

HPLC 测定三峡库区紫花大叶柴胡中柴胡皂苷 a 含量

易为丹*, 方应权

(重庆三峡中药研究所, 重庆 404020)

[摘要] 目的: 建立紫花大叶柴胡柴胡皂苷 a 的含量测定方法。方法: 色谱条件 Phenomenex luna C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以甲醇-水 (74:26) 为流动相, 流速 0.9 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 检测波长 200 nm。结果: 柴胡皂苷 a 进样量在 0.11 ~ 4.4 μg 与峰面积线性关系良好 ($r = 0.9999$)。柴胡皂苷 a 平均回收率为 97.42%, RSD 1.42%。结论: 紫花大叶柴胡中柴胡皂苷 a 的 HPLC 梯度洗脱法灵敏、准确, 专属性强, 重复性好。

[关键词] 紫花大叶柴胡; HPLC; 柴胡皂苷 a

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0071-03

Determination of saikosaponin a of *Bupleurum longiradiatum* var. *porphyranthum* from the Three Gorges Reservoir Area by HPLC

YI Wei-dan*, FANG Ying-quan

(Chongqing Three Gorges Institute of Chinese Meteria Medica, Chongqing 404020, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the determination saikosaponin a from *Bupleurum longiradiatum* var. *porphyranthum*. **Method:** HPLC conditions: Phenomenex luna C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with methanol-water (74:26) as mobile phase; flow rate was 0.9 mL·min⁻¹; column temperature was set at 35 °C, and the detection wavelength was at 200 nm. **Result:** Saikosaponin a was linear in the range of 0.11-4.4 μg ($r = 0.9999$). The average recovery was 97.42% with RSD of 1.42%. **Conclusion:** HPLC gradient elution method for determination of saikosaponin a from *B. longiradiatum* var. *porphyranthum* is sensitive, accurate, specific, and reproducible.

[Key words] *Bupleurum longiradiatum* var. *porphyranthum*; HPLC; saikosaponin a

紫花大叶柴胡为伞形科柴胡属多年生草本植物, 为区域民间用药, 地方使用较为广泛, 疗效较为显著, 具有发表祛风、清肝利胆、清心火、通经之功效, 主治感冒、虚劳骨蒸、月经不调、肝气不舒、黄疸等症^[1-2]。目前已知该药材根部主要含有柴胡皂苷 a, c, d, 此外根中尚含有挥发油、植物甾醇和有机酸等, 茎叶、地上部分经分析尚含有黄酮类化合物, 如槲皮素、芸香苷、水仙苷、异鼠李素等成分^[3-4]。紫花大叶柴胡作为地方草药, 目前尚缺乏系统研究, 也

无地方标准可供参考。鉴于此, 本实验主要通过检测紫花大叶柴胡地上部分柴胡皂苷 a 含量, 建立紫花大叶柴胡质量标准的研究方法, 为紫花大叶柴胡的进一步利用和开发提供依据。

1 材料

1.1 药材^[1] 2011 年 8 月中旬采集于重庆巫溪海拔约 1 500 m 的红池坝山取其带根全草, 经过付绍智教授鉴定为伞形科柴胡属紫花大叶柴胡 *Bupleurum longiradiatum* var. *porphyranthum*。

1.2 仪器 Agilent 1100 型系列高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技有限公司), 8453 型紫外-可见分光光度计 (美国安捷伦科技有限公司), SB 3200 型超声波提取器 (上海能信超声有限公司), Millipore simplicity-185 型超纯水器 (美国密里博公司), BP 211 D 型电子分析天平 (德国赛多利斯公司)。

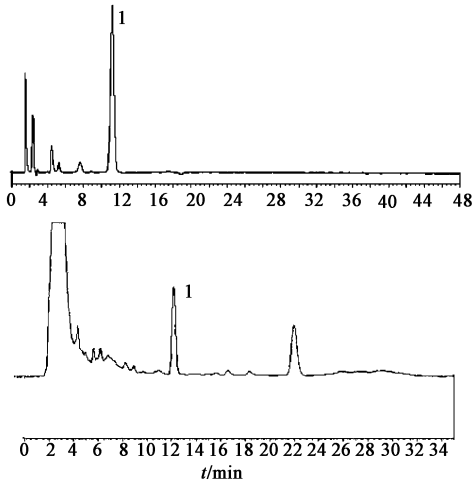
[收稿日期] 20120107(004)

