

活血止痛制剂中樟脑的限量检查和冰片的含量测定

胡奇志¹, 聂黎行^{2*}, 刘燕², 林瑞超²

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

[摘要] 目的:通过对市售活血止痛散和活血止痛胶囊中樟脑、异樟脑和龙脑的测定,建立活血止痛制剂中冰片质量的合理评价方法。方法:采用 ZB-WAX 毛细管柱,柱温 110 ℃,同时测定活血止痛散和活血止痛胶囊中樟脑、异樟脑和龙脑含量。结果:在所述试验系统中,樟脑、异樟脑、龙脑在各自范围内线性关系良好,平均回收率均在 95% ~ 105%,RSD 均 < 3%。结论:采用气相色谱法建立活血止痛制剂中樟脑的限量检查和冰片的含量测定方法,为该类药品的安全性和有效性评价提供实验基础,方法准确、灵敏、简便,可用于活血止痛制剂的质量控制。

[关键词] 活血止痛制剂; 冰片; 樟脑; 气相色谱法; 质量控制

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0117-04

Limit Test of Camphor and Determination of Borneol in Huoxue Zhitong Preparations

HU Qi-zhi¹, NIE Li-xing^{2*}, LIU Yan¹, LIN Rui-chao¹

(1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002;

2. National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

[Abstract] **Objective:** To establish evaluation method of quality of borneol in Huoxue Zhitong preparations. **Method:** A ZB-WAX capillary column was used and the column temperature was kept at 110 ℃ for simultaneous determination of camphor, iso-borneol and borneol in Huoxue Zhitong Powder and Huoxue Zhitong Capsules. **Result:** Good linearities were obtained for camphor, iso-borneol and borneol respectively and the average recoveries were all between 95% and 105% with RSD below 3%. **Conclusion:** The proposed method is accurate, sensitive and simple, which is suitable for quality control of Huoxue Zhitong preparations.

[Key words] Huoxue Zhitong preparations; borneol; camphor; GC; quality control

[收稿日期] 20111020(013)

[第一作者] 胡奇志, 硕士, 讲师, 从事药品开发与质量控制教学与研究, Tel:0851-6552704, E-mail:liihu2005@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 聂黎行, 硕士, 助理研究员, 从事药品质量控制研究工作, Tel:010-67095313, E-mail:nielixing@163.com

对方剂中的仙茅中仙茅苷的含量进行了研究^[4],以乙腈-0.1%磷酸溶液(21:79)为流动相,检测波长 285 nm。结果直接加甲醇超声提取的供试品色谱中,在与仙茅苷对照品相应位置上的色谱峰未达到基线分离,且峰不纯,含量为 0.5/10000,而增加正丁醇萃取的供试品,含量仅为 0.3/10000,故未增加仙茅苷的含量测定项。

[2] 唐德智. 仙乐雄胶囊中淫羊藿的质量控制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11): 29.

[3] 王承华, 贺建华, 巩曼. HPLC 法测定壮阳填精口服液淫羊藿苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(1): 37.

[4] 刘振丽, 宋志前, 孙明杰, 等. 不同地区仙茅中仙茅苷含量测定及酒炙后仙茅苷含量变化[J]. 中成药, 2007, 29(3): 397.

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 306.

[责任编辑 顾雪竹]

活血止痛散和活血止痛胶囊由当归、三七、乳香(制)、冰片、土鳖虫、自然铜(煅)6味药组成。具有活血散瘀、消肿止痛的作用,用于跌打损伤,瘀血肿痛^[1]。处方中冰片为合成品,由松节油或樟脑经过化学反应合成制得,为异龙脑和龙脑的混合物。樟脑作为合成冰片的主要原料之一,内服可致中毒^[2],《中国药典》2010年版规定冰片含樟脑不得过0.50%^[1]。冰片与樟脑,外形相似,气味相近,近年因其与樟脑的价格差异,市场上冰片样品存在掺入樟脑的质量问题。随着气相色谱技术的普及,越来越多的学者开始关注含冰片中成药的质量控制^[4-7],但由于含量较低,中药制剂中樟脑的测定鲜有报道。本文采用气相色谱法建立了活血止痛制剂中樟脑的限量检查和冰片的含量测定方法,为该类药物安全性和有效性评价提供了实验基础。

