

GC-FID 法测定消癥丸中莪术酮、藁本内酯和 α -香附酮

李全, 戴晶晶, 王佳, 王恒斌*

雷允上药业集团有限公司, 江苏 苏州 215009

摘要: 目的 建立气相色谱-氢火焰离子化检测器 (GC-FID) 法同时测定消癥丸中莪术酮、藁本内酯和 α -香附酮的方法。方法 采用 HP-5MS 毛细管柱 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m), FID 检测器: 280 $^{\circ}$ C, 进样口温度 240 $^{\circ}$ C; 程序恒温 130 $^{\circ}$ C, 保持 45 min; 载气为 N₂, 柱体积流量 1.5 mL/min, 不分流模式; 进样量: 1 μ L。结果 莪术酮、藁本内酯、 α -香附酮分别在 1.684~168.400、2.496~249.600、2.180~218.000 μ g/mL 线性关系良好; 平均回收率分别为 97.98%、99.76%、96.06%, RSD 值分别为 1.62%、0.89%、1.29%。结论 该方法操作简单、重复性好, 可为评价消癥丸的质量控制提供依据。

关键词: 消癥丸; 莪术酮; 藁本内酯; α -香附酮; GC-FID

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2022)10-2239-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.10.010

Determination of curzerenone, ligustilide, and α -cyperone in Xiaozheng Pills by GC-FID

LI Quan, DAI Jing-jing, WANG Jia, WANG Heng-bin

Lei Yun Shang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Suzhou 215009, China

Abstract: Objective To establish a method for simultaneous determining of curzerenone, ligustilide, and α -cyperone in Xiaozheng Pills by GC-FID method. **Methods** The separation was carried out on HP-5MS column (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m). Detector was FID detector, and the detector temperature was 280 $^{\circ}$ C, and the inlet temperature was 240 $^{\circ}$ C. The program temperature was 130 $^{\circ}$ C for 45 min. The carrier gas was nitrogen, and the flow rate was 1.5 mL/min with splitless inlet. The injection volume was 1 μ L. **Results** The linear ranges of curzerenone, ligustilide, and α -cyperone were 1.684 — 168.400, 2.496 — 249.600, 2.180 — 218.000 μ g/mL, respectively. The average recoveries of curzerenone, ligustilide, and α -cyperone were 97.98%, 99.76%, and 96.06% with RSD values of 1.62%, 0.89%, and 1.29%, respectively. **Conclusion** The established method is simple and reproducible, which can be used for the quality control in Xiaozheng Pills.

Key words: Xiaozheng Pills; curzerenone; ligustilide; α -cyperone; GC-FID

消癥丸处方由柴胡、香附、大黄(酒炙)、青皮、川芎、莪术等 11 味中药组成, 具有舒肝行气、活血化瘀、软坚散结的功效, 主治气滞血瘀痰凝所致的乳腺增生病。临床研究显示, 消癥丸治疗乳腺增生具有良好的临床疗效^[1-3], 药理研究表明消癥丸还有一定防治黄褐斑形成的作用^[4]。目前对消癥丸的质量控制指标成分较单一, 主要是测定其臣药大黄中蒽醌类成分^[5]。为了更好地评价消癥丸的整体质量, 本研究采用气相色谱-氢火焰离子化检测器 (GC-FID) 建立同时测定消癥丸中莪术酮、藁本内酯和 α -

香附酮的方法, 以期对该制剂的质量控制提供更全面、可靠的方法, 为产品质量稳定性、临床用药有效性提供参考。

1 材料

GC-2010 型气相色谱仪、FID 检测器 (Shimadzu 公司); KH-600DE 型数控超声波清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司); XSE205 型万分之一电子分析天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); BS21S 型十万分之一电子分析天平 (德国 Sartorius); Merk 超纯水制备仪 (Millipore 公司); TG16-WS 台式高速离心

收稿日期: 2022-05-20

基金项目: 江苏省科技成果转化专项资金项目 (BA2012078)

作者简介: 李全, 工程师, 从事中药新药研发及中药大品种二次开发。E-mail: liquan@lys.cn

*通信作者: 王恒斌, 高级工程师, 从事中药新药研发及中药大品种二次开发。E-mail: wanghengbin@lys.cn

机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);调温电热器(南通市通州申通电热器厂制造);挥发油测定器、回流冷凝管装置(自制)。

藁本内酯(质量分数 $\geq 98\%$,批号 111737-201406)、 α -香附酮(质量分数 $\geq 98\%$,批号 110748-201714)对照品均购自中国食品药品检定研究院,莪术酮对照品(质量分数 $\geq 98\%$,批号 B30751)购自上海源叶生物科技有限公司。消癥丸(规格 0.2 g/丸,批号 OB38009、OB38010、PB38012、QB38001、QB38002、PB38004、PB38008、PB38001、PB38009、QB38004、QB38005)、莪术药材(批号 EZ19011)、当归药材(批号 DG19011)、川芎药材(批号 CX19011)、香附药材(批号:XF19011)均由雷允上药业集团有限公司提供。水为纯化水,其他所用化学试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 HP-5MS 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m),FID 检测器:280 $^{\circ}$ C,进样口温度 240 $^{\circ}$ C;程序恒温 130 $^{\circ}$ C,保持 45 min;载气为 N₂,柱体积流量 1.5 mL/min,不分流模式;进样量:1 μ L。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备 分别精密称取莪术酮、藁本内酯和 α -香附酮对照品适量,加醋酸乙酯溶解,定容,配制成一定质量浓度的对照品储备

