

HPLC 测定 4 种川产柴胡地上 与地下部分柴胡皂苷 a, c, d 的含量

闫婕, 卫莹芳*, 古锐, 康敏

(成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 成都 611137)

[摘要] 目的: 测定川产柴胡不同品种、不同药用部位中柴胡皂苷 a, c, d 的含量。方法: 采用 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水, 梯度洗脱, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 210 nm, 柱温 30 ℃。结果: 柴胡皂苷 a, c, d 分别在 0.753 ~ 22.590, 0.461 ~ 13.830, 0.726 ~ 21.780 μg 与峰面积呈良好的线性关系, 平均加样回收率分别为 100.83%, 99.96%, 101.12%。结论: 不同品种、不同药用部位柴胡皂苷含量差异较大, 建议川产柴胡地上部分与地下部分分别入药。

[关键词] 川产柴胡; 柴胡皂苷; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0073-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130073

Content Determination of Saikosaponin a, c, d in Overground and Underground Part of 4 Species of Bupleurum Radix from Sichuan by HPLC

YAN Jie, WEI Ying-fang*, GU Rui, KANG Min

(The Ministry of Education Key Laboratory of Standardization of Chinese Crude Drug, Pharmacy School, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of saikosaponin a, c, d in Bupleurum Radix from Sichuan Province by HPLC. **Method:** The samples were separated by a Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) using acetonitrile-water gradient system as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, and the detection wavelength for fingerprinting was 210 nm with 30 ℃ for column temperature. **Result:** There were well linear relationship for saikosaponin a, c, d in range of 0.753-22.590, 0.461-13.830, 0.726-21.780 μg, and average recovery rates for them were 100.83%, 99.96%, 101.12%. **Conclusion:** There is a great difference in the content of saikosaponin in different varieties and parts of Bupleurum. We suggest that the overground and underground part should be respectively.

[Key words] Bupleurum plant from Sichuan; saikosaponin; HPLC

柴胡为常用中药, 据调查, 除《中国药典》记载的柴胡品种外, 柴胡属的 20 余种植物在我国不同地区均作为习用品入药^[1]。

《四川省中药材标准》2010 年版收录的“竹叶柴

胡”为竹叶柴胡、马尾柴胡、马尔康柴胡的干燥全草^[2], 是荷花池中药材市场柴胡的主流品种。其中竹叶柴胡多为栽培, 马尔康柴胡和马尾柴胡均为野生, 产自四川西北部, 以马尔康柴胡质量为优。另有汶川柴胡等亦在产地做柴胡习用。

川产“竹叶柴胡”药用部位为全草, 地上部分价格仅为北柴胡价格的二十分之一, 在四川广泛使用。其与《中国药典》记载柴胡品种不同, 药用部位亦不同, 但所载功能与主治却和药典记载柴胡基本一致, 其科学性亟待验证。

柴胡皂苷是柴胡保肝、解热、抗炎、抗癌等疗效

[收稿日期] 20140122(020)

[第一作者] 闫婕, 博士, 从事中药品种、质量及资源研究, Tel: 15882233271, E-mail: yanjie9@126.com

[通讯作者] * 卫莹芳, 教授、博士生导师, 从事中药品种、质量及资源研究, Tel: 13880367509, E-mail: wyfang6@163.com

的主要活性成分,本文分别测定川产4种柴胡地下与地上部分中柴胡皂苷 a, c, d 的含量,并与药典品种进行对比研究,为后续川产“竹叶柴胡”的合理利用提供科学依据,保证临床用药安全、有效。

1 材料

1.1 药材 20批药材(自采或购买商品药材),由成都中医药大学中药鉴定教研室卫莹芳教授鉴定为伞形科植物竹叶柴胡 *Bupleurum marginatum* Wall. ex DC.、马尾柴胡 *B. microcephalum* Diels.、马尔康柴胡 *B. malconense* Shan et Y. Li、汶川柴胡 *B. wenchuanense* Shan et Y. Li 的干燥全草及柴胡 *B. chinense* DC. 的干燥根。

1.2 试剂 柴胡皂苷 a(MUST-13101014)、柴胡皂苷 c(MUST-12101013)、柴胡皂苷 d 对照品(MUST-13101208),均购自成都曼斯特生物科技有限公司。乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

