

GC 法测定蛇脂冰肤软膏中薄荷脑和冰片的含量

许勇, 王柯, 季申*

(上海市食品药品检验所, 上海 201203)

摘要 目的: 采用气相色谱法测定蛇脂冰肤软膏中薄荷脑、冰片的含量。方法: 样品经正己烷超声处理后, 采用 Agilent INNO-WAX 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm); FID 检测器; 色谱条件: 柱温: 110℃, 载气流速 1.5 mL·min⁻¹, 进样口温度: 250℃, 检测器温度: 300℃。进样量: 1 μL。结果: 薄荷脑在 0.0762~6.0995 mg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好($r=0.9999$, $n=6$), 龙脑在 0.0460375~3.683 mg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好($r=0.9999$, $n=6$)。薄荷脑的平均加样回收率($n=9$) 为 101.1%, 龙脑的平均加样回收率($n=9$) 为 101.7%。结论: 该方法灵敏度高、专属性好、操作简便、重现性好。

关键词: 中药制剂; 蛇脂冰肤软膏; 薄荷脑; 冰片; 龙脑; 气相色谱法

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2011)11-2158-03

GC determination of menthol and Borneol in Shezhi Bingfu Ointment

XU Yong, WANG Ke, JI Shen*

(Shanghai Institute of Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

Abstract **Objective:** To develop an GC method for the determination of menthol and Borneol in Shezhi Bingfu Ointment. **Methods:** The column was Agilent INNOWAX(30 m×0.25 mm×0.25 μm), and FID detector under following chromatography condition: column temperature was 110℃. The gas flow rate was 1.5 mL·min⁻¹. Injector temperature was set at 250℃ and detector at 300℃ respectively. **Results:** Linear ranges was 0.0762 - 6.0995 mg·mL⁻¹ for menthol and 0.0460375 - 3.683 mg·mL⁻¹ for Borneol. The average recovery of menthol was 101.1% ($n=9$), and average recovery of Borneol was 101.7% ($n=9$). **Conclusions:** The method is simple, sensitive, accurate, specific and reproducible in the quality control of Shezhi Bingfu Ointment.

Key words: Chinese materia medica preparation; Shezhi Bingfu Ointment; menthol; Borneol; GC

蛇脂冰肤软膏是由土荆皮、苦参、大黄、黄柏、薄荷脑、冰片等十二味药材组成的软膏剂, 具有杀虫止痒, 清热燥湿等功效。薄荷脑、冰片为处方中的主要挥发性成分。薄荷脑是从薄荷油中提取的一种饱和环状醇, 能刺激人的皮肤或粘膜产生清凉感以减轻不适或疼痛。对深部血管也可引起收缩而产生治疗作用。冰片亦称龙脑、龙脑香、梅花脑、梅花冰片等, 有开窍醒神、通诸窍、清热止痛等功效^[1]。薄荷脑和冰片的含量测定方法文献已报道的有分光光度法、旋光法和气相色谱(GC)法等^[2~4]。但复方制剂蛇脂冰肤软膏中薄荷脑、冰片的含量测定方法报道不多^[5,6]。为控制药品质量, 保证临床用药的安全性和有效性, 我们建立了 GC 法测定蛇脂冰肤软膏中薄荷脑、龙脑含量的方法。

1 仪器与试剂

Agilent 6890N GC 仪, 配有氢火焰离子化检测器(FID)和色谱工作站(美国 Agilent 公司); 薄荷脑对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 0728-200005); 龙脑对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 881-200001); 乙腈为色谱纯(MERCK 公司), 其余试剂均为分析纯(中国医药(集团)上海化学试剂公司); 样品: 蛇脂冰肤软膏(规格: 每支 10 g, 广东皮宝制药股份有限公司提供, 批号 20090101, 20090102, 20090103, 20100101, 20100102, 20100103)。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 取薄荷脑、龙脑对照品适量, 精密称定, 加正己烷制成每 1 mL 含薄荷脑、龙脑分

