

中药研究

HPLC 法测定抗骨增生片中柚皮苷含量

张智军¹ 崔 华² 马久太³

(1 彬县食品药品监督管理局,陕西省彬县西大街老政府院内,713500; 2 陕西摩美得制药有限公司; 3 陕西步长制药有限公司)

摘要 目的:建立抗骨增生片中柚皮苷含量测定方法。方法:采用 HPLC 法, C₁₈ 柱色谱柱, 流动相乙腈-水-冰醋酸(14:86:4), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 283 nm, 柱温 40℃。结果:在 0.0284~0.0994 μg 范围内柚皮苷线性关系良好, 平均回收率为 98.76%, RSD 为 0.68%。结论:该方法能够对抗骨增生片进行准确、快速的柚皮苷定量检测。

关键词 HPLC; 抗骨增生片; 柚皮苷

Determination of the content of naringin in Kanggu Zengsheng Tablet by HPLC

Zhang Zhijun¹, Cui Hua², Ma Jiutai³

(1 Binxian Food And Drug Administration, Binxian, Post code: 713500; 2 Shaanxi Momentum Pharmaceutical Co., LTD; 3 Shaanxi Buchang Pharmaceutical Co., LTD)

Abstract Objective: The method was established for determination of the content of naringin in Kanggu Zengsheng Tablet. **Methods:** C₁₈ column was used with gradient elution of Acetonitrile-water-glacial acetic acid (14:86:4) as mobile phase by flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 283 nm and the column temperature was 40℃. **Results:** The calibration curves of naringin was in good linearity over the range of 0.0284~0.0994 μg (r = 0.9999). The average recoverage of naringin was 98.76% (n = 6, RSD 0.68%). **Conclusion:** The method is accurate and quick for determinating the content of naringin in Kanggu Zengsheng Tablet.

Key Words HPLC; Kanggu Zengsheng Tablet; Naringin

抗骨增生片由熟地黄、鹿衔草、骨碎补、鸡血藤、淫羊藿、肉苁蓉、莱菔子等七味中药组成, 具有补肾、活血、止痛的功能, 主治肥大性脊椎炎、颈椎病、跟骨刺、增生性关节炎、大骨节病, 效果良好^[1]。为了更好地控制产品质量, 我们在其原质量标准的基础上, 对骨碎补中的有效成分柚皮苷进行了含量测定, 并对方法学进行了研究, 报道如下。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(岛津 LC-20AD); 色谱工作站(岛津 LC-solution); 紫外检测器(岛津 SPD-M20A); 电子天平(梅特勒-奥豪斯 AR1140); 超声波清洗器(昆山 KQ-250V)。

柚皮苷对照品(购于中国药品生物制品检定所, 批号 110722-200809, 供含量测定用); 抗骨增生片(陕西摩美得制药有限公司生产, 批号 050615、050616、050617); 乙腈为色谱纯; 用水为重蒸水; 其他试剂为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 检测波长 283 nm; 乙腈-水-冰醋酸(14:86:4)为流动相; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温 40℃; 理论塔板数以柚皮苷计算应不低于 2000。在此色谱条件下供试品分离度高, 阴性无干扰。

2.2 供试品溶液的制备 取本品 10 片, 研细, 取 0.4 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 回流提取 60 min, 取出, 放冷, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.3 线性关系考察 精密称取柚皮苷对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 7.1 μg 的溶液, 摇匀, 作为对照品溶液, 分别精密吸取对照品溶液 4、6、8、10、12、14 μL, 分别注入液相色谱仪, 记录峰面积, 结果见表 1。以 C 代表进样量、A 代表峰面积, 计算回归方程为 A = 3325664.59C - 7467.15, r = 0.9999; 柚皮苷在 0.0284~0.0994 μg 之间有良好的线性关系。

表 1 柚皮苷线性关系考察结果

进样量 C (μg)	0.0284	0.0426	0.0568	0.0710	0.0852	0.0994
峰面积(A)	87292.5	133352.6	180388.8	231229.3	275716.7	322277.0

表 2 精密度试验结果

序号	1	2	3	4	5	6
峰面积	227323.7	232186.7	225744.1	226519.5	229103.2	227970.3
RSD (%)	1.01					

2.4 精密度试验 精密吸取柚皮苷对照品溶液(7.1 μg·mL⁻¹) 10 μL, 按照上述色谱条件, 注入液相色谱仪中, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 结果见表 2。结果

对照品溶液峰面积 RSD 为 1.01% ,表明本方法精密度良好。

2.5 稳定性试验 取样品(批号 050615)适量,制备供试品溶液,按照上述色谱条件,分别于 0、2、4、8、16h,注入液相色谱仪中,记录峰面积,结果见表 3。结果表明,供试品溶液峰面积在 16h 内 RSD 为 1.72% ,表明本方法稳定性良好。

