

风热感冒颗粒气相色谱特征图谱研究

曾 桢,李婷婷,王 欣,孔卫东,刘 莉[△]

(四川省成都市食品药品检验研究院,四川 成都 610045)

摘要:目的 建立风热感冒颗粒的气相色谱特征图谱。方法 色谱柱为DB-WAX毛细管柱(30 m×0.32 mm,0.50 μm),程序升温,进样口温度为230℃,检测器为氢火焰离子化检测器,检测器温度为230℃,进样量为1 μL,分流比为1:1。结果 建立了风热感冒颗粒的气相色谱特征图谱,共标定8个共有峰,并指出5个特征峰。结论 该方法操作简便、快速,重复性好,可为风热感冒颗粒的质量控制提供科学依据。

关键词:风热感冒颗粒;气相色谱法;特征图谱;质量控制

中图分类号:R927.1

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)14-0055-04

Gas Chromatography Characteristic Chromatograms of Fengre Ganmao Granules

ZENG Zhen, LI Tingting, WANG Xin, KONG Weidong, LIU Li

(Chengdu Institute for Food and Drug Control, Chengdu, Sichuan, China 610045)

Abstract: Objective To establish the quality control method for the characteristic chromatogram of Fengre Ganmao Granules. Methods Gas chromatography(GC) was performed with DB-WAX capillary column(30 m×0.32 mm,0.50 μm) and programmed heating, the injection temperature was 230℃, the detector was hydrogen flame ionization detector, and the detector temperature was 230℃, the injection volume was 1 μL, and the split ratio was 1:1. Results The GC characteristic chromatograms of Fengre Ganmao Granules was established, eight common peaks were calibrated and five characteristic peaks were identified. Conclusion The method is simple, rapid and reproducible, which can provide a basis for the quality control of Fengre Ganmao Granules.

Key words: Fengre Ganmao Granules; gas chromatography; characteristic chromatograms; quality control

风热感冒颗粒由经典名方银翘散加减药味而来,有疏风清热、利咽解毒功效,临床多用于治疗风热感冒,症见发热、出汗、鼻塞、头痛、咽痛、咳嗽、多痰等^[1]。对风热感冒颗粒的质量研究多集中在板蓝根、牛蒡子等成分的高效液相色谱(HPLC)方面^[2-7],而处方中的臣药薄荷、荆芥穗均以挥发油入药,对其研究鲜有报道。为更好地控制其质量,保证疗效,本研究中参考文献[8-10],采用气相色谱法,对市售26批风热感冒颗粒的挥发性成分进行分析,建立了气相色谱特征图谱,为其质量的均一性研究提供依据。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

7890B型气相色谱仪,含自动进样器、火焰离子化检测器(美国安捷伦科技有限公司);XPE26型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司);AE-240型电子天平(德国Sartorius公司);SK250H型超声仪(上海科导超声仪器有限公司);Milli-Advantage A10型超纯水装置(美国Millipore公司)。

1.2 试剂

26批市售风热感冒颗粒[批号分别为2002201, 1903209, 2003210, 1903202, 1903207, A20190630,

A20190629, A20190563, B20200501, 190604, 190616, 190524, 190503, 190602, 20190703(A), 20191003, 20180118, 20190703(B), 20200309, ZJA1901, ZAA1911, ZAA2009(A), ZEA1901, ZAA2009(B), ZAA1912, ZEA2009];β-蒎烯对照品(批号为111827-201202,供含量测定用),柠檬烯对照品(批号为100470-201302,含量为96.0%),薄荷酮对照品(批号为111705-201105,含量为99.8%),薄荷脑对照品(批号为10725-201707,含量为99.8%),胡薄荷酮对照品(批号为111706-201907,含量为99.8%),板蓝根对照药材(批号为121177-201608),薄荷对照药材(批号为120916-201812),荆芥穗对照药材(批号为121424-201505),连翘对照药材(批号为120908-201817),桑叶对照药材(批号为121123-201806),均购自中国食品药品检定研究院;其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:DB-WAX毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.50 μm),程序升温,初始温度为50℃,以5℃/min的速率升至140℃,保持4 min,以20℃/min的速率升至200℃,保持1 min,再以50℃/min的速率升至235℃,保