1 仪器与试剂

Mettler AE240、Mettler FX-200 电子天平,Agilent 7890N 气相色谱仪。

分析纯乙酸乙酯购于北京化学试剂公司。

活血止痛散 6 批、活血止痛胶囊 87 批,均为 2011 年国家评价抽验样品;当归对照药材(批号 120927-201014),三七对照药材(批号 120941-200807),乳香对照药材(批号 120970-200904),土鳖虫对照药材(批号 121533-200702),樟脑对照品(批号 110747-201008),异龙脑对照品(批号 111512-200201),龙脑对照品(批号 110881-200706),自然铜素来自中国食品药品检定研究院。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 ZB-WAX(0.32 mm × 30 m, 5 μm),柱温 110 °C;进样口温度 190 °C;FID 检测器温度 230 °C;载气流速 6.7 mL·min⁻¹,分流比 10:1;进样量 1 μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取樟脑、异龙脑、龙脑对照品适量,加乙酸乙酯分别制成每 1 mL 各含 2 μg,0.2,0.3 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备^[1,5] 取活血止痛散或活血止痛胶囊约 0.5 g,精密称定,精密加入乙酸乙酯 20 mL,称定质量,冰浴超声提取(功率 300 W,频率 40 kHz)15 min,放至室温,用乙酸乙酯补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系 精密称取对照品适量,制得系列浓度的对照品溶液,进样测定,以浓度为横坐标 X,峰面积为纵坐标 Y,绘制标准曲线,并进行线性回

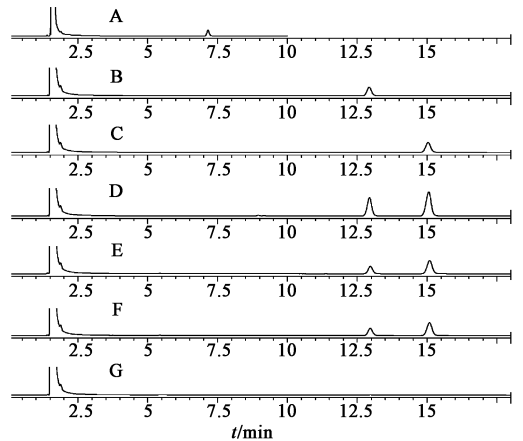
归,樟脑、异龙脑、龙脑的线性范围、回归方程和相关系数见表 1。

2.4.2 检出限和定量限 精密量取樟脑、异龙脑、龙脑对照品溶液适量,稀释至不同浓度,进样测定,检出限(信噪比 3:1)和定量限(信噪比 10:1),见表 1。

表 1 线性关系、检出限和定量限

样品	线性范围 /mg·L ⁻¹	回归方程	相关系数	检出限 /mg·L ⁻¹	定量限 /mg·L ⁻¹
樟脑	1.98 ~ 198	$Y = 3.71x + 4.08$	0.998 3	0.40	1.58
异龙脑	0.01 ~ 4.89	$Y = 2.599x + 233$	0.998 8	0.49	1.96
龙脑	0.01 ~ 5.05	$Y = 2.864x + 228$	0.999 1	0.51	2.02

2.4.3 专属性 取当归、三七、乳香、土鳖虫、自然铜,按处方制得缺冰片阴性对照样品,按 2.3 法制得阴性对照溶液,进样测定,冰片原料和活血止痛剂在樟脑、异龙脑和龙脑的保留时间处,无其他成分干扰。



A. 樟脑;B. 异龙脑;C. 龙脑;D. 冰片;E. 活血止痛散;
F. 活血止痛胶囊;G. 缺冰片阴性样品(图 2 同)

图 1 活血止痛方 HPLC

2.4.4 精密度 取活血止痛散和活血止痛胶囊按 2.3 法制备的供试品溶液各一份,分别连续进样 6 次,测得樟脑、异龙脑和龙脑峰面积 RSD 见表 2。

2.4.5 重复性 取活血止痛散和活血止痛胶囊各一批,按 2.3 方法分别制备 9 份供试品溶液(精密称取 0.25,0.50,0.75 g 各 3 份),测得樟脑、异龙脑和龙脑平均含量和 RSD 见表 2。

