

高效液相色谱测定克郁舒神颗粒中柴胡皂苷 a 含量

王 健¹, 王 博², 滕利荣², 孟庆繁², 高 波^{2*}

(1. 长春中医学院附属医院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学生命科学学院, 吉林 长春 130012)

[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柴胡皂苷 a 的含量。结果: 柴胡皂苷 a 在 0.01 μ g~0.1 μ g 进样量与峰面积呈良好的线性关系, $r = 0.9992$, 平均回收率为: 99.94%, RSD 为 2.74%。精密度试验 RSD 为 0.03%。结论: 该测定方法结果准确, 重复性好, 可用于克郁舒神颗粒中柴胡皂苷 a 的含量测定。

[关键词] 克郁舒神颗粒; 柴胡皂苷 a; HPLC

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)05-0007-02

克郁舒神颗粒由川芎、茯苓、柴胡等药组成, 为临床有效的医院制剂, 具有疏肝理气, 解郁安神之功效, 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(HPLC)对方中之臣药柴胡进行定量测定, 从而为制定其质量标准提供了依据^[1]。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

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

1.2 样品和药品 克郁舒神颗粒(由长春中医学院附属医院药剂室制备); 柴胡皂苷 a 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^[2] 色谱柱为化学键合型十八烷基(5 μ m, Nucleosil C₁₈)柱(250mm \times 4.6mm ID, 大连江申分离科学技术公司); 流动相为乙腈-水(55:45 v/v); 检测波长为 208nm; 柱温 40 $^{\circ}$ C; 流速 1ml/min。

2.2 线性关系考察 精密吸取浓度分别为

3.3 提取方法 在供试品溶液制备时, 比较了药典方法制备的供试品溶液的色谱峰, 发现采用简便、高效的直接用 70% 乙醇超声处理, 再蒸干用流动相溶解的方法, 既可除去色素、糖类等杂质, 又较完全地提取了皂苷类成分, 为进行皂苷多成分分析, 奠定了基础。

[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. 10.

[2] 张莹, 朱天琪. 薄层扫描法测定三七药材中人参皂苷 Rg₁ 的含量[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(5): 342.

[3] 徐冬英. 田七的古代产地及集散地[J]. 中药材, 1997, 20(12): 637.

[4] 刘华钢, 赖茂祥, 梁秋云, 等. 三七含量测定方法的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(5): 14-16.

表 2 不同药龄的三七中人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 及三七皂苷 R₁ 的含量(n=3)

药龄(年)	R ₁ (%)	Rg ₁ (%)	Re(%)	Rb ₁ (%)
2	1.55	2.58	0.72	3.60
3	2.16	4.16	1.24	3.97
4	1.83	3.89	1.55	4.37
5	0.79	4.10	1.85	5.16

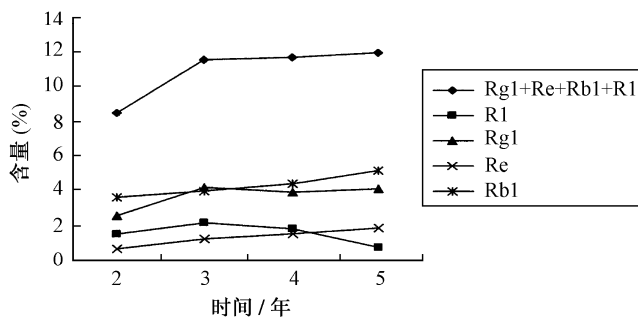


图 2 不同药龄三七中 Rg₁、Re、Rb₁、R₁ 含量和 Rg₁ + Re + Rb₁ + R₁ 总量的曲线表

0.001 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0.002 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0.004 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0.008 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0.010 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的柴胡皂苷 a 对照品 10 μL , 注入色谱仪, 测定峰面积。得回归方程为: $Y = 4 \times 10^{10} \times - 2 \times 10^6$, 相关系数 $r = 0.9992$ 。

2.3 精密度试验 精密吸取柴胡皂苷 a 对照品溶液(浓度为 0.001 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) 10 μL , 重复进样 6 次, 测定峰面积, 计算 RSD 为 0.03%。

2.4 加样回收率试验 在样品液中加入不同量的柴胡皂苷 a 对照品, 配制成加样样品液, 进样量为 10 μL , 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 克郁舒神颗粒中柴胡皂苷 a 加样回收率

n	样品中含量 (mg/g 药粉)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
1	0.87	0.1	0.957	98.51		
2	0.87	0.2	1.05	97.71		
3	0.87	0.4	1.25	97.70	99.94	2.74
4	0.87	0.8	1.69	102.30		
5	0.87	1.0	1.90	103.45		

