

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.24.013

气相色谱法测定枇杷止咳颗粒中薄荷脑含量*

李靖云^{1,2}, 孙 辉^{1,2}, 曾蒲军³, 王银红^{1,2Δ}

(1. 湖南省药品检验检测研究院, 湖南 长沙 410001; 2. 湖南省药品质量评价工程技术研究中心, 湖南 长沙 410001; 3. 湖南省药品审核查验中心, 湖南 长沙 410001)

摘要:目的 建立测定枇杷止咳颗粒中薄荷脑含量的气相色谱法。方法 以茶为内标物, 色谱柱为 DB-WAX 毛细管柱(30 m × 0.32 mm, 0.25 μm), 检测器为氢火焰离子化检测器, 柱温为 120 °C, 进样口、检测器温度均为 250 °C, 空气流速为 400 mL/min, 氢气流速为 30 mL/min, 流速为 3 mL/min, 分流比为 10:1, 进样量为 1 μL。结果 薄荷脑质量浓度在 1.05 × 10⁻³ ~ 0.209 mg/mL 范围内与对照品峰面积/茶峰面积线性关系良好; 精密度、重复性、稳定性试验结果的 RSD 均小于 1.0%; 平均加样回收率为 86.52%, RSD 为 2.36% (n = 6)。5 家生产企业 9 批样品含量为每袋 0.600 ~ 1.125 mg。结论 所建方法简便、快速, 可用于枇杷止咳颗粒中薄荷脑含量的测定。

关键词: 枇杷止咳颗粒; 气相色谱法; 内标法; 薄荷脑; 含量测定

中图分类号: R927

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)24-0055-03

Content Determination of Menthol in Pipa Zhike Granules by Gas Chromatography

LI Jingyun^{1,2}, SUN Hui^{1,2}, ZENG Pujun³, WANG Yinhong^{1,2}

(1. Hunan Institute for Drug Control, Changsha, Hunan, China 410001; 2. Hunan Engineering & Technology Research Center for Pharmaceutical Quality Evaluation, Changsha, Hunan, China 410001; 3. Hunan Drug Inspection Center, Changsha, Hunan, China 410001)

Abstract: Objective To establish a gas chromatography (GC) method for the content determination of menthol in Pipa Zhike Granules. **Methods** Naphthalene was used as the internal standard, and the chromatographic column was DB-WAX capillary column (30 m × 0.32 mm, 0.25 μm), the detector was a hydrogen flame ionization detector (FID), the column temperature was 120 °C, the temperature of the sample inlet and the detector was 250 °C, the flow rate of air was 400 mL/min, the flow rate of hydrogen was 30 mL/min, the split ratio was 10:1, and the injection volume was 1 μL. **Results** The linear range of menthol was 1.05 × 10⁻³ - 0.209 mg/mL. The RSDs of precision, repeatability and stability tests were all less than 1.0%. The average recovery of menthol was 86.52% with an RSD of 2.36% (n = 6). The content of nine batches of samples from five manufacturers was in the range of 0.600 - 1.125 mg per bag. **Conclusion** The method is simple and rapid, which can be used for the content determination of menthol in Pipa Zhike Granules.

Key words: Pipa Zhike Granules; GC; internal standard method; menthol; content determination

枇杷止咳颗粒由枇杷叶、罂粟壳、百部、白前、桑白皮、桔梗、薄荷脑组成, 可用于止嗽化痰及治疗痰热壅肺所致咳嗽、咯痰及支气管炎见上述症候者, 方中薄荷脑为佐药, 具有祛风利咽功效。2020年版《中国药典(一部)》^[1] 收录的该制剂质检方法为薄层色谱(TLC)法。研究显示, 气相色谱(GC)法常用于其含量测

定^[2-5]。考虑到制剂中薄荷脑的制备工艺(用少量乙醇溶解后喷入, 混匀, 制粒)及其挥发性, TLC法不能全面反映药品中薄荷脑的实际质量可能存在较大误差^[6-7], 为此, 本研究中采用GC测定不同企业枇杷止咳颗粒中薄荷脑含量, 为优化薄荷脑的质量控制提供参考。现报道如下。

* 基金项目: 2020年国家药品抽检项目[60]。

第一作者: 李靖云, 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为药品检验及质量标准, (电子信箱)ljy321@foxmail.com。

Δ通信作者: 王银红, 女, 硕士研究生, 副主任中药师, 研究方向为中药材及中成药质量分析及标准, (电子信箱)491762345@qq.com。

491a79dc1cbaab15474183fb2ff9d5be.

