

[质 量]

GC法同时测定小儿豉翘清热颗粒中9种挥发性成分

李超¹, 田刚¹, 吴菲¹, 朱法根¹, 刘雪¹, 石心红², 封亮^{1,2*}, 贾晓斌²
(1. 济川药业集团有限公司, 江苏泰兴 225400; 2. 中国药科大学中药学院, 江苏南京 211198)

摘要: **目的** 建立GC法同时测定小儿豉翘清热颗粒(淡豆豉、连翘、黄芩等)中 α -蒎烯、 β -蒎烯、月桂烯、柠檬烯、芳樟醇、薄荷酮、薄荷脑、胡薄荷酮、柠檬醛的含有量。**方法** 该药物乙酸乙酯提取液的分析采用DB-1色谱柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m), 程序升温; 体积流量0.5 mL/min; 进样口温度230 $^{\circ}$ C; 检测器温度280 $^{\circ}$ C; 分流比30:1。**结果** 9种挥发性成分在各自范围内线性关系良好($r \geq 0.9987$), 平均加样回收率96.39%~102.2%, RSD 1.3%~2.8%。**结论** 该方法简便、准确、可靠, 可用于小儿豉翘清热颗粒的质量控制。

关键词: 小儿豉翘清热颗粒; 挥发性成分; GC

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)04-0739-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.04.005

Simultaneous determination of nine volatile constituents in Xiao'er Chiqiao Qingre Granules by GC

LI Chao¹, TIAN Gang¹, WU Fei¹, ZHU Fa-gen¹, LIU Xue¹, SHI Xin-hong²,
FENG Liang^{1,2*}, JIA Xiao-bin²

(1. Junchuan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Taixing 225400, China; 2. School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish a GC method for the simultaneous content determination of α -pinene, β -pinene, myrcene, limonene, linalool, menthone, menthol, pulegone and citral in Xiao'er Chiqiao Qingre Granules (*Sojae Semen Praeparatum*, *Forsythiae Fructus*, *Scutellariae Radix*, etc.). **METHODS** The analysis of ethyl acetate extract of this drug was performed on a temperature-programmed DB-1 column (30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m) flowing at 0.5 mL/min with the split ratio of 30:1, and the inlet temperature and detector temperature were set at 230 $^{\circ}$ C and 280 $^{\circ}$ C, respectively. **RESULTS** Nine volatile constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r \geq 0.9987$), whose average recoveries were 96.39% - 102.2% with the RSDs of 1.3% - 2.8%. **CONCLUSION** This simple, accurate and reliable method can be used for the quality control of Xiao'er Chiqiao Qingre Granules.

KEY WORDS: Xiao'er Chiqiao Qingre Granules; volatile constituents; GC

小儿豉翘清热颗粒由淡豆豉、连翘、薄荷、荆芥、栀子(炒)、大黄、青蒿、赤芍、槟榔、厚朴、黄芩、半夏、柴胡、甘草14味药材组成, 具有疏风解表、清热导滞的功效, 用于小儿风热感冒夹滞证^[1-2], 临床上可治疗小儿手足口病、疱疹性

咽炎、急性扁桃体炎、发热、急性上呼吸道感染^[3-4], 方中荆芥、薄荷、连翘、柴胡是提取其挥发油后通过包合物加到产品中, 区别于其他8味药材。目前, 关于小儿豉翘清热颗粒中有效成分质量控制的研究主要集中在HPLC/UPLC法对1种或多

收稿日期: 2019-01-10

基金项目: 国家中医药管理局标准化建设项目(ZYBZH-C-JS-33); 江苏省博士后科研资助计划项目(1601023C); 中国博士后科研资助计划项目(2016M601864); 中医药现代化研究重点专项(2018YFC1706900); 中国药科大学双一流创新团队(CPU2018GF07, CPU2018GY11)

