

HPLC 测定黄牡丹不同部位中芍药苷的含量

冯源, 王胤, 周浓*, 姜北, 余燕
(大理学院, 云南 大理 671000)

[摘要] 目的: 建立黄牡丹中芍药苷的含量测定方法并考察黄牡丹不同部位中芍药苷的含量。方法: 采用高效液相色谱法, Agilent TC-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液 (12:88), 检测波长 235 nm, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C。结果: 芍药苷进样量在 0.40 ~ 4.00 μg, 与峰面积具有良好的线性关系, 回归方程 $A = 1\,095.3\,C + 31.608$ ($r = 0.999\,9$), 平均回收率 100.59%, RSD 1.66%。芍药苷在不同部位中的含量分布为果实 > 叶 > 栓皮 > 皮部 > 茎 > 木部。结论: 本方法简便、快速、准确, 重复性好, 芍药苷可作为控制黄牡丹药材质量的一个指标成分。

[关键词] 黄牡丹; 芍药苷; 高效液相色谱法; 不同部位; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0139-04

[DOI] CNKI:11-3495/R.20120224.1733.001 **[网络出版时间]** 2012-02-24 17:33

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120224.1733.001.html>

Determination of Paeoniflorin in Different Parts of *Paeonia delavayi* var. *lutea* by HPLC

FENG Yuan, WANG Yin, ZHOU Nong*, JIANG Bei, YU Yan
(Dali University, Dali 671000, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a HPLC method to determine paeoniflorin in *Paeonia delavayi* var. *lutea*, and to investigate content of paeoniflorin in different parts of *P. delavayi* var. *lutea*. **Method:** The analysis was carried out at 30 °C on a TC-C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) eluted with a mobile phase consisting of a mixture of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (12:88). The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹; and the detected wavelength was 235 nm. **Result:** The calibration curve was linear within the concentration ranges of 0.40-4.00 μg. The regression equation was $A = 1\,095.3\,C + 31.608$ ($r = 0.999\,9$). The average recovery was 100.59%, while RSD was 1.66%. The concentration distribution of paeoniflorin in different parts of *P. delavayi* var. *lutea* is as follows; fruit > leaf > cork > cortex > stem > xylem. **Conclusion:** This method is simple, accurate and with good repeatability. The paeoniflorin can be selected as a quality control component in *P. delavayi* var. *lutea*.

[Key words] *Paeonia delavayi* var. *lutea*; paeoniflorin; HPLC; different parts; content determination

黄牡丹为毛茛科植物黄牡丹,其干燥根在云南省常作为中药赤芍使用。其味酸、苦,性微寒,具有泻肝火、散恶血的功效,临床用于腹痛,胁痛,坚积,血痹,癥瘕,肠风,痢肿,目赤,妇女经闭^[1]。黄牡丹

特产于我国云南、四川西南部及西藏东南部,是国家三级重点保护的珍稀植物^[2]。目前关于黄牡丹的研究资料表明,其根皮、根、花等均有入药使用的习惯^[1-4]。黄牡丹含芍药苷、丹皮酚、挥发油及植物甾醇等多种化学成分^[4],其主要有效成分芍药苷具有神经保护、离子通道、抗伤害性疼痛、保肝、降血糖、抑制肿瘤、免疫调节等作用^[5-7]。

查阅相关文献发现,国内外关于黄牡丹的研究较少且不系统,仅对其系统分类、染色体、孢粉学、种子萌发、栽培与育种等方面有少量文献报道^[8-9]。目前尚无特有指标成分的含量控制黄牡丹药材质

[收稿日期] 20111102(005)

[第一作者] 冯源, 博士, 讲师, 从事药用植物学研究, Tel: 0872-2219051, E-mail: fengyuancoral@163.com

[通讯作者] *周浓, 硕士, 副教授, 从事药用植物栽培与质量控制, Tel: 0872-2257411, E-mail: erhaizn@126.com

量,而且各个部位有效成分的含量高低尚不明确。本试验拟采用 HPLC 对黄牡丹各部位中芍药苷的含量测定,以期为黄牡丹的内在质量评价及赤芍新资源的开发利用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 1100 LC 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), RE-2000 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂), SHZ-III 循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司), AE240 天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司], FZ102 型微型植物试样粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司)。

