

郁舒颗粒的质量标准研究

贺建华*, 鲍芳, 郑蕊, 闫小平

(中国中医科学院西苑医院, 北京 100091)

[摘要] 目的: 建立郁舒颗粒的质量标准。方法: 采用薄层色谱法鉴别栀子、柴胡。采用 HPLC 法测定本制剂中栀子苷的含量。流动相为乙腈-水(13:87), 流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长为 238 nm, 柱温为室温, 进样量为 $10 \mu\text{L}$ 。结果: 在选定的薄层色谱条件下, 层析斑点清晰, 分离效果较好。HPLC 法测定栀子苷的线性范围为 $0.774 4 \sim 1.936 \mu\text{g}$, $r = 0.999 6$ 。平均回收率为 99.52% ($n = 6$), RSD 为 1.10%。结论: 该方法简便可行、专属性强、重复性好, 可控制该制剂的质量。

[关键词] 郁舒颗粒; 薄层鉴别; 含量测定; 栀子苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)02-0034-03

郁舒颗粒是我院研制的一种治疗临床常见疾病抑郁症的口服颗粒制剂, 由栀子、柴胡、酸枣仁等组成, 经提取加工制成的中药制剂。具有疏肝解郁, 清热除烦, 安神定志的作用。临床上用于抑郁症所致的抑郁、心烦、失眠等症状。为了控制该制剂的质量, 确保临床疗效, 我们用薄层色谱法及高效液相色谱法, 初步建立了郁舒颗粒质量标准的研究。

1 仪器与试药

仪器: Agilent 1100 高效液相色谱仪(四元泵, 美国); 对照品: 栀子苷(批号: 110749-200714, 中国药品生物制品检定所提供); 郁舒颗粒(本院中药制剂研究室研制); 硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂); 试剂: 乙腈为色谱纯; 水为超纯水, 其余试剂为分析纯。超声波: 220 V 50 Hz。

2 薄层色谱鉴别

2.1 栀子 取郁舒颗粒 0.5 g, 加 75% 乙醇 10 mL 置水浴中温浸 2 h, 滤过, 滤液浓缩至 1 mL, 加在中性氧化铝柱(100~200 目, 3 g, 内径 0.9 cm 干法装柱, 先用甲醇 10 mL 洗脱, 弃掉)上, 用甲醇 20 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣用 1 mL 乙醇使溶解, 作为供试品溶液。另取栀子苷对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液, 作为对照品溶液。按不含栀子的处方, 采用制剂工艺及上述供试品制备方法, 制成缺栀子阴性样品溶液。照薄层色谱法^[1] 试验, 吸取供试品溶液 2 μL , 对照品溶液 5 μL , 阴性样品溶

液 2 μL 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇-水(17:5:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 再喷以 2% 香草醛硫酸乙醇(1 \rightarrow 10)溶液, 在 110 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

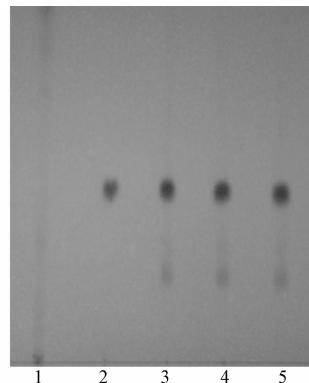


图 1 栀子的 TLC 图谱

1. 栀子缺样; 2. 栀子苷对照品; 3~5. 3 批样品

2.2 柴胡 取郁舒颗粒 5 g, 加甲醇 40 mL, 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴温浸 2 h, 滤过, 回收甲醇, 浓缩物加水 20 mL 使溶解, 转移至分液漏斗中, 用水饱和的正丁醇提取 2 次(20 mL \times 2), 合并正丁醇提取液, 用 5% 碳酸氢钠 10 mL 洗涤 1 次, 用水洗涤 2 次(10 mL \times 2), 正丁醇层置水浴上蒸干, 残渣加入 1 mL 乙醇使溶解作为供试品溶液。另取柴胡对照药材 0.5 g, 同法制备, 残渣用 1 mL 甲醇使溶解, 作为对照药材溶液。按不含柴胡的处方, 采用制备工艺及上述供试品制备方法, 制成缺柴胡阴性样品溶液。照薄层色谱法^[1] 试验, 吸取供试品、柴胡对照药材及阴性样品溶液各 2 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水(6:2:0.4)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 再喷以

[收稿日期] 2009-06-01

[通讯作者] * 贺建华, Tel: 13521978633; E-mail: Hejianhua@sina.com

2%对二甲氨基苯甲醛-95%乙醇-硫酸(2:90:10)试液,加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的斑点或荧光斑点。

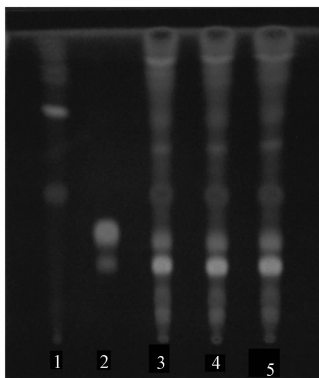


图2 柴胡 TLC 图谱

1. 柴胡缺样; 2. 柴胡对照药材; 3~5. 3批供试样品

3 栀子苷含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱: Zorbax SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (13: 87); 检测波长: 238 nm; 进样量 10 μL; 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 柱温: 室温。

3.2 溶液制备

3.2.1 对照品溶液的制备 精密称取栀子苷对照品适量,用甲醇制成每1 mL含0.096 8 mg栀子苷的对照品溶液。

3.2.2 供试品溶液的制备 取郁舒颗粒精密称定1.002 g,置烧瓶中精密加入甲醇25 mL,密塞,称定重量,超声处理(220 V, 50 Hz)45 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,过0.45 μm微孔滤膜,取续滤液,即得。

