DOI:10.19789/j.1004-9398.2015.06.011

HPLC 法测定安康心宝丸中胡椒碱的含量

张 颖 王英锋* 郝 睿 李天一 祝 翔
(首都师范大学 化学系 分析测试中心,北京 100048)

摘 要

目的: 建立 HPLC 测定安康心宝丸中胡椒碱含量的方法. **方法:** 用 DIONEX (4.6 mm×250 mm,5 μm) 色谱柱,0~20 min 甲醇-水(70∶30) 为流动相,流速为 1 mL·min^{-1},检测波长为 343 nm,柱温 35℃,进样体积 10 μL,应用 Ulimate-3000 系列液相色谱仪进行测定. **结果:** 胡椒碱与其他成分分离良好,在 0.026 6~0.345 8 μg 范围内呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 97$),平均回收率 ($n=6$) 为 100.78 %. **结论:** 该方法简便、准确,重复性好,可用于测定安康心宝丸中胡椒碱含量.

关键词: 高效液相色谱,安康心宝丸,胡椒碱.
中图分类号: O657.7

安康心宝丸是由荜茇、苏合香、丁香等 13 味组成的中成药,具有芳香开窍,行气活血,通络止痛. 用于气滞血瘀,气短心烦,突然昏厥. 其中荜茇为胡椒科胡椒属植物,收藏于 2010 年版《中国药典》[1]. 其中含有挥发油类、木脂素类、萜类、甾醇类及其他化合物[2]. 荜茇 温中散寒,行气止痛. 临床用于胃脘气,腹泻等[3].

在 2010 年版中国药典一部中,胡椒碱作为荜茇质量控制的指标成分. 本文采用 HPLC 的方法测定安康心宝丸中的胡椒碱含量.

1 仪器、试药及样品

Ulimate-3000 高效液相色谱仪; VWD 检测器; Ulimate-3000 色谱工作站; 分析天平(北京 Sartorious 仪器有限公司); KQ-500 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司).

对照品胡椒碱(批号 110775-201104) 购买于中国食品药品检定研究院,水为超纯水,甲醇为 HPLC 级(赛默飞世尔科技有限公司).

安康心宝丸 3 批(批号: 13030201、13030202、13030203) 市售.

收稿日期: 2014-10-16

* 通讯作者,E-mail: wangyf@mail.cnu.edu.cn

2 溶液的配制

2.1 对照品溶液

精密称取含量为 99.2% 胡椒碱对照品 2.66 mg,置 100 mL 容量瓶中,加甲醇适量使其溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液(0.026 6 mg·mL^{-1}).

2.2 供试品溶液

取本品粉末(过 40 目筛) 0.02 g,精密称定,置 25 mL 棕色容量瓶中,精密加入甲醇 25 mL,摇匀,超声处理(功率 250 W,频率 40 Hz) 20 min,滤过,补足重量,加甲醇至刻度,摇匀,即得.

2.3 阴性样品溶液

按处方配比,取除荜茇外的其他药材,按处方比例,粉碎成细粉,过 40 目筛,按"2.2"项下方法配制出对照品溶液.

3 色谱条件

色谱柱: DIONEX (4.6 mm×250 mm,5 μm) 分析柱; 流动相: 以甲醇-水(70∶30); 检测波长 343 nm; 柱温 35 ℃; 流速流速 1.0 mL·min^{-1}; 进样量: 10 μL.

在上述色谱条件下,精密吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性样品溶液各 10 μL,分别注入色谱仪,结果表明样品中其他成分对阿魏酸的测定无干扰,见图 1.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

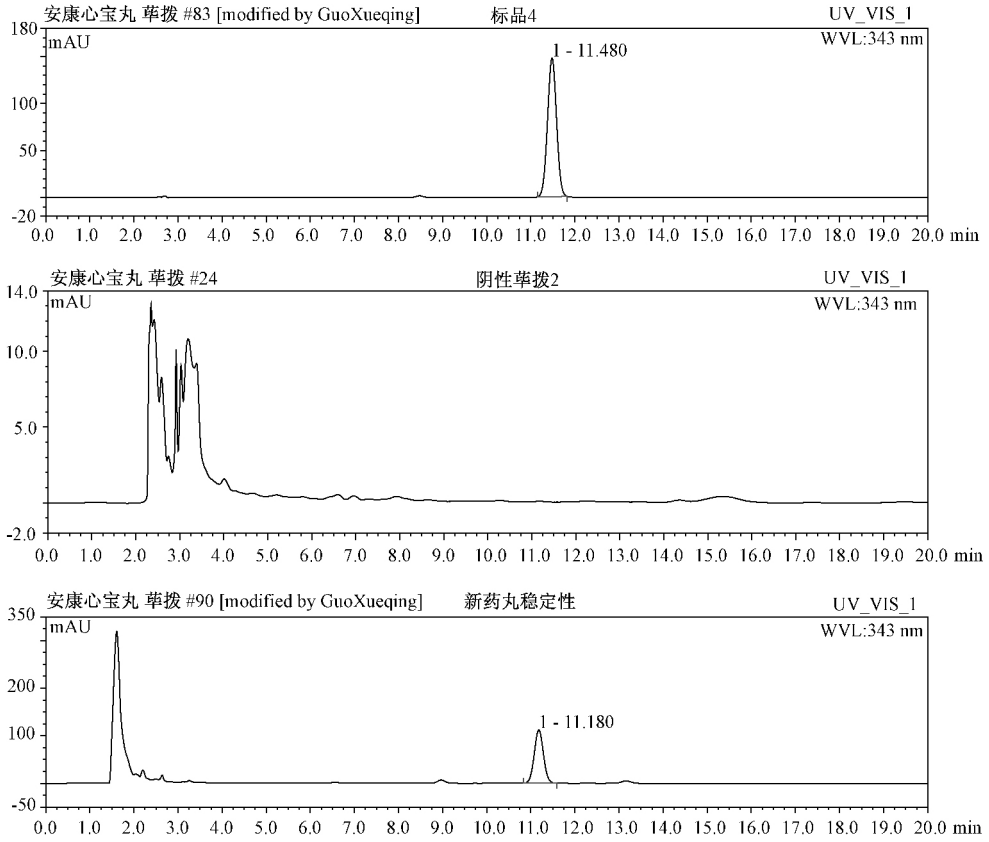


图 1　色谱图(A: 对照品, B: 阴性样品, C: 供试品)

