

高效液相色谱测定克郁舒神颗粒中栀子苷的含量

王 博¹, 滕利荣¹, 王 健², 王 琦³, 王贞佐¹, 李 薇¹, 孟庆繁¹, 高 波^{1*}

(1. 吉林大学生命科学学院, 吉林 长春 130012; 2. 长春中医药大学附属医院, 吉林 长春 130021;
3. 吉林省医疗器械检验所, 吉林 长春 130022)

[摘要] 目的: 制定质量标准。方法: 采用高效液相色谱法测定克郁舒神颗粒中栀子苷的含量。结果: 经乙醚 3 次提取, 70% 乙醇溶液能够完全提出克郁舒神颗粒中的栀子苷, 再经中性 Al₂O₃ 柱, 用少量 70% 乙醇作为洗脱剂可完全洗出栀子苷。栀子苷进样量在 1.050~ 9.971 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系, RSD 为 1.72%。结论: 结果准确, 重复性好。该法可用于克郁舒神颗粒中栀子苷的含量测定。

[关键词] 克郁舒神颗粒; 栀子苷; 含量测定; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)04-0006-02

克郁舒神颗粒由川芎、茯苓、栀子等药味组成, 为临床有效的医院制剂方, 具有养血活血, 行气止痛之功效, 主治恶劣心境。为了有效控制其质量, 本文采用高效液相色谱法对方中之君药栀子进行定量测定, 从而为制定其质量标准提供了依据。

1 仪器与试剂

Waters 600 高效液相色谱仪, Waters 2487 双通道检测器, JS-3030 色谱工作站。

克郁舒神颗粒(由长春中医药大学附属医院药剂室制备); 栀子苷对照品(由中国药品生物制品检定所提供, 批号 110749-200309); 乙腈(色谱纯); 水(高纯水); 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为化学键合型十八烷基(C₁₈)柱; 流动相为乙腈-水(15: 85); 检测波长为 240 nm; 柱温为室温; 流速 1.0 mL/min; 进样量为 10 μL。图 1 2。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取栀子苷对照品适量, 加 70% 乙醇制成每 1 mL 含 30 μg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末约 10 g, 精密

称定, 分别加乙醚 25 mL 回流提取 3 次, 每次 25 mL。滤过, 残渣及滤器用乙醚 15 mL 分次洗涤, 滤液合并, 蒸干乙醚。残渣加入 70% 乙醇 1.2 mL, 转移至中性氧化铝柱上, 用 70% 乙醇 70 mL 洗脱, 乙醇溶液蒸干, 残渣加 70% 乙醇溶解, 定容至 8.0 mL, 滤过, 即得。

2.4 阴性对照药品制备 按照克郁舒神颗粒的制备工艺制备不含栀子的药粉, 按样品测定法测定。比较对照品溶液 HPLC 色谱及样品溶液 HPLC 色谱, 结果阴性对照品中其他成分对栀子苷峰无干扰(图 3)。

2.5 线性关系考察 精密吸取浓度分别为 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 μg/mL 的对照品溶液 10 μL, 注入色谱仪, 测定峰面积。得回归方程为: $Y = 2\,920\,000X - 277\,000$, 相关系数 $r = 0.999$, 结果表明, 栀子苷进样量在(1.050~ 9.971) μg 范围内, 与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取栀子苷对照品溶液(浓度为 0.1 μg/mL), 重复进样 6 次, 测定峰面积, RSD 为 1.72%。

2.7 稳定性试验 取样品溶液于 0, 2, 4, 6, 24 h 进样测定, 栀子苷含量的 RSD 为 0.81%。结果表明: 本品在 0~ 24 h 内基本稳定。

2.8 重复性试验 取本品 5 份, 照样品测定方法制备与测定, 结果栀子苷平均含量为 0.113%, RSD 为 1.6%。

2.9 加样回收率试验 取已知含量的样品 1 g, 精

[收稿日期] 2006-04-24

[基金项目] 吉林省教育厅科研计划(吉教科合字 2004 第 41 号); 吉林大学研究生创新基金(420050103016)

[通讯作者] * 高波, Tel: (0431) 85168644-617; E-mail: gaobo@jlu.edu.cn

密称定, 精密加入不同量的栀子苷对照品, 按供试品溶液的制备方法制成加样样品液, 分别按上述色谱条件测定其含量, 并计算加样回收率(见表 1)。

表 1 克郁舒神颗粒中栀子苷加样回收率

样品中含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)
1.192	1	2.145	97.80
1.192	2	3.138	98.31
1.192	3	4.201	100.26
1.192	4	5.122	98.65
1.192	5	6.042	97.58
平均回收率(%)	98.53	RSD(%)	1.17

