

## 不同产地北柴胡中柴胡皂苷的测定

谭玲玲<sup>1</sup>, 蔡霞<sup>2</sup>, 胡正海<sup>2\*</sup>

(1. 青岛农业大学生命科学院, 山东 青岛 266109; 2. 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069)

**摘要:**目的 测定不同产地柴胡中柴胡总皂苷及柴胡皂苷 a 的量。方法 采用可见分光光度法和高效液相色谱法。结果 不同产地北柴胡药材中的柴胡总皂苷和柴胡皂苷 a 的量差异较大, 且两者差异不一致。但其柴胡总皂苷的量各产地药材均在 1.3%~3.0%。结论 分析结果表明, 同一药材中柴胡总皂苷的量与柴胡皂苷 a 的量高低不一致未显示出相关性。为此, 在评价药材的质量时, 应以柴胡总皂苷量为主, 兼顾其柴胡皂苷 a 的量为宜。

**关键词:**北柴胡; 柴胡总皂苷; 柴胡皂苷 a**中图分类号:**R282.6**文献标识码:**A**文章编号:**0253-2670(2009)12-1993-03

北柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 隶属伞形科 (Umbelliferae) 柴胡属 (*Bupleurum* L.), 是一种多年生草本植物, 其干燥根为传统中药, 具解表和里、退热、疏肝解郁等功效<sup>[1]</sup>, 药用历史悠久。现代药理研究证明北柴胡具有解热、镇痛、镇静、抗炎、保肝利胆、抗菌、抗病毒及抗肿瘤等作用, 其主要有效成分柴胡皂苷具解热、镇痛、镇静、抗炎、抗变态反应、保肝等多种药理作用<sup>[2]</sup>。目前, 野生柴胡药材资源已近枯竭, 商品以栽培为主。由于各地栽培北柴胡的种源存在混淆, 有效成分的量差异悬殊, 因此需要对各产地柴胡的商品药材的品质进行评价。为此, 本实验对我国 16 个省(区)产的北柴胡药材中的柴胡皂苷的量进行了比较研究, 以期制订柴胡有效成分的量标准提供科学数据。

## 1 仪器、试剂和材料

1.1 仪器: AS3120A 型超声提取仪, FA1104 电子天平 (上海天平仪器厂), JA21002 电子天平, 752C 型紫外可见分光光度计, 美国安捷伦 Agilent 1100 高效液相色谱仪。

1.2 试剂: 柴胡皂苷 a (质量分数为 98.8%) 购于成都思科华生物技术有限公司; 乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其余所用试剂均为分析纯。

1.3 药材: 北柴胡药材采集于当地或购买于当地药房及药材市场, 药材来源见表 1。所有药材均由西北大学胡正海教授鉴定为正品。

## 2 方法与结果

### 2.1 柴胡总皂苷的测定方法

2.1.1 样品溶液的制备: 精密称取样品粉末各

3 g, 置 50 mL 三角瓶中, 加入 30 mL 甲醇溶液, 用超声提取仪超声波振荡 1 h, 抽滤。滤渣用 30 mL 甲醇溶液浸泡过夜, 超声波振荡 1 h, 抽滤。滤渣再用 30 mL 甲醇溶液超声振荡 1 h, 抽滤。合并 3 次滤液, 减压浓缩至近干, 加入甲醇定容于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 待用。

2.1.2 标准曲线的绘制: 精密称取柴胡皂苷 a 对照品 1 mg, 用甲醇溶解稀释定容于 1 mL 量瓶中。分别量取柴胡皂苷 a 对照品溶液 20、40、60、80、100  $\mu$ L, 在电热恒温水浴箱中于 50  $^{\circ}$ C 水浴蒸干。蒸干后加入 1% 对二甲氨基苯甲醛乙醇溶液 100  $\mu$ L, 70  $^{\circ}$ C 水浴中温热 10 min 取出。冷却后加入磷酸 4 mL, 于 70  $^{\circ}$ C 水浴中反应 30 min, 取出放置冷却 30 min。以 752C 型紫外可见分光光度计在 546 nm 处测定, 以吸光度为纵坐标, 以标准品质量为横坐标绘制标准曲线, 测得回归方程为:  $Y = 3.9626 X - 0.0293$ ,  $r = 0.9999$ 。线性范围为 20~100  $\mu$ g。