第一作者 Tel: 13916180916; E-mail: xuyongice2003@yahoo.com.cn

* 通讯作者 Tel: (021) 50798195; E-mail: ji_shen@sohu.com.cn

别为 0.5 mg、0.3 mg 的溶液,即得。

2.1.2 供试品溶液 取本品 0.5 g,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入正己烷 20 mL,称定重量,超声(180 W,42 KHz)处理 40 min,再称定重量,用正己烷补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 阴性样品溶液 按处方量分别制备缺薄荷脑和缺冰片的阴性样品,照“2.1.2”项下方法制备阴性样品溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱: Agilent INNOWAX 毛细管色谱柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μm); **柱温:** 110 °C; **载气流速** 1.5 mL·min⁻¹; **进样口温度:** 250 °C; **检测器温度:** 300 °C。 **进样量:** 1 μL,理论板数按龙脑峰计算,不低于 10000。按上述色谱条件进行测定,结果样品中薄荷脑、龙脑与相邻峰分离度大于 1.8,阴性样品溶液在与薄荷脑、龙脑色谱峰相同位置处无干扰峰,表明样品中其他成分对薄荷脑、冰片的测定无干扰,见图 1。

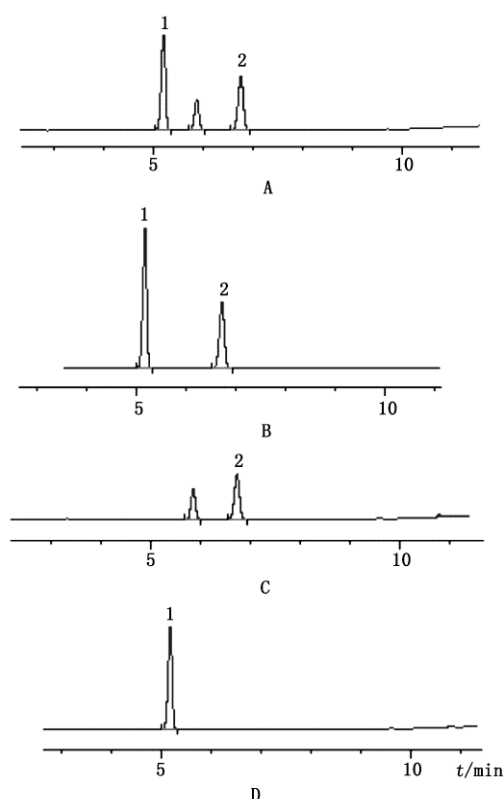


图1 对照品 A 样品 B 阴性样品 C 阴性样品 D 气相色谱图
Fig 1 GC chromatograms reference of substance (A) sample (B) negative sample without Menthol (C) negative sample without Borneol (D)

1. 薄荷脑(menthol, 5.2 min) 2. 龙脑(Borneol, 6.7 min)

2.3 线性关系的考察 精密称取薄荷脑、龙脑对照品适量,加正己烷分别制成薄荷脑浓度为 0.0762438,

0.152488, 0.304975, 0.60995, 3.04975, 6.0995 mg·mL⁻¹; 龙脑浓度为 0.0460375, 0.092075, 0.18415, 0.3683, 1.8415, 3.683 mg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。分别精密吸取各混合对照品溶液 1 μL,注入 GC 仪,记录峰面积。以进样浓度(mg·mL⁻¹)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,进行回归分析,得薄荷脑和龙脑的回归方程分别为:

$$Y = 3920.14X - 75.42 \quad r = 0.9999$$

$$Y = 3825.51X - 41.50 \quad r = 0.9999$$

结果表明,薄荷脑在 0.0762438 ~ 6.0995 mg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好,龙脑在 0.0460375 ~ 3.683 mg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好。

2.4 精密度试验 精密吸取对照品溶液(薄荷脑、龙脑浓度分别为 0.60995 mg·mL⁻¹、0.3683 mg·mL⁻¹) 1 μL,连续进样 6 次,记录峰面积,薄荷脑峰面积的 RSD 为 0.9%;龙脑峰面积的 RSD 为 0.8%;结果表明仪器精密度良好。

