

气相色谱法同时测定苏合香丸中龙脑、丁香酚及麝香酮的含量

闵祺, 王闯

(锦州市药品检验检测中心, 锦州 121000)

摘要 目的: 建立同时测定苏合香丸中龙脑、丁香酚及麝香酮的含量的气相色谱法。方法: 气相色谱条件: DB-5 毛细管色谱柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 氢火焰离子化检测器 (FID); 进样口温度 200 °C; 检测器温度 300 °C; 柱温以 90 °C 为起始温度, 以 3 °C·min⁻¹ 升温至 140 °C, 保持 3 min, 以 5 °C·min⁻¹ 升温至 280 °C, 保持 15 min; 载气为氮气, 流速为 1.5 mL·min⁻¹; 进样方式为分流进样, 分流比 20:1; 进样量为 1 μL。结果: 龙脑、丁香酚、麝香酮的浓度分别在 0.035~3.5 mg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 7$), 0.02~2.1 mg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 8$), 0.016~1.56 mg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 7$) 的范围内呈良好线性关系; 平均回收率 ($n=9$) 分别为 96.8%~98.7%, 97.3%~100.3%, 98.8%~100.4%。结论: 该方法完善了现行标准, 可高效、准确地同时测定苏合香丸中龙脑、丁香酚、麝香酮 3 个成分的含量。

关键词: 苏合香丸; 龙脑; 丁香酚; 麝香酮; 气相色谱法; 含量测定

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2018) 02-0359-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2018.02.26

Simultaneous determination of borneol, eugenol and muscone in Suhexiang pills by GC

MIN Qi, WANG Chuang

(Jinzhou Institute for Drug Control, Jinzhou 121000, China)

Abstract Objective: To establish a GC method for the simultaneous determination of borneol, eugenol and muscone in Suhexiang pills. **Methods:** Chromatographic conditions: Capillary column DB-5 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm) was used; The detector was FID; Inlet temperature was 200 °C; The detector temperature was 300 °C. The column temperature was programmed to start at 90 °C, rise to 140 °C at a rate of 3 °C·min⁻¹, and then rise to 280 °C at a rate of 5 °C·min⁻¹, maintained for 15 min; Nitrogen (1.5 mL·min⁻¹) was used as the carrying gas, and the split ratio was 20:1; the injection volume was 1 μL. **Results:** the linear ranges of borneol, eugenol and muscone acetate were 0.035~3.5 mg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 7$), 0.02~2.1 mg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 8$), 0.016~1.56 mg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 7$), respectively. Their average recovery rates ($n=9$) were 96.8%~98.7%, 97.3%~100.3%, 98.8%~100.4%, respectively. **Conclusion:** The established method has improved the existing standards and it was efficient and accurate for the determination of borneol, eugenol and muscone in Suhexiang pills.

Keywords: Suhexiang pills; borneol; eugenol; muscone; GC; assay

第一作者 Tel: (0416) 2655923; E-mail: youlinzhizhu@163.com

苏合香丸收载于2015年版中国药典一部^[1],源于宋代《太平惠民和剂局方》,中医芳香开窍著名代表方剂之一^[2-3]。目前由苏合香、冰片、人工麝香、丁香、木香等15味中药组成,具有芳香开窍、行气止痛之功效。用于痰迷心窍所致的痰厥昏迷、中风偏瘫、肢体不利以及中暑、心胃气痛、神志不清等症状^[4-6]。中国药典的方法为气相色谱法同时测定苏合香丸冰片中龙脑和丁香中丁香酚的含量。但作为君药并且是贵细药材的人工麝香没有纳入质量控制的范围,人工麝香的主要成分为挥发性物质麝香酮,因此为了更全面地控制该制剂的质量,以提高苏合香丸质量评价标准为目的,有必要把麝香酮作为质量控制的项目。另外,目前用同一根色谱柱一次进样同时测定苏合香丸中龙脑、丁香酚和麝香酮的方法也尚未见文献报道。本文在对相关分析方法优化的基础上,建立了气相色谱法同时测定苏合香丸中龙脑、丁香酚和麝香酮的含量,该方法操作简便,结果准确,专属性强,可以作为苏合香丸中这3种成分的质量控制方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

岛津GC-2010 Plus型气相色谱仪;氢火焰离子化检测器(FID);Mettler XS205DU十万分之一电子天平(梅特勒托利多电子天平);KQ5200超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司,功率250 W,频率40 kHz)。DB-5(5%二苯基95%二甲基聚硅氧烷固定液)毛细柱,规格(30 m×0.25 mm, 0.25 μm, 安捷伦科技有限公司)。

