

六应丸中冰片、丁香酚的毛细管气相色谱分析

常丽萍 倪坤仪 王新堂¹

(分析化学研究室)

六应丸具有清热解毒、消炎退肿、止痛等功效。其主要成分有：牛黄、蟾酥、珍珠、冰片、公丁香等。其中蟾酥成分的分析报道有薄层层析法^[1]及紫外分光光度法^[2]，牛黄的有效成分我们采用薄层层析法进行了定量分析^[3]。六应丸中挥发性成分分析未见报道，我们采用冷浸-超声波振荡法提取六应丸中有效成分，以毛细管气相色谱法，应用不分流进样技术，对其中主要挥发性成分冰片(龙脑和异龙脑)、丁香酚进行了分析。以正十二烷烃为内标进行定量测定。本法简便、可靠，可作为衡量六应丸质量的指标。

实验部分

一、仪器与药品

Varian GC 3400(北京分析仪器厂组装)接SP-4290型色谱微处理机。六应丸(上海中药一厂)，丁香酚(上海试剂四厂)，冰片(南京第二制药厂)，正十二烷烃(色谱纯)为内标物。

二、色谱柱及操作条件

色谱柱 弹性石英毛细管 SE-30(兰州化物所)28m×0.25mm I.D.。柱温 70℃(25min)以4℃/min 升温至 250℃，气化室温度 230℃，检测器 FID，检测器温度 300℃，载气 高纯N₂，柱前压力 14Pa，尾吹气(N₂)：氢气：空气为 30:30:300(ml/min)，进样方式为不分流进样，0.5min 后开始清扫。

三、六应丸提取液的毛细管气相色谱

六应丸提取液 0.3μl 进样，以标准品对照定性，毛细管气相色谱见图 1。

四、标准曲线

1. 内标溶液的配制 精密称取正十二烷

烃 0.5g 于 50ml 容量瓶中，加乙酸乙酯溶解并稀释至刻度，记为内标液 A。从 A 液中精密吸取 2ml 移至 25ml 容量瓶中，加乙酸乙酯至刻度，记为内标液 B。

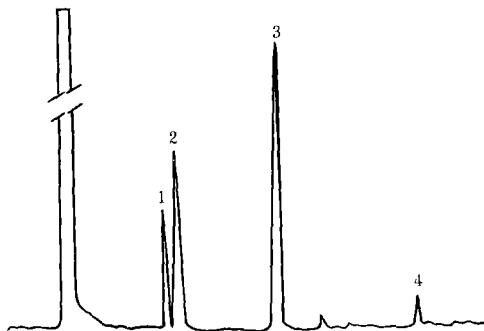


Fig 1. Liu Ying pill gas chromatography

1. Isoborneol 2. Borneol 3. Eugenol 4. Acetyl eugenol

2. 标准溶液的配制 精密称取冰片 0.5g，丁香酚 0.2g 分别于两个 50ml 容量瓶中，加乙酸乙酯溶解并稀释至刻度，作为贮备液。

3. 标准曲线的绘制 分别精密吸取标准溶液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0ml 于 25ml 容量瓶中，各加入内标液 A 1ml，用乙酸乙酯稀释至刻度。分别进样 0.3μl，取四次平均值，其回归方程为：

$$\text{异龙脑 } y = 7.75x + 0.0930 \quad r = 0.9997$$

$$\text{龙 脑 } y = 9.09x + 0.218 \quad r = 0.9998$$

$$\text{丁香酚 } y = 6.49x - 0.286 \quad r = 0.9994$$

x 为被测组分的重量，y 为被测组分与内标物的峰面积比。

五、加样回收率

1. 样品对照液 精密称取 0.1g 六应丸粉

末, 加入乙酸乙酯 5ml, 密封冷浸过夜, 超声波振荡两次, 每次 45min。取上清液 2ml, 加入内标液 B 2ml。

2. 加标准品的样品提取液 精密称取六应丸粉末 0.05g, 加标准液 C 5ml(C 液配制: 取丁香酚和冰片贮备液分别为 5ml 和 2ml, 置于 50ml 容量瓶中, 加乙酸乙酯稀释至刻度); 样品处理步骤同上。吸取上清液 2ml, 加 B 液 2ml 混匀。回收率测定结果见表 1。

Tab 1. Results of recovery (n=6)

Compd.	Weight added, mg	Average recovery, %	CV, %
Isoborneol	0.85	99.4	1.3
Borneol	1.11	100.3	2.5
Eugenol	1.94	101.6	2.4

六、样品含量测定

精密称取六应丸粉末 0.2g, 加乙酸乙酯 5ml, 经处理(同回收率中样品对照液)取上清液 2ml, 加内标液 B 2ml, 混匀进样测定。用内标法定量, 结果见表 2。

Tab 2. Analysis of samples(n=4)

Batch	Isoborneol		Borneol		Eugenol	
	\bar{x} , mg / g	CV, %	\bar{x} , mg / g	CV, %	\bar{x} , mg / g	CV, %
861011	3.61	4.9	7.77	5.5	31.24	7.6
87220	4.67	3.4	9.76	4.3	37.15	4.3
870110	5.47	1.8	9.72	0.7	34.39	0.9

讨 论

一、样品的处理

在样品处理过程中应避免挥发性成分的损失。本文所采用的先冷浸, 再超声振荡提取的方法较沙氏提取法简便, 不必加温且样品用量少, 只需将样品置于一具塞离心管内, 密封处

