

HPLC-DAD法同时测定桉柠蒎肠溶软胶囊中桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯的含量

李慧*,张翠欣#,张少芳,赵娜,周健(河北医科大学第三医院临床药学部,石家庄 050051)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0411-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.40

摘要 目的:建立同时测定桉柠蒎肠溶软胶囊中桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯含量的方法。方法:采用高效液相色谱-二极管阵列(DAD)法。色谱柱为 ZORBAX SB-C₁₈,流动相为乙腈-水-异丙醇(70:28:2, V/V/V),流速为 1 ml/min,检测波长为 203 nm,柱温为 40 ℃,进样量为 10 μ l。结果:桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯的质量浓度分别在 0.200~2.000、0.156~1.190、0.049~0.500 mg/ml 范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.999\ 6$ 、 $0.999\ 1$ 、 $0.999\ 5$);精密度的 RSD $<2\%$,稳定性、重复性试验的 RSD $<3\%$;平均加样回收率分别为 99.54%、99.19%、100.30%,RSD 分别为 1.61%、1.48%、1.25% ($n=6$)。结论:该方法简便、快速、结果准确,可用于桉柠蒎肠溶软胶囊的含量测定。

关键词 高效液相色谱法;二极管阵列;桉柠蒎肠溶软胶囊;桉油精;柠檬烯; α -蒎烯;含量测定

Simultaneous Determination of Eucalyptol, Limonene and α -Pinene in Anningpai Enteric Soft Capsules by HPLC-DAD

LI Hui, ZHANG Cui-xin, ZHANG Shao-fang, ZHAO Na, ZHOU Jian (Dept. of Clinical Pharmacy, The Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of eucalyptol, limonene and α -pinene in Anningpai enteric soft capsules. METHODS: HPLC-DAD method was adopted. The determination was performed on ZORBAX SB-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-water-isopropanol (70:28:2, V/V/V) at the flow rate of 1 ml/min. The detection wavelength was set at 203 nm, and the column temperature was 40 ℃. The samples size was 10 μ l. RESULTS: The linear ranges were 0.200-2.000 mg/ml for eucalyptol ($r=0.999\ 6$), 0.156-1.190 mg/ml for limonene ($r=0.999\ 1$) and 0.049-0.500 mg/ml for α -pinene ($r=0.999\ 5$). RSD of precision test was lower than 2%, and RSDs of stability and reproducibility tests were lower than 3%. Average recoveries were 99.54% (RSD=1.61%, $n=6$), 99.19% (RSD=1.48%, $n=6$) and 100.30% (RSD=1.25%, $n=6$), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, accurate, and can be used for the content determination of Anningpai enteric soft capsules.

KEYWORDS HPLC; Eucalyptol; Diode array; Anningpai enteric soft capsules; Eucalyptol; Limonene; α -Pinene; Content determination

桉柠蒎肠溶软胶囊是新一代强效黏液促排剂,其有效成分为桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯,临床广泛用于治疗肺炎、急慢性鼻窦炎和支气管炎等呼吸道疾病^[1]。桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯均为小分子挥发油,《中国药典》^[2]及文献^[3-5]采用气相色谱(GC)法测定中草药中桉油精、柠檬烯或 α -蒎烯单成分的含量,但国内外尚未见桉柠蒎肠溶软胶囊有效成分分析以及同时测定软胶囊中3种成分的报道。为使桉柠蒎肠溶软胶囊质量可控,我院曾采用高效液相色谱-二极管阵列(HPLC-DAD)法测定桉柠蒎肠溶软胶囊中桉油精的含量^[6]。在此基础上,本研究建立了同时测定桉柠蒎肠溶软胶囊中桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯含量的方法。

1 材料

1.1 仪器

* 硕士研究生。研究方向:药剂学。电话:0311-88603311。E-mail:qiuye_322@163.com

通信作者:主任药师,硕士生导师,博士。研究方向:药剂学、体内药物分析。电话:0311-88603311。E-mail:zhangcx6@aliyun.com

1100型HPLC仪,包括G1311A型四元泵、G1322A型脱气机、G1313A型自动进样器、G1316A型柱温箱、G1315B型DAD检测器和色谱工作站(美国Agilent公司);AX205型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);HS2060型超声波清洗器(天津市恒奥科技发展有限公司)。

