

毛细管气相色谱法测定红药贴膏中 4 种活性成分的含量

张一鸣, 王洁, 胡明勋, 郝增燕, 陈安家*
(山西医科大学药学院, 太原 030001)

[摘要] 目的: 建立毛细管气相色谱法同时测定红药贴膏中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯的含量。方法: 采用毛细管气相色谱法。色谱柱为 PEG-20M 石英毛细管柱(0.25 mm × 0.25 μm × 30 m), 氢火焰离子检测器, 检测器和气化室的温度均为 200 °C, 柱温 160 °C, 氮气为载气, 正辛醇为内标物, 用挥发油测定器蒸馏制备供试品溶液。结果: 在该色谱条件下, 樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯分离度和线性关系良好, 回收率分别为 99.8%, 100.3%, 99.5%, 99.7%。结论: 该方法简便、准确、专属性强、重复性好, 可用于红药贴膏的质量控制。

[关键词] 毛细管气相色谱法; 红药贴膏; 樟脑; 薄荷脑; 冰片; 水杨酸甲酯; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0047-04

Determination of Four Active Components in Hongyao Strapping by Capillary Gas Chromatography

ZHANG Yi-ming, WANG Jie, HU Ming-xun, HAO Zeng-yan, CHEN An-jia*
(College of Pharmaceutical Sciences, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination of camphor, menthol, borneol and methylsalicylate in Hongyao strapping. **Method:** Capillary gas chromatography was adopted. The chromatography separation was carried out with PEG-20M capillary column(0.25 μm × 0.25 mm × 30 m), using a flame ionization detector. The injector and detector temperature were set at 200 °C. The column temperature was 160 °C. n-Octanol was used as internal standard. The sample solution was prepared by distillation with essential oil collector. **Result:** The resolution and linearity of camphor, menthol, borneol and methylsalicylate were good under the chromatographic conditions. The average recoveries of camphor, menthol, borneol and methylsalicylate were 99.8%, 100.3%, 99.5%, 99.7%. **Conclusion:** This method is simple, sensitive, accurate and has good repeatability for controlling the quality of camphor, menthol, borneol and methylsalicylate in Hongyao strapping.

[Key words] CGC; Hongyao strapping; camphor; menthol; borneol; methyl-salicylate; assay

红药贴膏是由冰片、樟脑、水杨酸甲酯、薄荷脑等 13 种成分制成的橡胶膏剂, 具有去瘀生新、活血止痛的功效, 用于治疗跌打损伤和筋骨疼痛。目前《中国药典》对红药贴膏制定的质量标准中只有简单的鉴别项而无含量测定项^[1], 不足以全面控制产

品质量; 文献中亦未见关于红药贴膏中挥发性成分含量测定的相关报道^[2-6]。为了更好地控制产品质量, 本文建立了毛细管气相色谱法同时测定红药贴膏中主要挥发性成分含量的方法, 可用于红药贴膏的质量控制。

1 仪器与试剂

SP-2100 气相色谱仪(北京普析通用仪器有限责任公司, FID 检测器); 电子天平(BP-211D)。樟脑对照品(批号 110747-200507)、薄荷脑对照品(批号 110728-200506)、冰片对照品(批号 110743-200504)和水杨酸甲酯对照品(批号 110707-

[收稿日期] 20100813(002)

[基金项目] 山西省自然科学基金项目(2008011077-1)

[第一作者] 张一鸣, 硕士研究生, 从事中药制剂分析研究, Tel: 13509712370, E-mail: guolengshui@126.com

[通讯作者] * 陈安家, 博士, 教授, 从事药物分析研究, Tel: 15835108120, E-mail: chenanjia888@163.com

200508) 均购自中国药品生物制品检定所;红药贴膏(沈阳红药制药有限公司,批号 080701, 090409, 090516, 090518);其余试剂均为分析纯。

2 方法及结果

2.1 色谱条件 采用 SP-2100 气相色谱仪, PEG-20M 毛细管色谱柱(0.25 $\mu\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$);载