理即可, 特别适合于微量成分的分析。

对于提取样品所用溶剂, 我们进行了提取效果的比较。分别以乙醇、环己烷、乙酸乙酯作为溶剂, 对一定量的样品, 按上述样品提取法平行操作。分析结果(见表 3)表明乙醇提取效果欠佳, 环己烷和乙酸乙酯提取效果相近。本文以比较廉价的乙酸乙酯为提取溶剂。提取液中可能存在一些其它成分(难挥发的物质、热不稳定组分)易污染色谱系统, 可采取相应措施以免被测组分的测定受干扰。

Tab 3. Comparison of solvent

Solvent	Peak surface	
	Borneol	Eugenol
Alcohol	65	362
Cyclohexane	121	391
Ethyl acetate	123	406

二、标准冰片中龙脑和异龙脑的测定

冰片为龙脑和异龙脑的混合物, 含有微量杂质(见图 2), 我们采用面积归一化法测定二者的相对含量, 结果见表 4。

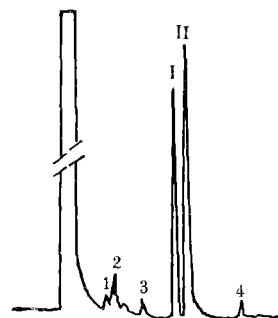


Fig 2. Borneol gas chromatography

1, 2, 3, 4 : impurity

Tab 4. Analysis of isoborneol and borneol

No	Peak surface						Total surface	Content, %	
	1	2	3	4	I	II		Isoborneol	Borneol
1	207	424	395	161	18599	24734	44520	41.78	55.56
2	241	340	448	176	18587	24472	44264	41.99	55.29
3	224	319	438	180	18161	23918	43240	42.00	55.31
4	169	454	419	189	20300	26458	47989	42.30	55.13
						Average	42.30%	55.32%	
						CV	0.5%	0.3%	

三、色谱条件与定量

六应丸中挥发性成分含量低, 用不分流进样技术, 可使微量组分完全进入柱内, 同时避免失真的可能。为防止溶剂峰拖尾, 掩盖异龙脑及龙脑的色谱峰, 必须在进样后进行清扫。而清扫动作的快慢, 直接影响到定量的准确程度。经过多次实验, 在进样 0.5min 后进行清扫比较适宜。

内标出峰在龙脑与丁香酚之间, 但间隔较大, 为使内标与被测组分峰时间接近, 首先在柱温 70℃ 维持 25min, 异龙脑和龙脑可完全分离, 随后程序升温, 缩短内标与丁香酚的出峰时间。

四、毛细管气相色谱在中药质量标准控制中的应用尚不多。该法具有柱效高、分离能力

强、检测灵敏度高等优点, 对分析中药中含量低、性质相近的复杂成分是一种有效手段。本文为中成药六应丸中挥发性成分的质量控制提供了一种方法。

关键词: 毛细管气相色谱法; 六应丸; 冰片; 丁香酚

参考文献

- 1 章育中, 杨凡, 王兆林. 薄层扫描法测定含蟾酥制剂中强心甾体含量. 药物分析杂志 1984; 4(6): 321-3
- 2 徐俊平, 谢斐君. 六应丸中蟾酥总蟾毒内酯的含量测定研究. 药物分析杂志 1984; 4(6): 323-6
- 3 倪坤仪, 常丽萍, 陈凤玲. 六应丸中牛黄有效成分的薄层扫描. 中国药科大学学报 1989; 20(2): 100-2

ANALYSIS OF BORNEOL AND EUGENOL CONTAINED IN CHINESE PATENT MEDICINE LIU YING PILL BY CAPILLARY COLUMN GAS CHROMATOGRAPHY

Chang Liping, Ni Kunyi and Wang Xintang

Division of Analytical Chemistry

This paper describes the analysis of three components, isoborneol(I), borneol(II) and eugenol(III) contained in Chinese patent medicine Liu Ying pill by temperature-programmed gas chromatography using a fused silica capillary column coated with SE-30. The sample was extracted with the help of ultrasonic. The components were identified by comparison with references and determined by using $n\text{-C}_{12}\text{H}_{26}$ as an internal standard.

Key words Capillary column gas chromatography; Liu Ying pill; Borneol; Eugenol

【文摘 039】 7-(1,7-双取代-1,4-二氢-4-酮-1,8-萘啶-3-甲酰氨基)头孢菌素的合成 周家成, 段廷汉, 周慧殊. 药学学报 1989; 24(7): 512-21

本文报道了以 1,7-双取代-1,4-二氢-4-酮-1,8-萘啶-3-羧酸, 用混合酸酐法与 7-ACA, 7-ADCA, 7-ACT 和 7-ACD 缩合, 合成了 24 个

1,7-双取代-1,4-二氢-4-酮-1,8-萘啶-3-甲酰胺头孢菌素衍生物, 经葡聚糖凝胶 (Sephadex LH-20) 及离心薄层层析精制, 得到纯品。体外抑菌试验结果表明: 大多数新头孢菌素衍生物对革兰氏阳性菌只有较好的抗菌作用, 尚有一些新头孢菌素衍生物对某些革兰氏阴性菌具有中等敏感程度。 (邹 柯)