

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.08.020

气相色谱串联质谱法同时测定鱼金注射液中芳樟醇和甲基正壬酮含量

陈骁勇¹, 葛玉松^{2△}

(1. 江苏省盐城市第一人民医院, 江苏 盐城 224000; 2. 江苏省盐城市食品药品监督管理局, 江苏 盐城 224000)

摘要:目的 建立同时测定鱼金注射液中芳樟醇、甲基正壬酮含量的气相色谱串联质谱(GC-MS/MS)法。方法 色谱柱为 Agilent 19091S-431 HP-5MS 毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 程序升温, 进样口温度为 250℃, 流速为 1.0 mL/min, 顶空进样, 加热温度为 90℃, 平衡 45 min, 分流比为 10:1; 电子轰击离子源, 电子能量为 70 eV, 离子源温度为 230℃, MSD 传输线温度为 280℃, 四极杆温度为 150℃, 淬灭气(氦气)流速为 2.25 mL/min, 碰撞气(氮气)流速为 1.50 mL/min, 多反应监测扫描模式。结果 芳樟醇、甲基正壬酮质量浓度分别在 0.013 58~0.135 80 mg/mL($r=0.999\ 1, n=6$)和 0.006 09~0.060 88 mg/mL($r=0.998\ 7, n=6$)范围内与峰面积线性关系良好; 精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2.0%; 平均加样回收率分别为 98.96% 和 99.82%, RSD 分别为 1.53% 和 1.04%($n=6$)。结论 所建立的方法简便可靠, 灵敏度高, 重复性好, 适用于同时测定鱼金注射液中芳樟醇和甲基正壬酮的含量。

关键词: 气相色谱串联质谱法; 鱼金注射液; 芳樟醇; 甲基正壬酮; 同时测定

中图分类号: R917; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)08-0083-03

Simultaneous Determination of Linalool and Methyl-Nnonylketone in Yujin Injection by GC-MS/MS

CHEN Xiaoyong¹, GE Yusong²

(1. Yancheng No. 1 People's Hospital, Yancheng, Jiangsu, China 224000; 2. Yancheng Food and Drug Supervision and Inspection Center, Yancheng, Jiangsu, China 224000)

Abstract: Objective To establish a gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) method for the simultaneous determination of linalool and methyl-nonylketone in Yujin Injection. **Methods** The chromatographic column was Agilent 19091S-431 HP-5MS capillary column(30 m×0.25 mm, 0.25 μm) with temperature programmed by headspace injection, the injection port temperature was 250℃, the flow rate was 1.0 mL/min, the heating temperature was 90℃ and 45 minutes for balance, the split ratio was 10:1. Electron impact ion source, the electron energy was 70 eV, the ion source temperature was 230℃, the temperature of MSD transmission line was 280℃, the quadrupole temperature was 150℃, the flow rate of quenching gas (helium) was 2.25 mL/min, the flow rate of collision gas (nitrogen) was 1.50 mL/min with the multi reaction monitoring (MRM) mode. **Results** The mass concentration of linalool and methyl-nnonylketone showed a good relationship with the peak area in the ranges of 0.013 58-0.135 80 mg/mL($r=0.999\ 1, n=6$) and 0.006 09-0.060 88 mg/mL($r=0.998\ 7, n=6$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 2.0%, the average recoveries were 98.96% and 99.82% with RSDs of 1.53% and 1.04%($n=6$). **Conclusion** The established method is simple, reliable, sensitive and reproducible, which can be used for the simultaneous determination of linalool and methyl-nnonylketone in Yujin Injection.

