

# 同株凤丹皮的不同部位中丹皮酚和芍药苷的含量比较

纪开明<sup>1\*</sup>, 方成武<sup>2,3</sup>, 管玉云<sup>1</sup>, 管大平<sup>1</sup>

(1. 铜陵市食品药品检验中心, 安徽 铜陵 244000;

2. 安徽中医药大学, 合肥 230031; 3. 亳州职业技术学院, 安徽 亳州 236800)

**[摘要]** 目的: 采用高效液相色谱法, 比较同地同株凤丹皮中不同部位的丹皮酚和芍药苷含量差异。方法: 采用 Waters VP-ODS-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 丹皮酚含量测定流动相甲醇-水(55:45), 检测波长 274 nm, 柱温 35 °C, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 芍药苷含量测定流动相乙腈-0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(20:80), 检测波长 230 nm, 柱温 35 °C, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果: 丹皮酚在 1.073 ~ 5.365 μg, 芍药苷在 0.593 ~ 2.965 μg 均呈良好线性关系, 相关系数分别为 0.999 9, 0.999 1, 平均回收率丹皮酚为 99.96% (RSD 0.72%), 芍药苷为 99.03% (RSD 0.49%)。结论: 在选定的同株凤丹皮最细部位的丹皮酚和芍药苷含量均高于最粗部位及中等部位。

**[关键词]** 凤丹皮; 丹皮酚; 芍药苷; 不同部位

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)18-0054-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014180054

## Content Comparison of the Paeonol and Paeoniflorin on Different Part of One Feng-cortex Moutan

Ji Kai-ming<sup>1\*</sup>, Fang Cheng-wu<sup>2,3</sup>, Guan Yu-yun<sup>1</sup>, Guan Da-ping<sup>1</sup>

(1. Institute for Food and Drug Control of Tongling, Tongling 244000, China;

2. Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China;

3. Bozhou Vocational and Technical College, Bozhou 236800, China)

**[Abstract]** **Objective:** Analysis and comparison the paeonol and paeoniflorin on different part of one Feng-Cortex Moutan by HPLC. **Method:** Using the Waters VP - ODS - C<sub>18</sub> chromatographic column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm). Mobile phase for the paeonol: methanol-water (55:45), detection wavelength 274 nm, column temperature 30 °C, the flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. Mobile phase for the paeoniflorin: acetonitrile - 0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (20:80), detection wavelength 230 nm, column temperature 30 °C, the flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. **Result:** Paeonol and paeoniflorin had good linear relationship in 1.073-5.365 μg and 0.593-2.965 μg, the 'r' was 0.999 9 and 0.999 1, the average recovery for the paeonol was 99.96% (RSD 0.72%), the average recovery for the paeoniflorin was 99.03% (RSD 0.49%). **Conclusion:** The experiments show that the content of the paeonol and paeoniflorin located at the thinnest part of the chosen Feng-Cortex Moutan is much more higher than the rest part.

**[Key words]** Feng-Cortex Moutan; paeonol; paeoniflorin; different parts

凤丹皮是安徽著名的道地药材,其最著名的产区为铜陵县新桥镇凤凰村,故名“凤丹”。牡丹皮是

一种常用中药,味苦、辛,性微寒,具有清热凉血、活血化瘀、退虚热的功效,可用于治疗温毒发斑、吐血

**[收稿日期]** 20130829(015)

**[基金项目]** 国家“十二五”科技支撑计划(2011BAI04B05); 国家中医药管理局项目(201107009); 安徽省食品药品监督管理局系统科研资助项目(0011)

**[第一作者]** 纪开明, 硕士, 主管药师, 从事药品检验与质量标准研究, Tel:0562-2831625, E-mail: jkin125@sina.com

**[通讯作者]** \*方成武, 硕士, 教授, 从事中药资源与质量标准研究, E-mail: cwfang1961@sina.com

衄血、夜热早凉、无汗骨蒸、闭经痛经、痈肿疮毒及跌打伤痛等<sup>[1-2]</sup>。丹皮酚等酚酸类成分和芍药苷等糖苷类成分是其主要有效成分<sup>[3-4]</sup>。丹皮酚具有抗动脉硬化、抗心率失常、保护缺血组织、促进微循环、增强免疫力、抗癌、抑菌等作用<sup>[5-6]</sup>;芍药苷具有保护脑神经细胞和心肌、抗局灶性脑缺血、提高造血机能、肿瘤抑制、免疫调节等生物活性<sup>[7-9]</sup>。

