

(叶与叶、茎与茎)及同一产地、同一品种淫羊藿药材的不同生长部位(茎与叶)的淫羊藿苷量及指纹图谱的比较分析可知:①淫羊藿药材的不同生长部位(茎与叶)中淫羊藿苷的量存在较大差异,叶片中淫羊藿苷的量较高,茎中偏低,因此应综合淫羊藿药材叶与茎部位中淫羊藿苷的量及叶与茎的比例来评价不同产地、不同品种的淫羊藿药材的质量。②不同淫羊藿药材的茎与叶的比例存在较大差异,建议建立基于茎与叶不同比例要求及药材品种来源的新的淫羊藿药材商品规格划分标准。③由指纹图谱比较可知,叶片中淫羊藿苷的量较高,其余色谱峰代表的化学成分的量不一定高,当评价不同产地、不同品种淫羊藿药材化学品质时,应同时比较叶与茎的化学质量差异,综合各有效指标,进行整体评价。

基于本研究结果,建议应该建立基于综合茎与

叶比例、茎与叶中淫羊藿苷的量等因素的淫羊藿药材商品规格划分标准,以建立基于叶与茎中淫羊藿苷测定及指纹图谱的“一测多评”的不同产地、不同品种的淫羊藿药材的化学区分模式及质控方法,以期为淫羊藿药材的大质量观研究奠定基础^[6]。

参考文献:

- [1] 王景祥,于静,吕文伟,等.淫羊藿提取物对急性心肌缺血模型犬血气的影响[J].中草药,2008,39(10):1537-1540
- [2] 滕菲,曾耀英,黄秀艳,等.淫羊藿提取物对小鼠T淋巴细胞体外活化和增殖的影响[J].中草药,2008,39(9):1355-1359
- [3] 雷光华,刘文和,李康华,等.淫羊藿黄酮对被动吸烟大鼠骨量与骨形态学的影响及其相关性研究[J].中国骨质疏松杂志,2008,14(1):8-12
- [4] 李波,安睿,王新宏.淫羊藿苷和补肾复方对肾阳虚大鼠下丘脑CRH基因和垂体POMC基因表达的影响[J].中成药,2008,30(1):132-134
- [5] 中国药典[S].一部.2005
- [6] 肖小河,金城,鄢丹,等.中药大质量观及实践[J].中草药,2010,41(4):505-508

白芍和赤芍 HPLC 指纹图谱比较研究

高明¹,赵镭²,赵光树^{1*}

(1 浙江大学医学院附属第一医院,浙江 杭州 310003; 2 浙江大学医学院附属儿童医院,浙江 杭州 310003)

摘要:目的 通过建立白芍和赤芍药材的 HPLC 指纹图谱,进一步完善芍药野生品与栽培品药材的质量评价方法。方法 采用 HPLC 测定了 11 批白芍和 11 批赤芍样品,并建立标准对照指纹图谱,按国家药典委员会提供的中药色谱指纹图谱相似度评价系统对样品的相似度进行评价。色谱条件:固定相为 Kromasil 100-5C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为乙腈-0.3% H₃PO₄ 梯度洗脱;检测波长为 220 nm,参比波长为 290 nm;柱温 35℃;体积流量 0.8 mL/min。结果 建立的 HPLC 指纹图谱能区别白芍和赤芍。结论 本法简单、快捷,为科学评价和控制芍药野生品与栽培品药材的质量提供了依据,为同来源于芍药的赤芍和白芍的临床应用提供依据。

关键词:赤芍;白芍;指纹图谱;RP-HPLC

中图分类号:R282.7 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2010)11-1904-03

