

在 7.25 % ~ 8.41 % 之间。结果显示,即使是同一地区,不同批次的地榆药材中总皂苷含量均有一定的差异,其原因可能与生长环境、采收时间、干燥过程、贮藏条件等系列因素有关。

对地榆皂苷-I 含量测定的样品前处理方法中,我们考察了甲醇、乙醇、丙酮和水共 5 种不同的提取溶剂,结果显示甲醇作为提取溶剂,地榆皂苷-I 的提取率最高。通过方法学考察,结果显示所建立的 HPLC-ELSD 法测定地榆皂苷-I 含量的方法,其线性、精密度、重复性、稳定性和加样回收率都符合规定要求,且该方法样品前处理简单快速,是一种便捷、高效、准确的测定地榆药材中地榆皂苷-I 含量的方法。对来自 3 个不同地区的 6 份药材以及对照药材进行含量测定,结果显示,药材中地榆皂苷-I 的含量为 5.21 % ~ 6.18 %,约占总皂苷含量的 59.93 % ~ 82.34 %,确证了地榆皂苷-I 是地榆药材中最主要的皂苷类成分。本研究为地榆药材质量标准的完善提供了重要参考。

参考文献:

[1] 李时珍. 本草纲目[M]. 重庆: 重庆出版社, 2006: 185.

- [2] 于蓓蓓, 钟方晓, 董学. 地榆化学成分研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16: 103.
- [3] 秦三海, 李坤, 周玲, 等. 地榆总皂苷抗肿瘤的实验研究[J]. 山东医药, 2010, 50(15): 24.
- [4] Young HK, Chan BC, Jin GK, et al. Anti-wrinkle activity of ziyuglycoside I isolated from a *Sanguisorba officinalis* root extract and its application as a cosmeceutical ingredient[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2008, 72(2): 303.
- [5] 曹爱民, 张东方, 沙明, 等. 地榆中皂苷类化合物分离、鉴定及其含量测定[J]. 中草药, 2003, 34(5): 397.
- [6] 张东方, 袁长季, 祝峥, 等. HPLC 法测定不同地区地榆中地榆皂苷-I 的含量[J]. 云南中医学院学报, 2009, 32(1): 37.
- [7] 沙东旭, 刘兆妍, 张满来, 等. HPLC-ELSD 测定知母中知母皂苷 B II 的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(12): 2106.
- [8] 丁锐, 狄天云, 王刚力, 等. HPLC-ELSD 法测定短葶山麦冬中短葶山麦冬皂苷 C 的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(1): 127.
- [9] 郭秋平, 李庆国, 高英, 等. 不同显色方法对知母总皂苷含量测定的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(6): 904.
- [10] 徐新刚, 闫雪生, 张晶. 柏子仁生品及霜品中总皂苷的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(7): 833-835.
- [11] 熊山, 陈玉武, 叶祖光. 枳实子中总皂苷含量测定[J]. 中国现代中药, 2009, 11(7): 26.
- [12] 杨燕军, 邓永燕, 赵南, 等. 枫香榭寄生总皂苷提取工艺研究及含量测定[J]. 广州中医药大学学报, 2007, 24(1): 62.

(编辑: 宋威)

GC 法测定蛇脂膏中冰片(龙脑)的含量

张仲敏¹, 黄国鑫¹, 易宇阳¹, 石书江¹, 冯学轩¹, 苏子仁¹, 曾惠芳² (1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 建立气相色谱法(GC)测定蛇脂膏中冰片(以龙脑计)的含量。**方法** 采用 GC 法, 色谱柱为石英毛细管柱 007-225 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 程序升温, 起始温度 110 ℃, 保持 0.5 min, 以每分钟 30 ℃升温至 140 ℃, 保持 2 min, 再以每分钟 50 ℃升温至 190 ℃, 保持 1.5 min, 最后以每分钟 20 ℃升温至 205 ℃, 保持 1 min, 分流比 10:1, FID 检测器; 检测器温度为 280 ℃。**结果** 用 GC 法测定蛇脂膏中冰片(以龙脑计)在 0.0516~0.1548 mg/mL 范围内呈良好的线性关系, 线性方程为: $Y=10.36X+0.0322$, $r=0.9995$ 。平均回收率 97.94 % ($n=6$), RSD 为 2.0 %。**结论** 本方法简便、准确、快速, 可用于蛇脂膏的质量控制。

