

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.11.019

高效液相色谱法测定丁细牙痛胶囊中丁香酚和细辛脂素含量

陈骁勇

(江苏省盐城市第一人民医院, 江苏 盐城 224000)

摘要:目的 建立测定丁细牙痛胶囊中细辛脂素、丁香酚含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱采用 Capcell Pak MG II C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(梯度洗脱), 检测波长为 287 nm, 流速为 1 mL/min, 柱温为 5 °C, 进样量为 10 μL。结果 丁香酚和细辛脂素质量浓度分别在 5.334 ~ 64.008 μg/mL 和 9.625 ~ 115.500 μg/mL 范围内与其峰面积线性关系良好($r=0.9999$), 平均加样回收率分别为 97.93% 和 98.73%, RSD 分别为 1.12% 和 1.65% ($n=6$)。结论 该方法简便可靠、重复性好, 可用于丁细牙痛胶囊的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 丁细牙痛胶囊; 丁香酚; 细辛脂素

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)11-0068-03

Determination of Eugenol and Asarinin in Dingxi Yatong Capsules by HPLC

CHEN Xiaoyong

(Yancheng No. 1 People's Hospital, Yancheng, Jiangsu, China 224000)

Abstract: Objective To develop a high performance liquid chromatography(HPLC) method for the quantification of eugenol and asarinin in Dingxi Yatong Capsules. **Methods** Separation was carried out using Capcell Pak MG II C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with mobile phase of acetonitrile, and water acid (gradient elution). The detection wavelength was 287 nm, and the flow rate was 1 mL/min. The column temperature was 5 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** The concentration rangings of eugenol and asarinin were 5.334 ~ 64.008 μg/mL and 9.625 ~ 115.500 μg/mL ($r=0.9999$), respectively; the average recoveries were 97.93%, 98.73%, respectively, with RSDs 1.12% and 1.65% ($n=6$). **Conclusion** This method is simple, reliable and reproducible, and can be used for the quality control of Dingxi Yatong Capsules.

Key words: high performance liquid chromatography; Dingxi Yatong Capsules; eugenol; asarinin

丁细牙痛胶囊由丁香叶和细辛组方, 具有清热解毒、疏风止痛的功效, 对慢性牙髓炎具有较好疗效^[1]。现行质量标准采用供试品在酸性条件下与亚硝酸-钼酸钠反应, 以原儿茶酸为对照, 采用紫外分光光度法测定其中丁香叶的含量^[2], 而对细辛及丁香叶中丁香酚无测定方法。丁香叶中所含丁香酚具有广谱抗菌消炎作用^[3], 细辛所含细辛脂素具有祛风止痛功效, 可用于治疗牙痛^[4]。参考文献[5-9], 采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定丁香叶和细辛中的丁香酚和细辛脂素的含量, 能更好地控制丁细牙痛胶囊的质量。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪(岛津企业管理 <中国>有限公司); XP26 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司, 精度为百万分之一); KQ-500 型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司, 功率为 500 W, 频率为 40 kHz); Merck Milli-Q Advantage A10 型纯水机(德国 Merck Millipore 公司)。

1.2 试剂

丁细牙痛胶囊(深圳市泰康制药有限公司, 批号分别为 20170903, 20180312, 180316, 20180502, 180907,

规格为每粒 0.45 g); 丁香酚对照品(批号为 110725-201213, 含量为 99.7%), 细辛脂素对照品(批号为 111889-201504, 含量为 100.0%), 均购自中国食品药品检定研究院; 乙腈为色谱纯, 水为纯水仪自制去离子水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Capcell Pak MG II C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-水(B), 按表 1 进行梯度洗脱; 进样量: 10 μL; 柱温: 35 °C; 流速: 1 mL/min; 检测波长: 287 nm。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间(min)	乙腈(A, %)	水(B, %)
0	40	60
10	80	20
15	100	0

2.2 溶液制备

分别取丁香酚对照品 10.70 mg、细辛脂素对照品 19.25 mg, 精密称定, 置 100 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备溶液。精密量取 2 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀,

作为对照品溶液。取样品(批号为20170903)20粒,混合均匀,取2g,精密称定,加甲醇50mL,称定质量,超声处理(功率为500W,频率40kHz)30min,放冷,用甲醇补足减失的质量,摇匀,用0.45 μm滤膜滤过,取续滤液,作为供试品溶液。根据产品处方的用量比例,分别配制阴性对照品溶液、缺细辛阴性对照品溶液、缺丁香叶阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