表 3 稳定性试验结果

放置时间(h)	0	2	4	8	16
供试品溶液峰面积	158611.5	154201.7	159151.2	153644.0	154184.5
RSD(%)	1.72				

2.6 重现性试验 取样品(批号 050615)适量,6 份,制备供试品溶液,按照上述色谱条件,制备供试品溶液,按照上述色谱条件,注入液相色谱仪中,记录峰面积,结果见表 4。结果表明,样品含量 RSD 为 1.77% ,表明本方法重现性良好。

表 4 柚皮苷重现性试验

序号	1	2	3	4	5	6
含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	0.68	0.65	0.67	0.66	0.66	0.65
平均含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	0.66					
RSD(%)	1.77					

2.7 回收率试验 取样品(批号 050615)0.2g,各 6 份,精密称定,同时加入样品中含量 80%、100% 和 120% 的柚皮苷对照品,制备供试品溶液,按照上述色谱条件,注入液相色谱仪中,记录峰面积,结果见表 5。结果表明,平均回收率为 98.76% ,RSD 为 0.68% ,表明本方法回收率良好。

表 5 回收率试验结果

样品量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.2045	0.1350	0.1096	0.2423	97.90	98.76	0.68
0.2105	0.1389	0.1096	0.2475	99.09		
0.2227	0.1470	0.1468	0.2919	98.71		
0.2214	0.1461	0.1468	0.2923	99.59		
0.2197	0.1450	0.1759	0.3186	98.69		
0.2217	0.1463	0.1759	0.3197	98.58		

2.8 样品测定 按照上述方法制备供试品溶液,参照上述色谱条件操作,测定含量,结果见表 6。药品的质量,受药材、设备、工艺等多种因素影响,根据 3 批抗骨增生片的含量测定结果,在其含量平均值 $0.66\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的基础上,以 70% 转移率计算,暂定抗骨增生片中柚皮苷含量限度为每 1 片不得低于 $0.66 \times 0.4 \times 70\% = 0.18\text{mg}$,从而保证了产品的安全与有效。

万方数据

表 6 抗骨增生片柚皮苷含量测定结果

批号	含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)		平均含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
	X_1	X_2	
050615	0.65	0.67	0.66
050616	0.65	0.62	0.64
050617	0.69	0.65	0.67

3 结论

1)骨碎补为抗骨增生片中的臣药,柚皮苷为其主要有效成分,具有补肝肾强筋骨的作用,可促进骨损伤骨质生长、预防激素性骨质疏松、抗炎、镇痛、降血脂作用、强心、镇静^[2]。原质量标准中没有含量测定项目,为了更好地控制产品质量,我们对骨碎补中的有效成分进行了含量测定。

2)柚皮苷含量测定方法有分光光度法^[3]、薄层扫描法^[4]、高效液相色谱法^[5]等,本产品采用高效液相色谱法对抗骨增生片中的柚皮苷进行含量测定,结果平均回收率为 98.76% ,RSD 为 0.68% ,方法灵敏、准确、重现性好。

3)实验中^[5-6]曾选用甲醇-醋酸-水(35:4:65)、乙腈-水-冰醋酸(20:80:4)、乙腈-水-冰醋酸(14:86:4)为流动相,结果前 2 个条件未能达到满意分离效果;后者分离度好,阴性无干扰,所以实验最终选用后者为流动相。

试验研究^[7-8]中曾考察了柚皮苷的不同提取方法,结果以回流提取法>索氏提取法>超声提取法,说明温度较高条件下柚皮苷容易提取;同时回流提取 60min,能够将抗骨增生片中柚皮苷提取完全。

参考文献

- [1]抗骨增生片质量标准(标准编号 WS3-B-1338-93). 中华人民共和国卫生部部颁标准《中药成方制剂》第七册[S]. 1993:74.
- [2]陈顺,关延彬. 骨碎补药理作用的研究进展[J]. 医药导报,2006,25(7):685-687.
- [3]范晓清,李雪婷,王沛. 紫外分光光度法测定痛风宁微丸中柚皮苷的含量[J]. 中国卫生工程学,2011,10(3):247-248.
- [4]李晓光,林励,陈志霞. 薄层扫描法测定化橘红中柚皮苷的含量[J]. 浙江中医学院学报,2003,27(1):82.
- [5]国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版一部[S]. 北京:化学工业出版社,239.
- [6]郭丽红,郑国钧,苗爱东. 高效液相色谱法测定解表清肺丸中柚皮苷、橙皮苷、黄芩苷的含量[J]. 药物分析杂志,2009,29(9):1493-1495.
- [7]于宏伟,谷维娜,李娜. 柚皮苷的提取方法及其应用研究进展[J]. 湖北农业科学,2011,50(8):1516-1518.
- [8]陈永刚,林励,魏燕华. 超声波提取法与索氏提取法提取化橘红柚皮苷的比较研究[J]. 中药新药与临床药理,2008,19(4):309-311.

(2012-04-11 收稿)