2.10 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与样品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪。3 批样品栀子苷含量分别为 0.107%, 0.129%, 0.114%。

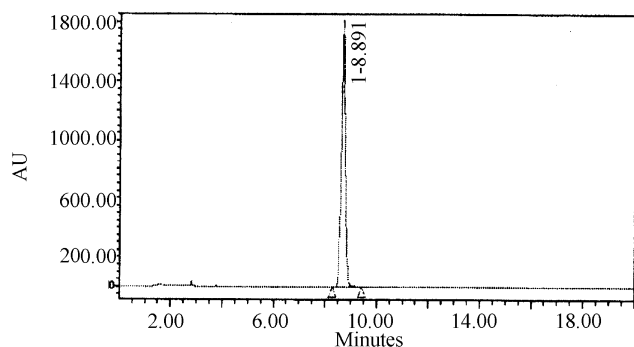


图 1 对照品色谱图

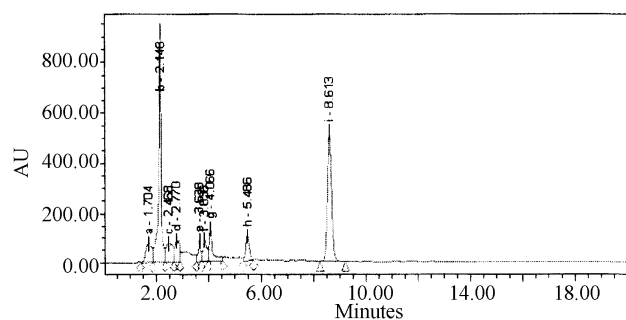


图 2 样品色谱图

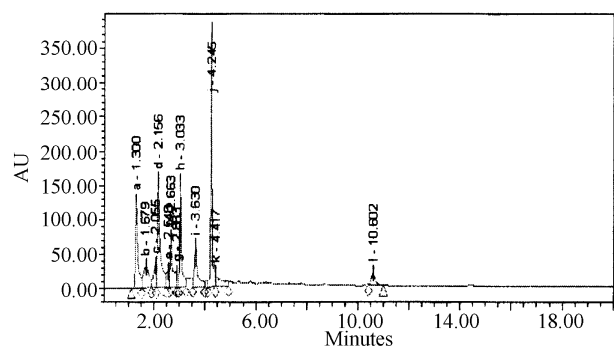


图 3 阴性对照品色谱图

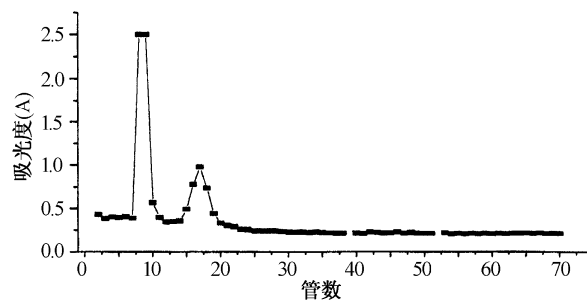


图 4 氧化铝层析收集液吸光度(240 nm)对照图

3 讨论

栀子苷属于环烯醚萜苷, 虽然苷元 4 位上含酯键, 但 1 位上连有葡萄糖环, 总的来说偏于亲水性。故栀子苷易溶于 70% 乙醇溶液和乙醚, 难溶于氯仿, 石油醚等亲脂性有机溶剂。因此, 在提取克郁舒神颗粒栀子苷时, 首先采用乙醚提取。一方面使降解栀子苷的酶失活, 另一方面使栀子苷充分溶解。挥干乙醚后, 用 70% 乙醇溶液溶解, 过滤除去大部分水不溶性杂质。这时, 溶液中主要含有酚类, 鞣质以及黄酮类等杂质, 经中性氧化铝柱层析, 70% 乙醇洗脱, 得到粗甙, 其它杂质仍留在氧化铝柱上。

在洗脱过程中, 由于当归、川芎中的阿魏酸, 栀子中的羟异栀子苷, 京尼平苷酸等结构与栀子苷相似, 并且极性大于栀子苷, 经中性氧化铝柱层析, 先被洗脱下来, 在 240 nm 处, 形成第一个吸收峰(如图 4)。

经过样品 HPLC 与阴性对照品 HPLC 图谱对比, 阴性对照品在 8.4 min 无吸收峰, 表明其余几味药对栀子苷的测定无干扰。

本文采用高效液相色谱测定克郁舒神颗粒中栀子苷的含量, 方法简单, 操作方便, 重复性好, 可以作为克郁舒神颗粒质量标准中的含量测定方法。

[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, 2000. 201.
- [2] 林启寿. 中草药成分化学[M]. 北京: 科学出版社, 1997. 614-616.