

HPLC 测定不同工艺柴苓汤颗粒剂中柴胡皂苷 a 的含量

吴剑峰¹, 李海燕¹, 赖小平², 陈建南² (1. 佛山科学技术学院医学院, 广东 佛山 528000; 2. 广州中医药大学, 广州 510405)

摘要:目的 测定和比较日本和国产不同工艺制柴苓汤颗粒剂中指标成分柴胡皂苷 a 的含量。方法 采用 HPLC, 色谱柱为 Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水 (75:25); 流速 0.8 mL · min⁻¹; 柱温 30 °C; 检测波长为 210 nm。结果 柴胡皂苷 a 线性范围为 4.0 ~ 15.0 μg, $r=0.9999$, 加样回收率为 100.39%, RSD 为 0.80%。结论 柴胡皂苷 a 的含量为日本津村柴苓汤颗粒剂高于国产仿日本工艺制柴苓汤颗粒剂高于国产习用工艺制柴苓汤颗粒剂。本方法简捷、方便、重复性好, 准确度高, 可用于柴苓汤颗粒剂的质量检测。

关键词:柴苓汤颗粒剂; 柴胡皂苷 a; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693 (2009) 04-0300-03

Determination of the Content of Saikosaponin a in Different Chailing Decoction Granules by HPLC

WU Jianfeng¹, LI Haiyan¹, LAI Xiaoping², CHEN Jiannan² (1. *The Medical College of Foshan University, Foshan 528000, China*; 2. *Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a simple method and compare for the determination of the content of Saikosaponin a in different Chailing decoction granules by HPLC. **METHODS** Kromasil C₁₈ chromatographic column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was methanol-water (75:25). The flow rate was 0.8 mL · min⁻¹, the column temperature was 30 °C, and the detection wavelength was set at 210 nm. **RESULTS** The linear relation range of Saikosaponin a was 4.0-15.0 μg ($r=0.9999$). The average recovery was 100.39% with the RSD of 0.80%. **CONCLUSION** Japanese Jincuntang were better than Imitating Japanese method Chailing decoction granules which were better than Chinese ordinary method granule on the content of Saikosaponin a. The method is simple, sensitive, and feasible for the determination of Saikosaponin a and quality control of Chailing decoction granule.

KEY WORDS: Chailing decoction granule; Saikosaponin a; HPLC; assay

柴苓汤出自张仲景《伤寒论·金匱要略》, 为小柴胡汤和五苓散合方, 由柴胡、半夏、泽泻、赤茯苓、猪苓、白术、黄芩、人参、炙甘草、桔梗、生姜、大枣组成。具有解表和里、利水渗湿之功效^[1]。现代药理研究证明柴苓汤具有抗炎、增强免疫力、消除活性氧自由基等作用。临床上广泛应用于肾病、肝病、风湿病及癌症的辅助治疗等。

日本汉方柴苓汤颗粒剂于 1991 年即获美国 FDA 临床实施许可证^[2], 成为第一个在美国临床应用的纯中药制剂。日本在该方的药理作用、临床疗效上取得了较大进展, 有多篇研究报道。本研究采用 HPLC 比较日本津村柴苓汤颗粒剂、国产仿日本工艺制柴苓汤颗粒剂和国产习用工艺制柴苓汤颗粒剂 3 种样品中指标成分柴胡皂苷 a^[3] 的含量, 考察日本汉方制剂质量控制模式在中成药中应用与推广

的价值, 同时探讨其对推动中成药进入西方特别是美国主流医药市场的意义。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

HP1100 Series 高效液相色谱仪 (Agilent, 美国), Satorius 电子分析天平 (Sartorius, 德国), 艾科普纯净水发生器。

1.2 试剂与试剂

柴胡皂苷 a 对照品 (中国药品生物制品检定所, 110777-200301, 98.2%); 日本津村柴苓汤颗粒剂由日本津村株式会社提供 (06MB); 组方药材由佛山市医药公司提供, 经佛山科学技术学院医学院吴剑峰主任药师鉴定; 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯; 水为超纯水。

2 方法与结果

基金项目: 广东省中医药局科研项目立项课题 (102124)

作者简介: 吴剑峰, 女, 博士研究生, 主任药师 Tel: (0757) 82816702 E-mail: jianfeng839@sina.com

2.1 色谱条件

色谱柱: Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (75:25); 流速: 0.8 mL · min⁻¹; 柱温: 30 °C; 检测波长: 210 nm。理论板数以柴胡皂苷 a 计不低于 4 000。

2.2 标准曲线制备

精密称取干燥至恒重的柴胡皂苷 a 对照品适量, 加甲醇制成 0.5 mg · mL⁻¹ 的对照品溶液。

精密吸取对照品溶液 8.0, 10.0, 12.0, 16.0, 20.0, 25.0, 30.0 μL, 注入液相色谱仪测定峰面积。以柴胡皂苷 a 进样量 (μg) 为横坐标, 以柴胡皂苷 a 峰面积为纵坐标, 进行线性回归。得回归方程如下: $Y = 359.71X - 27.193$, $r = 0.9999$, 表明柴胡皂苷 a 在 4.0 ~ 15.0 μg 内线性关系良好。

