

〔文章编号〕 1007-0893(2020)24-0105-02

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2020.24.049

HPLC 测定不同产地北柴胡中柴胡皂苷含量的研究

江昌铭 陈玉梅

(厦门市中医院, 福建 厦门 361001)

〔摘要〕 目的: 分析高效液相色谱法 (HPLC) 对不同产地北柴胡中的柴胡皂苷含量的测定结果。方法: 采用 HPLC 测定不同产地北柴胡中的柴胡皂苷成分含量, 分别以 ODS2 色谱柱、乙腈-0.12% 的磷酸水作为流动相, 以 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速进行梯度洗脱, 以 210 nm 的波长进行柴胡皂苷成分含量的检测。结果: 不同产地北柴胡中的柴胡皂苷 a、c、d 的线性回归方程均成立, 精密度在 0.99%~1.37% 之间, 所有产地北柴胡中的柴胡皂苷 a、d 总含量均在 0.3% 以上。结论: 本研究分析的 8 个产地北柴胡中的柴胡皂苷含量均满足《中国药典》(2015 版) 中的相关标准要求, 但是产地不同, 北柴胡中的柴胡皂苷含量也存在着差异。

〔关键词〕 高效液相色谱法; 北柴胡; 柴胡皂苷

〔中图分类号〕 R 282 〔文献标识码〕 B

柴胡是临床上比较常见的一种中药, 其来自于自然界中伞形科植物柴胡、狭叶柴胡的干燥根。汉以前的《神农本草经》中关于柴胡有着详细的记载, 将其柴胡列为中药中的上品^[1]。柴胡性微寒、味苦, 具有较好的疏散退热、疏肝解郁、升举阳气等功效, 临床中医人员主要将其应用于对胸满胁痛、寒热往来、月经失衡、子宫疾病等患者的治疗中。近年来随着临床研究的逐步深入, 有研究人员发现, 柴胡不但具有较好的抗炎、止痛等作用, 同时对增强机体免疫功能、促进机体肝损伤、辐射损伤等症状的改善也有着极其重要的作用^[2]。目前, 在生长区域方面, 除了一些高原地区以外, 其他地区均有柴胡的分布。但是, 野生品种已经极其稀少, 目前所使用的大多为栽培柴胡。柴胡中含有大量的皂苷、挥发油、脂肪酸、香豆素等成分, 尤其是皂苷类成分, 即柴胡皂苷 a、c、d, 目前我国也将柴胡皂苷 a、d 的检测作为对药用柴胡质量控制的金标准^[3]。本研究详细分析了高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 对不同产地北柴胡中的柴胡皂苷含量的测定结果, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究中所选取的柴胡分别来自于内蒙古、安徽亳州、河南洛阳、甘肃陇西、河南禹州、河南巩义、河南南阳、河北邯郸等 8 个地方, 分别将其以 1~8 的序号进行表示, 所有药材均经主任中药师鉴定为北柴胡的根, 柴胡皂苷 a、c、d 的批号分别为 20736-09-8、20736-08-7、20874-52-6。

