

不同柴胡配伍对柴葛解肌汤7种成分量的影响

孙慧敏^{1,2}, 邢 婕^{1,2}, 李震宇^{1*}, 秦雪梅^{1*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006

摘要: 目的 柴胡为多基原药材,《中国药典》2010年版规定的柴胡包括柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 和狭叶柴胡 *B. scorzonifolium* Willd.。以柴葛解肌汤为研究对象,对柴胡、狭叶柴胡配伍的复方进行化学成分比较,明确不同柴胡配伍对复方中其他成分的影响。**方法** 首先采用 HPLC 法建立葛根素、芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素7种化学成分的定量测定方法,并对不同柴胡配伍的柴葛解肌汤进行定量测定。**结果** 线性范围内7种化合物的标准曲线呈良好线性关系,平均加样回收率均在94.1%~106.6%,所有化合物的精密度、重复性的RSD均小于2%,且样品在12 h内稳定性良好。不同柴胡配伍对柴葛解肌汤7种成分的量影响无显著性差异。**结论** 所建立方法简单,重复性好,可用于柴葛解肌汤的质量控制,而不同柴胡配伍对柴葛解肌汤中其他成分及全方药理作用的影响值得进一步研究。

关键词: 柴胡; 狭叶柴胡; 柴葛解肌汤; 配伍; HPLC; 葛根素; 芍药内酯苷; 芍药苷; 甘草苷; 黄芩苷; 汉黄芩苷; 黄芩素
中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)12-1718-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.12.012

Effects of different *Bupleuri Radix* compatibility on contents of seven compounds in Chaige Jieji Decoction

SUN Hui-min^{1,2}, XING Jie^{1,2}, LI Zhen-yu¹, QIN Xue-mei¹

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: **Objective** *Bupleuri Radix* is a kind of medicinal material derived from many sources, and *Bupleurum chinense* and *B. scorzonifolium* are described in *Chinese Pharmacopoeia*. In this study, the chemical constituents in Chaige Jieji Decoction (CJD) composed of *B. scorzonifolium* or *B. chinense* were compared to elucidate the influence of different *Bupleuri Radix* on other components in CJD. **Methods** Firstly, an HPLC method for the simultaneous determination of seven constituents (puerarin, albiflorin, paeoniflorin, liquiritin, baicalin, wogonoside, and baicalein) in CJD was developed. Then CJD composed of *B. scorzonifolium* or *B. chinense* was compared by the established method. **Results** Good linearity for the seven compounds was obtained, and the average recoveries ranged from 94.1% to 106.6%. The RSD values of all the precision and repeatability of the compounds were less than 2%, and the test sample was stable within 12 h. No significant differences were observed between the two different CJD. **Conclusion** The developed HPLC method is simple and repeatable, which is helpful for the quality control of CJD. The effects of different *Bupleuri Radix* compatibility on other ingredients in CJD and pharmacological activity of CJD deserve further study.

Key words: *Bupleurum chinense* DC.; *Bupleurum scorzonifolium* Willd.; Chaige Jieji Decoction; compatibility; HPLC; puerarin; albiflorin; paeoniflorin; liquiritin; baicalin; wogonoside; baicalein

柴胡是中医临床常用中药,具有疏散退热、疏肝解郁、升举阳气的功效,主要用于治疗感冒发热、寒来暑往、胸胁胀痛、月经不调、子宫脱垂、脱肛等^[1]。《中国药典》2010年版收载的柴胡分别来自

伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 或狭叶柴胡 *B. scorzonifolium* Willd. 的干燥根,前者药材习称“北柴胡”,后者称“南柴胡”或“红柴胡”。本课题组之前的研究^[2]和已有文献报道^[3-5]均提示柴

收稿日期: 2014-02-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31070295)

作者简介: 孙慧敏(1990—),女,硕士在读,研究方向为中药质量控制与评价。Tel: (0351)7011202 E-mail: sunhm9413@163.com

*通信作者 秦雪梅,女,博士,教授,博士生导师,主要从事中药质量控制方面的工作。

Tel: (0351)7011202 Fax: (0351)7018379 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