587-590.

[13] WS-10001-(HD-0659)-2002, 盐酸拉贝洛尔片[S].

[16] 刘鑫洋, 秦杰琛, 董艳萍, 等. 非布司他片有区分力溶出度检测法的建立及溶出曲线相似性评价[J]. 中国医药工业杂志, 2022, 53(1): 119-124.

[14] 孙 婷, 姜建国, 郭永辉, 等. 不同厂家比沙可啶肠溶片仿制制剂与参比制剂溶出曲线的相似性评价[J]. 中国药房, 2017, 28(9): 1268-1271.

[17] 孔 彬, 刘晓霞. 国产与进口尼莫地平片溶出曲线相似性分析[J]. 医药导报, 2021, 40(2): 252-256.

[15] 孙 婷, 姜建国, 张 菁, 等. 硝酸甘油片参比制剂与仿制制剂的体外质量一致性评价[J]. 中国药房, 2020, 31(5):

(收稿日期: 2022-04-13; 修回日期: 2022-07-11)

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 8890型气相色谱系统、氢火焰离子化(FID)检测器(安捷伦科技有限公司);KQ-500DE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Mettler AE240型、Mettler Toledo XSE 205DU型电子分析天平[梅特勒托利多科技(中国)有限公司]。

1.2 试药

枇杷止咳颗粒(企业A,批号记为S1,S2;企业B,批号记为S3,S4;企业C,批号记为S5,S6;企业D,批号记为S7,S8;企业E,批号记为S9)。薄荷脑对照品(中国食品药品检定研究院,批号为110728-201707,含量99.8%);萘对照品(分析纯,天津市光复精细化工研究所,批号为20190811);无水乙醇为分析纯,水为纯化水。

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, 0.25 μm);载气:高纯度氮气;柱温:120 ℃;进样口温度:250 ℃;检测器:FID;检测器温度:250 ℃;空气流速:400 mL/min;氢气流速:30 mL/min;流速:3 mL/min;分流比:10:1;进样量:1 μL。

2.2 溶液制备

内标溶液:取萘对照品52.98 mg,精密称定,置500 mL容量瓶中,加入无水乙醇溶解,定容,摇匀,即得。

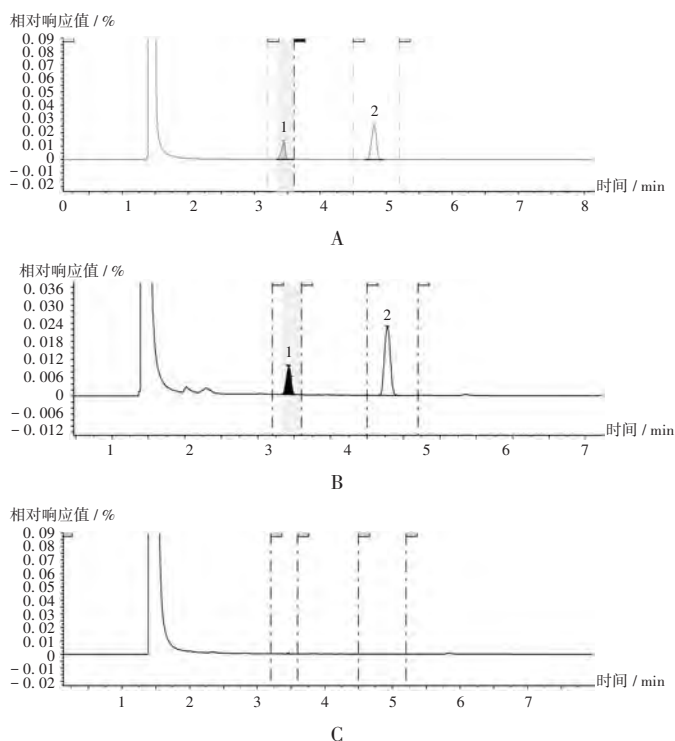
对照品溶液:取薄荷脑对照品52.45 mg,精密称定,置50 mL容量瓶中,加入无水乙醇溶解,定容,摇匀,即得对照品溶液I;精密量取10 mL,置50 mL容量瓶中,加入无水乙醇定容,摇匀,精密量取25 mL,加入内标溶液5 mL,置50 mL容量瓶中,加入无水乙醇振摇溶解,定容,摇匀,即得对照品溶液II。精密量取对照品溶液I 2 mL,置100 mL容量瓶中,加无水乙醇定容,摇匀,精密量取20 mL,加入内标溶液20 mL,置200 mL容量瓶中,加入无水乙醇溶解,定容,即得对照品溶液III。

