

基于 HPLC 技术分析白芍根茎与主根部分的主成分含量差异

郑金凤 王景红 宗志勇 路广义

【摘要】 目的 采用高效液相色谱法检测亳芍不同的样品处理方法下主根和根茎部分芍药苷和芍药内酯苷的含量。**方法** 采用高效液相色谱法,色谱条件: C₁₈ 柱(phenomenex 公司, 250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(25:75); 检测波长为 230 nm; 柱温: 30℃; 流速为 1.0 mL/min。**结果** 经过煮制后的白芍去皮主根或根茎所含芍药苷和芍药内酯苷的总含量低于未煮制; 白芍的主根和根茎部分去皮后芍药苷和芍药内酯苷总含量高于未去皮的主根和根茎; 无论是否煮制, 是否去皮, 白芍根茎中芍药苷和芍药内酯苷的含量均高于主根。**结论** 白芍根茎有作为药用部位的基础。

【关键词】 白芍根茎; 芍药苷; 芍药内酯苷; 高效液相色谱法

【中图分类号】 R284 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.08.006

Determination of paeoniflorin and albiflorin in taproot and rhizome of *Paeonia lactiflora* Pall.

ZHENG Jin-feng, WANG Jing-hong, ZONG Zhi-yong, et al. Wangjing Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China

Corresponding author: LU Guang-yi, E-mail: lulutong200504@163.com

【Abstract】 Objective To determine the content of paeoniflorin and albiflorin in the different sample treatment of *Paeonia lactiflora* Pall. **Methods** The HPLC method was used to detected, the chromatographic condition was RP-C18 (4 mm×250 mm, 5 μm) column with HCN-water(25 : 75) as mobile phase, flow velocity was 1.0 mL/min, with the detection wavelength was 230 nm, column temperature was 30℃. **Results** The content of paeoniflorin and albiflorin in taproot and rhizome of *Paeonia lactiflora* Pall. was increased after peeled. Whether boiled or peeled, the content of paeoniflorin and albiflorin in rhizome was higher than taproot of *Paeonia lactiflora* Pall. **Conclusion** Rhizome of *Paeonia lactiflora* Pall. has the potential to use as medicinal parts, it could be exploited and used in further.

【Key words】 Rhizome of *Paeonia lactiflora* Pall.; Paeoniflorin; Albiflorin; HPLC

白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根。采挖后,洗净,除去头尾和细根,置沸水中煮后除去外皮或去皮后再煮,晒干,具有养血调经、敛阴止汗、柔肝止痛、平抑肝阳的作用^[1]。白芍主要含有芍药苷、芍药内酯苷等单萜类成分,主产于安徽亳州、浙江杭州、四川中江等地。根茎在白芍的加工过程中,属于非药用部位,被去除,但目前

市场收购者众多,前期实验也表明同株白芍根茎的芍药苷含量高于主根。为探讨白芍根茎与主根之间的差异,是否可作为药材使用,本文从有效成分含量角度来探讨白芍根茎和主根之间的差异。

1 仪器与材料

安捷伦 1200B 型高效液相色谱仪(G1312B 型二元泵, G1315C 型 DAD 检测器, ChemStation 化学工作站); 电子天平: BP211D(Sartorius, 德国) d=0.1 mg/0.01 mg, max=210 g/80 g; 超声波清洗器: KQ5200DB 型, 昆山市仪器有限公司。

乙腈(迪马公司, 色谱纯)、水为重蒸水, 磷酸等其他试剂均为分析纯。试药: 芍药苷对照品(批号: 110736-201337)购于中国药品生物制品检定所; 芍

基金项目: 中国中医科学院望京医院院级科研课题(WJYY2014-YY-052)

作者单位: 100102 北京, 中国中医科学院望京医院药学部

作者简介: 郑金凤(1987-), 女, 硕士, 药师。研究方向: 临床药理学。E-mail: jinfeng317@126.com

通讯作者: 路广义(1959-), 本科, 副主任药师。研究方向: 中药调剂与研究。E-mail: lulutong200504@163.com

药内酯苷对照品(P/N:ABF-378105)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: C₁₈ 柱(phenomenex 公司, 250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(25 : 75); 检测波长为 230 nm; 柱温: 30℃; 流速为 1.0 mL/min。

2.2 药材及加工处理方法

取同一种植基地 3 年生亳芍 30 株, 分为 3 组, 各 10 株。洗净, 去除杂质、芽孢、须根, 保留主根和根茎。(1) 将主根和根茎去除外皮, 分别煮制 15 分钟, 晒干。(2) 将主根和根茎分别煮制 15 分钟, 晒干, 得白芍主根、根茎。(3) 将主根和根茎去除外皮, 直接晒干, 得白芍去皮主根、根茎。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取芍药苷和芍药内酯苷对照品适量, 加稀乙醇分别制成每 1 mL 含芍药苷 83.2 μg 和芍药内酯苷 34.4 μg 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

