

红核妇洁洗液 GC 指纹图谱的建立及多成分定量测定

林 林¹, 顾国强², 崔巧红², 麻明亮², 林永强^{1*}

1. 山东省食品药品检验研究院, 山东 济南 250101

2. 山东步长制药股份有限公司, 山东 菏泽 274000

摘要: **目的** 建立红核妇洁洗液 GC 指纹图谱, 并同时测定其中 9 种成分的含量。 **方法** 采用 DB-5 毛细管柱 (30 m×0.32 mm, 1.5 μm), 程序升温, 以愈创木酚为参照峰, 建立 20 批样品的 GC 指纹图谱, 同时测定糠醛、5-酮基己腈、愈创木酚、5-甲基愈创木酚、4-甲基愈创木酚、3-甲氧基邻苯二酚、4-乙基愈创木酚、2,6-二甲氧基苯酚、2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚的含量。 **结果** 建立了红核妇洁洗液 GC 指纹图谱, 共标定 13 个共有峰, 20 批样品相似度均在 0.90 以上, 精密性、重复性和稳定性试验中相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均小于 2%。其中糠醛、5-酮基己腈、愈创木酚、5-甲基愈创木酚、4-甲基愈创木酚、3-甲氧基邻苯二酚、4-乙基愈创木酚、2,6-二甲氧基苯酚和 2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚分别在 0.059 7~5.966 6 μg、0.004 6~0.463 7 μg、0.017 4~1.736 6 μg、0.004 1~0.409 9 μg、0.013 9~1.386 4 μg、0.006 5~0.645 5 μg、0.007 5~0.746 7 μg、0.021 8~2.181 9 μg 和 0.017 1~1.710 6 μg 进样量与色谱峰面积呈良好线性响应; 平均回收率分别为 99.9%、98.8%、99.6%、99.3%、99.6%、99.4%、99.3%、99.5%、99.0%; RSD 分别为 0.07%、0.41%、0.18%、0.72%、0.37%、0.62%、0.44%、0.48%、0.52%。20 批样品中糠醛、5-酮基己腈、愈创木酚、5-甲基愈创木酚、4-甲基愈创木酚、3-甲氧基邻苯二酚、4-乙基愈创木酚、2,6-二甲氧基苯酚和 2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚的质量浓度分别为 5.376~6.265 mg/mL、0.418~0.487 mg/mL、1.565~1.824 mg/mL、0.369~0.431 mg/mL、1.248~1.455 mg/mL、0.582~0.678 mg/mL、0.673~0.784 mg/mL、1.966~2.291 mg/mL、1.541~1.797 mg/mL。 **结论** 该方法简单、准确、重复性好, 可用于红核妇洁洗液的质量控制和评价。

关键词: 红核妇洁洗液; GC; 指纹图谱; 糠醛; 5-酮基己腈; 愈创木酚; 5-甲基愈创木酚; 4-甲基愈创木酚; 3-甲氧基邻苯二酚; 4-乙基愈创木酚; 2,6-二甲氧基苯酚; 2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)16-3833-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.16.014

GC fingerprint of Honghe Fujie Lotion and content determination of multi-components

LIN Lin¹, GU Guo-qiang², CUI Qiao-hong², MA Ming-liang², LIN Yong-qiang¹

1. Shandong Provincial Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China

2. Shandong Buchang Pharmaceutical Co., Ltd., Heze 274000, China

Abstract: Objective To establish the GC fingerprint of Honghe Fujie Lotion (HFL) and determine the content of nine constituents. **Methods** The analysis of HFL was performed on a column of DB-5 capillary column (30 m × 0.32 mm, 1.5 μm) with temperature programming, the GC fingerprint of 20 batches of samples were established with guaiacol as a reference peak; And the content of furfural, 5-ketohexonitrile, guaiacol, 5-methylguaiacol, 4-methylguaiacol, 3-methoxycatechol, 4-ethylguaiacol, and 2,6-dimethoxy phenol and 2,6-dimethoxy-4-methylphenol was determined. **Results** The GC fingerprint of HFL was set up with 13 common peaks, and the similar degrees of all samples were over 0.90, the RSD values of relative retention time and relative peak area in precision, repeatability and stability tests were all less than 2%. The linear ranges of furfural, 5-ketohexonitrile, guaiacol, 5-methylguaiacol, 4-methylguaiacol, 3-methoxycatechol, 4-ethylguaiacol, 2,6-dimethoxy phenol, and 2,6-dimethoxy-4-methylphenol fell within the range of 0.059 7—5.966 6 μg, 0.004 6—0.463 7 μg, 0.017 4—1.736 6 μg, 0.004 1—0.409 9 μg, 0.013 9—1.386 4 μg, 0.006 5—0.645 5 μg, 0.007 5—0.746 7 μg, 0.021 8—2.181 9 μg, and 0.017 1—1.710 6 μg, respectively. The recoveries were 99.9%, 98.8%, 99.6%, 99.3%,

