

HPLC 法测定华海乙肝泡腾颗粒剂中柴胡皂苷 C 的含量

王秀冬¹, 张兆旺², 孙秀梅², 吕青涛², 管华诗³, 徐家敏³ (1. 解放军第 106 医院, 济南 250022; 2. 山东中医药大学, 济南 250014; 3. 青岛海洋大学, 青岛 266003)

摘要:目的:为控制华海乙肝泡腾颗粒剂的质量建立测定柴胡皂苷 C 的方法。方法:采用高效液相色谱法, 色谱条件为: ODS 柱, 以甲醇-水(61:39)为流动相, 流速 1.0ml/min, 检测波长 203nm。结果:平均回收率 99.3%, RSD=1.34%。结论:此法可作为控制华海乙肝泡腾颗粒剂质量的方法之一。

关键词:华海乙肝泡腾颗粒剂; SBE 法; 柴胡皂苷 C; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2001)05-0298-03

Determination of saikosaponin C in Huahai-yigan granules by HPLC

WANG Xiu-dong¹, ZHANG Zhao-wang², SUN Xiu-mei², LU Qing-tao², GUAN Hua-shi³, XU Jia-min³, (1. The 106th Hospital of PLA, Jinan 250022, China; 2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 3. Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China)

ABSTRACT; OBJECTIVE: To determine saikosaponin C in Huahai-yigan granules. **METHODS:** A chromatography method of HPLC for the determination was established on ODS column with methanol-water (61:39) as the mobile phase at 1.0ml/min flow-rate, detection wavelength at 203nm. **RESULTS:** The average recovery was 99.3% and RSD was 1.34%. **CONCLUSIONS:** This method is available for quality control of Huahai-yigan granules.

KEY WORDS: Huahai-yigan granules; SBE; saikosaponin C; HPLC

华海乙肝泡腾颗粒剂由黄芪、柴胡、虎杖、五味子等组成。为控制华海乙肝泡腾颗粒剂的质量, 本文采用高效液相色谱法测定华海乙肝泡腾颗粒剂中柴胡皂苷 C 的含量。

1 仪器与药品

pHS-3C 型精密 pH 计(上海雷磁仪器厂), AE240S 型电子分析天平(瑞士 METTLER), 高效液相色谱系统(日本岛津), LC-6A 泵, SPD-6A 检测器, CLC-ODS 6.0 μ × 150 色谱柱, CTO-6A 恒温箱, SCL-6A 控制器, C-R4A 积分仪。

实验用药材经张兆旺教授鉴定, 黄芪为豆科植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Beg. 的干燥根; 虎杖为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Siebet Zucc. 的干燥根茎和根; 柴胡为伞形科植物北柴胡 *Bupleurum chinenses* DC. 的根; 五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill. 的干燥成熟果实。质量符合《中国药典》1995 版一部标准。辅料 HPMC、小苏打、柠檬酸、甜菊甙质量符合

《中国药典》1995 版二部标准。对照品柴胡皂苷 C (上海医药工业研究院, 10.5mg, 无批号)。甲醇色谱纯, 水为自制高纯水, 其余试剂均为分析纯。样品: 华海乙肝泡腾颗粒, 以选定的药材组合方式提取^[1]、干燥、制备。

2 方法与结果

2.1 对照液的制备

取柴胡皂苷 C 对照品适量, 精密称定, 以甲醇配成 0.560mg · ml⁻¹ 的溶液作为对照液。

2.2 样品液的制备

取华海乙肝泡腾颗粒剂适量, 研细, 精密称取 5g, 加硅藻土 3g 拌匀, 用无水乙醇 150ml 于索氏提取器中回流提取 6h, 挥干溶剂, 加水 10ml 溶解, 以乙醚萃取 (20ml × 3), 取水层, 以正丁醇萃取 (20ml × 3), 合并正丁醇液, 用 5% 碳酸氢钠溶液 (10ml × 2) 和蒸馏水 (10ml) 洗涤, 取正丁醇层, 挥干, 残渣以水 5ml 溶解, 加于 D101 大孔吸附树脂柱上, 依此以水 100ml 洗脱, 弃去, 30% 乙醇 30ml 洗脱, 弃去, 70% 乙醇 50ml 洗脱, 收集, 挥干, 用甲醇溶解并定容至 5ml, 作为成品供试液。同法制得成品缺柴胡阴

性供试液、辅料供试液。

称取 10~20 目的柴胡粗粉,浸泡 30min 后,用“SBE 法^[2,3]”分别煎提 3 次(加水量为药材重量的 8, 6, 6 倍,煎煮 2.0, 1.0, 0.5h, 水的 pH 值为 2.0, 6.5, 8.5)^[4], 分别滤过, 离心, 上清液浓缩, 合并浓缩液, 定容于 100ml 容量瓶中。吸取该样品液 10.0ml, 加入硅藻土 3.0g, 拌匀, 蒸干, 以无水乙醇 150ml 索氏回流提取 9h, 蒸干, 用甲醇溶解并定容于 25ml 容量瓶中, 得柴胡药材供试液。