白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根;赤芍为毛茛科植物芍药 *P. lactiflora* Pall. 或川赤芍 *P. veitchii* Lynch 的干燥根^[1]。一般认为,芍药野生品的根直接干燥就是赤芍,而栽培品的根去皮水煮后即白芍。白芍总苷^[2]、赤芍总苷^[3,4]均含有芍药苷(paeoniflorin)、芍药内酯苷(albiflorin)、羟基芍药苷(oxypaeoniflorin)、苯甲酰芍药苷(benzoylpaeoniflorin)等单萜类化合物。本实验以白芍总苷胶囊(商品名:帕夫林, TGPC)为外参照,建立白芍、赤芍的标准对照指纹图谱以考察白、赤芍药材之间的成分差异,为完善赤

芍、白芍质量控制提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器:Agilent1200 高效液相色谱系统:G1322A 脱气机, G1311A 四元泵, G1329A 自动进样仪, G1316A 柱温箱, G1315D DAD 检测器, 安捷伦 Chemstation 色谱工作站; KQ300DB 型数控超声波清洗器(江苏昆山超声仪器公司); H2050R 高速冷冻离心机(长沙湘仪离心机有限公司); METTLER AE163 分析天平(Mettler Toledo 仪器有限公司)。中药色谱指纹图谱相似度评价系统(国家药典委员会)。

①收稿日期:2010-02-26

作者简介:高明,男,硕士,研究方向为中药成分分析。Tel:(0571)87236540 E-mail:48871550@QQ.com

* 通讯作者 赵光树 Tel:(0571)87236539 E-mail:fishlczl@yahoo.com.cn

1.2 试药:白芍对照药材(批号 120905—200508)、赤芍对照药材(批号 121093—200402)、芍药苷对照品(批号 110736—200526)、苯甲酸对照品(批号 100419—200301),均为中国药品生物制品检定所提供;芍药内酯苷购自天津中新药业研究中心;白芍总苷胶囊(批号 081101,深圳朗生医药有限公司);乙腈为色谱纯(Merck 公司);水为重蒸水,其他试剂为分析纯。试验用药材均由浙江大学医学院附属第一医院提供,并经笔者鉴定均为正品,均为芍药 *P. lactiflora* Pall. 的干燥根。来源见表 1。

表 1 样品来源及编号

Table 1 Sample source and number

白芍			赤芍		
编号	批号	产地	编号	批号	产地
B1	Y0902	安徽	C1	20090612	内蒙古
B2	081207	浙江	C2	20090422	内蒙古
B3	090723	浙江	C3	090107	内蒙古
B4	090824	浙江	C4	090504	内蒙古
B5	080101	浙江	C5	090516	内蒙古
B6	080828	浙江	C6	090405	内蒙古
B7	090529	安徽	C7	20090705	内蒙古
B8	080928	浙江	C8	20090828	内蒙古
B9	090623	浙江	C9	20090622	内蒙古
B10	080107	浙江	C10	20090422	内蒙古
B11	120905—200508	中检所	C11	121093—200402	中检所

注:中检所为中国药品生物制品检定所

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Kromasil 100-5C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.3% H₃PO₄(B)梯度洗脱,0~7 min,流动相 A 为 8%, 7~14 min,流动相 A 为 8%→15%, 14~35 min,流动相 A 为 15%→22%, 35~45 min,流动相 A 为 22%→25%, 45~50 min,流动相 A 为 25%→8%, 50~60 min,流动相 A 为 8%;体积流量 0.8 mL/min;柱温 35℃;进样量为 10 μL;检测波长为 220 nm,参比波长为 290 nm;记录时间:60 min。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备:称取芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酸对照品适量,精密称定,置量瓶中,加 50% 甲醇制成 120、50 μg/mL 的溶液,即得,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备:取样品粉末 0.2 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加 50% 甲醇 20 mL,浸渍 4 h 后,超声处理 45 min,取出,放至室温,用 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,离心,即得。

