

[5] 何怀冰,王蓓,陈筠,等. 荧光光谱法测定家兔中丹参素血浓度及其药代动力学参数[J]. 药学通报, 1983, 18(2): 48-49.

[6] 赵福芹,王爱莲,王林. 中药制剂中丹参素的家兔体内分布研究[J]. 中国药理学杂志, 1994, 29(5): 291-293.

HPLC法测定不同品种柴胡中的柴胡皂苷 a c d的含量

茅仁刚¹,林东昊¹,王智华²,洪筱坤²,潘胜利^{3*}

(1. 上海师范大学新康制药厂,上海 200234; 2. 上海中医药大学中药学院,上海 200032;

3. 复旦大学药学院,上海 200032)

摘要:目的 考察不同品种柴胡中柴胡皂苷 a c d的含量,以期扩大柴胡药用品种的范围。方法 采用 RP-HPLC法,使用 LUNA C₁₈柱,乙腈-水为流动相进行梯度洗脱,检测波长为 210 nm,以柴胡皂苷 a c d含量为指标进行比较。结果 不同品种柴胡中的柴胡皂苷 a c d含量差异悬殊,其中云南会泽产多枝柴胡中的含量最高。结论 研究所建立的方法适合不同品种柴胡中柴胡皂苷 a c d的定量分析,并且结果准确可靠。

关键词: 柴胡;品种;柴胡皂苷 a c d; HPLC法

中图分类号: R282. 2; R286. 02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)05-0412-03

Quantitative analysis of saikosaponin a, c, d in different species of *Radix Bupleuri* by HPLC

MAO Ren-gang¹, LIN Dong-hao¹, WANG Zhi-hua², HONG Xiao-kun², PAN Sheng-li³

(1. Xinkang Pharmaceutical Factory, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China;

2. College of TCM, Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China;

3. Pharmaceutical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract **Object** To observe the content of saikosaponin a, c, d (ss a, ss c, ss d) in different species of *Radix Bupleuri* and exploit the medical use of them. **Methods** An optimal RP-HPLC method was set up. The samples were separated by LUNA C₁₈ column with acetonitrile-water as mobile phase in a gradient elution, and detected with UV 210 nm. Comparison was done with the index of ss a, ss c, ss d. **Results** The amount of ss a, ss c, ss d in a variety of species was remarkably different. Among those, the content of *Bupleurum polyclonum* Y. Li et S. L. Pan yielded in Huize, Yunnan Province was the highest. **Conclusion** The HPLC method is suitable and accurate for the quantitative analysis of ss a, ss c, ss d in different species of *Radix Bupleuri*.

Key words *Radix Bupleuri*; species; saikosaponin a, c, d (ss a, ss c, ss d); HPLC method

柴胡是伞形科(Umbelliferae)柴胡属(*Bupleurum* L.)植物的干燥根,具有解表和里、疏肝解郁、升举阳气之功效,为中医治疗少阳证的首选要药。《中华人民共和国药典》2000年版规定北柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 和狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonifolium* Willd. (习称南柴胡、红柴胡)为正品。然而由于我国柴胡属植物品种众多,除海南外,全国各地均有分布^[1],各地对柴胡的用药品种意见不一,加之近年柴胡出口转畅,内需增加,市场需求量较大,而野生资源量减少,人工栽培生产周期长、产量低,因此根据当地所产柴胡而作为习惯用药的较为普遍,各地供以药用的除南、北柴胡外还有同属 20

余个品种^[2]。为考察不同品种柴胡的质量,本研究采用 RP-HPLC法对 23种柴胡样品中柴胡皂苷 a c d (saikosaponin a c d,简称 ss a ss c ss d)进行了定量分析。

1 仪器和材料

1.1 仪器、药品: PERKIN ELMER 高效液相色谱仪(series 200 LC泵、DAD 235 C型检测器) 甲醇、乙腈(均为国产色谱纯),氨水(国产分析纯),柴胡皂苷 a c d对照品由上海医药工业研究院提供。