2.3 薄层定性

2.3.1 层析条件 取硅胶 GF₂₅₄ 与 0.3% CMC-Na 溶液(1:3) 研匀, 用涂布器铺成 20cm×20cm 的薄层板, 自然干燥, 备用。展开剂: 以氯仿-甲醇-水(65:35:10) 下层液 20ml 加丁酮 2ml, 混匀。显色剂: 10% 硫酸乙醇溶液。

2.3.2 薄层定性 将以上 4 种供试液及对照液点在同一块薄层板上, 按 2.3.1 项下条件上行展开 15cm, 晾干、喷显色剂, 100℃ 烘 4min, 于日光及 365nm 紫外灯下观察, 结果见图 1。在与柴胡皂苷 C 对照品相应的位置上, 成品、柴胡药材呈颜色相同的斑点。成品缺柴胡阴性供试液、辅料供试液无此斑点。

2.4 柴胡皂苷 C 的含量测定

2.4.1 色谱条件 流动相: 甲醇-水(61:39), 流速 1.0ml/min, 检测波长 203nm。进样量供试液、对照液均为 20μl。

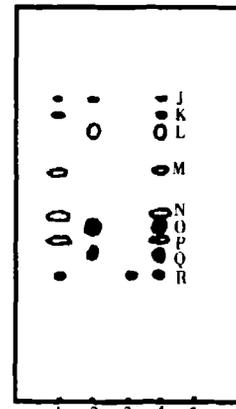


图 1 TLC 图

1. 柴胡 2. 成品缺柴胡 3. 柴胡皂苷 C 4. 成品
5. 辅料 日光下: O, Q, R 为棕褐色

365nm 下: K, L, M, N, P 为黄绿色, O 为紫色, O, R 为橙黄色
2.4.2 空白干扰试验 取柴胡皂苷 C 对照液及成品供试液、成品缺柴胡阴性供试液、柴胡供试液, 按 2.4.1 项下条件测定, 结果见图 2, 在与柴胡皂苷 C 对应的保留时间, 成品供试液、柴胡供试液有吸收峰, 而成品缺柴胡供试液无吸收峰。

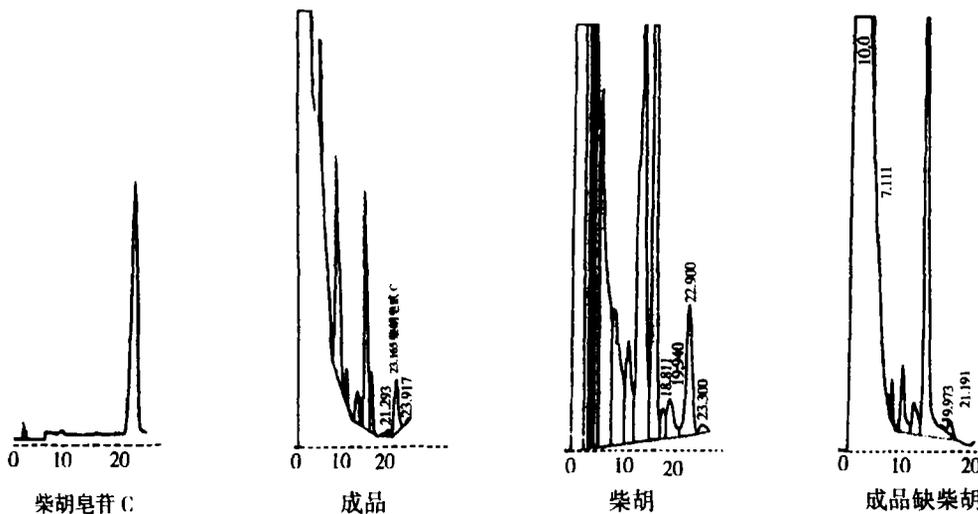


图 2 HPLC 色谱图

2.4.3 线性关系考察 分别取柴胡皂苷 C 对照液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0ml 于 1ml 容量瓶中, 加甲醇定容, 按 2.4.1 项下条件测定, 以进样量为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 结果其回归方程为: $y = -5.699 \times 10^4 + 2.263 \times 10^4 X$, $r = 0.9999$, $n = 5$ 。表明柴胡皂苷 C 在 3.32~16.60μg 范围内线性关系良好。

2.4.4 精密度考察 取柴胡皂苷 C 对照液, 按 2.4.1 项下的条件进样, 共进样 6 次, 测定柴胡皂苷 C 峰面积积分值。结果 RSD 为 1.26% ($n = 6$), 表明该法精密度良好。

2.4.5 稳定性试验 取成品供试液, 分别放置 0、2、4、6、8、10h, 依法测定柴胡皂苷 C 峰面积积分值。结果 RSD = 2.43%, 吸收度在 10h 内稳定。

2.4.6 重复性试验 取同一批成品5g,精密称定,平行称取6份,按成品供试液制备方法制备试液,依法测定各样品中柴胡皂苷C的含量。结果 $RSD = 2.57\%$ 。

