

[科研报道]

GC 法同时测定妇宁栓中 8 种有效成分的含量

张宝虎¹, 左雅敏², 文治瑞³, 伍 庆^{1*}

(1. 贵州师范大学山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室, 贵州 贵阳 550001; 2. 湖北医药学院, 湖北 十堰 442000; 3. 贵州师范大学, 贵州省喀斯特地区生物与信息技术协同创新中心, 贵州 贵阳 550001)

摘要: **目的** 建立 GC 法同时测定妇宁栓中苦参碱、槐定碱、龙脑、异龙脑、桉叶素、芳樟醇、榄香烯、香茅醇的含量。**方法** 以十六烷和邻苯二甲酸二辛酯为内标, 分析采用 Agilent HP-5 弹性石英毛细管柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 载气高纯度氮气; FID 检测器温度 310 ℃, 进样口温度 280 ℃; 程序升温; 分流比 8:1。**结果** 各有效成分在各自范围内线性关系良好 ($r \geq 0.998\ 2$), 平均加样回收率 98.7%~102.3%, RSD 0.14%~0.88%。**结论** 该方法操作简单, 耐用性、重复性良好, 可用于妇宁栓的质量控制。

关键词: 妇宁栓; 有效成分; 含量测定; GC

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)12-4095-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.030

妇宁栓由苦参、莪术、冰片等 11 味中药组成, 具有清热解毒、燥湿杀虫、去腐生肌、化瘀止痛功效, 主要用于治疗由细菌、病毒、霉菌、滴虫等引发的阴道炎、阴道溃疡、宫颈炎等^[1], 目前主要采用 TLC、HPLC 等方法对妇宁栓中主要的生物碱、皂苷类成分进行质量控制^[2-3]。妇宁栓中君药苦参所含的苦参碱具有清热解毒、祛湿杀虫之功, 槐果碱具有镇痛消炎作用^[4-8], 香茅醇具有抗菌作用^[9]; 辅药冰片所含的龙脑、异龙脑在抗菌、镇痛抗炎方面表现突出^[10-13]; 莪术所含的桉叶素、芳樟醇、榄香烯具有抗菌、抗炎、止痛作用^[14-16]。为更好地体现中药中多成分、多靶点共同作用的特点, 同时缩短检测时间、提高生产效率, 本实验建立 GC 法同时测定妇宁栓中苦参碱、槐定碱、龙脑、异龙脑、桉叶素、芳樟醇、榄香烯、香茅醇的含量^[17-19], 以期为总体把控该制剂质量提供参考。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 7890B 气相色谱仪、HP-5 毛细管柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm) (美国 Agilent 公司); Discovery DV215CD 分析天平 [奥豪斯仪器 (上海) 有限公司]。

1.2 试剂与药物 妇宁栓购自当地药店。苦参碱 (批号 WKQ-0000324, 纯度 98%)、槐定碱 (批号 WKQ-23012003, 纯度 98%) 对照品均购自四川省维克奇生物科技有限公司; 龙脑对照品 (批号 CYK-Z988, 纯度 98%) 购自成都草原康生物科技有限公司; 异龙脑对照品 (批号 WKQ-0003086, 纯度 95%) 购自成都超九八生物科技有限公司; 桉叶素 (批号 C887406, 纯度 99%)、香茅醇 (批号 C804317, 纯度 95%) 对照品均购自上海麦克林生化科技

股份有限公司; 芳樟醇对照品 (批号 B20387, 纯度 $\geq 98\%$) 购自上海源叶生物科技有限公司; 榄香烯对照品 (批号 nkl-01361, 纯度 98%) 购自成都钠钨锂生物科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 内标溶液 精密称取邻苯二甲酸二辛酯、十六烷适量, 甲醇溶解, 置于 100 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 摇匀, 即得 (质量浓度分别为 0.96、1.43 mg/mL), 在 2~8 ℃下保存。

2.1.2 对照品溶液 精密称取苦参碱、槐定碱、龙脑、异龙脑、桉叶素、芳樟醇、榄香烯、香茅醇对照品适量, 甲醇溶解, 制成质量浓度分别为 0.72、0.55、0.79、0.82、1.45、0.86、0.41、0.86 mg/mL 的贮备液, 分别精密吸取 2.5、1.5、1.25、1.25、0.5、0.5、1.0、0.5 mL 及内标溶液 1.5、0.5 mL, 甲醇定容至 50 mL 量瓶中, 即得 (质量浓度分别为 0.036 0、0.016 5、0.019 8、0.020 5、0.014 5、0.008 6、0.008 2、0.008 6、0.028 8、0.014 3 mg/mL), 在 2~8 ℃下保存。

