

健骨胶囊质量标准的研究

张慕群, 格小光, 杨京玉, 崔淑莲*

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 制定复方健骨胶囊的质量标准。方法: 采用高效液相色谱法进行含量测定。骨碎补中柚皮苷作为质控指标。结果: 柚皮苷的回归方程 $Y = 5.863X + 1280.511$, $r = 0.9999$, 平均回收率 97.58%, 重复性 RSD 为 2.64%。结论: 所建立柚皮苷的含量测定方法稳定, 重复性好, 可作为该制剂的质量控制方法。

[关键词] 高效液相色谱法; 健骨胶囊; 柚皮苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)12-0031-02

健骨胶囊是由骨碎补、独一味、三七、当归等中药组成, 具有活血止痛, 滋补肝肾, 接骨续筋。用于跌打损伤, 患部肿胀疼痛, 肤青筋聚, 骨折, 软组织损伤等。为了保证药物的安全性, 有效性和可控性, 对制剂中骨碎补中的有效成分柚皮苷, 采用高效液相色谱法进行含量测定, 并进行了方法学研究。

1 仪器与试剂

[收稿日期] 2009-09-03

[通讯作者] * 崔淑莲, Tel: (010) 64014411-2971

美国 HP1100 高效液相色谱仪, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1315A 二极管矩阵检测器, HPCHEM 色谱工作站。对照品柚皮苷 Naringin (722-200006) 购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯(天津市四友生物医学技术有限公司), 醋酸分析纯(北京化工厂), 水为高纯水。

2 含量测定

2.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX RX-C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 283 nm, 柱温 25 °C, 流动相: 甲醇-醋酸-水(35: 4: 65)。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取柚皮苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品内容物,研细,约 5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加甲醇 100 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 250 W,频率 20 kHz) 45 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,蒸干,残渣加水 1 mL 使溶解,置聚酰胺柱(60~90 目,2 g,内径 1 cm)上,用水 40 mL 洗脱,弃去水液,再用甲醇洗脱,收集洗脱液约 40 mL,蒸至约 5 mL,并转移至 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

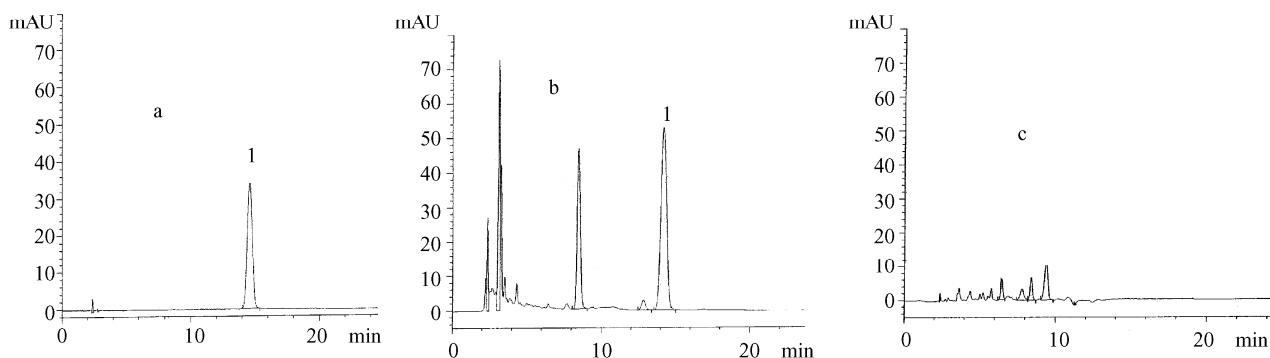
2.4 空白溶液的制备 按处方中药味比例,自配不含骨碎补的群药,按其工艺制成空白制剂,再按 2.3 项下的方法制成空白对照溶液并测定,结果空白溶液在与柚皮苷对照品相同保留时间处未显明显色谱峰,故认为空白无干扰。

2.5 线性关系的考察 取干燥至恒重的柚皮苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 0.113 mg 的溶液。精密吸取 2, 4, 6, 8, 10 μL 注入液相色谱仪,连续进样 3 次,测定峰面积,以对照品进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,其回归方程为 $Y = 5.863X + 1280.511$, $r = 0.9999$ 。结果表明,柚皮苷在 0.226~1.13 μg 范围内线性良好。

2.6 精密度试验 精密吸取供试品溶液,按上述色谱条件进样 5 μL,重复进样 5 次,测定峰面积,计算 RSD=0.52%。表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性考察 取供试品分别于 0, 1, 2, 4, 6, 24 h 测定柚皮苷峰面积,计算其 RSD=0.54%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验 取同一批样品 5 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定含量,结果柚皮苷的平均含量为 1.02 mg/粒, RSD=2.64% ($n=5$)。



a. 对照品溶液; b. 供试品溶液; 1. 柚皮苷

图 1 健骨胶囊的高效液相色谱图

2.9 回收率试验 取已知含量的样品 5 份,每份约 2.5 g,精密称定,分别精密加入柚皮苷对照品适量,按上述供试品溶液的制备方法制备,测定,计算回收率,结果平均回收率为 97.58%,相对标准偏差为 1.22% ($n=5$)。

表 1 加样回收率 ($n=5$)

编号	称样量 (g)	样品中柚皮苷含量 (mg)	加入柚皮苷量 (mg)	柚皮苷检出量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	2.587 6	6.598 3	5.32	5.222 7	98.17		
2	2.793 1	7.122 4	6.58	6.503 0	98.82		
3	2.403 4	6.128 6	4.80	4.590 2	95.62	97.58	1.22
4	2.506 6	6.391 8	5.01	4.890 5	97.61		
5	2.679 8	6.833 4	6.83	6.671 9	97.68		

2.10 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 μL,注入液相色谱仪,按照外标一点法计

算 3 批样品柚皮苷含量为 1.03, 1.00, 1.01 mg/粒。

3 讨论

本制剂为复方制剂,其成分复杂,样品经甲醇提取后直接注入高效液相色谱仪,干扰成分较多,未能达到良好的基线分离,因此采用聚酰胺柱净化,并对水、甲醇等洗脱液的用量进行考察,净化时先用水(30, 10, 10, 10 mL)洗脱,再用甲醇(10, 10, 10, 10 mL)洗脱,每收集一份,蒸干,残渣加甲醇定量转移至 1 mL 量瓶中,注入高效液相色谱仪,结果用水 40 mL 可将大部分干扰杂质除去,用甲醇 40 mL 可将柚皮苷洗脱完全。从而制定了骨碎补中柚皮苷的含量测定方法。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社; 2005: 179.