

# 高效液相色谱法测定牡丹皮中芍药苷的含量

王祝举\*, 唐力英, 赫 炎, 张启伟, 梁国刚  
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立牡丹皮中芍药苷的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱(HPLC)法, Diamonsil C<sub>18</sub>柱(5 $\mu$ m, 250mm  $\times$  4.6mm); 流动相: 甲醇-乙腈-0.02% 磷酸(25: 5: 70); 流速: 1mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 检测波长: 230nm。结果: 芍药苷在 0.111 $\mu$ g~0.555 $\mu$ g 范围内线性关系良好( $r=0.9999$ )。平均回收率为 98.63% ( $n=5$ ), RSD 为 2.56%。结论: 本法快速、灵敏、准确、可靠, 重复性好, 可用于中药牡丹皮药材及饮片的质量控制。

[关键词] 牡丹皮; 芍药苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)08-0012-02

牡丹皮为毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr. 的干燥根皮。具有清热凉血, 活血散瘀功效。用于温毒发斑或发疹, 阴虚发热, 无汗蒸骨, 肠痈, 痈肿疮毒, 肝火头痛, 闭经, 痛经, 跌扑损伤<sup>[1]</sup>。现代研究表明, 牡丹皮酚类及其苷、单萜及其苷类成分为主要有效成分。目前, 对牡丹皮中酚类成分丹皮酚的质控方法已有较多报道<sup>[2,3]</sup>, 而对其单萜苷类成分的质控方法则未见报道。我们以单萜类成分芍药苷为代表, 建立了 HPLC 测定牡丹皮中芍药苷的方法, 并对全国 10 个地区药用饮片进行了测定。为牡丹皮药材及饮片的质量控制提供参考依据。

## 1 仪器及试剂

美国 Waters 公司高效液相色谱仪(Waters Delta 600 型泵, Waters 2487 紫外检测器), Millennium 32 数据处理系统。CX-250 型超声波清洗仪器; STARIOMS 2004MP 型十万分之一电子分析天平。

高效液相色谱所用的甲醇为色谱纯, 由天津市四友生物医学技术有限公司生产。乙腈为美国 TEDIA 公司出品。芍药苷购自中国药品生物制品鉴定所(批号: 0736-200219); 水为重蒸馏高纯水。牡丹皮饮片于 2003 年购于北京等 10 地药店。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub>, 5 $\mu$ m, 250mm  $\times$  4.6mm; 流动相: 甲醇-乙腈-0.02% 磷酸(25: 5: 70);

流速: 1mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 检测波长: 230nm; 在该色谱条件下, 样品中芍药苷峰与其它非被测成分峰能够达到基线分离, 保留时间在 17min 左右, 对照品与样品的色谱图见图 1。

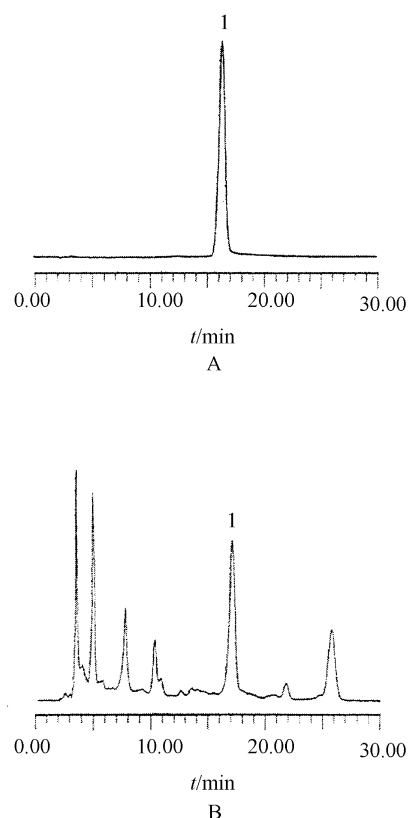


图 1 对照品及样品色谱图

A. 对照品; B. 供试品; 1. 芍药苷

2.2 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品 1.11mg, 置于 20mL 棕色量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 对照品溶液的浓度为 0.0555mg $\cdot$ mL<sup>-1</sup>, 备

