

暑热宁口服液中百秋李醇、广藿香酮、 麝香草酚、香荆芥酚 GC 测定及条件的优化

李凤丽^{1,2}, 高文远³, 李进^{1*}, 陈涛¹, 王进博¹

(1. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193;

2. 天津中医药大学, 天津 300193; 3. 天津大学, 天津 300193)

[摘要] **目的:**建立并优化暑热宁口服液中百秋李醇、广藿香酮、麝香草酚、香荆芥酚的毛细管气相色谱法测定条件。**方法:**HP-5 弹性石英毛细管柱(0.25 μm × 0.32 mm × 30 m), 进样口温度 220 °C, FID 检测器温度 220 °C, 程序升温, 起始温度 110 °C, 保持 10 min, 以 25 °C 程序升温至 230 °C, 保持 9.2 min, 分流比 10:1, 进样量 1 μL。**结果:**百秋李醇、广藿香酮、麝香草酚、香荆芥酚在 1.109~0.110 9, 0.504~0.050 4, 0.987~0.098 7, 0.605~0.060 5 g·L⁻¹ 与峰面积线性关系良好, 线性关系为 $Y_{\text{百秋李醇}} = 1\ 653.05X - 1.46$ ($r = 0.999\ 8$), $Y_{\text{广藿香酮}} = 1\ 207.45X - 16.10$ ($r = 0.999\ 7$), $Y_{\text{麝香草酚}} = 1\ 691.68X - 18.06$ ($r = 0.999\ 5$), $Y_{\text{香荆芥酚}} = 1\ 547.18X + 5.55$ ($r = 0.999\ 6$), 加样回收率 ($n = 9$) 为 99.9%~103.7%, 98.4%~104.4%, 96.5%~101.4%, 97.2%~102.6%, RSD 分别为 1.9%, 2.3%, 2.5%, 2.2%。**结论:**优化后的测定方法分离度较好, 阴性无干扰, 操作简便, 结果稳定可行。

[关键词] 毛细管气相色谱法; 暑热宁口服液; 百秋李醇; 广藿香酮; 麝香草酚; 香荆芥酚; 测定条件优化

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)14-0065-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014140065

Heat Better Oral Liquid from Best Autumn Lee Alcohol, Ketone of Patchouli, Thymol, Sweet Fineleaf Schizonepeta Herb Phenol Determination of GC Conditions Optimization

LI Feng-li^{1,2}, GAO Wen-yuan³, LI Jin^{1*}, CHEN Tao¹, WANG Jin-bo¹

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine First Affiliated Hospital, Tianjin 300193, China;

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

3. Tianjin University, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** Optimization and to establish the heat better oral liquid from best autumn lee alcohol, ketone of patchouli, thymol, sweet fineleaf schizonepeta herb phenol of capillary gas chromatography determination conditions. **Method:** The chromatographic column: HP-5 (0.25 μm × 0.32 mm × 30 m) elastic quartz capillary column; injection port temperature 220 °C, FID detector temperature 220 °C, temperature programmed, starting temperature 110 °C, keep for 10 min, at 25 °C to 230 °C, temperature programmed to keep 9.2 min, diversion ratio 10:1, including 1 L sample quantity. **Result:** The autumn lee alcohol, ketone of patchouli, thymol, sweet fineleaf schizonepeta herb phenol concentration in sample quantity is 1.109-0.110 9, 0.504-0.050 4, 0.987-0.098 7, 0.605-0.060 5 g·L⁻¹ and good linear relationship between peak area, linear relationship is $Y = 1\ 653.05X - 1.46$ ($r = 0.999\ 8$), $Y = 1\ 207.45X - 16.10$ ($r = 0.999\ 7$), $Y = 1\ 691.68X - 18.06$ ($r = 0.999\ 5$), $Y = 1\ 547.18X + 5.55$ ($r = 0.999\ 6$), sample recovery rate was 99.9%-103.7% ($n = 9$),

[收稿日期] 20131204(017)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2010ZX09102-201)

[第一作者] 李凤丽, 博士, 主管中药师, 从事中药药物分析与新药开发工作, Tel:15922155497, E-mail:lf992610@163.com

[通讯作者] * 李进, 学士, 主任中药师, 从事中药新药开发工作, Tel:13302027666, E-mail:lf992210@163.com

98.4% -104.4% , 104.4% -101.4% and 101.4% -97.2% , RSD was 1.9% , 2.3% , 2.5% and 1.9% respectively. **Conclusion:** The optimized method has good separating degree, negative without interference, easy operation, stable and feasible.

