

# GC法同时测定跌打万花油中4种成分的含量

蒋忠军\*,陈新国,张莉#,黄俊忠(广东省食品药品检验所,广州 510180)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)48-4588-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.48.29

**摘要** 目的:建立同时测定跌打万花油中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯含量的方法。方法:采用气相色谱法,以挥发油测定器蒸馏制备供试品溶液。色谱柱为安捷伦DB-WAX极性毛细管色谱柱,采用程序升温,检测器为氢火焰离子化检测器,进样口温度为210℃,检测器温度250℃,载气为氮气,流速为73.5 ml/min,不分流进样,进样量为1 μl。结果:樟脑、薄荷脑、冰片(异龙脑和龙脑)、水杨酸甲酯的检测质量浓度分别在0.062 3~1.993、0.25~8.011、0.444~14.221、0.373~11.956 mg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系( $r$ 均为0.999 6);精密度、稳定性、重复性试验的RSD≤3.22%;平均加样回收率分别为101.11%、103.14%、100.60%、102.04%,RSD分别为2.19%、2.03%、2.15%、2.88%( $n=6$ )。结论:该方法重复性好、灵敏度高、结果准确,可用于跌打万花油的质量控制。

**关键词** 气相色谱法;跌打万花油;樟脑;薄荷脑;冰片;水杨酸甲酯;含量测定

## Simultaneous Determination of the Content of 4 Components in Dieda Wanhua You by GC

JIANG Zhong-jun, CHEN Xin-guo, ZHANG Li, HUANG Jun-zhong (Guangdong Institute for Food and Drug Control, Guangzhou 510180, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of camphor, menthol, synthetic borneol and methyl salicylate in Dieda wanhua you. METHODS: GC was applied to quantitative analysis. Test solution was prepared by distillation with volatile oil detector. Using temperature programmed, FID as detector and nitrogen as carrier gas, the experimented column was Agilent DB-WAX polar capillary column with splitless injection at the flow rate of 73.5 ml/min. The injector temperature was 210 °C and detector temperature was 250 °C. The injection volume was 1 μl. RESULTS: The linear ranges of camphor, menthol, synthetic borneol (isoborneol and borneol) and methyl salicylate were 0.062 3-1.993, 0.25-8.011, 0.444-14.221 and 0.373-11.956 mg/ml respectively ( $r=0.999 6$ ). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3.22%. The average recoveries were 101.11% (RSD=2.19%,  $n=6$ ), 103.14% (RSD=2.03%,  $n=6$ ), 100.60% (RSD=2.15%,  $n=6$ ) and 102.04% (RSD=2.88%,  $n=6$ ), respectively. CONCLUSIONS: The method is reproducible, sensitive, accurate and suitable for the quality control of Dieda wanhua you.

**KEY WORDS** GC; Dieda wanhua you; Camphor; Menthol; Synthetic borneol; Methyl salicylate; Content determination

跌打万花油是一种传统的外用中成药,由红花、独活、白及、马钱子、两面针、冰片等多种中药成分组成,主治跌打损伤、撞击扭伤、刀伤出血及烫伤所致的皮肤肿胀、充血、出血,关节肿痛等软组织损伤诸症以及风湿痹痛、筋骨不利诸证<sup>[1]</sup>。跌打万花油的标准收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第十八册。其药品标准只收载了用气相色谱(GC)法鉴别跌打万花油中的冰片、樟脑、薄荷脑和照挥发油测定法甲法(附录X D)测定挥发油的含量,但其中没有同时测定樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯含量的项目。目前,其他制剂中采用

GC法测定冰片、樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯的含量已有文献报道<sup>[2-7]</sup>。本试验旨在探索建立以GC法同时测定跌打万花油中冰片(异龙脑和龙脑)、樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯含量的方法,为产品质量检验与控制 and 药品质量标准的修订提供技术支持。

## 1 材料

### 1.1 仪器

GC-2014型GC仪,配备氢火焰离子化检测器(FID,日本岛津公司);GH-300型高纯氢气发生器(北京中兴汇利科技发

.....

