

## GC 法同时测定鱼腥草注射液中 4 种成分的含量

蒋玲燕 李清 陈晓辉 苏丹 张小燕 戴荣华 毕开顺

( 沈阳药科大学药学院 沈阳 110016)

**摘要** 目的: 建立同时测定鱼腥草注射液中 4-萜烯醇、 $\alpha$ -松油醇、乙酸龙脑酯和甲基正壬酮含量的方法。方法: 采用气相色谱法; 色谱柱: DB-1 毛细管气相色谱柱 ( 30 m  $\times$  0.25 mm  $\phi$ . 25  $\mu$ m ); 程序升温: 70  $^{\circ}$ C 保持 5 min, 以 5  $^{\circ}$ C  $\cdot$  min $^{-1}$  上升至 140  $^{\circ}$ C, 保持 5 min, 再以 20  $^{\circ}$ C  $\cdot$  min $^{-1}$  升至 250  $^{\circ}$ C; 进样口温度: 250  $^{\circ}$ C; 检测器: FID; 检测器温度: 280  $^{\circ}$ C; 内标: 十一碳烯。结果: 4-萜烯醇、 $\alpha$ -松油醇、乙酸龙脑酯和甲基正壬酮浓度分别在 24.75 ~ 742.5  $\mu$ g  $\cdot$  mL $^{-1}$  (  $r=1.0000$  ) , 12.9 ~ 387.0  $\mu$ g  $\cdot$  mL $^{-1}$  (  $r=0.9999$  ) , 20.4 ~ 612  $\mu$ g  $\cdot$  mL $^{-1}$  (  $r=0.9999$  ) , 25.35 ~ 760.5  $\mu$ g  $\cdot$  mL $^{-1}$  (  $r=0.9999$  ) 范围内线性关系良好; 平均回收率 (  $n=6$  ) 分别为 96.3% 95.2% 97.6% 98.8% , RSD 分别为 1.5% 1.1% 2.1% 2.1% 。结论: 该方法简便、快速、准确, 可有效控制鱼腥草注射液质量。

**关键词:** 鱼腥草注射液; 4-萜烯醇;  $\alpha$ -松油醇; 乙酸龙脑酯; 甲基正壬酮; 含量测定

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2011)04-0664-04

## GC simultaneous determination of four components in *Houttuynia cordata* injection

JIANG Ling-yan, LI Qing, CHEN Xiao-hui, SU Dan,  
ZHANG Xiao-yan, DAI Rong-hua, BI Kai-shun

( School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**Abstract Objective:** To establish a method for simultaneous determination of 4-terpineol,  $\alpha$ -terpineol, bornyl acetate and methyl-*n*-nonylketone in *Houttuynia cordata* injection. **Methods:** GC determination was performed on a DB-1 column ( 30 m  $\times$  0.25 mm  $\phi$ . 25  $\mu$ m ). The column temperature was maintained at 70  $^{\circ}$ C after injection for 5 min, and programmed to 140  $^{\circ}$ C at the rate of 5  $^{\circ}$ C  $\cdot$  min $^{-1}$ , then held for 5 min. After that the temperature was elevated to 250  $^{\circ}$ C at the rate of 20  $^{\circ}$ C  $\cdot$  min $^{-1}$ . The FID was used as detector, the temperature of the injection and the detector were set at 250  $^{\circ}$ C and 280  $^{\circ}$ C, respectively. Undecylene was used as internal standard. **Results:** Good linearity of the four components were obtained within the range of 24.75 ~ 742.5  $\mu$ g  $\cdot$  mL $^{-1}$  (  $r=1.0000$  ) , 12.90 ~ 387.0  $\mu$ g  $\cdot$  mL $^{-1}$  (  $r=0.9999$  ) , 20.40 ~ 612.0  $\mu$ g  $\cdot$  mL $^{-1}$  (  $r=0.9999$  ) , 25.35 ~ 760.5  $\mu$ g  $\cdot$  mL $^{-1}$  (  $r=0.9999$  ) , respectively. The average recoveries of 4-terpineol,  $\alpha$ -terpineol, bornyl acetate, methyl-*n*-nonylketone were 96.3%, 95.2%, 97.6%, 98.8% and the RSDs were 1.5%, 1.1%, 2.1%, 2.1%, respectively. **Conclusion:** The method is simple, rapid, accurate, and can be used for the quality control of *Houttuynia cordata* injection. **Key words:** *Houttuynia cordata* injection; 4-terpineol;  $\alpha$ -terpineol; bornyl acetate; methyl-*n*-nonylketone; assay