1.2 药品与试剂

桉柠蒎肠溶软胶囊(北京九和药业有限公司,批号:20120206、20130401、20130802);桉油精对照品(北京世纪奥科生物技术有限公司,批号:130308,纯度 $\geq 98\%$);柠檬烯对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100470,纯度 $\geq 96\%$); α -蒎烯对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号:YA0418SA14,纯度 $\geq 98\%$);乙腈(色谱纯,美国TEDIA公司);异丙醇(色谱纯,美国Fisher公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:ZORBAX SB-C₁₈(150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-水-异丙醇(70:28:2, V/V/V);流速:1 ml/min;检测波

长:203 nm;柱温:40 ℃;进样量:10 μl。在此色谱条件下,取桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯对照品溶液与供试品溶液各适量,分别进样,记录色谱图。结果,各色谱峰分离度良好,杂质干扰较少,桉油精、柠檬烯、 α -蒎烯的保留时间分别约为3.9、9.5、11.9 min,分离度均 >1.5 ;理论板数以桉油精峰计应不低于10 000,以柠檬烯计应不低于5 000,以 α -蒎烯计应不低于10 000。色谱见图1。

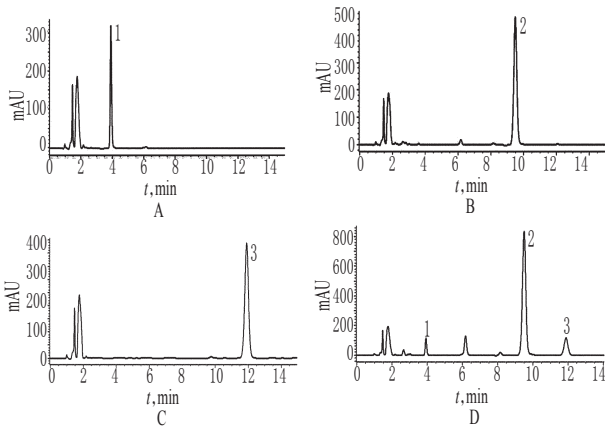


图1 高效液相色谱图

A.桉油精对照品;B.柠檬烯对照品;C. α -蒎烯对照品;D.供试品;1.桉油精;2.柠檬烯;3. α -蒎烯

Fig 1 HPLC chromatograms

A.eucalyptol control; B. limonene control; C. α -pinene control; D. test sample; 1. eucalyptol; 2. limonene; 3. α -pinene

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别精密量取桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯对照品各适量,加异丙醇配制质量浓度分别为2.00、2.56、2.80 mg/ml的桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯的对照品贮备液;密封,置4 ℃冰箱避光保存,备用,使用时稀释至所需浓度,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取10粒桉柠蒎肠溶软胶囊(规格:0.3 g/粒)的内容物,混匀,精密量取10 μl,加800 μl异丙醇溶解;精密量取60 μl,加240 μl异丙醇溶解,即得。

2.3 线性关系考察

2.3.1 桉油精 精密量取“2.2.1”项下桉油精对照品贮备液适量,加异丙醇溶液配制质量浓度分别为0.200、0.400、0.800、1.000、1.600、2.000 mg/ml的对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x , mg/ml)为横坐标进行线性回归,得桉油精的回归方程为 $y=1.163 5 \times 10^3 x - 2.302 8$ ($r=0.999 6$)。结果表明,桉油精的质量浓度在0.200~2.000 mg/ml范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系。

2.3.2 柠檬烯 精密量取“2.2.1”项下柠檬烯对照品贮备液适量,加异丙醇溶液配制质量浓度分别为0.156、0.299、0.597、0.768、0.896、1.190 mg/ml的对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x , mg/ml)为横坐标进行线性回归,得柠檬烯的回归方程为 $y=2.700 2 \times 10^4 x + 1.774 6 \times 10^3$ ($r=0.999 1$)。结果表明,柠檬烯的质量浓度在0.156~1.190 mg/ml范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系。

