

# 杭白芍炮制前后特征图谱比较研究

唐抗\* (江苏大学附属医院, 江苏 镇江 212001)

**摘要:**目的 采用 HPLC 法研究浙江产白芍炮制前后特征图谱的变化, 为科学评价和控制其质量提供有效的方法。方法 以 70% 甲醇为提取溶剂, 采用加热回流的方法提取制备供试样品。以 Hanbon C<sub>18</sub> 色谱柱为固定相, 乙腈-0.1% 磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 检测波长 230 nm, 柱温 25 °C, 进样量 20 μL, 流速 1.0 mL/min, 进行 HPLC 特征图谱检测。以芍药苷为对照品, 检测药材炮制前后芍药苷含量变化。结果 白芍经炮制后, 其不同炮制品间共确定 9 个主要共有特征峰。研究发现特征图谱中主要色谱峰发生了显著改变, 与炮制前相比峰面积显著降低。表明白芍经炮制处理后, 主要化学成分含量明显减少。结论 建立了一种重现性、精密性良好的 HPLC 特征图谱检测方法, 可用于浙江产白芍及其炮制品的质量控制。

**关键词:** 白芍; 炮制品; 芍药苷; HPLC; 指纹图谱

中图分类号: R283 文献标志码: A 文章编号: 1672-0482(2011)04-0369-03

## Comparative Study on the Characteristic Chromatogram of the Crude and Processed Radix Paeoniae Alba from Hangzhou

TANG Kang\*

(The Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, 212001, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a sensitive and specific HPLC method for quality control of *Radix Paeoniae Alba*. **METHODS** HPLC method was applied for quality assessment of *Radix Paeoniae Alba*. HPLC analysis was performed on a Hanbon C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile (solvent B) and water containing 0.1% (v/v) phosphoric acid (solvent A) at a constant flow rate of 1.0 mL/min. An increasing linear gradient (v/v) of solvent B was used. The injection volume was 20 μL. The column temperature was set at 25 °C. The chromatograms were monitored at 230 nm. **RESULTS** The HPLC characteristic chromatogram of *Radix Paeoniae Alba*, showing 9 characteristic peaks, was established from its prepared samples of *Radix Paeoniae Alba*. **CONCLUSION** The characteristic chromatogram of *Radix Paeoniae Alba* with high specificity can be used to control its quality and assure lot-to-lot consistency.

**KEY WORDS:** *Radix Paeoniae Alba*; processed products; paeoniflorin; HPLC; characteristic chromatogram

白芍为毛茛科芍药属植物芍药(*Paeonia lactiflora* Pall.)的去外皮干燥根, 性微寒, 味苦酸; 药材主产浙江、安徽等省。具有抗炎、抗病毒、抗惊厥等多种药理作用<sup>[1]</sup>。主要用于头痛眩晕、胁痛、腹痛等, 一般需经净制切片或炮制后入药。白芍的炮制方法, 药典收载有白芍、炒白芍、酒白芍 3 种饮片规格的炮制方法<sup>[2]</sup>。

白芍的化学成分复杂, 主要有单萜类、有机酸类、鞣质类化合物。目前对白芍的质量控制, 多以芍药苷作为考察指标<sup>[3]</sup>, 这种对单一成分的检测显然不足以说明药材的质量, 并且也缺乏专属性。

中药色谱指纹图谱用于中药质量控制, 比目前沿用的方法提供的信息要丰富。建立和比较白芍不同炮制品液相色谱特征图谱, 可作为规范白芍药材的生产、炮制工艺及确保相关产品内在质量的均一性和稳定性提供全面的质量控制手段。

## 1 材料

### 1.1 药材

白芍药材购自产地浙江东阳。白芍、酒白芍、炒白芍等为白芍原药按 2010 年版《中华人民共和国药典》规定方法炮制而成。经南京中医药大学药学院中药鉴定学教研室鉴定, 符合 2010 年版

收稿日期: 2010-12-28; 修稿日期: 2011-03-11

基金项目: 江苏大学临床医学科技发展基金(JLY2010161)