气为氮气(纯度 99.999%), 氢焰离子化检测器, 检测器和气化室的温度均为 200 $^{\circ}\text{C}$, 柱温 160 $^{\circ}\text{C}$, 柱前压 0.1 MPa, 分流比 30:1, N_2 流速 3 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, H_2 流速 30 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, Air 流速 300 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 尾气(N_2)流速 30 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。在上述色谱条件下得到的对照品溶液和供试品溶液的气相色谱图。见图 1。

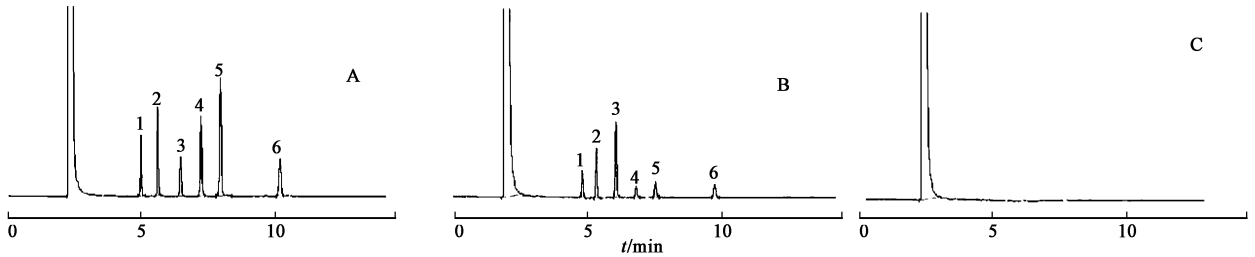


图 1 红药贴膏中气相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 樟脑; 2. 正辛醇(内标); 3. 薄荷脑; 4. 龙脑; 5. 异龙脑; 6. 水杨酸甲酯

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯对照品各适量,用醋酸乙酯稀释成每 1 mL 含樟脑 0.60 mg、薄荷脑 0.70 mg、冰片 0.65 mg 和水杨酸甲酯 0.59 mg 的溶液,即得。

2.2.2 内标溶液 精密量取正辛醇 0.5 mL,置于 50 mL 量瓶中,醋酸乙酯稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液 取本品 5 片除去盖衬,剪成小块,置 250 mL 烧瓶中,加水 150 mL,连接挥发油测定器,自测定器上端加水使充满刻度部分并溢流入烧瓶为止。加入醋酸乙酯 5 mL,加热回流 3 h,将挥发油测定器中的液体移至分液漏斗中,用醋酸乙酯洗涤挥发油提取器 3 次,每次 5 mL,洗涤液并入分液漏斗中,静置分层,分取醋酸乙酯液置 25 mL 量瓶中,加醋酸乙酯稀释至刻度,摇匀,作为供试品贮备液,精密量取贮备液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加醋酸乙酯稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 阴性对照试验 按处方工艺制备不含樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯的供试品,并按供试品溶液的制备方法制得阴性对照溶液,在上述色谱条件下进行测定(图 1)。结果表明样品中其他成分对含量测定无干扰。

2.4 线性关系考察 精密量取对照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 mL, 分别加入内标物溶液 0.3 mL, 用醋酸乙酯稀释至 10 mL, 摇匀, 对应编号 1-6 号, 进样量 1 μL , 按上述色谱条件进行测定。其中冰片峰面积以龙脑和异龙脑峰面积和进行计算。分

别以对照品的浓度为横坐标,以对照品与正辛醇的峰面积比值为纵坐标,绘制标准曲线,结果表明樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯分别在 0.030 ~ 0.480, 0.035 ~ 0.560, 0.033 ~ 0.520, 0.030 ~ 0.472 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯的回归方程为分别为 $Y = 5.8637C + 0.0211$ ($r = 0.9995$); $Y = 6.2317C + 0.0658$ ($r = 0.9998$); $Y = 3.0375C + 0.0669$ ($r = 0.9991$); $Y = 9.0915C + 0.0204$ ($r = 0.9998$)。

2.5 精密度试验 精密量取对照品溶液 0.2 mL 置 1 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 0.1 mL,加醋酸乙酯至刻度,摇匀,进样量 1 μL ,连续进样 6 次,按照上述色谱条件进行测定,计算各自峰面积与内标物峰面积比值,樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯 RSD 分别为 0.9%, 0.6%, 1.1%, 0.7%。