供试品溶液:取样品内容物适量,研细,取3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入含2 mL内标溶液的无水乙醇20 mL,称定质量,冰浴超声(功率500 W,频率40 kHz;下同)处理20 min,放至室温,再次称定质量,加无水乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

阴性对照品溶液:按枇杷止咳颗粒处方及工艺制备缺薄荷脑的阴性样品,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

系统适用性试验:取2.2项下对照品溶液II、供试



1. 薄荷脑 2. 萘

A. 对照品溶液 II B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 气相色谱图

1. Menthol 2. Naphthalene

A. Reference solution II B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 GC chromatograms

品溶液和阴性对照品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果薄荷脑与其他物质均能达到基线分离,理论板数按薄荷脑峰计应不低于10 000,且阴性对照无干扰。详见图1。

线性关系考察:精密吸取0.01,0.05,0.20,0.50,1.00,2.00 mL对照品溶液I,及内标溶液1 mL共6份,置10 mL容量瓶中,加入无水乙醇溶解、定容、摇匀,制成质量浓度分别 1.05×10^{-3} , 5.23×10^{-3} , 2.09×10^{-2} , 5.23×10^{-2} ,0.105,0.209 mg/mL的系列对照品溶液;分别取1 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,以薄荷脑质量浓度(X, mg/mL)为横坐标、对照品峰面积/萘峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 7.6268X + 0.0024 (R^2 = 1)$ 。结果表明,薄荷脑质量浓度在 $1.05 \times 10^{-3} \sim 0.209$ mg/mL范围内与对照品峰面积/萘峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取对照品溶液II适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录相对响应值。结果薄荷脑峰面积的RSD为0.51%(n = 6),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取同一批样品适量,精密称定,共6份,

按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录相对响应值并计算含量。结果薄荷脑平均含量为0.083 mg/g, RSD为0.98% (n = 6),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取同一供试品溶液适量,分别于室温下放置0,6,12,18,24 h时,按2.1项下色谱条件进样测定,记录相对响应值。结果薄荷脑峰面积的RSD为0.68% (n = 5),表明供试品溶液室温下放置24 h内基本稳定。

加样回收试验:取已知含量的样品内容物适量,研细,取1.5 g,精密称定,共6份,各加入20 mL 2.2项下对照品溶液Ⅲ,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录相对响应值并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收试验结果 (n = 6)

Tab. 1 Results of the recovery test (n = 6)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
0.0471	0.0419	0.0832	86.16	86.52	2.36
0.0465	0.0419	0.0833	87.83		
0.0462	0.0419	0.0819	85.20		
0.0464	0.0419	0.0813	83.29		
0.0469	0.0419	0.0837	87.83		
0.0470	0.0419	0.0842	88.78		

2.4 样品含量测定

取5家企业9批样品各适量,分别按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下色谱条件进样测定,记录相对响应值并计算薄荷脑含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果 (mg / 袋, n = 2)