2.4.1 提取溶剂的选择 取白芍主根粉末 0.1 g, 共三份, 置 50 mL 量瓶中, 分别加入稀乙醇、95% 乙醇、甲醇 35 mL, 超声处理 30 分钟, 放冷, 再分别加稀乙醇、95% 乙醇、甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。结果表明: 稀乙醇提取的芍药苷和芍药内酯苷含量最高, 故选择稀乙醇为提取溶媒。具体见表 1。

表 1 不同提取溶剂的比较

提取溶剂	芍药苷 含量(%)	芍药内酯苷 含量(%)	二者总量 (%)
稀乙醇	3.46	1.27	4.73
95% 乙醇	2.04	0.70	2.74
甲醇	2.64	0.95	3.59

2.4.2 提取方法的选择 取白芍主根粉末 0.1 g, 共两份, 置 50 mL 量瓶中, 各加稀乙醇 35 mL, 分别进行浸渍处理和超声处理 30 分钟, 放冷, 分别加稀

乙醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。结果表明: 超声提取比浸渍提取含量略高, 故选择超声提取方法。具体见表 2。

表 2 不同提取方法的比较

提取方法	芍药苷 含量(%)	芍药内酯苷 含量(%)	两者总量 (%)
超声	3.46	1.27	4.73
浸渍	3.39	1.24	4.63

2.4.3 提取时间的选择 取白芍主根粉末 0.1 g, 共三份, 置 50 mL 量瓶中, 各加稀乙醇 35 mL, 分别超声处理 15 分钟、30 分钟、45 分钟, 放冷, 再加稀乙醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。结果表明: 超声 30 分钟即可提取完全, 故选择提取时间为 30 分钟。具体见表 3。

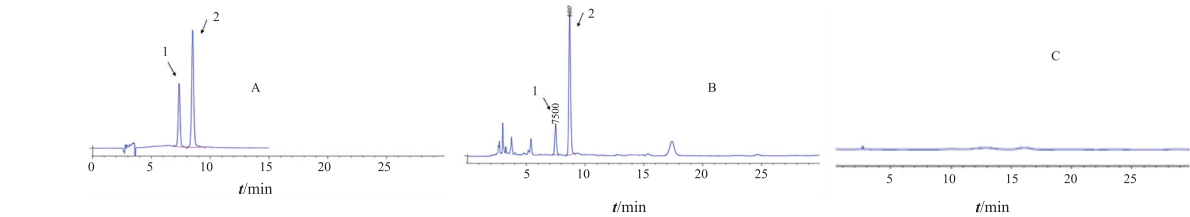
表 3 不同提取时间的比较

提取时间	芍药苷 含量(%)	芍药内酯苷 含量(%)	两者总量 (%)
15 分钟	3.42	1.25	4.67
30 分钟	3.46	1.27	4.73
45 分钟	3.46	1.26	4.72

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性试验 按 2.4 项下供试品制备方法制备阴性对照溶液和供试品溶液。吸取阴性对照溶液和供试品溶液两种溶液及芍药苷和芍药内酯苷混合对照品溶液各 10 μL 注入高效液相色谱仪。结果阴性对照色谱图中无峰无干扰。见图 1。

2.5.2 线性关系考察 精密吸取芍药苷和芍药内酯苷混合对照品溶液 2、6、10、14、20 μL 进样, 测定峰面积, 以进样量(μg)为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。得回归方程, 芍药苷: $Y=1042X-2.129, R^2=1$; 芍药内酯苷: $Y=912.8X+6.2729, R^2=0.9999$ 。结果表明芍药苷和芍药内酯苷分别在 0.1664~1.664 μg, 0.0688~0.688 μg 范围内线性关系良好。



注: A: 芍药苷和芍药内酯苷混合对照品; B: 供试品溶液; C: 阴性对照溶液; 1 为芍药内酯苷; 2 为芍药苷

图 1 对照品和供试品溶液 HPLC 图

2.5.3 精密度试验 分别精密吸取芍药苷和芍药内酯苷混合对照品溶液 10 μL , 连续进样 6 次, 测定各峰面积。结果: 芍药苷和芍药内酯苷的 RSD 分别为 0.23%、0.09%, 精密度良好。

2.5.4 重复性试验 取同一批样品 6 份, 精密称定, 按 2.4 项下供试品溶液制备方法制成供试品溶液, 分别测定芍药苷和芍药内酯苷峰面积, 计算含量, 计算 RSD。结果: 芍药苷的平均含量为 1.25%, RSD 为 1.05%; 芍药内酯苷的平均含量为 3.42%, RSD 为 1.79%。

2.5.5 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于 0、4、8、16、24 小时进样 10 μL , 测定供试品溶液的峰面积, 计算 RSD。结果: 芍药苷和芍药内酯苷的 RSD 分别为 0.33%、0.11%, 二者稳定性良好。