[Key words] capillary gas chromatography; Shuren oral liquid; patchouli alcohol; pogostone; thymol; carvacrol; test condition optimization

暑热宁口服液由广藿香、香薷、金银花、葛根等 10 余种中药材组成,具有清暑泄热、利湿化浊之功效,临床上主要用于治疗儿童急性上呼吸道感染暑湿兼寒之证。其中,广藿香、香薷均为方中的主药,根据资料记载,二者药用部位主要为挥发油,广藿香挥发油主要成分为百秋李醇、广藿香酮,具有抗真菌、抗螺旋体、抗病毒作用^[1]。香薷挥发油主要成分为麝香草酚、香荆芥酚,具有抗菌、抗感染、消炎、抗过敏作用^[2]。为提高该制剂的质量标准,本实验同时对制剂中百秋李醇、广藿香酮、麝香草酚、香荆芥酚的毛细管气相色谱条件进行了优化研究,建立了复方制剂中多组分同时测定、多指标同时监控的气相色谱方法,通过本实验试图摸索出采用毛细管气相色谱法同时测定复方制剂中多组分含量的研究规律。

1 材料

1.1 仪器 7980A(FID)系列气相色谱仪(Agilent 公司),TCQ250 型超声波清洗器(北京医疗设备二厂),JA2003 型电子分析天平(上海精科天平厂)等。

1.2 试药 麝香草酚(100508-200902)、香荆芥酚(111691-200501)、百秋李醇(110772-200404)、广藿香酮(111822-201102)对照品由中国食品药品检定研究院提供,正己烷、环己烷、乙醇等为分析纯,水为重蒸水(自制),处方药材均由天津中医药大学第一附属医院主任药师陈涛进行鉴定。

暑热宁口服液由天津中医药大学第一附属医院制剂室提供(I 批,20130514; II 批,20130516; III 批 20130518)。

2 方法

2.1 色谱条件 HP-5 弹性石英毛细管柱(0.25 μm × 0.32 mm × 30 m);柱升温程序:起始温度 110 °C,保持 10 min,25 °C · min⁻¹ 的升温至 230 °C,保持 9.2 min;进样口温度 220 °C, FID 检测器温度 220 °C,载气高纯 N₂(> 99.99%),柱流量 1.0 mL · min⁻¹,分流比 10:1,分流进样量 1 μL。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液 分别精确称取麝香草酚、香荆芥酚、百秋李醇、广藿香酮对照品适量,用正己烷配

制成质量浓度分别为 0.220,0.291,0.520,0.205 g · L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密量取暑热宁合剂 50 mL,加入等体积环己烷萃取 3 次,每次 30 min,合并萃取液,自然挥干,正己烷溶解并定容于 2 mL 量瓶中,摇匀,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 取按处方比例并以相同工艺制备缺广藿香、香薷的阴性对照,按 2.2.2 项方法制备阴性对照溶液,即得。

2.2.4 空白溶液的制备 不加样品,按供试品溶液制备方法制得空白溶液,备用。

2.3 样品测定结果分析 取暑热宁口服液供试品溶液、阴性溶液、空白溶液,并取对照品溶液,在色谱条件下,注入气相色谱仪,记录其色谱图,见图 1。

实验结果可见,该方法样品分离度好,基线平稳,各成分的含量较高。麝香草酚、香荆芥酚、百秋李醇、广藿香酮色谱峰相应位置上无色谱峰出现,阴性样品无干扰。空白样品无干扰,符合实验要求。