李震宇,男,博士,副教授,硕士生导师,主要从事中药化学及质控研究。E-mail: lizhenyu@sxu.edu.cn

胡和狭叶柴胡在化学成分上存在差异,柴胡中柴胡皂苷 a、d 的量高于狭叶柴胡^[3],2 种柴胡挥发性成分的量^[4]、组成^[5]均不相同,二者的初级代谢物差异也比较明显^[2]。但在临床运用中,两者经常不加区别混用。将不同的柴胡配伍到同一复方中,对方其他成分的煎出是否影响,目前尚不清楚。

柴葛解肌汤(Chaige Jieji Decoction, CJD)出自明·陶华《伤寒六书》,由柴胡、葛根、黄芩、白芍、羌活、白芷、桔梗、石膏、生姜、大枣和甘草组成,用于感冒风寒、寒郁化热、火郁重、恶寒轻、头痛肢楚、目痛鼻干、心烦不眠、眼眶痛、苔薄黄、脉浮等症^[6]。柴胡是柴葛解肌汤的君药,因此,本研究选择柴葛解肌汤对这一问题进行研究。目前,柴葛解肌汤在临床应用方面的文献较多^[6-8],对其药效或指标成分定量测定的报道较少,且已有文献只对芍药苷或葛根素进行定量测定^[9-10],评价指标较单一。因此,本研究建立柴葛解肌汤的 HPLC 多成分同时测定方法,并以这些成分为指标对柴胡、狭叶柴胡配伍的复方(柴葛解肌汤)进行比较,为柴胡、狭叶柴胡的临床应用提供研究依据。

1 仪器与材料

Waters e2695 高效液相色谱仪,2489 UV/Vis Detector; Agilent C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; Empower 3 色谱工作站; CPA225D 十万分之一分析天平、BSA124S 万分之一分析天平,SI 德国赛多利斯公司。

对照品甘草苷(批号 111610-201005,质量分数为 94.9%)、黄芩苷(批号 110715-200212,质量分数>99%),购自中国食品药品检定研究院;黄芩素(批号 121227,质量分数>99%)、汉黄芩苷(批号 121130,质量分数>99%),购自上海融合医药科技有限公司;葛根素(批号 3681-99-0,质量分数>98%),购自 Asenal 公司;芍药苷(批号 23180-57-6,质量分数>98%)、芍药内酯苷(批号 39011-90-0,质量分数>98%),购自上海盛中医药化工有限公司。

中药材柴胡、葛根、黄芩、白芷、生姜、白芍、桔梗、羌活、甘草、大枣和石膏末共 11 味药,柴胡购自山西陵川,狭叶柴胡购自河北安国,经山西大学中医药现代研究中心秦雪梅教授鉴定,为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 和狭叶柴胡 *Bupleurum scorzoniferifolium* Willd. 的干燥根,留样于山西大学,编号分别为 CH-7 和 CH-8;其余药材

购自山西华源制药集团,经山西大学秦雪梅教授鉴定分别为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根、唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根、伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 的干燥根、姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的根茎、毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根、桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的干燥根、伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 的干燥根茎、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根、鼠李科植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥成熟果实和硫酸盐类矿物硬石膏族石膏 *Gypsum Fibrosum*。分析甲醇,北京化工厂;色谱乙腈, Fisher 公司;娃哈哈纯净水。

柴葛解肌汤样品的制备:根据处方分别称取柴胡或狭叶柴胡(6 g)、葛根(9 g)、黄芩(6 g)、石膏(5 g)、羌活(3 g)、桔梗(3 g)、白芍(6 g)、白芷(3 g)、生姜(6 g)、大枣 2 枚,加入 8 倍量水,浸泡 30 min。武火煮沸后继续煎煮 30 min,滤出药汁。二煎,加入 5 倍量的水武火煎煮至沸腾后改文火煎煮 30 min,滤出药汁。合并 2 次煎煮滤液,浓缩定容至 100 mL。

2 方法与结果

2.1 混合对照品贮备液的制备

精密称取葛根素、芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素的对照品适量,用甲醇配制成葛根素 0.105 mg/mL、芍药内酯苷 0.102 mg/mL、芍药苷 0.294 mg/mL、甘草苷 0.101 mg/mL、黄芩苷 0.170 mg/mL、汉黄芩苷 0.475 mg/mL 和黄芩素 0.121 mg/mL 的混合对照品贮备液。