1.2 试药 芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110736-200934,供含量测定用),乙腈为色谱纯(德国默克试剂公司),水为娃哈哈牌纯净水,其他试剂均为国产分析纯。

黄牡丹样品于 2010 年 6 月采集于云南省大理市花甸坝,并经大理学院药学院生药学教研室周浓副教授鉴定为毛茛科植物黄牡丹 *Paeonia delavayi* var. *lutea* (Franch.) Finet et Gagnep. 的全株。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(12:88), 检测波长 235 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。对照品和黄牡丹样品分离的色谱图见图 1。

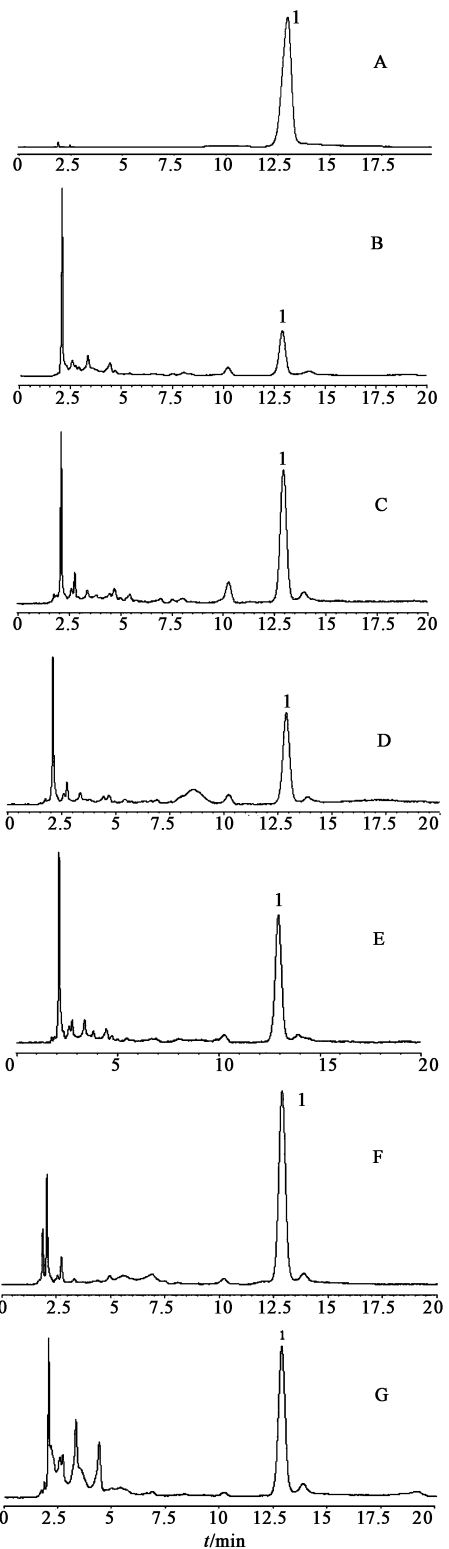
2.2 溶液的制备

2.2.1 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 400 μg 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品粗粉约 0.10 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加 50% 乙醇 20 mL,浸泡 2 h,超声处理 30 min,取出,放冷,加 50% 乙醇稀释至刻度,摇匀,取上清液,即得。

2.3 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液(含芍药苷 400 mg·L⁻¹) 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL, 注入液相色谱仪,得进样量 C (μg) 与峰面积 A 的线性方程。结果表明,芍药苷进样量在 0.40 ~ 4.00 μg 与峰面积成良好的线性关系,回归方程 $A = 1\,095.3C + 31.608$ ($r = 0.9999$)。

2.4 精密度试验 取芍药苷对照品溶液(400 mg·L⁻¹),进样量 10 μL,连续测定,进样 6 次,测定芍药苷对照品峰面积的 RSD 为 1.60%,表明仪器精密度良好。



A. 对照品; B. 根皮; C. 皮部; D. 木部; E. 茎; F. 叶; G. 果实; 1. 芍药苷

图 1 芍药苷对照品及黄牡丹各部位样品的 HPLC

2.5 重复性试验 取同一份样品(1号样品的皮部)粉末 6 份,按 2.2.2 项下供试品溶液的制备方法制备及 2.1 项下色谱条件测定,测得芍药苷的平均质量分数为 2.252 1%, RSD 1.74%,表明本方法重