1.2 实验材料:不同品种柴胡共 23个样品,由复旦大学药学院潘胜利教授鉴定和提供。

2 实验方法及结果

* 收稿日期: 2001-08-07

作者简介: 茅仁刚(1968-)男,上海人,工程师,硕士,现任上海师范大学新康制药厂技术副厂长,主要从事中药、天然产物活性成分和制剂研究。 Tel (021) 64322290 E-mail rgmad@eastday.com

2.1 色谱条件: 色谱柱 LUNA C₁₈ (2)柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 室温; UV 检测波长: 210 nm; 灵敏度: 0.2 AUFS; 流动相: 乙腈-水; 流速: 1 mL/min; 洗脱梯度: 见表 1

表 1 流动相的洗脱梯度

时间 (min)	1	10	15	30	40	55
乙腈 (%)	10	25	30	40	60	80
水 (%)	90	75	70	60	40	20

2.2 样品溶液的配制: 取已干燥的柴胡样品适量, 粉碎, 过 20 目筛。准确称取各样品粗粉 0.25 g, 置 10 mL 容量瓶中, 加 5% 氨水-甲醇溶液 8 mL, 润湿 30 min, 定容至 10 mL, 密闭, 超声提取 1 h, 离心, 取上清液 8 mL, 挥干, 加适量甲醇溶解, 移入 2 mL 容量瓶内, 定容至刻度。临用前过 0.45 μm 滤膜, 作样品溶液。

2.3 标准曲线及线性范围: 准确称取柴胡皂苷 a、d 对照品各约 5 mg, 分别置于 5 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度。混匀后分别进样 1, 5, 10, 15, 20 μL, 按上述色谱条件作 HPLC 分析。以峰面积对进样量进行回归处理, 得柴胡皂苷 a、d 的线性回归方程及线性范围, 见表 2

2.4 重复性试验: 准确称取 1 号样品粗粉约 0.25 g, 表 3 不同品种柴胡属植物 ss a ss c ss d 含量测定结果

表 2 柴胡皂苷的线性方法

名称	线性方程	r	线性范围 (μg)
ss a	$Y = 2.037 \times 10^4 + 1.155 \times 10^6 X$	0.999 9	1.02~20.40
ss b	$Y = 4.764 \times 10^4 + 9.434 \times 10^6 X$	0.999 2	1.03~20.60
ss c	$Y = 3.403 \times 10^4 + 1.352 \times 10^6 X$	0.999 2	1.05~21.00

按样品溶液制备方法进行提取, 按上述色谱条件进样 20 μL, 结果样品中柴胡皂苷 a、d 含量的 RSD 分别为 2.8%、1.1%、2.1% (n=5)

2.5 精密度试验: 将柴胡皂苷混标溶液按同样色谱条件进行 HPLC 分析, 连续 5 次, 每次 20 μL, 柴胡皂苷 a、d 含量的 RSD 分别为 1.6%、2.0%、1.2%。

2.6 回收率试验: 准确称取 1 号样品粗粉约 0.15 g, 精密加入柴胡皂苷 a、d 混标溶液 1 mL, 一式 5 份, 按样品溶液制备方法进行提取, 以同样色谱条件分别进样 20 μL, 柴胡皂苷 a、d 的加样回收率分别为 93.2% (RSD=3.5%)、95.9% (RSD=1.7%)、95.6% (RSD=3.3%)。

