

GC法同时测定万金香气雾剂中5种成分

李同俊¹, 贾金燕², 伍庆¹, 杨林², 李霞², 石艳梅^{3*}

(1. 贵州师范大学山地环境重点实验室, 贵州 贵阳 550001; 2. 贵州宏宇药业有限公司, 贵州 贵阳 550018; 3. 贵阳市第三实验中学, 贵州 贵阳 550001)

摘要: 目的 建立 GC 法同时测定万金香气雾剂 (萆澄茄、杠板归、艾纳香油) 中 5 种成分的含有量。方法 该制剂无水乙醇提取物的分析采用 HP-INNOWax 色谱柱 (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm); 检测器 (FID) 温度 250 °C; 进样口温度 250 °C; 载气氮气; 分流比 5 : 1。结果 1,8-桉叶素、樟脑、芳樟醇、β-石竹烯、L-龙脑分别在 0.007 38 ~ 0.073 8 mg/mL ($r = 0.999 9$)、0.041 0 ~ 0.410 mg/mL ($r = 0.999 6$)、0.034 2 ~ 0.342 mg/mL ($r = 0.999 6$)、0.060 8 ~ 0.608 mg/mL ($r = 0.999 7$)、0.125 ~ 1.245 mg/mL ($r = 0.999 8$) 范围内呈良好的线性关系, 平均加样回收率 ($n = 9$) 分别为 98.3% (RSD = 2.9%)、99.0% (RSD = 2.0%)、99.7% (RSD = 1.1%)、97.2% (RSD = 1.3%)、98.8% (RSD = 1.1%)。结论 该方法简单准确, 灵敏度高, 可用于万金香气雾剂的质量控制。

关键词: 万金香气雾剂; 1,8-桉叶素; 樟脑; 芳樟醇; β-石竹烯; L-龙脑; GC

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)10-2172-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.10.015

Simultaneous determination of five constituents in Wanjinxiang Aerosol by GC

LI Tong-jun¹, JIA Jin-yan², WU Qing¹, YANG Lin², LI Xia², SHI Yan-mei^{3*}

(1. Key Laboratory for Mountain Environment, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China; 2. Guizhou Hongyu Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550018, China; 3. Guiyang No. 3 Experimental High School, Guiyang 550001, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish a GC method for the simultaneous determination of contents of five constituents in Wanjinxiang Aerosol (an agent to relieve skin problem, containing *Litsea cubeba* [Lour.] Pers., *Polygonum perfoliatum* L., and volatile oil from *Blumea Balsamifera* [L.] DC. leaves). **METHODS** The analysis of anhydrous alcohol extract of this preparation was carried out on an HP-INNO-WAX column (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), both the detector (FID) and the injector temperature were maintained at 250 °C, the carrier gas was nitrogen, and the split ration was 5 : 1. **RESULTS** 1,8-Cineole, camphor, linalool, β-caryophyllene and L-borneol showed good linear relationships within the ranges of 0.007 38 – 0.073 8 mg/mL ($r = 0.999 9$), 0.041 0 – 0.410 mg/mL ($r = 0.999 6$), 0.034 2 – 0.342 mg/mL ($r = 0.999 6$), 0.060 8 – 0.608 mg/mL ($r = 0.999 7$) and 0.125 – 1.245 mg/mL ($r = 0.999 8$), whose average recoveries ($n = 9$) were 98.3% (RSD = 2.9%), 99.0% (RSD = 2.0%), 99.7% (RSD = 1.1%), 97.2% (RSD = 1.3%) and 98.8% (RSD = 1.1%), respectively. **CONCLUSION** This simple, accurate and sensitive method can be applied to the quality control of Wanjinxiang Aerosol.

KEY WORDS: Wanjinxiang Aerosol; 1,8-cineole; camphor; linalool; β-caryophyllene; L-borneol; GC

万金香气雾剂是由萆澄茄、杠板归、艾纳香油及镇痛、消肿之功效, 主要用于神经性皮炎、外感瘟疫其他辅料制成的苗药, 具有辟秽解毒、止痒、抗炎、时毒、发热头疼、蚊虫叮咬、红肿痒痛等症^[1-4]。1,8-

收稿日期: 2016-03-22

基金项目: 教育部喀斯特山地生物多样性保护与可持续利用创新团队 (IRT1227); 喀斯特地区生物与信息技术协同创新中心 (黔教合协同创新字 [2014] 04); 贵州省科技成果转化引导基金计划项目 (黔科合成转字 [2015] 2015-2); 贵州省科学技术基金 (黔科合 J 字 [2014] 2002); 国家新药创新重大专项 (2015ZX09101043-007)