关键词: 蛇脂膏; 冰片; 气相色谱

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)02-0191-03

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.02.023

GC Method for Determination of Content of Borneol in Shezhi Ointment

ZHANG Zhongmin¹, HUANG Guoxin¹, YI Yuyang¹, SHI Shujiang¹, FENG Xuexuan¹, SU Ziren¹, ZENG Huifang² (1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. The First Affiliated Hos-

收稿日期: 2012-10-29

作者简介: 张仲敏, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药新产品开发。Email: asweetheart@foxmail.com。

pital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish a GC method to determine the content of borneol in *Shezhi* Ointment. **Methods** GC method was operated on Quartz capillary column(30 m×0.25 mm×0.25 μm). Column temperature was increased by programming, with an original temperature at 110 °C kept for 0.5 minutes, raised to 140 °C at the rate of 30 °C·min⁻¹ and kept for 2 minutes, raised to 190 °C at the rate of 50 °C·min⁻¹ and kept for 1.5 minutes, and then raised to 205 °C at the rate of 20 °C·min⁻¹ and kept for 1 minute. Split ratio was 10 : 1 and FID temperature was 280 °C. **Results** The linear range of borneol in *Shezhi* Ointment was from 0.0516 to 0.1548 mg/mL. The linear equation was $Y=10.36X+0.0322$, $r=0.9995$. The average recovery was 97.94 %($n=6$) and RSD was 2.0 %. **Conclusion** The method is simple, accurate and quick, which can be used to control the quality of *Shezhi* Ointment.

Keyword: *Shezhi* Ointment; Borneol; Gas chromatography

蛇脂膏为皮肤科外用制剂,具有消肿止痛、化腐生肌等功效,常用于治疗冻疮、皲裂、湿疹、烫伤等皮肤疾患。该药主要由蛇脂、冰片、蜂蜡等组成。冰片中含有龙脑和异龙脑两种异构体,龙脑为其主要活性成分^[1-3],冰片易升华,因此,实验选用气相色谱法,以龙脑为对照品进行制剂中冰片的含量测定,为蛇脂膏的质量控制提供理论依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Varian-3900 气相色谱仪(含 FID Detector), Varian Star Chromatography Workstation Version 6.0 数据处理系统; SartoriusBP110S 分析天平; AB204-N 电子分析天平(海特勒-托利多仪器有限公司)。

1.2 试剂 龙脑对照品,中国药品生物制品鉴定所,批号:111688-200501;蛇脂膏,广州中医药大学新药研究与开发中心,批号:110801,110802,110803;内标物:正十八烷(阿尔法 D15Q12);无水硫酸钠、乙酸乙酯、石油醚(60~90 °C)等试剂均为分析纯;水为超纯水;氮气、氢气和空气为色谱纯,广州气体厂有限公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 采用石英毛细管柱 007-225(30 m×0.25 mm×0.25 μm);程序升温,起始温度 110 °C,保持 0.5 min,以每分钟 30 °C 升温至 140 °C,保持 2 min,再以每分钟 50 °C 升温至 190 °C,保持 1.5 min,最后以每分钟 20 °C 升温至 205 °C,保持 1 min,分流比 10 : 1, FID 检测器;进样口的温度为 250 °C,检测器温度为 280 °C。