第一作者:曾桢,女,大学本科,主管中药师,研究方向为中药质量标准,(电子信箱)18276515@qq.com。

[△]通信作者:刘莉,女,硕士,主任药师,研究方向为药品质量标准,(电子信箱)liuli2807@sina.com。

持3 min;检测器为氢火焰离子化检测器,检测器温度为230℃,进样口温度为230℃,进样量为1 μL,分流进样的分流比为1:1;载气流速为2 mL/min。

2.2 溶液制备

混合对照品溶液:分别称取β-蒎烯、柠檬烯、薄荷酮、薄荷脑、胡薄荷酮对照品25.925 3, 28.152 7, 24.725 0, 27.125 3, 25.352 1 mg,精密称定,置250 mL容量瓶中,加石油醚(60~90℃)溶解并定容,制成质量浓度分别为0.103 7, 0.112 6, 0.098 9, 0.108 5, 0.101 4 mg/mL的混合对照品溶液。

供试品溶液:取样品50 g,置蒸馏管中,加入20%氢氧化钠溶液50 mL,水蒸气蒸馏,收集馏出液约250 mL,置250 mL容量瓶[预先装入石油醚(60~90℃)5 mL]中,振摇提取,摇匀后静置,取上层石油醚溶液,作为供试品溶液。按风热感冒处方和工艺制备样品Ⅱ,并按供试品溶液制备方法制得供试品溶液Ⅱ。

对照药材溶液:取板蓝根、薄荷、荆芥穗、连翘、桑叶对照药材各5 g,加水100 mL,煎煮2 h,滤过,得滤液约50 mL,置蒸馏管中,加氢氧化钠10 g,水蒸气蒸馏,收集馏出液约250 mL,置250 mL容量瓶[预先装入石油醚(60~90℃)5 mL]中,振摇提取,摇匀后静置,取上层石油醚溶液,即得。

2.3 方法学考察

精密度试验:精密吸取2.2项下供试品溶液1 μL,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。

结果各色谱峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3.0%(n=6),表明方法精密性良好。

稳定性试验:精密吸取2.2项下供试品溶液(批号2002201)1 μL,分别于室温下放置0, 4, 8, 12, 24 h时进样测定,记录峰面积。结果各色谱峰相对保留时间、相对保留峰面积的RSD均小于3.0%(n=5),表明供试品溶液在室温下24 h内稳定。

重复性试验:取样品(批号2002201)6份,依法制备供试品溶液,再按2.1项下色谱条件进样测定。结果各色谱峰相对保留时间和相对保留峰面积的RSD均不超过3.0%(n=6),表明方法重复性良好。

2.4 特征图谱的建立

共有峰及参照峰选择:取2.2项下混合对照品溶液、供试品溶液Ⅱ、对照药材溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图(见图1)。选取含量较高的7号峰(薄荷脑)为S峰(参照峰)。测定26批次样品的特征图谱,比较其色谱图,确定8个共有特征峰,分别归属到5味药材。结果见表1。

特征图谱分析:26批次样品的特征图谱区别较大,主要为16批次缺失β-蒎烯峰、11批次缺失柠檬烯峰、7批次缺失薄荷酮峰、13批次缺失峰6。仅8批次的特征图谱峰完整(见表2)。β-蒎烯和柠檬烯分属连翘和桑叶,处方工艺中提取工艺为煎煮,两类成分的缺失提示企业提取罐煎煮参数的差异,会造成该类抗菌成分的缺失。薄荷酮和峰6分属薄荷,处方工艺中提取方式