收稿日期: 2019-04-09

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2013HM074)

作者简介: 林 林 (1980—), 女, 副主任药师, 硕士, 研究方向为中药质量评价及质量标准研究。Tel: (0531)81216523 E-mail: linlinsfda@163.com

*通信作者 林永强 (1975—), 男, 主任药师, 博士, 主要从事中药质量评价及质量标准研究。Tel: (0531)81216521 E-mail: 13864067104@163.com

99.6%, 99.4%, 99.3%, 99.5%, and 99.0%, respectively. The relative standard deviations were 0.07%, 0.41%, 0.18%, 0.72%, 0.37%, 0.62%, 0.44%, 0.48%, and 0.52%, respectively. The content of twenty samples of furfural, 5-ketohexonitrile, guaiacol, 5-methylguaiacol, 4-methylguaiacol, 3-methoxycatechol, 4-ethylguaiacol, 2,6-dimethoxy phenol, and 2,6-dimethoxy-4-methylphenol was 5.376—6.265, 0.418—0.487, 1.565—1.824, 0.369—0.431, 1.248—1.455, 0.582—0.678, 0.673—0.784, 1.966—2.291, 1.541—1.797 mg/mL. **Conclusion** The established method is simple, accurate, and reproducible, which can be used for the quality control and evaluation of HFL.

Key words: Honghe Fujie Lotion; GC; fingerprint; furfural; 5-ketohexonitrile; guaiacol; 5-methylguaiacol; 4-methylguaiacol; 3-methoxycatechol; 4-ethylguaiacol; 2,6-dimethoxy phenol; 2,6-dimethoxy-4-methylphenol

红核妇洁洗液 (Honghe Fujie Lotion, HFL) 为山楂核干馏液制成的单方制剂, 具有解毒祛湿, 杀虫止痒的功效, 主要用于湿毒下注之阴痒、带下^[1]; 霉菌性阴道炎和非特异性阴道炎见上述证候者。现行质量标准收载于《国家药品标准新药转正标准》第33册^[2], 检验项目包括愈创木酚的薄层色谱鉴别项, 糠醛和愈创木酚的气相色谱 (GC) 含量测定项, 以及常规检查项。据文献报道, 糠醛对皮肤、黏膜具有刺激性, HFL 的不良反应与该成分存在较大的相关性; 而仅愈创木酚一项无法全面反映 HFL 的质量。

中药指纹图谱作为一种整体控制指标, 可以比较全面地反映药品的质量, 在中药制剂的质量评价中被广泛应用^[3-12]。本实验采用 GC 法建立 HFL 的指纹图谱, 标定 13 个共有峰, 采用对照品比对, 确定其中糠醛、5-酮基己腈、愈创木酚、5-甲基愈创木酚、4-甲基愈创木酚、3-甲氧基邻苯二酚、4-乙基愈创木酚、2,6-二甲氧基苯酚、2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚 9 个成分, 并采用 GC 法测定其含量^[13-15]。该方法简单准确、重复性好, 可用于 HFL 的质量控制和评价。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 7890B 气相色谱仪, FID 检测器, 美国 Agilent 公司; Q-Exactive GC 高分辨气相色谱质谱联用仪, NIST 数据库, 美国 Thermo Fisher 公司; Mettler Toledo XSE205 电子天平, 瑞士梅特勒公司。

1.2 试剂与样品

对照品愈创木酚 (批号 111510-201804) 购于中国食品药品检定研究院; 对照品糠醛 (批号 G142918) 购于德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司; 对照品 5-甲基愈创木酚 (批号 H1615051) 购于 Aladdin; 对照品 5-酮基己腈 (批号 3EFCG-BL)、3-甲氧基邻苯二酚 (批号 JDCTH-GO) 和 2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚 (批号 6NYBM-GD) 购于梯希爱

(上海) 仁成工业发展有限公司 (TCI); 对照品 4-甲基愈创木酚 (批号 B13A9D58772)、4-乙基愈创木酚 (批号 Y03M8C30736) 和 2,6-二甲氧基苯酚 (批号 Y25D8C51235) 购于上海源叶生物科技有限公司; 各对照品质量分数均大于 98%; 乙醇为色谱纯。

HFL 样品由步长神州制药有限公司提供, 共 20 批, 批号分别为 170901、170902、171105、171106、171107、171109、171110、180307、180308、180309、160520、160521、170903、171024、171021、171033、171036、171039、180201、180202, 分别编号为 S1~S20。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