2.1.3 供试品溶液 精密称取本品 (批号 2112417) 571.3 mg, 分别加入内标溶液 3、1 mL, 甲醇定容至 50 mL, 超声并摇匀, 甲醇补足减失的质量, 即得, 在 2~8 ℃下保存。

2.1.4 阴性样品溶液 按处方比例和工艺, 分别制成缺苦参、缺冰片, 缺莪术, 缺苦参、冰片、莪术的阴性样品, 按“2.1.3”项下方法制备, 即得, 在 2~8 ℃下保存。

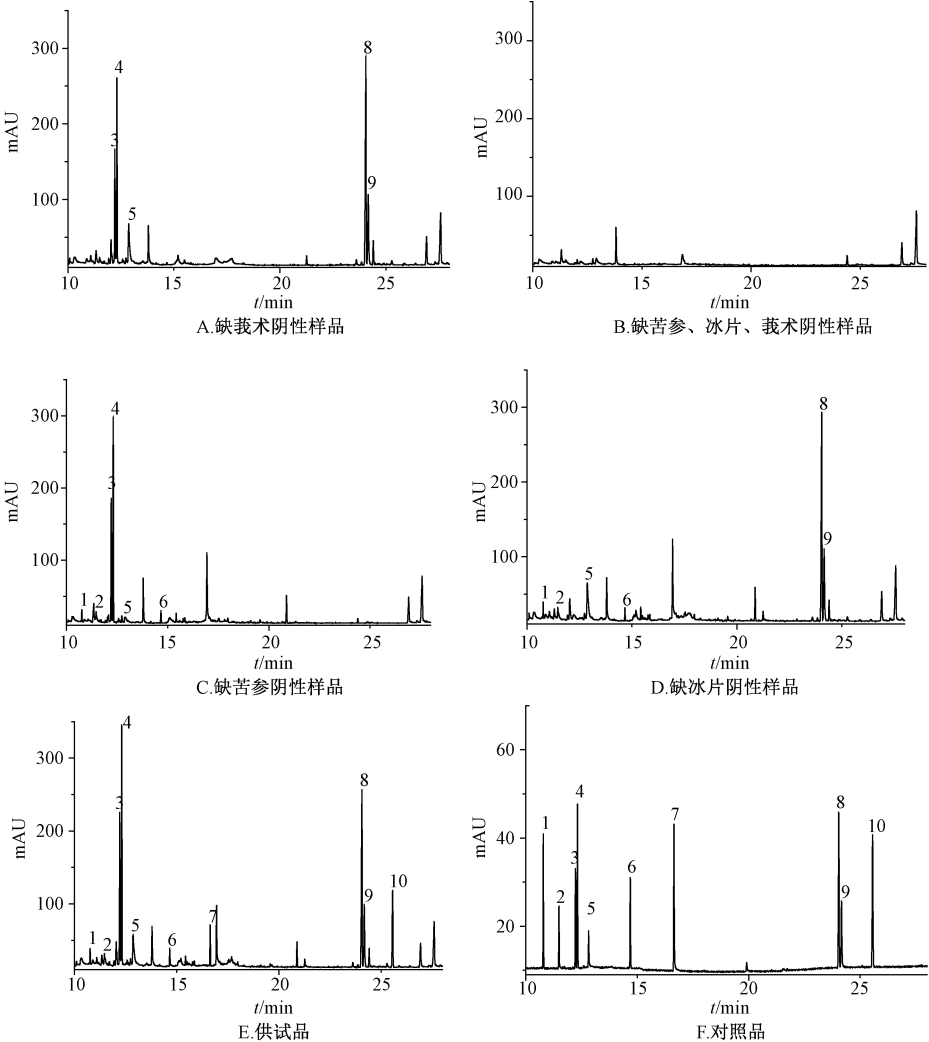
收稿日期: 2023-12-30

基金项目: 贵州省教育厅自然科学研究项目 (黔教合 KY 字 [2020] 070)

作者简介: 张宝虎 (1998—), 男, 硕士生, 从事分析化学研究。Tel: 15553023283, E-mail: 2671948328@qq.com

* 通信作者: 伍 庆 (1970—), 男 (侗族), 教授, 从事分析化学研究。Tel: 13984029735, E-mail: wq0851@126.com