1.2 试剂

对照品龙脑(110881-201508,含量96.8%)、丁香酚(110725-201112,含量99.3%)、麝香酮(110719-201215,含量99.6%),均购于中国食品药品检定研究院;乙酸乙酯为色谱纯,Fisher公司生产;水为超纯水,自制。

1.3 样品

收集了市面上现有全部3个厂家:北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂(厂家A)、雷允上药业有限公司(厂家B)、承德颈复康药业集团有限公司(厂家C)的9批苏合香丸(均为大蜜丸,规格:每丸3.0 g)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:DB-5(5%二苯基95%二甲基聚硅氧

烷固定液)毛细柱,规格30 m×0.25 mm, 0.25 μm;进样口温度:200℃;检测器:FID检测器,温度为300℃(见表1);分流比:20:1;柱流量:1.5 mL·min⁻¹;进样量:1 μL。柱温以90℃为起始温度,以3℃·min⁻¹升温至140℃,保持5 min,以5℃·min⁻¹升温至280℃,保持15 min。理论塔板数以龙脑峰计为62 145,各组分与前后杂质分离度均大于1.5,符合实验要求。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品储备液 取龙脑、丁香酚、麝香酮的对照品适量,精密称定,置同一量瓶中,加乙酸乙酯制成每1 mL含龙脑、丁香酚、麝香酮分别约为3、1、1 mg的溶液,作为混合对照品储备液。

2.2.2 供试品溶液 称取本品10丸,精密称定,剪碎,取4 g,精密称定,精密加入4 g硅藻土,研细,取约1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入乙酸乙酯20 mL,称量,超声提取(功率250 W,频率33 kHz)20 min,放冷,再称量,用乙酸乙酯补足减失的量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 方法学验证

2.3.1 线性关系、定量限和检出限 精密量取混合对照品储备液0.1、0.5、1.0、5.0、10.0 mL至10 mL量瓶中,乙酸乙酯定容,得到一系列混合对照品溶液,质量浓度分别为:龙脑0.035、0.175、0.875、1.750、3.500 mg·mL⁻¹,丁香酚0.016、0.078、0.156、0.780、1.56 mg·mL⁻¹,麝香酮0.014、0.068、0.136、0.680、1.360 mg·mL⁻¹,进样测定,以峰面积(A)为横坐标,以质量浓度(C, mg·mL⁻¹)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程。按照信噪比S/N=10和S/N=3确定3个成分的定量限和检出限,结果见表1。

2.3.2 精密度试验 精密量取同一份混合对照品溶液,连续进样6次,以峰面积计算RSD(n=6),结果上述混合对照品溶液中龙脑、丁香酚和麝香酮峰面积的RSD分别为1.3%、0.7%、1.5%,各峰面积的RSD均小于2.0%,表明该方法精密度良好。

2.3.3 稳定性试验 取混合对照品溶液的中间浓度,按照“2.1”色谱条件,分别在0、2、4、6、8、10、16、24 h进样,测定色谱峰面积,龙脑、丁香酚、麝香酮峰面积RSD分别为2.9%、2.8%、2.2%,均小于3.0%,表明3种组分溶液在24 h内稳定。

表 1 回归方程、相关系数、线性范围、检出限和定量限

Tab. 1 Regression equations, correlation efficient, linear range, LOQ and LOD

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	<i>r</i>	线性范围 (linear range)/(mg·mL ⁻¹)	定量限(LOQ)/ (μg·mL ⁻¹)	检出限(LOD)/ (μg·mL ⁻¹)
龙脑(borneol)	$C=8.2 \times 10^{-8}A-0.0071$	0.9997	0.035-3.5	0.095	0.030
丁香酚(eugenol)	$C=9.9 \times 10^{-8}A+0.0054$	0.9998	0.02-2.1	0.098	0.032
麝香酮(muscone)	$C=8.1 \times 10^{-8}A+0.007$	0.9997	0.016-1.56	0.112	0.028

2.3.4 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 9 份, 每份约 1.0 g, 分别精密加入 3 种混合对照品储备液 1.0、5.0、10.0 mL, 制备低、中、高 3 个浓度样品, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 每个浓度平

行做 3 份。按“2.1”项下色谱条件进样测定, 龙脑、丁香酚、麝香酮的平均回收率分别为 96.8%~98.7%、97.3%~100.3%、98.8%~100.4%, RSD 均小于 2.0%, 结果见表 2。

表 2 加样回收率结果(*n*=3)

