

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2024.04.001

· 论 著 ·

气相色谱法测定清宣止咳颗粒中薄荷脑的含量

孔凡建¹, 苏琦爽²(1. 玉溪市食品药品检验所, 云南玉溪 653100; 2. 云南中医药大学, 昆明 650500)

[摘要]目的: 建立测定清宣止咳颗粒中薄荷脑含量的气相色谱法。方法: 采用 DB-FFAP 弹性石英毛细管柱(25 m×0.32 mm×0.50 μm); FID 检测器; 载气: N₂; 流速 1 mL/min, 进样口温度 200 ℃, 检测器温度 250 ℃; 柱温: 初始温度 70 ℃, 保持 4 min, 然后以 10 ℃/min 升温至 120 ℃, 保持 5 min, 再以 5 ℃/min 升温至 180 ℃, 保持 2 min, 最后以 25 ℃/min 升温至 200 ℃, 保持 5 min; 进样量 1 μL; 分流比 2:1。结果: 薄荷脑质量浓度在 0.01~0.10 mg/mL 范围内与峰面积呈良好线性关系($r=0.9985$), 平均回收率为 99.9% ($n=9$, RSD=3.8%)。结论: 本方法快速、简便, 结果可靠、准确, 重现性好, 适用于清宣止咳颗粒中薄荷脑含量的测定。

[关键词] 气相色谱法; 清宣止咳颗粒; 薄荷脑; 含量

[中图分类号] R917

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2024)04-0001-03

Content Determination of Menthol in Qingxuan Zhike Granules by Gas Chromatography

Kong Fanjian¹, Su Qishuang²(1. Yuxi Food and Drug Inspection Institute, Yunnan Yuxi 653100, China; 2. Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the gas chromatography method for content determination of Qingxuan Zhike granules. **Methods:** Gas chromatography was used with DB-FFAP elastic quartz capillary column (25 m×0.32 mm×0.50 μm). FID detector; carrier gas: N₂ were used, with flow rate of 1 mL/min, inlet temperature of 200 ℃, detector temperature of 250 ℃. The initial temperature was 70 ℃, maintained for 4 min, then increased to 120 ℃ at a rate of 10 ℃/min, maintained for 5 min, and then increased to 180 ℃ at a rate of 5 ℃/min, maintained for 2 min, the temperature increased to 200 ℃ at the rate of 25 ℃/min and maintained for 5 min. The injection volume was 1 μL, with split ratio of 2:1. **Results:** Menthol showed a good linear relationship in the range of 0.01 to 0.10 mg/mL ($r=0.9985$), and the average recovery was 99.9% ($n=9$, RSD=3.8%). **Conclusion:** The method is rapid, simple, reliable, accurate and reproducible, which is suitable for the determination of menthol in Qingxuan Zhike granules.

[Keywords] gas chromatography; Qingxuan Zhike granules; menthol; content

清宣止咳颗粒是一种治疗小儿感冒风寒咳嗽的常用药物,有疏风清热、宣肺止咳的功效。该方剂来源于我国著名中医张珍玉教授临床使用多年的有效经验方,它是根据桑菊饮和银翘散等方剂化裁改良而来。已经有大量文献报道其在改善咳嗽临床症状方面有较好的效果^[1-2],目前已载入《中国药典》2020 年版一部中。清宣止咳颗粒由 9 味中药组成:桑叶、薄荷、苦杏仁、桔梗、陈皮、紫菀、白芍、枳壳、甘草。处方中薄荷为君药,其主要有效成分是薄荷脑(左旋薄荷醇)^[3-4],具有疏风、理气、止痛的功效。当前《中国药典》收载有桑叶、甘草、桔梗和薄荷的鉴别以及芍药苷、橙皮苷的含量测定^[5]。但作为主药之一的薄荷却没有含量测定的检验方法或指标性评价。因此,建立一种适用于测定清宣止咳颗粒中薄荷脑含量的有效方法,对药品质量的提高具有重要意义。

薄荷脑是一种萜,分子式 C₁₀H₂₀O,为欧薄荷精油和薄荷中的主要成分,通常以游离和酯的状态存在,有防腐、刺激、麻醉、止痒、止痛、抗炎和清凉的作用,可用于治疗头痛、瘙痒、神经痛、萎缩性鼻炎、呼吸道炎症、声哑等^[6]。分析清宣止咳颗粒的制备工艺,薄荷、枳壳、陈皮需提取挥发油,挥发油用 β-环糊精包裹,其药渣加水煎煮^[5],由此可知清宣止咳颗粒中是含有一定量薄荷脑

