed to optimize the solvent, solvent quantity and extraction time. The GC-MS analysis was performed on a Rxi-5ms silica capillary column, running in the electron impact(EI) mode, with ion trap and injector temperature of 200 °C and 250 °C, respectively. The column oven was initially 50 °C and was held for 1 min after injection, followed by temperature ramping at 5 °C · min<sup>-1</sup> up to 130 °C, holding for 1 min. 1  $\mu\text{L}$  of samples solution were injected in the split mode(1:60). Helium was the carrier gas. The mass spectrometer was set to scan  $m/z$  45-450 with an ionizing voltage at 70 eV. **Result:** Sample solutions were prepared for 50-fold dose by ultrasonic extraction with hexane for 30 min. The content of  $\alpha$ -pinene and octyl acetate in 10 batches of *B. serrata* were 0.021 3-0.149 5, 2.519 6-9.098 0  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , respectively. And, those of  $\alpha$ -pinene and octyl acetate in processed *B. serrata* were 0.015 9-0.065 9, 0.801 0-12.812 2  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . **Conclusion:** The method is a stable and reliable for determining the contents of  $\alpha$ -pinene and octyl acetate in *B. serrata*.

[Key words] *Boswellia serrata*; processed *Boswellia serrata*;  $\alpha$ -pinene; octyl acetate; content

doi:10.4268/cjcmm20121018

[责任编辑 孔晶晶]