作者简介: 唐抗(1973-), 男, 江苏镇江人, 江苏大学附属医院主管中药师。\* 通信作者: tk.zj@163.com

《中华人民共和国药典》标准。药材提取前粉碎，过 100 目筛。

## 1.2 对照品

芍药苷(批号:0736-200219)购于江苏省药品检验所,纯度大于 98%;白芍对照药材(批号:120905-200508)购于中国药品生物制品检定所。

## 1.3 试剂

乙腈为色谱纯(Tedia);磷酸等其他试剂均为色谱级;娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

## 1.4 仪器

岛津 LC-20AB 高效液相色谱仪(DAD 检测器),台式高速离心机(80-2,上海医疗器械有限公司),漩涡混合器(XH-C,金坛市医疗器械厂),TCQ-250 超声波清洗器(40 kHz,北京医疗设备二厂),电子分析天平(AEG-220,岛津)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Hanbon C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相:A 为 0.1% 磷酸缓冲液,B 为乙腈;梯度洗脱,详见表 1;进样量:20 μL;流速:1.0 mL/min;检测波长:230 nm;柱温:25 °C。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	流动相 B/%	流动相 A/%
0	5	95
10	10	90
30	15	85
50	25	75
70	50	50
80	90	10

### 2.2 供试品溶液制备

精密称取白芍原药及炮制品药材粉末 1 g,置 50 mL 锥形瓶中,加 80% 甲醇 20 mL 水浴回流提取 1 h,过滤,残渣继续加 80% 甲醇 20 mL,回流提取,合并滤液,回收溶剂。用 70% 甲醇溶解残留物,容量瓶定容至相当于原药材 50 mg/mL,0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。每批药材重复 3 次。

### 2.3 对照品溶液的制备

精密称取芍药苷 10.00 mg,置 5 mL 棕色容量瓶中,用甲醇溶解,定容至刻度,摇匀,制成含芍药苷 2.00 mg/mL 的标准溶液。然后各精密量取 1 mL,置 2 mL 棕色容量瓶中,振摇混匀,加甲醇

定容至 2 mL。按照此法制成每毫升含芍药苷 1.00 mg、0.500 mg、0.200 mg、0.100 mg 的标准品溶液。上述各溶液经过 0.45 μm 滤膜滤过,即得。

### 2.4 测定方法

依 3.1 项下色谱条件进行测定,记录色谱图。

### 2.5 实验结果

#### 2.5.1 稳定性试验

精密称取白芍原药粉末,按供试品溶液制备方法制备供试品溶液,放置于室温下,分别于 0、2、4、6、8、24 h 进样,检测记录指纹图谱。结果表明,各色谱峰的相对保留时间和其相对峰面积比值一致,RSD 小于 3.0%,表明实验稳定性良好。

#### 2.5.2 精密度试验

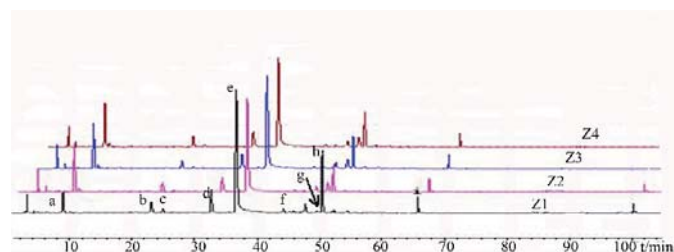
精密称取白芍原药粉末,按供试品溶液制备方法制备供试品溶液,重复进样 6 次,检测记录指纹图谱。结果表明,各色谱峰的相对保留时间和其相对峰面积比值一致,RSD 小于 3.0%,表明实验精密度良好,符合要求。

#### 2.5.3 重复性试验

精密称取白芍原药粉末 6 份,按供试品溶液制备方法制备供试品溶液,分别检测记录指纹图谱。结果表明,各色谱峰的相对保留时间和其相对峰面积比值一致,RSD 小于 3.0%,表明实验重复性良好,符合要求。

#### 2.5.4 浙江产白芍原药及其炮制品 HPLC 图谱

HPLC 分析白芍不同炮制品的特征图谱(见图 1),确定了 9 个共有特征色谱峰。其中 e 峰为芍药苷。



注:Z1. 浙江白芍原药;Z2. 浙江白芍;Z3. 浙江炒白芍;