鱼腥草注射液收载于《中药成方制剂》第十七册<sup>[1]</sup>, 为鲜鱼腥草经二次水蒸气蒸馏制成的灭菌水溶液, 主要含有甲基正壬酮、癸酰乙醛、月桂醛、辛醛、乙酸龙脑酯、癸酸、乙酸香叶酯、石竹烯、 $\beta$ -蒎烯和各种萜烯醇等成分<sup>[2,3]</sup>, 具有清热解毒、消肿排脓、利湿、抗菌、增强机体免疫功能、抗过敏和平喘等药理作用。文献<sup>[4-9]</sup>均以含量较大的甲基正壬酮作为

鱼腥草注射液质量监控指标, 鱼腥草注射液中 4-甲基-1-异丙基-3-环己烯-1-醇(即 4-萜烯醇)、2-(4-甲基-3-环己烯基)异丙醇(即  $\alpha$ -松油醇)、乙酸龙脑酯含量均较大且为主要药效成分, 其中 4-萜烯醇和  $\alpha$ -松油醇具有平喘、抑菌作用, 乙酸龙脑酯具有祛痰作用。因此本研究采用气相色谱法, 建立 4-萜烯醇、 $\alpha$ -松油醇、乙酸龙脑酯

和甲基正壬酮的同时含量测定方法,该方法简便、准确,可有效控制鱼腥草注射液质量。

### 1 仪器与试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪(Agilent 公司);电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);BP210S 电子天平(德国 Satorius 公司);挥发油提取器。

对照品甲基正壬酮(批号:118034-200502)和乙酸龙脑酯(批号:110759-200303)购自中国药品生物制品检定所;对照品4-萜烯醇(含量>97%)和 $\alpha$ -松油醇(含量>97%)由湖南正清制药集团提供,十一碳烯(纯度>99.5%)购自Fluka公司;正己烷(色谱纯)购自山东禹王实业有限公司化工分公司,无水硫酸钠(分析纯)购自天津大茂化学试剂厂;鱼腥草注射液由湖南正清制药集团提供(批号:090916~0909035)共20批。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件和系统适用性试验** 色谱柱:DB-1毛细管气相色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.25  $\mu$ m);程序升温:70  $^{\circ}$ C保持5 min,以5  $^{\circ}$ C · min<sup>-1</sup>上升至140  $^{\circ}$ C,保持5 min,再以20  $^{\circ}$ C · min<sup>-1</sup>上升至250  $^{\circ}$ C;进样口温度:250  $^{\circ}$ C;检测器(FID)温度:280  $^{\circ}$ C;进样分流比:10:1;进样量:1  $\mu$ L。在上述色谱条件下,理论塔板数按甲基正壬酮计算大于10000,各峰与其相邻色谱峰的分离度均大于1.5,各峰拖尾因子在0.95~1.05。

#### 2.2 溶液的配制

**2.2.1 混合对照品储备液** 精密称定对照品4-萜烯醇、 $\alpha$ -松油醇、乙酸龙脑酯和甲基正壬酮适量,置10 mL量瓶中,加正己烷分别配成9.90, 5.160, 8.16, 2.028 mg · mL<sup>-1</sup>的储备液;精密移取4-萜烯醇、 $\alpha$ -松油醇和乙酸龙脑酯对照品储备液各1 mL及甲基正壬酮5 mL置10 mL量瓶中,加正己烷定容,作为混合对照品储备液,4  $^{\circ}$ C冰箱中保存。

