



气相色谱法测定清肠栓中樟脑残留量和冰片含量

潘宇炯, 何志高, 周昕, 章恒周, 杨月红, 黄景山

Determination of camphor residue and borneol content in Qingchang Suppository by GC

PAN Yujiong, HE Zhigao, ZHOU Xin, ZHANG Hengzhou, YANG Yuehong, HUANG Jingshan

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202208110>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

气相色谱法测定复方樟脑搽剂中樟脑与薄荷脑含量及其不确定度评估

Determination of camphor and menthol in compound camphor liniment by GC and evaluation of uncertainty
药学实践与服务. 2018, 36(6): 522-528 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.06.010

用气相色谱法测定血液制品生产过程中中间品乙醇的含量

Determination of ethanol content in intermediate products during the production of blood products by GC
药学实践与服务. 2019, 37(5): 464-465,469 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.05.015

HPLC法同时测定地米樟酚乳膏中醋酸地塞米松、樟脑和苯酚的含量

Simultaneous determination of dexamethasone acetate, camphor and phenol in compound cream by HPLC method
药学实践与服务. 2017, 35(6): 551-553,576 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.06.017

高效液相色谱法测定不同产地假中的 α -细辛脑含量

Determination of content of α -Asarone in *Piper sarmentosum* Roxb. from different habitats by HPLC
药学实践与服务. 2019, 37(4): 348-351 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.04.012

高效液相色谱法测定鼻炎灵胶囊中黄芩苷含量

Determination of baicalin in Bianling capsule by HPLC
药学实践与服务. 2017, 35(1): 64-66 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.01.015

高效液相色谱法测定降脂护肝胶囊中葛根素的含量

Determination of puerarin in Jiangzhi Hupan capsule by HPLC
药学实践与服务. 2017, 35(3): 259-261 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.03.016



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 研究报告 ·

气相色谱法测定清肠栓中樟脑残留量和冰片含量

潘宇炯¹, 何志高¹, 周昕¹, 章恒周², 杨月红¹, 黄景山¹ (1. 上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032; 2. 上海万仕诚药业有限公司, 上海 201507)

[摘要] 目的 建立清肠栓中樟脑残留物和冰片含量的气相测定方法。方法 采用气相色谱法, 色谱柱为 Agilent 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm), 柱温为 140 °C, 进样口温度 250 °C, 检测器(FID)温度为 250 °C。结果 樟脑、龙脑和异龙脑在 0.0299 ~ 1.497 μg($r=1.000$)、0.0205 ~ 1.025 μg($r=1.000$)、0.0097 ~ 0.4830 μg($r=1.000$)范围内呈现良好的线性关系。精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2%, 平均加样回收率分别为 99.7%、101.0%、102.5%。结论 该方法准确、可靠、简便快速, 可用于清肠栓中龙脑含量的测定。

[关键词] 气相色谱法; 清肠栓; 樟脑; 龙脑; 异龙脑; 含量测定

[文章编号] 2097-2024(2023)09-0552-05

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202208110

Determination of camphor residue and borneol content in Qingchang Suppository by GC

PAN Yujiong¹, HE Zhigao¹, ZHOU Xin¹, ZHANG Hengzhou², YANG Yuehong¹, HUANG Jingshan¹ (1. Longhua Hospital Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032 China; 2. Shanghai Wanshicheng Pharmaceutical limited, Shanghai 201507 China)

[Abstract] **Objective** To establish a gas chromatography for simultaneous determination of camphor residue and borneolum content in Qingchang Suppository. **Methods** Gas chromatograph method was used. The chromatographic column was Agilent capillary column(30 m×0.25 mm×0.25 μm). The column temperature was 140 °C. The sample injection temperature was 250 °C. The FID detector temperature was 250 °C. **Results** Camphor, borneol and isoborneol content showed good linear in the extent of 0.0299 ~ 1.497($r=1.000$), 0.0205 ~ 1.025($r=1.000$), 0.0097 ~ 0.4830 μg ($r=1.000$). RSDs of precision, stability and repeatability test results were less than 2%. The recovery was 99.7%, 101.0%, 102.5%. **Conclusion** This method is simple and quick with accurate result, which could be used for the content determination of Borneol in Qingchang Suppository.

