

# HPLC法测定柴胡口服液中柴胡皂苷 a d的含量

洪卫兵<sup>1</sup>, 徐庆辉<sup>2</sup>

(1. 安徽省黄山市人民医院; 2. 安徽省黄山市药品检验所, 安徽 黄山 245000)

**摘要:** 目的 建立测定柴胡口服液中柴胡皂苷 a d含量的方法。方法 用高效液相色谱法测定制剂中柴胡皂苷 a和 d的含量。色谱柱: Welchrom C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水 (43: 57), 检测波长: 210 nm, 流速: 1.0 ml · min<sup>-1</sup>。结果 柴胡皂苷 a线性范围为 1.962~11.772 μg, r = 0.999 8 平均回收率 99.66%, RSD为 0.10%; 柴胡皂苷 d线性范围为 2.772~16.632 μg, r = 0.999 9 平均回收率 99.68%, RSD为 0.28%。结论 该方法操作简便、灵敏度高、结果准确、专属性强, 能有效的控制柴胡口服液的质量。

**关键词:** 柴胡口服液; 柴胡皂苷 a d HPLC

## Determination of Saikosaponin a d in oral bupleurum by HPLC

HONG Wei-bing<sup>1</sup>, XU Qing-hui<sup>2</sup>

(1 Huangshan Municipal People's Hospital; 2 Huangshan Institute for Drug Control, Huangshan 245000, China)

**Abstract** **Aim** To determine saikosaponin a d in Oral Bupleurum. **Methods** HPLC was used for the determination of saikosaponin a d content. Welchrom C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used and the mobile phase was acetonitrile-water (43: 57). The detection wavelength was set at 210 nm. The flow rate was 1.0 ml · min<sup>-1</sup>. **Results** The linear range of saikosaponin a and saikosaponin d were 1.962 ~ 11.772 μg (r = 0.999 8) and 2.772 ~ 16.632 μg (r = 0.999 9). The average recovery rate and RSD were 99.66%, 99.68% and 0.10%, 0.28%. **Conclusion** The method is simple, sensitive, accurate, specific and can effectively control the quality of Oral Bupleurum.

**Key words** Oral Bupleurum; saikosaponin a d HPLC

柴胡口服液为柴胡药材经提取浓缩制成的制剂, 收载于2010年版药典一部, 具有解表退热功效。用于外感发热, 症见身热面赤、头痛身楚、口干而渴。柴胡皂苷 a d为该制剂的有效活性成分, 标准中只对本品进行了鉴别研究, 没有含量测定项, 为了加强对本品质量控制, 本实验研究了利用 HPLC 法测定其制剂中柴胡皂苷 a d 的含量, 为提高标准提供一定依据。

### 1 仪器与试剂

LC-10ATvp岛津高效液相色谱仪(日本岛津); SPD-10Avp紫外检测器(日本岛津); LC-Solution色谱工作站; AB135-S电子天平(十万分之一, 梅特勒); 柴胡皂苷 a对照品(批号: 110777-200507 中检所); 柴胡皂苷 d对照品(批号: 110778-200506 中检所); 乙腈为色谱纯, 水(超纯水); 柴胡口服液样品及阴性对照品(自制)。

在 0.95~1.05 范围内。表明该色谱条件下, 对色谱柱的选择性不强, 柱子适用范围广。

表 1 回收率试验结果

取样量 /g	样品中含量 /mg	测得量 /mg	加入量 /mg	回收率 /%
2.527 2	0.960 3	1.831 7	0.872 0	99.9
2.514 4	0.955 5	1.802 1	0.872 0	97.0
2.501 0	0.950 4	1.811 8	0.872 0	98.8
2.541 0	0.965 6	1.821 6	0.872 0	98.2
2.509 4	0.953 6	1.816 6	0.872 0	99.0
2.506 4	0.952 4	1.814 2	0.872 0	98.8

**2.11 样品测定** 按上述供试品溶液的制备方法和测定条件, 测定 3批样品中的含量, 具体见表 2。

表 2 样品测定结果

批号	含量 1	含量 2	含量 3	平均含量	RSD
	/mg · 丸 <sup>-1</sup>	/mg · 丸 <sup>-1</sup>	/mg · 丸 <sup>-1</sup>		
070916	3.42	3.40	3.40	3.4	0.3
070919	3.51	3.52	3.51	3.5	0.1
070921	3.49	3.45	3.46	3.5	0.6

