

去皮与不去皮白芍饮片的色谱鉴别 及其芍药苷含量测定比较

于定荣,张村,顾雪竹,麻印莲*

(中国中医科学院中药研究所,北京 100700)

[摘要] **目的:**建立去皮与不去皮白芍饮片鉴别方法,并进行含量测定比较研究,为白芍饮片质量控制提供依据。**方法:**采用 TLC 和 HPLC 对去皮与未去皮白芍饮片进行定性鉴别,并对芍药苷含量测定结果进行比较。**结果:**两种白芍饮片的 TLC 图谱及 HPLC 图谱差异显著,未去皮白芍饮片比去皮白芍饮片多出 1 个斑点;HPLC 图谱显示两种饮片均含有 12 个共有峰,但未去皮白芍饮片比去皮白芍饮片多出 2 个色谱峰,可以用于两种饮片的鉴别;未去皮白芍饮片中芍药苷含量高于去皮白芍饮片中芍药苷含量。**结论:**白芍去皮后,芍药苷含量有所下降;建立的 TLC 和 HPLC 鉴别方法简便易行,可有效地区分去皮与未去皮白芍饮片,丰富了白芍饮片的质量测定方法。

[关键词] 白芍; 去皮饮片; 不去皮饮片; 芍药苷; 色谱鉴别; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0159-03

[doi] 10.11653/syfj2013210159

Comparing the Identification by Chromatography and the Content of Paeoniflorin of Peeled and Unpeeled Pieces and of Paeoniae Radix Alba

YU Ding-rong, ZHANG Cun, GU Xue-zhu, MA Yin-lian*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a new method to identify the peeled and unpeeled pieces and provide the basis of quality control for the pieces of Paeoniae Radix Alba by determining the content of paeoniflorin. **Method:** Two samples were identified by TLC and the content of paeoniflorin was compared by HPLC chromatography. **Result:** There had significant differences in two kinds of pieces. The unpeeled pieces had one extra spots more than the peeled pieces and the HPLC chromatography showed two extra peaks expect 12 common peaks. The content of paeoniflorin in Paeoniae Radix Alba decreased after peeled. **Conclusion:** The content of paeoniflorin in Paeoniae Radix Alba decreased after peeled and the established method was simple; it could be used for evaluation of different pieces of Paeoniae Radix Alba. Meanwhile, it also enriches the quality evaluation method.

[Key words] Paeoniae Radix Alba; peeled pieces; unpeeled pieces; paeoniflorin; chromatographic identification; assaying

白芍为毛茛科植物芍药的干燥根,具有平肝止痛、养血调经、敛阴止汗等功效^[1]。白芍炮制方法

是煮后去皮或者去皮后再煮^[1]。临床上应用的白芍均经过去外种皮和水煮处理。有研究资料表明,白芍除去的种皮中仍含有芍药苷,但被除去的外皮中不仅含有与白芍相同的化学成分,也含有与白芍不具有的其他成分^[2]。目前,白芍的研究报道甚多,但将水煮去皮与水煮不去皮白芍饮片进行 TLC, HPLC 色谱鉴别及芍药苷含量测定的对比研究尚未见报道。本试验将水煮去皮与水煮不去皮白芍饮片

[收稿日期] 20130412(004)

[第一作者] 于定荣,博士,助理研究员,从事中药制剂与炮制研究, Tel: 010-84018690, E-mail: yudingrong0826@sina.com

[通讯作者] *麻印莲,实验师,从事中药制剂与炮制研究, Tel: 010-84018690, E-mail: mayinlian0011@sohu.com

进行色谱鉴别及含量测定对比研究,为建立合理、有效的白芍饮片质量评价方法提供科学依据。

1 材料

岛津 LC-20A 高效液相色谱仪 (LC-20AT 泵, SPD-M20A 检测器、Empower 2 数据处理软件,日本岛津仪器(苏州)有限公司),芍药苷对照品(批号 110736-201136,购于中国食品药品检定研究院,供含量测定)。水为重蒸馏水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 白芍饮片供试品制备