2.2 样品测定方法

2.2.1 内标溶液的配制 精密称取正十八烷适量,用石油醚溶解,制成 4 mg·mL⁻¹ 的溶液,作为内标溶液。

2.2.2 对照品储备溶液的配制 精密称取龙脑对照品适量,用石油醚溶解,制成 5 mg·mL⁻¹ 的溶液,作为对照品储备溶液。

2.2.3 混合对照品溶液的制备 精密吸取对照品储备溶液及内标溶液各 0.2 mL,置 10 mL 量瓶中,加石油醚至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 供试品溶液的制备 称取蛇脂膏 0.3 g,置于 50 mL 圆底烧瓶中,加入 3 mL 石油醚溶解,再加水 30 mL;由挥发油测定器上端加水 5 mL,再加入 2 mL 的石油醚,连接回流冷凝管,加热至沸腾,并保持微沸 2 h,放冷;将挥发油测定器中的液体移至分液漏斗中,分取石油醚层,测定器再用少量石油醚洗涤;将石油醚层转入已加入适量无水硫酸钠的试管中,再将试管中的石油醚转入 10 mL 量瓶中,用少量的石油醚洗涤试管,并入量瓶,加石油醚至刻度;精密吸取供试品溶液 2 mL 及内标溶液 0.2 mL,置 10 mL 量瓶中,加石油醚至刻度,摇匀,取 1 μL 注入气相色谱仪,测定,计算,即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 按处方量配制冰片原料的阴性对照样品,按照上述色谱条件与方法进行测定,比较了供试品溶液、龙脑对照品、阴性对照品液的色谱图,样品中各色谱峰能达到基线分离,阴性对照液中色谱峰对测定无干扰,见图 1。

2.3.2 线性关系的考察 精密吸取对照品储备液各 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3 mL 适量至 10 mL 量瓶中,分别加入内标储备液 0.2 mL,再分别加入石油醚稀释至刻度即得。分别精密吸取 1 μL 注入气相色谱仪,测定,以各峰面积和正十八烷的峰面积比值为纵坐标、对照品浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算,得回归方程为 $Y=10.36X+0.0322$, $r=0.9995$ 。

结果表明,龙脑在 0.0516 ~ 0.1548 mg/mL 范围内有良好的线性关系。

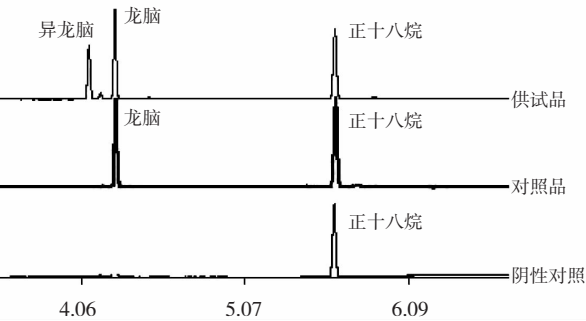


图 1 供试品溶液、龙脑对照品、阴性对照品液的色谱图
Figure 1 Gas chromatogram of the product solution, borneol reference substance, negative reference substance

2.3.3 校正因子测定 精密量取对照品溶液 0.2 mL, 置 2 mL 容量瓶中, 加入内标溶液 0.2 mL, 加石油醚稀释至刻度, 摇匀即得。取 1 μ L 注入气相色谱仪, 测定, 计算校正因子为 1.126, RSD 为 1.0 % ($n=6$)。

2.3.4 精密度试验 取蛇脂膏样品 1 份, 按照 2.2.4 项下方法配制成供试品溶液后, 连续重复进样 6 次, 测定龙脑的含量, 结果其平均含量为 18.375 mg/g, RSD 为 0.82 % ($n=6$), 说明仪器的精密度良好。

2.3.5 重复性试验 取同一批号的蛇脂膏样品 6 份, 按样品测定方法下平行试验, 测定龙脑含量, 结果其平均含量为 18.400 mg/g, RSD 为 1.40 % ($n=6$), 说明该方法具有较好的重现性。

2.3.6 稳定性试验 取蛇脂膏样品 1 份, 按照 2.2.4 项下方法配制成供试品溶液后, 分别在第 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 测定龙脑含量, 结果其平均含量为 18.271 mg/g, RSD 为 1.2 % ($n=6$), 说明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.3.7 加样回收率试验 精密称取已知含量的蛇脂膏 6 份, 加入一定量的龙脑和内标的混合对照液, 按照上述样品测定方法测定龙脑含量, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 龙脑加样回收率试验