作者简介: 李同俊 (1983—), 男, 硕士生, 研究方向为分析化学。Tel: 18285063057, E-mail: tongjunxiaoyu@163.com

* **通信作者:** 石艳梅 (1965—), 女, 研究方向为化学教学与管理。Tel: 13312204191, E-mail: 39348389@qq.com

桉叶素和芳樟醇为桉澄茄的主要成分,具有抗菌、驱虫、辟秽解和有良好的透皮渗透作用^[5-6];艾纳香油中含有 β -石竹烯、樟脑、*L*-龙脑等成分,具有抗菌、镇痛、消炎、局部止痒等作用^[7-15],均与本方主治功能相符,可作为质量控制的相关指标。但现行国家药品标准只针对该药中龙脑的含有量进行测定^[1],为了体现中药制剂多成分、多靶点的整合协同作用,建立同时测定多种有效成分的方法,有效完善单一性指标对药物质量的控制^[16-18],本实验利用GC-FID法同时测定万金香气雾剂中1,8-桉叶素、樟脑、芳樟醇、 β -石竹烯、*L*-龙脑的含有量5个成分,为该制剂的质量控制提供数据支撑。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 HP-6890 气相色谱仪,配置氢火焰离子检测器、Agilent Chemstation 色谱工作站(美国 Agilent 公司);AL-204 电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);精密移液枪(100~1 000、20~200、1~10 μ L,德国 Eppendorf 公司)。

1.2 试剂 1,8-桉叶素(批号 110788-200705)、樟脑(批号 110747-200507)、芳樟醇(批号 11503-200001)、*L*-龙脑(批号 110881-201107)对照品均购自中国食品药品检定研究院; β -石竹烯对照品(批号 ZY151123)购自上海谱振生物科技有限公司。水杨酸甲酯为分析纯(内标,天津市化学试剂一厂);无水乙醇为色谱纯(天津科密欧化学试剂有限公司)。万金香气雾剂(批号 153007、153008、153009,20 g/瓶)由贵州宏宇药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 HP-INNOWax 色谱柱(30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μ m);FID 检测器,温度 250 $^{\circ}$ C;进样口温度 250 $^{\circ}$ C,分流比 5:1,体积流量 1.5 mL/min;氢气体积流量 30 mL/min;空气体积流量 300 mL/min;尾吹气体积流量 30 mL/min;升温程序为初始温度 60 $^{\circ}$ C,保持 5 min,以 5 $^{\circ}$ C/min 速率升至 80 $^{\circ}$ C,保持 2 min,以 2 $^{\circ}$ C/min 速率升至 150 $^{\circ}$ C,保持 1 min。

2.2 内标溶液配制 精密称取水杨酸甲酯 119.0 mg,置于 5 mL 量瓶中,无水乙醇定容,摇匀,即得。

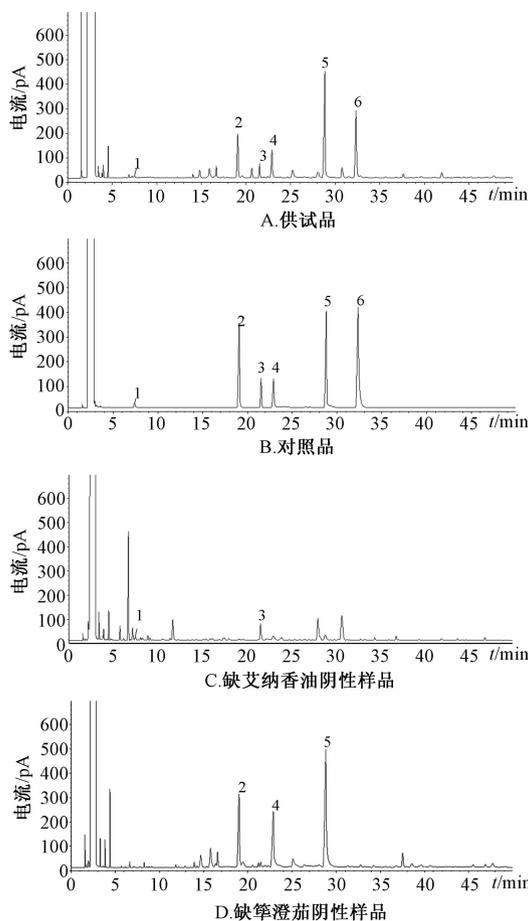
2.3 对照品溶液配制 称取各对照品适量,无水乙醇制得对照品贮备液。取 0.075 0 mL 1,8-桉叶素(1.475 mg/mL)、0.300 mL 樟脑(2.732 mg/mL)、0.065 0 mL 芳樟醇(6.832 mg/mL)、0.600 mL β -石竹烯(3.040 mg/mL)、1.00 mL *L*-龙脑

