

HPLC 法测定栽培芍药枯萎前后不同部位芍药苷的含量变化

吴 健, 赵 亮*

(南京农业大学园艺学院 中药材科学系, 江苏 南京 210095)

白芍为芍药科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根。白芍具有养血柔肝、缓中止痛、敛阴止汗的作用, 其临床应用十分广泛。白芍的主要化学成分是以芍药苷(paeoniflorin)为代表的单萜及其苷类化合物。关于芍药中芍药苷的含量测定已有很多报道^[1~3]。本实验以 HPLC 法对芍药根不同部位及枯萎前后芍药苷的含量进行测定, 分析其含量变化, 为芍药的采收加工的合理化提供依据。

1 材料与仪器

日本岛津 LC—10A 高效液相色谱仪; SPD—10A 紫外可见光检测器; R—6A 数据处理机。水为

自制超纯水, 甲醇为色谱纯。芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所)。白芍样品采自康缘药业连云港赣榆门河中药材种植基地, 经王康才副教授鉴定为毛茛科植物芍药 *P. lactiflora* Pall.。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: VP-ODS-C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(20 : 80); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 230 nm; 灵敏度: 0.02 AUFS; 柱温: 30℃。在上述色谱条件下样品中芍药苷与其他组份分离较好, 结果见图 1。

2.2 供试品溶液的制备: 分别于芍药地上部分枯萎

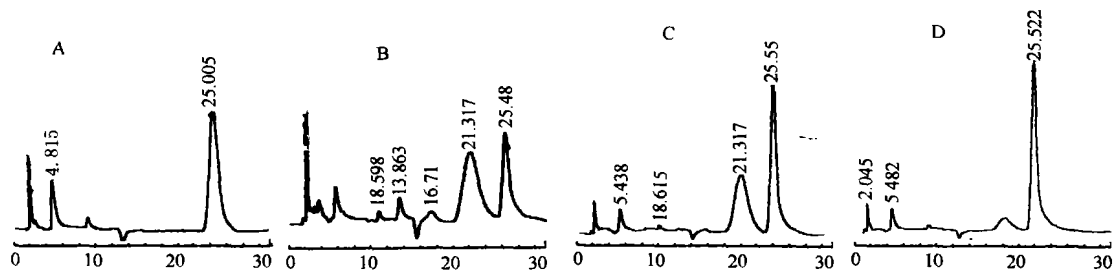


图 1 芍药苷对照品(A)、栓皮(B)、皮部(C)、木部(D)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of paeoniflorin (A), cork periderm (B), cortex and phloem (C), xylem and pith (D)

前(2002-08-20)和枯萎后(2002-09-20), 采三年生新鲜芍药根各 10 株, 取栓皮层 0.2 g, 皮部 1.5 g 和木部 1.5 g^[4], 用适量甲醇浸提 48 h, 滤过, 滤渣加适量甲醇加热提取 30 min, 滤过; 合并滤液, 置 25 mL 量瓶中定容。取 0.5 mL 稀释至 10 mL, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 作为待测溶液。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取芍药苷对照品 2.5 mg, 用甲醇溶解, 置 100 mL 量瓶中定容, 摇匀, 作为对照品溶液(25 μg/mL)。

2.4 线性关系考察: 分别吸取芍药苷标准品溶液 5、7.5、10、12.5、15 μL 进样, 在相同色谱条件进行测定。以峰面积对进样量作标准曲线。计算得回归方程为 $A = 12\,105.88 V - 3\,361.8$, $r = 0.999\,8$, 表明芍药苷进样量在 0.05 ~ 3.75 μg 线性关系良好。

2.5 精密度的试验: 精密吸取对照品溶液, 按上述色谱条件连续进样 5 次, 测得其峰面积的 RSD = 1.60%^[5,6]。

2.6 重现性试验: 取芍药根一份, 按供试品液的制备方法平行制备 5 份, 依法测定, 其峰面积 RSD = 1.95%。结果表明, 本法重现性较好。

2.7 回收率试验: 取芍药根不同部位各 1 份, 分别加入芍药苷对照品溶液(25 μg/mL) 1 mL, 甲醇定容至 10 mL, 静置过夜, 按照 2.2 项下方法, 进样 4 μL, 测定含量, 计算平均回收率为 96.3%^[5,6]。

2.8 含量测定: 分别取待测溶液进样 4 μL, 测定峰面积, 计算芍药苷含量, 结果见表 1。

2.9 相同时间不同部位芍药苷含量统计分析: 分别对不同部位的芍药苷含量测定结果, 用 SPSS 软件

* 收稿日期: 2004-03-31

作者简介: 吴 健(1971—), 男, 江苏省南京市人, 南京农业大学中药材科学系讲师, 硕士, 主要从事中药栽培与质量分析研究。

Tel: (025) 84396125 E-mail: wujian71@jlonline.com

进行单因素方差分析,以芍药苷含量为自变量,部位为因变量。统计结果见表 2。

2. 10 枯萎前后相同部位芍药苷统计分析:对枯萎前后相同部位的芍药苷含量测定结果,用 SPSS 软件进行独立样本 *t* 检验,结果见表 3。

表 1 枯萎前、后芍药根不同部位芍药苷含量测定结果 (n= 10)

