

气滞胃痛颗粒中柴胡的质量控制方法研究

程似锦¹, 李 恒², 晏菊姣^{2△}

(1. 长江职业学院生物医药学院, 湖北 武汉 430064; 2. 武汉药品医疗器械检验所, 湖北 武汉 430075)

摘要:目的 建立气滞胃痛颗粒中柴胡的质量控制方法。方法 采用薄层色谱法对气滞胃痛颗粒中柴胡主要成分进行鉴别, 并采用高效液相色谱法对其进行验证。结果 薄层色谱中, 气滞胃痛颗粒供试品在与柴胡皂苷 b₂ 色谱相应位置显相同颜色荧光斑点, 与柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 c、柴胡皂苷 d 荧光斑点处未显示。高效液相色谱中, 供试品呈现与柴胡皂苷 b₂ 保留时间相同的色谱峰, 未呈现柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 c、柴胡皂苷 d 保留时间相同的色谱峰。结论 柴胡皂苷 b₂ 可作为表征气滞胃痛颗粒中柴胡的质量控制指标。

关键词: 气滞胃痛颗粒; 柴胡; 柴胡皂苷 b₂; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)13-0018-03

Study on Quality Control Method of *Radix Bupleuri* in Qizhiweitong Granules

Cheng Sijin¹, Li Heng², Yan Jujiao²

(1. Department of Biological Medicine, Changjiang Polytechnic, Wuhan, Hubei, China 430064;

2. Wuhan Institute for Drug and Medical Device Control, Wuhan, Hubei, China 430075)

Abstract: Objective To establish a method for quality control of *Radix Bupleuri* in Qizhiweitong Granules. **Methods** TLC method was used to identify components of *Radix Bupleuri* in Qizhiweitong Granules, and the method was validated by HPLC. **Results** In the TLC, the test sample of Qizhiweitong Granules showed the same color fluorescent spots in the corresponding positions of the saikoside b₂, but those were not found in the saikoside a, saikoside c and saikoside d. In the HPLC, test sample of Qizhiweitong Granules showed the same chromatographic peak as the retention time of the saikoside b₂, but those were not found in the saikoside a, saikoside c and saikoside d. **Conclusion** Saikoside b₂ can be used to as the index of quality standard of *Radix Bupleuri* in Qizhiweitong Granules.

Key words: Qizhiweitong Granules; *Radix Bupleuri*; saikoside b₂; HPLC

气滞胃痛颗粒为柴胡、延胡索(炙)、枳壳、香附(炙)、白芍、炙甘草 6 味药材组方的中药制剂, 主要用于治疗胃炎、反流性胃炎、肠易激综合征等^[1-2]。方中柴胡功用为调达肝气、舒理气滞, 是本制剂中治“气滞”的主药^[2], 但现行质量标准中没有对柴胡的控制指标。本研究中参照文献[3-7], 选择柴胡对照药材、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 b₂、柴胡皂苷 c、柴胡皂苷 d 对照品为指标, 对柴胡建立薄层色谱或高效液相色谱鉴别方法, 并探讨柴胡皂苷 b₂ 作为表征方中柴胡指标的可能性。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Camag TLC Visualizer 薄层色谱照相仪, U3000 型液相色谱仪(DAD 检测器, 美国 Dionex 公司); BP211D 型电子天平(赛多利斯公司, 感量为 0.1/0.01 mg); SK250LHC 型超声清洗仪; DK-S26 型电热恒温水浴锅; Simplicity 超纯水机; 硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂分厂)。

1.2 试药

气滞胃痛颗粒(有糖型或无糖型, 辽宁本溪三药有限公司); 柴胡皂苷 a 对照品(批号为 110777-201108), 柴胡皂苷 d 对照品(批号为 110778-200404), 柴胡对照药材(批号为 120992-201108), 均购于中国食品药品检定研究院; 柴胡皂苷 b₂ 对照品(批号为 51/120507), 柴胡皂苷 c 对照品(批号为 51/120507)均购于 Shanghai Standard Biotech Co, Ltd.。乙腈为色谱纯; 甲醇, 正丁醇, 氢氧化钠, 氨水, 对二甲氨基苯甲醛, 硫酸均为分析纯; 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