DB-5 毛细管柱 (30 m×0.32 mm, 1.5 μm), 升温程序为初始温度 60 °C, 以 3 °C/min 的升温速率升温至 90 °C, 保持 4 min, 再以 10 °C/min 的升温速率升温至 120 °C, 保持 8 min, 以 5 °C/min 的升温速率升温至 180 °C, 保持 11 min, 再以 40 °C/min 的升温速率升温至 300 °C, 保持 12 min; 进样口温度 280 °C; 检测器温度 300 °C; 分流进样, 分流比 10:1。

2.2 溶液配制

2.2.1 混合对照品溶液的制备 分别精密称取糠醛、5-酮基己腈、愈创木酚、5-甲基愈创木酚、4-甲基愈创木酚、3-甲氧基邻苯二酚、4-乙基愈创木酚、2,6-二甲氧基苯酚、2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚适量, 加乙醇制得质量浓度分别为 5.966 6、0.463 7、1.736 6、0.409 9、1.386 4、0.645 5、0.746 7、2.181 9、1.710 6 mg/mL 的混合溶液, 作为混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取 HFL 样品适量, 混匀, 精密量取 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。

2.3 GC 指纹图谱

2.3.1 指纹图谱的建立 取 20 批 HFL 样品 (S1~S20), 按照“2.2.2”项方法制备, 在“2.1”项色

谱条件下测定,将得到的色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 年版),以 S1 为参照图谱,自动匹配 20 批指纹图谱(采用多点校正),拟合得到 HFL GC 指纹图谱的共有模式(平均值法)。

以 80%以上样品中存在的色谱峰作为共有峰筛选条件,根据匹配结果确定 13 个共有峰,并生成对照指纹图谱。在共有峰中,6 号峰位置居中,分离度及对称性均良好,确定为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间(表 1)和相对峰面积(表 2)。S1~S20 指纹图谱及其对照指纹图谱(R)见图 1。

2.3.2 精密度试验 取供试品溶液(S1),连续进样 6 次,在“2.1”项色谱条件下进行测定,记录色谱图。以 6 号峰为参照峰,计算色谱图中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果,各共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.03%~0.06%,相对峰面积的 RSD 为 0.79%~1.88%,表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性试验 取同一批样品(S1),按照

“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进行测定,记录色谱图。以 6 号峰为参照峰,计算色谱图中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果,各共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.01%~0.03%,相对峰面积的 RSD 为 0.78%~1.84%,表明方法重复性良好。

2.3.4 稳定性试验 取同一供试品溶液(S1),分别于 0、2、4、8、12、24 h,在“2.1”项色谱条件下进行测定,记录色谱图。以 6 号峰为参照峰,计算色谱图中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果,各共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.01%~0.06%,相对峰面积的 RSD 为 0.57%~1.90%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.3.5 样品相似度评价 采用国家药典委员会《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 年版)对 20 批 HFL 的指纹图谱进行相似度评价。20 批样品的指纹图谱相似度分别为 0.927、0.953、0.942、1.000、0.999、0.979、0.995、0.988、0.997、0.986、

表 1 20 批样品共有峰相对保留时间

Table 1 Relative retention time of 13 common chromatographic peaks of 20 samples

样品	相对保留时间												
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6 (S)	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12	峰 13
S1	0.238	0.360	0.476	0.645	0.835	1.000	1.194	1.206	1.314	1.337	1.429	1.578	1.630
S2	0.237	0.360	0.477	0.644	0.835	1.000	1.194	1.205	1.313	1.337	1.431	1.579	1.631
S3	0.238	0.360	0.476	0.645	0.835	1.000	1.195	1.205	1.313	1.337	1.429	1.579	1.631
S4	0.237	0.360	0.477	0.644	0.835	1.000	1.195	1.206	1.314	1.337	1.431	1.579	1.631
S5	0.237	0.361	0.477	0.645	0.835	1.000	1.194	1.206	1.313	1.338	1.429	1.578	1.631
S6	0.238	0.360	0.476	0.644	0.835	1.000	1.195	1.205	1.313	1.337	1.431	1.579	1.632
S7	0.237	0.360	0.475	0.645	0.835	1.000	1.194	1.205	1.314	1.337	1.429	1.579	1.631
S8	0.238	0.361	0.476	0.644	0.835	1.000	1.195	1.206	1.314	1.338	1.431	1.580	1.631
S9	0.238	0.360	0.476	0.645	0.836	1.000	1.195	1.205	1.314	1.337	1.431	1.579	1.631
S10	0.237	0.360	0.477	0.644	0.835	1.000	1.194	1.205	1.313	1.338	1.430	1.579	1.631
S11	0.238	0.361	0.476	0.645	0.835	1.000	1.195	1.205	1.314	1.338	1.430	1.579	1.632
S12	0.237	0.361	0.477	0.645	0.834	1.000	1.194	1.206	1.314	1.338	1.430	1.578	1.631
S13	0.237	0.360	0.476	0.645	0.836	1.000	1.195	1.205	1.313	1.338	1.430	1.579	1.632
S14	0.238	0.360	0.475	0.645	0.835	1.000	1.194	1.206	1.314	1.337	1.429	1.579	1.631
S15	0.237	0.361	0.477	0.645	0.835	1.000	1.196	1.206	1.313	1.338	1.431	1.579	1.631
S16	0.238	0.360	0.477	0.646	0.836	1.000	1.194	1.205	1.313	1.338	1.431	1.579	1.631
S17	0.237	0.361	0.476	0.645	0.835	1.000	1.195	1.205	1.313	1.337	1.429	1.578	1.631
S18	0.238	0.360	0.475	0.646	0.835	1.000	1.195	1.206	1.314	1.338	1.431	1.580	1.632
S19	0.237	0.361	0.475	0.645	0.835	1.000	1.194	1.205	1.313	1.337	1.430	1.578	1.631
S20	0.238	0.360	0.476	0.645	0.835	1.000	1.195	1.206	1.314	1.339	1.430	1.580	1.632
RSD/%	0.13	0.09	0.13	0.08	0.05	0.00	0.05	0.03	0.04	0.04	0.05	0.04	0.04