[基金项目] 重庆科技重大专项计划 (CSTC, 2010AC5171)

[通讯作者] * 易为丹, 硕士, 讲师, 从事中医中药的教学和临床研究, Tel: 15923843598, E-mail: 479256923@qq.com

2 紫花大叶柴胡中柴胡皂苷 a 测定方法^[5-6]

色谱条件 Phenomenex luna C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以甲醇-水 (74:26) 为流动相, 流速 0.9 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 检测波长 200 nm, 进样量 20 μL, 检测时间 30 min。结果见图 1。



1. 柴胡皂苷

图 1 紫花大叶柴胡液相色谱

2.2 对照品溶液制备 精密称取柴胡皂苷 a 对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 甲醇含柴胡皂 a 0.22 mg 的溶液, 即得。

2.3 供试液制备 取柴胡粉末约 1.5 g, (平行 3 份), 精密称定, 加入甲醇-氨水 (95:5) 100 mL, 密塞, 称定, 索氏提取 4 h, 滤过, 回收溶液至干, 残渣加甲醇使溶解, 定容至 10 mL, 即得。

2.4 标准曲线绘制 分别取柴胡皂苷 a 对照品储备液分别进样 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 μL, 按上述色谱条件测定, 一峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标作标准曲线, 得回归方程如下, 柴胡皂苷 a $Y = 784 476 X + 16 064 (r = 0.999 7)$, 说明柴胡皂苷 a 进样量在 0.11 ~ 4.4 μg 与峰面积线性关系良好。

2.5 精密度试验 取柴胡皂苷 a 对照品溶液, 进行测定, 重复进样 6 次, 记录其峰面积。结果柴胡皂苷 a 的 RSD 0.71%, 说明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批号的柴胡药材样品 6 份, 依法进行测定, 记录其含量, 其平均含量 0.139 8 mg·g⁻¹。结果柴胡皂苷 a 的 RSD 0.68%, 说明仪器重复性良好。

2.7 稳定性试验 取同一份柴胡药材供试品溶液每 3 h 进样 1 次, 进样 5 次, 记录其峰面积。结果柴胡皂苷 a 的 RSD 0.36%, 说明供试品溶液在室温下放置 12 h 稳定。

2.8 加样回收率试验^[7-8] 精密称取已知含量的柴胡药材样品 9 份, 精密称定, 分别按其含量的 80%, 100%, 120% 加入柴胡皂苷 a 对照品适量, 按 2.1 色谱条件和 2.3 项下制备供试液方法进行测定, 记录其峰面积。柴胡皂苷 a 平均回收率为 99.8%, RSD 0.96% < 3.00%。

表 1 柴胡皂苷 a 加样回收率试验

质量分数 /%	称样量 /g	样品中含量/mg	加入柴量 /mg	测出量 /mg	回收率 /%	均值 /%	RSD /%
80	0.755 4	0.108 9	0.087 2	0.195 1	98.85	99.8	0.96
	0.755 3	0.108 8	0.089 0	0.196 0	97.98		
	0.756 9	0.109 1	0.088 3	0.198 0	100.60		
100	0.753 6	0.108 7	0.109 0	0.216 0	98.44		
	0.758 4	0.109 0	0.106 8	0.215 0	98.50		
	0.749 5	0.103 1	0.103 0	0.205 2	100.21		
120	0.753 5	0.108 6	0.140 3	0.249 3	100.30		
	0.757 0	0.109 0	0.141 5	0.251 0	100.35		
	0.755 6	0.108 9	0.141 3	0.248 0	98.45		

2.9 样品测定 取 3 批紫花大叶柴胡地上部分药材样品, 按供试品制备方法和前述色谱条件测定, 结果柴胡皂苷 a 含量分别为 0.1424, 0.1459, 0.1444 mg·g⁻¹。

3 讨论

定量检测 (HPLC) 中, 柴胡皂苷 a 峰形较好, 含量较高; 据文献报道紫花大叶柴胡中含有一定量的柴胡皂苷 d, 另外紫花大叶柴胡地上部分柴胡皂苷 a 含量远小于根部, 和其他文献报道也有所差异。柴胡属植物绝大多数药用部位为根部, 故采收季节为春、秋二季, 此时柴胡皂苷 a 等成分富集于根部, 故含量相对较高。本实验所用紫花大叶柴胡, 因考虑到当地民间习用带根全草入药, 选择夏季植物生长旺盛时采集, 此时由于地上部分生长旺盛, 植物体内组分分布产生一定变化, 同时产地提取工艺的不同, 也可能对含量造成一定影响。

[参考文献]

[1] 陈绍成. 三峡库区柴胡原植物调查及药材鉴定[J]. 中华临床防治医学杂志, 2007, 2(4): 54.