Z4. 浙江酒白芍

图 1 浙江产白芍原药及其炮制品 HPLC 特征图谱

#### 2.5.5 白芍及其炮制品中芍药苷含量

将芍药苷不同浓度的对照品溶液分别进样分析,记录流出曲线。以样品峰面积对样品浓度作图,得到芍药苷校正曲线: $Y = 31\,838X - 40\,017$ ,  $r$

=0.999 9,各产地不同炮制品中芍药苷的含量见表2,符合2010版国家药典标准。

表2 浙江产白芍不同炮制品中芍药苷含量

不同炮制品	芍药苷含量/%
白芍药材	2.22
白芍	1.49
炒白芍	1.51
酒白芍	1.52

### 3 讨论

#### 3.1 提取溶剂的选择

本实验分别采用了50%甲醇、60%甲醇、70%甲醇、80%甲醇、90%甲醇及100%甲醇6种溶剂,对白芍进行提取制备样品溶液,然后对各样品进行HPLC分析,比较不同提取溶剂的指纹图谱,结果表明以70%甲醇为提取溶剂,对白芍主要成分的提取效果较佳,且色谱图各主要色谱峰分离效果较为理想,故用70%甲醇作为本实验的提取溶剂。

#### 3.2 提取方法的考察

实验中以70%甲醇为提取溶剂,考察了超声(室温下超声30 min)、回流(85℃回流60 min)、浸渍法等不同提取方法及提取次数的特征图谱情况,通过各项数据的比较以及信号峰的多少,发现回流提取法的色谱峰信息更为丰富。此外通过提取次数色谱图比对,结果选定以70%甲醇回流提取两次,每次1 h的提取效果较好。

#### 3.3 色谱条件的优化

##### 3.3.1 流动相的优选

对于白芍指纹图谱研究文献报道大多采用乙腈-磷酸<sup>[4-5]</sup>,本实验比较考察了甲醇-0.1%磷酸系统与乙腈-0.1%磷酸系统。实验结果发现与乙腈-0.1%磷酸系统相比,甲醇-0.1%磷酸系统色谱峰有明显的拖尾,且分离效果较差,所以结合本实验结果及相关文献的报道,选用乙腈-0.1%磷酸系统为分析流动相。

##### 3.3.2 检测波长考察

对190~400 nm扫描的各波长下的色谱图进行分析比较,由于单萜苷类成分为白芍的主要

活性成分,这类成分多在230 nm处有较高的灵敏度,且在此波长下记录的色谱图基线平稳,色谱峰数目较多,各色谱峰紫外吸收较强,故检测波长确定为230 nm。

##### 3.3.3 柱温的考察

本实验分别考察了柱温在25、30℃时的色谱峰分离情况,结果表明柱温在25℃与30℃分离效果相差不大,故柱温控制在25℃。

#### 3.4 特征图谱分析比较

本实验共确定了9个共有特征峰。通过对白芍炮制前后的特征图谱比较研究,发现白芍炮制品与原药相比,特征谱差异很小,基本无变化,但其原药材经炮制后,主要成分含量均有显著的降低。研究发现白芍原药经炮制后g峰在炮制品中的含量显著升高,可见炮制使白芍内部的化学成分发生了变化,至于其具体炮制机理,有待深入研究。

#### 3.5 结论

通过本实验研究,显示白芍经过炒制、酒制等炮制处理后,指纹图谱发生了明显的变化,表明炮制使白芍主要化学成分发生了显著改变,这些化学成分及其炮制前后的变化可能就是白芍及其炮制品发挥不同临床功效的物质基础和机制所在,这为白芍的炮制及其临床应用提供了一定的理论依据。同时本研究建立了一种重现性、精密性良好的HPLC指纹图谱检测方法,可用于白芍及其炮制品的质量控制。

#### 参考文献:

- [1]刘鹰翔,马玉卓.白芍的化学成分与药理研究进展[J].中草药,1995,26(8):437-440.
- [2]国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:化学工业出版社,2000:78.
- [3]王宝琴.中成药质量标准与标准物质研究[S].北京:中国医药科技出版社,1994:608.
- [4]陈四平,张浩,李相冲,等.中药白芍的研究进展[J].承德医学院学报,2008,25(3):293-296.
- [5]周秋香,李友宾,蒋建勤.白芍的化学成分研究[J].海峡药学,2009,21(6):92-94.

(编辑:李伟东 董宇)