2.7 含量测定: 结果见表 3, 对照品、样品图谱见图 1

3 讨论

3.1 由于柴胡皂苷 a、d 在提取过程中受酚类或酸

编号	样品	名称	产地	含量 (%)					
				ss a	ss c	ss d	ss(a+c+d)	ss(a+c+d)	ss(a+c+d)
1	北柴胡	<i>Bupleurum chinense</i> DC.	河北 石家庄	0.48	0.26	0.63	1.37	1.11	
2	狭叶柴胡	<i>B. scorzonerifolium</i> Willd.	天津	0.37	0.18	0.31	0.86	0.68	
3	银州柴胡	<i>B. yinchowense</i> Shan et Y. Li	宁夏 吴中	0.68	0.15	0.37	1.20	1.05	
4	线叶柴胡	<i>B. angustissimum</i> (Franch.) Kitagawa	内蒙古 包头	0.27	0.17	0.28	0.72	0.55	
5	多枝柴胡	<i>B. polyclonum</i> Y. Li et S. L. Pan	云南 会泽	3.66	0.82	2.96	7.44	6.62	
6	窄竹叶柴胡	<i>B. marginatum</i> Wall. ex DC. var. <i>stenophyllum</i> Shan et Y. Li	广西 柳州	0.75	0.13	0.64	1.52	1.39	
7	锥叶柴胡	<i>B. bicaule</i> Helm	内蒙古 呼伦贝尔盟	0.15	0.07	0.15	0.37	0.30	
8	小叶黑柴胡	<i>B. smithii</i> Wolff var. <i>parvifolium</i> Shan et Y. Li	宁夏 银川	0.20	0.11	0.32	0.63	0.52	
9	大叶柴胡	<i>B. longiradiatum</i> Turcz	吉林 通化	0.19	0.04	0.15	0.38	0.34	
10	黑柴胡	<i>B. smithii</i> Wolff	辽宁 沈阳	0.43	0.42	0.48	1.33	0.91	
11	阿尔泰柴胡	<i>B. krylovian</i> Schischk. ex Kryl.	新疆 乌鲁木齐	0.59	0.04	0.16	0.79	0.75	
12	四川柴胡	<i>B. sichuanense</i> S. L. Pan et Hsu	四川 汶川	1.08	0.19	1.06	2.33	2.14	
13	韭叶柴胡	<i>B. kumm ingense</i> Y. Li et S. L. Pan	云南 昆明	1.71	0.67	2.01	4.39	3.72	
14	泸西柴胡	<i>B. luxinese</i> Y. Li et S. L. Pan	云南 建水	0.64	0.53	0.58	1.75	1.22	
15	川滇柴胡	<i>B. candolle</i> Wall. Ex DC.	云南 会泽	-	-	-	-	-	
16	柴首	<i>B. chaishou</i> Shan et Sheh	四川 汶川	0.88	0.30	0.71	1.89	1.59	
17	空心柴胡	<i>B. longicaule</i> Wall. ex DC. var. <i>franchetii</i> de Boiss.	贵州 毕节	0.05	-	0.03	0.08	0.08	
18	汶川柴胡	<i>B. wenchuanese</i> Shan et Y. Li	四川 汶川	1.47	0.73	2.25	4.45	3.72	
19	丽江柴胡	<i>B. rockii</i> Wolff	云南 丽江	1.38	0.31	0.84	2.53	2.22	
20	细茎有柄柴胡	<i>B. petiolulatum</i> Franch. var. <i>tenerum</i> Shan et Y. Li	云南 丽江	1.09	0.38	0.88	2.35	1.97	
21	小柴胡	<i>B. hamiltonii</i> Balak	云南 昆明	0.11	0.02	0.08	0.21	0.19	
22	马尔康柴胡	<i>B. malconense</i> Shan et Y. Li	四川 汶川	0.52	0.18	0.51	1.21	1.03	
23	黄花鸭跖柴胡	<i>B. ommelynoideum</i> de Boiss. var. <i>flaviflorum</i> Shan et Y. Li	青海 湟中	0.13	0.19	0.15	0.47	0.28	

注: - 痕量

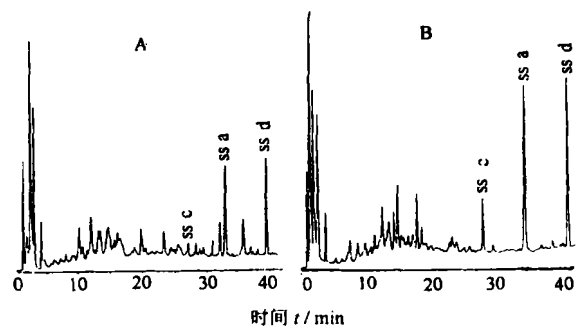


图 1 柴胡属植物北柴胡 (A) 和柴胡 (B) 的 HPLC 图谱

性成分的影响, 易使环氧醚键开环, 转化为柴胡皂苷 b_1 、 b_2 , 因而通常采用弱碱性溶剂提取原生柴胡皂苷 a 、 c 、 d 。本实验通过提取方法比较, 选择了 5% 氨水-甲醇溶液为提取溶剂, 超声提取 60 min 的提取方法。