在牡丹皮及其复方制剂的质量标准中多用丹皮酚为定量控制指标,而在2010年版《中国药典》上亦有以芍药苷为定量控制指标的<sup>[10]</sup>,例如归芍地黄丸、血美安胶囊、参茸固本片、消银片。近十年来,香港中药材质量标准研究中已经将牡丹皮以多成分、多指标来控制(丹皮酚不得少于1.1%,芍药苷不得少于0.49%)。考虑到芍药苷是牡丹皮中活性成分,本实验采用高效液相色谱法,同时测定道地产区同株不同部位的风丹皮中丹皮酚和芍药苷的含量,探寻风丹皮中指标性成分是否与药材粗细有关,是否均匀地分布在药材各部位;为风丹皮的等级划分以及质量标准提高、全面评价内在质量提供科学参考依据。

## 1 材料

风丹皮样品2012年11月12日采挖于北京同仁堂安徽铜陵中药材GAP种植基地,经安徽中医药大学方成武教授鉴定为芍药科多年生落叶灌木风丹 *Paeonia ostii* T. Hong et J. X. Zhang 的干燥根皮<sup>[11]</sup>;丹皮酚(批号110708-200506)、芍药苷(含量96%,批号110736-201136)对照品均购自中国食品药品检定研究院。

Waters e2695 型高效液相色谱仪(包括 Waters 2489UV/visible Detector 紫外检测器, Waters Millennium32 工作站), AB135-S 型 1/10 万电子天平和 GB-204 型 1/1 万电子天平(瑞士梅特勒)。

## 2 方法

**2.1 色谱条件** 丹皮酚: Waters VP-ODS-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(55:45), 检测波长 274 nm, 柱温 35 °C, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 芍药苷: Waters VP-ODS-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (20:80), 检测波长 230 nm, 柱温 35 °C, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量 10 μL。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取对照品丹皮酚 10.73 mg、芍药苷 12.35 mg 分别置于 50, 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成丹皮酚为 0.214 6 g·L<sup>-1</sup>, 芍药苷为 0.118 6 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取样品粗粉(过 60 目)

约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 摇匀, 称定质量, 超声处理(功率 300 W, 频率 50 Hz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量。摇匀滤过, 续滤液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

**2.4 线性关系考察** 精密吸取 2.2 项下的对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25 μL, 分别注入高效液相色谱仪, 测定丹皮酚和芍药苷峰面积, 以进样量(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 得回归方程为丹皮酚  $Y = 7.9 \times 10^5 X - 4.6 \times 10^4$  ( $r = 0.9999$ )。芍药苷  $Y = 2.3 \times 10^6 X + 3.7 \times 10^5$  ( $r = 0.9991$ )。结果表明, 丹皮酚在 1.073 ~ 5.365 μg, 芍药苷在 0.593 ~ 2.965 μg 呈良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 吸取同一供试品溶液 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 连续重复进样 6 次, 测定丹皮酚和芍药苷的峰面积, 结果丹皮酚的峰面积 RSD 0.45%, 芍药苷的峰面积 RSD 0.74%。表明本方法精密度较好。

**2.6 稳定性试验** 吸取同一供试品溶液 10 μL, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 注入高效液相色谱仪, 测定丹皮酚和芍药苷的峰面积, 结果丹皮酚的峰面积 RSD 0.95%, 芍药苷的峰面积 RSD 1.64%。表明供试品溶液在 10 h 内稳定性较好。

**2.7 重复性试验** 取同一批风丹皮药材, 平行制备 6 份供试品溶液, 测得丹皮酚的平均质量分数为 2.26% (RSD 0.33%), 芍药苷的平均质量分数为 0.69% (RSD 1.21%), 表明该方法重复性较好。

**2.8 加样回收率试验** 取已测定含量的风丹皮样品(丹皮酚 2.05%, 芍药苷 0.56%), 约 0.25 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入丹皮酚、芍药苷对照品适量, 按 2.1 项下操作, 平行制得 6 份加样供试品溶液。分别吸取加样供试品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定丹皮酚和芍药苷的含量, 计算加样回收率及 RSD, 见表 1。

**2.9 样品含量测定** 选取金沙土壤种植的 4 年生风丹皮田地, 精选 10 株采挖, 鲜品去芯, 按粗细分成最粗部位、中等部位和最细部位, 即一等品、二等品、三等品, 传统方法晾干, 按 2.3 项下制备供试品溶液, 每株样品称取两份, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 计算样品中丹皮酚和芍药苷的平均含量, 见表 2。