分的含量测定[J].临床医学工程,2011,18(1):106.  
[5] 高峰,王宇.高效液相色谱法测定关黄柏与川黄柏的有效成分的含量分析[J].黑龙江医药,2011,24(2):174.  
[6] 刘丽娟,梁悦.RP-HPLC法测定前列舒通片中盐酸小檗

碱的含量[J].中国医药导报,2010,7(16):63.  
[7] 刘杰,葛亮,孙芸,等.RRLC测定关黄柏中盐酸小檗碱的含量[J].光谱实验室,2012,29(2):801.  
[8] 陈庆辉,唐元军.知柏地黄丸中盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的含量测定[J].药物分析杂志,2012,32(12):2198.  
[9] 王静,秦伟.HPLC法测定康妇膜中盐酸小檗碱的含量[J].中国药房,2011,22(35):3309.

(收稿日期:2013-01-11 修回日期:2013-10-31)

\* 副研究员。研究方向:食品药品科技管理。电话:020-81079652。E-mail:864147220@qq.com  
# 通信作者:副主任药师。研究方向:药品质量控制。电话:020-81900826。E-mail:514231455@qq.com

展有限公司);LGA-2000型空气发生器(上海安谱科学仪器有限公司);CP224S型电子天平(德国赛多利斯公司)。

## 1.2 药品与试剂

樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110747-201008、110728-200506、110743-200905、110707-201011);跌打万花油[广州敬修堂(药业)股份有限公司,批号:L01001、L09067、L03023];正己烷(农残级,美国阿尔法试剂公司);其他试剂均为分析纯,实验用水为自制去离子水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:安捷伦DB-WAX极性毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);柱温:采用程序升温,初始温度为70℃,以7℃/min的速率升温至180℃,保持8 min;检测器:FID;进样口温度:210℃;检测器温度:250℃;载气:氮气;载气压力:107.6 kPa;载气流速:73.5 ml/min;氢气流速:40 ml/min;空气流速:400 ml/min;进样方式:不分流进样;进样量:1 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯适量,加正己烷制成每1 ml各含0.583、2.125、3.605、3.289 mg的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密量取10 ml跌打万花油,置于500 ml圆底烧瓶中,加入200 ml水,接挥发油测定器,由上端加入水7 ml,再加入正己烷6 ml,连接冷凝管,加热回流提取3 h,放冷,将挥发油测定器中的正己烷层移至10 ml的量瓶中,用适量正己烷洗涤挥发油测定器,将洗涤液并入该量瓶中,加正己烷稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

2.2.3 空白溶液 不取跌打万花油样品,其他均按照“2.2.2”项下方法处理,制备成空白溶液。

### 2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和空白溶液各1 μl进样,记录色谱,详见图1。结果,樟脑、薄荷脑、异龙脑、龙脑和水杨酸甲酯峰之间的分离度依次为26.774、6.175、7.872、15.351,理论板数按樟脑峰计算为177 659.736,符合《中国药典》的含量测定要求。

### 2.4 线性关系考察

按“2.2.1”项下方法配制对照品溶液,将其逐级稀释(每次稀释后质量浓度约为前一溶液质量浓度的一半),配制不同质量浓度的系列溶液,精密量取1 μl,注入色谱仪,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱。以各成分峰面积(y)为纵坐标,检测质量浓度(x)为横坐标,进行线性回归,回归方程和线性范围见表1。

### 2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,测定樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯峰面积的平均值及RSD。结果,樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯的RSD分别为1.45%、0.99%、1.22%、1.60%,表明仪器的精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

精密量取跌打万花油样品(批号:L01001)10 ml,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别于放置0、4、8、10、12、16、24 h时进样,测定樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯峰面积的平均值