2.1.3 精密密度试验: 取同一供试品 (内蒙古产北柴胡根) 溶液 40  $\mu$ L, 按“标准曲线的绘制”项下的方法重复操作 5 次, 计算总皂苷的量。结果总皂苷的平均质量分数为 2.786%, RSD 为 2.35% ( $n=5$ )。

2.1.4 重现性试验: 取同一供试品 (浙江产北柴胡根) 样品 5 份, 每份 3 g, 精密称定, 按“样品溶液的制备”项下的方法制备样品溶液, 再按“标准曲线的绘制”项下的方法重复操作, 计算总皂苷的量。结果总皂苷的质量分数为 1.379%, RSD 为 2.82% ( $n=5$ )。

2.1.5 稳定性试验: 取同一供试品 (河北产北柴胡根) 溶液, 分别于制备后 0、2、4、6、8 h 测定, 结果总

收稿日期: 2009-02-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30770122)

作者简介: 谭玲玲 (1980—), 女, 山东省文登市人, 博士, 讲师, 主要从事结构植物学研究。

Tel: (0532) 86080640 E-mail: tanlingling80@163.com

\* 通讯作者 胡正海 E-mail: zhenghaihu@sina.com

皂苷的平均质量分数为 1.655%，RSD 为 1.66% (n=5)。

2.1.6 加样回收率试验:精密称取已知总皂苷量的样品(湖北产北柴胡根)5 份,准确加入等量的对照品适量,按“供试品溶液的制备”项下的方法制备样品溶液,分别进行测定,计算总皂苷的量,结果平均回收率为 98.5%,RSD 为 2.26% (n=5)。

2.1.7 样品溶液的测定:精密量取样品溶液 40  $\mu\text{L}$ ,按“标准曲线的绘制”项下的方法对样品溶液进行反应,在  $\lambda=546\text{ nm}$  处对样品溶液进行测定,测定结果见表 1。

### 2.2 柴胡皂苷 a 的测定方法

2.2.1 色谱条件:固定相为  $\text{C}_{18}$  化学键和硅胶柱 (250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相为甲醇-水 (67 : 33);体积流量:1 mL/min;柱温 25  $^{\circ}\text{C}$ ;检测波长为 208 nm;进样量为 5  $\mu\text{L}$ 。

2.2.2 样品溶液的制备:精密称取样品粉末各 1 g 于 250 mL 圆底烧瓶中,加入 5% 氨水-甲醇溶液 50 mL,称质量。80  $^{\circ}\text{C}$  水浴回流 1.5 h,放至室温,加甲醇补足损失的质量。室温下以转速 3 000 r/min 离心 10 min。精密移取上清液 25 mL,减压浓缩至近干。用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中。加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 标准曲线的绘制:用甲醇精密配制质量浓度分别为 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/mL 的柴胡皂苷 a 对照品溶液,分别吸入 5  $\mu\text{L}$  注入高效液相色谱仪进行测定,以峰面积为纵坐标,对照品质量浓度为横坐标绘制标准曲线,测得回归方程为: $Y=2\ 229.8 X+221.8$ , $r=0.998\ 7$ 。线性范围为 0.1~2.0  $\mu\text{g}$ 。

2.2.4 精密度试验:取柴胡皂苷 a 对照品溶液,在上述色谱条件下进行测定,连续进样 5 次,每次进样 5  $\mu\text{L}$ ,结果其峰面积的 RSD 为 0.238%。

2.2.5 重现性试验:取同一供试品(宁夏北柴胡药材)样品 5 份,每份 1 g,精密称定,按“样品溶液的制备”项下的方法制备样品溶液,按上述色谱条件进行测定,结果其质量分数的 RSD 为 2.495%。

