

毛细管区带电泳法测定牡丹皮中芍药苷的含量

赵新峰,王 伟,孙毓庆*

(沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

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、活血化瘀之功效,鲜根皮含芍药苷(paeoniflorin)、羟基芍药苷、苯甲酰芍药苷、丹皮酚苷、丹皮酚等。芍药苷是牡丹皮中主要活性成分之一,具有镇痛、镇痉、镇静、抗炎等作用。目前,牡丹皮中芍药苷的含量测定方法主要有高效液相色谱法^[1]和薄层扫描法^[2,3],毛细管电泳法测定牡丹皮中芍药苷的含量尚未见报道。本研究用毛细管区带电泳法测定了牡丹皮中芍药苷的含量,方法简便快捷,结果令人满意,为牡丹皮的质量控制提供了一种新方法。

1 仪器与药品

毛细管电泳仪为本实验室组装(VUV-22型紫外检测器, HV-30 高压电源 美国 Unimicrotechnologies Inc 公司);芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所);内标物氯霉素为原料药;硼砂为分析纯,水为重蒸水;其余试剂均为分析纯。牡丹皮购于沈阳中街天益堂,由沈阳药科大学生药理学教研室孙启时教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 条件:毛细管柱:未涂层石英玻璃毛细管(60 cm× 75 μm,有效长度 45 cm,河北永年光导纤维厂);检测波长:230 nm;重力进样:10 cm× 5 s;运行电压:18 kV;温度:20℃;背景电解质:0.1 mol/L 硼酸溶液, NaOH 溶液调节至 pH= 10,进样前以 0.1 mol/L NaOH 和背景电解质各冲洗 3 min。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:精密称取芍药苷对照品 15.1 mg,加 95% 乙醇至 10 mL 作为对照品溶液。精密称取氯霉素 38.7 mg,加 95% 乙醇至 25 mL 作为内标溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备:将牡丹皮样品粉碎后取粉末 1 g,加 95% 乙醇 50 mL,超声波震荡提取 30 min,过滤,滤渣重复提取 2 次,合并提取液,减压浓缩,定容至 25 mL。取该溶液 2 mL 至 5 mL 量瓶中,加入内标溶液 1 mL,加水至刻度作为牡丹皮供试品。

2.3 线性关系的考察:精密量取芍药苷对照品溶液

0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 于 5 mL 量瓶中。各加入内标溶液 1 mL,加 95% 乙醇至刻度。以芍药苷与内标的峰面积比对其质量浓度进行回归分析,测得标准曲线回归方程为 $Y = 0.023 6X - 0.146 5$ ($r = 0.999 6$),线性范围为 30.2~ 302 mg/L。

2.4 精密度试验:牡丹皮供试品进样 5 次, RSD 为 1.5%,表明分析结果的精密度良好。

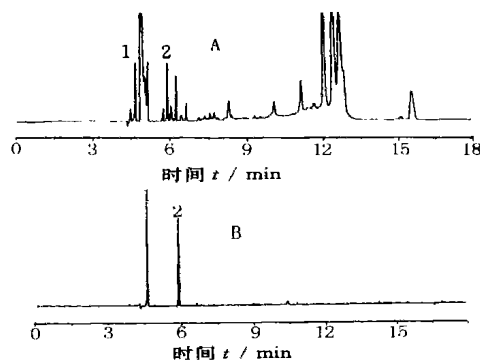
2.5 回收率试验:结果见表 1。

表 1 回收率试验

Table 1 Recovery test

加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	RSD /%
0.226 5	0.222 9	98.4	0.8
0.453 0	0.449 3	99.2	2.1
0.679 5	0.691 1	101.7	1.7

2.6 样品的测定:取牡丹皮供试品,按所选条件进行测定,测得牡丹皮中芍药苷含量为 0.67%,供试品及对照品电泳图见图 1。



A 牡丹皮样品 B 对照品

A-sample of *P. suffruticosa* bark B-reference substances

1-芍药苷 2-氯霉素

1-paeoniflorin 2-chloramphenicol

图 1 样品和对照品的毛细管电泳图

Fig. 1 Electropherograms of sample and reference substances

3 讨论

毛细管电泳法用于牡丹皮中芍药苷含量的测定,方法简便快捷,分析结果的精密度和回收率均较好,与传统方法相比具有一定优势,可作为牡丹皮质量控制的一种方法。

References

- [1] Li Y F, Li J, Zhang J M. The medicinal value study of the xylem part of *Paeonia suffrution* Andr.— qualitative and quantitative analysis of paeoniflorin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 25 (11): 580-581.
- [2] Gao L X, Liang S Q, Wang L, *et al.* The reversed phase TLC analysis of paeonol and paeoniflorin in *Paeonia suffru-*
- tion* Andr. [J]. *J Shandong Coll Tradit Chin Med* (山东中医学院学报), 1995, 19 (4): 266.
- [3] Shan W H, Zhang L, Shi Y Z, *et al.* The influence of precipitation at different ethanol concentration on paeoniflorin content in *Paeonia suffrution* Andr. [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 1998, 9(4): 320-321.

