

北柴胡不同器官化学成分含量的比较研究

翟 轩^{1,2}, 高致明^{1,2*}, 张红瑞^{1,2}, 王迎迎^{1,2}, 扶胜兰^{1,2}, 赵志鹏^{1,2}

(1. 河南农业大学 农学院, 河南 郑州 450002; 2. 河南农业大学 中药材工程技术研究中心, 河南 郑州 450002)

摘要: 分别对 3 个种源北柴胡在同地种植后收获期的根、茎、叶、花中的总黄酮、可溶性多糖、醇溶性浸出物和地上部分挥发油含量进行了测定和分析。结果表明, 3 个种源北柴胡不同器官化学成分存在差异, 禹州种源北柴胡的叶片总黄酮含量最高, 为 0.41%; 建昌种源北柴胡的根可溶性多糖含量最高, 为 2.1%, 花醇溶性浸出物含量最高, 为 23.6%, 地上部分挥发油含量最高, 为 0.13%。

关键词: 北柴胡; 种源; 化学成分

中图分类号: S567.7⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2011)02-0114-04

The Comparative Study of Chemical Composition Content among Different Organs of *Bupleurum chinense* DC.

ZHAI Xuan^{1,2}, GAO Zhi-ming^{1,2*}, ZHANG Hong-rui^{1,2},
WANG Ying-ying^{1,2}, FU Sheng-lan^{1,2}, ZHAO Zhi-peng^{1,2}

(1. Agronomy College, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. The Engineering Technology Research Center for Chinese Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: In this paper, 3 types of *Bupleurum chinense* DC. cultured in different places were chosen to measure and analyze the contents of the total flavonoids, soluble polysaccharide, alcohol-soluble extract and essential oil in the stems, leaves and flowers. The results showed that *Bupleurum chinense* DC. from different places in the same environment had different chemical composition in different organs. The content of total flavonoids content in leaves from Yuzhou provenance was the highest, reached 0.41%; the content of soluble polysaccharide in roots from Jianchang was the highest, reached 2.1%, and the content of the alcohol-soluble extract in flowers from Jianchang was the highest, reached 23.6%, and the content of the volatile oil from aboveground parts was the highest, reached 0.13%.

Key words: *Bupleurum chinense* DC.; Provenance; Chemical composition

北柴胡(*Bupleurum chinense* DC.)为伞形科多年生草本植物, 分布于我国东北、华北、西北、华中、华东各地, 主产于河北、陕西、甘肃等省区^[1], 以全草或干燥根入药, 其性凉味苦, 具解表和里、疏肝解郁、升举阳气之功效, 为中医治疗少阳症的首选用药^[2-4]。现代研究表明, 柴胡具有提高中枢神经兴奋性、抗炎、保肝、抗急性辐射损伤、降血脂、解热、增强

免疫功能和抗病毒感染等作用^[5-12]。

柴胡的主要活性成分包括皂苷、黄酮、挥发油、多糖等。这些活性成分的含量直接决定了柴胡的药用品质^[13], 栽培上可作为筛选优良品种的重要参考指标。鉴此, 研究了不同种源北柴胡在同一环境条件下种植后不同器官活性成分含量的差异, 以期为北柴胡的良种选育及规范化种植提供依据。

收稿日期: 2010-09-10

基金项目: 河南农业大学博士基金项目(30200369)

作者简介: 翟 轩(1986-), 女, 河南南阳人, 在读硕士研究生, 研究方向: 药用植物栽培。E-mail: zhaixuan2004@163.com

*通讯作者: 高致明(1960-), 男, 河南南召人, 教授, 主要从事药用植物资源方面的研究。

E-mail: gaozhiming672@sohu.com

1 材料和方法

1.1 试验地点与自然概况

试验在河南农业大学科教园区进行。土壤质地为中壤土, 耕作层有机质 13.30 g/kg, 全氮 0.84 g/kg, 碱解氮 78.59 mg/kg, 速效磷(P_2O_5) 19.7 mg/kg, 速效钾(K_2O) 123.9 mg/kg。

1.2 试验材料

供试材料北柴胡种子于 2008 年分别采自辽宁建昌、河北涞源和河南禹州。经河南农业大学高致明教授鉴定为 *Bupleurum chinense* DC. 的果实。

1.3 试验设计

试验采取单因素完全随机区组设计, 每种源 3 次重复。小区面积为 $2\text{ m} \times 2\text{ m}$, 高畦播种, 常规栽培管理。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 总黄酮含量的测定 采用分光光度法测定总黄酮含量^[14-15]。对照品储备液的制备: 称取芦丁 10 mg, 加 50% 乙醇 70 mL, 置水浴微热使溶解, 放冷, 倒入 100 mL 容量瓶中, 接着用 50% 乙醇定容到刻度, 摇匀即得。供试品溶液的制备: 用电子天平称取 1.0000 g 柴胡粉末, 置锥形瓶中, 用 30 mL 30% 的乙醇浸泡 12 h, 超声 30 min, 在 3000 r/min 下离心 20 min, 抽滤, 最后定容到 100 mL 的容量瓶中。