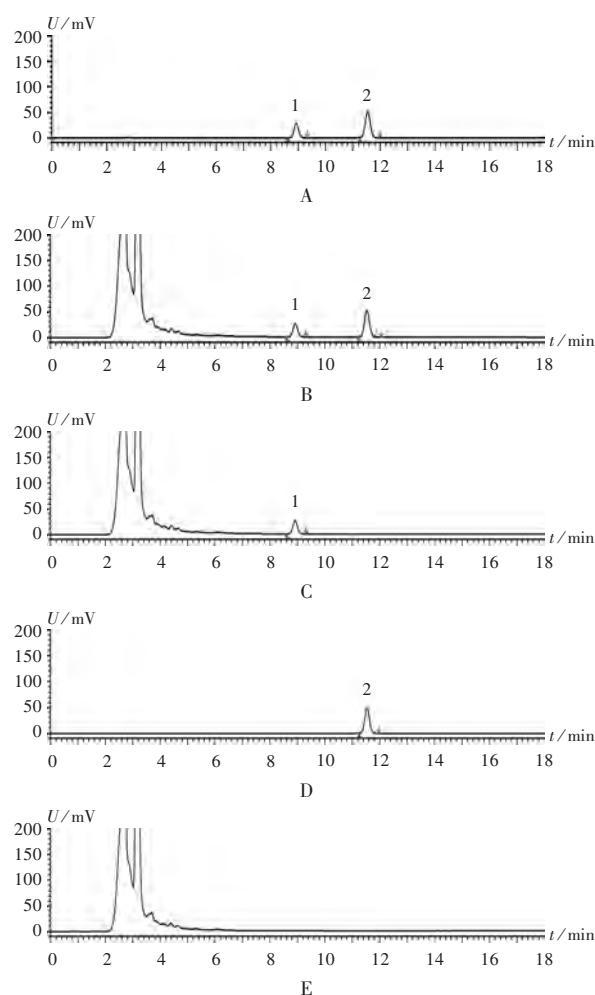
专属性试验:分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液、缺细辛阴性对照品溶液、缺丁香叶阴性对照品溶液,按拟订色谱条件测定。结果主成分峰分离度良好,与杂质能得到很好分离,原辅料均无干扰。色谱图见图1。

线性关系考察:精密吸取上述对照品贮备液0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 mL,置10 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取5 μL注入色谱仪,记录色谱图,以质量浓度为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,得丁香酚的回归方程 $Y_T = 5.4 \times 10^4 X_T + 19\ 656$ ($r = 0.999\ 9$),细辛脂素的回归方程 $Y_X = 5.8 \times 10^4 X_X + 54\ 205$ ($r = 0.999\ 9$)。结果表明,丁香酚和细辛脂素质量浓度分别在5.334~64.008 μg/mL和9.625~115.500 μg/mL范围内与其峰面积线性关系良好。

精密度试验:取样品(批号为20170903)适量,依法制备供试品溶液,每次10 μL,重复进样6次,记录色谱图。结果峰面积的RSD丁香酚为0.97% ($n = 6$),细辛脂素为0.76% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(批号为20170903)适量,依法制备供试品溶液10 μL,分别于0, 2, 4, 8, 12, 24 h时进样测定峰面积。结果丁香酚、细辛脂素的RSD分别为1.57%和1.31% ($n = 6$),表明供试品溶液在24 h内稳定。

重复性试验:取同一批样品(批号为20170903),按2.2项下方法平行制备供试品溶液6份,按拟订色谱条件测定。结果丁香酚平均含量为1.19 mg/g、RSD为1.87% ($n = 6$),细辛脂素平均含量为2.22 mg/g、RSD为1.61% ($n = 6$),表明方法重复性良好。



1. 丁香酚 2. 细辛脂素

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 缺细辛阴性对照品溶液
D. 缺丁香叶阴性对照品溶液 E. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

加样回收试验:取同一批(批号为20170903)已知含量的供试品6份,每份1.0g,分别加入对照品,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定含量,并计算回收率。结果见表2。

2.4 样品含量测定

取5批样品,依法制备供试品溶液,分别测定含量。结果见表3。

表2 加样回收试验结果($n = 6$)

取样量(g)		样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.987 8	1.032 5	1.18	2.29	1.031	1.973	2.188	4.214	97.77	97.52				
1.098 6	1.009 6	1.31	2.24	1.075	2.062	2.372	4.234	98.79	96.70				
1.023 0	0.998 2	1.22	2.22	1.140	1.881	2.318	4.103	96.32	100.11	97.93	98.73	1.12	1.65
1.095 1	1.005 1	1.30	2.23	1.127	2.079	2.408	4.285	98.31	98.85				
1.018 2	1.037 6	1.21	2.30	1.382	2.262	2.552	4.586	97.11	101.06				
1.068 2	1.045 1	1.27	2.32	1.151	2.397	2.413	4.673	99.30	98.16				

注:成分A为丁香酚,B为细辛脂素。