编号	样品量/mg	加入量/mg	实测值/mg	加样回收率/%	平均加样回收率/%	RSD/%
1	2.907	2.525	5.253	96.71	97.94	2.0
2	2.819	2.525	5.232	97.90		
3	2.796	2.525	5.383	101.16		
4	2.823	2.525	5.310	99.29		
5	2.823	2.525	5.147	96.25		
6	2.905	2.525	5.229	96.30		

2.4 样品的测定 取本品 3 批, 按照样品测定方法项下操作, 计算龙脑的含量分别为 18.620 mg/g (批号: 110801), 18.201 mg/g (批号: 110802), 18.311 mg/g (批号: 110803)。

3 讨论

《中国药典》中明确指出了冰片含量测定的方法^[4], 因此, 试验采用 GC 法测定冰片的含量。经过多次对 GC 分析法程序升温步骤进行考察, 与以往的研究相比较^[5-6], 本法明显缩短了冰片的出峰时间, 并保证了冰片出峰稳定。

在选择蛇脂膏中冰片(以龙脑计)的提取方法时, 选择了水蒸气蒸馏法提取。该方法常用于提取具有挥发性或升华性的样品^[7-9], 由于冰片为易升华的成分, 采用水蒸气蒸馏提取法, 可避免提取过程中冰片的损失, 使冰片提取的更完全, 可更有效地控制蛇脂膏的质量。采用水蒸气蒸馏提取法, 主要的影响因素包括提取的时间和挥发油提取器中加入的溶剂。分别加热回流 30, 60, 90, 120, 150, 180 min 提取, 发现回流提取 120 min 以后, 含量不再增加, 并略有下降。因此, 将供试品溶液制备的提取时间确定为 120 min。研究比较了石油醚和乙酸乙酯等不同溶剂, 发现乙酸乙酯可造成检测结果偏低, 因此, 选用石油醚作为加入溶剂。采用水蒸气蒸馏提取法, 测定蛇脂膏中冰片(以龙脑计)的含量, 实测值达理论值 95 % 以上, RSD 为 2.0 %, 该方法简便、准确、重复性好, 为评价蛇脂膏的质量提供依据。

根据各批样品冰片含量测定的结果, 并考虑到本剂型特点, 拟定限度为不低于 16.80 mg/g (以冰片含龙脑 $C_{10}H_{18}O_6$ 为 2.6 % 计, 相当于含冰片不低于标示量的 90 %), 测定的各批样品都能符合规定。

参考文献:

[1] 曲柏超. 浅谈冰片的药理研究与临床应用[J]. 中国药物经济学, 2012, 1(2): 30-31.

[2] 陈建南, 曾惠芳, 李耿, 等. 龙脑樟挥发油及天然冰片成分分析[J]. 中药材, 2005, 28(9): 781.

[3] 王怡. 天然冰片在复方丹参滴丸中的作用及量效关系研究[J]. 中草药, 2004, 35(6): 672.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 136.

[5] 左正龙, 惠民权, 申旭霁, 等. 丹参素冰片酯乳剂中丹参素冰片酯和冰片的含量测定[J]. 中国药业, 2012, 21(3): 18-19.

[6] 梁燕, 李蓉. 三黄油中冰片的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(5): 1132-1133.

[7] 刘晓丽, 钟少枢, 于泓鹏, 等. 微波法和水蒸气蒸馏法提取丁香精油的研究[J]. 食品与机械, 2012, 4: 110-112.

[8] 张伟, 丘泰球. 超声强化水蒸气蒸馏法提取天然右旋龙脑[J]. 现代食品科技, 2010, 26(8): 834-836.

[9] 刘继鑫, 王克霞, 李朝品. 水蒸气蒸馏法提取中药挥发油存在的问题及解决方法[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(1): 97-98.

(编辑: 宋威)