2.2 供试品溶液的制备

取柴葛解肌汤样品 1 mL,加甲醇定容至 5 mL,涡旋,离心,取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜,即得。

2.3 阴性样品溶液的制备

按处方比例及“柴葛解肌汤样品的制备”及“2.2”项下方法分别制备缺葛根阴性样品、缺白芍阴性样品、缺甘草阴性样品和缺黄芩阴性样品。

2.4 HPLC 色谱条件

Agilent C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;柱温 25 ℃;流动相 A 为乙腈, B 为 0.1%磷酸水溶液;梯度洗脱条件:0~15 min, 20%~44% A; 15~20 min, 44%~52% A; 体积流量 0.8 mL/min; 进样

量 10 μL ; 检测波长 230 nm。

2.5 方法学考察

2.5.1 方法专属性 分别精密吸取混合对照品溶

液、供试品溶液与阴性样品溶液各 10 μL , 在上述色谱条件下进样测定, 色谱图见图 1, 各个阴性样品在被检测物色谱峰处均无干扰。

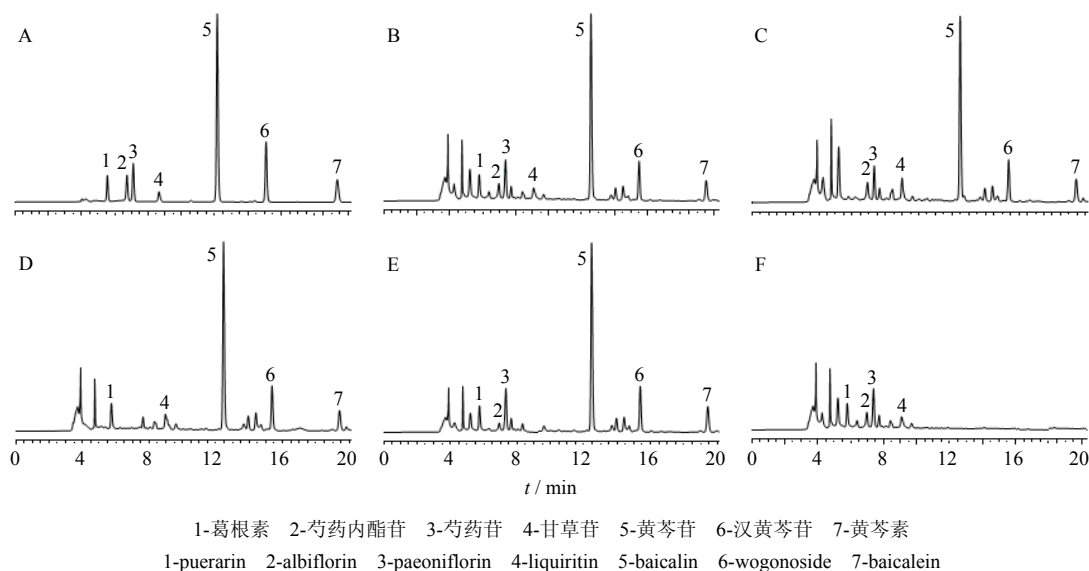


图1 混合对照品 (A)、供试品 (B)、缺葛根阴性样品 (C)、缺白芍阴性样品 (D)、缺甘草阴性样品 (E)、缺黄芩阴性样品 (F) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC of mixture reference substances (A), testing solution (B), negative sample without *Puerariae Lobatae Radix* (C), negative sample without *Paeoniae Alba Radix* (D), negative sample without *Glycyrrhizae Radix* (E), and negative sample without *Scutellariae Baicalensis Radix* (F)