2.3.3 α -蒎烯 精密量取“2.2.1”项下 α -蒎烯对照品贮备液适量,加异丙醇溶液配制质量浓度分别为0.049、0.098、0.200、

0.300、0.400、0.500 mg/ml的对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x , mg/ml)为横坐标进行线性回归,得 α -蒎烯的回归方程为 $y=2.342 5 \times 10^4 x - 109.11$ ($r=0.999 5$)。结果表明, α -蒎烯的质量浓度在0.049~0.500 mg/ml范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系。

2.4 精密度的试验

取“2.2.1”项下各对照品贮备液适量,加异丙醇配制质量浓度分别为1.00、1.00、0.25 mg/ml的桉油精、柠檬烯、 α -蒎烯对照品溶液。分别取上述对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯峰面积的RSD分别为1.73%、0.26%、0.31%,表明仪器精密性良好。

2.5 稳定性试验

取同一供试品溶液适量,分别于0、2、4、6、8、12 h时,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯峰面积的RSD分别为2.51%、0.62%、1.14%,表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

2.6 重复性试验

取同一批号的桉柠蒎肠溶软胶囊样品(批号:20130401)适量,分别按“2.2.2”项下方法制备6份供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法计算样品含量。结果,桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯的平均含量分别为129.35、98.92、28.96 mg/粒,峰面积的RSD分别为1.04%、0.93%、0.82%,表明该法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

取已知含量的胶囊(批号:20130401)内容物适量,共6份,分别精密加入一定量的桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery tests ($n=6$)

待测成分	序号	已知含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
桉油精	1	0.072 0	0.072 0	0.145 8	102.50	99.54	1.61
	2	0.073 3	0.072 0	0.144 0	98.19		
	3	0.071 6	0.072 0	0.143 3	99.58		
	4	0.072 2	0.072 0	0.143 7	99.31		
	5	0.073 4	0.072 0	0.144 0	98.06		
	6	0.072 2	0.072 0	0.143 9	99.58		
柠檬烯	1	0.055 4	0.120 0	0.173 2	98.17	99.19	1.48
	2	0.056 3	0.120 0	0.174 3	98.33		
	3	0.054 8	0.120 0	0.174 8	100.00		
	4	0.055 0	0.120 0	0.172 7	98.08		
	5	0.056 0	0.120 0	0.178 2	101.83		
	6	0.055 6	0.120 0	0.174 1	98.75		
α -蒎烯	1	0.016 3	0.072 8	0.088 3	98.90	100.30	1.25
	2	0.016 4	0.072 8	0.088 4	98.90		
	3	0.016 1	0.072 8	0.089 0	100.14		
	4	0.016 2	0.072 8	0.090 5	102.06		
	5	0.016 4	0.072 8	0.090 0	101.10		
	6	0.016 2	0.072 8	0.089 5	100.69		

2.8 样品含量测定

精密量取3批桉柠蒎肠溶软胶囊内容物各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,重复3次,以外标法计算样品中桉油精、

RP-HPLC法测定补肾强身片中金丝桃苷的含量

方慧祥^{1*}, 杨坤芬², 冯玉茹² (1. 曲靖市食品药品检验所, 云南 曲靖 655000; 2. 云南省药物研究所, 昆明 650111)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0413-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.41

摘要 目的: 建立测定补肾强身片中金丝桃苷含量的方法。方法: 采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Amethyst C₁₈-H, 流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(16:84, V/V), 流速为1.0 ml/min, 柱温为30 ℃, 检测波长为360 nm, 进样量为10 μl。结果: 金丝桃苷的进样量在0.061 0~1.220 4 μg范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$); 精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤0.52%; 平均加样回收率为98.68%, RSD为0.64% ($n=6$)。结论: 本方法快速、简便, 结果准确、可靠, 可用于补肾强身片的含量测定。

