

HPLC 测定苏黄止咳胶囊中紫苏醛含量

姚琴, 丰杰*, 王想, 赵凤新

(扬子江药业集团 北京海燕药业有限公司, 北京 102206)

[摘要] 目的:建立苏黄止咳胶囊中紫苏醛含量的 HPLC 测定方法。方法:采用高效液相色谱法, SHIMADZU Shim-pack VP-ODS C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水 (68:32), 检测波长 230 nm, 流速 0.8 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C。结果:紫苏醛在 5.672 ~ 453.76 ng 与其峰面积呈良好的线性关系, 线性回归方程为 $Y = 5.695X + 1.28$ ($r = 0.9995$), 平均加样回收率为 99.57% (RSD 1.7%)。结论:该方法准确、分离度好、专属性强, 可用于苏黄止咳胶囊中紫苏醛的含量测定。

[关键词] 苏黄止咳胶囊; 紫苏醛; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0081-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240081

Determination of Perillaldehyde in Suhuang Zhike Capsule by High-performance Liquid Chromatography

YAO Qin, FENG Jie*, WANG Xiang, ZHAO Feng-xin

(Beijing Haiyan Pharmaceutical Co. Ltd, Beijing 102206, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the content determination of perillaldehyde in Suhuang Zhike Capsule. **Method:** HPLC was performed on SHIMADZU Shim-pack VP-ODS C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), and the mobile phase was consisted of methanol-water (68: 32). The detection wavelength was set at 230 nm, the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ and the column temperature was 30 °C. **Result:** Perillaldehyde showed a good linear relationship from 5.672 ng to 453.76 ng, and the regression equation was $Y = 5.695X + 1.28$ ($r = 0.9995$). The average recovery was 99.57% with RSD of 1.68%. **Conclusion:** The HPLC method is simply and accurate with a good specificity. It can be used to determine the content of perillaldehyde in the Suhuang Zhike Capsule.

[Key words] Suhuang Zhike capsule; HPLC; Perillaldehyde

苏黄止咳胶囊源于中日友好医院中医呼吸科主任医师晁恩祥教授四十余年对呼吸疾病的临床实践积累和研究成果。其处方由麻黄、紫苏叶、地龙、蜜枇杷叶、炒紫苏子、蝉蜕、前胡、炒牛蒡子、五味子9味中药材组成,用于风邪犯肺,肺气失宣所致的咳嗽、咽痒、痒时咳嗽、或呛咳阵作、气急,遇冷空气、异味等因素突发或加重,或夜卧晨起咳剧,多呈反复性发作,干咳无痰或少痰,舌苔薄白等。用于感冒后咳嗽及咳嗽变异型哮喘见上述症候者。

处方中,麻黄为君药,用于发汗散寒、宣肺平喘、利水消肿;紫苏叶亦为君药,用于解表散寒、行气和胃。药理研究表明,紫苏茎叶中所含的活性物质具有非常好的抗氧化活性和抗过敏活性^[1-2]。现行质量标准为国家食品药品监督管理局 YBZ00172008,其标准针对君药麻黄和紫苏叶进行薄层鉴别,对麻黄中的盐酸麻黄碱进行含量测定,未对紫苏叶中紫苏醛进行含量监控。紫苏叶主要含有紫苏醛、柠檬烯等成分^[3-6],紫苏醛是紫苏叶的主要成分之一,含

[收稿日期] 20141015(013)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2010ZX09401-303-2-6)

[第一作者] 姚琴,从事中药及中成药质量分析研究, Tel: 010-80728999-6988, E-mail: yaoqin@bjhaiyan.com

[通讯作者] * 丰杰, 硕士, 从事中药及中成药质量分析研究, Tel: 010-80728999-6915, E-mail: fengjie@bjhaiyan.com

量最高。文献报道^[7-13]多采用气相色谱方法测定,本文采用高效液相色谱法建立了苏黄止咳胶囊中紫苏醛含量的测定方法,为苏黄止咳胶囊的质量标准提供试验数据。

1 材料

1.1 仪器 1100 系列高效液相色谱仪(含 G1322A 型在线真空脱气机, G1311A 型高压四元泵, G1329A 型标准自动进样器, G1316A 型智能化柱温箱, G1314A 型紫外检测器 VWD, 1100 series 色谱工作站, 美国 Agilent), UV-2550 型紫外分光光度计(日本岛津), XS205 型电子分析天平(梅特勒)。