供试品溶液: 取气滞胃痛颗粒 15 g 或 7 g(无糖型), 研细, 加甲醇 50 mL, 超声处理 30 min, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20 mL 使溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 以 2% 氢氧化钠溶液洗涤 2 次, 每次 30 mL, 弃去碱液, 再用正丁醇

第一作者: 程似锦(1978-), 女, 大学本科, 讲师, 研究方向为药物制剂教学, (电子信箱)1036670659@qq.com。

△通信作者: 晏菊姣(1978-), 女, 硕士研究生, 副主任药师, 研究方向为药品质量控制, (电话)027-65395489(电子信箱)15507964@qq.com。

饱和的水洗涤 2 次,每次 20 mL,弃去水液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 5 mL 使溶解,即得。

阴性对照品溶液:取缺柴胡药材的其他药味,按处方比例制成缺柴胡阴性样品,再按供试品溶液方法制备,即得。

对照品溶液:取柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 b₂、柴胡皂苷 c、柴胡皂苷 d 对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的混合溶液,即得。

对照药材溶液:取柴胡对照药材 0.5 g,加水煎煮 1 h,滤过,滤液浓缩至约 20 mL,自“用水饱和的正丁醇振荡提取 3 次”起同供试品溶液方法制备,即得对照药材溶液 I。照 2015 年版《中国药典(一部)》柴胡项下含量测定方法^[8],取柴胡对照药材 0.5 g,置具塞锥形瓶中,加入含 5% 浓氨试液的甲醇溶液 25 mL,密塞,30 ℃ 水温超声处理(功率为 200 W,频率为 40 kHz)30 min,滤过,用甲醇 20 mL 分 2 次洗涤容器及药渣,洗液与滤过合并,回收溶剂至干。残渣加甲醇溶解,转移至 5 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得对照药材溶液 II。

2.2 薄层色谱法

按 2015 年版《中国药典(四部)》通则^[9]试验,吸取上述除对照药材溶液 II 的 4 种溶液各 2~10 μL,分别点于同一硅胶薄层板上,以乙酸乙酯-乙醇-水(8:2:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2% 对二甲氨基苯甲醛的 40% 硫酸溶液,在 60 ℃ 加热至斑点显色清晰,分别置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与柴胡皂苷 b₂ 对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点或荧光斑点,在与柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 c、柴胡皂苷 d 对照品溶液色谱相应位置上未显相同颜色的斑点或荧光斑点,阴性对照品(缺柴胡)溶液色谱相应位置无干扰,分离度良好。见图 1。

2.3 验证试验

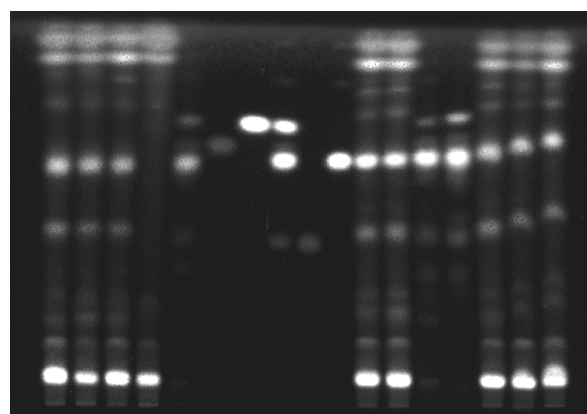
2.3.1 薄层色谱验证

分别吸取供试品溶液、对照品溶液、对照药材溶液 I 和 II 4 种溶液,照 2.2 项下方法试验。对照药材溶液 II 色谱可检出柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 c、柴胡皂苷 d 斑点或荧光斑点,但未见柴胡皂苷 b₂ 斑点或荧光斑点;对照药材溶液 I 色谱柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 c、柴胡皂苷 d 斑点颜色变淡,同时新出现了柴胡皂苷 b₂ 的斑点。见图 2。