2.4.7 柴胡皂苷C的含量测定 取成品供试液,依法测定成品中柴胡皂苷C的含量,结果见表1,其95%置信区间为0.1070~0.1616mg/g,规定含量不得小于0.01%。

表1 华海乙肝泡腾颗粒剂中柴胡皂苷C的含量测定

批号	测定值(mg/g)		$\bar{x} \pm s$ (mg/g)		RSD%
20000303	0.1422	0.1429	0.1487	0.1446 ± 0.0036	2.47
20000325	0.1211	0.1239	0.1234	0.1228 ± 0.0015	1.22
20000408	0.1312	0.1349	0.1404	0.1355 ± 0.0046	3.42

2.4.8 回收率试验 取已知含量的成品约2.5g,精密称定,共称5份,各加入柴胡皂苷C对照液0.415mg,按成品供试液制备方法制备试液,依法测定各样品中柴胡皂苷C的含量,计算回收率,结果见表2。

表2 柴胡皂苷C回收率试验结果

称样量(g)	样品中含 量(mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x} \pm s$ (%)	RSD(%)
2.5031	0.3620	0.415	0.7754	99.6		
2.5148	0.3636	0.415	0.7839	101.3		
2.5053	0.3623	0.415	0.7730	99.0	99.3 ± 0.013	1.34
2.5012	0.3617	0.415	0.7673	97.7		
2.5085	0.3627	0.415	0.7724	98.7		

3 小结与讨论

3.1 本文采用高效液相法测定华海乙肝泡腾颗粒剂中柴胡皂苷C的含量,此法简便、重现性好,平均

回收率为99.3%。

3.2 华海乙肝泡腾颗粒剂由黄芪、柴胡、虎杖、五味子等组成。诸药配伍,具有清热利湿,解毒祛邪,滋阴助阳,疏肝解郁之功效。用于乙型肝炎的治疗。从药理研究来看,黄芪对机体免疫功能有显著的促进和调节作用,有诱生干扰素作用,虎杖能抑制乙型肝炎表面抗原(HBsAg)阳性,柴胡具有保护肝细胞损伤和促进肝脏中脂质代谢作用。五味子具有抗肝脏损伤和诱导药物代谢酶的作用。柴胡中柴胡皂苷C能使半乳糖胺所致肝功能与组织损害恢复,有利胆保肝作用,可作为控制华海乙肝泡腾颗粒剂质量的一个指标^[5]。

3.3 在柴胡的定性鉴别及含量分析过程中,制剂中的辅料会造成严重干扰。故采用乙醇提取、水溶解、正丁醇萃取、大孔树脂吸附除去干扰物质,取得了满意效果。

参考文献:

- [1] 王秀冬,张兆旺,孙秀梅,等.华海乙肝方SBE法提取药材组合方式的优选[J].中国中药杂志,2000,25(10):601.
- [2] 张兆旺,孙秀梅.试论“半仿生提取法”制备中药口服制剂[J].中国中药杂志,1995;20(11):670.
- [3] 张瑞亭,张兆旺,孙秀梅.思维方式的转换与半仿生提取法[J].中国中药杂志,1997;22(9):542.
- [4] 吕青涛,张兆旺,孙秀梅,等.乙肝颗粒剂4种提取方法提取液的成分比较[J].中成药,2000,22(11):752.
- [5] 阴健,郭力弓.中药现代研究与临床应用[M].北京:学苑出版社,1995.123.

收稿日期:2001-02-28

《中国新药杂志》2002年征订启事

《中国新药杂志》由国家药品监督管理局主管,中国药学会、中国医药集团总公司、中国医药科技出版社共同主办。是一份专门报道新药科研、生产、技术成果,临床应用及评价,新药质量、市场和管理方面内容,集学术、科研和信息交流服务为一体,具有很强的专业性、实用性和新颖性的权威性科技期刊。

本刊被国内各主要数据库和检索期刊收录,2000年被确认为全国中文药学核心期刊。为了借助国际互联网络技术,更快地传播新药信息,我刊在2001年8月份将开通“新药网”为您提供全方位的信息服务。

本刊辟有论坛、综述、实验研究、药物化学、制剂研究、生物技术、质量与标准、临床药学、临床试验与生物统计、新药与临床、药物不良反应、新药介绍与评价、讲座、药品管理、药品保护、市场之行等十几个栏目。

本刊以高中级医药卫生工作者及广大从事药品研究、生产、临床、管理、经营、情报资料工作人员为读者对象。

为感谢广大读者对本刊的支持,凡在本部订阅的读者,将免费获得一张载有1992年至2001年本杂志全部内容的光盘一张,并直接被接受为本刊创办的新药网会员,可以免费上网查阅资料。

本刊为月刊,大16开本,每期定价10元,全年120元(含邮费),2002年征订工作已经开始,本刊邮发代号:82-488,国外代号M4240。网址: <http://www.cjnd.com.cn>, E-mail: cndj@public.fhnet.cn.net, 欢迎单位及个人订阅。

地址:北京崇文区永外三元西巷甲12号,邮编:100077,电话:(010)87274021,(010)67254449 转 2630、2633、2638。