2.3 样品溶液制备

2.3.1 日本津村柴苓汤颗粒剂

2.3.2 国产仿日本工艺制备柴苓汤颗粒剂: ①原药材选用: 国产药材饮片。②提取: 加水量为原药材的 10 倍, 提取温度 100 °C (不煮沸为宜) 30 ~ 90 min 提取 1 次, 采用动态温浸提取法。③浓缩: 采用真空度 1.33 kPa, 温度 40 °C 的薄膜浓缩法, 浓缩液浓缩至 2% ~ 50%。④干燥制粒: 真空冷冻干燥法。约在 -50 °C 冻干, 压力为 0.01 kPa, 24 h 即可得含水量约 3% 的干燥粉末。⑤粒度按日本柴苓汤颗粒剂粒度标准控制。

2.3.3 国产习用工艺制备柴苓汤颗粒剂: ①原药材选用: 国产药材饮片。②提取: 加水 100 °C 煮沸 2 ~ 3 次。(第 1 次 1 h, 第 2、3 次为 30 min) ③浓缩: 加乙醇等量沉淀除杂, 回收乙醇, 浓缩成浸膏。④制粒: 加入淀粉和药粉混匀, 乙醇润湿制软材, 过筛 (1 号筛) 制粒。⑤干燥: 60 ~ 90 °C 烘箱干燥, 整粒 (1

表 1 加样回收率试验结果 (n=5)

Tab 1 Results of recovery test (n=5)

称样量 /g	已知量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD/%
10.003	0.210 1	0.50	0.711 0	100.13		
9.960	0.200 3	0.50	0.708 8	101.21		
9.988	0.208 9	0.50	0.706 3	99.63	100.39	0.80
9.990	0.200 7	0.50	0.709 7	101.28		
10.000	0.210 4	0.50	0.708 2	99.69		

2.8 样品测定

取各供试品溶液 20 μL 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算各样品中柴胡皂苷 a 的含量。结果见

号筛筛去粗粉, 4 号筛筛去细粉)。

2.3.4 以日本津村与国产 2 种不同工艺制备柴苓汤颗粒剂中药材含量一致为准, 分别取日本津村柴苓汤颗粒 4.0 g, 国产模拟日本药典工艺制备柴苓汤颗粒剂 8.0 g, 国产习用工艺制备柴苓汤颗粒剂 10.0 g, 精密称定。加含 5% 氨水的甲醇 60 mL, 回流提取 2 次, 合并 2 次提取液, 过滤。水浴挥干, 残渣加水 10 mL 溶解, 加水饱和正丁醇萃取 4 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 加氨试液洗涤 2 次, 每次 20 mL, 弃去氨洗液。正丁醇液水浴挥干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 甲醇加至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 备用。

2.4 仪器精密度考察

精密吸取柴胡皂苷 a 对照品溶液 20 μL, 注入液相色谱仪, 连续进样 6 次, 峰面积 RSD 为 0.73%, 表明仪器精密度良好。

2.5 重复性考察

取国产习用干燥工艺制柴苓汤颗粒剂 6 份, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别进样 20 μL 测定峰面积, RSD 为 1.67%, 本方法的重复性良好。

2.6 稳定性考察

取国产习用干燥工艺制柴苓汤颗粒 10.003 g, 按“2.3”项下制备供试品溶液, 分别于 0, 1, 2, 3, 4 h 进样 20 μL 测定峰面积, RSD 为 1.76%, 供试品溶液在 4 h 内基本稳定。

2.7 加样回收率考察

精密称取国产习用干燥工艺制柴苓汤颗粒约 10.0 g, 加入柴胡皂苷 a 对照品溶液 1.00 mL (0.5 mg · mL⁻¹), 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 进样 20 μL 测定峰面积。结果见表 1。

表 2, 显示日本津村堂柴苓汤颗粒剂的含量 > 国产仿日本真空冷冻干燥工艺制柴苓汤颗粒剂 > 国产习用干燥工艺制柴苓汤颗粒剂。

表2 样品中柴胡皂苷 a 的含量($n=3$)

Tab 2 Results of sample determination ($n=3$)

样品	称样量 /g	柴胡皂苷 a 含量/mg	RSD/%
日本津村堂柴苓汤颗粒剂	4.000 5	0.088	1.14
国产仿日本工艺柴苓汤颗粒剂	8.000 2	0.031	0.85
国产习用工艺柴苓汤颗粒剂	9.999 3	0.021	1.16

3 讨论

3.1 本实验采用 HPLC 对日本和国产不同工艺制柴苓汤颗粒剂中指标成分柴胡皂苷 a 的含量进行测定,实验表明日本汉方制剂在药材选用和工艺优化等质量控制模式上值得中成药借鉴。

3.2 本实验方法具有快速、准确、简便、重复性好的特点,可用于柴苓汤颗粒剂的质量检测。

REFERENCES

- [1] PENG H R. The whole formula of traditional Chinese medicine from famous Chinese doctors (中华名医方剂大全) [M]. Beijing: Jindun Publishers, 1990:5.
- [2] JIA Q, SUN X X. The traditional Chinese medicine market in Japan and South Korea[J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med(世界科学技术-中药现代化), 1999, 1(1): 42-44.
- [3] Ch. P (2005) Vol I (中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005:198

收稿日期:2008-01-20