## 3 讨论

人们习惯的认为丹皮的生长年限越长质量越好, 枝干越粗质量越好。此次实验以育苗移栽后

表 1 凤丹皮中丹皮酚、芍药苷加样回收率试验

	取样量 /g	加样量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
丹皮酚	0.273	6.558	12.225	100.99	99.96	0.72
	0.259		11.796	99.04		
	0.270		12.041	99.26		
	0.266		12.008	100.09		
	0.263		11.974	100.41		
	0.266		12.018	99.99		
芍药苷	0.275	2.197	3.712	98.93	99.03	0.49
	0.263		3.637	98.60		
	0.272		3.704	99.26		
	0.255		3.590	98.34		
	0.266		3.676	99.57		
	0.268		3.687	99.46		

表 2 同地同株不同分枝的凤丹皮中丹皮酚和芍药苷的含量 %

部位	样品	丹皮酚	平均值	芍药苷平	平均值
最粗部位 (一等品)	一株	2.05	3.18	0.56	0.63
	二株	1.81		0.76	
	三株	1.44		0.65	
	四株	1.55		0.70	
	五株	1.52		0.65	
	六株	1.53		0.62	
	七株	1.62		0.59	
	八株	1.65		0.57	
	九株	1.71		0.54	
	十株	1.83		0.64	
中等部位 (二等品)	一株	4.64	4.06	0.90	1.00
	二株	2.19		1.00	
	三株	2.78		0.63	
	四株	2.55		0.80	
	五株	3.52		0.78	
	六株	3.43		0.76	
	七株	3.62		0.81	
	八株	3.05		0.85	
	九株	3.12		0.79	
	十株	2.89		0.82	
最细部位 (三等品)	一株	4.91	4.06	1.08	1.00
	二株	3.74		1.17	
	三株	3.60		0.90	
	四株	3.65		0.98	
	五株	3.86		0.88	
	六株	3.96		0.96	
	七株	4.03		0.95	
	八株	4.25		0.96	
	九株	4.56		1.03	
	十株	4.02		1.07	

金沙土壤种植 4 年生凤丹皮的根皮为研究对象,结果显示,同地同株不同部位中最细部位的丹皮酚和芍药苷含量均高于最粗部位和中等部位,当然这种分类仅凭个人感官认识区分,但相对来说,一株丹皮药材中最细部位的含量稍高是毫无疑问的。传统叫法的一等品、二等品、三等品等的等级划分并不能体现其内在主成分含量的高低,而是在药材合格的前提下,综合其外观、色泽、质地等特征予以区分。

本实验结果表明,同株不同部位的凤丹皮中丹皮酚和芍药苷的含量差异较大,且最细部位的药用成分含量较高。本课题组专家结合以往的研究成果推断,牡丹皮中指标性成分主要集中在表皮,枝干越粗,肉质越多,指标性成分的含量就相对占少数。本研究可为更科学、更全面地对道地药材凤丹皮进行质量评价、等级的划分以及质量标准的提升提供参考。亦可能颠覆人们长期以来的一贯思想——个头粗大,外表美观的质量一定就好。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 160, 642, 694, 863, 1038.

[2] 方成武, 杨晨, 刘晓龙, 等. 安徽凤丹摘花蕾与砍老枝对根皮产量影响的研究[J]. 中药材, 2009, 33(12): 1801.

[3] 王祝举, 唐力英, 赫炎. 牡丹皮的化学成分和药理作用[J]. 国外医药: 植物药分册, 2006, 21(4): 155.

[4] 吴少华, 马云保, 罗晓东, 等. 丹皮的化学成分研究[J]. 中草药, 2002, 33(8): 679.

[5] 石琳, 范盘生. 丹皮酚对实验性动脉硬化及血小板聚集的抑制作用[J]. 中国药理学报, 1998, 9(6): 555.

[6] 戴敏, 刘青云, 顾承刚, 等. 丹皮酚对脂质过氧化反应及低密度脂蛋白氧化修饰的抑制作用[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(10): 625.

[7] 孙蓉, 衣银萍, 吕丽莉, 等. 芍药苷对大鼠全脑缺血模型的影响[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(23): 2521.

[8] 杨军, 何丽娜, 何素冰, 等. 芍药甙对大鼠皮层神经细胞钙超载损伤的保护作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2001, 16(3): 164.

[9] 郭平, 王继峰, 王升启. 芍药苷对放射线致血虚证小鼠骨髓 Epo 和 G-CSF 基因的影响[J]. 山东中医药大学学报, 2005, 29(3): 236.

[10] 洪德元, 潘开玉. 芍药属牡丹组的分类历史和分类处理[J]. 植物分类学报, 1999, 37(4): 351.

[责任编辑 顾雪竹]