

HPLC测定辣椒风湿贴中辣椒碱的含量

段思怡, 黄毅岚, 张 丹*

(四川大学华西药学院, 四川 成都 610041)

摘要: 目的 建立测定辣椒风湿贴中辣椒碱含量的方法。方法 采用 HPLC法, Luna C₁₈色谱柱 (250 mm ×4.6 mm, 10 μm), 甲醇-水 (65:35) 为流动相, 检测波长 281 nm。结果 在 6.04~241.60 μg·mL⁻¹ 范围内, 辣椒碱浓度与峰面积的线性关系良好 ($r=0.9997$), $RSD=0.95\%$ ($n=6$), 平均回收率为 100.6% ($n=5$)。结论 所建方法准确、简便、快速, 适用于辣椒风湿贴的质量控制。

关键词: 辣椒风湿贴; 辣椒碱; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R927

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2007)01-0106-02

Determination of capsaicin in Capsicum patch by HPLC

DUAN Si-yi, HUANG Yi-lan, ZHANG Dan*

(West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish an HPLC method to determine the content of capsaicin in Capsicum patch. **METHODS** The Luna C₁₈ column (250 mm ×4.6 mm, 10 μm) was used, and the mobile phase was methanol-water (65:35). The detection wavelength was 281 nm. **RESULTS** The linear range of capsaicin was 6.04-241.6 μg·mL⁻¹ and the linear relationship was fine ($r=0.9997$). The RSD of reproducibility test was 0.95% ($n=6$) and the average recovery was 100.6% ($n=5$). **CONCLUSION** The method is simple, rapid and accurate, which is suitable for the qualitative control of Capsicum patch.

Key words: Capsicum patch; Capsaicin; HPLC; Content determination

CLC number: R927

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2007)01-0106-02

辣椒性热味辛, 具有驱邪逐寒、温中开胃、消食杀虫等功效。辣椒中的辣椒碱, 吸收后转变成一种特殊的化合物, 能抑制痛感神经纤维, 在临床上被长期作为理想的镇痛药物使用^[1,2]。以辣椒碱为主要原料制成的中药橡胶膏剂辣椒风湿膏, 在治疗关节疼痛、腰酸背痛、扭伤淤肿及慢性关节炎等方面的临床效果显著。但部颁标准 (中药成方制剂) 第9册的辣椒风湿膏标准中仅收录了性状、理化鉴别和一般检查项作为质量控制指标, 难以全面评价其质量。辣椒为辣椒风湿膏的君药, 控制其主要有效成分辣椒碱的含量有着重要意义。因此, 特建立了测定辣椒碱含量的 HPLC法, 该法准确、简便、快速, 适用于辣椒风湿膏的质量控制。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-10ATvp型高效液相色谱仪 (日本岛津); Sage Data System 色谱工作站 (美国 Allech)。辣椒风湿膏 (广东 EW 制药有限公司, 每片 6.5 cm ×10

cm, 批号: 050207、050208、050209); 辣椒碱对照品 (美国 Sigma 公司); 乙腈为色谱醇; 其余试剂为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件与系统适用性试验 以 C₁₈ 为填充剂; 甲醇-水 (65:35) 为流动相; 检测波长 281 nm。理论板数按辣椒碱峰计应不低于 3×10^3 。辣椒碱峰与相邻组分峰的分离度应符合要求。

1.2.2 测定方法 取辣椒碱对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 60 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液。取本品 4片 (260 cm²), 除去盖衬, 剪成条状, 置 100 ml 烧瓶中, 加甲醇, 水浴加热 (70 °C) 回流提取 (30 ml ×2), 每次 1 h, 用适量甲醇洗涤背衬, 合并提取液和洗涤液, 水浴浓缩至约 10 ml, 放冷, 转移至 25 ml 量瓶中, 用甲醇定容, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 作为样品溶液。另外, 按样品溶液制备的方法制备缺辣椒碱的阴性对照溶液。分别精密吸取对照品溶液与样品溶液各 20 μL, 进样, 按外标法计算, 测定样品的含量。样品以辣椒碱 (C₁₈H₂₇NO₃) 计, 不得少

