

## 反相 HPLC 法测定四种柴胡的柴胡皂甙 a, c, d 含量\*

郭寅龙<sup>1</sup> 袁昌齐<sup>2</sup> 王坚刚<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中国药科大学分析计算中心, 南京 210009

<sup>2</sup>江苏省植物研究所, 南京 210014)  
中国科学院

RP-HPLC analysis of saikosaponin a, c, d in Chinese Thorowax (*Bupleurum L.*) Guo Yin-Long<sup>1</sup>, Yuan Chang-Qi<sup>2</sup>, Wang Jian-Gang<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Analytical Centre, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, <sup>2</sup>Jiangsu Province and Academia Sinica, Nanjing 210014), *J. Plant Resour. & Environ.* 1996, 5(1): 60~61

The saikosaponin a, c, d in Chinese Thorowax were determined by RP-HPLC with UV detector at the wavelength of 205 nm. The optimal experiment conditions were ODS (5 micron) colum, mobile phase of acenitrile-water (4:6) and quinoestrol as internal standard. This method is simple, rapid and the reproducibility is good.

关键词 高效液相色谱; 柴胡皂甙; 柴胡

Key words HPLC; saikosaponin; *Bupleurum L.*

1990版《中国药典》规定正品柴胡为北柴胡和红柴胡,而各地实际入药的柴胡种类往往与药典规定不尽相同。因此有必要对目前已供药用的柴胡生药中有效成分进行定量分析,作为评判各种柴胡质量的依据之一。本文应用反相 HPLC 法测定了 9 种市售商品柴胡,经鉴定为北柴胡(*Bupleurum chinense* DC.)、红柴胡(*B. scorzoniferolium* Willd.)、空心柴胡(*B. longicaule* Wall. ex DC. var. *franchetii* de Boiss.)和不同产地的小叶黑柴胡(*B. smithii* Wolff var. *parvifolium* Shan et Y. Li),分别测定了其柴胡皂甙 a, c, d (简记为 ssa, ssc, ssd)的含量。

### 1. 实验部分

#### 1.1 实验材料 见表 1。

1.2 试剂与药品 柴胡皂甙 a, c, d 均为色谱纯; 炔雌醚, 合格原料药(南京第二制药厂); 甲醇, 分析纯(上海振兴化工一厂); 乙腈, 高效色谱用溶剂(浙江黄岩化学实验厂)。

1.3 仪器 Waters 510 泵, U6K 进样阀, 490 多通道紫外检测器, 740 数据处理机, SPHERISORB Phenomener 5ODS 色谱柱(150×4.6 mm, 5 micron), Sep-pak C<sub>18</sub> 样品预处理柱。

1.4 测定条件 流动相为乙腈-水(4:6)(v:v), 流速 1.0 ml/min, 内标物炔雌醚; 测定波长 205 nm。色谱图见图 1, 柴胡皂甙 c, a, d 和炔雌醚的保留时间分别为 6.0, 11.6, 16.5, 21.8 min。

1.5 标准曲线的建立 精密称取 ssa, ssc, ssd 标准品, 分别用甲醇定容 0.5 mg/ml ssa, 0.7 mg/ml ssc, 0.6 mg/ml ssd 的标准溶液。另精密称取炔雌醚, 用甲醇定容成 1.3 mg/ml 的内标溶液。精密取 ssa, ssc, ssd 标准溶液各 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 ml, 并精密加入内标液 0.1 ml, 用甲醇定容至 1 ml, 进样 10 μl 分析, 每份样品测 2 次, 取平均值。以标准品量/内标物量(W<sub>0</sub>/W<sub>i</sub>)为纵坐标, 标准品峰面积/内标峰面积(A<sub>0</sub>/A<sub>i</sub>)为横坐标, 求回归方程与相关系数。

$$\text{ssa: } y = 1.205x + 0.07065 \quad (r = 0.9999)$$

$$\text{ssc: } y = 4.721x + 0.1565 \quad (r = 0.9993)$$

$$\text{ssd: } y = 1.574x - 0.001305 \quad (r = 0.9993)$$

表 1 9 种商品柴胡样品的柴胡皂甙含量 (%)

