

HPLC 测定石榴健胃丸中桂皮醛和胡椒碱的含量

倪琳, 杨锡(甘肃省食品药品检验所, 甘肃省中药品质与安全评价工程技术研究中心, 兰州 730000)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法同时测定石榴健胃丸中桂皮醛、胡椒碱含量的方法。方法 色谱柱采用 CAPCELL PAK C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm)柱; 流动相为乙腈-水(40:60); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 290 nm; 柱温: 30 ℃。结果 桂皮醛在 1.149 5~13.793 5 μg 之间呈良好的线性关系, 平均回收率为 97.27%, RSD 为 1.39%(n=6); 胡椒碱在 0.726 4~2.724 μg 之间呈良好的线性关系, 平均回收率为 96.51%, RSD 为 1.39%。结论 本法简便、准确, 专属性强, 可作为控制石榴健胃丸质量的方法。

关键词: 石榴健胃丸; 桂皮醛; 胡椒碱; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)01-0067-03

Determination of Cinnamaldehyde and Piperine in Shiliu Jianwei Pill by HPLC

NI Lin, YANG Xi(Gansu Provincial Institute of Food and Drug Control, Gansu Province Traditional Chinese Medicine Quality and Safety Evaluation of Engineering Technology Research Center, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the content of Cinnamaldehyde and Piperine in Shiliu jianwei Pill. **METHODS** The analysis was performed on a CAPCELL PAK C₁₈ Column(4.6 mm×250 mm, 5 μm)at 30℃ with acetonitrile-water (40:60)as the mobile phase and the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 290nm. **RESULTS** Cinnamaldehyde have good linearity in the range of 1.149 5–13.793 5 μg($r=0.999\ 7$). The average recovery was 97.27% and RSD was 1.39% ($n=6$). Piperine have good linearity in the range of 0.726 4–2.724 μg, ($r=0.999\ 1$) respectively. The average recovery was 96.51% and RSD was 1.39% ($n=6$). **CONCLUSION** The established method is accurate, reliable and specific. The quality of the pill can be controlled by the method.

KEY WORDS: Shiliu Jianwei Pill; Cinnamaldehyde; Piperine; HPLC

石榴健胃丸收载于《卫生部药品标准藏药第一册》,由石榴子、肉桂、荜茇、红花、豆蔻粉碎成细粉,用水泛丸制成的丸剂;具有温胃益火的功效。用于消化不良,食欲不振,寒性腹泻的治疗^[1]。原标准仅有 1 个显微鉴别项和石榴子药材的薄层色谱鉴别及常规检查项,不利于药品的质量控制,为了有效控制该制剂的质量,采用高效液相色谱法同时测定石榴健胃丸中桂皮醛^[2]、胡椒碱的含量,为该制剂的质量控制提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters Alliance e2695 四元泵, Waters 2998 二级管阵列检测器; Mettler AE240 电子天平。

1.2 试剂

胡椒碱对照品(批号: 0775-200203, 供含量测定用, 纯度 100%)、桂皮醛对照品(批号: 110710-200212, 供含量测定用, 纯度 100%)均购自中国药品生物检定所;石榴健胃丸由甘南

佛阁藏药有限公司(批号: 090001、090002、090003);西藏昌都藏药厂(批号: 090201、090701、091101);甘肃奇正藏药有限公司(批号: 100901、100902、100903)提供。硅胶 G 薄层板;乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

取桂皮醛对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 1.149 46 mg 的溶液,即得。取胡椒碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含胡椒碱 0.181 6 mg 的溶液,即得。

2.2 供试品溶液的制备

取供试品 5 g,研细,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加甲醇 25 mL,密塞,称定重量,放置过夜,超声处理 20 min,再称定重量,用甲醇补足减失重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 阴性对照溶液的制备

按供试品的处方和制法,制成不含肉桂、荜

芫的阴性样品,按“2.2”项下的方法制得阴性对照溶液。

2.4 色谱条件及系统适应性试验

色谱柱选用 CAPCELL PAK C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(40:60);检测波长:290 nm,柱温:30℃,流速:1.0 mL·min⁻¹,进样量:对照品:5 μL,供试品:10 μL;对照品,供试品以及阴性对照色谱图见图1。阴性对照无干扰。

