

中药研究

GC 法测定羚黄宝儿丸中麝香酮、冰片、丁香酚的含量

任 睿¹ 陈新国¹ 李 磊² 袁少雄² 陈娇娇² 张园园²

(1 广东省药品检验所, 广州, 510000; 2 北京中医药大学中药学院, 北京, 100102)

摘要 目的: 建立 GC 法同时测定羚黄宝儿丸中麝香酮、冰片、丁香酚 3 种成分的含量。方法: 采用直接进样 GC 法, 色谱柱为 DB-WAX 毛细管柱 (30.0 m × 0.25 mm × 0.25 μm), FID 检测器, 载气为氮气, 程序升温, 柱流量为 1.2 mL/min。结果: 3 种成分在均呈现良好的线性关系, 精密度、重复性 RSD 均 < 3%, 加样回收率在 95% ~ 106%。结论: 直接进样 GC 方法简便、灵敏、准确、重现性好, 适用于羚黄宝儿丸中麝香酮、冰片、丁香酚的含量测定。

关键词 羚黄宝儿丸; 麝香酮; 冰片; 丁香酚; 含量

Determination of Contents of Muscon, Borneol and Eugenol in Linghuangbaoer Pellets by GC MethodRen Rui¹, Chen Xinguo¹, Li Lei², Yuan Shaoxiong², Chen Jiaojiao², Zhang Yuanyuan²

(1 Guangdong Institute for Drug Control, Guangzhou 510000, China; 2 School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract Objective: To determine the contents of Muscon, Borneol and Eugenol in Linghuangbaoer Pellets by GC method. **Methods:** The GC system consisted of DB-WAX (30.0 m × 0.25 mm × 0.25 μm) capillary column. Programmed temperature was set from 120 °C to 210 °C and the detector temperature was 250 °C. The detector was FID using high pure helium as carrier gas with the flow rate of 1.2 mL/min. **Results:** Borneol, Eugenol and Muscon were separated with a good linearity in the sample size ranges of 0.125 ~ 2 mg/mL for Borneol, 0.05 ~ 0.8 mg/mL for Eugenol, and 0.005 ~ 0.08 mg/mL for Muscon. The average recoveries for Borneol, Eugenol and Muscon was 105.51% (RSD = 1.44%), 95.79% (RSD = 0.29%), 99.94% (RSD = 0.66%), respectively. **Conclusion:** The GC method is simple, feasible and reproducible. It can be used for the quality control of Linghuangbaoer Pellets.

Key Words GC; Linghuangbaoer Pellets; Muscon; Borneol; Eugenol

中图分类号: R284.2 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2015.03.030

羚黄宝儿丸是由麝香、黄连、羚羊角、甘草、冰片、人参、人工牛黄、猪胆膏、丁香九味药物制成, 为银白色的包衣微丸; 味苦、凉; 功能主治为清热熄风, 除痰定惊, 开窍醒神。用于小儿发热, 惊哭夜啼, 痰热咳嗽, 泄泻, 脾胃虚弱及消化不良等症。由于该药组方合理, 疗效确切, 不良反应小, 深受广大患者的欢迎, 现已被收载为非处方药物。羚黄宝儿丸的标准收载于《卫生部药品标准》^[1], 无含量测定项目。钟氏^[2]等建立了 HPLC 法测定其中盐酸小檗碱的含量, 此外未见其他有效成分的含量测定方法用于羚黄宝儿丸的质量控制。麝香是羚黄宝儿丸的主药之一, 目前药典规定以麝香酮作为麝香质量控制指标, 麝香药材与制剂中麝香酮的含量测定方法主要有气质联用法 (GC-MS)、气相色谱法 (GC)、高效液相色谱法 (HPLC) 和薄层扫描法 (TLCS) 等^[3]。研究表明, 冰片具有抗菌、抗炎、止痛的功效, 目前中成药多