表2 20批样品共有峰相对峰面积

Table 2 Relative peaks areas of 13 common chromatographic peaks of 20 samples

样品	相对峰面积												
	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6(S)	峰7	峰8	峰9	峰10	峰11	峰12	峰13
S1	0.952	0.390	2.893	0.252	0.350	1.000	0.285	0.875	0.242	0.496	1.065	0.871	0.734
S2	0.942	0.396	2.902	0.257	0.360	1.000	0.294	0.861	0.242	0.511	1.094	0.859	0.758
S3	0.933	0.397	2.901	0.259	0.369	1.000	0.293	0.891	0.249	0.514	1.084	0.883	0.726
S4	0.925	0.386	2.793	0.253	0.347	1.000	0.287	0.874	0.244	0.497	1.061	0.868	0.736
S5	0.929	0.381	2.784	0.248	0.354	1.000	0.286	0.855	0.240	0.503	1.054	0.859	0.733
S6	0.931	0.381	2.779	0.248	0.352	1.000	0.286	0.879	0.239	0.503	1.050	0.873	0.728
S7	0.935	0.390	2.850	0.253	0.355	1.000	0.288	0.872	0.243	0.506	1.070	0.869	0.731
S8	0.927	0.391	2.904	0.251	0.357	1.000	0.283	0.873	0.244	0.497	1.062	0.864	0.732
S9	0.932	0.394	2.900	0.256	0.358	1.000	0.292	0.864	0.241	0.508	1.086	0.862	0.755
S10	0.933	0.392	2.901	0.258	0.361	1.000	0.291	0.886	0.247	0.521	1.091	0.881	0.734
S11	0.925	0.384	2.807	0.252	0.352	1.000	0.285	0.877	0.243	0.499	1.068	0.864	0.741
S12	0.929	0.383	2.884	0.247	0.354	1.000	0.284	0.859	0.242	0.506	1.054	0.869	0.726
S13	0.931	0.386	2.879	0.249	0.355	1.000	0.288	0.861	0.238	0.504	1.063	0.863	0.728
S14	0.940	0.394	2.843	0.251	0.351	1.000	0.287	0.870	0.242	0.507	1.072	0.866	0.736
S15	0.956	0.397	2.884	0.250	0.348	1.000	0.285	0.879	0.244	0.496	1.066	0.861	0.739
S16	0.947	0.392	2.836	0.256	0.359	1.000	0.291	0.864	0.246	0.504	1.086	0.869	0.748
S17	0.936	0.393	2.884	0.257	0.362	1.000	0.292	0.888	0.245	0.512	1.091	0.873	0.727
S18	0.922	0.384	2.896	0.255	0.349	1.000	0.283	0.876	0.243	0.493	1.083	0.872	0.739
S19	0.928	0.391	2.881	0.246	0.356	1.000	0.287	0.867	0.241	0.513	1.056	0.869	0.723
S20	0.937	0.388	2.873	0.249	0.353	1.000	0.281	0.873	0.237	0.508	1.058	0.863	0.728
RSD/%	0.96	1.33	1.48	1.54	1.51	0.00	1.28	1.12	1.18	1.43	1.33	0.76	1.30

