

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.01.018

气相色谱法测定胃痛片中4种化学成分含量*

古炳明, 邬伟魁[△], 刘佳

(广东省梅州市食品药品监督管理局, 广东 梅州 514011)

摘要:目的 建立测定胃痛片中苍术素、 α -香附酮、厚朴酚、和厚朴酚含量的气相色谱(GC)法。方法 色谱柱为HP-5毛细管柱(30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25 μ m), (5%)-二苯基(95%)-二甲基聚硅氧烷为固定相, 程序升温(初始温度为50 $^{\circ}$ C、保持4 min, 以10 $^{\circ}$ C/min的速率升至120 $^{\circ}$ C、保持10 min, 以10 $^{\circ}$ C/min的速率升至220 $^{\circ}$ C、保持10 min, 再以10 $^{\circ}$ C/min的速率升至250 $^{\circ}$ C、保持4 min), 进样口温度为280 $^{\circ}$ C, 火焰离子化检测器(FID)温度为300 $^{\circ}$ C, 载气为氮气, 载气流速为2.0 mL/min, 进样量为1 μ L, 分流比1:1。结果 苍术素、 α -香附酮、厚朴酚、和厚朴酚质量浓度分别在15.54~41.44 μ g/mL、22.62~60.32 μ g/mL、157.98~421.28 μ g/mL、154.86~412.96 μ g/mL范围内与峰面积线性关系良好($r=0.9997, 0.9999, 0.9995, 0.9998, n=6$); 平均加样回收率分别为97.49%, 97.52%, 97.02%, 97.24%, RSD 分别为1.17%, 1.30%, 0.79%, 1.16%($n=6$); 精密度、重复性、稳定性试验结果的 RSD 均低于1.5%。结论 该方法操作简便、结果准确、重复性好, 可用于胃痛片的质量控制。

关键词:胃痛片; 气相色谱法; 苍术素; α -香附酮; 厚朴酚; 和厚朴酚

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2023)01-0075-04

Determination of Four Chemical Constituents in Weitong Tablets by GC

GU Bingming, WU Weikui, LIU Jia

(Meizhou Institute for Food and Drug Control, Meizhou, Guangdong, China 514011)

Abstract: Objective To establish the gas chromatography (GC) method for the determination of atractylodin, α -cyperone, magnolol and honokiol in Weitong Tablets. **Methods** The chromatographic column was HP-5 capillary column (30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25 μ m) with (5%)-diphenyl (95%)-dimethyl polysiloxane as the stationary phase. The temperature was programmed: the initial temperature was 50 $^{\circ}$ C (maintained for 4 min), heated to 120 $^{\circ}$ C at the rate of 10 $^{\circ}$ C/min (maintained for 10 min), then heated to 220 $^{\circ}$ C at the rate of 10 $^{\circ}$ C/min (maintained for 10 min), and then heated to 250 $^{\circ}$ C at the rate of 10 $^{\circ}$ C/min (maintained for 4 min). The injection inlet temperature was 280 $^{\circ}$ C, the flame ionization detector (FID) temperature was 300 $^{\circ}$ C, the carrier gas was nitrogen, the carrier gas flow rate was 2.0 mL/min, the injection volume was 1 μ L, and the split ratio was 1:1.

*基金项目: 2021年广东省梅州市社会发展科技计划项目[2021B76]; 广东省药品监督管理局2021年科技创新项目[2021TDB09]; 广东省药品监督管理局2022年市县药品监管综合改革创新项目[ZG-DS-2022018]。

第一作者: 古炳明, 硕士研究生, 主管中药师, 研究方向为药品检验与质量标准, (电子信箱)214948130@qq.com。

[△]通信作者: 邬伟魁, 硕士研究生, 副主任中药师, 研究方向为药品质量控制与风险评估, (电子信箱)weikuiwu@qq.com。

立了测定解热颗粒中长梗冬青苷含量的HPLC法, 并进行了方法学考察。结果显示, 长梗冬青苷色谱峰的峰形良好, 且分离度佳, 各组分互不干扰, 表明含量测定方法简便, 结果可靠。同时, 对方中君药鸭跖草和臣药大青叶也进行了含量测定, 结果发现峰形不佳, 且分离效果较差, 故暂未列入质量标准, 有待进一步研究。