使用合成冰片, 其除含有龙脑外, 还含有异龙脑, 目前已建立了 GC 和 GC-MS 等检测方法^[4-7]。丁香酚是其丁香挥发油中主要成分, 其含量测定多采用 HPLC 法、荧光分析法、毛细管气相色谱法^[8-10]等。本研究首次采用 GC 法对羚黄宝儿丸中麝香酮、冰片、丁香酚的含量进行测定, 方法简便、灵敏、准确、重现性好, 为羚黄宝儿丸的质量控制提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 GC-2010 气相色谱仪 (日本岛津), 包括 GC-solution 工作站、FID 检测器; SPH-200 氢气发生器 (北京中惠普分析技术研究所); LGA-2000 空气发生器 (上海安谱科学仪器有限公司); 高纯氮气 (广州耀升气体有限公司); Academic A10 超纯水系统 (美国 Millipore); CPA2245 电子天平 (德国 Sartorius)。

1.2 试剂 冰片对照品 (批号 110743-200905)、

丁香酚对照品(批号 110725-200711)、麝香酮对照品(批号 110719-200512)购于中国药品生物制品检定所;羚黄宝儿丸(批号: N00001, T06005, T06009)由广州敬修堂(药业)股份有限公司提供;正己烷、无水乙醇为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: DB-WAX 毛细管柱(30.0 m×0.25 mm×0.25 μm);检测器: FID;柱温采用程序升温,初始温度为 120℃,维持 3 min,再以 4℃/min 升温至 140℃,最后以 10℃/min 升温至 210℃,维持 6 min;进样口温度为 210℃;检测器温度为 250℃;载气为氮气;柱流量为 1.2 mL/min;分流比为 50:1;进样量 1 μL。在此色谱条件下龙脑、异龙脑、丁香酚、麝香酮与其邻近的杂质峰可达到基线分离,分离度均大于 3,理论板数均大于 80 000。色谱图如图 1 所示。

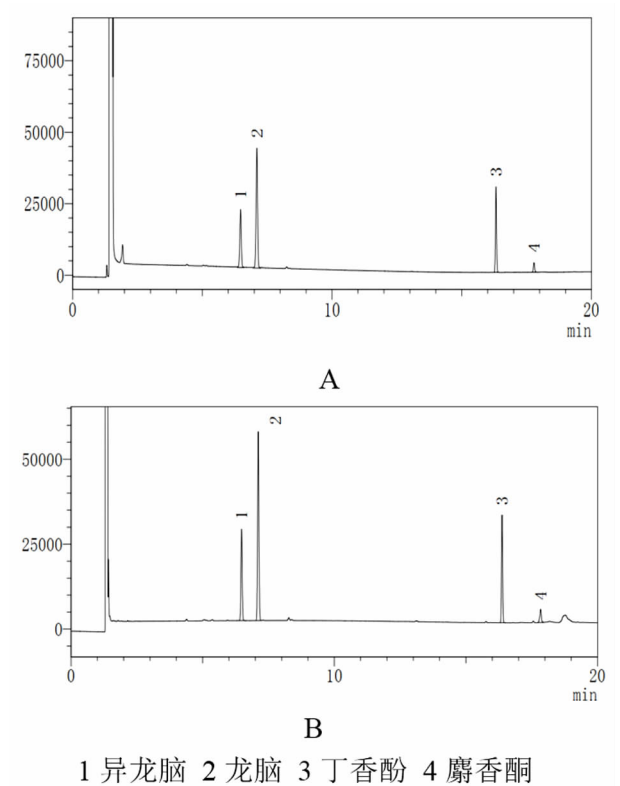


图1 对照品(A)及羚黄宝儿丸供试品(B)色谱图

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照溶液的制备 分别精密称取冰片、丁香酚、麝香酮对照品 50、20、2 mg 至 25 mL 量瓶中,加无水乙醇溶解并定容,摇匀,制得冰片、丁香酚、麝香酮浓度分别为 2.0、0.8、0.08 mg/mL 的混合对照品贮备液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取羚黄宝儿丸内容物约 1 g 至圆底烧瓶中,加入纯净水 200 mL,在