2.2.6 稳定性试验:取同一供试品(山东北柴胡药材)溶液在室温下放置,分别在 0、2、4、6、8 h 按上述色谱条件进行测定,结果其峰面积 RSD 为 2.703%。

2.2.7 加样回收率试验:精密称取已知柴胡皂苷 a 量的样品(宁夏北柴胡药材)5 份,准确加入等量的对照品适量,按“样品溶液的制备”项下的方法制备样品溶液,按上述色谱条件进行测定,结果平均回收

率为 97.608%。RSD 为 1.287%。

2.2.8 样品溶液的测定:样品溶液过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜后,分别吸取制备好的不同供试品溶液 5  $\mu\text{L}$  注入高压液相色谱仪进行测定,依据标准曲线来换算样品中柴胡皂苷 a 的量。色谱图见图 1。柴胡皂苷 a 的测定结果见表 1。

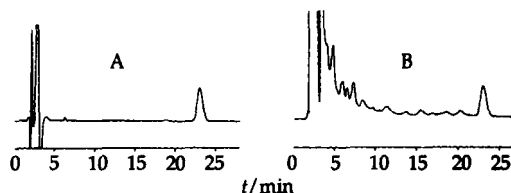


图 1 柴胡皂苷 a 对照品(A)和北柴胡药材样品(B) HPLC 图  
Fig. 1 HPLC Chromatograms of saikosaponin-a reference substance (A) and *Radix Bupleuri* (B)

表 1 不同产地北柴胡药材中柴胡总皂苷和柴胡皂苷 a 的量  
Table 1 Contents of total saikosaponin and saikosaponin-a in *Radix Bupleuri* from different habitats

产地	柴胡总皂苷/%	柴胡皂苷 a/%
辽宁	1.314	—
新疆	1.622	0.126
黑龙江	2.966	0.439
湖南	2.276	0.676
贵州	2.173	0.333
北京	1.485	0.142
河北	1.655	0.154
内蒙古	2.786	0.534
湖北	1.794	0.246
山西	1.782	0.589
陕西	2.532	0.676
甘肃	1.300	0.227
吉林	1.473	0.092
宁夏	2.899	0.955
山东	1.958	0.251
浙江	1.379	0.069

从表 1 可见,不同产地北柴胡药材中的柴胡总皂苷和柴胡皂苷 a 的量差异都较大。但从柴胡总皂苷质量分数分析,各产地的量都在 1.3%~3.0%。其中黑龙江、内蒙古及宁夏的北柴胡药材中柴胡总皂苷量比较高,其中又以黑龙江的量最高,为 2.966%;而辽宁和甘肃两省北柴胡药材中柴胡总皂苷的量较低,其中甘肃最低,仅为 1.3%。而柴胡皂苷 a 的量则宁夏最高,为 0.955%;浙江和吉林两省的比较低,分别为 0.069% 和 0.092%,均低于 0.1%。此外,在辽宁省的北柴胡根中没有检测到柴胡皂苷 a。

### 3 结果与讨论

3.1 不同产地药材中皂苷类成分的比较分析结果表明,我国各地产的柴胡商品药材中皂苷量差异较

大。其中柴胡总皂苷,以黑龙江产的最高,为 2.966%;甘肃产的量最低,为 1.3%。柴胡皂苷 a 的量则以宁夏产的最高,为 0.955%;浙江产的最低,为 0.069%。此外,在辽宁省的北柴胡药材中未检测到柴胡皂苷 a。通过比较还可以看出,同一药材中柴胡总皂苷量高者,柴胡皂苷 a 量不一定高,反之亦然。因此,不能单独用柴胡总皂苷或柴胡皂苷 a 来评价药材的质量,应以柴胡总皂苷量为主,兼顾其柴胡皂苷 a 的量为宜。

### 3.2 不同产地药材中柴胡皂苷量的差异与当地的

气候、种植环境、采摘时期及栽培方式等多种因素有关,因此,如何控制其质量稳定并不断提高,探求影响药材质量变化的基本因素,有待于进行深入的研究。同时,为了保证药材的质量,改变中药制剂疗效不稳定的现状,需从源头抓起,实行道地药材的 GAP 管理。

#### 参考文献:

- [1] 梁 鸿,赵玉英,邱海蕴,等.北柴胡中新皂苷的结构鉴定[J].药学学报,1998,33(1):37-41.
- [2] 安玉明,接传胤,祝世伟.柴胡的研究进展[J].人参研究,2001,13(1):11-13.