Tab 1 Contents of saikosaponin in nine commercial samples (%)

商品名 Commercial name	植物名 Species	产地 Collect place	ssa*	ssc	ssd	ssa + ssc + ssd
竹叶柴胡	<i>Bupleurum longicaule</i> var. <i>franchetii</i> de Boiss.	云南昆明	0.053	0.228	0.087	0.868
硬根红柴胡	<i>B. smithii</i> var. <i>parvifolium</i> Shan et Y. Li	内蒙土默特左旗	0.649	0.608	0.148	1.405
黑柴胡	<i>B. smithii</i> var. <i>parvifolium</i> Shan et Y. Li	内蒙武川县	0.570	0.481	0.192	1.243
黑柴胡	<i>B. smithii</i> var. <i>parvifolium</i> Shan et Y. Li	宁夏海源县	0.177	0.482	0.098	0.757
黑柴胡	<i>B. smithii</i> var. <i>parvifolium</i> Shan et Y. Li	宁夏固原县	0.662	0.920	0.390	1.972
北柴胡	<i>B. chinense</i> DC.	河北石家庄	0.179	0.428	0.317	0.924
柴胡	<i>B. smithii</i> var. <i>parvifolium</i> Shan et Y. Li	河北保定药材市场	0.160	0.399	0.329	0.888
柴胡	<i>B. scorzoneriifolium</i> Willd.	山西太原药材市场	0.178	0.446	0.149	0.773
柴胡	<i>B. smithii</i> var. <i>parvifolium</i> Shan et Y. Li	河北唐山药材市场	0.197	0.446	0.149	0.773

\* ssa: saikosaponin a; ssc: saikosaponin c; ssd: saikosaponin d

**1.6 样品制备及测定结果** 取干燥样品粉碎成粉末状, 过 60 目筛网, 取 1 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加入甲醇 30 ml, 并精密加入 2 ml 内标溶液, 摇匀, 密塞, 超声波振荡 3 h, 静置, 取上清液 10 ml 置离心管中, 3000rpm × 5 min, 其上清液用 Sep-pak C<sub>18</sub> 样品预处理柱处理, 取滤液 10 μl 分析, 每份样品测 2 次, 取平均值, 测定结果见表 1。

**1.7 回收率测定** 取北柴胡样品粉末 1 g, 精密称定, 按样品制备及测定方法测定其柴胡皂甙 a, c, d 的含量。另取该粉末 0.1 g, 精密称定, 分别精密加入 2 ml 标准溶液, 待溶液渗入样品粉末后, 精密加入 0.4 ml 内标溶液, 5 ml 甲醇, 按样品制备及测定方法测定含量, 每份样品测定 5 次, 柴胡皂甙 a, c, d 的回收率依次为 98.7%, 99.6% 和 99.8%, 相对标准偏差依次为 1.8%, 1.5% 和 2.2%。

## 2. 结 论

从分析结果看, 北柴胡的柴胡皂甙含量较红柴胡略高, 小叶黑柴胡以宁夏及内蒙产的质量较好, 其他产地的品种与北柴胡和红柴胡相近, 而云南产的空心柴胡其柴胡皂甙 a 和 d 含量偏低。

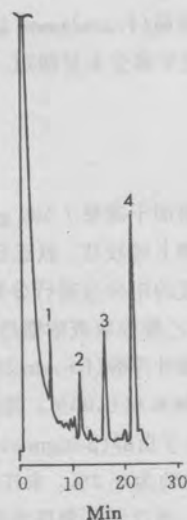


图 1 小叶黑柴胡的 HPLC 图  
Fig 1 Chromatogram of *Bupleurum smithii* var. *parvifolium*  
1. saikosaponin c; 2. saikosaponin a;  
3. saikosaponin d; 4. quinoestrol

(责任编辑:许定发)