

GC 测定克痢痧胶囊中的冰片、甲基丁香酚和丁香酚的含量

江明, 舒金富, 柴鑫莉(衢州市食品药品检验研究院, 浙江 衢州 324000)

摘要:目的 采用 GC 测定克痢痧胶囊中的冰片、甲基丁香酚和丁香酚的含量。方法 采用 GC 直接进样, 色谱柱为 Agilent HP-INNOWAX 毛细管柱, 检测器为氢火焰离子化检测器, 温度为 250 °C, 采用程序升温, 进样口温度为 210 °C; 流速为 1.2 mL·min⁻¹, 分流比为 15 : 1, 进样量为 1 μL。结果 冰片、甲基丁香酚和丁香酚的线性范围分别是 48.59~728.88 μg·mL⁻¹ ($r=0.999$); 4.29~64.39 μg·mL⁻¹ ($r=0.999$) 和 31.83~477.48 μg·mL⁻¹ ($r=0.999$), 精密度、重复性和稳定性试验的 RSD 均 ≤ 2.17%, 平均加样回收率分别是 98.69%(RSD=0.3%), 93.10%(RSD=1.6%) 和 99.41%(RSD=0.5%)。结论 本方法操作简单、快速、准确性和重复性好, 可用于克痢痧胶囊的质量控制。

关键词: 气相色谱法; 克痢痧胶囊; 冰片; 甲基丁香酚; 丁香酚

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2018)11-1646-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.11.011

引用本文: 江明, 舒金富, 柴鑫莉. GC 测定克痢痧胶囊中的冰片、甲基丁香酚和丁香酚的含量[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(11): 1646-1648.

Determination of Borneol, Methyleugenol and Eugenol in Kelisha Capsules by GC

JIANG Ming, SHU Jinfu, CHAI Xinli(*Quzhou Institute for Food and Drug Control, Quzhou 324000, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determination of borneol, methyleugenol and eugenol in Kelisha capsules by GC. **METHODS** Using the direct injection by GC, the column was Agilent HP-INNOWAX capillary column, FID was used as detector with a temperature of 250 °C, and the inlet temperature was 210 °C, using the temperature program. The flow rate was 1.2 mL·min⁻¹, split ratio was 15 : 1 and the volume was 1 μL. **RESULTS** Borneol, methyleugenol and eugenol were separated with a good linearity in the concentration of 48.59~728.88 μg·mL⁻¹ ($r=0.999$) for borneol, 4.29~64.39 μg·mL⁻¹ ($r=0.999$) for methyleugenol, and 31.83~477.48 μg·mL⁻¹ ($r=0.999$) for eugenol. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were ≤ 2.17%. The average recoveries for borneol, methyleugenol and eugenol were 98.69%(RSD=0.3%), 93.10%(RSD=1.6%) and 99.41%(RSD=0.5%). **CONCLUSION** The method is simple, accurate and reproducible, and can be used in the quality control of Kelisha capsules.

KEYWORDS: GC; Kelisha capsules; borneol; methyleugenol; eugenol

克痢痧胶囊由白芷、苍术、石菖蒲、细辛、萆薢、鹅不食草、猪牙皂、雄黄、丁香、硝石、枯矾、冰片等组成, 现行质量标准为中国药典 2015 年版一部^[1]。冰片和丁香在标准中虽有 GC 定性鉴别方法, 但缺少定量方法, 同时细辛中的有效成分也未见有效控制。为提高本品质量, 参考相关标准^[2-3], 本研究采用 GC 测定冰片、细辛中的甲基丁香酚和丁香中的丁香酚的含量。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 7890A 型 GC 仪, 包括氢火焰离子化检测器、CTC 自动进样器、Chemstation 工作站; XP205 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); SK5200HP 超声波清洗器(科导, 工作频率:

53 KHz, 功率: 200 W)。

1.2 药品与试剂

克痢痧胶囊(浙江苏泊尔南洋药业有限公司, 批号: 20150701, 20150707 和 20150714; 规格: 每粒 0.28 g); 甲基丁香酚对照品(华迈科公司, 批号: D109413; 纯度: 99.0%); 冰片对照品(批号: 110743-200905; 纯度: 98.0%); 萘对照品(批号: 111673-200803; 纯度: 100.0%)购自中国食品药品检定研究院; 丁香酚对照品(为康生物, 批号: 20150110; 纯度: 98.2%); 无水乙醇为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent HP-INNOWAX 毛细管柱 (30 m×0.320 mm, 0.50 μm); 检测器: 氢火焰离

作者简介: 江明, 男, 主管药师 Tel: 13600507246 E-mail: jm0311@163.com

子化检测器(FID); 检测器温度: 250 °C; 进样口温度: 210 °C; 柱温: 程序升温(初始温度为 125 °C, 保持 2 min; 以 5 °C·min⁻¹ 升至 160 °C, 保持 1 min; 再以 10 °C·min⁻¹ 升至 210 °C, 保持 6 min); 载气: 氮气; 柱流速: 1.2 mL·min⁻¹; 分流比: 15 : 1; 进样量 1 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品储备液的制备 称取冰片 0.061 21 g, 甲基丁香酚 0.005 42 g 和丁香酚 0.037 02 g 置于同 1 个 25 mL 量瓶中, 加无水乙醇溶解定容至刻度, 摇匀。