2.1.1 白芍药材的采集 白芍采自安徽省亳州市谯城区谯东镇余集,样本经中国中医科学院中药研究所胡世林教授鉴定为毛茛科植物白芍 *Paeonia lactiflora* Pall. 的根。

将原药根洗净,除去头尾和细根,至沸水中煮至透心,取出,将其中的一部分直接晒干;制备得水煮不去皮白芍药材;将另外一部分放入装有沙子的自动脱皮机中去皮,得水煮去皮白芍药材。晒干,备用。

2.1.2 白芍饮片的制备 将 2.1.1 项下的白芍药材,分别用水浸泡,润软后切片,制备得去皮与不去皮白芍饮片,晒干,备用。

2.2 供试品溶液的制备 取去皮与未去皮白芍饮片各 0.1 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加稀乙醇 35 mL,超声处理(功率 240 W,频率 45 kHz) 30 min,放冷,加稀乙醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

2.3 TLC 鉴别 取本品中粉 2.5 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加稀乙醇 35 mL,超声处理(功率 240 W,频率 45 kHz) 30 min,放冷,滤过。洗涤滤渣和滤器,合并滤液,蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。

另取芍药苷对照品,加乙醇制成每 1 mL 含 1.11 mg 溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(附录 VI B)试验,吸取上述 2 种溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,加热至斑点显色清晰。

2.4 HPLC 图谱鉴别^[3-4]

2.4.1 色谱条件 Kromasil 100-5C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱,检测波长 232 nm,柱温 37 °C,进样量 10 μL,流速 0.8 mL·min⁻¹。

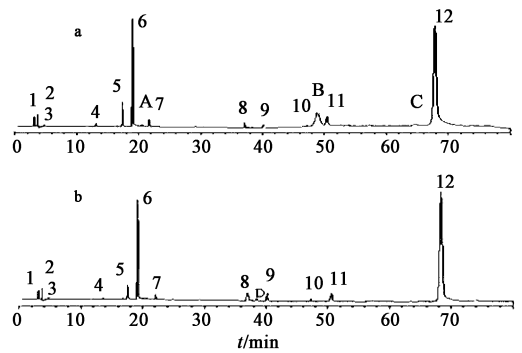
流动相 A 为乙腈, B 为 0.1% 磷酸溶液,梯度洗

脱(0 ~ 2.5 min, 10% ~ 13% A; 2.5 ~ 7.7 min, 13% ~ 16% A; 7.7 ~ 8.5 min, 16% ~ 17% A; 8.5 ~ 11 min, 17% ~ 19% A; 11 ~ 12 min, 19% ~ 21% A; 12 ~ 24 min, 21% ~ 25% A; 24 ~ 28 min, 25% ~ 38% A; 28 ~ 42 min, 38% ~ 59% A; 42 ~ 60 min, 59% ~ 60% A; 60 ~ 70 min, 60% ~ 60% A; 70 ~ 80 min, 60% ~ 10% A)。

2.4.2 流动相选择 参考文献多以乙腈和磷酸溶液为流动相^[5-7],故选择乙腈和磷酸溶液为流动相。

2.4.3 检测波长的选择 以 SPD-M20A 检测器对所有色谱峰进行 190 ~ 400 nm 波长选择,比较了 197, 232, 254, 265, 274 nm 处的色谱图,发现波长为 232 nm 时基线较平稳,色谱峰数量较多且分离度较好,因此选择 232 nm 作为检测波长。

2.4.4 样品 HPLC 色谱图的采集 分别吸取 2.2 项下供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,以 2.4.1 项下色谱条件分别采集色谱图。在此条件下去皮与未去皮白芍饮片中可鉴定有 12 个共有峰,结果见图 1。