2.4 方法学考察验证

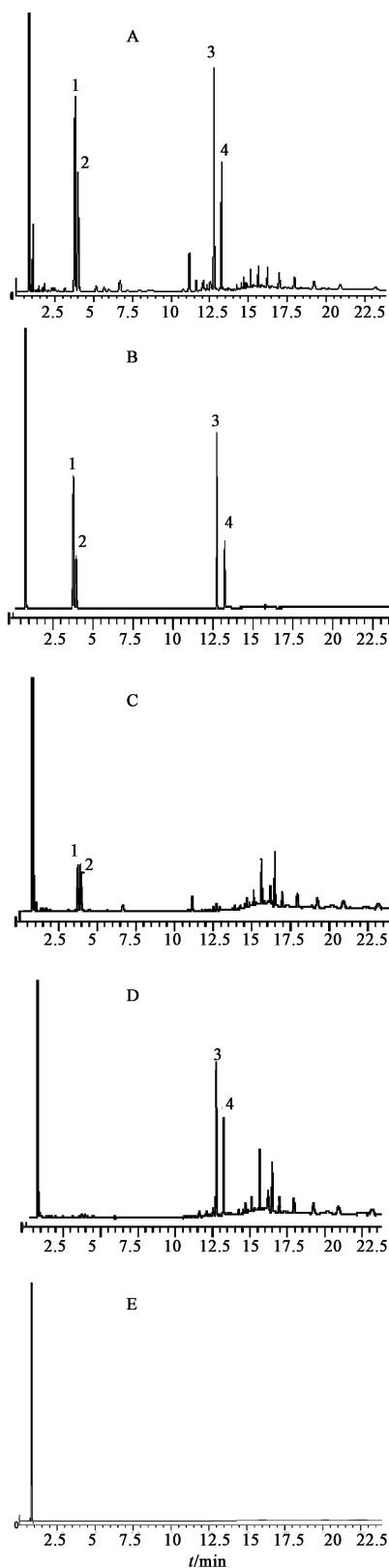
2.4.1 线性范围的考察^[8] 以正己烷为溶剂制成一系列不同质量浓度的混合对照品溶液,按上述色谱条件注入气相色谱仪,以质量浓度(g · L⁻¹)为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线及线性回归方程,见表 1。

表 1 暑热宁口服液中 4 个成分线性回归方程

成分	线性方程	r	线性范围/g · L ⁻¹
麝香草酚	Y = 1 691.68X - 18.06	0.999 5	0.987 ~ 0.098 7
香荆芥酚	Y = 1 547.18X + 5.55	0.999 6	0.605 ~ 0.060 5
百秋李醇	Y = 1 653.05X - 1.46	0.999 8	1.109 ~ 0.110 9
广藿香酮	Y = 1 207.45X - 16.10	0.999 7	0.504 ~ 0.050 4

2.4.2 精密度试验 取同一混合对照品溶液,按色谱条件连续进样 6 次,麝香草酚、香荆芥酚、百秋李醇、广藿香酮峰面积 RSD 分别为 1.2% , 1.1% , 0.9% , 0.7%。结果表明仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在 0,2,4,6,12,24,48 h 进样,麝香草酚、香荆芥酚,百秋李醇、广藿香酮 RSD 分别为 0.9% , 0.6% , 1.0% , 0.8%。结果表明,溶液在 48 h 内基本稳定。



1. 麝香草酚;2. 香荆芥酚;3. 百秋李醇;4. 广藿香酮;
A. 供试品;B. 对照品;C. 广藿香阴性溶液;
D. 香薷阴性溶液;E. 空白溶液(正己烷)
图1 暑热宁口服液样品气相色谱

2.4.4 重复性试验 取同一样品6份,按照供试品溶液制备方法平行制备,按色谱条件测定,结果麝香草酚、香荆芥酚,百秋李醇、广藿香酮 RSD 分别为 1.8%,1.9%,1.4%,1.6%。结果表明,该方法重复性良好。