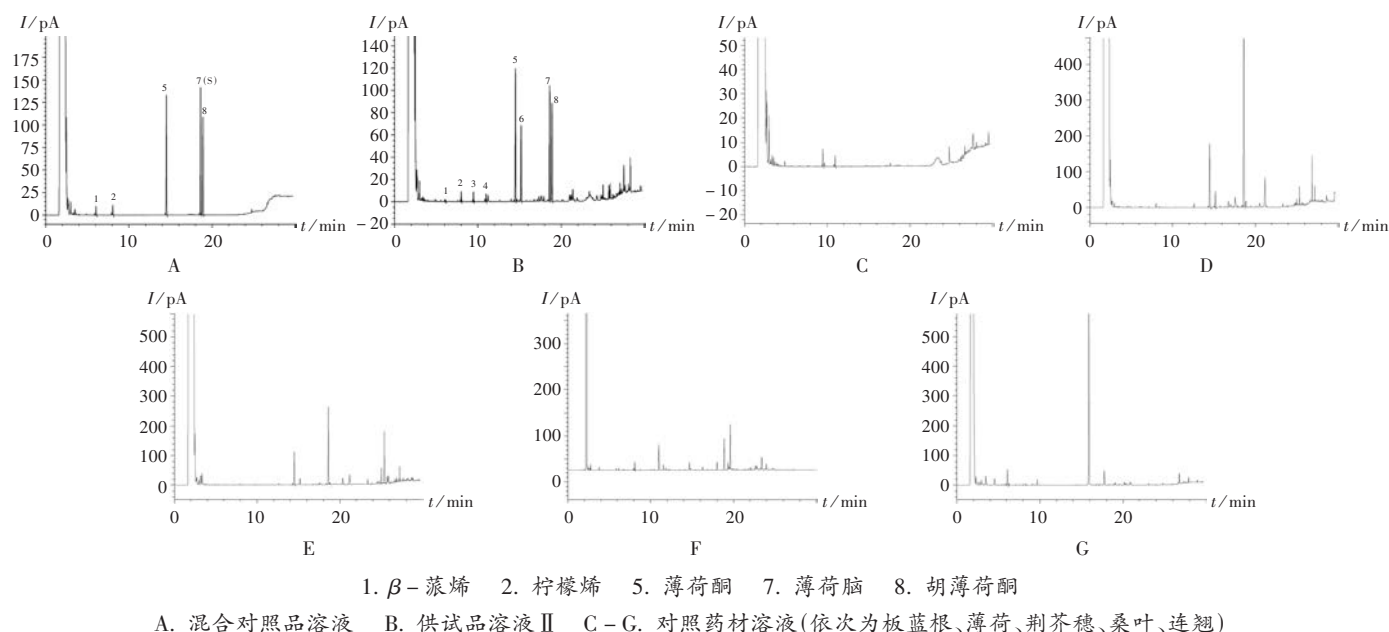


图1 气相色谱图

1. β-pinene 2. borneol 5. benzyl benzoate 7. alantolactone 8. isoalantolactone
A. Mixed reference solution B. Test solution II C-G. Reference medicinal materials solution(the order of C-G was *Radix Isatidis*, *Mentha haplocalyx*, *Schizonepeta tenuifolia*, *Folium Mori* and *Forsythia Suspensa*)

Fig. 1 GC chromatograms

表1 风热感冒颗粒特征图谱共有峰归属表

Tab. 1 Common peak assignment of characteristic chromatograms of Fengre Ganmao Granules

峰序号	保留时间(min)	归属	对照品	峰序号	保留时间(min)	归属	对照品
1	6.10	连翘	β -蒎烯	5	14.49	薄荷、荆芥穗	薄荷酮
2	8.00	桑叶	柠檬烯	6	15.18	薄荷	
3	9.47	板蓝根		7	18.60	薄荷	薄荷脑
4	10.95	板蓝根		8	18.88	荆芥穗	胡薄荷酮

表2 26批风热感冒颗粒特征图谱共有峰的相对保留时间

Tab. 2 Relative retention time for the common peaks of characteristic chromatograms of 26 batches of Fengre Ganmao Granules

批号	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7	峰8
2002201	0.33	0.43	0.51	0.59	0.78	0.82	1.00	1.02
1903209	-	-	0.51	0.59	-	-	1.00	1.02
2003210	-	-	0.51	0.59	0.78	-	1.00	1.01
1903202	-	-	0.51	0.59	-	-	1.00	1.02
1903207	-	-	0.51	0.59	0.78	-	1.00	1.02
A20190630	-	0.43	0.51	0.59	0.78	0.82	1.00	1.01
A20190629	-	0.43	0.51	0.59	0.78	0.82	1.00	1.01
A20190563	0.33	0.43	0.51	0.59	0.78	0.82	1.00	1.01
B20200501	0.33	0.43	0.51	0.59	0.78	0.82	1.00	1.01
190604	0.33	0.43	0.51	0.59	0.78	0.82	1.00	1.02
190616	0.33	0.43	0.51	0.59	0.78	0.82	1.00	1.01
190524	0.33	0.43	0.51	0.59	0.78	0.82	1.00	1.01
190503	0.33	0.43	0.51	0.59	0.78	0.82	1.00	1.01
190602	0.33	0.43	0.51	0.59	0.78	0.82	1.00	1.01
20190703(A)	-	-	0.51	0.59	0.78	-	1.00	1.02
20191003	-	-	0.51	0.59	-	-	1.00	1.02
20180118	-	0.43	0.51	0.59	0.78	0.82	1.00	1.01
20190703(B)	-	0.43	0.51	0.59	0.78	-	1.00	1.02
20200309	0.33	0.43	0.51	0.59	0.78	-	1.00	1.02
ZJA1901	0.33	0.43	0.51	0.59	0.78	-	1.00	1.02
ZAA1911	-	0.43	0.51	0.59	0.78	-	1.00	1.02
ZAA2009(A)	-	-	0.51	0.59	-	-	1.00	1.01
ZEA1901	-	-	0.51	0.59	0.78	0.82	1.00	1.01
ZAA2009(B)	-	-	0.51	0.59	-	-	1.00	1.02
ZAA1912	-	-	0.51	0.59	-	-	1.00	1.02
ZEA2009	-	-	0.51	0.59	-	-	1.00	1.02