2.6 重复性试验 取同一批红药贴膏(批号 090516),按 2.2.3 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,在上述色谱条件下进行测定,计算各自含量。樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯含量的 RSD 分别为 1.0%, 0.9%, 1.2%, 0.8%。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号 090516),在上述色谱条件下,每隔 2 h 进样 1 次,共进样 5 次,测得樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯峰面积与内标物峰面积的比值, RSD 分别为 1.3%, 1.1%, 1.4%, 1.5%。结果表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验 分别在已知含量的供试品

溶液(批号 080701)中,精密加入一定量的樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯对照品和内标物溶液,分别配制成线性范围内低、中、高3个浓度的溶液,在上述色谱条件下进行测定。结果见表1~4。

表1 樟脑加样回收率

样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.129 6	0.072 0	0.199 2	98.1		
0.129 6	0.072 0	0.200 6	99.2		
0.129 6	0.072 0	0.201 4	99.8		
0.129 6	0.120 0	0.247 6	98.5		
0.129 6	0.120 0	0.248 6	99.2	99.8	1.2
0.129 6	0.120 0	0.251 2	101.2		
0.129 6	0.168 0	0.299 6	101.5		
0.129 6	0.168 0	0.298 8	100.9		
0.129 6	0.168 0	0.297 0	99.5		

表2 薄荷脑加样回收率

样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.692 4	0.490 0	1.186	100.5		
0.692 4	0.490 0	1.179	99.5		
0.692 4	0.490 0	1.176	99.1		
0.692 4	0.700 0	1.381	98.4		
0.692 4	0.700 0	1.401	101.2	100.3	1.3
0.692 4	0.700 0	1.388	99.4		
0.692 4	0.910 0	1.617	102.1		
0.692 4	0.910 0	1.609	101.0		
0.692 4	0.910 0	1.614	101.7		

表3 冰片加样回收率

样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.602 0	0.455 0	1.049	98.7		
0.602 0	0.455 0	1.051	99.0		
0.602 0	0.455 0	1.055	99.7		
0.602 0	0.650 0	1.241	98.2		
0.602 0	0.650 0	1.243	98.5	99.5	1.1
0.602 0	0.650 0	1.256	100.7		
0.602 0	0.845 0	1.449	100.4		
0.602 0	0.845 0	1.442	99.2		
0.602 0	0.845 0	1.455	101.3		

2.9 含量测定 按2.2.3项下方法制备4种不同批号的供试品溶液,在上述色谱条件下分别进行测

定,计算樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯的含量(其中冰片峰面积以龙脑和异龙脑峰面积之和进行计算),测定结果见表5。

表4 水杨酸甲酯加样回收率

样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.375 2	0.118	0.487 2	98.4		
0.375 2	0.118	0.496 6	100.9		
0.375 2	0.118	0.484 9	97.8		
0.375 2	0.354	0.727 3	99.5		
0.375 2	0.354	0.730 7	100.4	99.7	1.5
0.375 2	0.354	0.735 2	101.6		
0.375 2	0.472	0.840 1	98.1		
0.375 2	0.472	0.843 4	99.0		
0.375 2	0.472	0.853 6	101.7		

表5 红药贴膏中4种成分的含量测定 mg/片

批号	樟脑		薄荷脑		冰片		水杨酸甲酯	
	含量	RSD /%	含量	RSD /%	含量	RSD /%	含量	RSD /%
080701	3.24	0.6	17.31	0.8	15.05	1.2	9.38	0.7
090409	3.32	0.7	17.46	0.9	15.60	1.4	10.07	0.9
090516	3.29	0.4	16.97	0.7	14.84	0.9	10.62	0.6
090518	3.51	0.8	17.08	1.0	15.23	1.1	10.54	0.9