Tab. 2 Results of recovery test

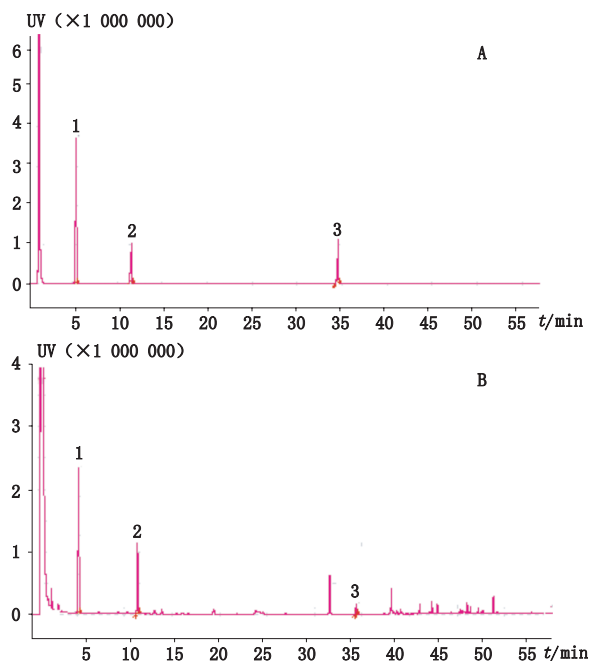
成分 (component)	样品取样量 (sample amount)/g	样品成分含量 (sample component)/mg	加标量 (added amount)/mg	测得量 (measured amount)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
龙脑(borneol)	1.0516	7.596	3.50	11.057	97.1	98.7	1.5
	1.0252	7.776	3.50	11.171	98.9		
	1.0092	7.616	3.50	11.124	100.1		
	1.0604	7.476	17.50	24.829	96.3	96.8	0.8
	1.0556	7.856	17.50	24.686	96.6		
	1.0496	7.792	17.50	24.622	97.6		
	1.0728	7.820	35.00	41.938	96.4	97.5	1.0
	1.0856	7.948	35.00	41.734	97.9		
丁香酚(eugenol)	1.0813	8.044	35.00	42.327	98.2		
	1.0516	2.036	1.56	3.612	101.1	100.3	1.4
	1.0252	2.084	1.56	3.625	98.8		
	1.0092	2.044	1.56	3.623	101.2		
	1.0604	2.004	7.80	9.774	99.6	98.5	1.5
	1.0556	2.108	7.80	9.661	96.8		
	1.0496	2.088	7.80	9.822	99.2		
	1.0728	2.096	15.6	17.225	97.0	97.3	0.3
麝香酮(muscone)	1.0856	2.132	15.6	17.367	97.7		
	1.0813	2.156	15.6	17.338	97.3		
	1.0516	0.976	1.36	2.304	97.6	98.8	1.5
	1.0252	0.996	1.36	2.333	98.3		
	1.0092	0.976	1.36	2.343	100.5		
	1.0604	0.960	6.80	7.716	99.4	99.1	0.9
	1.0556	1.008	6.80	7.796	99.8		
	1.0496	1.000	6.80	7.675	98.2		
	1.0728	1.004	13.60	14.691	100.6	100.4	0.6
	1.0856	1.020	13.60	14.582	99.7		
	1.0813	1.032	13.60	14.754	100.9		

2.4 样品测定结果

取 3 个厂家共 9 批不同批次的样品, 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 分别精密吸取供

试品溶液 1 μL 注入气相色谱仪, 按照“2.1”项下色谱条件测定, 记录 GC 色谱图。混合对照品和样品的色图谱见图 1。样品中龙脑、丁香酚和麝香酮含量测

定结果分别见表3,结果龙脑含量为12.1~24.4 mg·丸⁻¹,丁香酚含量为3.9~8.9 mg·丸⁻¹,麝香酮含量为1.6~3.4 mg·丸⁻¹。



1. 龙脑 (borneol) 2. 丁香酚 (eugenol) 3. 麝香酮 (muscone)

图1 混合对照品(A)和样品(B)的色谱图

Fig. 1 GC chromatograms for mixed reference substances (A) and samples (B)

表3 不同厂家3种组分的含量测定结果表(mg·丸⁻¹)

Tab. 3 Content of three kinds of component from different pharmaceutical manufacturers (mg per pill)

厂家 (manufacturer)	批号 (batch No.)	龙脑 (borneol)	丁香酚 (eugenol)	麝香酮 (muscone)
A	1010016	24.0	5.0	3.3
	9010464	19.0	3.9	2.5
	1010195	24.4	8.9	3.4
B	KB35001	15.8	4.3	2.1
	KB35002	15.1	5.3	1.9
	KB35003	12.1	6.5	1.6
C	195159	16.1	5.6	1.7
	198246	19.2	4.8	2.1
	198033	18.1	5.0	2.4