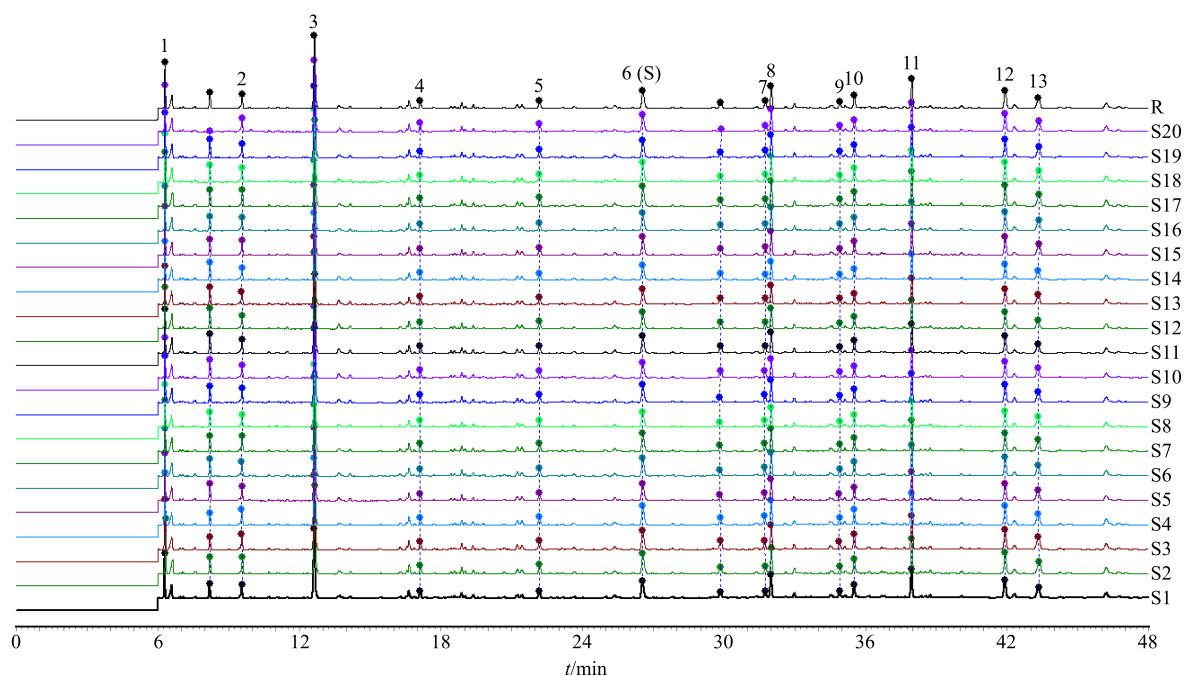


图1 20批HFL GC指纹图谱及其对照指纹图谱(R)

Fig. 1 Fingerprint of 20 batches of HFL and its reference fingerprint (R)

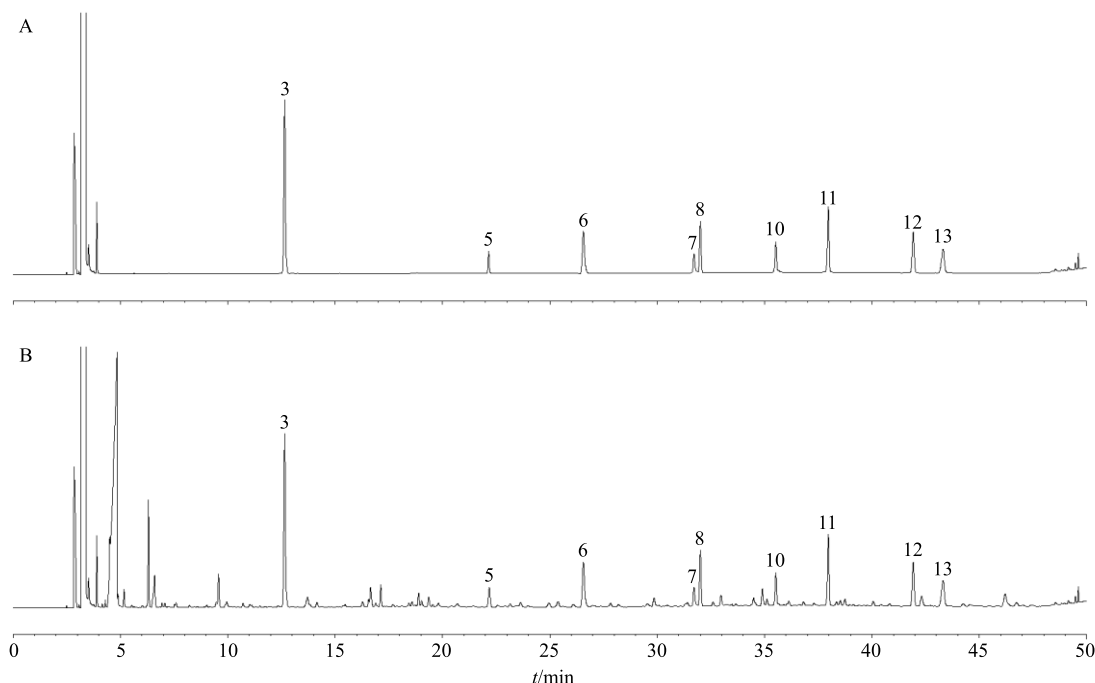
0.998、0.968、0.989、0.958、0.962、0.939、0.998、0.921、0.993、0.979, 表明 HFL 的质量比较稳定。