2.5 检测限与定量限 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,用正己烷稀释成一定浓度的溶液,进行试验,结果供试品中薄荷脑和龙脑的检测限分别为 0.03, 0.04 mg·g⁻¹;定量限分别为 0.09, 0.12 mg·g⁻¹。

2.6 重复性试验 按“2.1.2”项下方法制备 6 份供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,薄荷脑、龙脑含量平均值分别为 18.76 mg·g⁻¹, 12.47 mg·g⁻¹, RSD 分别为 0.1%、0.2%。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,在上述色谱条件下,分别于 0, 3, 7, 14, 21, 23 h 进样测定,结果薄荷脑、龙脑峰面积的 RSD 分别为 0.8%, 1.2%。表明供试品溶液在 23 h 内基本稳定。

2.8 加样回收率试验 取本品 0.25 g,精密称定,分别置 100 mL 具塞锥形瓶中,一式 9 份,以 3 份为一组,分别精密加入薄荷脑、龙脑混合对照品溶液(薄荷脑、龙脑浓度分别为 6.0995 mg·mL⁻¹、3.683 mg·mL⁻¹) 0.8, 1.0, 1.2 mL,精密加入正己烷 20 mL,按“2.1.2”项下方法制备 9 份供试品溶液分别注入 GC 仪,测定,结果见表 1、表 2。

2.9 样品测定 按上述供试品溶液的制备方法和测定条件,测定 6 批样品中薄荷脑、龙脑的含量,用外标法计算,结果见表 3。

2.10 转移率的测定 根据本品处方,本品每 g 含薄荷脑约为 20 mg;龙脑约为 11 mg,现根据 6 批样品的含量计算了薄荷脑、龙脑的平均转移率为 90.64%、109.44%,基本合理。

表 1 薄荷脑回收率试验($n=9$)

Tab 1 Result of recovery for menthol

样品中含量 (content) /mg	加入量 (added) /mg	测得量 (determined) /mg	回收率 (recovery) /%	平均回收率 (mean recovery) /%	RSD /%
5. 567968	7. 3194	12. 76110	98. 274		
4. 721892	7. 3194	11. 90170	98. 092		
4. 611208	7. 3194	11. 81567	98. 429		
5. 626124	6. 0995	12. 01884	104. 807		
4. 821320	6. 0995	11. 10797	103. 068	101. 1	2. 4
4. 838204	6. 0995	11. 02926	101. 501		
5. 198396	4. 8796	10. 16487	101. 780		
5. 342848	4. 8796	10. 24268	100. 414		
5. 020176	4. 8796	10. 06299	103. 344		

表 2 龙脑回收率试验($n=9$)

Tab 2 Result of recovery for borneol

样品中含量 (content) /mg	加入量 (added) /mg	测得量 (determined) /mg	回收率 (recovery) /%	平均回收率 (mean recovery) /%	RSD /%
3. 701096	4. 4196	8. 04554	98. 299		
3. 138699	4. 4196	7. 51052	98. 918		
3. 065126	4. 4196	7. 46180	99. 481		
3. 739753	3. 683	7. 53780	103. 123		
3. 204790	3. 683	7. 04846	104. 362	101. 7	2. 4
3. 216013	3. 683	6. 99701	102. 660		
3. 455437	2. 9464	6. 50590	103. 531		
3. 551456	2. 9464	6. 51501	100. 582		
3. 336972	2. 9464	6. 41178	104. 358		

表 3 样品测定结果($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)

Tab 3 Determination result of samples

批号(lot No.)	20090101	20090102	20090103	20100101	20100102	20100103
薄荷脑(menthol)	18. 76	18. 25	18. 44	18. 02	17. 25	18. 04
龙脑(borneol)	12. 47	12. 1	12. 22	12. 02	11. 43	11. 99