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

根据3个组分的极性,参考相关文献^[7-14],先后

选择了DB-WAX, DB-1, DB-5不同极性的色谱柱进行考察,在同一色谱柱温条件下,在DB-WAX和DB-1 2个色谱柱上麝香酮和前后峰的分度达不到分离要求,而在中等极性的DB-5色谱柱上,3个组分与前后杂质峰的分度均能满足实验要求,故色谱柱选定DB-5。

3.2 测定方法的选择

由于3个组分均为易挥发性的物质,并且药典标准中只规定了采用外标法定量测定龙脑和丁香酚的含量,由于方法中只规定了含量的下限,并未规定上限,而实验结果表明龙脑含量为12.1~24.4 mg·丸⁻¹,丁香酚含量为3.9~8.9 mg·丸⁻¹,可以看出不同批次之间含量浓度波动大,若采用外标法,需要进一步稀释样品使浓度在对照品浓度的80%~120%范围内^[15],用标准曲线法可以一次测定涵盖不同浓度范围的样品,更能保证结果的准确性。

3.3 麝香酮的定量分析

人工麝香作为苏合香丸中的君药并且是贵细药材,应对其进行质量控制,按中国药典2015年版一部要求,麝香药材按照麝香酮计算应≥2.0%;而按照苏合香丸的处方,75 g人工麝香共制成960丸,即每丸含人工麝香为78.125 mg,再根据药典要求置信区间约为90%左右,综合上述3个条件,建议将麝香酮的含量范围定为:苏合香丸中含人工麝香按照麝香酮计算,每丸应不得少于1.4 mg。本次检测的3个厂家9批次的苏合香丸中麝香酮的含量范围为1.6~3.4 mg·丸⁻¹,说明本规定比较合理。

3.4 3个组分含量的比较分析

3个组分参照2015年版中国药典一部检验,按照药典中规定的每丸含冰片以龙脑(C₁₀H₁₈O)计,不得少于10.0 mg;含丁香以丁香酚(C₁₀H₁₂O₂)计,不得少于3.5 mg;含人工麝香按照麝香酮(C₁₆H₃₀O)计,不得少于1.4 mg。3个厂家的3个组分含量均高于最低限度,厂家A、B和C的苏合香丸中龙脑、丁香酚和麝香酮的平均含量分别为:厂家A:22.5、5.9、3.1 mg·丸⁻¹,厂家B:14.3、5.3、1.9 mg·丸⁻¹,厂家C:17.8、5.1、2.1 mg·丸⁻¹。经计算,3个厂家龙脑、丁香酚和麝香酮的平均偏差为4.0%、1.5%、0.6%。可以看出不同厂家龙脑含量差别最大,另外2个成分的含量差别相对较小,不同厂家之间龙脑含量最大相差8.2 mg·丸⁻¹,在正常投料的情况下,含量差别与生产工艺和包装材料的密封性以及产品的效期有关。

3.5 小结

本文建立了同时测定苏合香丸中龙脑、丁香酚及麝香酮 3 个组分的气相色谱法,增加了麝香酮的含量测定,弥补了原标准中只能同时测定龙脑和丁香酚的不足,提高了方法的实验效率。另外,人工麝香作为苏合香丸中君药和贵细药材之一,有必要对其主要成分麝香酮的含量进行质量控制,从而保证药品质量的有效性。该法准确,专属性强,灵敏度高,可对 3 个组分进行有效控制。

3 个厂家的 3 个组分含量均高于中国药典 2015 年版一部规定的限度,满足生产要求和质量规定,说明该产品就现行标准是符合规定的。但不同厂家和不同批号之间 3 个成分的含量还是有较大差别,尤其是龙脑的含量远高于限度,由于含量均没有规定上限,这样可能在质控中不能发挥作用,建议设定含量的上限,规定含量范围,从而保证最终产品批次间含量的稳定性,确保制剂的安全性和有效性。