2.5 克郁舒神颗粒中柴胡皂苷 a 含量测定

2.5.1 样品制备与测定^[3] 精密称取克郁舒神颗粒 10g, 置 500mL 烧瓶中, 加入含 3% 吡啶的甲醇 100mL, 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴回流提取 2h, 过滤, 滤液在 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上减压回收, 浸膏用 100mL 乙醚提取, 过滤。不溶物挥干乙醚后用 4mL 甲醇溶解, 取 1 μL , 通过 Sep-Pak 固相萃取柱, 甲醇洗脱 1mL, 取 10 μL 进样, 按上述色谱条件进行测定。测定结果: 克郁舒神颗粒中柴胡皂苷 a 的含量为 0.89mg/g 药粉。对照品及样品 HPLC 图谱见图 1, 2。

2.5.2 阴性对照药品制备与测定 按照克郁舒神颗粒的制备工艺制成原料药中不含柴胡的药粉, 按上述制备样品的方法进行制备, 取 10 μL 进样, 按上述色谱条件进行测定。图谱见图 3。

3 讨论

柴胡皂苷 a 属于三萜皂苷, 其苷元为齐墩果酸衍生物。柴胡皂苷 a 易溶于甲醇, 乙醇, 难溶于苯, 乙醚, 石油醚等非极性溶剂, 而柴胡皂苷 a 的苷元易溶于乙醚等非极性溶剂。因此, 在制备样品过程中, 先利用甲醇提取, 然后通过乙醚将柴胡皂苷 a 与其苷元分离。

由于本药配方复杂, 样品液中所含物质极多, 因此通过 HPLC 检测之前, 对样品液进行固相萃取柱

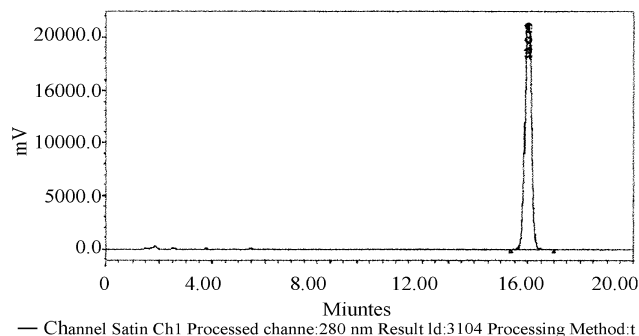


图 1 对照品 HPLC 图谱

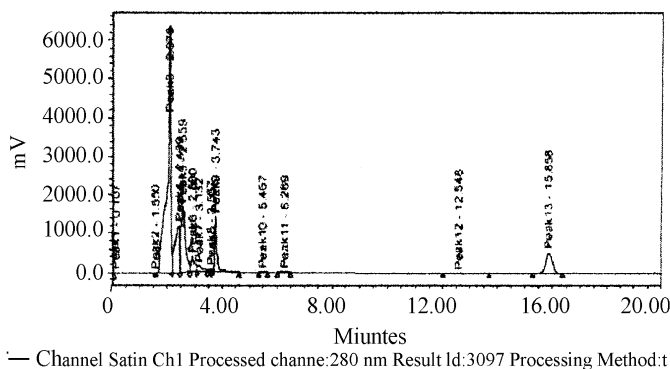


图 2 样品 HPLC 图谱

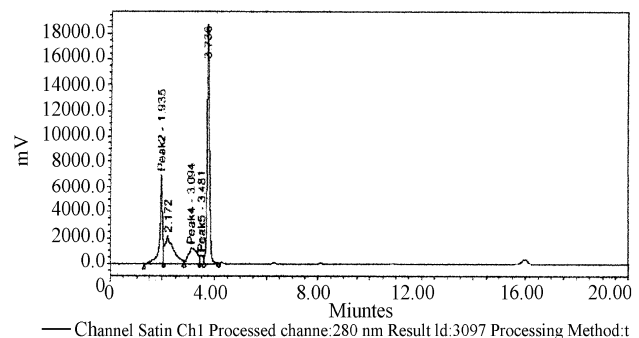


图 3 阴性对照药品 HPLC 图谱

处理, 从而去除污染色谱柱的物质, 如某些色素。

本法采用 HPLC 测定克郁舒神颗粒中柴胡皂苷 a 的含量, 方法简单可靠, 易于操作, 重复性好, 根据本法的测定结果, 可作为克郁舒神颗粒中柴胡的质量控制标准。

[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] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社 1987. 321-322.
[3] 马林, 何丽一, 宋万志, 等. 柴胡皂苷的高效液相色谱分离与测定[J]. 药物分析杂志, 1994, 14(2): 6-8.