**2.2.2 内标溶液** 取十一碳烯适量,精密称定,加正己烷配成1.988 mg · mL<sup>-1</sup>的内标溶液,4  $^{\circ}$ C冰箱中保存。

**2.2.3 供试品溶液** 精密吸取注射液50 mL,置圆底烧瓶中,连接挥发油测定器,自测定器上端加水充满刻度部分,加入正己烷0.5 mL,加热至沸,保持微沸40 min,停止加热,冷却至室温,分取正己烷层,加无水硫酸钠约0.4 g,除去水分,取上层溶液至2 mL量瓶中,精密加入内标溶液0.2 mL,加正己烷定容,作为供试品溶液。

### 2.3 方法学验证

**2.3.1 专属性考察** 取空白溶剂、对照品溶液和供试品溶液,在上述色谱条件下测定,结果显示在对照品和内标保留时间处无杂质峰干扰,供试品溶液中其他成分对测量无干扰,表明方法专属性良好(见图1)。

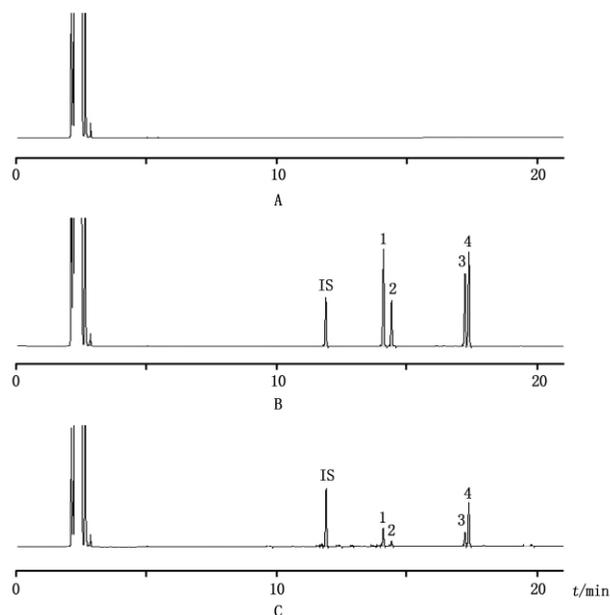


图1 空白溶剂(A)、对照品溶液(B)、供试品溶液(C) GC图  
Fig 1 GC chromatograms of blank solvent(A), reference substance solution(B) and sample solution(C)

1. 4-萜烯醇(4-terpineol) 2.  $\alpha$ -松油醇( $\alpha$ -terpineol) 3. 乙酸龙脑酯(bornyl acetate) 4. 甲基正壬酮(methyl-n-nonylketone) IS. 十一碳烯(1-undecene)

**2.3.2 标准曲线与线性范围** 精密移取混合对照品储备液0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mL,分别置2 mL量瓶中,精密加入内标溶液0.2 mL,加正己烷定容至刻度,即得系列混合对照品溶液,在上述色谱条件下测定。分别以对照品与内标峰面积比为纵坐标Y,以各对照品浓度(mg · mL<sup>-1</sup>)为横坐标X,进行线性回归,4-萜烯醇、 $\alpha$ -松油醇、乙酸龙脑酯和甲基正壬酮回归方程分别为:

$$Y = 4.240X + 0.0011 \quad r = 1.0000$$

$$Y = 3.829X - 0.0004 \quad r = 0.9999$$

$$Y = 3.728X + 0.0093 \quad r = 0.9999$$

$$Y = 3.780X + 0.012 \quad r = 0.9999$$

线性范围分别为24.75~742.5, 12.90~387.0, 20.40~612.0, 25.35~760.5  $\mu$ g · mL<sup>-1</sup>。