参考文献

- [1] 中国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 931
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 931
- [2] 边晶, 张洪义. 苏合香丸古今应用初探[J]. 中医药临床杂志, 2016, 28(6): 875
BIAN J, ZHANG HY. Study on ancient and modern application of Suhexiang pills [J]. Clin J Tradit Chin Med, 2016, 28(6): 875
- [3] 罗树梅. 驱风苏合香丸应用举隅[J]. 河北中医, 2003, 25(12): 919
LUO SM. Application of Qufeng Suhexiang pills [J]. Hebei J TCM, 2003, 25(12): 919
- [4] 冷伟. 苏合香丸治疗急性中风 108 例[J]. 中国药物经济学, 2012(4): 132
LENG W. 108 cases of acute stroke were treated by Suhexiang pills [J]. China J Pharm Econ, 2012(4): 132
- [5] 徐晓军. 苏合香丸联合地黄饮子治疗脑动脉硬化症 42 例临床观察[J]. 湖南中医药, 2014, 30(11): 56
XU XJ. 42 cases of clinical observation of cerebral artery sclerosis were treated by Suhexiang pills combined Dihuang Yinzi [J]. Hunan J Tradit Chin Med, 2014, 30(11): 56
- [6] 李春雷, 张峰, 黄川峰. 血塞通注射液联合苏合香丸治疗脑梗死急性期的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(15): 1350
LI CL, ZHANG F, HUANG CF. Clinical trial of Xuesaitong injection combined with Suhexiang pills in the treatment of acute cerebral infarction [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2016, 32(15): 1350
- [7] 郑林, 王爱民, 黄勇, 等. GC 法测定紫金透骨喷雾剂中龙脑的含量及稳定性[J]. 中国药房, 2011, 22(27): 2551
ZHENG L, WANG AM, HUANG Y, et al. Content determination and stability of borneol in Zijin Tougou sprays by GC [J]. China Pharm, 2011, 22(27): 2551
- [8] 赵祥升, 黄立标, 杨海建, 等. GC 法同时测定肉豆蔻中丁香酚、异丁香酚、肉豆蔻醚和榄香脂素的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(9): 1569
ZHAO XS, HUANG LB, YANG HJ, et al. Simultaneous determination of eugenol, isoeugenol, myristicin and elemicin in *Myristica fragrans* Houtt by GC [J]. Chin J Pharm Anal, 2012, 32(9): 1569
- [9] 张翠英, 李振国, 马晓峰, 等. 毛细管气相色谱法测定消癌胶囊中麝香酮和冰片的含量[J]. 中国药师, 2007, 10(11): 1101
ZHANG CY, LI ZG, MA XF, et al. Determination of the contents of muscone and borneol in Xiaocai capsules by capillary gas chromatography [J]. China Pharm, 2007, 10(11): 1101
- [10] 张守尧, 王鹏, 张忠义, 等. 固相萃取 GC-MS 法测定通栓醒脑注射液中冰片和麝香酮的含量[J]. 分析测试学报, 2005, 24(2): 104
ZHANG SY, WANG P, ZHANG ZY, et al. Determination of borneol and muscone in Tongshuan Xingnao injections with solid phase extraction and GC-MS [J]. J Instrum Anal, 2005, 24(2): 104
- [11] 陈冬芬, 金樟照, 吴文军, 等. 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[J]. 药物分析杂志, 2008, 32(9): 1877
CHEN DF, JIN ZZ, WU WJ, et al. Simultaneous GC determination of α -pinene, (+)-borneol, (-)-borneol in Bingqiao [J]. Chin J Pharm Anal, 2008, 32(9): 1877
- [12] 郝美玲, 籍学伟, 王玉华. GC 测定八味沉香胶囊中丁香酚含量[J]. 中成药, 2010, 32(1): 166
HAO ML, JI XW, WANG YH. Determination of the contents of eugenol in Bawei Chengxiang capsules by GC [J]. Chin Tradit Pat Med, 2010, 32(1): 166
- [13] 赵啸虎, 郭美玲. 气相色谱法测定血栓心脉宁胶囊中麝香酮含量[J]. 中国药品标准, 2016, 17(3): 181
ZHAO XH, GUO ML. Determination of muscone in Xueshuan Xinmaining capsules by GC [J]. Drug Stand China, 2016, 17(3): 181
- [14] 彭敏, 邓楠, 刘文, 等. GC-MS 法同时测定复方麝香注射液中麝香酮、 β -细辛醚、百秋李醇、龙脑、薄荷脑[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(5): 855
PENG M, DENG N, LIU W, et al. Simultaneous determination of muscone, β -asarone, patchouli alcohol, borneol, menthol in compound Shexiang injection by GC-MS [J]. Chin J Pharm Anal, 2014, 34(5): 855
- [15] 金樟照, 祝明, 王志宇. 一点法与工作曲线法两种外标法选择依据的探讨[J]. 中国现代应用药学杂志, 2002, 19(1): 58
JIN ZZ, ZHU M, WANG ZY. Discussion on superseding working curve method using one-point external standard method in quantitative analysis [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2002, 19(1): 58

(本文于 2017 年 3 月 28 日收到)