[收稿日期] 2005-12-30

[通讯作者] 王祝举, Tel: (010) 64014411-2975; E-mail: wangzhuju@sina.com

用。

**2.3 供试品溶液的制备** 称取供试品粉末(过 60 目筛)约 0.1g,精密称定,置 50mL 锥形瓶中,加入甲醇 25mL,称定重量,超声处理 30min,取出,放至室温后再称定重量,用甲醇补足减去的重量,滤过。吸取少量,用 0.45 $\mu$ m 微孔滤膜过滤,作为供试液。

**2.4 线性关系考察** 精密吸取芍药苷对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 $\mu$ L, 分别进样,在上述色谱条件下测定。以进样量( $\mu$ g)为横坐标(X),以测得峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,其回归方程为  $Y = 1.1272 \times 10^6 X - 13938$  ( $r = 0.9999$ ),结果表明,芍药苷在 0.111~ 0.555 $\mu$ g 范围内,线性关系良好。

**2.5 精密度试验** 精密吸取对照品溶液 10 $\mu$ L,重复进样 5 次,测定各次峰面积,计算 RSD 值为 1.03%,所以仪器精密度良好。

**2.6 重复性试验** 取同一样品粉末 5 份,分别制备供试品溶液,在所选色谱条件下测定峰面积,计算含量,结果其 RSD 为 1.49% ( $n = 5$ ),表明该方法重复性良好。

**2.7 稳定性试验** 精密称取样品粉末 100mg,按“供试品溶液的制备”项下方法制备供试品,在所选色谱条件下分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48h 进样测定,所测峰面积 RSD 值为 1.30%,表明样品在 48h 内稳定。

**2.8 加样回收率试验** 精密称取芍药苷 7.05mg,用甲醇定容至 10mL 容量瓶中,为对照品溶液。

精密称取 5 份已知含量的牡丹皮粉末(过 60 目筛),每份 0.1g,置 50mL 锥形瓶中,分别加入对照品溶液 1mL。再加入甲醇 24mL。称定重量。超声提取 30min,取出,放至室温后再称定重量,用甲醇补足减去的重量,摇匀,滤过,吸取少量,用 0.45 $\mu$ m 微孔滤

表 1 加样回收率测定结果( $n = 5$ )

编号	M <sub>生药</sub> (mg)	M <sub>加入</sub> (mg)	M <sub>实测</sub> (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.6945	0.705	1.379	97.09		
2	0.6932	0.705	1.388	98.55		
3	0.6911	0.705	1.415	102.68	98.63	2.56
4	0.6926	0.705	1.389	98.78		
5	0.6948	0.705	1.372	96.06		

注: M<sub>生药</sub> 为样品重量乘以已知含量的计算结果

膜过滤,作为供试液。精确吸取供试液 10 $\mu$ L,在高效液相色谱仪上测定,计算回收率,结果如表 1 所示。

**2.9 样品测定** 按“供试品溶液的制备”项下操作,制备样品。精确吸取样品液 10 $\mu$ L 在高效液相色谱仪上测定,计算芍药苷的百分含量。结果见表 2。

表 2 牡丹皮饮片中芍药苷的含量测定结果( $n = 3$ )

样品来源	含量(%)	RSD(%)
北京	0.86	1.28
南昌	0.54	1.82
郑州	0.74	0.77
兰州	0.39	2.06
广州	0.50	2.31
重庆	2.01	1.52
西安	1.26	1.39
沈阳	0.96	1.18
南京	1.36	1.75
天津	0.76	1.61

### 3 讨论

用高效液相色谱法对全国 10 个地区所使用的牡丹皮饮片中芍药苷含量进行测定,结果表明不同地区的药用样品中,芍药苷含量相差较大,可能与采集时间和存放时间有关,是否对药效有较大影响,需要进一步研究。

对丹皮的提取方法进行了回流、超声和冷浸等三种方法的比较,结果回流提取 1h 和超声提取 1h 的提取效果相似,但回流提取样品中杂质峰干扰较严重,分离度较差,而冷浸过夜方法则提取效果较差,所以采用超声提取。另外,提取时间进行了 10, 20, 30, 40, 50min 比较,结果 30min 即可提取完全,所以超声时间选择 30min。

### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部,北京:化学工业出版社,2000. 232.

[2] 姜潇,张广宏,刘学起. HPLC 法测定牡丹皮中丹皮酚的含量[J]. 齐鲁药事,2004, 23(6): 31.

[3] 尹萌,梁宪扬. HPLC 法测定牡丹皮及脑震宁冲剂中丹皮酚的含量[J]. 西北药学杂志,2001, 16(2): 53.