液。分别精密量取上述各对照品储备液适量,配制成含莪术酮、藁本内酯、 α -香附酮 168.40、249.60、218.00 μ g/mL 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取消癥丸 20 丸,精密称重,置于玻璃研钵中,加入少量水,浸泡过夜,适当研细后,加入 400 mL 水全部转移至圆底烧瓶中,共水蒸馏提取。参照《中国药典》2020 年版四部通则 2204 挥发油测定法(甲法)^[6],连好提取装置后,自提取器上端加入 2 mL 醋酸乙酯溶液,加热回流提取 3 h,冷却,另器收集提取器中醋酸乙酯层溶液,并以醋酸乙酯充分洗涤测定器,合并收集的醋酸乙酯液和洗涤液,用无水硫酸钠脱水,定容至 10 mL,即得。

称取莪术、当归、川芎、香附药材适量,按消癥丸处方用量、制备工艺分别制备缺莪术、当归、川芎、香附和同时缺川芎和当归的阴性样品,分别按照上述方法制备阴性样品溶液。

2.3 线性关系试验

分别精密吸取混合对照品贮备液 0.1、0.25、0.5、1、2.5 mL,置于 10 mL 量瓶中,加醋酸乙酯稀释并加至刻度,摇匀,制备成一系列的对照品溶液。分别进样,测定莪术酮、藁本内酯和 α -香附酮的峰面积。以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,计算得回归方程,见表 1。结果表明莪术酮、藁本内酯和 α -香附酮在相应的质量浓度范围内呈现良好的线性关系。

表 1 回归方程和线性范围

Table 1 Regression equations and linear ranges

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
莪术酮	$Y=12\ 431 X+28\ 487$	0.999 2	1.684~168.400
藁本内酯	$Y=15\ 111 X-33\ 217$	0.999 5	2.496~249.600
α -香附酮	$Y=18\ 117 X+44\ 207$	0.999 5	2.180~218.000

2.4 专属性试验

精密吸取阴性样品溶液、消癥丸供试品溶液(批号 PB38001)和对照品溶液各 1 μ L,注入气相色谱仪,所得色谱图见图 1。结果表明样品溶液中莪术酮、藁本内酯和 α -香附酮测定时阴性样品溶液均无干扰。

2.5 精密度试验

取批号 PB38001 消癥丸样品,制备供试品溶液,精密吸取 1 μ L,连续进样 6 次,计算得莪术酮、

藁本内酯和 α -香附酮峰面积的 RSD 值分别为 0.62%、0.68%、0.90%。

2.6 稳定性试验

精密吸取同一消癥丸供试品溶液(批号 PB38001),分别于 0、2、4、8、12、18、24 h 进样测定,记录莪术酮、藁本内酯和 α -香附酮的峰面积,计算得其 RSD 值分别为 2.11%、1.43%、1.56%,结果表明供试品溶液中莪术酮、藁本内酯和 α -香附酮在 24 h 内具有良好的稳定性。