3.2.3 空白对照品溶液制备 取不含栀子药材制剂,按供试品制法制备。

3.3 方法专属性 分别吸取栀子苷对照品溶液,供试品溶液,空白对照品溶液各10 μL进样,检测结果见图3。对照品、供试品色谱中栀子苷峰均达到基线分离。空白对照品溶液中无相应色谱峰。

3.4 线性关系考察 精密称取栀子苷12.1 mg,置5 mL容量瓶中,用甲醇溶解并至刻度,摇匀,制成对照品储备液,再精密量取对照品储备液1 mL至25 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液。精密吸取栀子苷对照品溶液8, 10, 12, 15, 20 μL,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积(Y)为纵坐标,进样量(X)为横坐标,绘制标准曲线,回归方

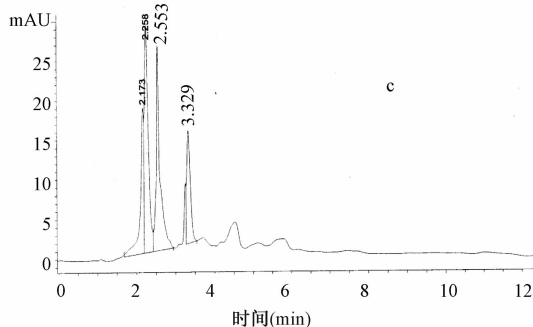
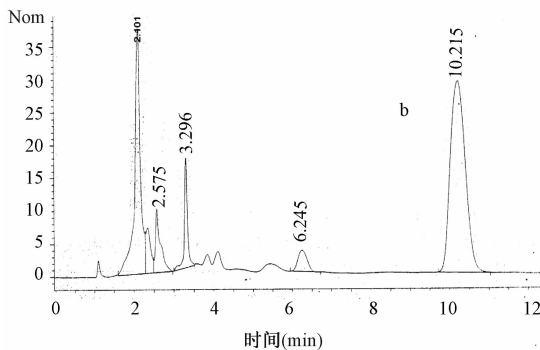
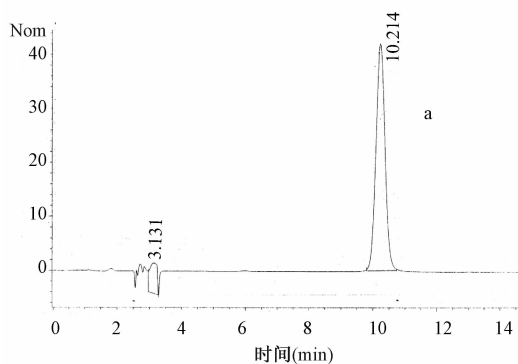


图3 栀子苷(a)郁舒颗粒(b)和阴性对照(c) HPLC 色谱图
程: $Y = 7.15 \times 10^2 X + 1.16 \times 10^2$, $r = 0.999 6$,表明栀子苷在0.774 4 ~ 1.936 μg 范围内线性关系良好。

3.5 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液10 μL重复进样5次,测得栀子苷峰面积积分值平均为811.874, RSD = 1.34%。

3.6 稳定性试验 精密吸取同一浓度供试品溶液10 μL,分别于0, 2, 4, 8, 12 h进行测定,结果测得峰面积平均值为876.183 9, RSD为0.55%。

3.7 重复性试验 取同一批样品(O80301)平行制备6份供试品溶液,测得样品中栀子苷平均含量为4.89 mg · mL⁻¹, RSD为1.86% (n = 6)。

3.8 加样回收率试验 精密量取已知含量的样品溶液5 mL,共6份,分别精密加入对照品溶液(浓度为2.44 mg · mL⁻¹)0.2 mL,用甲醇溶液加至10 mL容量瓶中,摇匀,过0.45 μm微孔滤膜,取续滤液,进

样 10 μL , 测定样品并计算栀子苷回收率, 即得, 结果见表 1。

3.9 样品测定 取 3 批样品, 分别按 3.2.2 项下方法制备, 进样 10 μL 测定, 分别测定 3 个批号的样品, 栀子苷含量分别为 4.964 8, 4.867 5, 4.927 6 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。

表 1 郁舒颗粒中栀子苷回收率试验 ($n=6$)

取样量 (g)	栀子苷 含量 (mg)	栀子苷 加入量 (mg)	测得栀 子苷量 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率 (%)	RSD (%)
0.504 2	1.17		0.96	99.11		
0.514 9	1.19		0.97	99.41		
0.520 0	1.20		0.95	98.27		
0.500 6	1.16	0.488	0.97	99.63	99.52	1.10
0.510 2	1.18		0.96	99.16		
0.500 1	1.16		0.99	101.53		

4 讨论

本文试验选用的展开剂展开的色谱斑点清晰, 无干扰。HPLC 含量测定色谱条件参考 2005 年版《中国药典》一部中栀子项下栀子苷测定条件, 但样品中成分分离不太理想, 经摸索比较, 其中流动相采用乙腈-水(13:87)分离效果较理想, 经本试验选定的色谱条件最佳。供试品溶液制备方法简便, 样品中栀子苷成分提取完全。含量测定方法简便, 准确, 灵敏度高, 重复性好, 可用于测定郁舒颗粒中栀子苷的含量。

[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: 173, 附录 VIB.
- [2] 彭绍忠, 李 耿, 蔡大可, 等. 中药新药与临床药理[J]. 2008, 3(19): 140.
- [3] 陈红英, 蒋 平, 范 耀. 中国药师[J]. 2006, 9(1): 17.