2.4.5 回收率试验 取同一样品9份,每份40 mL,分别精密加入麝香草酚 $0.470 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、香荆芥酚 $0.441 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、百秋李醇 $0.567 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、广藿香酮 $0.312 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液 0.5,1.0,1.5 mL,每个样品平行3份,制备供试品溶液。在上述色谱条件下进样分析,计算回收率,结果麝香草酚、香荆芥酚、百秋李醇、广藿香酮加样回收率分别为 99.9%~103.7%,98.4%~104.4%,96.5%~101.4%,97.2%~102.6%,RSD 分别为 1.9%,2.3%,2.5%,2.2%。

2.5 样品测定 取暑热宁口服液样品3批,每批3份,按供试品溶液制备方法制备,分别进样,计算样品中麝香草酚、香荆芥酚、百秋李醇、广藿香酮的平均含量,结果见表2。

表2 暑热宁口服液样品中4种成分的含量 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

批次	麝香草酚	香荆芥酚	百秋李醇	广藿香酮
I	0.027	0.021	0.024	0.010
II	0.022	0.025	0.021	0.017
III	0.028	0.026	0.020	0.013

2.6 色谱条件的选择^[3-4] 根据相关文献,本实验考察了3种色谱条件。

方法1:HP-5 弹性石英毛细管柱 ($0.25 \mu\text{m} \times 0.32 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$);起始温度 $80 \text{ }^\circ\text{C}$,保持 15 min, $20 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度升温至 $230 \text{ }^\circ\text{C}$,保持 10 min,进样口温度 $220 \text{ }^\circ\text{C}$,FID 检测器温度 $220 \text{ }^\circ\text{C}$,载气高纯 N_2 ($>99.99\%$),柱流量 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,分流比 10:1,分流进样量 $1 \mu\text{L}$ 。取供试品溶液,在该色谱条件下进样分析。

方法2:HP-5 弹性石英毛细管柱 ($0.25 \mu\text{m} \times 0.32 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$);起始温度 $150 \text{ }^\circ\text{C}$,保持 8 min, $25 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度升温至 $230 \text{ }^\circ\text{C}$,保持 8 min,进样口温度 $220 \text{ }^\circ\text{C}$,FID 检测器温度 $220 \text{ }^\circ\text{C}$,载气高纯 N_2 ($>99.99\%$),柱流量 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,分流比 10:1,分流进样量 $1 \mu\text{L}$ 。取供试品溶液,在该色谱条件下进样分析。

方法3:HP-5($0.25 \mu\text{m} \times 0.32 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$)弹性石英毛细管柱;柱升温程序:起始温度 $110 \text{ }^\circ\text{C}$,保持 10 min, $25 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度升温至 $230 \text{ }^\circ\text{C}$,保持

9.2 min, 进样口温度 220 ℃, FID 检测器温度 220 ℃, 载气高纯 N₂ (>99.99%), 柱流量 1.0 mL·min⁻¹, 分流比 10:1, 分流进样量 1 μL。取供试品溶液, 在该色谱条件下进样分析。

结果表明方法 1, 2 色谱峰分离效果不好, 峰形差, 杂质峰较多。方法 3 条件分离度较好、洗脱时间适中, 基线平稳, 样品测定各成分的含量较高。最终确定最佳色谱条件为方法 3。

2.7 提取溶剂的选择^[5-6] 根据广藿香、香薷有效成分即百秋李醇、广藿香酮、麝香草酚、香荆芥酚的极性特点, 取相同量暑热宁口服液分别采用环己烷、三氯甲烷、乙醚、正己烷、石油醚(30~60 ℃)、石油醚(60~90 ℃)、甲苯、乙酸乙酯 8 种溶剂进行萃取富集, 并注入气相色谱仪。

结果表明, 三氯甲烷、乙醚、石油醚(30~60 ℃)、石油醚(60~90 ℃)、乙酸乙酯萃取样品中百秋李醇、广藿香酮、麝香草酚、香荆芥酚含量均较低, 分离度较差。正己烷萃取样品中百秋李醇、广藿香酮含量较高, 但麝香草酚、香荆芥酚含量较低。甲苯萃取样品中各成分含量均较高, 但甲苯毒性较大。环己烷萃取样品中百秋李醇、广藿香酮、麝香草酚、香荆芥酚含量均较高, 分离度好, 峰型好, 所以确定最佳提取溶剂为环己烷。