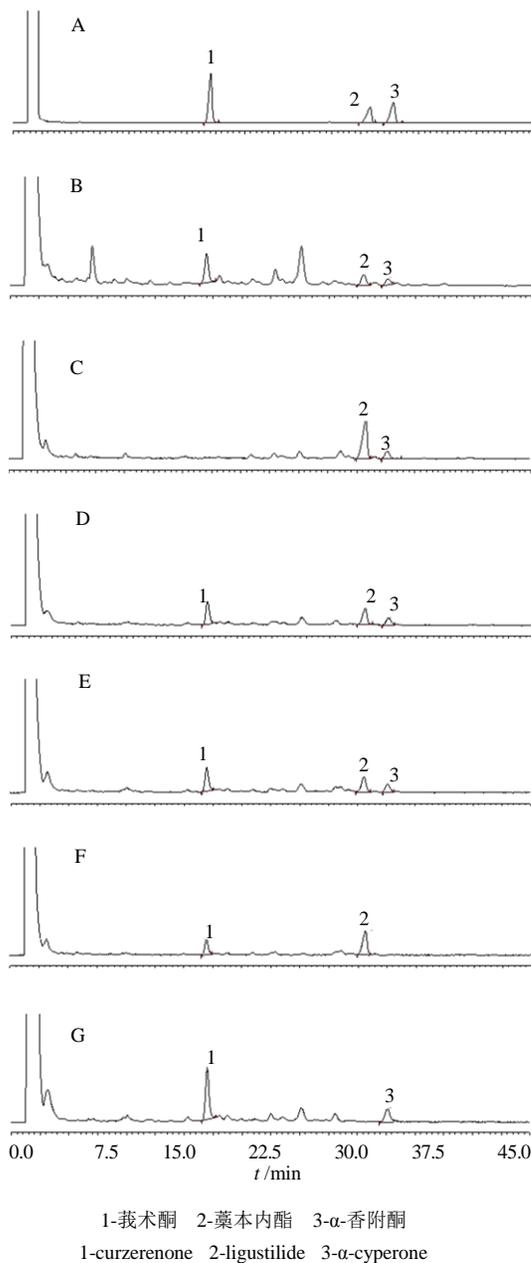


图 1 混合对照品 (A)、消癥丸 (B)、缺莪术阴性样品 (C)、缺川芎阴性样品 (D)、缺当归阴性样品 (E)、缺香附阴性样品 (F)、缺当归和川芎阴性样品 (G) 的 GC 图谱

Fig. 1 GC chromatograms of mixed reference substances (A), Xiaozheng Pills (B), negative sample without *Curcumae Rhizoma* (C), negative sample without *Chuanxiong Rhizoma* (D), negative sample without *Angelicae Sinensis Radix* (E), negative sample without *Cyperi Rhizoma* (F), negative sample without *Angelicae Sinensis Radix* and *Chuanxiong Rhizoma* (G)

2.7 重复性试验

取同一批消癥丸样品 (批号 PB38001) 7 份,

制备供试品溶液, 精密吸取 1 μL 注入气相色谱仪, 计算得莪术酮、藜芦内酯和 α -香附酮的平均质量分数分别为 53.974、35.915、13.678 $\mu\text{g/g}$, RSD 值分别为 2.66%、2.93%、2.48%。

2.8 回收率试验

取同一批消癥丸样品 (批号 PB38001) 6 份, 每份 10 粒, 精密称定, 精密加入含莪术酮、藜芦内酯、 α -香附酮 0.1210、0.1164、0.0786 mg/mL 的混合对照品溶液 1 mL , 制备供试品溶液, 精密吸取上述溶液 1 μL , 测定, 计算回收率, 结果莪术酮、藜芦内酯和 α -香附酮的平均回收率分别为 97.98%、99.76%、96.06%, RSD 值分别为 1.62%、0.89%、1.29%。

2.9 样品测定

取 11 批消癥丸样品, 制备供试品溶液, 进行测定, 记录莪术酮、藜芦内酯、 α -香附酮的峰面积值, 采用标准曲线法计算莪术酮、藜芦内酯、 α -香附酮的质量分数, 结果见表 2。

表 2 消癥丸中莪术酮、藜芦内酯和 α -香附酮的测定结果 ($n=3$)

批号	质量分数/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$		
	莪术酮	藜芦内酯	α -香附酮
OB38009	53.198	33.052	17.456
OB38010	108.074	37.466	11.121
PB38012	24.554	35.690	30.342
QB38001	18.406	21.898	24.474
QB38002	26.779	20.361	26.575
PB38004	56.614	47.590	9.646
PB38008	53.052	30.847	14.852
PB38001	54.902	34.915	13.986
PB38009	70.362	23.362	35.037
QB38004	25.906	33.901	34.464
QB38005	26.726	32.331	22.552

3 讨论

消癥丸处方中药味多, 成分复杂, 现有定量控制指标仅为大黄中的蒽醌类成分, 不能完全衡量产品的质量。消癥丸中挥发性成分为活性成分, 采用环糊精包合, 并作为药效组分进行定量控制。本研究选择莪术酮、 α -香附酮、藜芦内酯作为挥发油指标成分进行研究。实验采用 GC-FID 法在同一色谱

条件下同时测定了消癥丸中莪术酮、 α -香附酮、藁本内酯。该方法操作简单、重复性好,可为评价消癥丸的质量控制提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 温海辉, 黄文斌, 蓝进, 等. 消癥丸治疗气滞血瘀痰凝型乳腺增生的安全性和有效性 [J]. 中国现代药物应用, 2021, 15(10): 24-26.
- [2] 刘杨, 王文斌, 缪文青, 等. 消癥丸治疗乳腺增生病的临床研究 [J]. 中医药信息, 2016, 33(4): 93.
- [3] 余红, 樊英怡, 刘宇飞, 等. 消癥丸治疗气滞血瘀痰凝型乳腺增生病的临床研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(8): 136-139.
- [4] 吕高虹, 许惠琴, 沈培亮, 等. 消癥丸对小鼠黄褐斑模型的作用及机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(22): 157-160.
- [5] 赵晓莉, 贡磊. HPLC 同时测定消癥丸中柴胡皂苷 a、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚和橙皮苷 [J]. 南京中医药大学学报, 2013, 29(6): 579-581.
- [6] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 233.

[责任编辑 解学星]