

测定,计算得样品中欧前胡素和异欧前胡素的平均质量分数为 0.27、0.34 mg/g,其 RSD 分别为 0.20%、0.42%。

2.7 稳定性试验:取供试品溶液每隔 2 h 进样 1 次,每次进样 10 μ L,共进样 6 次,测定峰面积积分值,计算得欧前胡素峰面积的 RSD 为 0.31%,异欧前胡素峰面积的 RSD 为 1.18%,表明 10 h 内供试品溶液的稳定性良好。

2.8 回收率试验:采用加样回收法。取批号 030906 元胡止痛片 2.000 g,共 6 份,分别加入 0.4 mg/mL 欧前胡素和异欧前胡素对照品溶液 1 mL,制备供试品溶液,进样 10 μ L,测定,计算回收率。结果欧前胡素的平均回收率为 99.5%,RSD 为 1.79%,异欧前胡素的平均回收率为 99.9%,RSD 为 1.77%。

2.9 样品测定:取元胡止痛片,每批次各 3 份,制备供试品溶液,进样 10 μ L,测定欧前胡素和异欧前胡素的峰面积,采用外标法计算样品中两者的质量分数,结果见表 1。

表 1 元胡止痛片中欧前胡素和异欧前胡素的测定结果

Table 1 Determination of imperatorin and isoimperatorin in Yuanhu Zhitong Tablets

批号	欧前胡素/ (mg · g ⁻¹)	RSD/%	异欧前胡素/ (mg · g ⁻¹)	RSD/%
030906	0.27	0.21	0.34	0.29
030907	0.29	0.85	0.32	1.11
030908	0.30	0.19	0.31	0.32

3 讨论

经日立 U—3310 分光光度计紫外区域内扫描,发现欧前胡素和异欧前胡素在 300 nm 波长处有最大吸收,故本实验选用的检测波长为 300 nm。

由于白芷的有效成分欧前胡素和异欧前胡素的

极性较小,采用正相高效液相色谱法,流动相选用非极性溶剂时,对高压泵垫的腐蚀较大,且条件苛刻,因此本实验采用反相色谱法,以甲醇-水(70:30)为流动相,能有效克服以上缺点,且操作更简便,灵敏度也高。

在优化色谱条件过程中,甲醇与水的配比分别采用 75:25、70:30、68:32,结果发现 75:25 时氧化前胡素峰与欧前胡素峰部分重叠^[3],68:32 时目标峰的保留时间过长,只有当 70:30 时,欧前胡素色谱峰与异欧前胡素的色谱峰保留时间恰当,峰形也好。

供试品溶液的配制中超声处理时,进行了 20、30、40、50 min 提取,结果发现提取 40 min 时有效成分的量最高。

实验中发现欧前胡素对照品的 HPLC 色谱峰不是单一峰,而是氧化前胡素和欧前胡素的混和物。对欧前胡素的定量只能通过两者峰面积积分值之比计算出所称对照品中欧前胡素所占的质量比,以此进行计算,或需采用制备高效液相色谱重新制备欧前胡素对照品,分得单一峰,按例行方法计算。不过需新鲜配制,现用现配。本实验选用前一种方法计算。

References:

- [1] Wan X H, Yang X, Cao Y. Determination of imperatorin in Erzhi Pills by TLC [J]. *Gansu Pharm J* (甘肃药学), 2000, (2): 31-32.
- [2] Zhang X J, Su W B, Yin X F, et al. Determination of imperatorin in Qianzhi Capsules by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2004, 26(9): 722-723.
- [3] Wei Y, Ito Y. Preparative isolation of imperatorin, oxypeucedanin and isoimperatorin from traditional Chinese herb "baizhi" *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm) Benth. et Hook using multidimensional high-speed counter-current chromatography [J]. *Chromatogr A*, 2006, 1115(1-2): 112-117.