2.2.2 内标液的制备 称取萘 0.027 10 g 置于 50 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释溶解至刻度, 摇匀。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密量取对照品储备液 1 mL, 至 10 mL 量瓶中, 再精密量取内标液 3 mL 加入, 加无水乙醇定容至刻度, 摇匀。

2.2.4 供试品溶液的制备 精密称取克痢痧胶囊内容物 1 g, 至 50 mL 量瓶中, 精密加入无水乙醇 25 mL, 称定质量, 超声 15 min, 放冷, 再称定质量, 用无水乙醇补足减失的质量, 离心, 精密量取上清液 5 mL, 至 10 mL 量瓶中, 再加入内标液 3 mL, 加无水乙醇定容至刻度, 摇匀。

2.2.5 阴性对照溶液的制备 取缺细辛、冰片和丁香的其他成分各适量, 按照制备工艺制成阴性样品, 再按“2.2.4”项下方法制成阴性对照溶液(不加内标液 3 mL)。

2.3 专属性试验

取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件进行检测。色谱图见图 1。

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品储备液 0.2, 0.5, 1, 2, 3 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 再精密加入内标液 3 mL, 加无水乙醇定容至刻度, 摇匀。按“2.1”项下色谱条件进样测定。以质量浓度(X , $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)为横坐标, 峰面积的比值(Y)为纵坐标进行线性回归, 得冰片的回归方程为 $Y=0.004X+0.023(r=0.999)$; 甲基丁香酚的回归方程为 $Y=0.004X+0.001(r=0.999)$; 丁香酚的回归方程为 $Y=0.003X+0.012(r=0.999)$ 。结果表明: 冰片在 48.59~728.88 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 甲基丁香酚在 4.29~64.39 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 丁香酚在 31.83~477.48 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内有良好的线性关系。

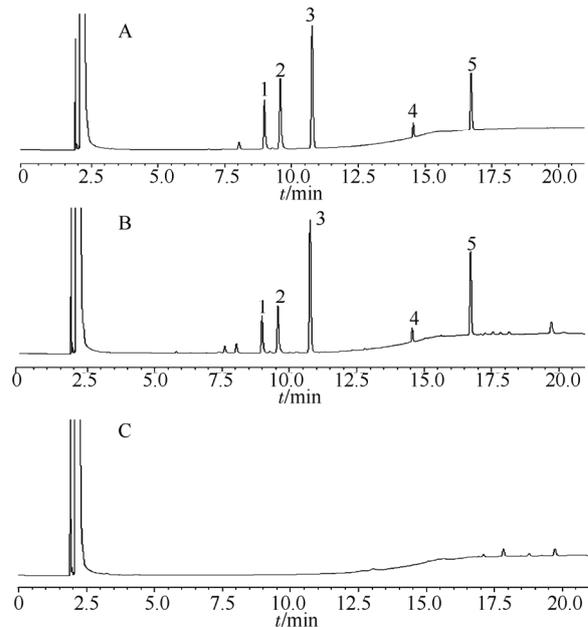


图 1 气相色谱图

A-对照品; B-供试品; C-阴性对照; 1-异龙脑; 2-龙脑; 3-萘; 4-甲基丁香酚; 5-丁香酚。

Fig. 1 GC chromatograms

A-reference; B-test sample; C-negative reference; 1-isoborneol; 2-borneol; 3-naphthalene; 4-methyl eugenol; 5-eugenol.

2.5 仪器精密度试验

取“2.2.3”项下对照品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次测定峰面积。结果冰片峰面积与内标峰的比值的 RSD 为 0.26%($n=6$); 甲基丁香酚峰面积与内标峰的比值的 RSD 为 0.88%($n=6$); 丁香酚峰面积与内标峰的比值的 RSD 为 0.30%($n=6$)。表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.4”项下供试品溶液(批号: 20150714), 分别在室温下放置 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h, 按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果, 冰片、甲基丁香酚和丁香酚三者的 RSD 分别为 1.87%($n=7$), 2.17%($n=7$)和 1.73%($n=7$), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取样品(批号: 20150714)适量, 按“2.2.4”项下方法平行制备供试品溶液共 6 份, 按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果: 冰片的平均含量为 7.30 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 1.54%; 甲基丁香酚的平均含量为 0.960 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 1.66%; 丁香酚的平均含量为 7.97 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 1.67%。表明本方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(批号: 20150714)9份, 每份 0.8 g。按低、中和高各 3 份分别精密加入对照品储备液 1, 2, 3 mL, 再按“2.2.4”项下方法处理, 按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果见表 1。

表 1 加样回收率实验结果(n=9)