作者简介: 段思怡, 女, 正攻读药物分析专业的硕士学位。

* 通讯作者 (Correspondent author), E-mail: zddshy@163.com

于 $1.5 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。

1.2.3 专属性考察 取辣椒碱对照品溶液、样品溶液、缺辣椒碱的阴性对照液及空白溶剂甲醇,按

“1.2.2 项下分别测定。结果阴性对照液在辣椒碱峰位处无色谱峰(图 1),表明所用方法对样品中辣椒碱的含量测定具有良好的专属性。

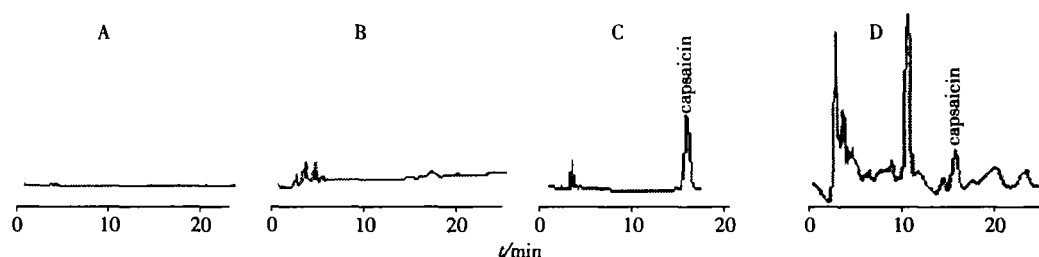


图 1 空白溶剂(A)、阴性对照溶液(B)、辣椒碱对照品溶液(C)和样品溶液(D)的色谱图

Fig 1 Chromatograms of blank solvent(A), negative control solution (B), reference substance solution (C) and sample solution(D)

1.2.4 线性关系及范围 取辣椒碱对照品适量,精密称定,用甲醇溶解稀释制备成系列浓度的溶液($6.04, 15.10, 30.20, 60.40, 120.80, 241.60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),按“1.2.2 项下测定,在 $6.04 \sim 241.60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内,辣椒碱浓度(X)与色谱峰面积(Y)的线性关系良好,回归方程为: $Y = 1.112 \times 10^4 X + 1.200 \times 10^4$ ($r = 0.9997$)。

1.2.5 精密度考察 分别在 1、3、5、7、10 d 由不同的人员,取样品 4 片,按“1.2.2 项下方法制备样品溶液,吸取 $20 \mu\text{l}$ 进样,以外标法计算辣椒碱含量,测得含量的 $RSD = 2.21\%$ 。取样品 4 片,按“1.2.2 项下方法,平行操作 6 份,按外标法计算辣椒碱含量,测得含量的 $RSD = 0.95\%$ 。结果显示精密度良好。

1.2.6 回收试验 取含 $3.35 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 辣椒碱的样品 4 片 (260 cm^2),除去盖衬,剪成条状,置 100 mL 烧瓶中,精密加入辣椒碱对照品适量,照“1.2.2 项下方法制备样品与对照品溶液并测定,按外标法测定含量并计算回收率。结果平均回收率为 100.6% ($n = 5$)。

1.2.7 稳定性考察 精密称取辣椒碱对照品适量,以甲醇制成 $60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,置冰箱 4 冷藏保存,在 1、5、10、15、25、30 d 分别进样 $20 \mu\text{l}$,计算峰面积的 $RSD = 1.43\%$,即对照品溶液置冰箱 4 冷藏保存 30 d 基本稳定。按“1.2.2 项下方法制备样品溶液,于室温放置,在同一天 1、2、3、4、6、8 h 分别进样 $20 \mu\text{l}$,按外标法计算辣椒碱含量,测定含量的 $RSD = 0.85\%$ 。说明样品溶液室温下放置 8 h 基

本稳定。

1.2.8 含量测定 照“1.2.2 项下方法,精密吸取样品溶液和对照品溶液 $20 \mu\text{l}$ 进样,记录峰面积。以外标法计算样品中辣椒碱的含量。结果 3 批样品的含量在 $3.28 \sim 3.32 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 之间。

2 讨论

取 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 辣椒碱对照品溶液进行紫外扫描,在甲醇介质中,辣椒碱于 208、229、281 nm 处有最大吸收,由于 208、229 nm 接近末端吸收,易受溶剂及共存组分的干扰,故选择 281 nm 为检测波长。为了将辣椒碱与其他干扰成分有效分离,文中考查了流动相强度、组成、盐浓度等,最终确定以甲醇-水 (65:35) 作为流动相。在此条件下,辣椒碱峰与相邻组分峰的分离度符合要求,且保留时间适中(约 16 min)。也对索氏提取、水浴回流提取和超声提取 3 种提取方式和提取条件进行了考查。结果以水浴加热 (70) 回流的提取率最高。还对提取剂体积 (60、100、160 mL)、提取次数 (1、2、3 次) 和单次提取时间 (0.5、1.0 h) 进行了考查。选定的最佳提取条件为加甲醇 (30 mL $\times 2$),水浴加热 (70) 回流提取,每次 1 h。

参考文献:

- [1] 冯纪年,付健,韩明理. 辣椒碱的研究概述 [J]. 西北农业学报, 2005, 14 (1): 84 - 87.
- [2] 马昭朝,王孝蓉,赵志刚. 辣椒碱软膏 [J]. 中国新药杂志, 2005, 14 (2).

收稿日期: 2006 - 03