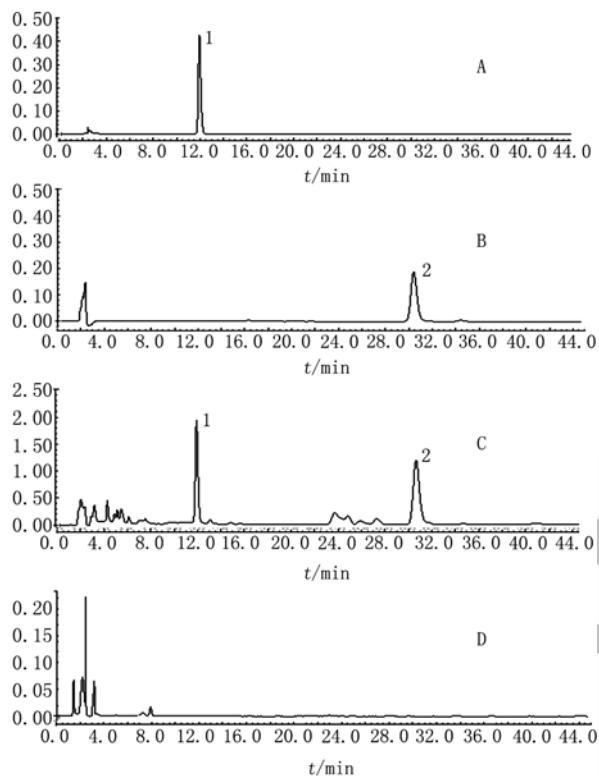


图1 高效液相色谱图

A-桂皮醛对照品;B-胡椒碱对照品;C-石榴健胃丸样品;D-阴性对照;1-桂皮醛;2-胡椒碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A-Cinnamaldehyde reference substance; B-Piperine reference substance; C-Shiliu Jianwei Pill; D-negative sample solution; 1-Cinnamaldehyde; 2-Piperine

2.5 工作曲线与线性关系

分别精密吸取桂皮醛对照品溶液(浓度为1.149 46 mg·mL⁻¹)1, 3, 5, 7, 9, 12 μL,注入液相色谱仪,测定峰面积积分值;分别精密吸取胡椒碱对照品溶液(浓度为0.181 6 mg·mL⁻¹)4, 6, 8, 10, 15 μL,注入液相色谱仪,测定峰面积积分值;以峰面积积分值为横坐标(X),进样量为纵坐标(Y),分别作图,得桂皮醛、胡椒碱的线性回归方程依次为: $Y=6.342 \times 10^{-7} X-0.044 \ 0$, $r=0.999 \ 7$, $Y=1.717 \ 7 \times 10^{-7} X-6.529 \ 3 \times 10^{-3}$, $r=0.999 \ 1$,结果

表明,桂皮醛、胡椒碱分别在1.149 5~13.793 5 μg、0.726 4~2.724 μg之间线性关系良好。

2.6 仪器适应性试验

分别取桂皮醛、胡椒碱同一浓度对照品溶液,注入液相色谱仪,连续进样6次,测定桂皮醛、胡椒碱峰面积,RSD分别为2.89%,0.45%,表明仪器的精密度较好。

2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液,每隔2 h时间进分别样1次,结果在12 h内,供试品溶液中桂皮醛、胡椒碱峰面积稳定,RSD分别为1.2%,1.4%,供试品溶液在12 h分析时间内稳定性良好。

2.8 重复性试验

称取同一样品(批号:090001)按“2.2”项下方法平行制备6份溶液,进行高效液相色谱分析,测定含量,结果桂皮醛、胡椒碱的RSD分别为2.58%,1.23%。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量供试品(批号:090001)3组,每组2份,分别精密加入一定量的桂皮醛、胡椒碱对照品溶液,按供试品溶液制备项下的方法制备并测定,结果测得桂皮醛、胡椒碱的平均回收率分别为97.27%、96.51%,RSD分别为1.39%、1.39%($n=6$)。结果见表1和表2。

2.10 样品的测定

取九批石榴健胃丸按“2.2”项下方法制成供试液,分别进样,测得峰面积值,计算石榴健胃丸中桂皮醛、胡椒碱的含量。结果见表3和表4。

3 讨论

3.1 提取条件的选择

采用“甲醇超声提取20 min、甲醇加热回流20 min、加甲醇放置过夜,超声处理20 min、加甲醇放置过夜,超声处理30 min、70%乙醇超声30 min”5种方法对样品中桂皮醛、胡椒碱的提取效果进行比较,结果用加甲醇放置过夜,超声处理20 min测得样品中桂皮醛、胡椒碱含量最高且提取完全。故本文采用加甲醇放置过夜,超声处理20 min的提取方法。