测定波长的选择: 取浸提液 0.2 mL, 分别置于 25 mL 容量瓶中, 加 30% 乙醇 2 mL, 加 5% 亚硝酸钠溶液 0.7 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加 10% 硝酸铝溶液 0.7 mL, 摇匀, 放置 6 min, 再加 4% 氢氧化钠溶液 5 mL, 最后加乙醇至刻度, 摇匀, 放置 15 min, 以空白试剂做对照, 进行全波长扫描, 以芦丁为对照品, 样品在 510 nm 处有最大波长, 确定测定波长为 510 nm。标准曲线的绘制: 吸取芦丁标准溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 6 支 10 mL 容量瓶中, 各加 50% 乙醇至 5 mL, 加入 5% 的 $NaNO_2$ 0.3 mL, 摇匀, 放置 6 min 后加入 10% 的 $Al(NO_3)_3$ 0.3 mL, 摇匀, 放置 6 min 后再加入 1 mol/L 的 NaOH 4 mL, 混匀, 再加蒸馏水至刻度, 放置 15 min 后, 以试剂空白为参比, 于 510 nm 波长处测定吸光度, 每处理 3 次重复。吸光度 A 对芦丁浓度 C 的回归方程为: $A = 11.5643 C + 0.0022$, $r = 0.9960$ 。

1.4.2 可溶性多糖含量的测定 北柴胡可溶性多糖采用超声提取, 利用蒽酮—浓硫酸比色法^[16-17]测定。葡萄糖标准液的配置: 将葡萄糖于 60℃ 烘 1 h, 再逐渐升温至 105℃, 干燥至恒定质量。精密称取 10.8 mg, 置 100 mL 容量瓶中, 用蒸馏水溶解并稀释

至刻度, 取 16 支试管, 除空白试液外, 其余 5 组都做 3 次平行试验, 分别吸葡萄糖标准液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 6 支试管, 再分别加蒸馏水 1、0.8、0.6、0.4、0.2、0 mL, 于 620 nm 处测定吸光度, 绘制的标准曲线是 $y = 6.99x + 0.0013$, $R = 0.9978$ 。

可溶性多糖的提取: 精密称取北柴胡根、茎、叶、花粉 1.0000 g, 分别置于 100 mL 三角瓶中, 加 80% 乙醇 45 mL, 浸泡 30 min, 超声提取 30 min, 重复提取 1 次, 过滤(保存滤渣), 2 次滤液置 100 mL 容量瓶中, 以 80% 乙醇定容到刻度备用。各取可溶性多糖提取液 5 mL, 分别置于 25 mL 容量瓶中, 用 80% 乙醇定容到刻度, 混匀。分别吸取 0.2 mL 可溶性多糖提取液加入试管中, 再加入蒽酮—浓硫酸试剂 5.0 mL, 作为空白试剂。置沸水浴中加热 10 min, 冷却至室温, 于 620 nm 处测定吸光度, 每处理 3 次重复。

1.4.3 醇溶性浸出物含量的测定 参照 2005 版药典醇溶性浸出物测定法^[18]项下的热浸法(附录 XA)测定。

1.4.4 挥发油的测定 参照 2005 版药典挥发油含量测定法(附录 XD)^[19-20]测定。

1.5 数据处理

试验数据采用 Excel 2003 与 SPSS 12.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 3 个种源北柴胡不同器官总黄酮含量的差异

有研究表明, 北柴胡的总黄酮含量在根、茎、叶中含量的变化规律为叶>茎>根^[21]。本试验结果表明, 北柴胡根中总黄酮的含量甚微, 因此未对 3 个种源北柴胡根中的总黄酮进行分析。由图 1 可知, 在 3 个种源中, 叶中总黄酮含量最高, 和文献[21]报道一致, 其次为花和茎。建昌种源茎中总黄酮含量最高, 为 0.18%, 禹州种源含量最低, 为 0.10%; 禹州种源叶中总黄酮的含量最高, 达 0.41%, 涞源种源含量最低, 为 0.22%; 建昌种源花中总黄酮的含量最高, 达 0.24%, 禹州种源含量最低, 为 0.14%。综合各器官总黄酮的含量, 以建昌种源北柴胡地上部分总黄酮含量最高。

