2.6 线性关系考察：精密吸取上对照品储备液 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0 mL，置 10 mL 量瓶中，加过膜甲醇稀释至刻度，分别精密吸取 10 μL，注入液相色谱仪，每种浓度连续进样 2 针，按上述色谱条件进行分析，测定峰面积。以质量浓度为纵坐标，峰面积值为横坐标，进行回归。大黄素回归方程为 $Y=5.22\times10^{-5}X+0.14$，$r=0.9997$；大黄酚回归方程为 $Y=4.27\times10^{-5}X-0.181$，$r=0.9997$。大黄素在 0.076～0.380 mg，大黄酚在 0.194～0.970 mg 与峰面积呈现良好的线性关系。

2.7 精密度试验：精密吸取供试品溶液，按照上述色谱条件连续重复进样 5 次，每次 10 μL 测定峰面积积分值，结果大黄素质量分数的 RSD 为 0.981%，大黄酚质量分数的 RSD 为 1.236%。

2.8 稳定性试验：取供试品溶液分别于 1、3、6、8、12、18、24 h，按上述色谱条件测定峰面积。结果表明，样品溶液于 24 h 内，色谱峰面积无明显变化。大黄素质量分数的 RSD 为 0.594%，大黄酚质量分数的 RSD 为 0.714%，因此供试品溶液在 24h 内基本稳定。

2.9 重现性试验：取供试品约 1g，精密称定，共 6 份，按上述色谱条件测定峰面积，大黄素质量分数的 RSD 为 1.59%，大黄酚质量分数的 RSD 为 1.41%。

2.10 加样回收试验：取化坚止痛膜约 1g，精密称定，共 6 份，每份中加入对照品储备液 10mL，制备供试品溶液，测定，计算大黄素及大黄酚的加样回收率，结果大黄素平均回收率为 95.87%，大黄酚平均回收率为 100.17%，RSD 分别为 0.816%、0.605%。

2.11 样品测定：取不同批号的样品，制备供试品溶液，分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液，按上述色谱条件测定峰面积积分值，计算质量分数，结果见表 1。

表 1 化坚止痛膜中大黄素和大黄酚的测定结果

Table 1 Determination of emodin and chrysophanol in Huajian Zhitong Pellicle

批号	大黄素、大黄酚总量/(mg·g^{-1})
090421	288.68
090422	299.84
090423	275.78

3 讨论

本涂膜剂中含有 PVA，若去除不干净，则极易产生乳化现象，因此其去除干净与否直接影响定量实验。查阅文献报道[3] 采用 95%乙醇超声提取处理样品，结果表明本方法可去除 PVA 的干扰，能将有效成分提取完全，对测定无影响。

经实验验证表明样品加热时间过长、水浴温度过高易使残留物焦化，故三氯甲烷萃取液须减压回收即可避免焦化现象产生。

参考文献：

[1] 王本祥. 现代中药药理学[M]. 天津：天津科学技术出版社，1997.

[2] 王云娇，李武毅，张永云. 清火片中大黄素和大黄酚的 HPLC 法测定[J]. 中草药，2006，37(7)：1034-1035

[3] 佟 杰，李 进，陈 涛 等. HPLC 法测定银屑灵涂膜剂中 5 种蒽醌类成分的含量[J]. 天津中医药 2007，24(5)：419-421

HPLC 法测定抗骨增生片中柚皮苷

朱 克，吴立成，周玲娜

（浙江省金华市食品药品检验所，浙江 金华 321000）

摘 要：目的 建立抗骨增生片中柚皮苷的测定方法。方法 采用高效液相色谱法，Eclipse XDB-C_{18}（150 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱，乙腈-水（17∶83）为流动相，体积流量 1.0 mL/min，检测波长 283 nm，柱温 35 ℃，进样量 5 μL。结果 柚皮苷在 0.0376～2.408 μg 线性关系良好，$r=0.9999$，平均加样回收率为 97.68%，RSD 为 0.92%。结论 该方法简便、快速、准确，为测定抗骨增生片中柚皮苷的测定提供了可靠的方法。

关键词：抗骨增生片；柚皮苷；高效液相色谱

中图分类号：R286.02 文献标识码：B 文章编号：0253－2670(2010)06－0914－03

抗骨增生片由熟地黄、鹿衔草、骨碎补（烫）、鸡血藤等 7 味中药制成，补肾，活血，止痛，用于肥大性脊椎炎，颈椎病，跟骨刺，增生性关节炎等。柚皮苷为骨碎补的主要有效成分。本实验采用 HPLC 对抗骨增生片的柚皮苷进行了测定，方法操作简便，结果准确，可用于抗骨增生片的质量控制。

①收稿日期：2009-09-03

作者简介：朱 克，（1974－），男，浙江金华人，主管中药师，1996 年毕业于浙江中医学院中药专业，从事中药检验工作。
Tel：(0579)82301314 E-mail：zkissjmn@163.com