挥发油测定管中加入适量的纯净水和正己烷 7 mL,加热回流 3 h,冷却至室温,取正己烷层至 10 mL 量瓶中并以正己烷定容。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系 取“2.2.1”项下制备的混合对照品溶液,用无水乙醇稀释为 6 个浓度的系列混合对照品溶液,在“2.1”项下色谱条件下分别进样 1 μL,测量峰面积值。以峰面积值 Y 与对照品浓度 X (mg/mL) 进行线性回归,结果见表 1。

表1 各成分的回归方程与线性范围

成分	回归方程	r	线性范围(mg/mL)
冰片	Y = 253086X - 4902.3	0.9998	0.125 ~ 2
丁香酚	Y = 262392X - 5370	0.9995	0.05 ~ 0.8
麝香酮	Y = 252562X + 10.9	0.9999	0.005 ~ 0.08

2.3.2 精密度试验 取“3.3.1”项下制备的冰片、丁香酚、麝香酮浓度分别为 0.5、0.2、0.02 mg/mL 的对照品溶液,重复进样 6 次,记录各成分峰面积,RSD 分别为 0.85%、1.13%、1.78%。

2.3.3 重复性试验 取同一批羚黄宝儿丸样品(批号: N00001),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液 6 份,依“2.1”项下色谱条件分别进样。结果冰片、丁香酚、麝香酮的平均含量分别为 5.88、2.46、0.32 mg/g,RSD 分别为 1.59%、1.98%、1.89%,即本方法的重复性较好。

表2 加样回收率测定结果

成分	序号	取样量/g	实际含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
冰片	1	0.5040	2.93	3.00	6.14	106.93	105.51	1.44
	2	0.5028	2.93	3.00	6.05	104.14		
	3	0.5002	2.91	3.00	6.10	106.46		
	4	0.5020	2.92	3.00	6.06	104.68		
	5	0.5013	2.92	3.00	6.13	107.19		
	6	0.5049	2.94	3.00	6.05	103.71		
丁香酚	1	0.5040	1.23	1.25	2.42	95.51	95.79	0.29
	2	0.5028	1.23	1.25	2.42	95.91		
	3	0.5002	1.22	1.25	2.42	96.00		
	4	0.5020	1.22	1.25	2.42	95.96		
	5	0.5013	1.22	1.25	2.42	95.98		
	6	0.5049	1.23	1.25	2.42	95.37		
麝香酮	1	0.5040	0.166	0.16	0.325	99.53	99.94	0.66
	2	0.5028	0.166	0.16	0.325	99.85		
	3	0.5002	0.165	0.16	0.324	99.50		
	4	0.5020	0.165	0.16	0.327	100.83		
	5	0.5013	0.165	0.16	0.326	100.69		
	6	0.5049	0.166	0.16	0.325	99.26		

2.3.4 回收率试验 精密称取已知含量的羚黄宝儿丸样品(批号: N00001)6 份,每份 0.5 g,分别精密

加入已知量的冰片、丁香酚、麝香酮对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液并进样,测定各成分的含量,计算回收率,结果如表2所示。

2.3.5 稳定性试验 取羚黄宝儿丸内容物,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,放置0、2、4、6、8、12、18、24 h后分别进样,测得冰片、丁香酚、麝香

酮的平均含量分别为6.67、2.74、0.34 mg/g, RSD分别为2.09%、1.84%、0.84%,结果表明,供试品溶液在24 h内稳定。

2.4 样品含量测定 按“2.2.2”项下方法对3个不同批号的羚黄宝儿丸样品进行处理,分析测定,结果见表3。

表3 样品含量测定结果(n=2)

批号	冰片		丁香酚		麝香酮	
	平均含量 mg/g	RSD/%	平均含量 mg/g	RSD/%	平均含量 mg/g	RSD/%
N00001	5.85	2.48	2.45	2.51	0.32	0.75
T06005	5.86	0.15	2.46	0.97	0.33	1.50
T06009	5.75	0.45	2.41	0.56	0.33	0.06