### 3 讨论

芍药苷的含量测定方法文献已报道的有高效液相色谱法、薄层扫描法、薄层层析-紫外法, 但摩罗丹中芍药苷的含量测定方法尚未见报道。在试验中采取回流提取、超声处理等多种方法进行了试验, 结果超声处理提取效率高, 故采用超声处理的提取方式。同时我们对甲醇、乙醇、稀乙醇 3种提取溶剂进行了考察, 结果稀乙醇的提取率较高, 且峰形为 BB 峰。

### 参考文献:

- [1] 王怡君, 侯峰. HPLC 测定八珍益母丸中芍药苷的含量 [J]. 中成药, 2004, 26(6): U001-2
- [2] 王珍, 杨士友, 李鑫, 等. 高效液相色谱法测定当归调经颗粒中芍药苷的含量 [J]. 安徽医药, 2007, 11(1): 30-1
- [3] 周家才, 梁玉梅, 程五生. HPLC 法测定复方乌鸡丸中芍药苷的含量 [J]. 安徽医药, 2003, 7(4): 294-5
- [4] 谢艳丽. 高效液相色谱法测定乳癖消胶囊中芍药苷的含量 [J]. 中国医药导报, 2009, 6(6): 35-6
- [5] 王隶书, 严玉清, 程东岩. 妇炎康复胶囊中芍药苷的 HPLC 测定 [J]. 中国药师, 2004, 7(9): 698-9
- [6] 张先文, 蒋小云, 黄险峰. HPLC 法测定益坤宁颗粒中芍药苷的含量 [J]. 安徽医药, 2006, 10(11): 838-9
- [7] 周继法. 高效液相色谱法测定滋肾清肝颗粒剂中芍药苷的含量 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(8): 1440-1

(收稿日期: 2010-05-10)

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: WelchromC<sub>18</sub>柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水(43:57), 检测波长: 210 nm; 柱温: 25°C; 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d 对照品适量, 加甲醇制成每毫升中含柴胡皂苷 a 0.2943 mg 柴胡皂苷 d 0.4158 mg 的溶液, 作为对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取柴胡药材, 按 2010 年药典一部柴胡口服液项下制备方法制备成样品。取样品 1 mL 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4 专属性考察** 按本品的制备工艺<sup>[1]</sup>, 制成不含柴胡的阴性对照样品, 再按供试品制备方法制成阴性对照溶液。分别精密吸取对照品溶液、阴性对照溶液与供试品各 20 μL 注入

液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 记录色谱图, 结果见图 1。柴胡皂苷 a、d 保留时间分别位于 8.54 min、18.76 min 左右, 分离良好, 阴性对照无干扰。

**2.5 线性关系考察** 称取柴胡皂苷 a、d 对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每毫升含柴胡皂苷 a 0.981 mg 和柴胡皂苷 d 1.386 mg 的混合溶液, 作为对照品储备液。精密吸取储备液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL 分别置 1 mL 的量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀; 分别吸取 20 μL 进样, 记录色谱图峰面积, 以对照品吸收峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 得到柴胡皂苷 a 回归方程为  $Y = 4.411 \times 10^5 X + 2.406 \times 10^4$ ,  $r = 0.9998$  表明柴胡皂苷 a 在 1.962~11.772 μg 范围内线性关系良好; 柴胡皂苷 d 回归方程为  $Y = 4.525 \times 10^5 X - 7.431 \times 10^4$ ,  $r = 0.9999$  表明柴胡皂苷 d 在 2.772~16.632 μg 范围内线性关系良好。

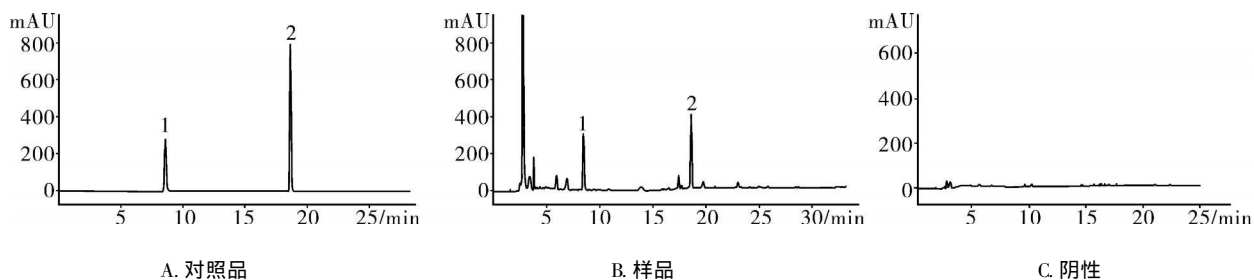


图 1 HPLC 图 (1 柴胡皂苷 a 2 柴胡皂苷 d)