的。通过查阅资料,目前对挥发油的含量测定方法有气相色谱法(GC)^[7]和气相色谱-质谱联用法(GC-MS)^[8-9]。GC 方便实用、重复性好、准确度高,GC-MS 分析成本较高,因此拟用 GC 法测定薄荷脑的含量。

1 仪器与试剂

气相色谱仪(Agilent 7890A);DB-FFAP 毛细管气相色谱柱(25 m×0.32 mm×0.5 μm);SGH-300 高纯氢气发生器;北京赛多利斯 BP211D 电子分析天平;北京赛多利斯 MSE224S-11CE-DU 电子天平;上海必能信 CPX5800H-C 超声波清洗仪。薄荷脑对照品(99.8%,中国食品药品检定研究院,批号 110738-201707);清宣止咳颗粒(苏中药业,批号 21031706、20111613、21081103,每袋 10 g);乙腈、甲醇为色谱纯(默克股份两合公司);无水乙醇为分析纯(四川西陇科学有限公司);水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液 取清宣止咳颗粒研末,精密称取 10 g,置于 150 mL 具塞锥形瓶中,精密加入无水乙醇 50 mL,称定质量,水浴锅回流提取 30 min,放至室温,再

称定质量,用无水乙醇补足减失的质量,摇匀,过滤,取滤液即得供试品溶液。

2.1.2 对照品溶液 取薄荷脑对照品 10.51 mg,精密称定,置于 50 mL 容量瓶,并用无水乙醇定容,摇匀即得 0.209 8 mg/mL 薄荷脑储备液。精密吸取 3 mL 储备液至 20 mL 容量瓶中,稀释定容,即得 0.03 mg/mL 的薄荷脑对照品溶液。

2.1.3 阴性对照品溶液 按处方比例称取不含薄荷的其他药材,按工艺制备阴性对照品,按“2.1.1”项方法制备阴性对照品溶液。

2.2 色谱条件与系统适用性实验

色谱柱:DB-FFAP 弹性石英毛细管柱(25 m×0.32 mm×0.5 μm);载气: N₂;FID 检测器;流速:1 mL/min;进样口温度:200 ℃,检测器温度:250 ℃;柱温:初始温度 70 ℃,保持 4 min,然后以 10 ℃/min 升温至 120 ℃,保持 5 min,再以 5 ℃/min 升温至 180 ℃,保持 2 min,最后以 25 ℃/min 升温至 200 ℃,保持 5 min;进样量:1 μL;分流比 2:1。在此色谱条件下,供试品溶液的色谱图与对照品溶液的色谱图在相应保留时间处显相同的峰,阴性对照品溶液与对照品溶液相应的保留时间内未出现色谱峰,见图 1。

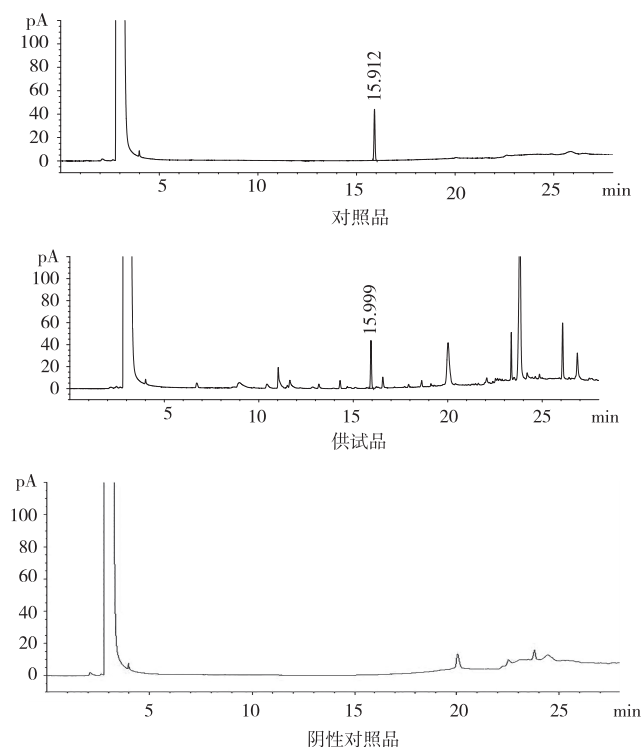


图 1 系统适用性实验色谱图

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密量取对照品储备液 0.5、1.0、1.5、2.5、5.0 mL,分别置于 10 mL 容量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,配制成浓度为 0.01、0.02、0.03、0.05、0.10 mg/mL 的溶液,进样测定,记录色谱图。以薄荷脑对照品浓度(X , mg/mL)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线,回归方程 $Y = 6\,372.3X + 1.798\,8$ ($n = 5$,