1.3 仪器 Agilent 1260 系列高效液相色谱仪,LIBROR AEG-45S 型 1/10 万电子天平(日本岛津)。

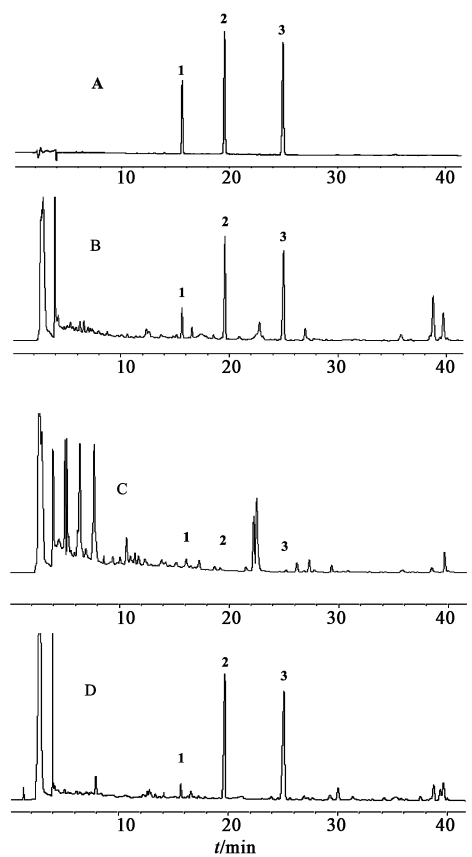
2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~50 min, 25%~90% A; 50~55 min, 90% A),检测波长 210 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,地下部分样品(1~13号)进样量 10 μL,地上部分样品(14~19号)进样量 20 μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取柴胡皂苷 a 7.53 mg、柴胡皂苷 c 4.61 mg 和柴胡皂苷 d 7.26 mg,加甲醇溶解并定容至 10 mL,制备成含柴胡皂苷 a, c, d 分别为 0.753, 0.461, 0.726 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取样品粉末(过4号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入含 5% 氨水的甲醇溶液 25 mL,密塞,30 °C 水温超声处理(功率 200 W,频率 40 kHz) 30 min,滤过,甲醇 20 mL 分 2 次洗涤容器及药渣,洗液与滤液合并,回收溶剂至干。残渣加甲醇溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 1, 5, 10, 15, 20, 30 μL 注入液相色谱仪,得进样量 X(μg)与峰面积 Y 的线性方程。结果表明,柴胡皂苷 a, c, d 分别在 0.753~22.590, 0.461~13.830, 0.726~21.780 μg 与峰面积呈良好的线性关系,回归方程分别为 Y_a = 242.35X + 12.928 (r = 0.9997); Y_c = 217.01X + 7.5867 (r = 0.9998); Y_d = 276.91



A. 对照品; B. 马尔康柴胡地下部分;
C. 马尔康柴胡地上部分; D. 柴胡(根);
1. 柴胡皂苷 c; 2. 柴胡皂苷 a; 3. 柴胡皂苷 d

图1 柴胡样品 HPLC

X + 19.924 (r = 0.9998)。

2.5 精密度考察 取 2 号供试品约 0.5 g,按 2.3 项下方法制备,2.1 项下色谱条件测定,连续进样 6 次,得柴胡皂苷 a, c, d 峰面积的 RSD 分别为 0.62%, 0.71%, 0.68%,表明本方法精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,室温密闭放置,分别在制备后 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 测定,记录峰面积。柴胡皂苷 a, c, d 峰面积的 RSD 分别为 0.84%, 1.06%, 0.97%。结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一样品粉末 6 份,按 2.3 项下方法制备,2.1 项下色谱条件测定,测的柴胡皂苷 a, c, d 的峰面积 RSD 分别为 0.88%, 1.21%, 0.95%,表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 6 份,每份约 0.25 g,分别精密加入一定量的柴胡皂苷 a, c, d 对照品,按 2.3 项下方法制备,2.1 项下色谱条件测定,结果见表 1。