2.4 多成分定量测定

2.4.1 色谱图的建立 按“2.1”项下色谱条件进行

测定, 分析混合对照品溶液、供试品溶液。结果表明相邻色谱峰分离度均较好, 混合对照品溶液和 HFL 供试品溶液的色谱图见图 2。

2.4.2 线性关系考察 分别取“2.2.1”项下混合对



3-糠醛 5-5-酮基己腈 6-愈创木酚 7-5-甲基愈创木酚 8-4-甲基愈创木酚 10-3-甲氧基邻苯二酚 11-4-乙基愈创木酚 12-2,6-二甲氧基苯酚 13-2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚
3-furfural 5-5-ketohexonitrile 6-guaiacol 7-5-methylguaiacol 8-4-methylguaiacol 10-3-methoxycatechol 11-4-ethylguaiacol 12-2,6-dimethoxy phenol 13-2,6-dimethoxy-4-methylphenol

图 2 混合对照品 (A) 和 HFL 供试品 (B) GC 图谱

Fig. 2 GC of mixed reference substances (A) and HFL (B)

照品储备溶液 1 mL, 置 1、5、10、25、50、100 mL 量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀, 得到系列质量浓度的对照品溶液。分别进样 1 μ L, 由进样量 (C) 对峰面积 (A) 求得工作曲线, 得到回归方程分别为糠醛 $A=1\ 210.82\ C-535.18$, $r=1.000\ 0$, 线性范围 0.059 7~5.966 6 μ g; 5-酮基己腈 $A=1\ 193.78\ C-629.90$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 4.6~463.7 ng; 愈创木酚 $A=1\ 101.09\ C+11.02$, $r=1.000\ 0$, 线性范围 0.017 4~1.736 6 μ g; 5-甲基愈创木酚 $A=993.12\ C+519.63$, $r=1.000\ 0$, 线性范围 4.1~409.9 ng; 4-甲基愈创木酚 $A=1\ 010.17\ C+396.34$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 0.013 9~1.386 4 μ g; 3-甲氧基邻苯二酚 $A=1\ 005.07\ C-751.59$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 6.5~645.5 ng; 4-乙基愈创木酚 $A=991.97\ C+476.60$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 7.5~746.7 ng; 2,6-二甲氧基苯酚 $A=1\ 210.82\ C-583.75$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 0.021 8~2.181 9 μ g; 2,6-二甲氧基-4-甲基

苯酚 $A=1\ 165.62\ C-415.33$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 0.017 1~1.710 6 μ g。

2.4.3 精密度试验 取“2.2.1”项下混合对照品储备溶液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀, 得到精密度试验溶液。分别进样 1 μ L, 连续进样 6 次, 计算糠醛、5-酮基己腈、愈创木酚、5-甲基愈创木酚、4-甲基愈创木酚、3-甲氧基邻苯二酚、4-乙基愈创木酚、2,6-二甲氧基苯酚和 2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚 9 个成分峰面积响应值的 RSD, 结果分别为 0.25%、0.14%、0.36%、0.54%、0.64%、0.68%、0.49%、0.72%、0.92%。结果表明仪器精密度良好。

2.4.4 稳定性试验 取 HFL 样品 (S1), 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、12、24 h, 在“2.1”项色谱条件下进行测定, 计算糠醛、5-酮基己腈、愈创木酚、5-甲基愈创木酚、4-甲基愈创木酚、3-甲氧基邻苯二酚、4-乙基愈创木酚、2,6-

二甲氧基苯酚和 2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚 9 个成分峰面积响应值的 RSD, 结果分别为 1.29%、0.85%、0.98%、0.72%、1.27%、0.92%、0.93%、1.05%、1.67%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定, 可以满足测定需要。

2.4.5 重复性试验 取 HFL 样品(S1), 按照“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进行测定, 计算糠醛、5-酮基己腈、愈创木酚、5-甲基愈创木酚、4-甲基愈创木酚、3-甲氧基邻苯二酚、4-乙基愈创木酚、2,6-二甲氧基苯酚和 2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚 9 个成分质量浓度的 RSD, 结果分别为 0.82%、0.54%、0.77%、0.36%、1.02%、0.84%、0.71%、1.22%、1.08%。结果表明该测定方法重复性良好。

2.4.6 加样回收试验 取已测得含量的 HFL (S1), 精密量取 6 份, 每份 0.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 精密加入“2.2.1”项下混合对照品储备溶液适量, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 依法测定, 并计