$r = 0.998\,5$)。结果表明,对照品质量浓度在 0.01 ~ 0.10 mg/mL 范围内与峰面积呈良好的线性关系。见图 2。

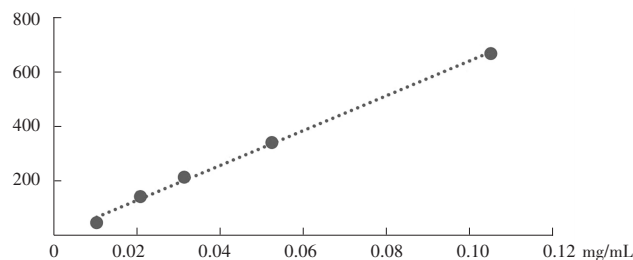


图 2 标准曲线

2.3.2 检测限与定量限 分别精密吸取 10.49 μg/mL 的对照品溶液适量,加无水乙醇逐次稀释,进样测定。结果表明,系统检测限(LOD)为 0.52 μg/mL ($S/N = 3$),定量限(LOQ)为 1.62 μg/mL ($S/N = 10$)。

2.3.3 精密度实验 取对照品溶液连续进样 6 次,记录薄荷脑的峰面积。结果薄荷脑的平均峰面积为 215.21 ($RSD = 0.71\%$),表明仪器的精密度良好,满足测定要求。

2.3.4 重复性实验 取同一批次样品(批号 21031706) 6 份,分别制备成供试品溶液,进行测定,结果薄荷脑的平均含量为 0.156 4 mg/g ($RSD = 1.23\%$),表明该方法重复性较好。

2.3.5 稳定性实验 取供试品溶液分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定,结果薄荷脑的平均含量为 0.154 7 mg/g ($RSD = 0.95\%$),表明供试品溶液在 24 h 内性质稳定,能够满足测定需要。

2.3.6 加样回收率实验 取薄荷脑对照品 20.43 mg 至 50 mL 容量瓶,加无水乙醇定容,制成含薄荷脑 0.407 8 mg/mL 的溶液,作为薄荷脑对照品储备液。精密称取已知含量的样品(批号 21031706,每份 5 g) 9 份,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,分别在 1、2、3 号样品中精密加入薄荷脑对照品储备液 1.0 mL,在 4、5、6 号样品中精密加入薄荷脑储备液 2.0 mL,在 7、8、9 号样品中精密加入薄荷脑对照品储备液 3.0 mL,分别制备供试品溶液,进样测定,记录色谱图,计算得清宣止咳颗粒中薄荷脑的回收率。结果薄荷脑的平均回收率为 99.9% ($RSD = 3.8\%$)。见表 1。

表 1 加样回收率实验

样品 编号	取样量 /g	理论含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
1	5.001 5	0.772 2	0.407 8	1.165 6	96.46
2	5.002 3	0.772 3	0.407 8	1.173 3	99.33
3	5.000 6	0.772 0	0.407 8	1.201 5	105.32
4	5.012 8	0.773 9	0.815 6	1.613 6	102.95
5	5.008 1	0.773 2	0.815 6	1.630 5	105.11
6	5.004 9	0.772 7	0.815 6	1.549 1	95.19
7	5.004 5	0.772 6	1.223 4	1.978 3	98.55
8	5.008 5	0.773 3	1.223 4	1.958 0	96.83
9	5.003 7	0.772 5	1.223 4	2.002 3	100.52

2.3.7 样品含量测定 取3个不同批次的清宣止咳颗粒(批号21031706、20111613、21081103),每批平行3份,制备供试品溶液,进样测定,并计算样品中薄荷脑的含量,结果见表2。

表2 样品含量测定

批次	取样量/g	峰面积	含量/(mg/g)	平均含量/(mg/g)
21031706	10.014 6	205.352 84	0.159 49	0.154 4
	10.009 3	193.724 17	0.150 45	
	10.011 3	197.562 34	0.153 43	
21081103	10.002 6	185.551 71	0.144 14	0.134 6
	10.001 0	163.638 8	0.126 95	
	9.906 1	169.569 08	0.132 89	
20111613	10.003 4	112.899 47	0.087 15	0.090 6
	9.913 1	119.732 02	0.093 35	
	9.922 2	117.242 15	0.091 30	