3.2 由于柴胡皂苷 a 、 c 、 d 的极性差异较大, 且不同品种柴胡的化学组分差异很大, 用固定流动相进行洗脱时不能使全部样品的柴胡皂苷 a 、 c 、 d 得到良好

分离。因而本实验采用梯度洗脱, 在上述梯度条件下各样品中的 3 种皂苷成分得到了良好分离。

3.3 以柴胡皂苷 a 、 c 、 d 为检测指标进行含量测定结果表明: 不同品种的柴胡, 其柴胡皂苷含量差异悬殊, 以有效成分柴胡皂苷 a 、 d 含量之和计, 23 种柴胡的含量从痕量到 6.62%, 其中川滇柴胡、空心柴胡、小柴胡的含量极低, 其药用价值值得商榷; 而多枝柴胡、韭菜叶柴胡、汶川柴胡、丽江柴胡、四川柴胡的含量均明显高于 2000 年版《中华人民共和国药典》规定使用的南、北柴胡, 堪称为柴胡属植物中的上品, 其中多枝柴胡皂苷含量高达 6% 以上, 因此可考虑扩大柴胡药用品种的范围, 增加这些品种的栽培, 以满足市场需求。

参考文献:

- [1] 潘胜利, 李颖, 戴克敏. 云南省柴胡属药用植物的分类及其化学成分的研究 [J]. 上海第一医学院学报, 1984, 11(1): 1-13.
- [2] 潘胜利, 大桥裕. 中国柴胡属药用植物の種類と分布——中国药用柴胡の研究 (第 1 报) [J]. 药用植物研究, 1996, 19(1): 1-17.

汉中地区虎杖中白藜芦醇苷及苷元含量的测定

周建军, 张宏杰, 杨培君, 李会宁*

(陕西省资源生物重点实验室 陕西理工学院, 陕西 汉中 723000)

摘要: 目的 测定汉中地区虎杖中白藜芦醇苷及苷元的含量。方法 采用 HPLC 法直接测定, 色谱柱为 Eclipse XDB C₈ 柱, 流动相为乙腈-水, 流速为 1 mL/min, 检测波长为 303 nm。结果 虎杖中白藜芦醇苷的含量为 2.5%, 白藜芦醇的含量为 0.43%。结论 汉中地区虎杖中白藜芦醇的含量为首次报道, 白藜芦醇苷的含量高于文献报道的结果。

关键词: 虎杖; 汉中地区; 白藜芦醇苷; 白藜芦醇; HPLC

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)05-0414-03

Determination of resveratrol glucoside and resveratrol in radix and rhizome of *Polygonum cuspidatum* yielded in Hanzhong Region

ZHOU Jian-jun, ZHANG Hong-jie, YANG Pei-jun, LI Hui-ning

(Bioresources Key Laboratory of Shanxi Province, Shanxi Science and Engineering College, Hanzhong Shanxi 723000, China)

Abstract **Object** To determine the content of resveratrol glucoside and resveratrol in radix and rhizome of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. yielded in Hanzhong Region. **Methods** The HPLC method was used to assay resveratrol glucoside and resveratrol directly, using Eclipse XDB C₈ column and acetonitrile-water as the mobile phase, the UV detection wavelength was 303 nm, with a flow rate of 1 mL/min. **Results** The content of resveratrol glucoside was 2.5% and resveratrol was 0.43% in the radix and rhizome. **Conclusion** The content of resveratrol glucoside is higher than that in the former reference. The

* 收稿日期: 2001-08-14

基金项目: 陕西省教育厅专项科研基金资助 (01JK094)

作者简介: 周建军 (1953-), 男, 陕西城固县人, 副教授, 硕士, 1987 年获西安医科大学医学硕士学位, 现任陕西省资源生物重点实验室分析测试分室主任, 主要研究方向为秦巴山区生物资源开发利用, 已发表学术论文 20 余篇。 Tel: 0916-2641835 (H)