三花龙胆不同部位龙胆苦苷的含量测定

江蔚新,沈志滨,王雪莲,李镜飞,江 淼*
(哈尔滨商业大学 制药工程系,黑龙江 哈尔滨 150076)

三花龙胆为龙胆科植物三花龙胆 *Gentiana triflora* Pall. 的干燥根及根茎。为常用药用龙胆的主流之一。龙胆味苦,性寒,入肝胃经,有泻肝火,除下焦湿热的功效。龙胆中均含有链环醚甙萜苷类苦味成分龙胆苦苷,药理研究表明,龙胆提取物有保肝、健胃、利胆、利尿及降压、抗炎、抗菌作用。近年由于大量采挖使得野生资源减少,为满足用药,进行了大量的人工栽培^[1]。龙胆在传统用药中一般只是用根,而大量的地上部分资源未被利用。为了更好地综合利用龙胆全草药材资源,我们对其地上部分有效成分龙胆苦苷的含量进行了研究。关于龙胆苦苷含量测定的方法,有薄层层析、紫外分光光度法、薄层色谱、光密度法、高效液相色谱法等^[2~4]。本研究利用高效液相法对三花龙胆不同部位龙胆苦苷的含量进行了测定。

1 材料

1.1 仪器: Waters 高效液相色谱仪(美国); Waters SPD-10A 紫外检测器; 色谱柱 (4.6 mm× 200 mm); 10^μ L进样器 (Switzerland)。

1.2 试药: 龙胆苦苷对照品(中国药品生物制品检定所); 三花龙胆(哈尔滨市郊区)经哈尔滨商业大学沈志滨副教授鉴定。甲醇(色谱纯), 无水乙醇、三氯甲烷、乙酸乙酯、蒸馏水、石油醚。

2 含量测定

2.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil C₁₈柱; 流动相: 甲醇-水 (35∶ 65); 柱温: 室温; 流速: 0.7 mL/min; 检测波长: 274 nm。

2.2 线性考察: 精密称取龙胆苦苷对照品 10.00, 5.00, 4.00, 0.40 mg, 加甲醇溶解, 分别定容于 25,

25, 250 mL容量瓶中, 摇匀, 用微孔滤膜过滤, 取 10^μ L进样, 以峰面积对浓度回归, 回归方程为 $Y = 5.45 \times 10^5 + 6.39 \times 10^6 X$, $r = 0.9998$, 表明在 0.16~ 4^μ g呈良好的线形关系。

2.3 精密密度实验: 取同一样品液, 按前面所进行的含量测定法来进行操作, 反复进样 5次, 其峰面积的 RSD 为 0.36%。

2.4 稳定性实验: 取同一样品液, 在相同的色谱条件, 取 10^μ L, 每隔 20 min进一次样, 峰面积的 RSD= 0.64%, 考察结果表明, 样品液在 100 min内稳定性良好, 可在 100 min内进行测定。

2.5 重复性测定: 取龙胆地上粉末约 0.5 g 共 5份, 按拟定的提取方法进行含量测定, 计算龙胆苦苷含量的平均值为 0.3917%, RSD= 1.31% ($n = 5$)。

2.6 加样回收率实验: 称取龙胆地上部分粉末药材约 0.5 g 共 5份, 依次分别加入对照后, 依照前述提取方法提取、测定, 平均回收率为 98.14%, RSD 为 1.11% ($n = 5$)。

2.7 样品的含量测定

2.7.1 样品的制备: 分根、茎、花、地上部分, 在 40℃~ 50℃干燥至恒重, 粉碎, 过 40目筛。分别称取根、茎、花、地上粉末药材 5.00 g, 用石油醚脱脂 3次, 药材晾干, 分别加入药材的 8倍量的甲醇, 于 50℃水浴锅中恒温加热 1~ 2 h, 过滤, 再重复 2次, 过滤, 合并 3次滤液, 离心取上清液, 减压回收甲醇, 转移到 10 mL容量瓶中用甲醇进行定容, 摇匀。

2.7.2 含量测定: 各吸取根、茎、花、地上 0.5 mL 的样品溶液, 茎、花、地上样品液分别定容于 10 mL 容量瓶中, 根样品液定容于 100 mL容量瓶中, 微孔

* 收稿日期: 2002-07-22
基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目 (C00-28); 黑龙江省委骨干教师项目
作者简介: 江蔚新 (1957-), 男, 辽宁省辽中县人, 硕士, 哈尔滨商业大学制药工程系副教授, 主要研究方向为天然药物化学。