2.5.2 线性范围考察 将混合对照品溶液稀释至系列质量浓度, 分别平行进样 2 次, 取峰面积的平均值作标准曲线, 进行线性考察。以对照品溶液质量浓度为横坐标 (X), 峰面积积分值为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得葛根素、芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素的回归方程和线性范围。葛根素 $Y=2.2 \times 10^7 X + 4.6 \times 10^5$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 0.011~0.105 mg/mL; 芍药内酯苷 $Y=2.3 \times 10^7 X + 87\ 604$, $r=0.999\ 0$, 线性范围 0.010~0.102 mg/mL; 芍药苷 $Y=2.3 \times 10^7 X + 2.5 \times 10^5$, $r=0.999\ 0$, 线性范围 0.029~0.294 mg/mL; 甘草苷 $Y=2.4 \times 10^7 X + 80\ 497$, $r=0.999\ 2$, 线性范围 0.010~0.101 mg/mL; 黄芩苷 $Y=1.5 \times 10^7 X + 8.8 \times 10^5$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 0.017~0.170 mg/mL; 汉黄芩苷 $Y=1.7 \times 10^7 X - 43\ 106$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 0.048~0.475 mg/mL; 黄芩素 $Y=3.4 \times 10^7 X - 38\ 400$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 0.012~0.121 mg/mL。

2.5.3 精密度试验 取同一供试品溶液, 进样 10 μL , 连续进样 6 次, 记录峰面积。葛根素、芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素峰面积的 RSD 分别为 1.6%、1.9%、1.5%、1.6%、

1.3%、0.3%、1.6%, 表明仪器精密度良好。

2.5.4 重复性试验 制备柴葛解肌汤样品 6 份, 并分别按供试品溶液制备方法制备 6 份, 在上述实验条件下进样, 记录峰面积, 计算其质量分数及 RSD。葛根素、芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素的平均质量分数分别为 0.067、0.053、0.167、0.067、1.337、0.282、0.094 mg/g, RSD 分别为 1.7%、1.9%、1.7%、1.7%、1.4%、0.8%、1.6%。

2.5.5 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于 0、1、2、4、6、8、12 h 进样 10 μL , 记录峰面积, 葛根素、芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素的峰面积的 RSD 分别为 1.5%、1.8%、1.9%、1.4%、1.0%、1.3%、0.9%。表明供试品溶液中上述 7 种成分在 12 h 内稳定性良好。

2.5.6 回收率试验 精密量取已测定的同一柴葛解肌汤样品 9 份, 每份 1 mL, 分别精密加入一定量的葛根素对照品溶液, 定容至 5 mL, 配制成高、中、低不同质量浓度样品溶液, 每个质量浓度制备 3 份。在上述条件下进样测定, 进行回收率试验。同法测定芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素回收率。结果 7 种成分的平均回收率在

94.1%~106.6%, RSD 在 0.3%~1.9%, 表明加样回收率试验结果良好。

2.6 不同柴胡配伍的柴葛解肌汤指标成分比较

采用上述已建立的方法, 按“柴葛解肌汤样品的制备”及“2.2”项下分别制备柴胡和狭叶柴胡配

伍的样品 6 份, 按 HPLC 色谱条件进样。测得葛根素、芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素 7 种成分的量见表 1。并对不同成分做 t 检验, 结果显示 2 种不同来源柴胡配伍的柴葛解肌汤中这 7 种成分的量没有显著性差异 ($P>0.05$)。

表 1 不同来源柴胡配伍的柴葛解肌汤的 7 种成分的定量测定 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Determination of seven compounds in CJD composed of *Bupleuri Radix* from different sources ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

样品	质量分数 / ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)						
	葛根素	芍药内酯苷	芍药苷	甘草苷	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素
含柴胡的柴葛解肌汤	0.067 ± 0.001	0.053 ± 0.001	0.167 ± 0.003	0.067 ± 0.001	1.337 ± 0.019	0.282 ± 0.002	0.094 ± 0.001
含狭叶柴胡的柴葛解肌汤	0.064 ± 0.001	0.054 ± 0.001	0.166 ± 0.002	0.067 ± 0.001	1.328 ± 0.023	0.282 ± 0.005	0.091 ± 0.002
P 值	0.28	0.49	0.71	0.65	0.65	0.95	0.06

3 讨论

在建立柴葛解肌汤 7 种成分定量测定方法时, 对于流动相的选择, 在文献报道^[9-12]基础上, 比较了乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸水溶液、乙腈-1%冰乙酸水溶液等洗脱溶剂, 最后选择乙腈-0.1%磷酸水溶液作为流动相进行梯度洗脱, 可以达到满意的分离效果。关于检测波长的选择, 本实验对 7 个分析物对照品进行了 PDA 全波长扫描, 发现各组分最大吸收波长分别为: 葛根素 248 nm、芍药内酯苷和芍药苷 231 nm、甘草苷 276 nm、黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素 276 nm。而在 230 nm 处各化合物均有较大响应值, 且分离度良好, 故选择 230 nm 作为检测波长。