1 仪器与试药

Agilent 1200 高效液相色谱仪(带自动进样), UV 检测器;梅特勒-托利多 XS—105Du 型电子天平。

柚皮苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110722-200107);抗骨增生片(吉林巨仁堂药业股份有限公司, 批号 071109、080401、080711)。乙腈、甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂为分析纯。

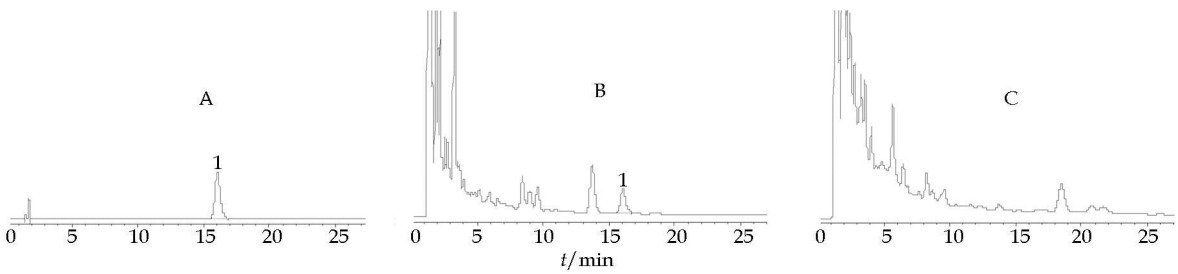
2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验: Eclipse XDB-C_{18}(150 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱, 乙腈-水(17∶83)为流动相, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 283 nm, 柱温 35 ℃, 进样量 5 μL。理论板数按柚皮苷峰计不低于 4 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取柚皮苷对照品 11.59 mg, 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 5 mL 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 57.95 μg/mL 柚皮苷对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品 10 片, 去糖衣, 精密称定, 研细, 取约 1g, 精密加入甲醇 10 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性干扰试验: 处方中去骨碎补, 同法制备缺少骨碎补的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法制得相应的阴性溶液, 依法进行测定, 见图 1 结果阴性不干扰。



1-柚皮苷

1-narrigin

图 1 柚皮苷对照品(A)、抗骨增生片(B)和阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of narrigin reference substance (A), Kanggu Zengsheng Tablets (B), and negative sample (C)

2.5 线性关系的考察: 精密称取柚皮苷对照品适量, 分别制成 7.525、15.05、60.2、240.8、481.6 μg/mL 溶液, 各进样 5 μL, 依上述色谱条件测定峰面积。以柚皮苷峰面积积分值为纵坐标, 进样量为横坐标, 计算得回归方程 $Y=8\ 821\ X+0.032$, $r=0.999\ 9$, 表明柚皮苷在 0.037 6~2 408 μg 时与峰面积具有良好的线性关系。

2.6 精密度试验: 精密吸取供试品溶液(批号 071109)5 μL, 重复进样 6 次, 结果柚皮苷峰面积值的 RSD 为 0.21%。

2.7 稳定性试验: 取供试品溶液(批号 071109), 分别在 0.5、1.0、1.5、2.0、4.0、6.0…24 h, 各进样 5 μL, 记录柚皮苷峰面积积分值, 计算其 RSD 为 1.07%。结果表明, 供试品溶液中的柚皮苷色谱峰在 24h 内稳定性良好。

2.8 重现性试验: 取批号 071109 样品 6 份, 各 1g, 精密称定, 制备供试品溶液, 分别进行测定, 记录柚皮苷峰面积并计算。结果显示柚皮苷平均质量分数为 511.5 μg/g, RSD 为 1.27%。

2.9 回收率试验: 取批号 071109 样品 6 份, 各约 1.0 g, 精密称定, 分别精密加入 231.8 μg/mL 柚皮苷对照品溶液 2、2.5、3 mL, 制备供试品溶液, 分别进样, 记录峰面积并计算, 结果平均回收率为 97.68%, RSD 为 0.92%。

2.10 样品测定: 取 3 批样品, 依法制成供试品溶液, 分别精密吸取柚皮苷对照品溶液和供试品溶液各 5 μL, 按上述色谱条件测定, 以外标法计算样品中柚皮苷的质量分数, 结果见表 1。

表 1 抗骨增生片中柚皮苷的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of narrigin in Kanggu Zengsheng Tablets ($n=3$)

批号	柚皮苷/(μg·g^{-1})	RSD/%
071109	512.73	1.02
080401	522.47	0.96
080711	517.87	1.16

3 讨论

3.1 流动相的优选: 采用《中国药典》2005 年版一部骨碎补项下柚皮苷的测定方法中的流动相甲醇-醋酸-水(35∶4∶65)[1], 结果本品中柚皮苷与相邻色谱峰基线分离度差, 经过调整流动相为乙腈-水(20∶80)、乙腈-水(17∶83), 结果用乙腈-水(17∶83)流动