作者简介: 李超(1980—), 男, 硕士, 主管中药师, 从事中药新药研发工作。E-mail: lc5358583@163.com

*通信作者: 封亮(1981—), 男, 博士, 副教授, 从事中药制剂基础及应用研究。E-mail: wenmoxiushi@163.com

种成分含有量进行测定,尚无挥发性成分的报道^[5-7]。为了更好地控制小儿豉翘清热颗粒质量,保证该制剂疗效稳定,本实验建立GC法^[8-9]同时测定其中9种挥发性成分的含有量,为相关研究提供参考依据。

1 材料

小儿豉翘清热颗粒(无糖),2 g/袋,批号1801054,购于济川药业集团有限公司。Agilent 7890B气相色谱仪(美国安捷伦科技公司),配置FID检测器;XS205DU电子分析天平(十万分之一,瑞士梅特勒-托利多公司);DF-101T集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限公司)。α-蒎烯(批号D8-11-4,含有量98.8%)、β-蒎烯(批号CCHM700571-1601,含有量97.5%)、月桂烯(批号D8-11-3,含有量90.7%)、薄荷酮(批号D6-11-3,含有量99.8%)、柠檬醛(批号CCHM700474-1512,含有量98.2%)对照品均购于美国Cato公司;柠檬烯(批号100470-201503,含有量96.0%)、芳樟醇(批号1503-200001,含有量100%)、薄荷脑(批号110728-200508,含有量100%)、胡薄荷酮(批号111706-201606,含有量99.8%)对照品均购于中国食品药品检定研究院。乙酸乙酯为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 DB-1色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm),程序升温(起始温度70℃,2℃/min升至80℃,维持15 min,2℃/min升至110℃,维持5 min,60℃/min升至290℃,维持20 min);进样口温度230℃;检测器温度280℃;分流比30:1;柱体积流量0.5 mL/min;进样量1 μL;溶剂乙酸乙酯;载气氮气。理论塔板数按柠檬烯峰计,不低于4 000。

2.2 供试品溶液制备 精密称取颗粒约20 g,置于500 mL圆底烧瓶中,加200 mL水,挥发油提取器部分加水至溢后,加入1 mL乙酸乙酯,按照2015年版《中国药典》四部通则2204甲法提取挥发油,分取乙酸乙酯层,定容至2 mL,摇匀,与乙酸乙酯按1:1比例稀释,即得。

2.3 对照品溶液制备 精密称取对照品α-蒎烯10.37 mg、β-蒎烯39.20 mg、柠檬烯195.25 mg、芳樟醇10.49 mg、薄荷酮15.55 mg、薄荷脑66.94 mg、胡薄荷酮11.26 mg,置于2 mL量瓶中;精密称取月桂烯10.41 mg,置于5 mL量瓶中;精密称取柠檬醛10.50 mg,置于10 mL量瓶

中,乙酸乙酯稀释至刻度,即得。

2.4 阴性样品溶液制备 按照工艺制备缺柴胡、连翘、荆芥、薄荷的阴性样品,按“2.2”项下方法制备,即得。

2.5 专属性试验 精密吸取对照品、供试品、阴性样品溶液各1 μL,在“2.1”项色谱条件下进样测定,结果见图1。由图可知,供试品溶液中各成分色谱峰分离度理想,阴性无干扰,方法专属性良好。

2.6 线性关系考察 精密称取对照品α-蒎烯11.42 mg、β-蒎烯40.58 mg、芳樟醇10.75 mg、薄荷酮30.38 mg、胡薄荷酮10.55 mg于同一2 mL量瓶中,乙酸乙酯稀释至刻度,作为溶液①;精密吸取“2.3”项下月桂烯、柠檬烯、薄荷脑、柠檬醛对照品溶液及溶液①各1 mL,置于同一5 mL量瓶中,乙酸乙酯定容,精密吸取适量,乙酸乙酯稀释成系列质量浓度,在“2.1”项色谱条件下进样测定。以溶液质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,结果见表1,可知各成分在各自范围内线性关系良好。