2.2 3 个种源北柴胡不同器官可溶性多糖含量的差异

由图 2 可知, 在 3 个种源中, 根中可溶性多糖含量最高, 其次为花, 茎中含量最低。建昌种源根中可溶性多糖含量最高, 达 2.1%, 禹州种源含量最低, 为 1.3%; 建昌种源茎中可溶性多糖含量最高, 达

0.54%，禹州种源含量最低，为 0.17%；涑源种源叶中可溶性多糖含量最高，达 0.93%，建昌种源含量最低，为 0.54%；建昌种源花中可溶性多糖含量最高，达 1.2%，禹州种源含量最低，为 0.6%。综合各器官可溶性多糖的含量，以建昌种源北柴胡可溶性多糖含量最高。

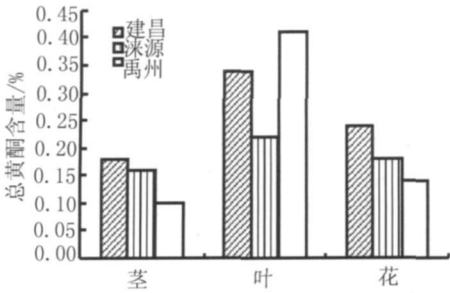


图 1 3 个种源北柴胡不同器官中总黄酮含量的差异

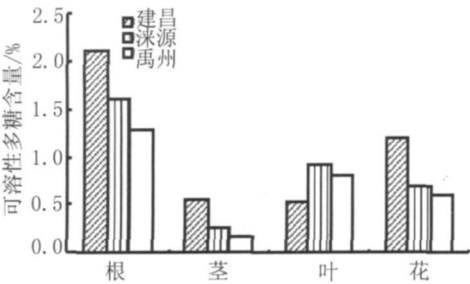


图 2 3 个种源北柴胡不同器官中可溶性多糖含量的差异

2.3 3 个种源北柴胡不同器官醇溶性浸出物含量的差异

由图 3 可见，花中醇溶性浸出物含量最高，其次为叶，茎中含量最低。禹州种源根中醇溶性浸出物含量最高，达 15.99%，涑源种源含量最低，为 13.08%；建昌种源茎中醇溶性浸出物含量最高，达 8.70%，涑源种源含量最低，为 8.20%；涑源种源叶中醇溶性浸出物含量最高，达 17.29%，禹州种源含量最低，为 15.92%；建昌种源花中醇溶性浸出物含量最高，达 23.6%，禹州种源含量最低，为 18.60%。综合各器官醇溶性浸出物的含量，以建昌种源北柴胡的醇溶性浸出物含量最高。

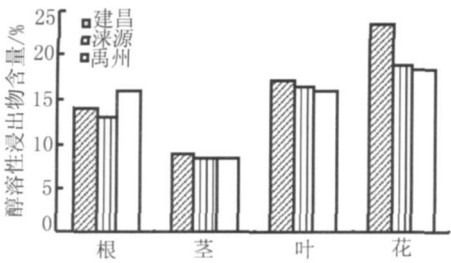


图 3 3 个种源北柴胡不同器官中醇溶性浸出物含量的差异

2.4 3 个种源北柴胡地上部分挥发油含量的差异

由图 4 可知，在 3 个种源北柴胡的地上部分中，建昌种源、涑源种源和禹州种源北柴胡的挥发油含量分别为 0.130%、0.048%、0.056%，建昌种源挥发油含量要比涑源种源、禹州种源分别多 0.082 个百分点，0.074 个百分点，建昌种源挥发油含量明显高于涑源种源和禹州种源。

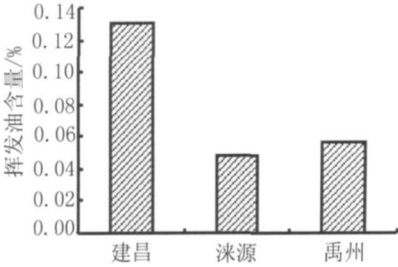


图 4 3 个种源北柴胡地上部分挥发油含量

3 结论与讨论

谭玲玲等^[2]指出，北柴胡茎、叶中含有大量的黄酮类化合物，这些化合物同样具有重要的药用价值，且四川等地柴胡以带茎的根入药具有一定理论依据。本研究对不同种源北柴胡地上、地下部分的活性成分(总黄酮、可溶性多糖、醇溶性浸出物和挥发油)含量进行测定，结果表明，3 个种源北柴胡不同器官中的总黄酮、可溶性多糖、醇溶性浸出物和挥发油的总含量均以建昌种源含量最高，有些活性成分在地下部分某些器官中的含量在收获期甚至高于地上部分根中的含量，而且 3 个不同种源北柴胡的不同器官中总黄酮、可溶性多糖、醇溶性浸出物和挥发油的含量各有优势。3 个种源北柴胡在同一环境条件下活性成分存在着差异，这可能与种源生态适应性有关，因此，可以根据不同的用途进行定向培育。

参考文献:

[1] 谭玲玲, 陈莹, 蔡霞, 等. 北柴胡的生物学及化学成分的研究进展[J]. 中草药, 2005, 36(9): 1431-1433.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 198.