[2] 谢董浩, 蔡宝昌, 安镒强. 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): 63.

[3] 薛燕, 白金叶. 柴胡解热成分的比较研究[J]. 中药药理与临床, 2008, 19(1): 116.

[4] 王胜春, 赵慧乎. 柴胡的清热与抗病毒作用[J]. 时珍国医国药, 2007, 9(5): 4187.

风芍六君子汤水煎液化学成分研究

贺钢民¹, 彭腾^{1*}, 李柏群², 邓赞¹, 杨菁¹, 袁海梅¹, 黎豫川¹

(1. 成都中医药大学药学院教育部中药材标准化重点实验室、中药资源系统研究与开发利用
省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137; 2. 重庆三峡中心医院药剂科, 重庆 万州 404000)

[摘要] 目的: 揭示风芍六君子汤水煎液活性成分的化学物质基础, 进行综合开发利用, 对其进行系统的化学成分研究。
方法: 按照传统煎煮方法提取, 反复运用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、D101 大孔吸附树脂、ODS-C₁₈ 进行分离, 并通过波谱分析进行结构鉴定。
结果: 分离并鉴定了 13 个化合物, 分别为 β -谷甾醇(β -sitoster, **1**)、棕榈酸(palmitic acid, **2**)、isomultiflorenol(**3**)、正三十醇(triacontanol, **4**)、补骨脂素(psoralen, **5**)、白术内酯Ⅲ(atractylenolid Ⅲ, **6**)、对羟基苯甲醛(*P*-hydroxybenzaldehyde, **7**)、没食子酸(gallic acid, **8**)、苯甲酸(benzoic acid, **9**)、蜜桔黄素(nobiletin, **10**)、甜橙素(sinensetin, **11**)、桔皮晶(tangeritin, **12**)、芍药新苷(lactiflorin, **13**)。
结论: 13 个化合物均首次从该方中分离得到, 没食子酸可能是该复方主要活性成分之一。

[关键词] 风芍六君子汤; 水煎液; 化学成分; 没食子酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0073-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121107.1337.004.html>

[网络出版时间] 2012-11-7 13:37

Study on Chemical Constituents in Water Decoction of Fengshao Liujunzi

HE Gang-min¹, PENG Teng^{1*}, LI Bo-qun², DENG Yun¹, YANG Jing¹, YUAN Hai-mei¹, LI Yu-chuan¹

(1. Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education
Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, State Key Laboratory Breeding Base
of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Chengdu 611137, China;
2. Pharmacy Department of Sanxia Central Hospital in Wangzhou, Wanzhou 404000, China)

[Abstract] **Objective:** To reveal the chemical material foundation of active components in water decoction of Fengshao Liujunzi. Moreover, in order to develop and utilize them comprehensively, this paper studies the chemical constituents systematically. **Method:** According to extraction of the traditional decocting method, the components were isolated by silica gel column, Sephadex LH-20, macroporous adsorption resin D101, ODS-C₁₈ repeatedly, and compounds structures were identified by spectral analysis. **Result:** Thirteen compounds were

[收稿日期] 20120801(004)

[基金项目] 重庆市科委重点项目(CSTC2010AC5095)

[第一作者] 贺钢民, 在读硕士, E-mail: hegangmin1985@sina.com

[通讯作者] * 彭腾, 副教授, 从事中药及中药复方活性成分的筛选及物质基础研究, Tel: 13880376673, E-mail: pengteng1973@sina.com

- [5] 单人骅, 李颖. 植物分类学报[J]. 1974, 12(3): 270. 2006, 12(5): 67.
- [6] 付克, 王建宫, 闫广利. 高效液相色谱蒸发光散射测定柴芩清肝方提取物中柴胡皂苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 57. [8] 王健, 王博, 滕利荣, 等. 高效液相色谱测定克郁舒神颗粒中柴胡皂苷 a 含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(5): 7.
- [7] 王丽娜, 李云涛, 党长萍. HPLC 法测定加味四逆颗粒中柴胡皂苷 a 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, [责任编辑 顾雪竹]