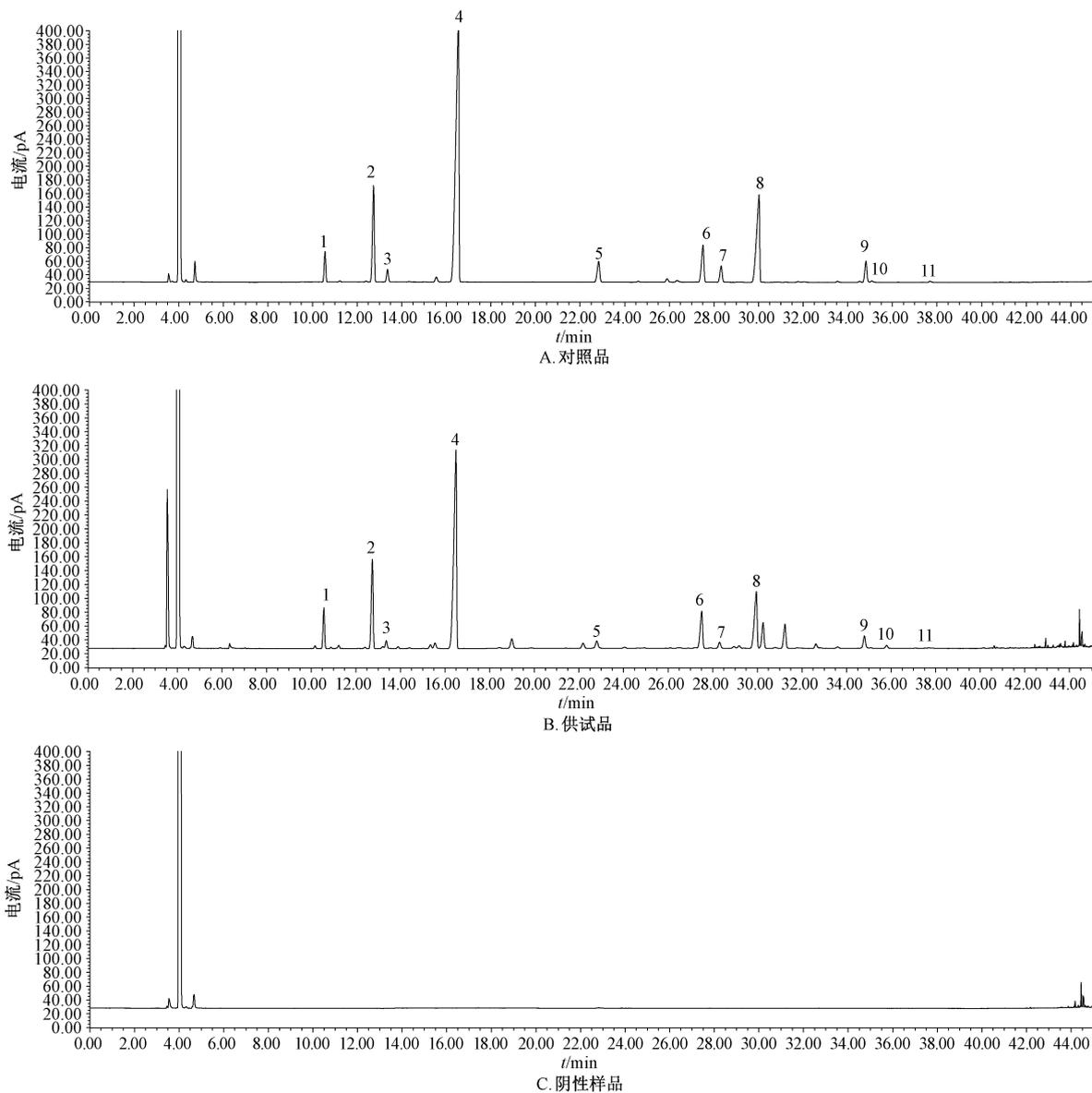
表1 各成分线性关系

Tab. 1 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	线性范围/(mg·mL ⁻¹)	r
α-蒎烯	Y=658.89X-2.076 3	0.028 1~0.564 1	0.999 6
β-蒎烯	Y=618.35X-7.810 4	0.098 9~1.978 0	0.999 6
月桂烯	Y=301.45X-3.161 5	0.023 6~0.472 1	0.999 4
柠檬烯	Y=497.93X-40.622	0.468 6~9.372 0	0.999 6
芳樟醇	Y=536.9X-4.550 4	0.026 9~0.537 5	0.999 6
薄荷酮	Y=524.31X-8.038 1	0.075 8~1.516 0	0.999 6
薄荷脑	Y=1 429.6X-16.989	0.066 9~1.339 0	0.999 6
柠檬醛	Y=95.377X-6.497 4	0.103 1~0.515 6	0.998 7
胡薄荷酮	Y=1 321.5X-4.497 8	0.010 5~0.210 6	0.999 6