算 9 个成分的回收率及 RSD。结果, 糠醛、5-酮基己腈、愈创木酚、5-甲基愈创木酚、4-甲基愈创木酚、3-甲氧基邻苯二酚、4-乙基愈创木酚、2,6-二甲氧基苯酚和 2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚平均回收率分别为 99.9%、98.8%、99.6%、99.3%、99.6%、99.4%、99.3%、99.5%、99.0%; RSD 分别为 0.07%、0.41%、0.18%、0.72%、0.37%、0.62%、0.44%、0.48%、0.52%。

2.4.7 样品测定 取 20 批 HFL 样品, 按照“2.1”项色谱条件进行定量测定, 结果见表 3。20 批样品中糠醛、5-酮基己腈、愈创木酚、5-甲基愈创木酚、4-甲基愈创木酚、3-甲氧基邻苯二酚、4-乙基愈创木酚、2,6-二甲氧基苯酚和 2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚的质量浓度分别为 5.376~6.265 mg/mL、0.418~0.487 mg/mL、1.565~1.824 mg/mL、0.369~0.431 mg/mL、1.248~1.455 mg/mL、0.582~0.678 mg/mL、0.673~0.784 mg/mL、1.966~2.291 mg/mL、1.541~1.797 mg/mL, 其中糠醛含量最高。结果表明该企业的产品质量较为稳定。

表 3 HFL 样品中 9 种成分的测定结果 ($n=3$)

Table 3 Results of content determination of nine constituents ($n=3$)

批号	质量分数/(mg·mL ⁻¹)								
	糠醛	5-酮基己腈	愈创木酚	5-甲基愈创木酚	4-甲基愈创木酚	3-甲氧基邻苯二酚	4-乙基愈创木酚	2,6-二甲氧基苯酚	2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚
170901	5.967	0.469	1.719	0.410	1.386	0.646	0.747	2.182	1.711
170902	5.669	0.441	1.650	0.394	1.331	0.639	0.727	2.096	1.643
171105	5.807	0.456	1.685	0.402	1.358	0.633	0.732	2.138	1.677
171106	6.027	0.464	1.754	0.423	1.429	0.629	0.718	2.204	1.694
171107	6.202	0.487	1.806	0.427	1.455	0.678	0.754	2.041	1.797
171109	5.490	0.427	1.618	0.369	1.291	0.594	0.673	2.007	1.574
171110	5.435	0.423	1.582	0.373	1.261	0.588	0.680	1.986	1.665
180307	5.639	0.438	1.641	0.387	1.310	0.627	0.739	2.062	1.617
180308	5.907	0.455	1.737	0.406	1.362	0.635	0.734	2.145	1.682
180309	5.612	0.437	1.625	0.386	1.304	0.608	0.703	2.052	1.609
160520	5.790	0.450	1.690	0.398	1.344	0.610	0.725	2.117	1.660
160521	6.152	0.478	1.791	0.414	1.400	0.666	0.770	2.250	1.764
170903	6.265	0.482	1.824	0.431	1.440	0.671	0.776	2.160	1.739
171024	5.430	0.422	1.581	0.373	1.262	0.588	0.680	1.987	1.558
171021	5.376	0.418	1.565	0.377	1.248	0.582	0.687	1.966	1.541
171033	5.583	0.434	1.634	0.383	1.297	0.604	0.699	2.291	1.601
171036	5.848	0.459	1.702	0.399	1.348	0.652	0.710	2.124	1.557
171039	5.556	0.433	1.598	0.382	1.275	0.602	0.696	2.031	1.593
180201	5.732	0.446	1.668	0.390	1.317	0.621	0.784	2.073	1.625
180202	5.866	0.451	1.707	0.403	1.372	0.614	0.706	2.268	1.728

3 讨论

在色谱条件的建立及色谱柱的选择中^[16-17], 分别尝试了非极性 (DB-1)、弱极性 (DB-5)、中等极性 (DB-624) 以及强极性 (DB-FFAP、DB-INNOWAX) 毛细管色谱柱进行多种程序升温条件的试验, 结果优选文中色谱条件和弱极性的 DB-5 毛细管柱。在确定的色谱条件下, 主要色谱峰均可以达到有效分离, 色谱行为较为理想。

在供试品制备方法的考察中^[18], 曾分别以不同溶剂 (乙醇、醋酸乙酯), 不同提取方式 (混匀、超声) 进行了考察, 结果无显著差异, 考虑到待测成分 (醛类、酮类和酚类) 的化学性质, 最终确定以乙醇作为溶剂, 稀释后混匀即可; 考察了不同的料液比 1:5、1:10、1:25、1:50, 综合考虑提取效率以及经济指标, 选择供试品制备中料液比为 1:10。