Tab. 2 Results of the content determination of menthol in the samples (mg / bag, n = 2)

批号	最小值	最大值	\bar{X}	批号	最小值	最大值	\bar{X}
S1,S2	0.82	0.85	0.835	S7,S8	1.11	1.14	1.125
S3,S4	0.61	0.65	0.630	S9	0.60	0.60	0.600
S5,S6	0.97	0.99	0.980				

3 讨论

3.1 试验条件考察

薄荷脑为易挥发物质,故提取时不考虑因温度过高而易造成损失的索式提取、回流提取等方法,而选择冰浴超声提取方法。超声时间分别考察10,20,30 min,结果表明,超声10 min提取基本完全,故选择中间值20 min作为提取时间。提取溶剂比较了石油醚(60~90℃)、乙酸乙酯和无水乙醇,以无

水乙醇的提取率最高,故选择。同时对提取体积(10,15,20 mL)进行了考察,结果发现,取样品细粉约3 g时,10 mL与20 mL的提取率基本相当,为保证提取完全,提取体积选择20 mL。

3.2 样品含量测定结果分析

本研究结果表明,同一企业(即使不同批次)样品含量差异较小,不同企业之间差异较大(最高含量约为最低含量的2倍)。考虑到薄荷脑具挥发性、沸点低、室温易升华的特点,其可能吸附在包装袋内表面^[8]。按本研究中拟订方法和色谱条件,随机抽取各企业各批样品,均6袋,分别对包装袋上及样品内容物中的薄荷脑含量进行考察。根据吸附量可将企业分为3类。I类,企业C,D; II类,企业A,B; III类,企业E;薄荷脑吸附量分别为<10%,20%~30%,~50%。

3.3 方法评价

本研究中所建方法简单可行、重现性好、准确可靠,可用于测定枇杷止咳颗粒中薄荷脑含量。但发现颗粒剂的包装袋上会吸附薄荷脑。查看各生产企业的包装均为复合膜,包装材料无明显差异,推测可能是由于薄荷脑的喷入工艺导致其包裹于颗粒表面,在储存过程中挥发后吸附于包装袋上^[8-9],从而导致颗粒中薄荷脑含量减少。建议生产企业考察药用包装袋对薄荷脑的吸附作用,通过改良生产工艺,改善储存温湿度或更换吸附性较小的包装材料等方式,减少薄荷脑的损失。

参考文献

- [1] 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: 438-439, 1108-1109.
- [2] 邝明, 何啟家, 张谨贤. 气相色谱法同时测定苍苓鼻炎合剂中桉油精和薄荷脑含量[J]. 中国药业, 2017, 26(1): 25-27.
- [3] 宦正丹, 倪慧艳. 气相色谱法测定小儿感冒颗粒中薄荷脑的含量[J]. 抗感染药学, 2018, 15(9): 1483-1485.
- [4] 姜家书, 谢其亮, 李敦明, 等. 气相色谱法测定通络祛痛膏中樟脑、薄荷脑和冰片含量[J]. 中国药业, 2014, 23(7): 31-32.
- [5] 施利群, 徐建峰, 张利华, 等. 气相色谱法测定麝香壮骨膏中薄荷脑含量[J]. 中国药业, 2013, 22(12): 77-78.
- [6] 左海英, 张莉, 张永涛, 等. 挥发性有机物检测中内标法与外标法的比较[J]. 南水北调与水利科技, 2009, 7(4): 67-73.
- [7] 吴松涛, 段雪云. 内标法与外标法测定氨薄荷酊中薄荷脑含量的比较[J]. 广州化工, 2016, 44(13): 125-127.
- [8] 赵春美. 板蓝清热颗粒质量标准及薄荷脑包合工艺研究[D]. 昆明: 云南中医学院, 2018.
- [9] 肖宏华, 胡妍文, 张淑君, 等. 贮存温度对复方薄荷脑滴鼻液中樟脑和薄荷脑含量的影响[J]. 中国药师, 2021, 24(8): 582-585.

(收稿日期: 2022-03-13; 修回日期: 2022-07-19)