2.9 样品含量测定 取各样品药材粉末约 0.5 g

表1 柴胡皂苷a,c,d加样回收率

成分	样品中量	加入量	测得量	回收率	平均值	RSD
	/mg	/mg	/mg	/%	/%	/%
柴胡皂苷 a	2.312 9	2.313 7	4.678 4	101.12	100.83	1.08
	2.315 6	2.313 7	4.667 7	100.83		
	2.314 7	2.313 7	4.564 1	98.61		
	2.312 0	2.313 7	4.730 7	102.27		
	2.316 7	2.313 7	4.794 8	103.55		
	2.311 0	2.313 7	4.619 6	99.89		
柴胡皂苷 c	0.930 2	0.931 0	1.851 3	99.47	99.96	1.06
	0.931 3	0.931 0	1.838 1	98.70		
	0.930 9	0.931 0	1.872 1	100.55		
	0.929 8	0.931 0	1.848 9	99.36		
	0.931 7	0.931 0	1.894 9	101.73		
	0.929 4	0.931 0	1.858 9	99.92		
柴胡皂苷 d	2.086 6	2.085 6	4.262 7	102.17	101.12	1.12
	2.089 1	2.085 6	4.173 0	99.96		
	2.088 3	2.085 6	4.284 1	102.64		
	2.085 8	2.085 6	4.217 7	101.11		
	2.0899	2.0856	4.2160	100.97		
	2.0850	2.0856	4.1660	99.89		

(各2份),精密称定,按2.3项下方法制备,2.1项下色谱条件测定,以干燥品计算柴胡皂苷a,c,d的含量,结果见表2。

3 讨论

柴胡品种不同,对柴胡皂苷含量的影响较大。就根而言,北柴胡含量最高,川产柴胡中柴胡皂苷a,d的总量由高到低分别为汶川柴胡>马尔康柴胡>竹叶柴胡>马尾柴胡,马尾柴胡含量最低,地下部分两种皂苷总量最低者仅为0.27%,低于2010年版《中国药典》不得少于0.30%的要求。

药用部位不同,柴胡皂苷的含量差异较大,地下部分皂苷含量均远远高于地上部分。地下部分12个样品中有11个样品符合药典柴胡皂苷a,d总量不得低于0.30%的规定^[4],其中含量最高的是柴胡和藏柴胡,含量可达4.10%;地上部分6个样品中,仅汶川柴胡两种皂苷含量可达0.31%,其余均不符合药典柴胡项下的规定。

川产“竹叶柴胡”以全草入药,其药效物质基础与2010年版《中国药典》所载柴胡(根)有所不同,功效应该有差异,其功效如何,亟待进行深入研究。本课题组另有研究表明,川产“竹叶柴胡”地上部分主要含有黄酮类化合物,其药理作用与根也存在较大差异,建议地上、地下部分分别入药。

表2 柴胡样品地上部分与地下部分中柴胡皂苷c,a,d的含量测定(n=2)

No.	名称	药用部位	产地	采集时间	类型	质量分数/%				
						c	a	d	c+a+d	a+d
1	马尔康柴胡	地下部分	汶川县威州镇	2013-09	自采	0.56	0.58	0.55	1.68	1.13
2	马尔康柴胡	地下部分	马尔康县梭磨乡	2013-07	自采	0.37	0.92	0.83	2.12	1.75
3	马尔康柴胡	地下部分	茂县石大关乡	2013-07	自采	0.45	0.61	0.83	1.90	1.45
4	马尔康柴胡	地下部分	汶川县	2013-12	商品	0.50	0.96	1.01	2.47	1.97
5	马尔康柴胡	地下部分	九寨沟县	2013-12	商品	0.20	0.93	0.61	1.74	1.54
6	马尾柴胡	地下部分	汶川县威州镇	2013-09	自采	0.20	0.17	0.21	0.58	0.38
7	马尾柴胡	地下部分	九寨沟县	2013-12	商品	0.18	0.22	0.23	0.63	0.45
8	马尾柴胡	地下部分	甘肃	2013-12	商品	0.24	0.16	0.11	0.52	0.27
9	竹叶柴胡	地下部分	四川(栽培)	2013-12	商品	0.25	0.45	0.38	1.08	0.83
10	汶川柴胡	地下部分	汶川县威州镇	2013-09	自采	0.75	0.74	1.80	3.28	2.54
11	柴胡	根	河北(药店)	2013-05	商品	0.39	0.53	0.63	1.54	1.16
12	柴胡	根	河北(医院药房)	2013-05	商品	0.31	2.08	2.02	4.41	4.10
13	藏柴胡	根	西藏	2013-12	商品	0.87	2.17	1.94	4.97	4.10
14	马尔康柴胡	地上部分	汶川县威州镇	2013-09	自采	0.21	0.09	0.08	0.37	0.17
15	马尔康柴胡	地上部分	马尔康县梭磨乡	2013-07	自采	-	0.04	-	0.04	0.03
16	马尔康柴胡	地上部分	茂县石大关乡	2013-07	自采	0.11	0.10	0.05	0.26	0.15
17	马尾柴胡	地上部分	汶川县威州镇	2013-09	自采	0.10	0.12	0.04	0.26	0.16
18	汶川柴胡	地上部分	汶川县威州镇	2013-09	自采	0.12	0.20	0.11	0.43	0.31
19	竹叶柴胡	地上部分	四川(栽培)	2013-12	商品	-	0.04	0.05	0.09	0.09
20	竹叶柴胡	地上部分	山西(栽培)	2013-12	商品	-	0.05	0.05	0.10	0.10