Key words: GC-MS/MS; Yujin Injection; linalool; methyl-nonylketone; simultaneous determination

鱼金注射液由鱼腥草和金银花2味药材经现代工艺提取制成,具有清热解毒功效,临床常用于治疗热毒内盛所致上呼吸道感染、支气管肺炎、病毒性肺炎、化脓性疾病、妇科炎症与术后发热^[1-4]。鱼腥草为三白草

科植物蕺菜 *Houttuynia cordata* Thunb. 的新鲜全草或干燥地上部分,含有生物碱、挥发油等多种成分,其中挥发性成分甲基正壬酮具有抗氧化、抗炎、抗病毒等作用^[5-7]。金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干

第一作者:陈骁勇,男,大学本科,主任药师,研究方向为医院药学,(电子信箱)1037831212@qq.com。

△通信作者:葛玉松,男,大学本科,主任药师,研究方向为药品检验,(电子信箱)356345642@qq.com。

[5] 沈 烨,曹桂萍. 清热合剂的质量新标准研究[J]. 海峡药学, 2017,29(3):76-79.

[6] 张银梅,赵钰慧. 溃疡散中木香挥发佛手的薄层色谱鉴别[J]. 中国民族医药杂志,2009,15(3):66.

[7] 康爱荣,黄 毅,闫秋娟,等. 高效液相色谱法测定复方肉苁蓉口服液松果菊苷与毛蕊花糖苷含量[J]. 医药导报,

2009,28(2):231-232.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2020:140-141,177-178,188.

[9] 徐珊珊,吴康郁,涂兴明. HPLC法测定肉苁蓉水提液中松果菊苷的含量[J]. 中国新药与临床药理,2019,30(5):598-601.

(收稿日期:2021-06-16;修回日期:2021-09-22)

燥花蕾或带初开的花,含有机酸、挥发油、黄酮等成分,其中挥发油芳樟醇对大肠杆菌具有较强抑制作用^[8-10]。目前,鱼金注射液质量标准^[11]中仅甲基正壬酮的定量测定方法。为了更好地控制产品质量,本研究中采用气相色谱串联质谱(GC-MS/MS)法同时测定制剂中芳樟醇和甲基正壬酮的含量^[12-15]。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 8890GC-7000D型气质联用分析仪(含Agilent 8890型气相色谱仪)、7000D型三重四极杆质谱检测器、7697A型顶空进样器,均购自安捷伦科技有限公司;XS05DU型电子天平(梅特勒-托利多仪器<上海>有限公司)。

1.2 试药

鱼金注射液(陕西医药控股集团山海丹药业有限责任公司,批号分别为19040079,20200129,190301,20200619,191208);芳樟醇对照品(批号为111503-202004,含量98.8%),甲基正壬酮对照品(批号为110834-201603,含量99.8%),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 试验条件

色谱条件:色谱柱为Agilent 19091S-431 HP-5MS毛细管柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm);程序升温,初始温度为70℃,保持5 min,以5℃/min的速率升至140℃,保持5 min,以25℃/min的速率升至250℃;进样口温度为250℃;流速为1.0 mL/min;进样方式为顶空进样,置10 mL顶空瓶中,加热温度为90℃,平衡45 min,分流比为10:1。

质谱条件:电子轰击离子源;电子能量为70 eV;离子源温度为230℃;MSD传输线温度为280℃;四极杆温度为150℃;淬灭气(氦气)流速为2.25 mL/min;碰撞气(氮气)流速为1.50 mL/min;多反应监测(MRM)

扫描模式,参数优化见表1。总离子流图见图1。

表1 MRM参数优化

Tab. 1 Optimization of MRM parameters			
待测成分	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能量(eV)
芳樟醇	136.1	93.1	15
		121.1	5
甲基正壬酮	170.2	57.0	25
		85.1	10

2.2 溶液制备

分别称取芳樟醇对照品34.37 mg、甲基正壬酮对照品15.25 mg,精密称定,置同一50 mL容量瓶中,加无水乙醇溶解,定容,即得混合对照品贮备液;精密量取0.8 mL,置10 mL容量瓶中,加水定容,摇匀,即得混合对照品溶液。以样品为供试品溶液。按鱼金注射液处方工艺分别制成缺鱼腥草、金银花的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