**2.3.3 精密度试验** 精密吸取混合对照品溶液,在上述色谱条件下连续进样5针,测定3 d。测得4-萜烯醇、 $\alpha$ -松油醇、乙酸龙脑酯和甲基正壬酮的日

内精密度分别为 0.3%、0.7%、1.4%、1.6%；日间精密度分别为 0.6%、2.1%、2.1%、2.2%。

**2.3.4 重复性试验** 分别精密吸取 6 份同一批号样品,每份 50 mL,照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下测定,测得鱼腥草注射液中 4-萜烯醇、 $\alpha$ -松油醇、乙酸龙脑酯和甲基正壬酮含量的 RSD 分别为 1.8%、1.4%、1.4%、2.1% ( $n=6$ )。

**2.3.5 稳定性试验** 取供试品溶液,室温下放置,分别于 0、2、4、6、12、24 h 进行测定,鱼腥草注射液中 4-萜烯醇、 $\alpha$ -松油醇、乙酸龙脑酯和甲基正壬酮与内标峰面积比的 RSD 分别为 2.1%、2.1%、0.7%、0.5% ( $n=6$ ),表明供试品溶液在 24 h 内

稳定。

**2.3.6 回收率试验** 精密吸取已知含量的同一批号注射液 25 mL,共 6 份,分别加入对照品储备液适量,照“2.2.3”项下方法制备溶液,测得 4-萜烯醇、 $\alpha$ -松油醇、乙酸龙脑酯和甲基正壬酮平均回收率 ( $n=6$ ) 分别为 96.3% (RSD = 1.5%)、95.2% (RSD = 1.1%)、97.6% (RSD = 2.1%)、98.8% (RSD = 2.1%)。

**2.4 样品测定** 取 20 批鱼腥草注射液,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下测定,计算各批次注射液中 4 种成分的含量,结果见表 1。

表 1 20 批样品中待测成分含量测定结果 ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $n=3$ )

Tab 1 Contents of four components in 20 batches of samples

批号 (batch)	4-萜烯醇 (4-terpineol)	$\alpha$ -松油醇 ( $\alpha$ -terpineol)	乙酸龙脑酯 (bornyl acetate)	甲基正壬酮 (methyl-n-nonylketone)
090916	8.03	2.56	2.39	3.30
090917	5.73	1.29	2.50	6.62
090918	2.55	0.79	2.28	7.12
090919	4.18	0.97	2.80	7.80
090920	7.11	1.84	2.90	7.94
090921	5.95	1.57	3.61	8.27
090922	7.69	2.01	4.45	9.63
090923	6.46	1.78	4.65	11.31
090924	6.58	1.74	4.85	11.35
090925	6.13	1.46	4.28	9.10
090926	7.13	2.26	2.00	2.74
090927	5.25	1.28	2.02	5.62
090928	2.44	0.75	1.92	6.16
090929	3.32	0.75	2.23	6.58
090930	5.84	1.49	2.58	7.65
090931	6.28	1.68	3.50	7.92
090932	6.65	1.72	3.93	8.91
090933	6.41	1.89	4.37	10.86
090934	5.89	1.53	4.39	10.87
090935	8.02	2.12	4.32	9.58