关键词 反相高效液相色谱法; 补肾强身片; 金丝桃苷; 含量测定

Content Determination of Hyperoside in Bushen Qiangshen Tablets by RP-HPLC

FANG Hui-xiang¹, YANG Kun-fen², FENG Yu-ru² (1. Qujing Institute for Food and Drug Control, Yunnan Qujing 655000, China; 2. Yunnan Institute of Materia Medica, Kunming 650111, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of hyperoside in Bushen qiangshen tablets. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Amethyst C₁₈-H column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (16:84, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 30 ℃, and the detection wavelength was set at 360 nm, the sample size was 10 μl. RESULTS: The linear range of hyperoside were 0.061 0-1.220 4 μg ($r=0.999\ 9$) with an average recovery of 98.68% (RSD=0.64%, $n=6$). RSDs of precision, reproducibility and stability tests were lower than 0.52%. CONCLUSIONS: This method is accurate, rapid, simple and reliable. It can be used for the content determination of Bushen qiangshen tablets.

KEYWORDS RP-HPLC; Bushen qiangshen tablets; Hyperoside; Content determination

柠檬烯和 α -蒎烯的含量, 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	桉油精, mg/粒	RSD, %	柠檬烯, mg/粒	RSD, %	α -蒎烯, mg/粒	RSD, %
20120206	119.91	0.86	91.27	1.01	29.11	1.12
20130401	125.21	0.71	96.64	0.16	30.24	0.52
20130802	118.20	0.37	92.34	1.09	28.55	0.48

3 讨论

近年来, 环境污染日趋严重, 鼻炎、鼻窦炎、支气管炎和肺炎等呼吸系统疾病患者逐年增加。桉柠蒎肠溶软胶囊作为治疗呼吸系统疾病的辅助用药, 临床应用也逐渐增多。本试验建立了同时测定桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯含量的方法, 为该胶囊的含量测定提供了简单、快速、准确、有效的方法。

笔者尝试采用甲醇-水^[7]为流动相同时测定桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯的含量。结果发现, 桉油精无吸收, 柠檬烯、 α -蒎烯分离度小。由于桉油精分子中无双键, 需采用末端吸收, 而乙腈比甲醇的末端吸收波长小, 因此选用乙腈-水作为流动相。

由于桉柠蒎肠溶软胶囊中 α -蒎烯及某些辅料不溶于乙腈^[8], 故选用异丙醇溶解对照品及软胶囊, 并在流动相中加入适量异丙醇。结果表明, 采用乙腈-水-异丙醇(70:28:2, V/V/V)为流动相同时测定桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯的含量, 分离效果好, 分析物质出峰快, 杂峰少, 灵敏度高, 专属性强, 操作简便快

速, 适用于该制剂的含量测定。

综上所述, 该方法简单、快速、结果准确, 可用于桉柠蒎肠溶软胶囊的含量测定。

参考文献

- [1] 张少芳, 张翠欣. 桉柠蒎肠溶软胶囊的质量控制和临床应用研究进展[J]. 临床合理用药, 2014, 7(2): 173.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录62.
- [3] 赵晓岷, 陈晓辉, 谭晓婧, 等. GC同时测定高良姜挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯、桉油精和 α -松油醇的含量[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(27): 2751.
- [4] 张加, 陈晓辉, 张迪, 等. GC法同时测定萹蓄挥发油中6中成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(3): 424.
- [5] 张淑蓉, 裴晓丽, 王华阳. 不同采收期连翘挥发油中 α -蒎烯和 β -蒎烯含量的比较[J]. 中国药房, 2013, 24(47): 4469.
- [6] 张少芳. 桉柠蒎肠溶软胶囊质量控制及治疗矽肺合并感染的疗效[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2014.
- [7] 张瑞伦, 张庆, 徐世艾. HPLC测定留兰香油中柠檬烯[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(2): 743.
- [8] 何兵, 田吉, 刘艳, 等. HPLC测定11种中药挥发油中桉油精的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(5): 769.

(收稿日期: 2014-07-23 修回日期: 2014-09-15)

(编辑: 孙冰)

* 主管药师。研究方向: 食品药品质量标准。电话: 0874-8994091。E-mail: 2224029987@qq.com