复性良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液(1号样品的皮部),室温密闭放置,分别在制备后0,1,3,6,9,12 h进样,测定芍药苷峰面积,RSD 0.60%,表明样品溶液在12 h内稳定。

表1 黄牡丹药材加样回收率试验结果

称样量/g	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
0.051 4	1.140 8	0.880 0	2.011 7	98.97		
0.050 1	1.112 0	0.880 0	2.013 1	102.40		
0.050 6	1.123 1	0.880 0	2.020 1	101.93		
0.050 4	1.118 6	1.120 0	2.216 5	98.03		
0.050 8	1.127 5	1.120 0	2.248 1	100.05	100.59	1.66
0.051 4	1.140 8	1.120 0	2.265 7	100.44		
0.050 9	1.129 7	1.280 0	2.412 9	100.25		
0.050 6	1.123 1	1.280 0	2.439 9	102.88		
0.051 9	1.151 9	1.280 0	2.434 1	100.17		

2.8 样品含量测定 分别按2.2.2项下供试品溶液制备方法制备,平行3份,按2.1项下色谱条件测定,以峰面积代入回归方程中计算芍药苷的含量,结果见表2。

表2 黄牡丹不同部位中芍药苷的含量(n=3) %

No.	栓皮	皮部	木部	茎	叶	果实
1	3.7729	2.252 1	1.814 3	2.116 5	5.702 7	5.848 8
2	3.623 7	2.191 7	1.804 0	2.007 4	5.373 1	5.603 0

3 讨论

供试品溶液制备方法的选择:试验中分别考察了超声提取、加热回流、索氏提取等方法的提取效果,以超声提取法的提取效率最高^[10-11]。而超声提取法中,又分别比较了不同的溶剂(水、甲醇、乙醇)、不同的浸泡时间、不同的提取时间等的提取效果,试验表明以50%乙醇为提取溶剂,浸泡2 h,提取30 min可将黄牡丹中的芍药苷基本提取完全。

流动相的选择:在流动相系统的选择中,比较了甲醇-水、乙腈-水等流动相系统^[12-17],从分离情况和出峰时间等综合分析选择乙腈-0.1%磷酸溶液(12:88)等度洗脱为佳,峰形对称且分离度较好,保留值适宜,柱后处理简便、省时。

检测波长的选择:用二极管阵列检测器在本试验溶剂体系条件下,分析了芍药苷对照品色谱峰和12个样品中目标组分相应色谱峰的紫外光谱,结果保留值相同处紫外光谱基本一致,芍药苷在235 nm处有最大吸收。待测组分与杂质峰基本能基线分

2.7 加样回收率试验 精密称取已知含量的黄牡丹药材约0.050 g(1号样品的皮部),共9份,分别精密加入一定量的芍药苷对照品,按2.2.2项下供试品溶液的制备方法制备及2.1项下色谱条件测定,结果见表1。

离,检测灵敏度高,因此,确定芍药苷检测波长为235 nm。

本研究以芍药苷为考察指标,对不同产地、不同部位黄牡丹中芍药苷含量的比较,在各部位的平均含量分布状态为果实>叶>栓皮>皮部>茎>木部,所得的结论与文献[15-16]报道的基本一致,而黄牡丹地上部分(叶、果实)的芍药苷甚至超过传统入药部位的根,提示这些部位均可作为提取物的制备原料。黄牡丹不同部位在功用方面的差别,除受芍药苷含量的影响外,还与其他活性成分有关,值得深入研究。

黄牡丹为1996年版《云南省药品标准》收载的滇产赤芍^[1],其传统入药部位(栓皮、皮部、木部)芍药苷含量较高,均在1.8%以上,符合2010年版《中国药典》一部赤芍中芍药苷含量限度(不得少于1.8%)^[17],但一直未被历版《中国药典》一部收载。在云南民间,一直把黄牡丹根当赤芍使用,因此笔者认为黄牡丹有望作为赤芍的另外一个来源,但这些滇产赤芍品种是否能作为“正品”赤芍运用,需结合药理、药效和临床应用来对其进行进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 云南省卫生厅. 云南省药品标准(1996年版)[S]. 昆明:云南大学出版社,1998:55.
- [2] 潘开玉. 中国植物志.第27卷[M].北京:科学出版社,1979:47.
- [3] 江苏新医学院. 中药大辞典.上册[M].上海:上海科学技术出版社,1977:1127.