2.4.6 稳定性 取活血止痛散和活血止痛胶囊按 2.3 方法制备的供试品溶液各一份,分别于 0,1,2,

4,8 h 进样测定,测得樟脑、异龙脑和龙脑峰面积 RSD 均 <3%,见表 2。

表 2 精密度、重复性和稳定性

制剂	成分	精密度	重复性	稳定性
		RSD/%	平均含量 及 RSD	RSD/%
活血止痛散	樟脑	1.8	0.05 mg·g ⁻¹ , 0.5%	2.7
	异龙脑	1.2	5.6 mg·g ⁻¹ , 1.7%	1.6
	龙脑	1.0	8.8 mg·g ⁻¹ , 2.3%	1.4
活血止痛胶囊	樟脑	1.5	0.06 mg·g ⁻¹ , 0.3%	2.0
	异龙脑	1.1	8.4 mg·g ⁻¹ , 1.1%	1.8
	龙脑	1.1	11.7 mg·g ⁻¹ , 1.6%	1.2

2.4.7 回收率 精密称取已知含量的活血止痛散和活血止痛胶囊样品 0.25 g,分别精密加入高、中、低三水平的对照品溶液,每个水平平行制备 3 份加样回收溶液,进样测定,樟脑、异龙脑、龙脑的平均回收率均在 95%~105%,RSD 均 <3%,见表 3,4。

2.5 样品测定 活血止痛散和活血止痛胶囊均为原粉投料制剂,冰片转移率按 100% 计,结合处方中冰片所占比例可知,该类制剂理论上含樟脑不得过 0.1 mg·g⁻¹,含龙脑不得低于 11.6 mg·g⁻¹。93 批抽验样品测定结果见图 2,3。

3 讨论

3.1 样品测定结果 《中国药典》2010 年版规定冰片含樟脑不得过 0.50%,含龙脑不得低于 55.0%,活血止痛散和活血止痛胶囊均为原粉投料制剂,冰片转移率按 100% 计,制剂理论上含龙脑不得低于 11.6 mg·g⁻¹,所有抽验 93 批样品中仅有 26 批样品龙脑含量达到理论限度,占总抽样数的 28%。若冰片转移率按 80% 计,则该类制剂含樟脑不得超过 0.1 mg·g⁻¹,含龙脑不得低于 9.3 mg·g⁻¹。所有抽验样品中有 5 批樟脑含量高于此限度,占总抽样数的 5%。有 80 批的样品冰片含量达到处方量的 80%,占总抽样数的 86%。鉴于冰片具有很强的挥发性和升华性,推测制剂冰片含量偏低可能由其在混合和包装的加热环节中损失引起。另有一批样品未检出异龙脑或龙脑,樟脑含量高达 16.6 mg·g⁻¹,可认为可能存在误投或恶意投入樟脑的情形。对 93 批样品检测结果分析表明,大部分活血止痛散和活血止痛胶囊均能达到冰片转移率为 80% (即含樟脑不得超过 0.1 mg·g⁻¹,含龙脑不得低于 9.3 mg·g⁻¹) 的要求,可以作为制定该类制剂所含冰片质量控制指标参考之一。

表 3 活血止痛散回收率

成分	含有量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
樟脑	0.014 0		0.024 0	101.01	100.79	2.03
	0.014 4	0.009 9	0.0245	102.02		
	0.014 6		0.024 8	103.03		
	0.014 0		0.033 8	100.00		
	0.014 1	0.019 8	0.033 4	97.47		
	0.014 2		0.034 1	100.51		
	0.014 4		0.043 5	97.98		
	0.015 1	0.029 7	0.045 3	101.68		
	0.014 2		0.044 9	103.37		
	异龙脑	1.686 5		2.176 2		
1.739 2		0.489 0	2.2180	97.91		
1.722 1			2.226 3	103.11		
1.690 4			2.654 4	98.57		
1.699 4		0.978 0	2.686 0	100.88		
1.694 2			2.680 3	100.83		
1.737 4			3.206 4	100.14		
1.720 5		1.467 0	3.192 3	100.33		
1.713 3			3.207 6	101.86		
龙脑		2.592 8		3.620 9	101.71	101.20
	2.675 2	1.010 8	3.700 8	101.46		
	2.665 6		3.681 2	100.47		
	2.600 2		4.686 5	103.20		
	2.614 1	2.021 7	4.663 2	101.36		
	2.609 8		4.583 3	97.62		
	2.672 4		6.809 2	102.97		
	2.646 5	4.017 6	6.715 0	101.27		
2.657 1		6.705 1	100.76			