[3] 王秀全, 李玉新, 李会成, 等. 北柴胡种源地性的 RAPD 分析[J]. 中药材, 2003, 26(12): 855.

[4] 王德文, 陈淑霞. 药用动植物种养加工技术[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2001: 60-81.

[5] 齐凯泰. 柴胡提取物防醉作用的研究[J]. 天然产物研究与开发, 1995, 17(3): 20-23.

[6] 陈莹, 谭玲玲, 蔡霞, 等. 柴胡属植物化学成分研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2006, 25(2): 4-6.

[7] 张亮, 胡海宝. 南柴胡多糖分离与组成的初步研究[J].

中草药, 2000, 31(9): 647-647.

[8] Hollingsworth M L, Hollingsworth P M, Jenkins G L, *et al.* The use of molecular markers to study patterns of genotypic diversity in some invasive alien Fallopia spp. (Polygonaceae)[J]. Mol Ecol, 1998, 7: 1681-1691.

[9] Fang D Q, Krueger R R, Roose M L. Phylogenetic relationships among selected Citrus germplasm accessions revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) Markers[J]. J Am Soc Hort Sci, 1998, 123: 612-617.

[10] 杜景红, 左廷兵, 李凤兰, 等. 柴胡属植物(*Bupleurum* L.)研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2003, 34(3): 352-359.

[11] 谢志明, 初敬华, 张朝举. 北柴胡在白城地区的驯化栽培研究[J]. 现代农业科技, 2009(4): 22.

[12] 侯典云, 马占强, 王荔. 柴胡 GAP 栽培技术[J]. 现代农业科技, 2006(03s): 13.

[13] 刘永春, 丛陪臣. 柴胡的化学成分及药理作用研究概况[J]. 黑龙江医药, 2006, 3(19): 216-218.

[14] 周平, 谢东浩, 陈俊, 等. 不同采收期春柴胡中总黄酮的含量测定[J]. 药学与临床研究, 2007, 15(6): 467-467.

[15] 刘鹏飞, 程爱卿, 邓天昇, 等. 苦参中总黄酮含量的测定及分布研究[J]. 中成药, 2007, 29(4): 596-598.

[16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 198.

[17] 王斌, 张腾霄, 刘利军. 明水县不同采收期柴胡多糖含量动态积累分析[J]. 人参研究, 2009(2): 12-15.

[18] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录 56.

[19] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录 57.

[20] 谢东浩, 王团结, 欧阳臻, 等. 不同采收期春柴胡挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 现代中药研究与实践, 2008, 22(6): 48-49.

[21] 谭玲玲, 胡正海, 蔡霞, 等. 北柴胡营养器官中主要化学成分的组织化学定位及其含量比较[J]. 分子细胞生物学报, 2007, 40(4): 214-222.

(上接第 113 页)

fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes[J]. Journal of AOAC International, 2005, 88: 630-633.

[12] Anastassiadas M, Lehotay S J, Stajnbaher D. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and ‘dispersive solid-phase extraction’ for the determination of pesticide residues in produce[J]. Journal of AOAC International, 2003, 86: 412-413.

[13] Lehotay S J. Quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (QuEChERS) approach for determining pesticide residue[M]. USA: Humana Press, 2004.

[14] Katerina M, Kelly J D, Strven J L, *et al.* Analysis in cereal grains using modified QuEChERS method combined with automated direct sample introduction GC-TOFMS and UPLC-MS/MS techniques[J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(10): 5959-5972.

[15] 孙洪涛. 4.5% 高效氯氰菊酯水乳剂分析方法的研究[J]. 中国石油和化工标准与质量, 2007(11): 40-42.

[16] 钱坤, 谭辉华, 伍华英, 等. 20% 烯唑醇·高效氯氰菊酯水乳剂高效液相色谱分析[J]. 农药, 2008, 47(7): 511-512.

[17] 何盼, 尹艳丽, 游永. 7% 阿维菌素·高效氯氰菊酯乳油的高效液相色谱分析[J]. 农药科学与管理, 2006, 25(7): 8-11.

[18] 陈家春, 贾敏如. 中、美、英、日和欧洲药典中植物药重金属和农药残留量的限量规定及分析[J]. 华西药学杂志, 2005, 20(6): 525-527.