1.2 试剂 紫苏醛对照品由中国食品药品检定研究院提供(批号 111806-201303), 样品苏黄止咳胶囊(批号 14041611, 14041612, 14041613)由北京海燕药业有限公司提供。甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 乙酸乙酯为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 SHIMADZU Shim-pack VP-ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(68:32), 流速 0.8 mL·min⁻¹, 检测波长 230 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。

2.2 溶液的制备

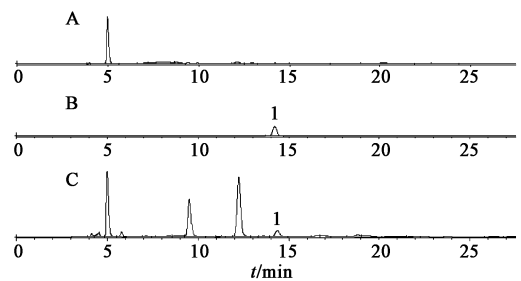
2.2.1 对照品溶液 精密称取紫苏醛对照品 149.1 mg(95.1%), 置 50 mL 棕色量瓶中, 加入甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 2.836 g·L⁻¹的紫苏醛对照品储备液。精密量取对照品储备液 1 mL 置 50 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 56.72 mg·L⁻¹的紫苏醛对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取苏黄止咳胶囊内容物 5 g, 精密称定, 置 500 mL 圆底烧瓶中, 加水 150 mL 与玻璃珠数粒, 连接挥发油提取器, 自提取器上端加水使充满刻度部分, 并溢流入烧瓶为止, 再加入乙酸乙酯 1.0 mL, 连接回流冷凝器, 加热至沸, 并保持微沸 4 h。待圆底烧瓶及挥发油提取器放冷至室温后, 取乙酸乙酯层, 加入色谱甲醇定容至 5 mL, 摇匀。用 0.45 μm 孔径微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 按苏黄止咳胶囊的处方制备不含紫苏叶药材的阴性对照样品, 照供试品溶液制备方法进行处理, 即得阴性对照溶液。

2.3 专属性试验 分别吸取 2.2 项下对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 按照 2.1 项下色谱条件进行分析, 结果, 供试品溶液中紫苏醛的保留时间与对照品溶液中紫

苏醛的保留时间一致, 且紫苏醛与相邻杂质成分能达到完全分离, 且分离度均大于 1.5, 理论塔板数大于 8 000; 阴性对照溶液在紫苏醛色谱峰相应位置处未见色谱峰, 说明其对含量测定无干扰。见图 1。



A. 阴性样品; B. 对照品; C. 样品溶液; 1. 紫苏醛

图 1 苏黄止咳胶囊 HPLC

2.4 线性关系考察 精密量取 2.2.1 项下紫苏醛对照品溶液(0.056 72 g·L⁻¹)加入甲醇稀释制得 6 个系列浓度的对照品溶液 0.567 2, 5.672, 11.344, 22.688, 34.032, 45.376 mg·L⁻¹, 分别精密吸取 10 μL, 按照 2.1 项下色谱条件进行测定分析。以对照品溶液的进样量(μg)为横坐标(X), 其峰面积分值为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 得到紫苏醛的回归方程为 $Y = 5.695X + 1.28$, ($r = 0.999 5$)。结果表明紫苏醛在 5.672 ~ 453.76 ng 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取 2.2.2 项下供试品溶液, 按照 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 记录紫苏醛的峰面积。测得紫苏醛峰面积 RSD 0.5%, 表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验 取 2.2.2 项下供试品溶液, 分别于制备后 0, 3, 6, 12, 18, 24 h, 按照 2.1 项下色谱条件进样检测, 测得紫苏醛峰面积的 RSD 为 0.7%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一批号供试品 6 份, 精密称定, 分别按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 得到紫苏醛的平均含量为 0.018 3 mg·g⁻¹, RSD 1.5%, 表明该方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取同一批已知含量的供试品(批号为 14041611, 含量 0.018 3 mg·g⁻¹)内容物 2.5 g, 精密称定, 共 6 份, 每份中分别精密加入紫苏醛对照品溶液适量, 按照 2.2.2 项下方法分别制备供试品溶液, 精密吸取 10 μL, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 计算平均加样回收率和 RSD, 结果见表 1。结果表明本方法具有良好的回收率。

表1 苏黄止咳胶囊中紫苏醛的加样回收率试验

称样量 /g	样品中量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
2.510 4	45.940	88.697	100.51		
2.569 7	47.026	89.914	100.82		
2.593 5	47.461	89.587	99.03	99.57	1.7
2.510 0	45.933	87.561	97.86		
2.505 8	45.856	87.355	97.56		
2.513 3	45.993	89.222	101.62		