2.3.2 高效液相色谱验证

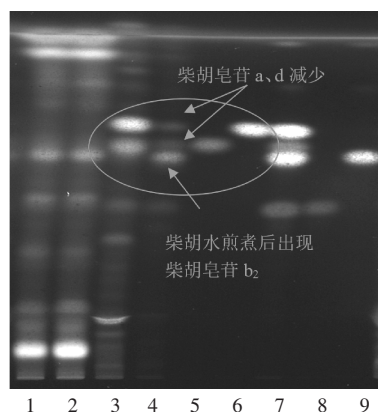
溶液制备:按本品水煎煮提取工艺模拟投料的自制小样,照 2.1 项下方法制备供试品溶液。

色谱条件及与系统适用性试验:色谱柱为戴安



1. 样品(批号为 20120103) 2. 样品(批号为 20120412)
3. 样品(批号为 20120419) 4. 阴性对照品溶液(缺柴胡)
5. 柴胡对照药材水煎煮 6. 柴胡皂苷 a 7. 柴胡皂苷 d
8. 柴胡皂苷混合对照品 9. 柴胡皂苷 c 10. 柴胡皂苷 b₂
11. 样品(批号为 20111124) 12. 样品(批号为 20120621)
13. 柴胡药材(编号 1)水煎煮 14. 柴胡药材(编号 2)水煎煮
15. 样品(批号为 20101215) 16. 样品(批号为 20120112)
17. 样品(批号为 20110409)

图 1 鉴别薄层色谱图



1. 样品(批号为 20120103) 2. 样品(批号为 20120325)
3. 对照药材溶液 I 4. 对照药材溶液 II 5. 柴胡皂苷 a 对照品
6. 柴胡皂苷 d 对照品 7. 柴胡皂苷 a, d, c, b₂ 混合对照品
8. 柴胡皂苷 c 对照品 9. 柴胡皂苷 b₂ 对照品

图 2 验证薄层色谱图

Acclaim 120 C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(表 1);检测波长为 210 nm;柱温为 30 ℃;进样量为 10 μL。同时,采用 DAD 进行检测。理论板数按柴胡皂苷 a 峰计算应不低于 10 000。

表 1 流动相梯度洗脱表

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~50	25→90	75→10
50~55	90	10

测定与结果:照 2015 年版《中国药典(四部)》通则中高效液相色谱法^[8]测定。分别精密吸取 2.1.1 项下供试品溶液,对照品溶液、对照药材溶液 I 及 2.3.2 项下供试品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,测定,即得。结果供试品溶液色谱图中,呈现与柴胡皂苷 b_2 对照品色谱峰保留时间相的色谱峰,未呈现与柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 c、柴胡皂苷 d 对照品色谱峰保留时间相同的色谱峰。

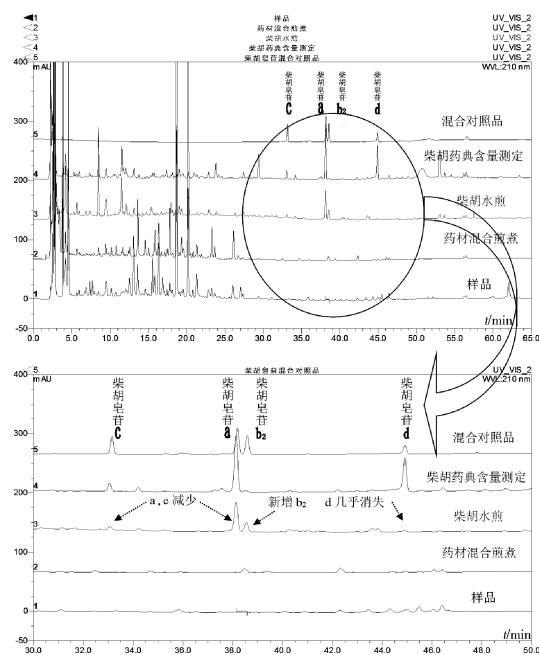


图3 验证高效液相色谱图

3 讨论

图 2 显示,本次收集到的多批柴胡药材及来源于中国食品药品检定研究院的柴胡对照药材经水煎煮后,柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 c、柴胡皂苷 d 斑点颜色变淡,同时新出现柴胡皂苷 b_2 的斑点,而成品中仅检视出柴胡皂苷 b_2 的斑点。