3 讨论

3.1 薄荷脑的限度拟定

薄荷脑具有很浓烈的芳香气味,药品在打开后也是有同样的现象,薄荷脑在清宣止咳颗粒中有消炎止痛、增加香气的作用。因清宣止咳颗粒是儿科用药,所以对气味、口味的要求更高。同时因为薄荷脑不适用于脾胃虚寒、腹泻患者,且过量会刺激脾胃,甚至引起中毒反应,所以含量不宜太高。经对同一厂家、不同批次的样品进行分析,发现薄荷脑含量差异较大,其原因主要与薄荷药材的种类、产地、采收等有关^[10]。为保证药品质量的稳定性,可加强对生产投料过程中薄荷饮片的质量控制。在药材市场中,有一些不法商贩在薄荷饮片中掺杂留兰香,有的甚至用留兰香冒充薄荷,在外观性状上很难辨别两种药材,给消费者造成损失。薄荷中主要有效成分是薄荷脑,而留兰香的主要成分为香芹酮,几乎不含薄荷脑。因此,我们建立GC方法来测定清宣止咳颗粒中薄荷脑的含量,衡量清宣止咳颗粒生产中薄荷药材是否混杂有留兰香。鉴于实验测得3批次样品中薄荷脑含量的平均值为0.126 5 mg/g,以40%的限度设定为标准,即含量不得少于0.050 0 mg/g作为该制剂的质量标准,有利于提升清宣止咳颗粒的质量。

3.2 色谱柱的选择

色谱是一种分离分析手段,分离是核心。色谱柱的分离效果取决于所选择的固定相,以及色谱柱的制备和操作条件等。对色谱柱的要求是柱效高、选择性好、分析速度快等。本实验选择DB-FFAP弹性石英毛细管柱,其固定相为键合交联聚乙二醇,柱长25 m,柱内径0.32 mm,膜厚度0.5 μm。本实验根据需要分析的成分,结合薄荷脑的特点,选择了型号居中的柱长、内径、膜厚度。根据相似相溶的原理选择的固定相为键合交

联聚乙二醇。溶剂无水乙醇和交联聚乙二醇的性质相近流动阻力越大,保留时间越长,分离效果较好。

3.3 提取方法比较

一般中药颗粒剂中薄荷脑的提取方法有超声提取和回流提取。本实验采用超声提取与回流提取进行比较。精密称取同一批次样品粉末各10 g,精密加无水乙醇50 mL后,分别采用超声提取30 min,回流提取30 min,每个方法各3份,进样测定。结果超声法薄荷脑的平均含量为0.145 0 mg/g,回流提取法薄荷脑的平均含量为0.154 5 mg/g,结果表明回流法较超声法更优。因此,确定提取方法为回流法。

3.4 提取时间考察

精密称取同一批次样品粉末各10 g,精密加无水乙醇50 mL后,分别回流提取30、45、60 min,进样测定,测得样品中薄荷脑含量分别为0.157 7、0.152 3、0.151 3 mg/g。结果表明回流30 min时即可提取完全,因此确定提取时间为30 min。

本实验系统研究了GC法测定清宣止咳颗粒中薄荷脑含量的条件,从而建立了GC法测定清宣止咳颗粒中薄荷脑的方法,且进行了稳定性、精密度、加样回收率和重复性的实验。结果表明,该方法稳定性好、简便快捷、结果准确,可以用于测定清宣止咳颗粒中薄荷脑的含量。

参考文献:

[1] 张红,刘莹,李劲松.清宣止咳颗粒治疗小儿上呼吸道感染的效果[J].中国医药导报,2015,12(30):132-135.
[2] 郑媛,唐玲,李珊珊.清宣止咳颗粒治疗儿童急性上呼吸道感染的临床观察[J].中国医药导刊,2015,17(1):76-77.
[3] 周文菊,豆小文,杨美华,等.薄荷及其饮片质量控制研究进展[J].中国中药杂志,2016,41(9):1569-1577.
[4] 王菲菲,刘杰,何风艳,等.薄荷属3种植物及变种的性状鉴别、化学成分分析及DNA条形码研究比较[J].药学学报,2019,54(11):2083-2088.
[5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].2020年版(一部).北京:中国医药科技出版社,2015:221.
[6] 张皖晋,张春磊,葛海涛,等.清宣止咳颗粒挥发油原料药的化学成分鉴定[J].海峡药学,2019,31(9):62-65.
[7] 霍丽霞,鲁寅生,郭青,等.GC法测定银翘解毒系列制剂中薄荷脑、薄荷酮和胡薄荷酮[J].药物评价研究,2015,38(1):66-70.
[8] 王成云,张伟亚,李丽霞,等.气相色谱/质谱测定皮革及其制品中乙二醇醚类有机溶剂的残留量[J].色谱,2014,32(8):892-898.
[9] 刘泽干,雷攀,王莉博,等.基于气相色谱-质谱联用的小儿柴胡退热栓主要药效成分质量控制方法研究[J].儿科药科学杂志,2022,28(12):17-21.
[10] 刘斌.气相色谱法测定银柴颗粒中薄荷脑和薄荷酮含量[J].中国药业,2022,31(5):79-81.

(编辑:刘雄志)

(收稿日期:2022-11-28 修回日期:2023-07-26)