(4.150 mg/mL),置于同一 5 mL 量瓶中,再加入 0.300 mL 内标溶液,无水乙醇稀释并定容,摇匀,即得含 0.022 0 mg/mL 1,8-桉叶素、0.164 mg/mL 樟脑、0.088 7 mg/mL 芳樟醇、0.365 mg/mL β -石竹烯、0.830 mg/mL *L*-龙脑的对照品溶液。

2.4 供试品溶液配制 精密量取万金香气雾剂 1.0 mL,置于 5 mL 量瓶中,加入 0.300 mL 内标溶液,无水乙醇稀释定容,摇匀,取 1 μ L 进样,即得。

2.5 阴性样品溶液配制 按万金香气雾剂的处方及生产工艺,制成缺桉澄茄、艾纳香油的阴性样品。

2.6 系统适用性试验 吸取供试品、对照品、阴性样品溶液 1 μ L,在“2.1”项色谱条件下进样分析,记录色谱峰,见图 1。由图可知,阴性样品溶液中 5 种成分的色谱峰位置均无相应峰出现,对其测定均无干扰。



1. 1,8-桉叶素 2. 樟脑 3. 芳樟醇 4. β -石竹烯 5. *L*-龙脑
6. 水杨酸甲酯
1. 1,8-cineole 2. camphor 3. linalool 4. β -caryophyllene
5. *L*-borneol 6. methyl salicylate

图 1 GC 色谱图

Fig. 1 GC chromatograms

2.7 线性关系考察 精密吸取1,8-桉叶素对照品贮备液25、50、75、200、250 μL,置于5个5 mL量瓶中,加入樟脑75、150、300、400、750 μL,芳樟醇25、40、65、120、250 μL,β-石竹烯100、300、600、800、1 000 μL, L-龙脑对照品贮备液150、600、1 000、1 300、1 500 μL,再精密加入300 μL水杨酸甲酯内标液,无水乙醇定容,摇匀,即得。分别取1 μL注入气相色谱仪,记录色谱图,以各成分溶液质量浓度为横坐标(X),其对水杨酸甲酯峰面积的比值为纵坐标(Y)进行线性回归,结果见表1,表明各成分在各自范围内均呈良好的线性关系。

表1 5种成分的线性关系

Tab. 1 Linear relationships of five constituents

成分	回归方程	r	线性范围/ (mg·mL ⁻¹)
1,8-桉叶素	$Y = 0.9276X + 0.0023$	0.9999	0.00738 ~ 0.0738
樟脑	$Y = 3.1245X - 0.0088$	0.9996	0.0410 ~ 0.410
芳樟醇	$Y = 0.4682X + 0.0444$	0.9996	0.0342 ~ 0.342
β-石竹烯	$Y = 0.2143X - 0.1822$	0.9997	0.0608 ~ 0.608
龙脑	$Y = 0.5929X - 0.4064$	0.9998	0.125 ~ 1.245

2.8 精密度试验 取同一对照品溶液,在“2.1”项色谱条件下连续进样6次,测得1,8-桉叶素、樟脑、芳樟醇、β-石竹烯、L-龙脑峰面积RSD(n=6)分别为0.8%、0.9%、1.5%、1.0%、1.1%,表明仪器精密度良好。

2.9 稳定性试验 取同一供试品溶液,于0、2、4、8、12、24 h在“2.1”项色谱条件下测定,测得1,8-桉叶素、樟脑、芳樟醇、β-石竹烯、L-龙脑峰面积RSD(n=6)分别为1.7%、0.9%、1.2%、1.5%、1.8%,表明供试品溶液在24 h稳定性良好。

2.10 重复性试验 取同一批(批号153007)万金香气雾剂,按“2.1”项下方法平行制备6份供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下测定,测得1,8-桉叶素、樟脑、芳樟醇、β-石竹烯、L-龙脑含有量RSD(n=6)分别为1.5%、2.4%、2.7%、2.6%、2.2%,表明该方法重复性良好。

2.11 加样回收率试验 精密量取万金香气雾剂(批号153007)0.50 mL,共9份,置于5 mL量瓶中,量取1,8-桉叶素0.003、0.004、0.005 mL,樟脑0.015、0.018、0.022 mL,芳樟醇0.004、0.005、0.006 mL,β-石竹烯0.038、0.047、0.057 mL, L-龙脑对照品贮备液0.090、0.113、