2.8 供试品溶液提取方法选择^[7] 制备供试品溶液时比较了环己烷萃取, 挥发油提取器中加环己烷提挥发油, 挥发油提取器中加环己烷加酸提挥发油, 挥发油提取器中加环己烷加碱提挥发油考察。

结果表明环己烷萃取样品中百秋李醇、广藿香酮、麝香草酚、香荆芥酚含量均较高。环己烷提挥发油方法中麝香草酚、香荆芥酚含量均较高但百秋李醇、广藿香酮含量远远低于环己烷萃取样品。加环己烷加酸提挥发油、加环己烷加碱提挥发油中麝香草酚、香荆芥酚含量极低, 百秋李醇、广藿香酮基本没有。所以确定最佳提取方法为环己烷萃取。

2.9 供试品溶液提取因素考察 分别对萃取时间(20, 30, 40 min)、萃取次数(2, 3, 4 次)、萃取溶剂体积(1:1, 1:1.5, 1:2)进行考察。

结果表明环己烷萃取 4 次和萃取 3 次各成分峰面积基本相同, 萃取 3 次各成分峰面积远远高于萃取 2 次峰面积, 所以, 最佳萃取次数为萃取 3 次。采用不同比例萃取溶剂进行萃取, 发现各成分峰面积较接近, 为节约耗材我们选择等体积萃取。萃取时

间考察中发现, 萃取 20 min 时萃取液稍有浑浊, 分离尚未稳定, 萃取 30 min 与 40 min 时萃取液分离较好, 且各成分峰面积较接近, 为提高工作效率, 萃取时间为 30 min。

根据实验结果, 暑热宁口服液中麝香草酚、香荆芥酚、百秋李醇、广藿香酮同时测定的供试液最佳制备方法为: 精密量取暑热宁合剂 50 mL, 加入等体积环己烷萃取 3 次, 每次 30 min, 合并萃取液, 自然挥干, 正己烷溶解并定容于 2 mL 量瓶中, 摇匀, 即得。

3 讨论

保持其他色谱条件不变, 进行了柱流量 0.8~1.0 mL·min⁻¹ 的考察, 以百秋李醇、广藿香酮、麝香草酚、香荆芥酚分离度和保留时间为考察指标, 确定流速在 1.0 mL·min⁻¹ 下最佳。

保持其他色谱条件不变, 进行了分流比为 5:1, 10:1, 20:1 考察, 以百秋李醇、广藿香酮、麝香草酚、香荆芥酚分离度、洗脱时间为考察指标, 确定分流比 10:1 时分离度较好、洗脱时间适中, 因此分流比选择 10:1。

在气相色谱定量分析中常采用内标法, 但在实验摸索过程中发现正十八烷等内标物在样品里混合不好, 略有浑浊, 所以本实验采用外标法中工作曲线法, 方法稳定可行。

[参考文献]

- [1] 何建雄, 魏刚, 黄月纯, 等. 广藿香 GC-MS 特征指纹图谱数字化信息的应用及其 GC 验证[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(3): 316.
- [2] 罗光明, 杨光义, 刘红宁, 等. 香薷类药材挥发油化学成分比较研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(14): 1483.
- [3] 赵喜兰, 刘秋鹤, 郭焕. 气相色谱法测定保济丸中百秋李醇的含量[J]. 中国药房, 2010, 21(40): 3833.
- [4] 张宏武, 程雪宁, 魏建和. 海南广藿香药材中百秋李醇和广藿香酮的含量测定[J]. 中国药业, 2012, 21(15): 28.
- [5] 罗文敏, 白杨, 陈会明, 等. HPLC 法同时测定藿香正气胶囊中 8 个主要成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(9): 1776.
- [6] 苏丽娜, 王玉明, 李遇伯, 等. 舒脑欣滴丸中挥发性成分的 GC-MS 分析[J]. 中药材, 2013, 36(3): 472.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.

[责任编辑 顾雪竹]