a. 未去皮; b. 去皮

图 1 白芍饮片 HPLC

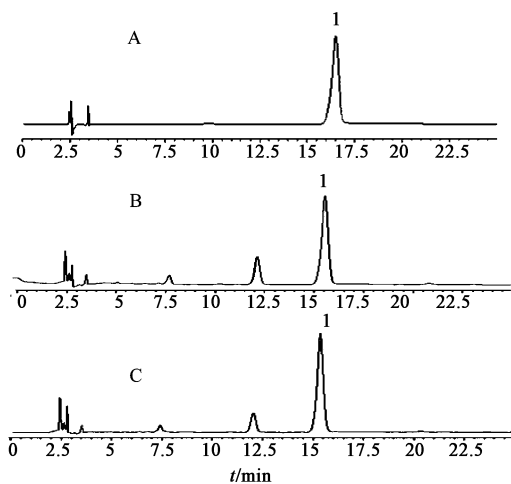
结果显示,去皮与未去皮白芍饮片 HPLC 图谱有显著差异,其中 1 ~ 12 号为 2 种饮片的共有峰,第 6 号峰(保留时间约 18.719 min 处)为芍药苷;未去皮白芍饮片色谱比去皮白芍饮片色谱要多出 A ~ C 3 个色谱峰;但去皮白芍饮片的各色谱中有 D 色谱峰,这可以作为两种饮片的 HPLC 图谱鉴别特征。

2.5 含量测定^[8-9]

2.5.1 对照品溶液的制备 取芍药苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 64.6 μg 的溶液,即得对照品溶液。

2.5.2 芍药苷含量测定 按药典白芍中芍药苷含量测定项下方法测定。色谱条件:Kromasil 100-5C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱,流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(14:86),检测波长 230 nm,柱温

30 ℃,进样量 10 μL,流速 1.0 mL·min⁻¹。理论塔板数按芍药苷峰计算均不低于 2 000。在此条件下,芍药苷与其他组分均能较好地达到基线分离,色谱见图 2。



A. 对照品; B. 未去皮; C. 去皮; 1. 芍药苷

图 2 芍药片 HPLC

分别精密吸取 2.2 项下供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,以 2.5.2 项下色谱条件进样,测定,即得。以干燥品计算各供试品溶液中芍药苷含量,结果见表 1。

表 1 去皮与未去皮白芍饮片中芍药苷含量测定 (n=2)

No.	芍药苷/%
未去皮白芍饮片	3.201 5
去皮白芍饮片	3.164 5

结果表明,未去皮白芍饮片中芍药苷含量高于去皮白芍饮片中芍药苷,证明白芍种皮中含有芍药苷。

3 讨论

以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)^[1]为流动相,薄层色谱中各斑点分离度较好,明显地显示出未去皮白芍饮片比去皮白芍饮片多出 1 个浅蓝色的点,能清晰地区别去皮

与未去皮白芍饮片,表明白芍除去的种皮中还有其他成分。

本文建立了水煮去皮与水煮未去皮白芍饮片 TLC、HPLC 色谱鉴别方法进行了定性分析,能清晰地反映出两种不同方法炮制的白芍饮片的异同点,有效地区分了去皮白芍饮片与不去皮饮片。在此基础上,结合两种饮片中有效成分芍药苷含量的定量分析,不仅为规范白芍饮片炮制方法提供了参考,也为白芍饮片的质量控制提供了更为全面的方法。

[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,2010:96.
- [2] 郑虎占. 中药现代研究与应用[M]. 北京:学苑出版社,1997:1492.
- [3] 李越峰,严兴科,沈菲,等. 白芍 HPLC 指纹图谱相似度的分析研究[J]. 中成药,2008,30(7):942.
- [4] 李丽,肖永庆,于定荣,等. 去皮与不去皮桔梗饮片的色谱鉴别[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(20):66.
- [5] 赫炎,赵慧东,唐力英,等. 白芍饮片 HPLC 指纹图谱的定量标示研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(12):1161.
- [6] 朱如彩,蔡萍,李雅,等. 不同产地白芍 HPLC 指纹图谱及芍药苷和芍药内酯苷含量的比较研究[J]. 湖南中医药大学学报,2012,32(3):34.
- [7] 唐抗. 杭白芍炮制前后特征图谱比较研究[J]. 南京中医药大学学报,2011,27(4):369.
- [8] 李瑞丽,张玉东. 妇科养坤丸的薄层色谱鉴别[J]. 长春中医药大学学报,2007,23(4):33.
- [9] 王巧梅,薛桂蓬,邢建国,等. 芪天胶囊中红景天苷和芍药苷的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(1):88.

[责任编辑 顾雪竹]