2.2 色谱条件 Agilent HP-5 弹性石英毛细管柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 载气高纯度氮气; FID 检测器温度 310 ℃, 进样口温度 280 ℃; 程序升温 (50 ℃, 5 min; 50~130 ℃, 20 ℃/min; 130~270 ℃, 10 ℃/min; 270~290 ℃, 2 ℃/min; 290 ℃, 5 min); 分流比 8:1; 进样量 1 μL。色谱图见图 1。



1. 桉叶素 2. 芳樟醇 3. 异龙脑 4. 龙脑 5. 香茅醇 6. 榄香烯 7. 十六烷 8. 苦参碱 9. 槐定碱 10. 邻苯二甲酸二辛酯

图 1 各有效成分 GC 色谱图

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 分别精密吸取苦参碱、槐定碱、龙脑、异龙脑、桉叶素、芳樟醇、榄香烯、香茅醇对照品溶液 0.20、0.50、0.70、1.00、1.50 mL, 精密加入内标溶液各 0.1 mL, 甲醇定容至 10 mL 量瓶中, 在“2.2”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标 (X), 苦参碱、槐定碱与邻苯二甲酸二辛酯峰面积比值, 其他对照品与十六烷峰面积比值为纵坐标 (Y) 进行回归, 结果见表 1, 可知各有效成分在各自范围内线性关系良好。

2.3.2 精密度试验 精密吸取“2.1.2”项下对照品溶液适量, 在“2.2”项色谱条件下进样测定 6 次, 测得苦参碱、槐定碱、龙脑、异龙脑、桉叶素、芳樟醇、榄香烯、香茅醇峰面积 RSD 分别为 1.22%、0.73%、1.26%、1.30%、1.76%、3.26%、1.71%、2.03%, 表明仪器精密度良好。

表 1 各有效成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/(mg·mL ⁻¹)
苦参碱	Y=1.802 0X-0.751 2	0.998 2	0.014 4~0.108 0
槐定碱	Y=1.092 6X-0.410 1	0.998 4	0.011 0~0.082 5
异龙脑	Y=0.806 6X-0.239 8	0.999 4	0.016 4~0.123 0
桉叶素	Y=5.250 6X-1.550 6	0.999 5	0.029 0~0.217 5
龙脑	Y=1.396 8X-0.486 2	0.999 1	0.015 8~0.118 5
芳樟醇	Y=1.299 0X-0.370 2	0.999 7	0.017 2~0.129 0
榄香烯	Y=0.894 0X-0.287 0	0.999 3	0.008 2~0.061 5
香茅醇	Y=0.933 1X-0.280 9	0.998 4	0.017 2~0.129 0

2.3.3 稳定性试验 取“2.1.2”项下对照品溶液适量, 于 8、12、16、20 h 在“2.2”项色谱条件下进样测定, 测得苦参碱、槐定碱、龙脑、异龙脑、桉叶素、芳樟醇、榄香烯、香茅醇峰面积 RSD 分别为 0.76%、1.17%、1.07%、1.96%、0.52%、2.09%、1.61%、2.88%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.4 重复性试验 取同一份本品（批号 2112417），按“2.1.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，测得苦参碱、槐定碱、龙脑、异龙脑、桉叶素、芳樟醇、榄香烯、香茅醇峰面积 RSD 分别为 0.37%、0.86%、1.14%、2.32%、2.94%、3.50%、2.93%、1.39%，表明该方法重复性良好。

2.3.5 加样回收率试验 称取各有效成分含量已知的本品（批号 2112417）9 份，每份约 0.25 g，置于 50 mL 量瓶中，精密加入“2.1.2”项下贮备液（苦参碱 2.5、3、3.5 mL，槐定碱 1.25、1.5、1.75 mL，龙脑和异龙脑 0.5、0.75、1 mL，芳樟醇和榄香烯 0.15、0.2、0.25 mL，桉叶素 0.05、

0.075、0.1 mL，香茅醇 0.4、0.5、0.6 mL），按“2.1.3”项下方法平行制备 3 份供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，苦参碱、槐定碱、龙脑、异龙脑、桉叶素、芳樟醇、榄香烯、香茅醇平均加样回收率分别为 99.3%、98.7%、101.2%、100.3%、100.8%、102.3%、98.7%、101.2%，RSD 分别为 0.88%、0.74%、0.25%、0.56%、0.55%、0.87%、0.14%、0.62%。

2.4 样品含量测定 取 3 批样品，按“2.1.3”项下方法制备 6 份供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，内标法计算含量，结果见表 2。