1.2 方法

采用 HPLC 测定不同产地北柴胡中的柴胡皂苷成分含

量, 采用本院高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司) 及配套设备, 梯度泵 (型号 G1311C)、自动控温自动进样器 (型号 G1329B)、柱温箱 (型号 G1316A)、二极管阵列检测仪 (型号 G1315D)、色谱工作站 (型号 ChemStation6.01), 将 8 种柴胡分别放在 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的环境下烘干、粉碎、过筛, 采用天平分别称取 0.5 g 的粗粉作为样品, 并将称取好的样品放置在锥形瓶中, 取浓度为 5% 的浓氨试液, 将其加入到 25 mL 的甲醇溶液中, 充分摇匀后加入到锥形瓶中, 加塞封闭, 放置在 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的水温中进行超声处理, 1 h 后取出滤过, 对溶剂进行回收至干。将滤过的残渣加入到甲醇溶液中, 充分的混合后再将其转移至 10 mL 的容量瓶中定容, 采用滤膜 ($0.45\text{ }\mu\text{m}$) 进行滤过。称取标准品溶液, 分别精密称取 5 mg 柴胡皂苷 a、c、d, 并将其放置在 10 mL 的容量瓶中, 用甲醇溶液进行稀释、定容。采用 ODS2 色谱柱 ($200\text{ mm}\times 5.1\text{ mm}$, $5.0\text{ }\mu\text{m}$)、乙腈 (A)-0.12% 的磷酸水 (B) 作为流动相, 以 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速进行梯度洗脱, 洗脱 0~30 min, 25%~90% 乙腈; 洗脱 30~55 min, 90%~100% 乙腈; 洗脱 55~60 min, 90% 乙腈, 10% 的浓度为 0.12% 的磷酸水, 将洗脱时间控制在 60 min, 将柱温箱的柱温控制在 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右, 将测量样的剂量控制在 $20\text{ }\mu\text{L}$, 以 210 nm 的波长进行柴胡皂苷成分含量的检测。

2 结果

2.1 柴胡皂苷的标准曲线

对不同产地北柴胡中的柴胡皂苷 a、c、d 的线性回归方程均成立, 见表 1。

〔收稿日期〕 2020-09-26

〔作者简介〕 江昌铭, 男, 副主任药师, 主要研究方向是医院药学方面。

表1 柴胡皂苷的标准曲线

化合物	保留时间 /min	标准曲线 /X=area, Y=μg	r	线性范围 /μg
柴胡皂苷 a	35.37±0.03	Y=0.0032X+0.0830	0.9998	2.451~12.280
柴胡皂苷 c	14.62±0.02	Y=0.0035X+0.3349	0.9986	2.451~12.271
柴胡皂苷 d	56.24±0.03	Y=0.0030X+0.2489	0.9999	2.489~12.466

2.2 HPLC 测定的精密度

精密度的在 0.99%~1.37% 之间, 见表 2。

表2 HPLC 测定的精密度

化合物	连续测量 5 次的平均值	精密度 /%
柴胡皂苷 a	0.468	0.99
柴胡皂苷 c	0.499	1.31
柴胡皂苷 d	0.531	1.37

注: HPLC—高效液相色谱法

2.3 柴胡中的柴胡皂苷含量测定

所有产地北柴胡中的柴胡皂苷 a、d 总含量均在 0.3% 以上, 见表 3。

表3 柴胡中的柴胡皂苷含量测定

编号	产地	部位	柴胡皂苷 a	柴胡皂苷 c	柴胡皂苷 d	柴胡皂苷 (a+c+d)	柴胡皂苷 (a+d)
1	内蒙古	根和茎	0.38	0.25	0.90	1.53	1.28
2	安徽亳州	根和茎	0.62	0.08	0.15	0.85	0.77
3	河南洛阳	根和茎	0.37	0.27	0.35	0.99	0.72
4	甘肃陇西	根和茎	0.62	0.06	0.01	0.69	0.63
5	河南禹州	根和茎	0.60	0.17	0.50	1.27	1.10
6	河南巩义	根和茎	0.35	0.62	0.34	1.31	0.69
7	河南南阳	根和茎	0.63	0.15	0.39	1.17	1.02
8	河北邯郸	根和茎	0.24	0.18	0.19	0.61	0.43

3 讨论

柴胡是我国传统医学常用的一种中药, 其传统主产区分布在东北、华北、陕西等地区, 目前全国各地进行了广泛种植^[4]。各地皆有用自产的柴胡入药的习惯, 造成柴胡药材质量的参差不齐。本研究中对 8 个不同产地的柴胡中柴胡皂苷成分进行了测定, 《中国药典》(2015 版) 中, 对柴胡药物的质量控制主要以柴胡皂苷 a、d 的含量作为标准进行判断^[5]。本研究通过应用 HPLC, 对不同产地北柴胡中的柴胡皂苷含量进行了测定, 结果发现, 不同产地北柴胡中的柴胡皂苷 a、c、d 的线性回归方程均成立, 精密度在 0.99%~1.37% 之间, 所有产地柴胡中的柴胡皂苷 a、d 总含量均在 0.3% 以上, 尤其是产自内蒙古的柴胡, 其柴胡皂苷 a、d 的总含量高达 1.28%, 其次为产自河南禹州的柴胡, 柴胡皂苷 a、d 的总含量为 1.10%, 而产自河北邯郸的柴胡, 其柴胡皂苷 a、d 的含量最低, 只有 0.43%。由于柴胡皂苷中的 a、d 分子比较活跃, 易分解^[6], 而柴胡皂苷 c 的含量对柴胡皂苷的总含量影响并不大, 尤其是来自河南南阳、安徽亳州、