3 讨论

3.1 提取条件的选择

3.1.1 提取方法的选择 本研究曾采用丙酮为溶剂,超声处理15 min,滤过,滤液作为供试品溶液,由于冰片、丁香酚易挥发,测定结果存在较大偏差,难以控制。根据指标成分具有挥发性的特点,采用挥发油提取器进行提取,重复性好, RSD 值符合药典规定。

3.1.2 提取溶剂的选择 根据冰片、丁香酚、麝香酮几乎不溶于水,可溶于乙醇、乙酸乙酯、丙酮、苯、正己烷等有机溶剂中的性质,从上述溶剂中优选提取溶剂。无水乙醇、丙酮在挥发油提取器中与水层无明显分层,乙酸乙酯易乳化变浑浊,因此误差较大。正己烷与水分层清晰。因此综合毒性、准确度等多种因素,选择正己烷为本实验提取溶剂。

3.2 色谱条件的选择

3.2.1 色谱柱的选择 分别考察了极性柱,中性柱,非极性柱,结果表明,极性柱的分离效果较好。

3.2.2 检测温度的选择 根据文献^[11-14],考察了两种梯度升温程序。程序1:初始温度为120℃,维持3 min,再以4℃/min升温至160℃,最后以20℃/min升温至210℃,维持3 min;进样口温度为210℃;检测器温度为250℃。程序2:初始温度为120℃,维持3 min,再以4℃/min升温至140℃,最后以10℃/min升温至210℃,维持6 min;进样口温度为210℃;检测器温度为250℃。结果表明,程序1各成分出峰时基线不平,而程序2基线相对较平,分离度好。

4 结论

本实验对羚黄宝儿丸进行加热回流提取后,采用GC法测定冰片、丁香酚、麝香酮的含量,方法重

复性好、灵敏度高、定量准确、分离度符合要求,可作为羚黄宝儿丸质量控制方法之一,为羚黄宝儿丸的质量控制和进一步开发提供参考依据。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 第14册. 中药成方制剂, 1997:160-161.

[2] 钟文山. HPLC法测定羚黄宝儿丸中盐酸小檗碱含量[J]. 今日药学, 2012, 22(2):100-102.

[3] 孙蓉, 杨倩, 尹建伟, 等. 麝香及替代品药理作用和含量测定方法研究进展[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3):709-710.

[4] 崔田. 气相色谱法测定小儿咽扁颗粒中冰片的含量[J]. 海峡药学, 2009, 21(10):58-59.

[5] 唐杰, 陈玉谊. 气相色谱法测定市售复方丹参片中冰片的含量[J]. 海峡药学, 2008, 20(8):62-63.

[6] Tompsett, PB. Desiccation and storage studies on dipterocarp seeds[J]. Annals of Applied Biology, 1987, 110:371-379.

[7] 谢周涛, 胡进. 气相色谱法测定复方冰片搽剂中冰片、薄荷脑和樟脑的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(23):2063-2064.

[8] 余小平. RP2 HPLC法测定中药丁香中丁香酚的含量[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(4):880-881.

[9] 周晓霞. 基于荧光分析法的丁香酚提取工艺[J]. 衡水学院学报, 2011, 13(4):43-44.

[10] 卢智玲, 刘华栋. 毛细管气相色谱法测定克痢痧胶囊中丁香酚含量[J]. 中国药业, 2012, 21(4):32-33.

[11] 杨淑艳, 李兆东. 气相色谱法测定麝香祛痛凝胶的4种有效成分的含量[J]. 现代生物医学进展, 2006, 6(11):89-90.

[12] 高文分, 袁文娟, 王梅. GC法同时测定醒脑静注射液中麝香酮、龙脑的含量及其有关物质[J]. 中国药师, 2011, 14(11):1607-1608.

[13] 陈在敏. 气相色谱法检测麝珠明目滴眼液中冰片和麝香酮的含量[J]. 海峡药学, 2011, 23(3):54-56.

[14] 卢智玲, 刘华栋. 毛细管气相色谱法测定克痢痧胶囊中丁香酚含量[J]. 中国药业, 2012, 21(4):32-33.