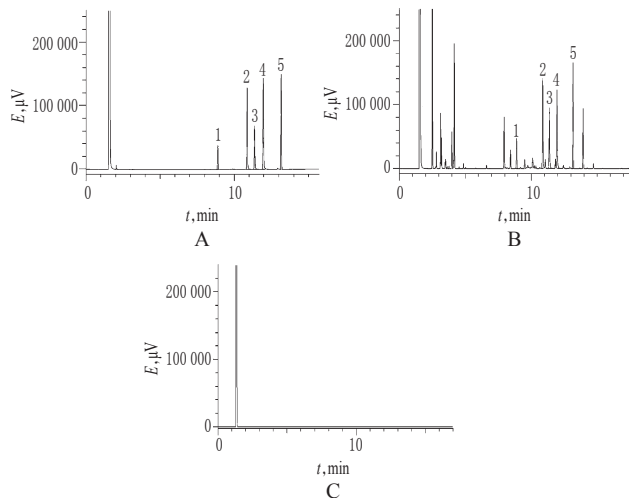


图1 气相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.空白;1.樟脑;2.薄荷脑;3.异龙脑;4.龙脑;5.水杨酸甲酯

Fig 1 GC chromatograms

A.substance control; B.test sample; C.blank; 1.camphor; 2.menthol; 3.isoborneol; 4.borneol; 5.methyl salicylates

表1 回归方程和线性范围

Tab 1 Regression equations and linear range

成分	回归方程	r	线性范围,mg/ml
樟脑	$y=178\ 487x-1\ 111.7$	0.999 6	0.062 3~1.993
薄荷脑	$y=162\ 850x-6\ 412.3$	0.999 6	0.25~8.011
冰片	$y=90\ 458x-6\ 415.8$	0.999 6	0.444~14.221
水杨酸甲酯	$y=112\ 341x-7\ 202.7$	0.999 6	0.373~11.956

及RSD。结果,樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯的RSD分别为2.23%、2.90%、2.38%、3.22%,表明供试品溶液在24 h内各成分的平均含量基本稳定。

### 2.7 重复性试验

分别精密量取跌打万花油样品(批号:L01001)6份,各10 ml,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,并计算樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯含量的平均值及RSD。结果,樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯的平均含量分别为0.632、2.144、3.409、3.53 mg/ml,RSD分别为1.81%、1.19%、1.87%、2.13%,表明本方法的重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

精密量取已知含量的跌打万花油样品(批号:L01001)6份,每份5 ml,编号为1~6,分别精密加入1 ml含樟脑2.511 mg/ml、薄荷脑10.005 mg/ml、冰片17.653 mg/ml、水杨酸甲酯14.900 mg/ml的对照品溶液,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定各成分的含量并计算加样回收率,结果见表2。

由表2可知,樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯的平均加样回收率均在95%~105%范围内,且加样回收率的相对标准偏差均<3%,表明本方法准确度良好。

### 2.9 样品含量测定

取3批样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算其中樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯的含量,结果见表3。

表2 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 2 Results of recovery tests(n=6)

成分	所含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
樟脑	2.984	2.511	5.528	99.322	101.11	2.19
	2.984	2.511	5.625	103.116		
	2.984	2.511	5.517	98.876		
	2.984	2.511	5.522	99.074		
	2.984	2.511	5.679	105.231		
	2.984	2.511	5.622	103.000		
薄荷脑	10.787	10.005	21.067	102.745	103.14	2.03
	10.787	10.005	21.051	102.594		
	10.787	10.005	20.946	101.537		
	10.787	10.005	20.858	100.661		
	10.787	10.005	21.387	105.947		
	10.787	10.005	21.328	105.358		
冰片	18.439	17.653	36.928	100.594	100.60	2.15
	18.439	17.653	37.347	102.871		
	18.439	17.653	36.421	97.833		
	18.439	17.653	36.491	98.213		
	18.439	17.653	37.307	102.655		
	18.439	17.653	37.081	101.422		
水杨酸甲酯	19.852	14.900	35.008	101.614	102.04	2.88
	19.852	14.900	35.108	102.289		
	19.852	14.900	34.864	100.653		
	19.852	14.900	34.377	97.389		
	19.852	14.900	35.571	105.392		
	19.852	14.900	35.502	104.927		

表3 样品含量测定结果(n=3)

Tab 3 Results of content determination of samples(n=3)

批号	樟脑, mg/ml	RSD, %	薄荷脑, mg/ml	RSD, %	冰片, mg/ml	RSD, %	水杨酸甲酯, mg/ml	RSD, %
L03023	0.570	1.84	2.046	2.09	3.472	2.12	3.661	2.32
L01001	0.557	0.33	2.057	0.80	3.486	0.38	3.520	0.34
L09067	0.733	0.52	2.337	0.66	3.893	0.76	3.788	0.89