柴胡为柴葛解肌汤的君药, 本研究结果显示柴胡和狭叶柴胡分别配伍的柴葛解肌汤中, 葛根素、芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素的量均无显著性差异。然而, 柴葛解肌汤的化学成分非常复杂, 本研究只对 7 种指标成分进行了比较, 不同的柴胡配伍后对其他成分的影响值得进一步研究。此外, 已有文献报道狭叶柴胡和柴胡在药理活性上存在显著差异^[13], 狭叶柴胡挥发油的解热作用明显大于柴胡, 而柴胡的保肝作用要优于狭叶柴胡; 本课题组前期也比较了柴胡和狭叶柴胡在解热、抗炎、镇痛及保肝等方面的药效^[14], 结果显示, 柴胡的抗炎镇痛作用强于狭叶柴胡, 而狭叶柴胡的解热作用优于柴胡。此外, 对于柴胡和狭叶柴胡分别配伍的逍遥散抗抑郁作用^[15], 本课题组研究发现狭叶柴胡组成逍遥散的抗抑郁作用及起效时间略优于柴胡。因此, 不同柴胡配伍的柴葛解肌汤复方的药理作用是否存在差异, 下一步将进行深入研究。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] Qin X M, Dai Y T, Liu N Q, et al. Metabolic fingerprinting by $^1\text{H-NMR}$ for discrimination of the two species used as *Radix Bupleuri* [J]. *Planta Med*, 2012, 78(9): 926-933.
- [3] 潘瑞乐, 陈迪华, 陈建民, 等. RP-HPLC 法测定中 1 号及其他产地柴胡中柴胡皂苷 a、d 的含量 [J]. *中南药学*, 2004, 2(4): 198-200.
- [4] 郑亭亭. 柴胡选育品系和主要栽培种质的品质及遗传整齐度评价 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2010.
- [5] 崔雅慧, 孙雅娜, 郑艳春, 等. 不同品种柴胡的化学成分分析 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2013, 22(6): 655-657.
- [6] 吴素玲. 柴葛解肌汤临床应用体会 [J]. *新疆中医药*, 2007, 25(3): 118.
- [7] 张保国, 梁晓夏, 刘庆芳. 柴葛解肌汤现代临床运用 [J]. *中成药*, 2008, 30(8): 1194-1199.
- [8] 王颖, 李兆坤, 黄严. 柴葛解肌汤在儿科的应用体会 [J]. *中医研究*, 2010, 23(7): 64-65.
- [9] 徐以亮. 柴葛解肌汤配方颗粒质量标准研究 [J]. *中国药业*, 2012, 21(1): 49-51.
- [10] 张小莉, 樊萍. 柴葛解肌汤中 3 种药材的鉴别及葛根素的测定 [J]. *华西药学杂志*, 2013, 28(4): 437-438.
- [11] 张玲, 何开勇. 柴葛清热颗粒的质量标准研究 [J]. *中国药师*, 2012, 15(9): 1238-1240.
- [12] 庄延双, 蔡皓, 刘晓, 等. 小柴胡颗粒中 5 种指标性成分的同时含量测定及其特征图谱研究 [J]. *药学报*, 2012, 47(1): 84-87.
- [13] 李廷利, 都晓伟, 赵景和, 等. 南北柴胡药理作用的比较研究-解热和保肝作用的实验研究 [J]. *中医药学报*, 1992(3): 34-37.
- [14] 刘晓节, 胡杰, 张福生, 等. 红北柴胡药效作用初探 [J]. *辽宁中医杂志*, 2012, 39(4): 712-714.
- [15] 郭晓擎, 田俊生, 史碧云, 等. 南柴胡和北柴胡组成的逍遥散抗抑郁作用的 $^1\text{H-NMR}$ 代谢组学研究 [J]. *中草药*, 2012, 43(11): 2209-2216.