甘肃陇西等地的柴胡, 其柴胡皂苷 c 的含量占总皂苷含量的比值低, 因此, 进一步提示, 有些产地的柴胡皂苷 c 的含量对柴胡皂苷的总含量影响不大, 虽然《中国药典》没有对柴胡皂苷 C 的含量有做要求, 但其药理作用及对柴胡整体药效的贡献还有待深入研究。

本研究中还发现, 来自河南洛阳、禹州、巩义、南阳等地的柴胡中, 其柴胡皂苷 a、d 的含量也呈现出了明显的差异, 进一步提示, 即便在同一个省份, 不同的产地, 柴胡中的柴胡皂苷 a、d 的含量也会不同。随着中药应用的广泛, 临床上对柴胡的需求量也在逐年增加, 目前, 临床上对于柴胡的研究也就多集中在柴胡皂苷 a、c、d 方面^[7]。本研究通过 HPLC 对不同产地北柴胡中的柴胡皂苷含量进行了测定, 希望能够为产地不同的北柴胡中柴胡皂苷成分的定量分析及质量的评价提供指导性的依据, 同时也为中药制药企业种植生产柴胡药材、柴胡饮片及相关中成药提供科学依据^[8]。

综上所述, 本研究分析的来自 8 个产地北柴胡中的柴胡皂苷含量均满足《中国药典》(2015 版) 中的相关标准要求, 但是产地不同, 北柴胡中的柴胡皂苷含量也存在着差异。临床中药用药人员应加强对不同产地柴胡中柴胡皂苷成分含量的调查和研究工作, 针对所使用的包含柴胡成分的药品, 都要对其质量进行全面的评价, 为临床用药的安全性和有效性做好保障。

[参考文献]

- (1) 刘照东, 杨林林, 张阳, 等. 不同产地北柴胡中柴胡皂苷含量与土壤因子的关系 (J). 中草药, 2020, 51(20): 5328-5336.
- (2) 郭司群, 迟晓雪, 白雅静, 等. HPLC 法测定兴安柴胡中柴胡皂苷 d 的含量 (J). 中国民族民间医药, 2020, 29(16): 44-47.
- (3) 郭泰麟, 康廷国, 张慧. 不同产地南北柴胡中柴胡皂苷的含量测定 (J). 天津中医药大学学报, 2020, 39(2): 221-225.
- (4) 廖渝, 王海艳, LIU Mei. HPLC-CAD 法测定不同产地柴胡中柴胡皂苷 a、b₂、d 含有量分析 (J). 四川中医, 2020, 38(1): 62-66.
- (5) 李卫斌, 胡宝平, 项炫萌. HPLC 法测定不同产地柴胡中柴胡皂苷 a、c、d 的含量 (J). 甘肃医药, 2019, 38(1): 66-67, 86.
- (6) 侯会平, 赵士博, 于康平, 等. 北柴胡不同产地、不同采收期和不同炮制品中 6 种柴胡皂苷的含量测定 (J). 药学学报, 2018, 53(11): 1887-1893.
- (7) 刘文俊, 陈海霞. HPLC 法测定烟台柴胡中柴胡皂苷 a 和 d 的含量 (J). 安徽农业科学, 2017, 45(19): 119-120, 197.
- (8) 徐倩, 杨满琴, 鲍学梅. HPLC 法同时测定十三味和中丸中 9 种成分 (J). 中成药, 2020, 42(2): 297-300.