2.7 稳定性试验 精密吸取“2.3”项下对照品溶液0.125 mL于5 mL量瓶中,乙酸乙酯稀释至刻度,吸取它和供试品溶液各1 μL,于0、4、6、8、10、12、18、24 h在“2.1”项色谱条件下进样测定,测得α-蒎烯、β-蒎烯、月桂烯、柠檬烯、芳樟醇、薄荷酮、薄荷脑、胡薄荷酮、柠檬醛对照品溶液峰面积RSD分别为1.1%、1.3%、1.1%、1.5%、1.9%、1.8%、1.9%、1.9%、6.7%,供试品溶液分别为0.37%、0.38%、0.89%、0.71%、1.6%、1.3%、1.2%、1.6%、2.9%,表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.8 精密度试验 取同一对照品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定6次,每次1 μL,测得α-蒎烯、β-蒎烯、月桂烯、柠檬烯、芳樟醇、薄荷酮、薄荷脑、胡薄荷酮、柠檬醛峰面积RSD分别



注：7、11分别为薄荷酮、柠檬醛的异构体

1. α -蒎烯 2. β -蒎烯 3. 月桂烯 4. 柠檬烯 5. 芳樟醇 6~7. 薄荷酮 8. 薄荷脑 9. 胡薄荷酮 10~11. 柠檬醛
 1. α -pinene 2. β -pinene 3. myrcene 4. limonene 5. linalool 6~7. menthone 8. menthol 9. pulegone 10~11. citral

图1 各成分GC色谱图

Fig. 1 GC chromatograms of various constituents

为 1.2%、1.3%、1.0%、1.3%、1.3%、1.3%、1.4%、1.1%、7.9%，表明仪器精密度良好。

2.9 重复性试验 取同一批颗粒，按“2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得 α -蒎烯、 β -蒎烯、月桂烯、柠檬烯、芳樟醇、薄荷酮、薄荷脑、胡薄荷酮、柠檬醛含有量RSD分别为2.6%、2.7%、3.2%、2.6%、2.9%、2.8%、2.7%、2.9%、5.3%，表明该方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验 精密称取含有量已知的颗粒6份，每份10 g，置于500 mL圆底烧瓶中，精

密加入适量对照品溶液，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果， α -蒎烯、 β -蒎烯、月桂烯、柠檬烯、芳樟醇、薄荷酮、薄荷脑、胡薄荷酮、柠檬醛平均加样回收率分别为101.2%、101.5%、100.6%、97.36%、96.39%、102.2%、98.02%、99.95%、98.32%，RSD分别为1.4%、2.1%、2.8%、2.6%、1.3%、1.7%、2.8%、2.4%、2.6%。
 2.11 样品含有量测定 取9批颗粒，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算含有量，结果见表2。