3.3 方法评价

所建立的方法操作简便、专属性强、准确度高、重复性好, 可用于解热颗粒的质量控制。

参考文献

- [1] 巩伟, 赵庆华, 赵梅, 等. 大青叶配方颗粒质量标准研究[J]. 中国药师, 2014, 17(12): 2021-2023.
- [2] 刘主洁, 张伟, 卢秋梅, 等. 南大青叶薄层色谱法鉴别的完善与HPLC法含量测定的建立[J]. 中国药品标准, 2021, 22(1): 37-42.

- [3] 班燕桃, 严明, 严寒, 等. 四味穿心莲散中大青叶的薄层色谱定性鉴别方法[J]. 中国兽药杂志, 2020, 54(5): 25-29.
- [4] 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: 104.
- [5] 蒋婷婷, 郑金星, 林雪志. 高效液相色谱法测定四季青中长梗冬青苷[J]. 化学分析计量, 2021, 30(4): 54-57.
- [6] 刘萍萍, 王冰. HPLC测定不同生长期鸭跖草中异荛素素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12): 85-87.
- [7] 谢耀轩, 罗雅丽, 刘秋桃, 等. 咳喘丸质量标准的建立[J]. 中国药师, 2020, 23(12): 2469-2473.
- [8] 闫钰, 易红, 张东, 等. 基于HPLC多成分含量测定的紫苏叶质量标准探讨[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(16): 4051-4060.
- [9] 蒋婷婷, 郑金星, 林雪志. 高效液相色谱法测定四季青中长梗冬青苷[J]. 化学分析计量, 2021, 30(4): 54-57.

(收稿日期: 2022-02-10; 修回日期: 2022-07-19)

Results The linear ranges of atractylodin, α -cyperone, magnolol and honokiol were 15.54 – 41.44 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 22.62 – 60.32 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 157.98 – 421.28 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and 154.86 – 412.96 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ($r = 0.999\ 7, 0.999\ 9, 0.999\ 5, 0.999\ 8, n = 6$), respectively. The average recoveries of the above four chemical constituents were 97.49%, 97.52%, 97.02% and 97.24% with RSDs of 1.17%, 1.30%, 0.79% and 1.16% ($n = 6$), respectively. The RSDs of precision, repeatability and stability tests were all lower than 1.5%.

Conclusion This method is simple, accurate and repeatable, which can be used for the quality control of Weitong Tablets.

Key words: Weitong Tablets; GC; atractylodin; α -cyperone; magnolol; honokiol

胃痛片是由苍术、厚朴、香附、高良姜、陈皮、碳酸氢钠等制成的中西药复方制剂,具有芳香行气、和止痛功效,用于胃酸过多、胃痛及脘闷、呕吐等属气滞证的治疗^[1]。现行质量标准《国家食品药品监督管理总局国家药品标准 胃痛片质量标准》WS-11084(ZD-1084)-2002-2012Z^[2]仅对方中厚朴、碳酸氢钠的含量进行测定,含量控制标准单一且未对方中君药苍术进行定量分析,不符合多组分、多靶点的现代中药质量控制要求。苍术为君药,具有燥湿健脾、祛风散寒功效,主要活性成分苍术素含量高低常用作评价苍术的质量^[3-4]。香附为臣药,有调经止痛、理气解郁功效,主要活性成分为 α -香附酮^[5]。本研究中建立了测定胃痛片中苍术素、厚朴酚、厚朴酚和 α -香附酮含量的气相色谱法,可为其质量标准提升提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

AB204-N型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司,精度为万分之一);BP 211D型电子分析天平(德国赛多利斯公司,精度为十万分之一);8890型气相色谱仪(安捷伦公司);KQ-250DE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为300 W,频率为50 kHz)。