4　方法学考察

4.1　线性关系的考察

分别吸取 0.026 6 mg·mL^{-1}对照品溶液 1, 4, 7, 10, 13 μL,注入液相色谱仪,以进样量 (μg) 对色谱峰面积积分值 (Y) 作标准曲线,并进行回归,计算得回归方程为:

$Y = 132.990\ 10X + 0.154\ 78$　　$r = 0.999\ 97$

结果表明阿魏酸进样量在 0.026 6 ~ 0.345 8 μg 的范围内峰面积呈良好线性关系.

4.2　稳定性试验

精密称取安康心宝丸供试品(批号 13030201) 0.345 5 g,照"2.2"项下方法,分别在 0、1、3、5、8、12、24 h 进样测定,以峰面积计算,胡椒碱峰面积的 RSD 为 2.20%,结果表明安康心宝丸自制备在 24 h 内稳定.

4.3　精密度试验

取同一批号的安康心宝丸样品(批号 13030201) 1 份,按"2.2"项下方法制备和测定,含量测定方法按拟定的色谱条件连续进样 6 次,以峰面积计算,RSD 为 0.52%,小于 3%,精密度良好.

4.4　重复性试验

取同一批号的安康心宝丸样品(批号 13030201) 6 份,按"2.2"项下方法制备和测定,含量测定方法按拟定的色谱条件进行测定,测得胡椒碱的平均含量 ($n = 6$) 为 3.622 8 mg·袋$^{-1}$,RSD 为 0.76%,结果表明重复性良好.

4.5　加样回收率试验

称取已知含量的同一批安康心宝丸样品(批号 13030201,胡椒碱含量为 1.518 8 mg·g^{-1}) 6 份,每份约 0.2 g 精密称取,分别精密加入胡椒碱对照品溶液 25.28 μg,按正文供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,按正文色谱条件测定其含量,结果平均回收率($n = 6$) 为 100.78%,RSD 为 2.40%,表明本实验具有良好的回收率.

5　样品含量测定

精密称取安康心宝丸样品 3 批,每批两份,按"2.2"项下方法制备供试溶液,按拟定的色谱条件进行测定. 按外标法计算胡椒碱的含量,结果见表 1.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 1 样品测量结果

批号	平均含量 /mg·袋$^{-1}$
13030201	3.595 4
13030202	3.791 5
13030203	3.715 9

6 讨 论

不同的提取方法,溶剂及提取时间对实验结果有着较大影响. 提取时间(10 min、20 min、30 min)及溶剂(100% 甲醇、乙醇、70% 甲醇)进行了考察,实验结果显示,甲醇溶剂提取,胡椒碱与其他组分峰分离较好,且峰形也较好; 提取 20 min,30 min 的含量比提取 10 min 的含量高,但提取 20 min 与 30 min,信号已无差别,所以提取工艺选择提取时间为 20 min,提取溶剂为 100% 甲醇.

采用中国药典方法以甲醇-水(70∶30)为流动相对胡椒碱进行 HPLC 法测定,分离较好,基线较低,节省了时间与溶剂,保持了柱效的稳定性,分离较理想.

本法用 HPLC 法测定安康心宝丸中胡椒碱,样品处理方法简单,稳定,重复性良好,可用于安康心宝丸药丸的质量控制.

参 考 文 献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 第一部. 北京: 中国医学科技出版社,2010: 1697 - 1700.
[2] 毕赢, 吴霞, 陈筱清. 荜茇化学成份及药理活性研究进展[J]. 中国药学杂志,2009,46(22): 51 - 52.
[3] 李瑞和, 苏日纳, 郭林云, 等. 荜茇化学成分与药理作用研究概况[J]. 中国民族药学杂志,2006,3: 73 - 74.

HPLC Determination of Piperine in Ankang Xinbao Pills

Zhang Ying Wang Yingfeng* Hao Rui Li Tianyi Zhu Xiang

(Analysis and Testing Center, Capital Normal University, Beijng 100048)

Abstract

A simple and quick method is described for the determination of Piperine in Ankang Xinbao Pills. Piperine in the sample was extracted using reversed-phase high performance liquid chromatography (HPLC). Chromatography separation was performed using Ulimate-3000 series HPLC system with a DIONEX C18 column and gradient elution with a mixture of two solvents: solvent A, methanol, solvent B, water. 0 to 20 min A: B 70: 30. The effluent was monitored using a VWD detector set at 343 nm. The flow rate was set at 1 mL·min^{-1} and the injection volume was 10μL. The column temperature was maintained at 35℃. Piperine was well separated and the linearity was obtained with in the range of 0.026 6 ~ 0.345 8 μg (r = 0.999 97); The average recovery (n = 6) was 100.78 %. The method is simple, accurate, reproducible, and can be used for determination of Piperine in Ankang Xinbao Pills.

Key words: HPLC, ankang xinbao pills, piperine.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net