2.2.3 参比溶液的制备:称取白芍总苷适量,精密称定,置量瓶中,加 50% 甲醇制成 400 μg/mL 的溶液,即得,作为参比溶液。

2.3 精密度试验:称取白芍和赤芍样品粉末(B10 和 C4)0.2 g,按“2.2.2”供试品制备方法制备,精密吸取 10 μL 在上述色谱条件下连续进样 6 次,记录指纹图谱,并按国家药典委员会提供的中药色谱指纹图谱相似度评价系统^[4]对其相似度进行评价,以对照图谱为对照进行计算,结果相似度均大于 0.998,表明精密度良好。

2.4 重现性试验:称取白芍和赤芍样品粉末(B10 和 C4),按“2.2.2”供试品制备方法平行制备 6 份,精密吸取 10 μL,在上述色谱条件下进行分析,处理方法同上,结果相似度均大于 0.990,表明本法具有较好的重现性。

2.5 稳定性试验:取供试品溶液,在相同的条件下分别于 0、5、10、15、20、25 h 进样分析,记录指纹图谱,数据处理方法同上,结果相似度均大于 0.990,表明样品在 25 h 内稳定。

2.6 白芍、赤芍药材 HPLC 指纹图谱共有模式的建立:取 11 批白芍样品和 11 批赤芍样品粉末,按“2.2.2”供试品制备方法制备,精密吸取 10 μL 在上述色谱条件下进样分析,记录指纹图谱,根据《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》规定,进行指纹图谱相似度的比较,制成标准对照指纹图谱,见图 1。

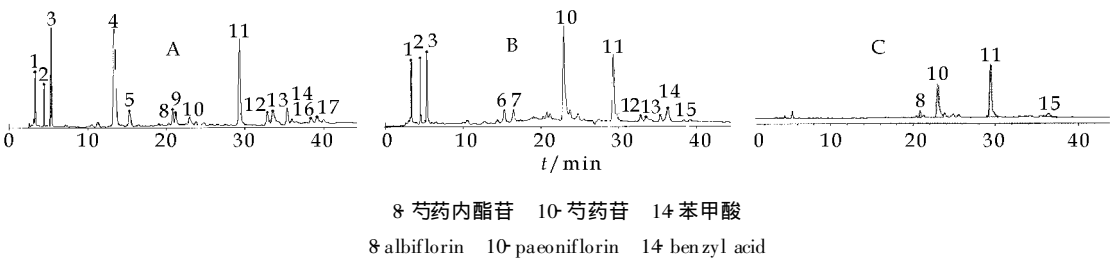


图 1 白芍(A)和赤芍(B)HPLC 指纹图谱共有模式及白芍总苷胶囊(C)HPLC 图谱
Fig 1 HPLC Fingerprint common pattern of *Paenoniae Alba Radix* (A) and *Paenoniae Rubra Radix* (B) and HPLC chromatogram of total glucosides of paeony capsules (C)

2.7 样品指纹图谱的测定: 以上述生成的白芍和赤芍标准对照指纹图谱作对照, 按国家药典委员会提供的中药色谱指纹图谱相似度评价系统评价, 对 11 批白芍和 11 批赤芍样品进行了指纹图谱相似度的测定, 结果见表 2。

表 2 样品相似度测定结果

Table 2 Similarity analysis of samples

编号	相似度	编号	相似度
B1	0.995	C1	0.940
B2	0.997	C2	0.987
B3	0.998	C3	0.995
B4	0.998	C4	0.985
B5	0.997	C5	0.987
B6	0.998	C6	0.992
B7	0.992	C7	0.983
B8	0.986	C8	0.987
B9	0.996	C9	0.978
B10	0.990	C10	0.984
白芍对照药材	0.999	赤芍对照药材	0.995

3 讨论

3.1 白芍和赤芍的主要活性成分为单萜类成分, 故选择白芍总苷作为有效部位参照; 另在制定白芍和赤芍的 HPLC 指纹图谱时, 选择芍药苷、芍药内酯苷及苯甲酸作为内参照物。