表 2 各有效成分含量测定结果（%，*n*=6）

试验号	苦参碱	槐定碱	龙脑	异龙脑	桉叶素	芳樟醇	榄香烯	香茅醇
1	8.52	3.28	2.67	2.41	0.483	0.699	0.602	2.08
2	8.37	3.22	2.71	2.33	0.494	0.704	0.599	2.11
3	8.58	3.17	2.58	2.38	0.485	0.687	0.614	2.14
4	8.66	3.34	2.66	2.47	0.494	0.691	0.623	1.97
5	8.45	3.31	2.51	2.25	0.482	0.711	0.608	2.01
6	8.51	3.14	2.73	2.37	0.477	0.693	0.586	1.93
平均值	8.515	3.24	2.64	2.36	0.486	0.698	0.605	2.040
RSD	1.18	2.45	3.15	3.14	1.41	1.28	2.11	4.07

3 讨论

3.1 色谱柱选择 本实验分别对不同色谱柱（HP-1、HP-5、HP-INOWAX）、进样量（0.3、0.7、1.0 μL）、分流比（20：1、10：1）、升温程序（130、270、310 ℃）进行考察，发现采用 HP-5 色谱柱时各有效成分分离度、峰形、保留时间理想，适用于妇宁栓有效成分的含量测定。

3.2 内标选择 本实验分别对十六烷、萘、邻苯二甲酸二辛酯、水杨酸甲酯进行考察，发现十六烷与邻苯二甲酸二辛酯分离效果良好，可有效减少系统误差，同时可降低由于出峰时间过长、制剂中可气化物质过多而引起的偏差。

3.3 检测方法选择 本实验比较 HPLC、GC 法测定苦参碱、槐定碱含量的效果^[20-24]，发现两者均可达到生产中质量分析要求，其中后者 FID 检测器灵敏度较高，时间、物料成本较低，为更好地适应不同情况下苦参碱含量的测定，故选择 GC 法。

4 结论

十六烷和邻苯二甲酸二辛酯具有价格低廉、纯净、出峰快等特点，因此本研究选择两者作为内标，建立 GC 法同时测定妇宁栓中苦参碱、槐定碱、龙脑、异龙脑、桉叶素、芳樟醇、榄香烯、香茅醇的含量，该方法操作简便，耐用性、重复性良好，可用于该制剂质量控制，并为其安全生产提供依据。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2020.

[2] 吴学骋，舒 阳，林 宁. HPLC 法测定妇宁栓中苦参碱含量[J]. 湖北中医杂志，2014，36(4)：69-70.

[3] 陈 莹，罗亚虹，王文丽，等. HPLC 法测定妇宁栓中黄芩

苷和盐酸小檗碱的含量[J]. 中国药师，2013，16(8)：1172-1174.

[4] 智 信，陈 晓，苏佳灿. 苦参碱药理作用研究进展[J]. 成都中医药大学学报，2017，40(1)：123-127.

[5] 卢前微，陈建斌，汤为学，等. 苦参碱对 U937 细胞周期调控蛋白的影响[J]. 中成药，2009，31(11)：1658-1661.

[6] 孙孝凤，王潇娅，杨 阳，等. 槐果碱抗炎镇痛作用及机制的研究进展[J]. 医学综述，2022，28(8)：1515-1519.

[7] Zhou W, Fu Y, Xu J S. Sophocarpine alleviates isoproterenol-induced kidney injury by suppressing inflammation, apoptosis, oxidative stress and fibrosis [J]. *Molecules*, 2022, 27 (22): 7868.

[8] 孙 朋，鄢庆祥，杜同同，等. 槐果碱及其衍生物研究进展[J]. 亚太传统医药，2018，14(11)：76-80.

[9] Younis N S, Elsewedy H S, Soliman W E, *et al.* Geraniol isolated from lemon grass to mitigate doxorubicin-induced cardiotoxicity through Nrf2 and NF-κB signaling[J]. *Chem Biol Interact*, 2021, 347: 109599.

[10] 高 雅，李友明，罗 燕，等. 右旋龙脑的药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床，2021，36(7)：1537-1540.

[11] 范晓丹，丘泰球，苏健裕. 龙脑制备方法及其药理药效研究进展[J]. 林产化学与工业，2011，31(5)：122-126.

[12] 吴谕锋，朱泽宇，陈靖南，等. 冰片药理作用及冰片酯的研究进展[J]. 药学研究，2020，39(4)：217-224.

[13] 黄 聪，王 建，文 静，等. 冰片的妊娠禁忌及现代研究进展[J]. 中药与临床，2015，6(4)：54-57.