[Key words] GC; Qingchang Suppository; Camphor; Borneol; Isoborneol; Content determination

清肠栓是由上海市名中医马贵同教授创制的医院制剂。该方基于溃疡性结肠炎“湿热瘀互结肠道”的关键病机, 以清热化湿、活血止血立法, 在锡类散、青黛散治疗黏膜溃疡的基础上优化筛选而来^[1-2]。主要由三七和青黛全粉入药, 五倍子和马齿苋经提取后浸膏粉入药, 再加入冰片、羊毛脂, 以半合成脂肪酸酯为基质制备而成的中药栓剂。

冰片为一种传统中药, 清香宣散, 具有开窍醒神, 清热败毒的功效。现代药理学研究表明, 冰片具有镇静安神、醒脑、促透、抗菌、抗炎等作用^[3]。

冰片常被用于肛肠外科, 可避免药物的首过效应, 提高药物有效性。冰片能开放并透过血脑屏障, 有助于其他药物通过血脑屏障, 促进疗效^[4]。

冰片具有挥发性, 龙脑常被作为其主要的质量控制指标, 含量测定方法主要包括气相色谱法、衍生化高效液相色谱法、薄层色谱法等^[5]。2020年版《中国药典》中, 采用气相色谱法测定, 冰片含龙脑成分不得少于 55.0%, 樟脑不得超过 0.50%^[6]。目前, 已有文献对清肠栓中三七皂苷、人参皂苷、没食子酸、靛蓝和靛玉红进行含量测定^[7-8], 故本实验采用气相色谱法对清肠栓中冰片含量进行测定, 并计算龙脑、异龙脑的相对含量, 为进一步提高清肠栓的质量控制提供有效依据。

1 材料

1.1 仪器

7820A 型气相色谱仪、氢火焰离子化检测

[基金项目] 上海市进一步加快中医药传承创新发展三年行动计划(ZY(2021-2023)-0203-01)

[作者简介] 潘宇炯, 本科, 主管药师, 研究方向: 医院制剂生产及研究, Email: pyjandyh@sina.com

[通信作者] 黄景山, 本科, 中药师, 研究方向: 中药制剂, Email: hjsby@163.com

(FID)(美 Agilent 公司); 225D-1CN 型电子分析天平、BSA124S 型电子分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司, 精度: 十万分之一); S450H 型超声波清洗器(德国 Elma)。

1.2 试药

清肠栓为院内制剂室提供(批号: 210420-210425、211018、211020、211022、211025、190107、190114、190121、190304、190311、190318、190408、190415、190422、190506、190513 和 200302); 樟脑对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号: 2814, 纯度: 95.0%); 龙脑对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110881-201709, 纯度: 99.6%); 异龙脑对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 111512-201904, 纯度: 98.4%); 水为超纯水(实验室自制); 乙酸乙酯(上海凌峰化学试剂有限公司, 分析纯)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Agilent7890A 型气相色谱仪 FID 检测器; DIKMA DM-Wax 聚乙二醇 20 000(PEG-20M)毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm); 进样口温度为 250 °C; 检测器(FID)温度为 250 °C; 柱温 140 °C; 空气流速为 450 ml/min, 氢气燃气流速为 50 ml/min; 尾吹气为 25 ml/min; 分流比为 20:1, 进样量为 1 μl。理论板数按龙脑峰计算应不低于 2 000。