决明子中化学对照品红镰霉素龙胆二糖苷稳定性

姜艳艳, 徐冬艳, 王月明, 刘慧, 刘斌*, 石任兵*

(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 研究决明子中化学对照品红镰霉素龙胆二糖苷的稳定性。方法: 将红镰霉素-6-O-β-龙胆二糖苷分别置于不同温度、湿度及不同溶剂环境下处理, 采用高效液相色谱法测定含量, 计算剩余率。结果: 温度对红镰霉素龙胆二糖苷的稳定性影响较大, 湿度影响次之, 温度、湿度越高, 稳定性越差; 红镰霉素龙胆二糖苷在甲醇、乙醇中较为稳定, 在水、0.1% 盐酸溶液稳定性次之, 在0.1% 氨水溶液中稳定性最差。结论: 红镰霉素龙胆二糖苷应置于干燥器中低温或室温密封保存; 红镰霉素龙胆二糖苷对照品溶液应选择甲醇和乙醇为溶剂, 低温保存。

[关键词] 决明子; 红镰霉素龙胆二糖苷; 稳定性; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0142-04

[DOI] CNKI:11-3495/R.20120224.1733.003 **[网络出版时间]** 2012-02-24 17:33

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120224.1733.003.html>

Stability of Chemical Reference Rubrofusarin-6-O-β-gentiobioside of Semen Cassiae

JIANG Yan-yan, XU Dong-yan, WANG Yue-ming, LIU Hui, LIU Bin*, SHI Ren-bing*

(School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[收稿日期] 20111206(010)

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAI08B03-04); 北京中医药大学科研创新团队项目(2011-CXTD-12)

[第一作者] 姜艳艳, 博士, 讲师, 从事中药药效物质基础研究, Tel: 010-84738628, E-mail: jyyjm1129@163.com

[通讯作者] * 刘斌, 教授, 博士, 博士生导师, 从事中药药效物质基础与质量控制研究, Tel: 010-84738629, E-mail: liubinyn67@163.com;

* 石任兵, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础研究与药物创新研究

- [4] 王志芳, 王雁, 岳桦. 珍稀资源——黄牡丹[J]. 中国城市林业, 2007, 5(2): 59.
- [5] 孙丽荣, 曹雄, 侯凤青, 等. 芍药苷研究进展[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(18): 2028.
- [6] 王甫成, 时维静, 汪翠妮. 不同加工方法对亳白芍中芍药苷及水溶性浸出物含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 75.
- [7] 殷钢, 吴健, 夏侯福. 白芍炮制品中芍药苷水提取释放速度的初步研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 30.
- [8] 王志芳. 黄牡丹种子萌发及其营养物质和内源激素的动态变化研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2007.
- [9] 娄方芳, 赵林森, 李宗艳. 昆明西山野生黄牡丹种子休眠与萌发特性初步研究[J]. 西南林学院学报, 2007, 27(5): 34.
- [10] 黄群莲, 王利国, 唐灿. 赤芍提取工艺条件[J]. 中成药, 2010, 32(2): 303.
- [11] 彭晓霞, 张振巍. 二次正交旋转组合设计法优化赤芍醇提工艺[J]. 中药材, 2010, 33(6): 991.
- [12] 赵曼茜, 吕金嵘, 杨光, 等. 土壤无机元素对赤芍无机元素及芍药苷含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 30.
- [13] 胡世林, 付桂兰, 冯学峰, 等. 不同产地和部位赤芍中芍药苷的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(12): 714.
- [14] 全维明, 黎跃成, 陈先玉, 等. 川产赤芍中芍药苷的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(10): 1617.
- [15] 金昌东, 徐国钧, 金蓉鸾, 等. 反相 HPLC 法测定 13 种芍药根中甙类和苯甲酸的含量[J]. 中国药科大学学报, 1989, 20(3): 139.
- [16] 吴健, 赵亮. HPLC 法测定栽培芍药枯萎前后不同部位芍药苷的含量变化[J]. 中草药, 2005, 36(1): 122.
- [17] 中国药典. 一部[S]. 2010: 147.

[责任编辑 邹晓翠]