[14] Zhou Y Y, Li X Y, Wang Y M, *et al.* β-elemene regulates M1-M2 macrophage balance through theERK/JNK/P38 MAPK signaling pathway[J]. *Commun Biol*, 2022, 5(1)：519.

[15] 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, 40(18): 3530-3533.

[16] 王曼笛. 艾草精油主要化合物桉叶油醇的抑菌机理及艾草精油 Pickering 乳液抑菌作用研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2022.

[17] Lu T L, Shi S M, Cai B C, *et al.* Advances in studies on multi-component determination of Chinese materia medica by QAMS[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2012, 43 (12): 2525-2529.

[18] Gao X Y, Jiang Y, Lu J Q, *et al.* One single standard substance for the determination of multiple anthraquinone derivatives in rhubarb using high-performance liquid chromatography-diode array detection [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216 (11): 2118-2123.

[19] 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.

[20] 王 博, 李秀杰, 张雪冰. 苦参碱气相色谱与高效液相色谱的分析方法[J]. 农药, 2018, 57(7): 497-499.

[21] 刘米艳, 陈 娜, 秦 苹, 等. 苦参药材及配方颗粒 HPLC 指纹图谱研究[J]. 壮瑶药研究, 2023(1): 126-131.

[22] 王鹏飞, 王京辉, 段秀梅, 等. HPLC 法同时测定复方苦参注射液 7 个成分含量及指纹图谱研究[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(7): 1101-1109.

[23] Jung Y A, Wan X, Yan H, *et al.* Determination of matrine and oxymatrine in *Sophora flavescens* Ait. via high performance liquid chromatography [J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2008, 31(18): 2752-2761.

[24] Hun-Su, Seo, Kyoung, *et al.* GC/MS analysis of high-performance liquid chromatography fractions from *Sophora flavescens* and *Torilis japonica* extracts and their *in vitro* anti-neopsporal effects on *Neospora caninum* [J]. *J Vet Sci*, 2013, 14(3): 241-248.

抗骨增生片 UPLC 指纹图谱建立及 8 种成分含量测定

严璐佳, 陈海滨, 胡 敏, 金 鸣, 陈在敏*, 李 沁*
(福建省食品药品质量检验研究院, 福建 福州 350012)

摘要: **目的** 建立抗骨增生片 UPLC 指纹图谱, 并测定松果菊苷、麦角甾苷、柚皮苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I 的含量。**方法** 分析采用 Waters HSS T3 C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相乙腈-水 (含 0.1% 磷酸), 梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 270、283、330 nm。**结果** 18 批样品指纹图谱中有 19 个共有峰, 相似度大于 0.8。8 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r>0.999\ 7$), 平均加样回收率 95.58%~106.55%, RSD 0.64%~1.12%。**结论** 该方法简便准确、重复性好, 可用于抗骨增生片的质量控制。

关键词: 抗骨增生片; UPLC 指纹图谱; 化学成分; 含量测定

中图分类号: R927.2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)12-4098-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.031

抗骨增生片为骨科常用中成药, 方中君药熟地黄补血滋阴, 益精填髓; 鸡血藤舒筋活络; 肉苁蓉益精血, 补肾阳; 鹿衔草祛风湿, 强筋骨; 莱菔子为消食药^[1], 淫羊藿-骨碎补作为药对配伍, 既补肾又活血^[2-4], 诸药合用, 共奏止痛、补肾、活血之功。该制剂最早收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》^[5], 但仅有显微和检查项, 缺少专属性指标成分的定量分析和整体评价。目前, 关于抗骨增生片质量控制的研究大多集中于淫羊藿苷含量测定、柚皮苷 TLC 鉴别等^[6-9], 难以实现全面评价。

多成分含量测定已成为中药复方制剂评价的有效手段^[10-12], 而中药指纹图谱可在此基础上综合评价其真实

性、稳定性和一致性的强有力、可量化方法^[13-15], 故近年来两者联用的研究呈逐年上升的趋势^[16-19]。本实验建立抗骨增生片 UPLC 指纹图谱, 并测定松果菊苷、麦角甾苷、柚皮苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I 的含量, 旨在为该制剂质量控制提供分析方法和数据参考。

1 材料

1.1 仪器 Waters H-class 超高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); KQ-500VDE 超声波清洗机 (昆山市超声仪器有限公司); XS204 (万分之一)、XPR105 (十万分之一) 分析天平 (瑞士 Mettler-Toledo 公司); Milli-Q 超纯水