1.2 试药

苍术素对照品(批号为111924-201806,含量以99.5%计), α -香附酮对照品(批号为110748-202016,含量以99.4%计),厚朴酚对照品(批号为110729-202015,含量以99.0%计),和厚朴酚对照品(批号为110730-201915,含量以99.8%计),均购于中国食品药品检定研究院;胃痛片(广东嘉应制药股份有限公司,批号分别为20180202,20190501,20200302);乙酸乙酯(广州市番禺力强化工厂,批号为633379-05653)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:HP-5毛细管柱(30 m $\times$ 0.32 mm,0.25 μm), (5%)-二苯基(95%)-二甲基聚硅氧烷为固定相;程序升温:初始温度为50 $^{\circ}\text{C}$ 、保持4 min,以10 $^{\circ}\text{C} / \text{min}$ 的速率升至120 $^{\circ}\text{C}$ 、保持10 min,以10 $^{\circ}\text{C} / \text{min}$ 的速率升至220 $^{\circ}\text{C}$ 、保持10 min,以10 $^{\circ}\text{C}$ 的速率升至250 $^{\circ}\text{C}$ 、保持

4 min;进样口温度:280 $^{\circ}\text{C}$;火焰离子化检测器(FID)温度:300 $^{\circ}\text{C}$;载气:氮气;流速:2.0 mL/min;进样量:1 μL ;分流比:1:1。

2.2 溶液制备

取苍术素对照品5.18 mg, α -香附酮对照品7.54 mg,分别置20 mL棕色容量瓶中,以乙酸乙酯溶解并定容;取厚朴酚对照品26.33 mg、和厚朴酚对照品25.81 mg,分别置10 mL容量瓶中,加乙酸乙酯溶解并定容,制成各对照品贮备液。分别取各对照品贮备液1 mL,置同一10 mL容量瓶中,加乙酸乙酯稀释并定容,即得混合对照品溶液。取样品,避光条件下操作,研细,取细粉2.0 g,精密称定,置棕色容量瓶中,精密加入乙酸乙酯15 mL,称定质量,超声处理1 h,放冷后再次称定质量,以乙酸乙酯补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。根据处方工艺分别制备缺苍术、香附、厚朴的阴性对照品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