### 3 讨论

#### 3.1 重现性试验

在考察方法学时,笔者对跌打万花油含量测定进行了重现性试验(考察不同的色谱柱、不同型号的GC仪和不同的操作人员所得结果的差异)。试验结果显示,用不同的色谱柱、不同的GC仪、不同的操作人员所测得的樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯含量均无明显差别,均可得到满意的色谱图,说明本方法重现性良好。

#### 3.2 柱温的选择

在考察柱温时,笔者尝试了两种方法,第1种是初始温度70℃,以7℃/min的速率升温至180℃,并保持8min;第2种是初始温度80℃,以8℃/min的速率升温至180℃,并保持8min。结果显示,在第1种柱温和升温速率条件下,樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯之间分离度好,且与其他未知成分的分度符合度符合要求;在第2种柱温和升温速率条件下,樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯之间分离度较前者差,且与其他未知成分的分度很差,有些要测定的峰与相邻的峰分不开。由于分离度越大测定得到的各成分峰面积越精确,所以本试验选择了第1种柱温和升温速率。

#### 3.3 色谱柱的选择

在考察色谱柱时,分别用极性柱、中性柱、非极性柱测定跌打万花油中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯的含量。试验结果显示,极性柱的分离度比中性柱、非极性柱的分离度好,中性柱和非极性柱峰与峰之间分离度相对较差,所以本试验选择了极性较高的毛细管色谱柱。

#### 3.4 溶剂的选择

在考察提取方法时,本试验尝试了用无水乙醇、正己烷、乙酸乙酯直接稀释样品。由于跌打万花油不完全溶于无水乙醇,而易溶于正己烷和乙酸乙酯,所以优先采用乙酸乙酯和正己烷为溶剂,加热回流处理跌打万花油,然后直接稀释和进样。但是,乙酸乙酯有乳化现象而正己烷不易乳化,所以正己烷为提取跌打万花油的最佳溶剂。

#### 3.5 取样量的确定

在考察取样量时,本试验分别取10、20、30ml的跌打万花油加热回流,按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果显示,10ml跌打万花油中的樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯的响应值已经能完全满足测定需求,所以本试验的取样量为10ml。但是在加样回收率试验中,考虑到添加对照品溶液后各组分将相应增加,参照《中国药典》(2010年版)等资料,并结合仪器检测信号的灵敏度,为确保加样回收后各组分浓度与测试浓度接近,以便获得更可靠的数据,故每份样品的取样量为5ml。

#### 3.6 提取时间的确定

在考察提取时间时,各取两份10ml跌打万花油,按“2.2.2”项下方法分别加热回流提取1、2、3h后进样测定。结果显示,加热回流提取3h的供试品溶液中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯的含量明显高于加热回流1h和2h,故确定本试验加热回流提取时间为3h。

综上所述,本方法重复性好、灵敏度高、结果准确,可用于跌打万花油的质量控制。

### 参考文献

- [1] 田治国,黄德斌.跌打万花油治疗烧伤的疗效分析[J].中成药,2002,24(11):904.
- [2] 刘杰,董文玲.4种中药橡胶膏剂中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯含量的气相色谱法测定[J].中成药,2004,26(10):795.
- [3] 方东伟,吕双炼.GC法测定精制狗皮膏中4种成分的含量[J].中国药品标准,2006,7(3):34.
- [4] 浦益琼,张彤,项乐源.毛细管气相色谱法测定伤湿止痛膏中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯含量[J].中成药,2009,31(8):1224.
- [5] 孙晓梅,代东梅,常雪灵.GC法同时测定麝香壮骨膏中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯的含量[J].中成药,2007,29(7):1004.
- [6] 万丽,周立,胡轶娟,等.气相色谱法测定麝香舒活精中樟脑、薄荷脑、冰片含量[J].成都中医药大学学报,2007,30(4):50.
- [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.

(收稿日期:2013-07-22 修回日期:2013-10-30)