3 讨论

3.1 溶剂的选择 采用正己烷、环己烷、乙酸乙酯 3 种不同溶剂对样品进行超声提取, 结果发现, 正己烷对本品的溶解性最好, 能有效的将软膏剂中的薄荷脑、龙脑提取出来。分析原因, 可能是由于本品为脂溶性基质制成的软膏剂, 根据相似相溶的原则, 极性较小的正己烷对样品中的基质溶解性最好, 并能将样品中的薄荷脑、龙脑提取完全, 因此最终选择提取溶剂为正己烷。

3.2 提取时间的选择 因薄荷脑和龙脑都是较易挥发性成分, 因此, 要选择一个合适的超声处理时间, 即能将样品中的薄荷脑、龙脑提取完全又不会因提取时间过长而造成薄荷脑、龙脑的损失。经试

验, 结果表明, 超声时间 40 min 之内, 随着提取时间的增加, 薄荷脑、龙脑的含量随之增加, 当提取时间达到 60 min 时, 薄荷脑、龙脑的含量有下降的趋势。因此, 最终确定提取时间为 40 min。

3.3 冰片测定成分的选择 冰片为常用中药, 有天然冰片和合成冰片, 天然冰片主要成分是龙脑, 合成冰片为外消旋体, 主要含异龙脑和龙脑^[4]。研究表明, 龙脑和异龙脑有相似的抑菌和药理作用。我们在 GC 的分离中, 为了区分二者, 亦将其有效分开, 使异龙脑与薄荷脑、龙脑的分离度达到要求, 但因本品处方中未对冰片的来源进行限制, 因此, 我们在建立方法时, 考虑到投料为天然冰片的可能, 选择了龙脑作为冰片的测定成分。

参考文献

- HUANG Wei - dong(黄卫东), LU Wu - qing(吕武清). Progress in studies of borneol(冰片的研究进展). *China Pharm*(中国药业), 2008, 17(4): 64
- YAN Zheng(阎正), LIU Shu - bing(刘树彬), GE Xu - sheng(葛旭升), et al. Quick determination of Camphora, Menthol, Borneol in Traditional Chinese Rubber Electuary Medicine with capillary gas chromatography(毛细管气相色谱法快速测定中药橡胶膏剂中樟脑、薄荷脑、冰片含量). *J Hebei Univ*(河北大学学报), 2001, 21(3): 291
- YAN Zheng(阎正), LIU Peng - yan(刘鹏岩), ZHANG Jian - shen(张建申), et al. Gas chromatographic determination of Camphora, Menthol, Isoborneol and Borneol in Guan xin gao(气相色谱法测定冠心膏中樟脑、薄荷脑、异龙脑、龙脑的含量). *Chin J Chromatogr*(色谱), 1998, 16(5): 411
- ZHAO Xiu - xiang(赵秀香), WANG Hong - xin(王洪欣). Gas chromatography determination of Menthol in Chinese traditional patent formulation(气相色谱法测定冠心膏中樟脑、薄荷脑、异龙脑、龙脑的含量). *Chin J Health Lab Technol*(中国卫生检验杂志), 2006, 16(10): 1177
- XING Jun - bo(邢俊波), CAO Hong(曹红), LIU Cheng - hong(刘成红) et al. Capillary gas chromatography determination of camphor and menthol in Shangshiqutong plaster(毛细管气相色谱法测定风湿祛痛膏中樟脑和薄荷脑的含量). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志) 2009, 29(1): 107
- CHEN Dong - fen(陈冬芬), JIN Zhang - zhao(金樟照), WU Wen - jun(吴文军). Simultaneous GC determination of α - pinene, (+) borneol, (-) borneol in Bingqiao Oil(毛细管气相色谱法同时测定冰翘油中 α - 蒎烯、龙脑和异龙脑的含量). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志) 2008, 28(11): 1877
- WU Shou - rong(吴寿荣), CHENG Gang(程刚), FENG Yan(冯岩). Progress in studies on pharmacology of borneol(冰片药理作用的研究进展). *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2001, 32(12): 1143

(本文于 2010 年 11 月 12 日收到)