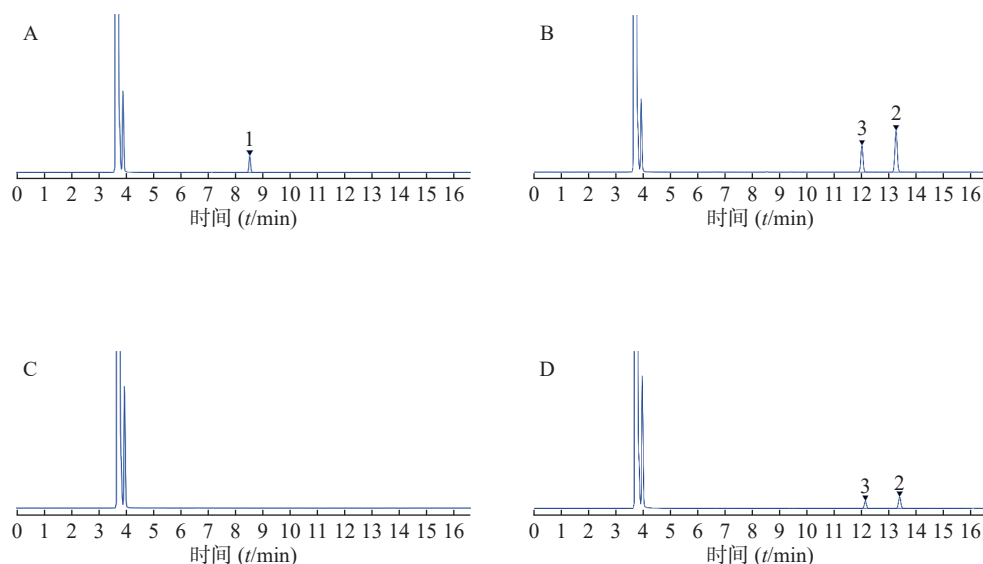


图 1 樟脑对照品(A)、龙脑和异龙脑对照品(B)、阴性对照(C)和供试品溶液(D)

1.樟脑; 2.龙脑; 3.异龙脑

2.5.2 线性关系

分别精密称取龙脑对照品 14.92 mg、异龙脑对照品 10.25 mg、樟脑对照品 4.83 mg, 置同一 10 ml 量瓶中, 加乙酸乙酯溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成

2.2 对照品溶液的制备

称取樟脑对照品适量, 精密称定, 加乙酸乙酯溶解, 制成每 1 ml 含樟脑 0.1 mg 的对照品溶液。另取龙脑、异龙脑对照品适量, 精密称定, 加乙酸乙酯溶解, 制成每 1 ml 含龙脑 0.3 mg、异龙脑 0.2 mg 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取清肠栓(批号: 200302)样品 10 粒, 研细, 取约 60 mg, 精密称定, 置 10 ml 量瓶中, 加乙酸乙酯 8 ml, 超声(频率 37 kHz, 功率 800 w)处理 30 min, 放冷, 加乙酸乙酯至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备

按清肠栓制剂处方比例, 配制缺冰片的阴性样品, 再按供试品溶液制备方法制备, 即得。

2.5 方法学验证

2.5.1 专属性试验

精密吸取樟脑对照品溶液、龙脑和异龙脑对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 1 μl, 按“2.1”项色谱条件下方法分别进样测定, 结果樟脑、异龙脑和龙脑对照品的理论板数分别为 88 684、107 331、108 387, 远大于规定的 2 000。供试品溶液色谱图中, 未检出与樟脑对照品溶液保留时间相同的色谱峰, 阴性对照溶液色谱图中在与龙脑、异龙脑相同保留时间处无干扰峰, 表明该方法专属性良好。色谱图见图 1。

每 1 ml 含龙脑 1.492 mg、异龙脑 1.025 mg、樟脑 0.483 mg 的混合对照品溶液, 作为贮备液。

精密吸取 5 份贮备液各 1 ml, 加乙酸乙酯分别稀释 50 倍、20 倍、5 倍、2 倍、1 倍; 分别精密吸取

5个不同浓度的龙脑、异龙脑、樟脑混合对照品溶液,分别进样1 μ l,按“2.1 色谱条件”项下的方法测定,以进样浓度(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,求得回归方程分别为: $Y_1=283.4X_1+1.320$ ($r=1.000, n=5$); $Y_2=283.5X_2+0.8597$ ($r=1.000, n=5$); $Y_3=276.9X_3+0.5444$ ($r=1.000, n=5$)。线性范围分别为0.0299~1.497 μ g、0.0205~1.025 μ g、0.0097~0.4830 μ g。

2.5.3 精密度试验

精密吸取“2.2”项下对照品溶液,按“2.1”项的方法测定,重复进样6次,测定峰面积。结果龙脑、异龙脑、樟脑峰面积RSD分别为0.3%、0.4%、0.6%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.5.4 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液(批号:200302),室温下分别放置0、4、8、12、16、20、24 h,按“2.1 色

