

HPLC 法测定小柴胡汤滴丸中柴胡皂苷 A 的含量

李成网¹, 李清华², 童玉新²

(1 安徽省医学科学研究所, 安徽 合肥 230061; 2 合肥申联医药科技开发公司, 安徽 合肥 230011)

摘要: 目的: 用 HPLC 法测定小柴胡汤滴丸中柴胡皂苷 A 的含量。方法: 样品经氯仿提取后, 微碱性提取液通过 D101 大孔吸附树脂吸附, 乙醇洗脱, HPLC 法测定乙醇洗脱液中柴胡皂苷 A, 使用 C18 柱, 乙腈-水 (37: 63) 为流动相, 检测波长为 208nm。结果: 柴胡皂苷 A 线性范围 1.06~ 9.58μg, 相关系数 0.9997, 平均加样回收率 99.2%。结论: 样品处理合理, 方法学考察符合定量要求, 结果准确, 可用于小柴胡汤滴丸中的柴胡皂苷 A 的含量测定。

关键词: 小柴胡汤滴丸; 柴胡皂苷 A; 含量测定

中图分类号: R285.5 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2002)05-0019-02

小柴胡汤滴丸是由柴胡、黄芩、半夏、党参等多味中药精制而成, 具解表散热, 疏肝和胃功能。柴胡为方中君药, 柴胡皂苷为其有效成分, 本文建立以 HPLC 法测定本品中柴胡皂苷 A 的含量测定方法。

1 药品与仪器

柴胡皂苷 A (上海医药工业研究院); 小柴胡汤滴丸 (合肥申联医药科技开发公司), Waters 600 型液相色谱仪, UV996 检测器; D101 型大孔吸附树脂 (净品型, 天津农药公司树脂分公司), 实验试剂为分析纯或色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil ODS 250 × 4.6mm; 流动相: 乙腈-水 (37: 63); 检测波长: 208nm; 柱温: 35℃; 流量: 1ml/min; 进样量: 20μl; 理论塔板数按柴胡皂苷 A 对照品计算应大于 5000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取柴胡皂苷 A 对照品 (五氧化二磷真空干燥 24h) 2.5mg, 置 5ml 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 3g, 精密称定, 加层析用碱性氧化铝 9g, 研匀, 于真空干燥箱 50℃干燥 5h 后, 置索氏提取器中, 加氯仿适量, 回流提取 6h, 弃去氯仿液, 样品挥尽氯仿, 加 0.04% 碳酸钠溶液 100ml, 超声提取 30min, 共 2 次, 滤过, 合并提取液通过 D101 型大孔吸附树脂柱 (35g, Φ2.0 × 25cm), 以 0.5mol/L 氢氧化钠溶液 200ml 洗涤后, 以水 250ml 洗至中性, 再以乙醇 150ml 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残

渣加甲醇分次溶解, 滤至 5ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即为供试品溶液。

2.4 测定方法与结果 分别精密吸取对照品溶液 10μl 与供试品溶液 20μl, 注入高效液相色谱仪, 如法测定, 结果见表 1, 色谱图见图 1。

表 1 小柴胡汤滴丸中柴胡皂苷 A 的含量

批号	柴胡皂苷 A (mg/g)		柴胡皂苷 A 均值 (mg)
20001009	0.4910	0.4887	0.4899
20001016	0.5229	0.5332	0.5281
20001020	0.3964	0.3887	0.3926

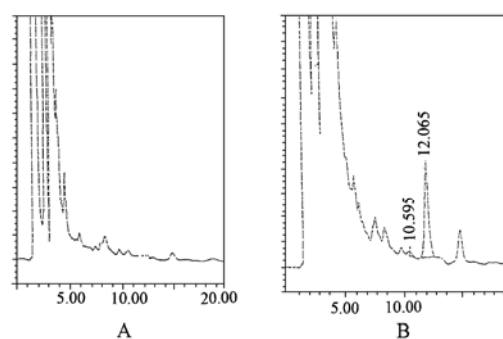


图 1 柴胡皂苷 A HPLC 图谱

A. 空白样品 B. 样品

2.5 方法考察

2.5.1 提取净化方法的选择 首先样品以正丁醇萃取, 正丁醇萃取液以氨试液洗去杂质后减压浓缩制成的供试品溶液, HPLC 测定柴胡皂苷 A, 含量偏低。样品再以微碱溶液溶解后加至 D101 型大孔吸附树脂柱吸附, 以 0.5mol/L 氢氧化钠溶液洗去黄酮类成分, 以水洗至中性, 再以乙醇洗脱, 洗脱液浓缩制成供试品溶液, 出现大量蜡状物质, 说明辅料 PEG-6000 干扰测定, 因而先以氯仿提取去辅料 PEG-