0.135 mL,每份均加入0.300 mL水杨酸甲酯内标液,无水乙醇定容,在“2.1”项色谱条件下测定,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果(n=9)

Tab. 2 Results of recovery tests (n=9)

成分	取样量/	原有量/	加入量/	测得量/	回收率/	平均回	RSD/%		
	mL	mg	mg	mg	%	收率/%			
1,8-桉叶素	0.5	0.0059	0.0044	0.0102	97.7	98.3	2.9		
	0.5	0.0059	0.0044	0.0101	95.5				
	0.5	0.0059	0.0044	0.0104	102.3				
	0.5	0.0059	0.0059	0.0116	96.6				
	0.5	0.0059	0.0059	0.0117	98.3				
	0.5	0.0059	0.0059	0.0119	101.7				
	0.5	0.0059	0.0074	0.0131	97.3				
	0.5	0.0059	0.0074	0.0137	102.7				
	0.5	0.0059	0.0074	0.0130	95.9				
	樟脑	0.5	0.0503	0.0410	0.0895	95.6		99.0	2.0
		0.5	0.0503	0.0410	0.0899	96.6			
		0.5	0.0503	0.0410	0.0903	97.6			
0.5		0.0503	0.0491	0.0989	99.0				
0.5		0.0503	0.0491	0.0995	100.2				
0.5		0.0503	0.0491	0.1001	101.4				
0.5		0.0503	0.0601	0.1105	100.2				
0.5		0.0503	0.0601	0.1099	99.2				
0.5		0.0503	0.0601	0.1103	99.8				
芳樟醇		0.5	0.0359	0.0273	0.0626	97.8	99.7	1.1	
		0.5	0.0359	0.0273	0.0631	99.6			
		0.5	0.0359	0.0273	0.0627	98.2			
	0.5	0.0359	0.0342	0.0705	101.2				
	0.5	0.0359	0.0342	0.0702	100.3				
	0.5	0.0359	0.0342	0.0698	99.1				
	0.5	0.0359	0.0410	0.0772	100.7				
	0.5	0.0359	0.0410	0.0768	99.8				
	0.5	0.0359	0.0410	0.0771	100.5				
	β-石竹烯	0.5	0.1439	0.1155	0.2560	97.1	97.2		1.3
		0.5	0.1439	0.1155	0.2551	96.3			
		0.5	0.1439	0.1155	0.2561	97.1			
0.5		0.1439	0.1429	0.2841	98.1				
0.5		0.1439	0.1429	0.2858	99.3				
0.5		0.1439	0.1429	0.2865	99.8				
0.5		0.1439	0.1733	0.3087	95.1				
0.5		0.1439	0.1733	0.3119	96.9				
0.5		0.1439	0.1733	0.3132	97.7				
L-龙脑		0.5	0.4693	0.3735	0.8427	100.0	98.8	1.1	
		0.5	0.4693	0.3735	0.8439	100.3			
		0.5	0.4693	0.3735	0.8413	99.6			
	0.5	0.4693	0.4690	0.9343	99.1				
	0.5	0.4693	0.4690	0.9292	98.1				
	0.5	0.4693	0.4690	0.9339	99.1				
	0.5	0.4693	0.5603	1.0139	97.2				
	0.5	0.4693	0.5603	1.0147	97.3				
	0.5	0.4693	0.5603	1.0222	98.7				

2.12 含有量测定 按“2.4”项下方法制备供试品溶液,每批平行3份,在“2.1”项色谱条件下以内标法测定含有量,结果见表3。

表3 含有量测定结果 (mg/g, n=3)

Tab. 3 Results of content determination (mg/g, n=3)

批号	1,8-桉叶素	樟脑	芳樟醇	β -石竹烯	L-龙脑
153007	0.013 5	0.115 0	0.081 9	0.328 9	1.072 6
153008	0.012 8	0.115 3	0.088 5	0.305 8	1.078 4
153009	0.012 6	0.115 4	0.084 1	0.319 0	1.134 1
平均值	0.013 0	0.115 2	0.084 8	0.317 9	1.095 0

3 讨论

3.1 色谱柱选择 本实验考察了不同极性和填料的毛细管色谱柱 (HP-5、DB-1701、HP-INNOWax 等), 发现采用 HP-INNOWax 柱 (以聚乙二醇为固定液) 时, 各物质分离效果好, 响应值高, 峰型对称, 对含水量较高的样品耐受性强, 可直接进样, 减少前处理操作步骤, 提高测定结果精密度。