谱条件”项下的方法测定,记录峰面积。结果樟脑未检出,龙脑与异龙脑峰面积的RSD分别为1.6%和1.5%,表明供试品溶液在室温下放置24h稳定。

2.5.5 重复性试验

精密称取清肠栓样品粉末60 mg(批号:200302),精密称定,平行称取6份,按“2.3 供试品溶液的制备”项下制备供试品溶液,按“2.1”项方法测定,结果均未检出樟脑,龙脑和异龙脑平均含量的RSD分别为0.8%和1.1%($n=6$),表明该方法的重复性良好。

2.5.6 加样回收率试验

称取清肠栓样品粉末30 mg(批号:200302),精密称定,平行称取6份,分别精密加入龙脑、异龙脑、樟脑对照品溶液,按“2.3”项方法制备供试品溶液,按“2.1”项方法测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表1。

表1 龙脑回收率试验($n=6$)

成分	原有量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
龙脑	0.47	0.50	0.97	100.8	101.0	0.51
	0.48	0.50	0.98	101.6		
	0.47	0.50	0.97	101.2		
	0.47	0.50	0.97	100.8		
	0.47	0.50	0.97	100.2		
	0.47	0.50	0.97	101.4		
异龙脑	0.28	0.29	0.58	102.8	102.5	1.66
	0.28	0.29	0.59	104.5		
	0.28	0.29	0.58	104.2		
	0.28	0.29	0.57	100.4		
	0.28	0.29	0.58	102.1		
	0.28	0.29	0.57	100.8		
樟脑	0.00	0.13	0.12	97.06	99.69	3.77
	0.00	0.13	0.12	93.91		
	0.00	0.13	0.13	102.6		
	0.00	0.13	0.13	99.43		
	0.00	0.13	0.13	104.2		
	0.00	0.13	0.13	101.0		

2.6 样品含量测定

取清肠栓制剂2019、2021年共20个批次的样品,按“2.3”项方法制备供试品溶液,再按“2.1”项方法测定,20个批次均未检出樟脑。样品中龙脑和异龙脑含量见表2(表中1~10为2019年样品,11~20为2021年样品)。

3 讨论

3.1 提取方式的考察

乙酸乙酯对冰片具有较好的溶解性,并且样品中其他干扰成分的溶出较少,故选择其作为提取溶剂。本实验考察了不同提取时间(15 min、

表2 清肠栓样品含量实验

样品序号	龙脑(mg/g)	异龙脑(mg/g)	冰片(mg/g)
1	14.23	8.509	22.74
2	14.19	8.564	22.76
3	14.38	8.665	23.05
4	14.26	8.569	22.83
5	14.28	8.511	22.79
6	14.21	8.571	22.78
7	14.24	8.446	22.68
8	14.41	8.632	23.04
9	14.13	8.329	22.46
10	13.89	8.401	22.29
11	18.76	11.35	30.11
12	18.60	11.20	29.80
13	18.93	11.39	30.32
14	19.03	11.37	30.40
15	18.65	11.26	29.91
16	18.82	11.38	30.19
17	18.89	11.35	30.24
18	18.74	11.28	30.02
19	18.94	11.35	30.29
20	18.88	11.39	30.27

30 min、45 min)对样品提取效果的影响,观察比较不同条件处理后供试品溶液色谱情况,根据含量结果选择提取时间为30 min。最终以乙酸乙酯为提取溶剂,超声处理30 min作为供试品制备时的提取方式。

3.2 色谱条件的选择

柱温的选择:由于2020年版《中国药典》中冰片含量测定选择的柱温为140℃,而查阅文献,部分实验者选择的柱温为160℃^[9],因此,我们分别选择140℃和160℃进行试验,根据出峰时间及峰形比较,最终选择140℃作为实验条件。色谱柱的选择:实验研究使用的两种色谱柱分别为DIKMA DM-Wax(PEG-20M)毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); Agilent HP-INNOWAX(PEG-20M)毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm),比较两种色谱柱的塔板数,实验显示色谱峰分离度良好,说明色谱柱对样品的测定结果影响较小,此方法具有普遍性,故最终选择本实验室常用的DIKMA DM-Wax色谱柱。樟脑检出限和定量限确定:检测限及定量限采用信噪比法确认,当信噪比(S/N)为3:1时,樟脑检出限为1.4 μg/g;当信噪比(S/N)为10:1时,其定量限为4.6 μg/g。