注:加入量均为42.538 μg。

2.9 样品含量测定 取3批苏黄止咳胶囊样品适量,分别按2.2.2项下方法制备供试品溶液,精密吸取对照品溶液和供试品溶液各10 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,按标准曲线法以峰面积计算3批样品中紫苏醛的含量分别为0.018 3, 0.016 6, 0.017 2 mg·g⁻¹。

3 讨论

3.1 检测波长的选择 取紫苏醛对照品溶液采用UV-2550紫外分光光度计,在200~400 nm进行扫描,经紫外光谱扫描,在230 nm波长处有最大吸收,故最终选用230 nm作为本试验的检测波长。

3.2 色谱柱的选择 对比了SHIMADZU Shim-pack VP-ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)和CAPCELL PAK C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 3 μm)分析柱,结果表明本方法适用于C₁₈色谱柱。

3.3 色谱条件的选择 参考相关文献[10-14],考察不同比例的甲醇-水系统、乙腈-水系统、甲醇-0.1%磷酸水溶液、甲醇-0.1%磷酸-0.3%三乙胺水溶液系统对苏黄止咳胶囊中紫苏醛的分离效果。

在其他色谱条件相同情况下,考察柱温的变化(25,30,35℃)对色谱峰保留时间及色谱峰分离效果的影响,也考察了不同流速下(0.5, 0.8, 1.0 mL·min⁻¹),紫苏醛色谱峰的分离效果。

通过对比供试品色谱图,发现甲醇-水(68:32)溶剂系统,流速0.8 mL·min⁻¹,柱温30℃,紫苏醛的峰形较好,且与相邻杂质峰能达到较好的分离,保留时间适中。

3.4 提取时间的选择 采用水蒸气蒸馏法^[3,4,11]对比不同加水量条件下(100,150 mL),紫苏醛的提取效果。结果表明,加水量150 mL时,测得紫苏醛的含量较高。同时,考察不同提取时间(1,2,3,4,5,6,8 h),紫苏醛的提取效果。结果表明,提取时间在4 h,测得紫苏醛的含量最高。

本文建立了苏黄止咳胶囊中紫苏醛含量的HPLC测定方法,该方法准确、分离度和重复性好,专属性强,可用于苏黄止咳胶囊中紫苏醛的含量测定,为苏黄止咳胶囊质量标准及质量控制研究奠定一定的基础和依据。

[参考文献]

- [1] 林梦南. 紫苏芳香物质的提取、成分及其解热作用的研究[D]. 杭州:浙江大学,2012.
- [2] 林硕,邵平,马新,等. 紫苏挥发油化学成分GC/MS分析及抑菌评价研究[J]. 核农学报,2009,23(3): 477.
- [3] 林梦南,苏平. 响应面法优化紫苏挥发油的水蒸气提取工艺及其成分研究[J]. 中国食品学报,2012,12(3): 52.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录63.
- [5] 刘信平,张弛,余爱农,等. 紫苏挥发活性化学成分研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(8): 1922.
- [6] 赵淑平,朱兆仪,冯毓秀,等. 紫苏与白苏不同化学型挥发油成分的研究[J]. 天然产物研究与开发,1993,5(3): 8.
- [7] 徐天扬,王书成,王继闯,等. 溶剂萃取法从绿苏汁中提取紫苏醛的研究[J]. 食品科技,2010,35(8): 236.
- [8] 耿榕徽,杨宇杰,胡春兰,等. 紫苏叶中紫苏醛的提取与含量测定[J]. 中国当代医药,2014,21(7): 4.
- [9] 袁晓燕,彭涛,董自亮. 直通蒸汽法提取紫苏叶挥发油工艺优化及评价[J]. 成都医学院学报,2014,9(3): 295.
- [10] 李雪. 紫苏挥发油的超声辅助提取工艺及化学成分研究[D]. 杭州:浙江大学,2011.
- [11] 王继闯,徐天扬,王书成,等. 高效液相色谱法测定绿苏叶提取液中紫苏醛的含量[J]. 食品科技,2010,35(1): 271.
- [12] Tao L H, Pereira M A. Quantification of carvone, cineole, perillaldehyde, perillyl alcohol and sobrerol by isocratic high-performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 1998, 793: 71.
- [13] 徐天扬,王继闯,常秀莲,等. 膜法浓缩从绿苏汁中提取紫苏醛的研究[J]. 烟台大学学报:自然科学与工程版,2011,24(2): 167.
- [14] 崔晓秋,刘云刚. HPLC测定新疆紫草中紫草素的含量及提取方法的优化[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(16): 94.

[责任编辑 顾雪竹]