

鄂西北地区不同生长条件和品种柴胡中多糖含量比较*

叶方¹, 杨光义¹, 杜士明¹, 王刚¹, 孙荣进²

(1. 湖北医药学院附属太和医院药学部, 湖北十堰 442000; 2. 湖北医药学院, 湖北十堰 442000)

摘要 目的 测定鄂西北地区不同生长条件和品种柴胡中多糖的含量。方法 采用蒽酮-硫酸比色法, 以 620 nm 波长为检测波长, 分别测定柴胡中可溶性多糖和粗多糖, 计算总多糖含量。结果 鄂西北地区野生竹叶柴胡多糖含量高于同地区种植柴胡, 但低于山西产北柴胡和湖北南漳种植的三岛柴胡。结论 不同生长条件的柴胡药材中柴胡多糖含量不同, 但差异不明显; 不同品种柴胡药材中的多糖含量有明显差异。

关键词 柴胡; 竹叶柴胡; 多糖; 含量测定

中图分类号 R282.71 文献标识码 A 文章编号 1004-0781(2012)10-1268-03

Comparison of Polysaccharide Content in Different Species of *Bupleurum* under Different Growth Conditions in Northwest Area of Hubei Province

YE Fang¹, YANG Guang-yi¹, DU Shi-ming¹, WANG Gang¹, SUN Rong-jin² (1. Department of Pharmacy, Taihe Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China; 2. Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China)

ABSTRACT Objective To compare the content of polysaccharide in different species of *Bupleurum* under different growth conditions in Northwest area of Hubei Province. **Methods** The contents of polysaccharide in *Bupleurum* was determined by colorimetric method and detected at 620 nm. **Results** Polysaccharide content in wild *Bupleurum marginatum* Wall. ex DC. was higher than that in the planted *Bupleurum* in Northwest Area of Hubei Province, but lower than that in *Bupleurum chinese* DC. of Shanxi Province and that in *B. falcatum* L. of Hubei Nanzhang. **Conclusion** Polysaccharide content of *Bupleurum Radix Bupleurum* is different under different growth conditions, but no significant difference between the polysaccharide content in different varieties of *Bupleurum Radix*.

KEY WORDS *Bupleurum*; *Bupleurum marginatum* Wall. ex DC.; polysaccharide; Content determination

柴胡为伞形科植物北柴胡 (*Bupleurum chinese* DC.) 或狭叶柴胡 (*Bupleurum scorzoniferolium* willd.) 的干燥根。但竹叶柴胡等其他多个品种的柴胡也在临床广泛使用, 而不同的柴胡品种、相同品种不同生长条件等的有效成分含量是否有明显差异, 这些差异对柴胡的多种药理作用是否有明显的影响, 柴胡地上部分能否作为新资源加以有效利用, 这些都会影响柴胡及其相关制剂现代化、国际化的进程。柴胡根中含有多种柴胡皂苷, 并确认皂苷为主要活性成分。然而, 柴胡根的药理活性不能仅以皂苷来说明^[1]。药理作用证明柴胡中多糖具有抗放射、降血脂、增强免疫功能和抗病毒等作用, 还有较强的抗溃疡作用, 对肝炎以及系统

性红斑狼疮 (SLE)、肾炎及类风湿等自身免疫疾病具有重要的临床价值^[2]。因此, 考察多糖含量是衡量柴胡质量的重要因素之一。本实验对鄂西北地区野生竹叶柴胡和种植竹叶柴胡、产于山西运城的种植北柴胡等多糖含量进行分析比较, 为全面考察柴胡药材质量作参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器 TU-1901 紫外分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); AUW120D 电子天平 (岛津公司); CQX25-06 型超声波震荡器 (上海必能信超声有限公司)。

1.2 材料 不同产地及品种柴胡样品见表 1, 经湖北中医药大学中药资源和中药复方教育部重点实验室陈科力教授鉴定。样品粉碎, 过四号筛备用。无水葡萄糖 (天津市科密欧化学试剂开发中心, 批号: 20020128)、蒽酮及浓硫酸、盐酸等其他试剂均为分析纯, 水为自制纯化水。

2 方法与结果

2.1 样品溶液的制备

2.1.1 可溶性多糖的提取 精密称取 60 °C 干燥至恒重的柴胡粉末 1 g, 置于具塞三角瓶中, 加 82% 乙醇

收稿日期 2012-02-28 修回日期 2012-04-09

基金项目 * 科技部 2010 年度科技型中小企业技术创新基金 (10C26214204534)

作者简介 叶方 (1971-), 男, 湖北十堰人, 副主任药师, 学士, 从事医院药学工作。电话: 0719-8801393, E-mail: yxwen8801129@sina.com。

通讯作者 杜士明, 男, 湖北十堰人, 主任药师, 博士, 研究方向: 中药资源及其品质评价。电话: 0719-8801163, E-mail: dsmch@sina.com。