**2.6 精密度的试验** 精密吸取对照品溶液 20 μL 连续进样 6 次, 记录其峰面积, 柴胡皂苷 a RSD = 0.77%, 柴胡皂苷 d RSD = 0.89%, 结果显示精密度良好。

**2.7 稳定性考察** 取同一供试品溶液, 在 0.2、4、6、8、10 h 分别进样, 记录峰面积, 柴胡皂苷 a RSD = 1.02%, 柴胡皂苷 d RSD = 1.36%, 结果表明柴胡皂苷 a 柴胡皂苷 d 在 10 h 内稳定性良好。

**2.8 重现性试验** 分别精密量取同一供试品 6 份, 按制备方法分别制成样品溶液, 在上述色谱条件下测定, 计算含量, 柴胡皂苷 a RSD = 1.86%, 柴胡皂苷 d RSD = 1.71%, 结果表明本品在所建色谱条件下重现性较好。

**2.9 加样回收率试验** 精密量取已知含量的柴胡口服液 0.5 mL 分别精密加入适量的柴胡皂苷 a 和 d 对照品, 按样品制备方法项下制备供试品液 6 份, 在上述色谱条件下进样分析, 柴胡皂苷 a 的回收率为 99.66%, RSD = 0.10% ( $n = 6$ ), 柴胡皂苷 d 的回收率为 99.68%, RSD = 0.28% ( $n = 6$ )。结果表明本品中柴胡皂苷 a、d 的加样回收率较好, 本色谱条件适宜本品的测定, 所测成分之间无干扰, 见表 1。

表 1 加样回收试验数据表 ( $n = 6$ )

编号	样品含量 /mg		加入量 /mg		测出量 /mg		回收率 /%	
	a	d	a	d	a	d	a	d
1	2.021	1.445	1.98	1.56	3.995	2.999	99.70	99.62
2	2.021	1.445	2.11	1.48	4.122	2.921	99.57	99.73
3	2.021	1.445	1.93	1.43	3.943	2.870	99.59	99.65
4	2.021	1.445	1.95	1.36	3.966	2.806	99.74	100.07
5	2.021	1.445	2.08	1.40	4.097	2.842	99.81	99.79
6	2.021	1.445	2.04	1.38	4.052	2.814	99.56	99.20

**2.10 样品测定** 按上述供试品制备方法制备成供试品溶液, 进样按外标法计算柴胡皂苷 a 和 d 的含量, 测定了本品 3

批样品, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果表 ( $g \cdot L^{-1}$ )

批号	柴胡皂苷 a 含量	柴胡皂苷 d 含量
1	4.02	2.84
2	4.28	2.97
3	3.85	2.75

## 3 小结

本品的含量测定条件曾参考中国药典 2010 年版一部中“柴胡”项下含测方法与相关文献<sup>[2-5]</sup>, 但试验结果并不理想。经过实验摸索最终确定以乙腈-水(43:57)为流动相, 经验证, 分离度好, 塔板数高。样品的制备方法是根据柴胡皂苷易溶于甲醇的性质而确定。通过对本品的专属性考察、线性关系考察、稳定性试验、重复性试验及加样回收率实验等方法学考察, 结果表明采用本色谱条件测定柴胡口服液中柴胡皂苷 a、d 的含量, 方法稳定、可靠, 可作为控制本品质量有效方法。

## 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典: 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 992.
- [2] 周天红. HPLC 测定柴胡、春柴胡中柴胡皂苷 a、d 的含量 [J]. 中国药师, 2010, 13(2): 293-4.
- [3] 鲁湘鄂, 郭海福, 汪洪武, 等. HPLC 法测定柴胡中柴胡皂苷 a、d 的含量 [J]. 肇庆学院学报, 2006, 27(2): 43-6.
- [4] 杨慧, 王书林, 余弦. HPLC 法测定川产道地药材柴胡中柴胡皂苷 a 及柴胡皂苷 d 的含量 [J]. 中国医药指南, 2010, 8(21): 48-9.
- [5] 邵艳, 浦锦宝. HPLC 法测定小柴胡颗粒中柴胡皂苷 a、d 的含量 [J]. 中国中医药科技, 2010, 17(4): 334-5.

(收稿日期: 2011-01-21)