3.2 本实验参考相关文献方法^[2,3,5]采用梯度洗脱, 既缩短了分析时间, 又可提供更多的信息。另 2010 年版《中国药典》及相关文献报道^[2,3], 白芍和赤芍的检测波长均为 230 nm, 但在上述波长下进行试验时发现, 色谱图基线噪音大, 杂质干扰多, 故考虑背景

扣除。采用 Agilent 1200 HPLC-DAD 在 190~400 nm 波段扫描, 结果表明选择 220 nm 作为检测波长, 290 nm 作为参比波长, 基线噪音及杂质干扰均变小, 另在 220 nm 波长处, 各特征峰均有较高的相应值, 可以检出相对较多的成分。

3.3 根据所记录的白芍和赤芍样品的 HPLC 指纹图谱与相应的标准对照指纹图谱比较, 样品与指纹图谱共有模式之间的相似度以 220 nm 波长(参比波长 290 nm)下基于峰面积值的夹角余弦法计算, 均高于 0.98, 样品之间具有较高的相似性。

3.4 白芍和赤芍的 HPLC 指纹图谱分别有 24 和 22 个共有峰, 从色谱图上可判断, 白芍和赤芍均有白芍总苷的特征成分(10 和 11 号峰), 赤芍中的芍药苷的量远高于白芍; 从白芍和赤芍的标准对照指纹图谱看, 白芍图谱上的 4、5、8、9、16、17 号峰可以作为白芍的特征峰用于区别白芍和赤芍, 也为芍药根野生品和栽培品的区别提供依据。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [2] 王巧, 刘荣霞, 毕开顺, 等. HPLC 法测定白芍总苷胶囊中芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷[J]. 中草药, 2005, 36(11): 1630-1632
- [3] 董玄, 高文远, 高颖. RP-HPLC 测定赤芍药材中没食子酸、儿茶素、芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酸[J]. 中草药, 2008, 39(12): 1897-1898
- [4] 冀兰鑫, 黄浩, 李长志, 等. 赤芍药理作用的研究进展[J]. 药物评价研究, 2010, 33(3): 233-236
- [5] 周红涛, 骆亦奇, 胡世林, 等. 赤芍与白芍的化学成分含量比较研究[J]. 中国药杂志, 2003, 38(9): 654-656

欢迎订阅 2011 年《药学报》

《药学报》(CN: 11-2163/R, ISSN: 0513-4870) 是由中国药学会、中国医学科学院药物研究所主办、国内外公开发行的药学综合性学术期刊。辟有栏目: 述评和综述、研究论文、研究简报、学术动态。本刊自 1953 年创刊以来, 一直报道药学领域原始性、创新性科研成果, 旨在促进国内外学术交流。刊登论文内容包括药理学、合成药物化学、天然药物化学、药物分析学、药剂学、生药学等。

《药学报》为我国自然科学核心期刊, 据中国科学引文数据库的统计数据, 在中国科技核心期刊排行表中, 《药学报》名列前茅, 在药学类期刊中居首位; 本刊已被世界主要检索系统收录, 为我国药学界高水平的学术刊物, 在国际上享有一定知名度。本刊 1999 年荣获首届“国家期刊奖”, 2001 年入选中国期刊方阵“双高”(高知名度、高学术水平)期刊; 2002 年被评为第二届“国家期刊奖百种重点科技期刊”, 并荣获第三届“中国科技优秀期刊奖”二等奖; 2002—2007 年连续 6 届荣获“百种中国杰出学术期刊”称号; 2008、2009 年获得中国科协精品科技期刊工程项目资助(B类)。

本刊为 128 页, 月刊, 大 16 开本。每期定价 40 元, 全年定价 480 元。国内邮发代码: 2-233, 国外代码: M105。欢迎广大作者踊跃投稿, 欢迎广大读者订阅。

电话: 86-10-63165208 传真: 86-10-63026192 网址: www.yxxb.com.cn

编辑部地址: 北京市先农坛街 1 号《药学报》编辑部 邮编: 100050