高效液相色谱法测定骨仙片中柚皮苷

李玉份,林月英

(天津市大港区药品检验所,天津 300270)

骨仙片是由骨碎补、熟地黄、黑豆、女贞子等 9 味药材制成的中药制剂,收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 4 册。但原标准仅有一般鉴别和检查项,缺乏定量检测方法。骨仙片具有填精益髓、壮腰健肾、强壮筋骨、舒筋活络、养血止痛的

功效,其君药为骨碎补。结合骨仙片制备工艺主要是水提取,骨碎补主要是以柚皮苷为主的水溶性成分,本研究建立了骨仙片中柚皮苷的 HPLC 测定方法。

1 仪器与试剂

岛津 LC—2010AHT 高效液相色谱仪,LC—

Solution 色谱仪工作站。柚皮苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110722-200309),甲醇、冰醋酸均为色谱纯,水为纯化水。骨仙片为自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱: Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-冰醋酸-水(34:4:66);检测波长:283 nm;体积流量:1.0 mL/min;进样量:10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:精密称取在 110 ℃干燥至恒重的柚皮苷对照品 9.4 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为对照品贮备液(188 μg/mL)。精密量取贮备液 3 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得(含柚皮苷 56.4 μg/mL)。

2.2.2 供试品溶液的制备:取本品 20 片,研细,精密称取约 3.60 g,加甲醇 30 mL,加热回流 3 h,放冷,滤过,滤液置 50 mL 量瓶中,用少量甲醇分数次洗涤容器,洗液滤入同一量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 空白对照溶液的制备:按处方比例及制备工艺制成不含骨碎补药材的空白样品,按供试品溶液的制备方法制成空白对照溶液。

2.3 干扰性考察:分别吸取对照品溶液、供试品溶液和空白对照溶液,按上述色谱条件进样测定,结果空白对照溶液在柚皮苷峰位置上没有干扰。见图 1。

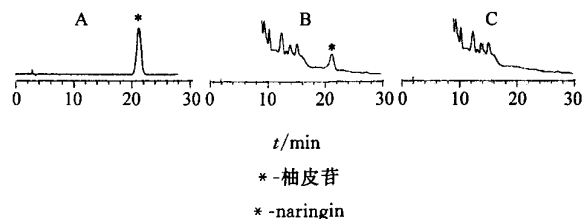


图 1 柚皮苷对照品(A)、骨仙片(B)和阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of naringin reference substance (A), Guxian Tablets (B), and negative sample (C)

2.4 线性关系的考察:取 188 μg/mL 柚皮苷对照品贮备液,分别精密吸取 1、2、3、4、5、10 mL,置 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀。进样测定,记录峰面积。以柚皮苷的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程: $Y=2593.7X+18866.3$, $r=$

0.999 9。结果表明柚皮苷在 18.8~188 μg/mL 与峰面积的线性关系良好。

2.5 精密密度试验:取供试品溶液,重复进样 5 次,测定柚皮苷峰面积,计算,结果其 RSD 为 0.6%。

2.6 重现性试验:取批号 H01004 样品 6 份,制备供试品溶液,进样测定,计算柚皮苷的质量分数,结果柚皮苷的平均质量分数为 0.353 mg/g, RSD 为 0.9%。

2.7 稳定性试验:取批号 H01004 样品制备供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8 h 测定柚皮苷峰面积,计算得其 RSD 为 0.7%。结果表明供试品溶液在 8 h 内是稳定的。

2.8 回收率试验:精密称取批号 H01004 样品约 1.80 g,共 6 份,分别精密加入 0.210 2 mg/mL 柚皮苷对照品溶液 3 mL,制备供试品溶液,测定,计算得柚皮苷的平均回收率为 100.8%, RSD 为 1.4 %。

2.9 样品测定:分别精密吸取柚皮苷对照品溶液和骨仙片供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定峰面积,计算柚皮苷的质量分数,结果见表 1。

表 1 骨仙片中柚皮苷的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of naringin in Guxian Tablets (n=3)

批 号	柚皮苷/(mg·g ⁻¹)
05023202	0.128
H01002	0.315
H01004	0.353

3 讨论

将样品放入 50 mL 量瓶中加甲醇适量,超声处理 60 min,放冷,加甲醇至刻度,滤过,即得供试品溶液。将样品加入 30 mL 甲醇,加热回流 3 h,放冷,滤过,滤液置 50 mL 量瓶中,用少量甲醇分数次洗涤容器,洗液滤入同一量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得供试品溶液。对 2 种提取方法进行比较后发现超声提取方法虽然简单,但色谱图的基线不如加热回流方法的好,导致重现性不太好,故采用加热回流法提取样品较好。

骨仙片为临床常用药,现行质量标准只规定了一般鉴别和检查项,没有定量的控制,本实验采用高效液相色谱法测定该药组方中的主药骨碎补的成分柚皮苷的量,达到有效控制该药的质量。该方法具有灵敏准确、重现性好的特点,适于该药的质量控制。