Table 1 Paeoniflorin in different parts of <i>P. lactiflora</i> roots before and after wilting (n= 10)						
批号	芍药苷/ %					
	枯萎前			枯萎后		
	栓皮	皮部	木部	栓皮	皮部	木部
1	3. 62	3. 08	3. 84	5. 79	2. 68	2. 72
2	3. 42	2. 69	2. 87	5. 25	—	2. 29
3	5. 38	2. 56	3. 02	7. 19	3. 64	1. 83
4	5. 25	3. 17	3. 53	3. 50	2. 52	2. 47
5	4. 62	2. 20	3. 80	4. 91	2. 90	3. 27
6	7. 11	—	—	4. 22	5. 10	2. 61
7	4. 81	2. 47	3. 19	4. 62	2. 47	2. 60
8	5. 44	2. 41	3. 22	2. 17	2. 16	2. 67
9	5. 76	2. 24	2. 90	3. 87	2. 02	2. 37
10	3. 53	2. 64	3. 61	2. 71	1. 47	1. 99

表 2 芍药枯萎前、后不同部位芍药苷含量方差分析

Table 2 Variance analysis of paeoniflorin in different parts of <i>P. lactiflora</i> roots before and after wilting						
差异来源	枯萎前芍药苷/ %		显著性	枯萎后芍药苷/ %		显著性 (双侧)
	均数差	标准误差		均数差	标准误差	
栓皮 皮部	2. 29	0. 35	0. 00*	1. 65	0. 50	0. 00*
栓皮 木部	1. 56	0. 35	0. 00*	1. 94	0. 48	0. 00*
皮部 木部	- 0. 72	0. 35	0. 05	0. 29	0. 50	0. 56

* *P* < 0. 01

表 3 栓皮枯萎前后芍药苷含量差异统计结果

Table 3 Statistic results of paeoniflorin in different parts of <i>P. lactiflora</i> roots before and after wilting				
部位	芍药苷平均值/ %		显著性 (双侧)	
	枯萎前	枯萎后		
栓皮	4. 89 ± 1. 16	4. 42 ± 1. 48	0. 44	
皮部	2. 61 ± 0. 34	2. 77 ± 1. 06	0. 66	
木部	3. 33 ± 0. 38	2. 48 ± 0. 40	0. 00*	

* *P* < 0. 01

3 讨论

3. 1 不同植株的芍药苷测定结果显示,新鲜芍药根的芍药苷含量有比较大的个体差异,因此在比较其含量差异时,建议采取统计方法消除个体差异的影响。但由于药材白芍还需要进行去栓皮和水煮^[7],这种差异是否会在药材中体现尚需进一步实验研究。

3. 2 统计结果显示,相同植株的芍药根在不同的采收时间、不同解剖部位上芍药苷含量有显著性差异。其中上栓皮与其他部位均有极显著性差异 (*P* < 0. 01),而皮部与木部无显著性差异。9 月份芍药地上部分枯萎后,皮部与木部的差异更不显著。因此,芍药采收后去除栓皮的加工方法,对成品药材的成分一致性可能会有一定帮助^[8]。

3. 3 芍药枯萎前后根中芍药苷含量差异的统计分析显示,栓皮和皮部均无显著性差异,木部则有显著下降。因此,芍药采收宜在刚刚枯萎后进行,以保证芍药苷的含量。

3. 4 因条件所限,未能对芍药根的 HPLC 指纹图谱进行全面考察,但不同部位 HPLC 图显示,栓皮中峰的数量明显多于皮部和木部。其中皮部的 HPLC 图与邹忠梅^[9]报道的芍药总苷指纹图谱相似,而与赤芍的指纹图谱^[10]有一定差异,这可能与检测条件、产地以及采样方法的不同有关。考虑到栓皮中还含有较高浓度的苯甲酸,因此传统加工方法中的去除栓皮的流程对白芍指纹图谱的稳定性有重要意义。

References:

[1] Anetai M, Katsura E. High-speed liquid chromatographic analysis of Drugs V. rapid destination of paeoniflorin in paeony root [J]. *Nat Med*, 1994, 48(4): 244-245.

[2] Kim K J. Root characteristics under harvest time and drying methods of *Paeonia lactiflora* Pall. [J]. *Rda J Ind Crop Sci*, 1997, 39(2): 5-9.

[3] Ge P. Determination of paeoniflorin content in Yizhizhuanggu Chongji by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1996, 18(2): 13-14.

[4] Fu C X. Ding B Y. *Botany* (植物学) [M]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 2002.

[5] Yang D L, Huang X N, Sun A S, et al. Distrubution and excretion of protopinein rats by RP-HPLC method [J]. *Chin Pharm Bull* (中国药理学通报), 2003, 19(4): 444-447.

[6] Qi A D. Determination of scutellarin in Breviscarpin Tablet by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 4(4): 322-324.

[7] Wang K C. *Technology Series of Herbal Culture* (中药材种养关键技术丛书) [M]. Nanjing: Jiangsu Science Press, 2002.

[8] Wang Q, Yu X S. Analysis of chemical component in different grades of *Radix Paeoniae Alba* by HPLC [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1992, 15(7): 31-33.

[9] Zou Z M, Xu L Z, Yang S L. HPLC fingerprinting of total glucosides of paeony [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2003, 38(1): 46-49.

[10] Zhang K R, Bi K S. Study on fingerprints of *Radix Paeoniae Rubra* by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(11): 1048-1051.