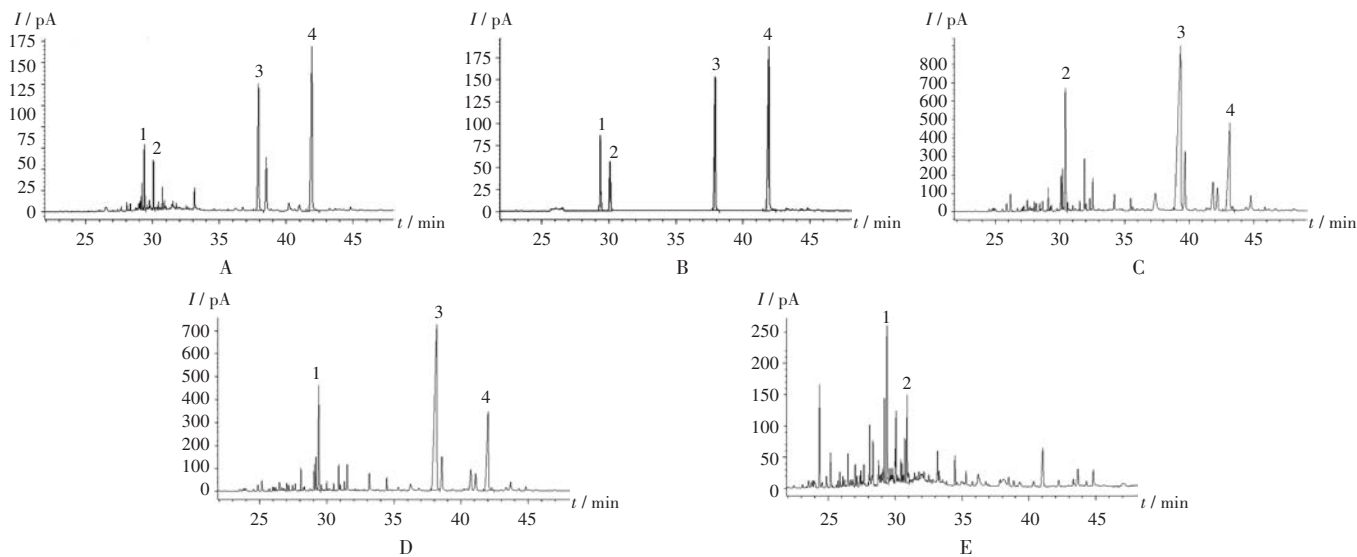
2.3 方法学考察

专属性试验:取2.2项下供试品溶液、混合对照品溶液及阴性对照品溶液各适量,按2.1项下色谱条件分别进样测定,记录色谱图。供试品溶液中苍术素、 α -香附酮、厚朴酚、和厚朴酚色谱与混合对照品溶液色谱保留时间一致,各色谱峰分离良好,且阴性对照无干扰。色谱图见图1。

线性关系考察:分别精密吸取2.2项下各对照品贮备液0.60,0.80,1.00,1.20,1.40,1.60 mL,置同一10 mL容量瓶中,加乙酸乙酯稀释并定容,按2.1项下色谱条件进样测定,以峰面积(Y)为纵坐标、各成分的质量浓度(X , $\mu\text{g} / \text{mL}$)为横坐标进行线性回归。结果见表1。

精密度试验:取2.2项下混合对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录色谱图。结果苍术素、 α -香附酮、厚朴酚、和厚朴酚峰面积的RSD分别为0.32%,0.35%,0.52%,0.65%($n = 6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(批号为20180202)适量,共6份,依法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件分别进样测定,记录色谱图。根据回归方程计算得苍术素、 α -香附酮、厚



1. 苍术素 2. α -香附酮 3. 厚朴酚 4. 和厚朴酚

A. 供试品溶液 B. 混合对照品溶液 C-E. 阴性对照品溶液(分别缺苍术、香附、厚朴)

图1 气相色谱图

1. Atractylodin 2. α -Cyperone 3. Magnolol 4. Honokiol

A. Test solution B. Mixed reference solution C-E. Negative reference solution (lacking Atractylodis Rhizoma, Cyperi Rhizoma and Magnoliae Officinalis Cortex, respectively)

Fig.1 GC chromatograms

表1 线性关系考察结果($n=6$)

Tab.1 Results of the linear relation test ($n=6$)

化学成分	回归方程	r	线性范围($\mu\text{g/mL}$)
苍术素	$Y=7\,852.9X+1\,560.3$	0.9997	15.54~41.44
α -香附酮	$Y=4\,708.5X+0.0143$	0.9999	22.62~60.32
厚朴酚	$Y=4\,186.1X-98.035$	0.9995	157.98~421.28
和厚朴酚	$Y=6\,219.7X-30.554$	0.9998	154.86~412.96

朴酚、和厚朴酚的质量分数的 RSD 分别为1.08%,0.75%,0.81%,0.96%($n=6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取样品(批号为20180202)适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,分别于0,2,4,8,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果苍术素、 α -香附酮、厚朴酚、和厚朴酚峰面积的 RSD 分别为1.25%,1.09%,1.13%,1.06%($n=5$),表明供试品溶液24 h内稳定性良好。

加样回收试验:取样品(批号为20180202)1.0 g,共6份,精密称定,分别精密加入2.2项下混合对照品溶液5.0 mL,制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,计算回收率。结果见表2。

2.4 样品含量测定

取样品(批号分别为20180202,20190501,20200302)适量,依法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,根据回归方程计算苍术素、 α -香附酮、厚朴酚、和厚朴酚的含量,结果见表3。可见,各批样品中成分含