6000, 再行大孔吸附树脂吸附洗脱, 其供试品溶液可顺利地进行 HPLC 法测定。

2.5.2 线性关系考查 精密吸取柴胡皂苷 A 对照品溶液 2.6、10、14、18 μ l, 注入高效液相色谱仪, 以对照品进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 线性回归, 结果表明柴胡皂苷 A 在 1.06~9.58 μ g 范围内线性关系良好, 回归方程为: $A = 311489C - 73412$, $r = 0.9997$ 。

2.5.3 精密度试验 吸取供试品溶液 20 μ l, 重复进样 5 次, 结果 RSD 为 0.93%。证明精密度良好。

2.5.4 稳定性试验 取供试品溶液立即测定与在室温放置下, 每隔 1h 进行 1 次, 测定 4 次, 结果 RSD = 2.49%。

2.5.5 重现性试验 取同一批号样品 5 份, 按含量测定项下的方法测定供试品中柴胡皂苷 A 含量, 结果 RSD 为 2.71%。表明重现性良好。

2.5.6 回收率试验 称取已知含量的样品(含量 0.487mg/g) 分别精密加入一定量的柴胡皂苷 A 对照品, 按含量测定项下的方法进行测定, 结果见表 2。

表 2 柴胡皂苷 A 回收率试验结果

编号	取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
1	1.8715	0.911	0.910	1.814	99.2
2	2.1138	1.029	0.963	1.978	98.6
3	2.3525	1.145	0.654	1.808	101.2
4	2.1816	1.062	0.827	1.873	98.1
5	2.2426	1.092	0.817	1.901	99.0

平均回收率为 99.2%, RSD 为 1.20%。

3 讨论

本品处方中柴胡为君药, 其主要有效成分柴胡皂苷 A 具有抗炎抗病毒等作用, 单味药材柴胡中的柴胡皂苷 A 以薄层扫描法及 HPLC 法测定有所报导^[1~4], 而复方制剂中柴胡皂苷 A 的含测方法报导较少。应用 HPLC 法测定本品中柴胡皂苷 A 的含量时进行流动相的选择, 对甲醇-水系统不同比例进行试验, 结果分离度不佳, 效果不理想, 又对乙腈-水系统不同比例进行试验, 结果以乙腈-水(37:63) 较为理想。

本品为复方制剂测定其中柴胡皂苷 A 的含量, 供试液的前处理即提取分离方法是关键, 参考文献^[5]用大孔吸附树脂提取分离, 仍受到辅料 PEG-6000 干扰, 注意到在碱性环境下柴胡皂苷 A 稳定, 样品应用碱性氧化铝分散, 真空干燥后用氯仿提取以分去辅料 PEG-6000, 再进行大孔吸附树脂吸附分离制备供试品溶液, 以 HPLC 法测定结果满意。

参考文献:

- [1] 罗燕燕, 张绍青, 林明美. 柴胡药材中皂苷 a, d 的 HPLC 测定[J]. 中国药学杂志, 1992, 27(4): 215.
- [2] 马林, 宋万志, 何丽一, 等. 柴胡属植物中柴胡皂甙的资源利用[J]. 天然产物研究与开发, 1992, 4(4): 86.
- [3] 董友毅, 罗思齐, 潘胜利. 柴胡主要皂甙成分的高效液相色谱测定[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(11): 678.
- [4] 罗燕, 林明美. 柴胡皂甙薄层扫描定量法[J]. 药物分析杂志, 1987, 7(2): 104.
- [5] 刘岱, 杨立新, 崔淑莲. 高效液相色谱法测定柴贯冲剂中柴胡皂甙 A 的含量[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(2): 92.