表 1 柴胡品种与来源

Tab. 1 Different species and habitat of *Bupleurum*

样品编号	药材品种	拉丁名	样品产地	样品来源
1	竹叶柴胡	<i>Bupleurum marginatum</i> Wall. ex DC.	湖北省房县野人谷镇野生	秋季现采
2	竹叶柴胡	<i>B. marginatum</i> Wall. ex DC.	湖北省保康县高桥镇种植	秋季采集
3	竹叶柴胡(地上)	<i>B. marginatum</i> Wall. ex DC.	湖北省保康县高桥镇种植	秋季采集
4	竹叶柴胡	<i>B. marginatum</i> Wall. ex DC.	湖北省秭归县野生	湖北神农本草饮片有限公司提供
5	竹叶柴胡	<i>B. marginatum</i> Wall. ex DC.	河南省内乡市野生	购于内乡县夏馆镇药材收购店
6	北柴胡	<i>B. chinense</i> DC.	山西省运城市	湖北神农本草饮片有限公司提供
7	三岛柴胡	<i>B. falcatum</i> L.	湖北省南漳县	湖北神农本草饮片有限公司提供
8	柴胡免煎剂		三九医药	

45 mL, 浸泡 30 min 后超声提取 30 min, 静置过滤, 重复提取 1 次, 过滤(保存滤渣), 合并两次滤液于 100 mL 量瓶中, 以 82% 乙醇定容至刻度, 备用^[3]。

2.1.2 粗多糖的提取 将“2.1.1”中提取后的滤渣 60 °C 烘干, 加 2% 盐酸 45 mL, 置沸水浴中提取两次, 每次 1 h, 放冷后过滤。合并两次滤液以 2% 盐酸定容于 100 mL 量瓶中, 备用。

2.2 显色剂的制备 精密称取蒽酮 0.2 g, 放入 100 mL 量瓶中, 逐渐加入浓硫酸至刻度, 摇匀, 使蒽酮充分溶解, 备用(需临用前现配)。

2.3 线性关系考察 将无水葡萄糖于 60 °C 烘 1 h, 再逐渐升温至 105 °C, 干燥至恒重。精密称取 10.2 mg 置于 100 mL 量瓶中, 用纯化水溶解并稀释至刻度。分别精密量取 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 无水葡萄糖标准溶液置于具塞试管中, 以纯净水补足 1.0 mL 后每支试管中加入显色剂蒽酮-硫酸 5.0 mL, 迅速摇匀, 暗处放置 30 min, 待溶液完全冷却后, 于 620 nm 波长处测定吸光度, 记录数据。以葡萄糖的质量(mg)为横坐标(X), 以吸光度(A)为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为: $A = 0.1436X + 0.0706$, $R^2 = 0.9991$ 。

2.4 精密度实验 取含量测定项下同一供试品溶液, 连续测定 6 次, 记录 A, 得 RSD 为 0.83%。表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性实验 取含量测定项下同一供试品溶液, 分别于 0, 15, 30, 60, 120, 180 min 测定 A, 结果 RSD 为 1.75%。表明样品在 3 h 内稳定, 但 12 h 以后测量数据发生明显变化。

2.6 加样回收率实验

2.6.1 可溶性多糖加样回收率实验 精密称取已知可溶性多糖含量的湖北省保康县种植的柴胡粉末 6 份, 每份 1.0 g, 置具塞锥形瓶, 按“2.1.1”项下方法处理, 样品提取后于滤液中分别精确加入 10.23 mg · mL⁻¹ 的葡萄糖对照品溶液 1.5 mL, 以 82% 乙醇定容

后, 按样品测定项操作, 计算可溶性多糖含量和回收率。结果平均回收率为 99.95%, RSD = 2.02%, 见表 2。

表 2 可溶性多糖的加样回收实验(n=6)

Tab. 2 Recovery of the soluble polysaccharide(n=6)

样品质量/ g	多糖含量	对照品加入量 mg	检出量	回收率 %
1.0376	15.56	15.35	30.62	98.13
1.0160	15.23	15.35	30.69	100.70
1.0094	15.13	15.35	30.41	99.52
1.0132	15.19	15.35	30.72	101.17
1.0823	16.23	15.35	31.17	97.35
1.0091	15.13	15.35	30.91	102.80

2.6.2 粗多糖加样回收率实验 取“2.6.1”项下的滤渣按“2.1.2”项下方法处理, 样品提取后于滤液中分别精确加入 18.06 mg · mL⁻¹ 的葡萄糖对照品溶液 5 mL, 以 2% 盐酸定容后, 精密量取 2 mL, 稀释至 50 mL, 按含量测定的方法操作, 计算粗多糖含量和回收率。结果平均回收率为 99.94%, RSD = 1.15%, 见表 3。

表 3 粗多糖的加样回收实验(n=6)

Tab. 3 Recovery of the crude polysaccharide(n=6)

样品质量/ g	多糖含量	对照品加入量 mg	检出量	回收率 %
1.0376	94.99	90.30	186.02	100.81
1.0160	93.01	90.30	182.79	99.42
1.0094	92.41	90.30	182.74	100.03
1.0132	92.76	90.30	184.59	101.70
1.0823	99.08	90.30	188.13	98.61
1.0091	92.38	90.30	181.85	99.08