量存在差异,特别是未作规定的苍术素和 α -香附酮差异较大。

3 讨论

3.1 色谱条件选择

本研究中考察多种程序升温的气相色谱分离条件^[6-8],预试验中,最初程序升温条件均设置进样口温度和检测器温度为300℃;程序升温,以100℃保持7 min,再以20℃/min的速率升至250℃,保持10 min,分流比为20:1。但在该条件下部分化学成分未能出峰,同时升温速率过快导致主成分色谱峰过于集中,分离度差。更改条件后,进样口温度为280℃;检测器温度为300℃;程序升温,初始温度为50℃,保持4 min;以10℃/min的速率升至120℃,保持10 min;再以1.0℃/min的速率升至250℃,保持4 min;分流比为20:1。但发现在该条件下色谱峰的响应值较低,调整分流比,1:1时响应值在合理范围内且各色谱峰峰形对称,分离度符合要求,结果稳定,故选择分流比为1:1。

3.2 溶液制备操作

试验初期,混合对照品溶液的部分色谱峰出峰时间和峰面积都不太稳定,特别是稳定性试验中,放置时间越长,苍术素和 α -香附酮的色谱峰面积越小。查阅文献^[9-11],发现 α -香附酮、苍术素均为热不稳定物质,且对光敏感、易氧化,故在对照品配置及供试品提取过程中, α -香附酮、苍术素对照品及样品均需避光保

表2 加样回收试验结果($n=6$)
Tab. 2 Results of the recovery test ($n=6$)

化学成分	取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
苍术素	1.002 1	0.132 7	0.128 9	0.258 9	97.91	97.49	1.17
	1.003 5	0.132 9	0.128 9	0.260 2	98.76		
	1.001 8	0.132 6	0.128 9	0.257 1	96.59		
	1.001 6	0.132 6	0.128 9	0.255 9	95.66		
	1.003 2	0.132 8	0.128 9	0.259 1	97.98		
	1.002 7	0.132 8	0.128 9	0.259 2	98.06		
α -香附酮	1.002 1	0.173 5	0.187 4	0.356 8	97.81	97.52	1.30
	1.003 5	0.173 7	0.187 4	0.356 2	97.39		
	1.001 8	0.173 4	0.187 4	0.353 4	96.05		
	1.001 6	0.173 4	0.187 4	0.357 8	98.40		
	1.003 2	0.173 7	0.187 4	0.353 9	96.16		
	1.002 7	0.173 6	0.187 4	0.359 7	99.31		
厚朴酚	1.002 1	1.275 6	1.303 3	2.551 3	97.88	97.02	0.79
	1.003 5	1.277 4	1.303 3	2.536 3	96.59		
	1.001 8	1.275 2	1.303 3	2.542 9	97.27		
	1.001 6	1.274 9	1.303 3	2.550 4	97.87		
	1.003 2	1.277 0	1.303 3	2.529 6	96.11		
	1.002 7	1.276 3	1.303 3	2.532 7	96.40		
和厚朴酚	1.002 1	1.203 8	1.287 9	2.455 2	97.17	97.24	1.16
	1.003 5	1.205 5	1.287 9	2.450 5	96.67		
	1.001 8	1.203 5	1.287 9	2.455 1	97.18		
	1.001 6	1.203 2	1.287 9	2.435 2	95.66		
	1.003 2	1.205 1	1.287 9	2.463 1	97.67		
	1.002 7	1.204 5	1.287 9	2.480 5	99.08		

表3 胃痛片中4种成分含量测定结果(mg/g, $n=6$)

Tab. 3 Results of content determination of four constituents in Weitung Tablets (mg/g, $n=6$)				
批号	苍术素	α -香附酮	厚朴酚	和厚朴酚
20180202	0.132 4	0.173 1	1.272 9	1.201 3
20190501	0.261 4	0.201 9	1.372 1	1.220 4
20200302	0.220 5	0.241 3	1.281 1	1.231 7