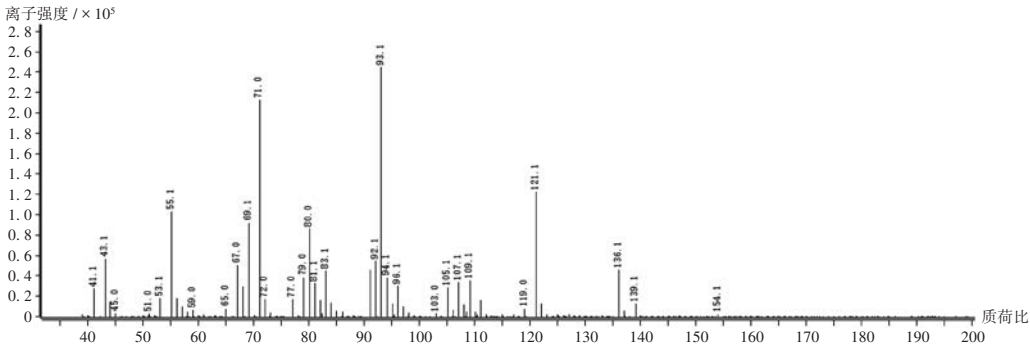
线性关系考察:分别取2.2项下混合对照品贮备液0.2,0.4,0.8,1.2,1.6,2.0 mL,置10 mL容量瓶中,加水定容,摇匀,即得系列混合对照品溶液。精密量取1 mL,按2.1项下试验条件进样测定,记录离子强度。以待测成分质量浓度(X,mg/mL)为横坐标、离子强度(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程及线性范围。详见表2。

表2 线性关系考察结果(n=6)

Tab. 2 Results of the linear relation test(n=6)			
待测成分	回归方程	r	线性范围(mg/mL)
芳樟醇	$Y_1 = 29\,900X_1 - 98.75$	0.999 1	0.013 58~0.135 80
甲基正壬酮	$Y_2 = 35\,000X_2 - 24.05$	0.998 7	0.006 09~0.060 88

精密度试验:精密量取混合对照品溶液1 mL,共6份,按2.1项下试验条件进样测定,记录离子强度。结果芳樟醇、甲基正壬酮离子强度的RSD分别为1.21%和0.97%(n=6),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取供试品溶液适量,分别于室温下放置0,2,4,8,16,24 h时按2.1项下试验条件进样测定,



记录离子强度。结果芳樟醇、甲基正壬酮离子强度的RSD分别为1.91%和1.39%($n=6$),表明供试品溶液在室温放置24 h内稳定性良好。

重复性试验:取同一批(批号为19040079)样品,共6份,每份1 mL,按2.1项下试验条件进样测定,记录离子强度,并计算样品含量。结果芳樟醇和甲基正壬酮的平均含量分别为49.28 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和31.72 $\mu\text{g}/\text{mL}$,RSD分别为1.81%和1.45%($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取同一批(批号为19040079)样品0.5 mL,共6份,精密加入对照品溶液0.5 mL,按2.1项下试验条件进样测定,记录离子强度,并计算加样回收率。结果见表3。

表3 加样回收试验结果($n=6$)

Tab. 3 Results of the recovery test($n=6$)

样品含量(μg)		加入量(μg)		测得量(μg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
24.64	15.86	27.17	12.18	51.23	28.11	97.87	100.57				
24.64	15.86	27.17	12.18	51.99	28.21	100.66	101.40				
24.64	15.86	27.17	12.18	51.38	27.87	98.42	98.60	98.96	99.82	1.53	1.04
24.64	15.86	27.17	12.18	51.56	27.91	99.08	98.93				
24.64	15.86	27.17	12.18	50.99	27.99	96.98	99.59				
24.64	15.86	27.17	12.18	52.01	28.02	100.74	99.84				

注:A为芳樟醇,B为甲基正壬酮。

Note:A is linalool,B is methyl-nnonylketone.