3.2 内标物选择 万金香气雾剂是 3 味药材及其他辅料制成的苗药, 含乙醇量为 65% ~ 80%。前处理采用无水乙醇处理样品时, 发现供试液中的易汽化成分较复杂, 为降低整体实验误差, 本实验考察了内标物邻苯二甲酸二正丁酯 (DBP)^[1]、水杨酸甲酯、邻苯二甲酸二甲酯及萘^[17], 发现以水杨酸甲酯作为内标物时, 与各待测组分之间能较好分离, 能有效防止系统误差。

3.3 实验条件考察 根据待测成分被汽化时的温度, 本实验曾采用恒温及程序升温方法对待测组分进行分离, 发现程序升温能使其得到较好地分离, 而且分离度均大于等于 2。同时, 还考察了检测器与进样口温度对实验的影响, 最终确定了“2.1”项下色谱条件。

3.4 龙脑构型考察 龙脑分为左旋龙脑和右旋龙脑, 前者主要来源于菊科植物艾纳香 *Blumea balsamifera* (L.) DC. 的新鲜叶片中, 具有抗菌、消炎、局部止痒等功效; 后者由樟科植物香樟 *Cinnamomum camphora* (L.) Presl 的枝叶提取加工而得, 具有风湿积聚、散郁火等功效^[19-20]。本实验通过 L-龙脑对照品验证, 证明所测龙脑实际为 L-龙脑, 为艾纳香油的主要成分^[7]。

参考文献:

[1] WS-10895 (ZD-0895) -2002-2012Z, 国家食品药品监督管理局国家药品标准[S].
[2] 刘绍贵, 廖建萍. 中草药中成药选用指南[M]. 长沙: 中南大学出版社, 2011: 10.
[3] 陈孝治, 刘绍贵, 朱运贵. 全科医师处方手册[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2006: 3.

[4] 杨琼, 柳立伟, 伍庆, 等. GC法同时测定金喉健喷雾剂4种有效成分[J]. 中成药, 2014, 36(8): 1666-1669.
[5] 姜冬梅, 朱源, 余江南, 等. 芳樟醇药理作用及制剂研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 18(40): 3530-3533.
[6] 李光友, 徐建民, 范菊香. 桉叶油的药理作用及其临床研究进展[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(12): 3602-3603.
[7] 吴丽芬, 庞玉新, 杨全, 等. GC法同时测定艾纳香油中5个主要成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(7): 1179-1184.
[8] 唐晖慧, 金美东. 琼产艾纳香叶精油的抗氧化和抗菌活性[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(6): 47-52.
[9] 刘亚妮, 魏柳珍, 于捷飞, 等. 气相色谱法同时测定无极膏中5个挥发性有效成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(3): 406-409.
[10] 覃燕, 柳立伟, 黄文君, 等. 气相色谱法同时测定重楼解毒酊中二种有效成分含量[J]. 贵州科学, 2013, 31(3): 69-72.
[11] 柳立伟, 乙引, 潘卫, 等. GC法同时测定肤舒止痒膏中5个有效成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(11): 1882-1886.
[12] Perry N S, Houghton P J, Sampson J, et al. In vitro activity of *S. lavandulaefolia* (Spanish sage) relevant to treatment of Alzheimer's disease [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2001, 53(10): 1347-1356.
[13] Bradley B F, Starkey N J, Brown S L, et al. Anxiolytic effects of *Lavandula angustifolia* odour on the Mongolian gerbil elevated plus maze [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 111(3): 517-525.
[14] Xu H, Blair N T, Clapham D E. Camphor activates and strongly desensitizes the transient receptor potential vanilloid subtype 1 channel in a vanilloid-independent mechanism [J]. *J Neurosci*, 2005, 25(39): 8924-8937.
[15] Cho J Y, Chang H J, Lee S K, et al. Amelioration of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by oral administration of β -caryophyllene, a sesquiterpene [J]. *Life Sci*, 2007, 80(10): 932-939.
[16] 梁可, 姬巍, 闫小玉, 等. GC法同时测定桂枝挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯和柠檬烯的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(39): 3694-3696.
[17] 田红红, 乙引, 柳立伟, 等. 气相色谱法同时测定重楼解毒酊中5个成分[J]. 中成药, 2014, 36(10): 2091-2094.
[18] 吴水生, 郭改革, 李长伟, 等. 中药“疾病缩减效应”假说与理中丸抗消化性溃疡多成分多靶点整合协同作用的实验验证[J]. 中医药现代化, 2010, 12(4): 580-584.
[19] 刘塔斯, 龚力民, 郭英, 等. GC-MS测定龙脑樟植物不同部位右旋龙脑的含量[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(13): 1692-1694.
[20] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 82.