Tab. 1 Results of recovery test(n=9)

| 组分 | 样品中的量/mg | 加入的量/mg | 测得量/mg | 回收率/% | 平均回收率/% | RSD/% |
|-------|----------|---------|--------|--------|---------|-------|
| 冰片 | 5.96 | 2.40 | 8.26 | 98.80 | 98.69 | 0.3 |
| | 5.94 | 2.40 | 8.22 | 98.56 | | |
| | 5.86 | 2.40 | 8.19 | 99.15 | | |
| | 5.93 | 4.80 | 10.62 | 98.97 | | |
| | 6.22 | 4.80 | 10.88 | 98.73 | | |
| | 6.18 | 4.80 | 10.77 | 98.09 | | |
| | 6.21 | 7.20 | 13.22 | 98.58 | | |
| | 5.77 | 7.20 | 12.81 | 98.77 | | |
| | 5.93 | 7.20 | 12.94 | 98.55 | | |
| 甲基丁香酚 | 0.78 | 0.21 | 0.92 | 92.93 | 93.10 | 1.6 |
| | 0.78 | 0.21 | 0.91 | 91.92 | | |
| | 0.77 | 0.21 | 0.89 | 90.82 | | |
| | 0.78 | 0.42 | 1.15 | 95.83 | | |
| | 0.82 | 0.42 | 1.16 | 93.55 | | |
| | 0.81 | 0.42 | 1.13 | 91.87 | | |
| | 0.82 | 0.63 | 1.36 | 93.79 | | |
| | 0.76 | 0.63 | 1.30 | 93.53 | | |
| | 0.78 | 0.63 | 1.32 | 93.62 | | |
| 丁香酚 | 6.50 | 1.45 | 7.94 | 99.87 | 99.41 | 0.5 |
| | 6.48 | 1.45 | 7.88 | 99.37 | | |
| | 6.40 | 1.45 | 7.83 | 99.75 | | |
| | 6.47 | 2.90 | 9.39 | 100.20 | | |
| | 6.79 | 2.90 | 9.65 | 99.59 | | |
| | 6.74 | 2.90 | 9.51 | 98.65 | | |
| | 6.78 | 4.35 | 11.04 | 99.19 | | |
| | 6.30 | 4.35 | 10.56 | 99.15 | | |
| 6.48 | 4.35 | 10.71 | 98.89 | | | |

2.9 样品含量测定

取市售的供试品 3 批, 分别按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液 3 份, 按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果(n=3)

Tab. 2 Results of content determination of samples(n=3)

| 批号 | 冰片 | | 甲基丁香酚 | | 丁香酚 | |
|----------|---------------------------|-----------|---------------------------|-----------|---------------------------|-----------|
| | 含量/ mg·g ⁻¹ | RSD/ % | 含量/ mg·g ⁻¹ | RSD/ % | 含量/ mg·g ⁻¹ | RSD/ % |
| 20150714 | 7.30 | 1.76 | 0.96 | 2.25 | 7.97 | 1.02 |
| 20150707 | 7.21 | 1.54 | 0.98 | 2.31 | 7.94 | 1.24 |
| 20150701 | 6.93 | 1.58 | 0.86 | 2.24 | 7.89 | 1.31 |

3 讨论

在提取方式上, 笔者曾选用正己烷及无水乙醇分别超声 10, 15, 20, 30 min 进行比较, 发现 2 种有机溶剂 15 min 即可提取完全。同时考虑提取溶剂要甲基丁香酚、冰片和丁香酚均易溶, 且宜获取毒性小等特点, 最终选定无水乙醇超声 15 min。

在色谱柱的选择上, 笔者先后选择了 3 根不同极性的色谱柱, 分别是弱极性的 HP-5, 中等极性的 DB-624 和强极性的 HP-INNOWAX, 考察了保留时间和峰形, 同时参考了相关文献^[2,4-5], 最终选择了强极性的 HP-INNOWAX。

GC 直接进样 1 μL, 可能存在重复性不好的现象, 加入萘作为内标物可以很好地避免这一情况。

本研究建立的分析方法线性良好、结果可靠, 测定过程简便、快捷, 可用于制剂的含量分析。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2015: 136.
- [2] LU Z L, LIU H D. Determination of eugenol in Kelisha capsules by GC [J]. China Pharm(中国药业), 2012, 21(4): 32-33.
- [3] LIU Y H, YI J H, HUANG J, et al. RP-HPLC simultaneous determination of methyleugenol, safrole and asarinin in Asari Radix et Rhizoma [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2012, 32(5): 822-825.
- [4] CHEN C S, SANG X F. Determination of methyleugenol in Dingxi Yatong capsules by GC [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2010, 22(11): 77-78.
- [5] LIU X R, LIU W, DENG N. Gas chromatography determination of the concentration of ethanol in the iodine tincture using direct injection and head-space [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(1): 49-52.

收稿日期: 2018-03-06

(本文责编: 李艳芳)