注: - 为缺失。

Note: - is the missing value.

为提取挥发油,此类成分的缺失,结合 HPLC 法含量测定结果,提示企业投料的薄荷药材质量欠佳或投料不足。以上结果可推测,市售风热感冒颗粒质量参差不齐,亟须提高其质量标准,加大其质量品质监控。

3 讨论

3.1 色谱柱选择

预试验中考察了 DB-WAX(聚乙二醇)毛细管柱(30 m × 0.53 mm, 1.0 μm), DB-WAX(聚乙二醇)毛细

管柱(30 m × 0.32 mm, 0.50 μm), HP-5 毛细管柱(30 m × 0.32 mm, 0.25 μm), 以及不同柱温及程序变温条件对结果的影响。结果 DB-WAX(聚乙二醇)毛细管柱(30 m × 0.32 mm, 0.50 μm)在正式研究中规定的条件下,分离度好,保留时间适中,峰形较好,故被选用。

3.2 提取溶剂选择

文献[11-13]中挥发油提取多采用乙酸乙酯作为吸收液,但预试验发现,乙酸乙酯有一定水溶性,会造成样品中的部分挥发性成分因溶剂混溶而消失。而以石油醚(60~90℃)作为吸收液时,待测成分色谱峰峰面积较大,且特征信息较全面、干扰较少。故以石油醚(60~90℃)为吸收液。

3.3 提取方法选择

预试验中比较了 BUCHI Distillation Unit K-350 水蒸气蒸馏法及药典附录挥发油测定法,结果水蒸气蒸馏法提取杂质少,峰形佳,干扰小,故被选用。

3.4 馏出液体积确定

依法制备供试品溶液,收集 150, 250, 500 mL 馏出液并进行比较,结果峰面积差异不大,为保证测定成分馏出完全,故确定馏出液体积为 250 mL。

3.5 方法评价

中药的特征图谱能较全面地反映制剂中所含化学成分的种类和数量,能有效地体现中药成分的整体性和综合作用^[14-16]。本研究建立了风热感冒颗粒的气相色谱特征图谱,标定了 8 个共有峰,并指出 5 个特征峰。该方法操作简便、快速,准确性和专属性均良好,可较全面地反映风热感冒颗粒中所含的化学成分,可为其质量的均一性提供依据。

参考文献

- [1] WS₃-B-0044-89, 卫生部药品标准·中药成方制剂(第十册)[S].
- [2] 刘斌. HPLC-DAD 同时测定风热感冒颗粒中 6 种活性成分的含量[J]. 中国现代医药, 2021, 23(1): 147-152.
- [3] 孙强. 风热感冒颗粒质量标准的研究和探讨[J]. 中国药品标准, 2019, 20(3): 212-217.
- [4] 邹洁, 格日勒, 赵春梅, 等. 风热感冒颗粒中牛蒡子苷含量分析方法研究[J]. 广州化工, 2019, 47(1): 88-89.
- [5] 吴萍, 张新君, 高嵩, 等. 风热感冒颗粒中连翘、牛蒡子薄层色谱鉴别方法研究[J]. 人参研究, 2018, 30(6): 5-8.
- [6] 冯江江. 风热感冒颗粒中苦杏仁苷和绿原酸及连翘苷的多波长 HPLC 法含量测定[J]. 抗感染药学, 2018, 15(1): 11-14.
- [7] 陈楨. 风热感冒颗粒中连翘苷的含量测定[J]. 抗感染药学, 2016, 13(5): 986-987.
- [8] 段冷松, 曾蔚欣, 孙璐璐. 薄荷-荆芥穗药对挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(11): 50-54.
- [9] 徐玉婷. 湖北栽培薄荷挥发油化学成分气相色谱-质谱分析[J]. 湖北中医药大学学报, 2011, 13(2): 26-28.