## 白花丹参同源四倍体的诱导与鉴定

陈 力,李秀兰

(南开大学生命科学学院,天津 300071)

**摘 要:**目的 对白花丹参种质资源进行遗传改良,拟创造出白花丹参同源四倍体新种质。方法 对未成熟种子,采用组织培养方法,用秋水仙碱进行诱变处理。结果 获得了 17 株同源四倍体,其中一株为四倍体非整倍体。经种植观察,四倍体白花丹参在株高、冠幅、叶片大小、叶片厚度、叶柄绒毛、花、花药、花粉粒大小等方面都明显大或高于原二倍体白花丹参,每株根条数和根粗与倍性成正相关,根部药材产量四倍体株系间虽有显著差异,但多数株系都高于二倍体对照,其中 4~5 号四倍体单株根部药材产量是二倍体白花丹参的 3.19 倍;丹参多酚酸、丹参酮等主要药物成分也都高于二倍体对照。结论 四倍体白花丹参新种质在丹参遗传改良和多倍体杂种优势利用方面具有重要应用价值。

**关键词:**白花丹参;同源四倍体;诱导

**中图分类号:**R282.2

**文献标识码:**A

**文章编号:**0253-2670(2009)12-1995-03

白花丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge var. *miltiorrhiza* f. *alba* C. Y. Wu et H. W. Li 是丹参的一个变型<sup>[1]</sup>,花冠为白色或淡黄色,野生于山东省莱芜山区,为山东特产药材之一,现已在莱芜、泰安、临沂、林山等地区引种栽培。据报道山东产白花丹参的丹参酮 I<sub>A</sub>、次甲基丹参酮及丹参酮 II<sub>A</sub> 3 个主要成分的量均高于同地区产紫花丹参<sup>[2]</sup>。白花丹参中的水溶性成分明显高于紫花丹参,约为紫花丹参的 2 倍<sup>[3]</sup>。另外,白花丹参中的铁、镁、锰、锌、钙 5 种元素也高于紫花丹参<sup>[4]</sup>。白花丹参除具有紫花丹参所具有的药效外,它对治疗血栓闭塞性脉管炎具有独特疗效<sup>[5]</sup>。因此,近来有关白花丹参的有效成分、药理、毒理和开发的研究倍受关注<sup>[3]</sup>。然而,目前白花丹参的分布范围还很小,只分布在东经 117°19'~117°58',北纬 36°02'~36°33'的莱芜地区,栽

培面积只有近千亩,4 500~6 000 kg/nm<sup>2</sup>,远远满足不了需求,而且栽培的白花丹参都是直接由野生变栽培,缺乏人工选育和品种改良。首次对白花丹参种质资源进行了遗传改良,创造了四倍体白花丹参新种质,为白花丹参新品种选育提供了新材料。

### 1 材料与方 法

供试材料白花丹参采自山东省莱芜地区野生种,2002 年秋季用分根繁殖种于天津市蓟县黄崖关山区,2003 年春季自花授粉,在种子变黑之前接种在 1/2 MS+100 mg/L 秋水仙碱的培养基中,处理 72~96 h 后,转入正常 1/2 MS 培养基中,待生根成苗后移栽于土壤中。在移栽时按单株检查染色体倍性。

### 2 结果与分析

2.1 白花丹参四倍体诱变效果分析:按上述方法接

收稿日期:2009-03-15

基金项目:国家自然科学基金资助项目(批准号 30670211)

作者简介:陈 力(1962—),男,天津市人,博士,从事药用植物分子生物学研究。

Tel: (022) 23500208 Fax: (022) 23508800 E-mail: lichen@nankai.edu.cn