2.7 含量测定

2.7.1 可溶性多糖的含量测定 取“2.1.1”项可溶性

多糖提取液 5.0 mL,以 82% 乙醇定容至 25 mL 量瓶中,混匀后,分别精密量取 1.0 mL,加入具塞试管中,再加入蒽酮-浓硫酸试剂 5.0 mL,迅速混匀,避光放置 30 min,冷却至室温,以 82% 乙醇为空白,于 620 nm 波长处测定吸光度,记录数据,见表 2。

2.7.2 粗多糖的含量测定 取“2.1.2”项下粗多糖提取液 2.5 mL 以 2% 盐酸定容至 25 mL 量瓶中,混匀,分别精密量取 1.0 mL,加入具塞试管中,再加入蒽酮-浓硫酸试剂 5.0 mL,迅速混匀,避光放置 30 min,冷却至室温,以 2% 盐酸溶液为空白,于 620 nm 波长处测定吸光度,记录数据,见表 4。

表 4 柴胡多糖含量测定结果($n=3$)

Tab. 4 The contents of *Bupleurum* polysaccharides

样品	%		
	可溶性多糖	粗多糖	总多糖
1	2.992 3	10.759 3	13.751 6
2	1.499 3	9.155 0	10.654 2
3	1.135 4	7.035 5	8.170 9
4	1.116 6	11.083 1	12.199 7
5	2.678 6	11.289 2	13.967 8
6	4.729 9	11.112 6	15.842 4
7	6.197 8	18.045 0	24.242 8
8	1.254 6	1.619 0	2.873 7

3 讨论

对柴胡中多糖的含量测定结果运用 SPSS16.0 进行单因素方差分析表明,鄂西北地区野生竹叶柴胡与河南野生竹叶柴胡中总多糖含量差异无统计学意义($P>0.05$),与其他各组含量相比均差异有统计学意义($P<0.01$)。与野生竹叶柴胡相比,鄂西北地区种植的竹叶柴胡多糖含量稍低,竹叶柴胡地上部分也含有一定量的多糖成分,湖北南漳种植的三岛柴胡和山西运城种植的北柴胡中的多糖含量较高。说明不同品种、不同生长条件和部位柴胡中多糖含量有较大差异。日本对柴胡多糖研究较系统全面,可能跟主产于日本的柴胡品种三岛柴胡的多糖含量有关^[4]。

中药免煎剂能否代替传统中药饮片一直存在争

议,本实验同时测定柴胡免煎剂中的多糖含量,发现远低于原药材中的多糖含量,提示免煎剂的有效性值得商榷^[5]。

柴胡地上部分含有叶绿素及其他脂溶性成分,为了避免其影响测量结果,提取液水浴蒸干后用适量水溶解再以石油醚萃取 3 次,水部位蒸干后按含量测定方法处理效果较好。

实验中,曾采用浓硫酸稀释后配成的蒽酮-硫酸作为显色剂,重复性较差,改用 0.2% 蒽酮-浓硫酸显色后稳定性较好。另外在配制供试品溶液时,加入显色剂后比较水浴加热与暗处避光 30 min 后测量^[6],结果测量效果相近,但后者简便易行,所以在操作中均采用加入 0.2% 蒽酮-浓硫酸显色剂暗处避光 30 min 测定 A 值。

《中华人民共和国药典》采用柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 D 进行质量控制,但柴胡中的有效成分还包括多糖类、黄酮类以及挥发油中的成分,均具有药理活性,因此全面考察柴胡的质量应该从多个方面进行。进一步研究得出,不同生长条件、不同品种柴胡中多糖与皂苷等成分的含量没有相关性,但同一品种不同种植条件的柴胡不同成分具有相关性,说明考察柴胡的质量应根据使用目的的不同选择不同品种的柴胡,既能合理利用中药资源,又能达到更好的临床应用效果。

参考文献

- [1] YAMADA H, SUN X B, MATSUMOTO T, et al. Purification of anti-ulcer polysaccharides from the roots of *Bupleurum falcatum* [J]. *Planta Med*, 1991, 57(6): 555-559.
- [2] 李萍,傅春华. 北柴胡与三岛柴胡药材及成分研究[J]. 成都中医药大学学报, 1997, 20(2): 46-47.
- [3] 王斌,张腾霄,刘利军. 不同采收期对柴胡糖类物质动态积累的影响[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(6): 76-78.
- [4] 张艺,杨明,孟宪丽,等. 日本研究中药多糖的新进展[J]. 中国中医药信息杂志, 1997, 4(5): 39-40.
- [5] 王永慧,叶方,杜士明. 中药免煎剂的研究进展[J]. 医药导报, 2011, 30(6): 773-775.
- [6] 常明泉,袁胜浩,黄良永,等. 分光光度法测定槐及乳膏中白及胶的含量[J]. 中国药师, 2010, 13(11): 1675-1676.

DOI 10.3870/yydb.2012.10.006