3.3 检测指标的选择

2020年版《中国药典》中,冰片的描述为冰片(合成龙脑),其中对樟脑的检测要求为不得超过0.50%。本次实验,通过查阅文献,参考其它含冰片制剂中对樟脑残留的检测方法^[10],对清肠栓样品进行樟脑含量测定,发现成品栓剂中均未检测到樟脑,证明我院制剂室所用冰片符合药典的相关规定。

2020年版《中国药典》是以龙脑作为冰片的含量测定指标,但通过查阅文献可知,近年对冰片的含量测定中,多以龙脑与异龙脑总量来计算冰片的含量,^[11-14]。考虑到本次实验是完善清肠栓的内控标准,提高制剂的稳定性,故本实验以龙脑和异龙脑的总量来计算冰片的含量。

综上所述,本方法为冰片中龙脑、异龙脑的含量测定和樟脑限度检查制定提供参考,操作简单、重复性良好、结果准确,可用于清肠栓中冰片的质量控制。

【参考文献】

- [1] 谢建群,张涛,施斌,等.清肠栓治疗溃疡性结肠炎的临床和实验研究述评[J].上海中医药大学学报,2008,22(1):70-72.
- [2] 李超男,龚雨萍.清肠栓治疗溃疡性结肠炎的临床和实验研

- 究进展[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2018, 5(9): 181-183, 185.
- [3] 吴谕锋, 朱泽宇, 陈靖南, 等. 冰片药理作用及冰片酯的研究进展[J]. *药学研究*, 2020, 39(4): 217-224.
- [4] 滕毅, 杨海玲. 冰片在药代动力学方面的研究进展[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2015, 20(4): 469-475.
- [5] 汪汝沛, 戚进, 余伯阳. 冰片含量测定方法研究进展[J]. *药学进展*, 2010, 34(8): 359-364.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 中国医药科技出版社, 2020: 152-153.
- [7] 韩柱, 崔波, 陆菁, 等. 清肠栓质量标准研究[J]. *中成药*, 2016, 38(8): 1749-1753.
- [8] 于天源, 周昕, 徐俐伟. 清肠栓中没食子酸、靛蓝和靛玉红含量测定[J]. *河南中医*, 2019, 39(3): 453-458.
- [9] 刘斌, 李祥兰, 王晓晓, 等. 气相色谱法同时测定复方丹参片中樟脑残留量及冰片含量[J]. *中国药业*, 2019, 28(16): 32-34.
- [10] 王艳伟, 李桂本, 代雪平. 气相色谱法测定活血消痛酊中樟脑、薄荷脑、龙脑和异龙脑的含量[J]. *西北药学杂志*, 2019, 34(5): 612-614.
- [11] 庞静, 王学涛, 王健, 等. GC法测定牛黄上清丸中冰片的含量[J]. *食品与药品*, 2019, 21(3): 187-190.
- [12] 王伟, 刘星雨, 金辉辉, 等. GC同时测定麝香通心滴丸中龙脑、异龙脑和麝香酮的含量[J]. *中国现代应用药学*, 2020, 37(11): 1328-1332.
- [13] 郭玉岩, 李春成, 王力勋, 等. GC法测定复方洋金花软膏中冰片的含量[J]. *化学工程师*, 2020, 34(6): 27-30.
- [14] 范斌, 柏冬, 刘泓, 等. 气相色谱法测定艾奇康胶囊中龙脑的含量[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2009, 15(6): 15-17.
- [收稿日期] 2022-08-31 [修回日期] 2023-03-15
[本文编辑] 崔俐俊

(上接第 523 页)