注:“-”为未检出。藏柴胡未鉴定基原,据报道可能为小叶黑柴胡。

HPLC同时测定密蒙花中毛蕊花苷、蒙花苷的含量

朱露^{1,2}, 雷鹏^{1,2*}, 刘海涛¹, 谭润雅^{1,2}, 黄琪¹

(1. 中南大学湘雅医院药剂科, 长沙 410008; 2. 中南大学药学院, 长沙 410013)

[摘要] 目的: 建立反相高效液相色谱法同时测定密蒙花中毛蕊花苷、蒙花苷的含量。方法: 采用 Promosil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸(B)水溶液, 梯度洗脱(0~10 min, 20% A; 10~20 min, 20%~40% A; 30 min, 60% A), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 327 nm, 柱温 25 °C。结果: 密蒙花中毛蕊花苷、蒙花苷进样量分别在 0.079 5~1.272 0 μg ($r=0.999 6$), 0.051 6~0.412 8 μg ($r=1.000 0$) 与峰面积呈良好的线性关系。平均加样回收率分别为 100.8%, 103.1%; RSD 分别为 2.2%, 1.8%。结论: 该方法简便、准确、可靠, 为密蒙花的质量控制提供一定的依据。

[关键词] 密蒙花; 毛蕊花苷; 蒙花苷; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0076-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130076

Simultaneous Determination of Acteoside and Linarin in Flos Buddlejae by RP-HPLC

ZHU Lu^{1,2}, LEI Peng^{1,2*}, LIU Hai-tao¹, TAN Run-ya^{1,2}, HUANG Qi¹

(1. Department of Pharmacy, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China;

2. College of Pharmacy, Central South University, Changsha 410013, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a RP-HPLC method for simultaneous determination of acteoside and linarin in Flos Buddlejae. **Method:** The analysis was performed on Promosil C₁₈ reversed-phase analytical column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile (A) -0.1% phosphoric acid solution (B) with gradient elution (0-10 min, 20% A; 10-20 min, 20%-40% A; 30 min, 60% A), the column temperature was 25 °C, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detecting wavelength was 327 nm. **Result:** Acteoside and linarin showed good linearity in the range of 0.079 5-1.272 0 μg ($r=0.999 6$) and 0.051 6-0.412 8 μg ($r=1.000 0$); the average recovery was 100.8%, 103.1%, respectively and RSD was 2.2%, 1.8%, respectively. **Conclusion:** This established method is simple, rapid, reliable and can be used to evaluate the quality of Flos Buddlejae.

[Key words] Flos Buddlejae; acteoside; linarin; RP-HPLC

[收稿日期] 20131115(004)

[基金项目] 湖南省中医药管理局科研计划项目(2010036)

[第一作者] 朱露, 硕士生, 从事中药制剂及质量控制的研究, Tel: 13787299362, E-mail: WSz19722@163.com

[通讯作者] * 雷鹏, 副教授, 硕士生导师, 从事中药新药研发及中药质量控制研究, Tel: 0731-84327584, E-mail: lp7222003@163.com

[参考文献]

- [1] 潘胜利, 顺庆生, 柏巧明, 等. 中国药用柴胡原色图志 [M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2002: 09.
- [2] 四川省食品药品监督管理局. 四川省中药材标准 [M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2010: 250.

- [3] 熊哈晖, 蔡光明, 黄鹤慧, 等. 藏柴胡地上部分有效成分提取工艺的研究 [J]. 中南药学, 2007, 5(3): 214.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 263.

[责任编辑 顾雪竹]