相测定，本品中柚皮苷与相邻色谱峰基线分离效果好，阴性不干扰，故确定流动相为乙腈-水(17 ∶83)。

3.2 供试品的制备方法的优选[1,2]：曾考察了加甲醇回流提取 3 h 和加甲醇超声提取 30 min，其结果基本一致，而超声提取操作简便，故采用超声处理。又对不同超声时间(10、15、20、30 min)进行了比较研究，结果确定提取时间以超声处理(功率 250 W，频率 35 kHz)30 min 最佳。

参考文献：

[1] 中国药典[S]. 一部. 2005

[2] 李玉仿，林月英. 高效液相色谱法测定骨仙片中柚皮苷[J]. 中草药，2007，38(7)：1019-1020.

高效液相色谱法测定愈风宁心分散片的溶出度

何三民[1]，石森林[2]，陈方伟[2]

(1 金华市中心医院，浙江 金华 321000；2 浙江中医药大学，浙江 杭州 310053)

摘 要：目的 考察愈风宁心分散片中葛根素的体外溶出度。方法 参照《中国药典》2005 年版第二部附录 XC 溶出度测定法第二法(桨法)，以脱气蒸馏水 500mL 为溶出介质，温度控制在 37 ℃±0.5 ℃，转速 100 r/min，采用高效液相色谱法进行检测。结果 葛根素在 0.123 2～1.108 8 μg 呈良好线性关系，平均回收率 98.8%，RSD 为 2.14%，50 min 时葛根素的溶出接近 90%。结论 愈风宁心分散片的溶出度符合规定。

关键词：愈风宁心分散片；葛根素；溶出度；高效液相色谱

中图分类号：R286.02 文献标识码：B 文章编号：0253－2670(2010)06－0916－02

愈风宁心片是葛根经加工制成，具有解痉止痛，增强脑及冠脉血流量的作用，临床上用于高血压、头晕、头痛冠心病等症。愈风宁心片主要有效成分是以葛根素为代表的葛根异黄酮，且葛根素亦是多个经典解表葛根复方中解表药效组分之一[1]。然而葛根异黄酮类水溶性差，脂溶性也不理想，因而口服吸收较差，口服途径在动物体内的生物利用度很低[2]。分散片为在水中能迅速崩解并均匀分散的片剂(要求在(21±1)℃下水中 3 min 即可崩解分散，并通过 180 μm 孔径的筛网)，加水中分散后饮用，也可咀嚼或含服[3]。分散片具有比普通片稳定性好，生物利用度较高等优点[4]。为了提高愈风宁心片中葛根素的生物利用度，笔者研制了愈风宁心分散片，由于口服固体制剂的生物利用度与药物的溶出度密切相关，本实验对愈风宁心分散片的溶出度进行考察。

1 仪器与试药

美国 Agilent1100 液相色谱仪，浙江大学 N2000 色谱工作站。葛根素(批号 110752-200209，中国药品生物制品检定所)，愈风宁心分散片(批号 20090201，自制)。甲醇为色谱纯，水为重蒸馏水，其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 葛根素的 HPLC 测定法的建立

2.1.1 对照品溶液的制备：精密称取葛根素对照品约 6 mg，于 100 mL 量瓶中加甲醇定容至刻度，即得。

2.1.2 供试品溶液的制备：取本品 6 片，照溶出度测定法(《中国药典》2005 年版二部附录 XC 第二法)以脱气蒸馏水 500 mL 为溶剂，转速为 100 r/min，依法操作，经 45 min 时，取样 2 mL，立即滤过，续滤液经高速离心后，取上清液，即得。

2.1.3 测定波长的选择：取葛根素对照品液适量，进行紫外扫描，结果葛根素其在 249 nm 波长处有最大吸收，综合有关文献资料选择 250 nm 作为测定波长。

2.1.4 色谱条件：Aichrom Reliasil C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)色谱柱，流动相为甲醇-水(25 ∶75)；体积流量 1.0 mL/min；柱温 40 ℃，检测波长 250 nm。

2.1.5 线性范围的考察：精密吸取葛根素对照品溶液 2、4、6、8、10、14、18 μL 进样，测定峰面积，以进样量为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准线，结果葛根素进样量在 0.123 2～1.108 8 μg 与峰面积呈很好的线性关系，回归方程为 $Y=1.77\times10^4+3.0\times10^6X$，$r=0.999\ 9$。

①收稿日期：2009-11-23

作者简介：何三民(1962－)，男，浙江义乌人，副主任中药师，主要从事中药制剂新技术和新剂型的研究。
Tel：13506582061 E-mail：hsn82552720@126.com
*通讯作者 石森林 Tel：13157106148 E-mail：pjstone@163.com