存。本研究中,供试品提取时间较长,为避免有效成分的分解失效导致检测数据的不准确,超声处理过程保持室温,也可用冰袋控制温度。

3.3 提取条件选择

在制备供试品溶液和混合对照品溶液时,曾考察提取方法(超声提取、超声后离心提取)、提取溶剂种类(甲醇、乙醇、乙酸乙酯)、料液比及提取时间,发现以甲醇、乙醇作提取溶剂时,苍术素和 α -香附酮的色谱峰分离度很小,且受进样时间长的影响,其他色谱峰不稳定,推测甲醇、乙醇的挥发性较大,导致目标成分浓度出现波动,采用乙酸乙酯为溶剂后解决了上述问

题^[12-14]。曾选择 α -蒎烯作为高良姜的定量指标,但后续研究发现无高良姜的阴性对照品中出现了 α -蒎烯的干扰峰,查证文献后得知香附挥发油中提取分离的单萜化合物有 α -蒎烯、 β -蒎烯、桉叶素、柠檬烯、 γ -聚散花素和 α -紫罗兰酮等^[15]。

3.4 方法评价

本研究中建立的方法操作简便易行,精密性、重复性和准确度均良好,可为胃痛片的多成分含量测定和质量控制提供参考。

参考文献

[1] 陈吴苏,蔡日强,孙虹,等.胃痛片的质量标准研究[J].中国实验方剂学杂志,2004,10(1):5-7.

[2] WS-11084(ZD-1084)-2002-2012Z,国家食品药品监督管理总局国家药品标准 胃痛片质量标准[S].

[3] 王艺萌,王知斌,孙延平,等.苍术属植物中倍半萜类化合物化学结构和生物活性研究进展[J].中草药,2021,52(1):299-309.

[4] 庄丹,秦靖,王慧阳,等.苍术的药效成分研究进展[J].生物加工过程,2021,19(3):306-313.

[5] 王凤霞,钱琪,李葆林,等.香附化学成分和药理作用研究进展及质量标志物(Q-Marker)预测分析[J].中草药,2022,53(16):5225-5234.

[6] 张小龙,孙晓,姚晨旭,等.GC法同时测定肚痛丸中6种有效成分的含量[J].中国药师,2018,21(3):518-520.

[7] 赵磊,郭彩芳,高楠楠,等.GC法同时测定香砂养胃片中去氢木香内酯、厚朴酚、和厚朴酚的含量[J].中国药物评价,2018,35(5):22-25.

[8] 王秋实,马冬云.GC法同时测定香砂平胃丸中6种成分的含量[J].西北药学杂志,2019,34(6):755-758.

[9] 吴丽,周书来.高效液相色谱法测定3种含香附制剂中 α -香附酮含量[J].中国药业,2020,29(5):102-104.

[10] 翟卫峰,尉小慧,张淑霞,等.HPLC法同时测定越鞠丸提取物YJ-XCC1Z3中蒙本内酯、 α -香附酮、苍术素的含量[J].药物分析杂志,2009,29(5):693-696.

[11] 谢晓玲,郭锦禧,叶炳皇,等.苍术素在不同存在状态下稳定性影响因素研究[J].今日药学,2013,23(9):596-599.

[12] 陈文婷,陈阳,张意涵,等.GC法同时测定不同种类苍术中6种成分[J].中成药,2018,40(5):122-127.

[13] 骆航,李华生,王文渊.一测多评法同时测定宽中顺气丸中8种成分[J].中成药,2020,42(4):857-862.

[14] 姜红宇.基于HPLC波长切换联合梯度洗脱技术的越鞠片中9种主要成分定量研究[J].中草药,2017,48(15):3092-3097.

[15] 许娜,梁媛媛,李文兵,等.香附挥发油研究进展[J].中成药,2022,44(6):1882-1888.

(收稿日期:2022-03-21;修回日期:2022-08-27)