图 3 表明,柴胡药材甲醇提取,均有柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 c、柴胡皂苷 d 成分;但柴胡药材经水煎煮后,其成分发生变化,柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 c、柴胡皂苷 d 减少,产生柴胡皂苷 b_2 。气滞胃痛颗粒各药材混合煎煮后提取的自制样品中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 c、柴胡皂苷 d 几乎完全消失。

柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 会随水煎煮时间的延长而减少,柴胡皂苷 d 甚至完全消失;柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 在受热或酸性条件下也会转化为与之对应的柴胡次级皂苷 b_1, b_2 ^[10-13],这与本试验结果相同。柴胡皂苷 b_2 也是柴胡发挥药效的有效成分^[14-16],从柴胡的用药历史上看,多数情况下是与其他药共煎入药,也就是说柴胡是通过其次生皂苷发挥药效。

综上所述,柴胡药材按照本品种的工艺进行水煎煮提取后,相关柴胡皂苷会消失或转化,产生柴胡皂苷 b_2 。综合本制剂的制法、有关文献资料和模拟试验结果,选取柴胡皂苷 b_2 作为表征方中柴胡的特征是可行和有意义的。同时,该方法也为含柴胡药味经水煎煮的同类制剂中柴胡药材的鉴别提供了参考依据。

参考文献:

- [1] 李天娇,王 帅,孟宪生,等. 气滞胃痛颗粒治疗胃溃疡的谱效关系研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2015,17(1): 103-108.
- [2] 于 婷,王 帅,孟宪生,等. 气滞胃痛颗粒防治反流性胃炎的药效及作用机制初步研究[J]. 中药材,2015,38(9): 1933-1936.
- [3] 张宏娜,赵玉英,梁 鸿,等. HPLC-ELSD 法同时测定柴胡中柴胡皂苷 a、c、d、f 的含量[J]. 药物分析杂志,2007,27(8): 1150-1153.
- [4] 张国松,张馨予,封传华,等. 高效液相色谱-紫外检测法同时测定北柴胡中柴胡皂苷 a、 b_2 、c、d、f 含量[J]. 中国中医药信息杂志,2014,21(5):74-77.
- [5] 周 旭,翟廷君. HPLC-ELSD 同时测定柴胡消瘿颗粒中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷、阿魏酸及橙皮苷的含量[J]. 中国现代中药,2015,17(3):227-231.
- [6] 张洪峰,王 乐,张 凯,等. 一测多评法测定冀南产柴胡中柴胡皂苷类成分[J]. 中国现代中药,2016,18(12):1594-1597.
- [7] 曾俊芬,鲁建武,宋金春. HPLC 测定柴葛清热颗粒中柴胡皂苷 a、葛根素和黄芩苷含量[J]. 中国药物警戒,2016,13(6): 338-340.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2015:280-281,666-667.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2015:57-60.
- [10] 李 军,石任兵,刘 斌,等. 四逆散不同配伍对柴胡皂苷 a、 b_2 及柴胡总皂苷煎出量的影响[J]. 北京中医药大学学报,2007,30(2):115-120.
- [11] 宋海妹,苏小凤,李 楠,等. 柴胡皂苷的提取与鉴定[J]. 大连轻工业学院学报,2005,24(1):15-18.
- [12] 王一飞,郝 琨,王广基. 柴胡皂苷类物质体内代谢研究进展[J]. 医学综述,2012,18(16):2621-2624.
- [13] 缪希红,李晓燕,高君文,等. 高效液相色谱法测定柴胡配方颗粒中柴胡皂苷 a 含量[J]. 中国药业,2017,26(3):33-35.
- [14] 卢 伟,杨光义,杜士明,等. 竹叶柴胡化学成分和药理作用研究进展[J]. 医药导报,2016,35(2):164-168.
- [15] 谢东浩,蔡宝昌,安益强,等. 柴胡皂苷类化学成分及药理作用研究进展[J]. 南京中医药大学学报,2007,23(1):64.
- [16] 刘永春,丛培臣. 柴胡的化学成分及药理作用研究概况[J]. 黑龙江医药,2006,19(3):217.

(收稿日期:2017-12-28;修回日期:2018-02-05)