2.4 样品含量测定

取5批样品各适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,并按2.1项下试验条件进样测定,记录离子强度,并计算样品含量,平行操作3次。结果见表4。

表4 样品含量测定结果($\mu\text{g}/\text{mL}$, $n=3$)

Tab. 4 Results of content determination of linalool and methyl-nnonylketone in the samples($\mu\text{g}/\text{mL}$, $n=3$)

批号	芳樟醇		甲基正壬酮	
	测得量($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD(%)	测得量($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD(%)
19040079	49.28	1.8	31.72	1.5
20200129	36.29	1.5	24.36	1.6
190301	39.01	1.9	29.78	0.9
20200619	42.25	1.8	32.20	1.7
191208	53.19	1.3	27.79	1.4

3 讨论

3.1 供试品溶液制备

预试验中比较了蒸馏提取挥发油法、固相萃取小柱法及顶空进样法。挥发油测定法样品用量较大,蒸馏时间长,油水不易完全分离,易有水溶性杂质干扰。固相萃取小柱法的前处理复杂,有机溶剂用量大。而顶空进样法可直接取样品进样,操作简便。

3.2 测定方法确定

现行标准中采用火焰离子化检测器测定成分含

量,该法灵敏度低,且对柱效要求高。而顶空进样法可直接取样,具有快速、高效、环保的优势。质谱法具有灵敏度高、专属性强、重复性好、杂质不影响主成分测定等特点,故本试验中采用质谱法测定。预试验中还考察了顶空温度(85,90,95 $^{\circ}\text{C}$)及平衡时间(35,40,45,60 min),发现采用顶空温度为90 $^{\circ}\text{C}$ 、平衡时间为45 min时,重复性较好。

3.3 质谱条件确定

预试验中对混合对照品溶液进行二级质谱全扫描,综合考虑一级扫描质谱图中质荷比和响应强度选取母离子。对选定母离子进一步进行产物离子扫描,选取2对离子对用于MRM扫描,并对MRM扫描离子对进行碰撞能量优化。

参考文献

[1] 陈梦琳. 鱼金注射液雾化吸入治疗急性上呼吸道感染的药理学研究[D]. 北京:北京中医药大学,2020.

[2] 肖信雄,冯旗. 鱼金注射液联合野菊花注射液雾化吸入治疗急性上呼吸道感染的临床观察[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019,6(67):169.

[3] 尚晓霞. 鱼金注射液联合噻托溴铵对哮喘-慢阻肺重叠综合征FeNO及免疫功能的影响研究[J]. 包头医学院学报, 2019,35(5):26-27.

[4] 付强. 鱼金注射液联合抗生素治疗肺炎的临床疗效观察[J]. 现代诊断与治疗,2014,25(12):2692.

[5] 王君. 鱼腥草注射液对急性咽炎治疗作用的实验研究[J]. 中国药业,2016,25(3):35-37.

[6] 李丹. 鱼腥草有效成分及抗结核作用研究进展[J]. 河南中医,2020,40(2):299-303.

[7] 康登云,杨如顺. 复方鱼腥草糖浆联合头孢唑啉治疗小儿肺炎的临床效果研究[J]. 黑龙江科学,2021,12(8):76-77.

[8] 刘冠达,刘锐娜,刘德翔,等. 金银花提取物对重症急性胰腺炎肺损伤大鼠的保护作用及机制研究[J]. 现代生物医学进展, 2021,21(13):2437-2441.

[9] 郭伟钰,陈文学,陈海明,等. 芳樟醇对大肠杆菌的抑菌作用机制[J]. 现代食品科技,2020,36(4):113-118.

[10] 吴克刚,赵欣欣,段雪娟,等. 芳樟醇气相抗菌活性与作用机制[J]. 食品科学,2020,41(1):61-67.

[11] WS₃-B-3263-98,中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂(第十七册)[S].

[12] 周璐敏,洗静怡. 鱼腥草滴鼻剂中甲基正壬酮的含量测定[J]. 中国药师,2018,21(12):2277-2278.

[13] 廖然,谢伟. 气相色谱法测定解毒扶正胶囊中甲基正壬酮含量[J]. 现代中医药,2015,35(4):59-60.

[14] 承晨,朱晓雯. 毛细管气相色谱法测定代代花中柠檬烯、芳樟醇含量[J]. 海峡药学,2021,33(3):76-78.

[15] 张伟. 气相色谱法测定薰衣草油中芳樟醇和乙酸芳樟酯含量[J]. 中国药业,2010,19(6):29-30.

(收稿日期:2021-07-10;修回日期:2021-10-12)