3 讨论

试验中分别选取了无水乙醇、氯仿、醋酸乙酯、石油醚和乙醚几种不同的有机溶剂对样品进行提取。无水乙醇和氯仿作溶剂时,经过测定,几种挥发性成分的含量很低,说明提取不完全;用石油醚和乙醚作溶剂时,供试品溶液极为浑浊,且橡皮膏中的脂溶性基质黏着于瓶壁造成清洗十分不易;醋酸乙酯作为提取溶剂时,提取率高,杂质成分少,便于后续的操作处理,故本文选择了醋酸乙酯作为最佳提取溶剂。

在样品前处理时,分别考察了提取方法和提取时间对于样品含量的影响。经过测定比较,超声提取所用的提取时间较短,但是水蒸气蒸馏法所制备的供试液相对纯净,杂质干扰大大降低,几种挥发性物质的含量也比较高;试验考察的提取时间为1,2,3,4,5 h,经过测定,提取时间超过3 h时提取效率稳定,故选择3 h为最佳提取时间。

药用植物乌头净制机制研究

吕永磊, 李珊, 李向日*, 李飞*

(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 研究药用植物乌头净制的机制。方法: 以滴定法测定总生物碱的含量; 分光光度法测定酯型生物碱的含量; 高效液相色谱法测定 3 种双酯型生物碱的含量; 苯酚-硫酸分光光度法测定多糖的含量。结果: 母根、子根、须根总生物碱含量分别为 11.20, 11.70, 18.40 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 酯型生物碱含量分别为 4.41, 3.33, 8.24 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 3 种双酯型生物碱含量之和分别为 0.90, 1.07, 2.18 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 多糖含量分别为 60.60, 98.20, 61.80 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。结论: 母根、子根、须根主要化学成分类别没有明显区别, 但含量有差异; 须根的 3 种双酯型生物碱含量之和是母根的 2 倍多, 《中国药典》规定除去须根具有一定的科学性。

[关键词] 乌头; 净制; 生物碱; 多糖

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0050-04

Study on Cleaning Mechanism of *Aconitum carmichaeli*

LV Yong-lei, LI Shan, LI Xiang-ri*, LI Fei*

(School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To study the cleaning mechanism of *Aconitum carmichaeli*. **Method:** Titration method was used to determine the content of total alkaloids; UV was used to determine the content of ester-type alkaloids; HPLC was used to determine the content of three kind of diester alkaloids namely aconitine, hypaconitine, mesaconitine; sulfuric-phenol method was used to determine the content of polysaccharides. **Result:** The content of total alkaloids in parent root, daughter root, rootlet of *Aconitum carmichaeli* was 11.20, 11.70, 18.40 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ respectively; the content of ester-type alkaloids was 4.41, 3.33, 8.24 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ respectively; the content of three kind of diester alkaloids was 0.90, 1.07, 2.18 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ respectively; the content of polysaccharides was 60.60, 98.20, 61.80 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ respectively. **Conclusion:** The categories of main chemical compositions of

[收稿日期] 20101026(002)

[基金项目] 国家 973 计划中医基础理论专项(2009CB522800;2009CB522805)

[通讯作者] *李向日, 研究方向: 中药炮制、质量控制及活性成分, Tel: 010-84738616, E-mail: lixiangri@sina.com; *李飞, Tel: 010-84738616, E-mail: lf668@sina.com

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 732.
- [2] 傅应华, 王金观, 徐宏祥. 气相色谱法同时测定麝香解痛膏中樟脑、冰片和桂皮醛三组分的含量[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(9): 1434.
- [3] 郭汉文, 郭兴杰, 张满来. 气相色谱法测定神农镇痛膏中樟脑和水杨酸甲酯的含量[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(7): 1111.
- [4] 管玉云, 程正. 气相色谱法测定妇炎灵胶囊中樟脑和冰片的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(1): 74.
- [5] 武彦文, 孙素琴, 陶家洵. 毛细管气相色谱法测定正红花油中 α -蒎烯、水杨酸甲酯、丁香酚的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(11): 1869.
- [6] 张翠英, 王青晓, 李振国, 等. 毛细管气相色谱法测定前列腺尿栓中冰片的含量[J]. 中成药, 2007, 29(4): 138.

[责任编辑 蔡仲德]