### 3 讨论

**3.1 提取方法的确定** 本实验分别考察采用挥发油提取器提取、 $\text{C}_8$  固相萃取小柱富集和乙醚萃取 3 种方法提取鱼腥草注射液中的挥发油,结果表明固相萃取与挥发油提取器提取效果较好。挥发油提取

器提取方法操作简便、成本低,故选用挥发油提取器提取注射液中的待测定成分。

**3.2 提取时间的确定** 本实验考察了提取时间分别为 20 min、40 min、60 min、90 min 时挥发油的提取量,结果表明提取 40 min 和提取 60 min 的提取效率

均较高,考虑到节省时间,故选择 40 min 作为提取时间。

**3.3 含量测定** 含量测定结果显示 20 批注射液中 4 种待测成分的含量差异较大,可能与药材的来源有关。20 批注射液采用不同批次的药材,药材受采收季节、贮藏方式、加工方法等因素的影响,导致注射液中待测成分含量存在差异。鱼腥草注射液中甲基正壬酮的含量最高,是鱼腥草注射液的主要药效成分。《中药成方制剂》第十七册规定鱼腥草注射液中甲基正壬酮的含量不低于  $0.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 本实验 20 批注射液均符合要求。

参考文献

- 1 LAI Wen - ling( 赖文玲) ,YAO Xiao - jiang( 姚晓江) ,ZHANG Min - jie( 张敏杰) . Study of the chemical constituents of Houttuynia cordata Thunb. injection ( 鱼腥草注射液化学成分研究) . *J Gannan Teach Coll* ( 赣南师范学院学报) 2005 3:47
- 2 State Food and Drug Administration( 国家食品药品监督管理局) Drug Standard of Chinese Medicine No. 17( 药品标准中药部颁第十七册) . WS3 - B - 3264 - 98
- 3 PENG Jia - min( 彭佳敏) ,LI Ke - peng( 李可鹏) ,CHAO Ruo - bing( 晁若冰) . Determination of three main evanescent components in Yuxingcao injection( 鱼腥草注射液中 3 种主要挥发性成分的测定) . *West China J Pharm Sci*( 华西药理学杂志) 2009 24( 4) : 396
- 4 LI Ying( 李颖) ,ZHENG Shen - xi( 郑申西) ,LI Zong( 李宗) . De-

termination of methyl - *n*-nonylketone in Herba Houttuyniae injection by HS - SPME - GC( 顶空固相微萃取 - 气相色谱法测定鱼腥草注射液中甲基正壬酮含量) . *Mod Chin Med* ( 中国现代中药) , 2008 10( 4) : 26

- 5 CUI Gang( 崔刚) ,LI Shu - fang( 李淑芳) ,CHANG Ming( 常明) . *et al.* Quality evaluations of five different Yuxingcao injection( 五厂家鱼腥草注射液质量评价) . *Chin J Hosp Pharm*( 中国医院药学杂志) , 2004 24( 12) : 784
- 6 LIN Guang - mei( 林光美) ,HOU Chang - hong ( 侯长红) ,CHEN Gui dong( 陈贵东) . *et al.* Compare the yield and Quality of Different Houttuynia cordata ( 不同产地鱼腥草产量与质量的比较研究) . *China J Chin Mater Med* ( 中国中药杂志) 2007 32( 7) : 633
- 7 WU Wei( 吴卫) ,ZHENG You - liang( 郑有良) ,MA Yong( 马勇) , *et al.* Analysis on yield and quality of different Houttuynia cordata ( 鱼腥草不同居群产量和质量分析) . *China J Chin Mater Med* ( 中国中药杂志) 2003 28( 8) : 718
- 8 SHI Chun - yang( 施春阳) ,FANG Jian - guo( 方建国) ,WANG Wen - qing( 王文清) . *et al.* Determination of methyl - *n*-nonylketone in Yuxingcao injection by SPE - GC( 固相萃取气相色谱法测定鱼腥草注射液中甲基正壬酮的含量) . *Her Med*( 医药导报) 2005 24( 3) : 225
- 9 MA Zhen - jing( 马振菁) ,ZHANG Tao( 张韬) . Determination of methyl - *n*-nonylketone in Yuxingcao injection by GC with tubular column( 毛细管气相色谱法测定鱼腥草注射液中甲基正壬酮含量) . *J Fujian Med Univ*( 福建医科大学学报) 2004 38( 4) : 495

( 本文于 2010 年 9 月 16 日修改回)