采用高分辨气相色谱-质谱联用仪, 结合 NIST 数据库, 对指纹图谱中全部色谱峰进行推测, 综合 20 批样品的色谱行为, 选择 13 个峰作为共有峰, 共有峰的峰面积占全部色谱峰面积和 85% 以上。在含量测定的成分选择中, 鉴于中药作用机制的复杂性, 选择了醛类、酮类和酚类 3 类成分进行定量控制, 其中糠醛、5-酮基己腈、愈创木酚、5-甲基愈创木酚、4-甲基愈创木酚、3-甲氧基邻苯二酚、4-乙基愈创木酚、2,6-二甲氧基苯酚和 2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚响应较强, 故选择该 9 个成分作为控制指标, 进行含量测定以客观反映 HFL 的质量^[19-20]。

本实验建立了 HFL 的 GC 指纹图谱, 13 个特征峰基本上可以反映产品的整体质量状况; 建立了其中 9 种成分的含量测定方法, 在指纹图谱整体性的基础上, 进一步对关键成分进行了定量控制, 二者结合, 可以有效地反映 HFL 的真实质量状况。该方法简单准确、重复性好, 可用于 HFL 的质量控制和评价。

参考文献

[1] 孙晓慧. 红核妇洁洗液联合克霉唑阴道片治疗霉菌性阴道炎的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2018, 33(6): 1428-1431.

[2] 国家药品标准新药转正标准 (第 33 册) [S]. 2001.

[3] 沈晨, 魏婷婷, 韩园园, 等. 止动颗粒 UPLC 指纹图谱建立及 3 种成分测定 [J]. 中草药, 2019, 50(2): 388-395.

[4] 邓斌, 王秋燕, 周成高, 等. 益肾排毒丸中有效成分含量测定及指纹图谱研究 [J]. 药物评价研究, 2019,

42(4): 658-662.

[5] 祝明, 陈碧莲, 石上梅. 中药指纹图谱技术在中国药典 2015 年版一部中的应用 [J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(5): 611-614.

[6] 戴德雄, 刘根才, 朱婷, 等. 银黄滴丸 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2016, 47(24): 4370-4373.

[7] 李家春, 孙兰, 李红娟, 等. 桂枝茯苓胶囊 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2013, 43(7): 1333-1335.

[8] 林林, 郭东晓, 汪冰, 等. 羚羊感冒片 GC 指纹图谱研究 [J]. 中国药房, 2017, 28(24): 3397-3399.

[9] 吴瑞军, 钟国跃, 曾金祥, 等. 基于全二维液相色谱的牛黄上清丸指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2019, 50(3): 588-597.

[10] 秦建平, 吴建雄, 郎悦, 等. 痛宁凝胶的 HPLC-MS 指纹图谱研究 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(4): 427-430.

[11] 胡惠君, 林龙飞, 刘宇灵, 等. 血栓心脉宁片 UPLC-PDA 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4268-4274.

[12] Gao S M, Liu J S, Wang M, *et al.* Quantitative and HPLC fingerprint analysis combined with chemometrics for quality evaluation of *Codonopsis Radix* processed with different methods [J]. *Chin Herb Med*, 2019, 11(2): 160-168.

[13] 张永贵, 赵力, 杨小英. 土茯苓药材 HPLC 指纹图谱研究及主成分的含量测定 [J]. 中国药房, 2016, 27(36): 5143-5146.

[14] 黄永亮, 余志杰, 黎江华, 等. 熟三七饮片 HPLC 指纹图谱的建立及多成分含量测定 [J]. 中草药, 2018, 49(3): 589-595.

[15] 田香, 丁瑞雪, 巴根那, 等. 蒙药地格达-4 味汤指纹图谱及多指标成分定量分析研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(19): 3962-3969.

[16] 鲁艺, 申丽, 王洋, 等. 砂仁挥发油中 7 种活性成分的含量测定研究 [J]. 药物分析杂志, 2016, 36(9): 1536-1543.

[17] 李宜鲜, 李彦超, 宋汉敏, 等. GC 法同时测定麝香追风膏中 7 个挥发性成分的含量 [J]. 上海中医药杂志, 2012, 46(9): 92-94.

[18] 姜红, 赵生玉, 黄浩洲, 等. 三勒浆口服液 HPLC 指纹图谱的建立及多成分定量测定 [J]. 中草药, 2017, 48(18): 3741-3747.

[19] 孙冬梅, 林晓燕, 江洁怡, 等. 复方芪麻胶囊 UPLC 指纹图谱建立和同时测定 8 种成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(23): 4186-4191.

[20] 徐放, 李明珠, 孙阳, 等. 齿痛消炎灵颗粒 HPLC 特征指纹图谱研究及多成分定量测定 [J]. 中草药, 2017, 48(18): 3748-3753.