2.5.6 加样回收率试验 取已知含量的样品约 0.05 g, 共 6 份, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入各对照品适量, 按照 2.4 项下供试品制备方法制备加样回收供试品溶液, 精密吸取 10 μL 注入液相色谱仪, 计算加样回收率。结果: 芍药内酯苷平均回收率为 97.02%, RSD 为 1.93%; 芍药苷平均回收率为 97.61%, RSD 为 1.46%, 加样回收率良好。

2.6 样品含量测定

按 2.2 项下药材及加工处理方法处理药材, 分别取 3 组样品粉末 0.1 g, 精密称定, 按照 2.4 项下供试品制备方法操作, 10 个批次, 每个批次平行 2 份, 测定白芍主根和根茎部分中芍药苷和芍药内酯苷的含量。结果: 经过煮制后的白芍去皮主根或根茎芍药苷和芍药内酯苷总含量低于未煮制。无论是否煮制, 白芍根茎中芍药苷和芍药内酯苷的含量均高于主根。具体见表 4。

表 4 白芍样品(是否煮制)主成分的含量测定($n=10$)

样品	芍药苷 含量(%)	芍药内酯苷 含量(%)	总含量 (%)
白芍主根(煮制)	4.70 \pm 0.33	1.13 \pm 0.21	5.83 \pm 0.47
白芍根茎(煮制)	5.14 \pm 0.36	1.43 \pm 0.27	6.56 \pm 0.45
白芍主根(未煮制)	4.78 \pm 0.37	1.49 \pm 0.13	6.28 \pm 0.44
白芍根茎(未煮制)	5.37 \pm 0.39	1.70 \pm 0.27	7.07 \pm 0.61

白芍的主根和根茎部分去皮后芍药苷和芍药内酯苷总含量高于未去皮的方法。其中芍药苷的含量去皮的方法高于未去皮, 而芍药内酯苷的含量则低于未去皮的方法, 说明在皮中可能芍药内酯苷的含量较高。无论是否去皮, 白芍根茎中芍药苷和芍药内酯苷的含量均高于主根。具体见表 5。

表 5 白芍样品(是否去皮)主成分含量测定($n=10$)

样品	芍药苷 含量(%)	芍药内酯苷 含量(%)	总含量 (%)
白芍主根(去皮)	4.70 \pm 0.33	1.13 \pm 0.21	5.83 \pm 0.47
白芍根茎(去皮)	5.14 \pm 0.36	1.43 \pm 0.27	6.56 \pm 0.45
白芍主根(未去皮)	3.68 \pm 0.28	1.59 \pm 0.27	5.27 \pm 0.52
白芍根茎(未去皮)	4.36 \pm 0.26	1.82 \pm 0.32	6.18 \pm 0.47

3 讨论

本文对白芍中主要成分芍药苷和芍药内酯苷的色谱方法进行优化, 对色谱柱型号、流动相的选择、流速、柱温等进行筛选, 最终建立了含量测定方法, 此方法所测成分色谱峰与其他成分分离良好。实验结果显示: 白芍主根或根茎经过煮制后的芍药苷和芍药内酯苷低于未煮制的总含量; 白芍的主根和根茎部分去皮后芍药苷和芍药内酯苷总含量高于未去皮相同部位; 无论是否煮制, 是否去皮白芍根茎中芍药苷和芍药内酯苷的含量均高于主根, 与相关文献报道一致。吴雄壮等^[2]实验结果显示: 相同生长年限的白芍其根茎部位的芍药苷含量比主根部位明显偏高, 不同生长年限的白芍根茎部位的芍药苷含量相差不大。周学刚等^[3-4]实验结果显示: 白芍地下各部分芍药苷含量差异明显, 均呈现根茎>须根>主根。《中华人民共和国药典》(一部)规定白芍药用部位为根, 加工方法为置沸水中煮后除去外皮或去皮后再煮, 晒干。但从本实验不同药用部位的白芍主要成分芍药苷和芍药内酯苷含量可以看出, 采集部位建议保留根茎。实验仅以亳芍为样本, 未对不同产地的白芍加以比较, 且仅对主要成分芍药苷和芍药内酯苷进行测定, 需进一步研究白芍根茎和主根 HPLC 指纹图谱之间的成分差异。

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, 2015: 105.
- [2] 吴雄壮, 王美芳, 杨思沅, 等. 不同部位和不同生长年限白芍中的芍药苷含量测定[J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(4): 291-293.
- [3] 周学刚, 张丽萍, 王艳芳, 等. 煮制对白芍中芍药苷含量的影响[J]. 医药导报, 2011, 30(1): 82-85.
- [4] 周学刚, 陈淑欣, 魏东华, 等. 不同种质和不同部位白芍原植物中芍药苷和芍药内酯苷的含量测定[J]. 医药导报, 2011, 30(11): 1477-1480.

(收稿日期: 2016-04-28)

(本文编辑: 董历华)