3.2 提取方法的选择 实验对提取溶剂用量和提取时间进行了优化,结果显示乙酸乙酯加入量为 20 mL 时,测得 3 种成分含量较乙酸乙酯加入量为 10 mL 高;超声 15 min 与 min 分钟,提取效率基本一致。

表 4 活血止痛胶囊回收率

成分	含有量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
樟脑	0.014 8	0.008 7	0.023 3	97.70	100.51	2.44
	0.014 1		0.023 1	103.45		
	0.015 8		0.024 4	98.85		
	0.014 0		0.031 9	103.47		
	0.014 1	0.017 3	0.031 3	99.42		
	0.014 2		0.031 6	100.58		
	0.014 4		0.041 3	103.46		
	0.015 2	0.026 0	0.040 5	97.31		
	0.015 0		0.041 1	100.38		
	异龙脑	2.076 5		3.109 5	97.76	100.35
2.086 0		1.056 7	3.136 7	99.43		
2.110 6			3.159 7	99.28		
2.304 6			4.385 2	98.45		
2.096 7		2.113 4	4.192 7	99.18		
2.111 5			4.267 8	102.03		
龙脑	2.367 9		6.671 3	101.81		
	2.169 3	4.226 8	6.450 1	101.28		
	2.109 5		6.500 9	103.89		
	2.892 2		3.966 7	107.35	101.35	2.71
	2.975 3	1.000 9	3.945 3	96.91		
	2.964 8		3.981 5	101.58		
	2.684 6		4.690 0	100.18		
	2.867 3	2.001 8	4.901 6	101.62		
	3.006 2		5.037 9	101.49		
	2.954 6		7.000 3	101.05		
2.891 7	1.003 6	6.981 6	102.16			
3.000 6		6.995 7	99.79			

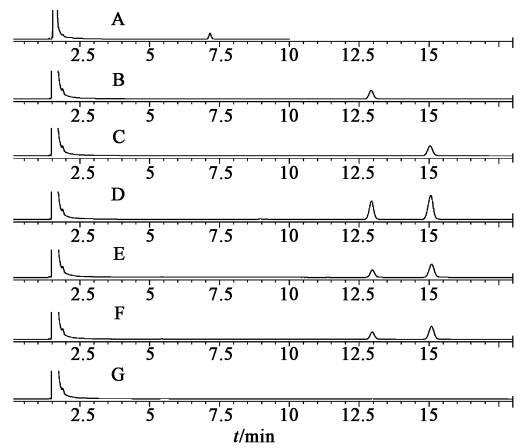


图 2 活血止痛制剂樟脑限量检查

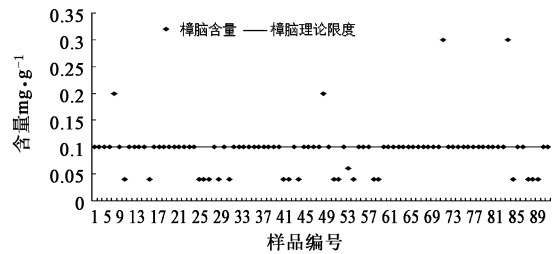


图 3 活血止痛制剂樟脑冰片含量测定

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2010:956,136.
 [2] 夏元洵.化学物质毒性全书[M].上海:上海科学技术文献出版社,1991:244.
 [3] 冯明霞,王桂兰,闻京伟.气相色谱法测定除疤膏中冰片的含量[J].中国药事,2005,19(12):743.
 [4] 张森,袁浩,周亚楠,等.GC法测定特灵眼药中冰片的含量[J].中国药事,2009,23(11):1105.
 [5] 朱应丁.气相色谱法测定活血止痛胶囊中冰片的含量[J].江西中医学院学报,2000,12(3):158.
 [6] 张一鸣,王洁,胡明勋,等.毛细管气相色谱法测定红药贴膏4种活性成分的含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(7):47.
 [7] 郭丽蓉,周莉玲.聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯增溶冰片的研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(12):10.

[责任编辑 顾雪竹]