表2 各成分含有量测定结果
Tab. 2 Results of content determination of various constituents

批号	含有量/(mg·g ⁻¹)								
	α-蒎烯	β-蒎烯	月桂烯	柠檬烯	芳樟醇	薄荷酮	薄荷脑	胡薄荷酮	柠檬醛
1711014	0.089 5	0.244 9	0.017 4	0.627 1	0.020 9	0.120 0	0.182 4	0.037 2	0.002 4
1706144	0.086 8	0.214 2	0.014 8	0.628 2	0.024 5	0.137 1	0.187 3	0.049 1	0.002 7
1708054	0.121 1	0.343 4	0.022 9	0.710 1	0.028 1	0.137 4	0.176 7	0.044 8	0.004 0
1801044	0.097 5	0.256 1	0.018 9	0.744 6	0.022 6	0.142 8	0.194 3	0.031 1	0.003 0
1801134	0.112 8	0.302 3	0.020 6	0.581 2	0.024 0	0.177 1	0.253 2	0.046 9	0.004 2
1801094	0.090 8	0.205 8	0.011 6	0.338 4	0.021 8	0.183 4	0.025 7	0.318 2	0.239 1
1801101	0.076 1	0.175 3	0.009 0	0.319 3	0.020 8	0.155 3	0.022 9	0.284 1	0.194 0
1801044	0.107 4	0.292 2	0.017 9	0.615 1	0.024 2	0.167 0	0.230 4	0.045 2	0.003 5
1708134	0.104 3	0.308 0	0.022 2	0.746 2	0.033 1	0.268 1	0.146 9	0.072 5	0.006 0

3 讨论

3.1 色谱条件选择 本实验比较 DB-1 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)、CAM (30 m × 0.53 mm, 1.0 μm)、DB-5 ms (30 m × 0.25 mm, 0.5 μm)、DB-WAX (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm) 毛细管色谱柱, 发现采用 DB-1 色谱柱分析时各成分分离度理想。通过程序升温考察初始温度、柱体积流量、升温速率、分流比对色谱峰分离度的影响, 最终确定初始温度为 70 ℃, 柱体积流量为 0.5 mL/min, 分流比为 30 : 1。采用 2015 年版《中国药典》四部通则 2204 甲法提取挥发油, 发现温度对提取有很大影响, 最终确定其为 140 ℃。研究石油醚、乙酸乙酯对色谱峰的影响, 最终确定后者作为提取溶剂。考察恒温、程序升温对各成分分离度的影响, 发现恒温时分离度不理想, 最终确定在“2.1”项条件下进行程序升温。

3.2 含有量分析 表 3 显示, 9 批小儿豉翘清热颗粒中各成分含有量有明显差异, 以柠檬醛、柠檬烯更显著, 可能是由于不同批次样品所用药材中挥发油差异较大所致^[10-11]。因此, 有必要建立该成分含有量标准, 控制成品质量稳定均一, 从而确保疗效。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部

[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 553-554.

[2] 李 颖, 李 华. 中医药治疗小儿感冒的研究进展[J]. 世界中医药, 2018, 13(8): 2068-2073, 2078.

[3] 周 蓬, 宋 青, 马 帅. HPLC 法同时测定小儿豉翘清热颗粒中栀子苷、芍药苷、黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素[J]. 中成药, 2013, 35(8): 1693-1696.

[4] 谢 丹, 严 洁, 魏菊红. 小儿豉翘清热颗粒对比利巴韦林治疗疱疹性咽峡炎的 Meta-分析[J]. 药物评价研究, 2018, 41(11): 2095-2101.

[5] 田 刚, 杨学芳, 李 超, 等. UPLC 同时检测小儿豉翘清热颗粒中 9 种成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(10): 2081-2085.

[6] 田 刚, 李 超, 吴 菲, 等. 基于一测多评法对小儿豉翘清热颗粒中 9 个成分的质量控制[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(11): 1922-1930.

[7] 许文清, 魏学涛, 马青青, 等. 小儿豉翘清热颗粒 HPLC-PAD 指纹图谱的建立及有效成分含量测定[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2018, 46(4): 60-66.

[8] 朱梅芳, 唐 宇, 郑 琴, 等. 不同提取方式对连翘、荆芥、薄荷挥发油成分及抗菌活性的影响[J]. 中草药, 2018, 49(12): 2845-2854.

[9] 魏 珊, 吴 婷, 李 敏, 等. 不同产地连翘挥发油主要成分分析及抗菌活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(4): 69-74.

[10] 李同俊, 贾金燕, 伍 庆, 等. GC 法同时测定万金香气雾剂中 5 种成分[J]. 中成药, 2016, 38(10): 2172-2175.

[11] 张 加, 陈晓辉, 张 迪, 等. GC 法同时测定荜澄茄挥发油中 6 种成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(3): 424-427.