3.2 流动相的选择

本文在选择流动相时,曾考察过乙腈-水^{[3]127}、甲醇-水^{[3]219}、乙腈-0.1%磷酸^[4],经试验后,选用乙腈-水为流动相,桂皮醛、胡椒碱的色谱峰达到基线分离,分离效果较好。

表 1 桂皮醛加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Recovery of Cinnamaldehyde($n=6$)

组别	称样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得总量/mg	回收率/%	平均/%	RSD/%
1	2.013 5	6.282 1	5.747 3	11.869 1	97.21	97.27	1.39
2	2.001 8	6.245 6	5.747 3	11.885 4	98.13		
3	2.113 2	6.593 2	6.896 8	13.219 0	96.07		
4	2.191 4	6.837 2	6.896 8	13.404 3	95.22		
5	2.020 8	6.304 9	8.046 2	14.281 1	99.13		
6	2.082 1	6.496 2	8.046 2	14.369 4	97.85		

表 2 胡椒碱加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 2 Recovery of Piperine($n=6$)

组别	称样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得总量/mg	回收率/%	平均/%	RSD/%
1	0.511 5	2.127 8	1.642 0	3.699 4	95.71	96.51	1.39
2	0.502 1	2.088 7	1.642 0	3.708 0	98.62		
3	0.501 7	2.087 0	2.052 5	4.084 5	97.32		
4	0.514 3	2.139 4	2.052 5	4.127 9	96.88		
5	0.510 2	2.122 4	2.463 0	4.467 9	95.23		
6	0.542 2	2.255 6	2.463 0	4.602 5	95.29		

表 3 石榴健胃丸中桂皮醛的测定结果($n=9$, $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

Tab 3 Determination of Cinnamaldehyde in Shiliu Jianwei Pill($n=9$, $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

批号	甘南佛阁藏药有限公司			西藏昌都藏药厂			甘肃奇正藏药有限公司		
	090001	090002	090003	090201	090701	091101	100901	100902	100903
含量	3.13	3.09	3.02	0.95	1.03	1.19	5.64	5.41	5.27
	3.10	3.10	3.03	1.03	1.07	1.07	5.62	5.40	5.23
平均	3.12	3.10	3.02	0.99	1.05	1.13	5.63	5.40	5.25

表 4 石榴健胃丸中胡椒碱的测定结果($n=9$, $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

Tab 4 Determination of Piperine in Shiliu Jianwei Pill ($n=9$, $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

批号	甘南佛阁藏药有限公司			西藏昌都藏药厂			甘肃奇正藏药有限公司		
	090001	090002	090003	090201	090701	091101	100901	100902	100903
含量	4.16	4.19	4.13	2.40	2.40	2.38	3.53	4.38	3.22
	4.15	4.10	4.21	2.41	2.40	2.39	3.52	4.37	3.12
平均	4.16	4.14	4.17	2.40	2.40	2.38	3.52	4.38	3.17

3.3 检测波长的选择

采用 DAD 在 190~400 nm 全波长扫描, 结果桂皮醛最佳吸收为 290 nm, 胡椒碱最佳吸收为 343 nm, 在 290 nm 处有吸收且共同吸收最大。故选择 290 nm 作为检测波长。

REFERENCES

[1] Chinese Ministry of Health standards Tibetan Volume(中国卫生部药品标准藏药第一册)[S]. 1995: 302.

[2] CHEN X Y, BI K S, YI L X, et al. Simultaneous DETERMINATION OF FOUR COMPONENTS in Guizhi-Gancao decoction by HPLC with double-wavelength switch [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(3): 265-267.

[3] Ch.P(2010)Vol I(中国药典 2010 年版.一部)[S]. 2010: 127, 219.

[4] SONG L H, ZHANG R, WAN H J, et al. Determination of content of cinnamaldehyde in GuiZhi Fulin tablets by HPLC[J]. J Hubei Med Univ Chin Med(湖北中医药大学学报), 2010, 12(2): 39-41.

收稿日期: 2011-05-16