- [31] SMOLOCK E M, KORSHUNOV V A, GLAZKO G, et al. Ribosomal protein L17, Rpl17, is an inhibitor of vascular smooth muscle growth and carotid intima formation[J]. *Circulation*, 2012, 126(20): 2418-2427.
- [32] EL KHOURY W, NASR Z. Deregulation of ribosomal proteins in human cancers[J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(12): BSR20211577.
- [33] LIU Y, DAHL M, DEBNATH S, et al. Successful gene therapy of Diamond-Blackfan anemia in a mouse model and human CD34(+) cord blood hematopoietic stem cells using a clinically applicable lentiviral vector[J]. *Haematologica*, 2022, 107(2): 446-456.
- [34] ORGEBIN E, LAMOUREUX F, ISIDOR B, et al. Ribosomopathies: new therapeutic perspectives[J]. *Cells*, 2020, 9(9): 2080.
- [35] PARK I, PHAN T M, FANG J. Novel molecular mechanism of lenalidomide in myeloid malignancies independent of deletion of chromosome 5q[J]. *Cancers*, 2021, 13(20): 5084.
- [36] WU Z K, WEI W Y, FAN H Z, et al. Integrated analysis of competitive endogenous RNA networks in acute ischemic stroke[J]. *Front Genet*, 2022, 13: 833545.
- [37] KIM J W, YIN X L, MARTIN I, et al. Dysregulated mRNA translation in the G2019S LRRK2 and LRRK2 knock-out mouse brains[J]. *eNeuro*, 2021, 8(6): ENEURO. 0310-ENEURO. 0321. 2021.
- [38] LV J, HUANG X R, KLUG J, et al. Ribosomal protein s19 is a novel therapeutic agent in inflammatory kidney disease[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2013, 124(10): 627-637.
- [39] KONG Y Z, CHEN Q Y, LAN H Y. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) as a stress molecule in renal inflammation[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4908.
- [40] JACOBS R Q, HUFFINES A K, LAIHO M, et al. The small-molecule BMH-21 directly inhibits transcription elongation and DNA occupancy of rna polymerase i *in vivo* and *in vitro*[J]. *J Biol Chem*, 2022, 298(1): 101450.
- [41] ZHANG J, LIU W, JI P, et al. Silencing of long chain noncoding RNA paternally expressed gene (PEG10) inhibits the progression of neuroblastoma by regulating microRNA-449a (miR-449a)/ribosomal protein s2 (RPS2) axis[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(3): 6309-6322.
- [42] LI Y M, ZHOU Y, LI B F, et al. WDR74 modulates melanoma tumorigenesis and metastasis through the RPL5-MDM2-p53 pathway[J]. *Oncogene*, 2020, 39(13): 2741-2755.
- [43] PECORARO A, PAGANO M, RUSSO G, et al. Ribosome biogenesis and cancer: overview on ribosomal proteins[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5496.
- [44] GAO Y, LI F Y, ZHOU H, et al. Down-regulation of MRPS23 inhibits rat breast cancer proliferation and metastasis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(42): 71772-71781.
- [45] HAO C Y, DUAN H B, LI H, et al. Knockdown of mrpl42 suppresses glioma cell proliferation by inducing cell cycle arrest and apoptosis[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(2): BSR20171456.
- [46] ZHANG L, LU P, YAN L, et al. MRPL35 is up-regulated in colorectal cancer and regulates colorectal cancer cell growth and apoptosis[J]. *Am J Pathol*, 2019, 189(5): 1105-1120.
- [47] WANG Z, LI J J, LONG X B, et al. MRPS16 facilitates tumor progression via the PI3K/AKT/Snail signaling axis[J]. *J Cancer*, 2020, 11(8): 2032-2043.
- [48] YU M J, ZHAO N, SHEN H B, et al. Long noncoding RNA MRPL39 inhibits gastric cancer proliferation and progression by directly targeting miR-130[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2018, 22(11): 656-663.
- [49] TANG N Y, CHUEH F S, YU C C, et al. Benzyl isothiocyanate alters the gene expression with cell cycle regulation and cell death in human brain glioblastoma GBM 8401 cells[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(4): 2089-2096.
- [50] CHANG Y, HE J G, TANG J Q, et al. Investigation of the gene co-expression network and hub genes associated with acute mountain sickness[J]. *Hereditas*, 2020, 157(1): 13.
- [收稿日期] 2022-12-02 [修回日期] 2023-04-07
[本文编辑] 李睿旻