

• 药物制剂与药品质量控制 •

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*

周学刚,陈淑欣,魏东华,孙世芹,宗鸣

(哈尔滨医科大学大庆校区药学院中药及药用植物学教研室,163319)

摘要 目的 比较不同种质、不同部位白芍原植物在同一分析方法下芍药苷、芍药内酯苷的含量差异及分布情况。方法 采用高效液相色谱法,色谱条件: Lichro CART RP-C₁₈(4 mm×250 mm,5 μm);流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液(14: 86);流速: 1.0 mL·min⁻¹;检测波长: 230 nm;柱温: 30 ℃;进样量: 10 μL。结果 不同种质白芍原植物中芍药苷、芍药内酯苷含量存在较大差异,白芍原植物地下各部分芍药苷的含量呈现根茎(芍头)>须根>主根,芍药内酯苷的含量呈现须根>根茎(芍头)>主根。结论 芍药苷、芍药内酯苷含量差异主要影响因素为种质,道地产区的种质芍药苷、芍药内酯苷含量变异幅度小。

关键词 白芍;部位;芍药苷;芍药内酯苷**中图分类号** R286;R927.1**文献标识码** A**文章编号** 1004-0781(2011)11-1477-04

Determination of Paeoniflorin and Albiflorin in Different Germplasms and Parts of Peony Root

ZHOU Xue-gang, CHEN Shu-xin, WEI Dong-hua, SUN Shi-qin, ZONG Ming (Department of Medicinal Botany, Daqing Branch of Harbin Medical University, Daqing 163319, China)

ABSTRACT Objective To compare the content and distribution of paeoniflorin and albiflorin in different germplasms and parts of peony root under the same analysis. **Methods** The HPLC method was taken by using Lichro CART RP-C₁₈(4 mm×250 mm, 5 μm) column with HCN-0.1% phosphoric acid (V: V = 14: 86) as mobile phase, flowing at 1.0 mL·min⁻¹, with the detection wavelength as 230 nm, column temperature at 30 ℃ and loading volume as 10 μL. **Results**

Paeoniflorin and albiflorin in different germplasms were quite different. It was showed that rhizoma>fibrous root>axial root in terms of paeoniflorin contained in peony root; fibrous root>rhizoma>axial root in terms of albiflorin in different parts of radix *paeonia alba*. **Conclusion** The main reason for content difference of paeoniflorin and albiflorin was germplasms. There is small variation for paeoniflorin and albiflorin in geo-authentic product area of germplasm.

KEY WORDS Germplasm; Parts; Paeoniflorin; Albiflorin

白芍(*Radix Paeonia alba*)为我国常用大宗药材,《中华人民共和国药典》2010年版载其原植物为毛茛科(Ranunculaceae)芍药属(*Paeonia* L.)植物芍药(*Paeonia lactiflora* Pall.)的干燥根,夏、秋两季采挖,洗净,除去头尾及细根,置沸水中煮制后除去外皮或去外皮后煮制,晒干。该药具平肝镇痛、养血调经、敛阴止汗等功效^[1]。在分类学上,芍药(*P. lactiflora* Pall.)属于芍药科芍药属芍药组多年生双子叶草本植物。白芍在我国已有900多年的栽培历史,主产于安徽亳州(亳白芍)、浙江杭州(杭白芍)、四川中江(川白芍)等地。芍药苷是其主要成分,因此芍药苷的含量高低成

为评价白芍质量的法定标准。《中华人民共和国药典》2010年版规定白芍中含芍药苷(化学式: C₂₂H₂₈O₁₁)不得少于1.6%^[2],但没有对其他指标进行考察。笔者在实验研究过程中发现,所采用的提取、分离方法能很好地分离芍药苷、芍药内酯苷。笔者在本研究中以芍药苷、芍药内酯苷含量为指标,对收集的12份不同种质进行比较研究,为能否入药及其多指标评价提供一定依据。

1 材料

1.1 药材 笔者在本实验中收集了来自安徽亳州、浙江杭州、北京药用植物研究所和山东菏泽的共12份不同种质白芍原植物作为研究材料^[2-3],所收集材料经中国医学科学院药用植物研究所陈震研究员鉴定,除杭白芍为毛果芍药 [*P. lactiflora* var. *trichocarpa* (Bunge) Stern] 外,其余均为芍药(*P. lactiflora* Pall.),具体见表1。

收稿日期 2011-03-05 **修回日期** 2011-04-12**基金项目** * 国家科技支撑计划基金资助项目(基金编号: 2006BAI06A12-07)**作者简介** 周学刚(1983-),男,吉林白山人,助教,硕士,主要从事药用植物种质资源评价研究。电话: (0) 13945618426, E-mail: zhouxuegang1983@163.com。

表 1 12 份芍药种质资源

Tab. 1 The germplasm resources of 12 types of *radix paeoniae alba*

种质	来源	生长时间/a	采样方法
亳州 1 号	安徽亳州	5	平均每 667 m ² 采样 5 ~ 10 株, 共随机采样 40 株
亳州 2 号	安徽亳州	5	平均每 667 m ² 采样 5 ~ 10 株, 共随机采样 50 株
亳州 3 号	安徽亳州	5	平均每 667 m ² 采样 10 ~ 15 株, 共随机采样 25 株
杭白芍	浙江杭州	4	平均每 667 m ² 采样 15 株, 共随机采样 15 株
北京 1 号	北京药用植物研究所	15	平均每 667 m ² 采样 10 株, 共随机采样 10 株
北京 2 号	北京药用植物研究所	15	平均每 667 m ² 采样 10 株, 共随机采样 10 株
北京 3 号	北京药用植物研究所	15	平均每 667 m ² 采样 10 株, 共随机采样 10 株
北京 4 号	北京药用植物研究所	15	平均每 667 m ² 采样 10 株, 共随机采样 10 株
昆山霞光	山东菏泽	4	平均每 667 m ² 采样 10 株, 共随机采样 10 株
种生粉	山东菏泽	4	平均每 667 m ² 采样 10 株, 共随机采样 10 株
大富贵	山东菏泽	4	平均每 667 m ² 采样 10 株, 共随机采样 10 株
高杆红	山东菏泽	4	平均每 667 m ² 采样 10 株, 共随机采样 10 株

1.2 仪器 高效液相色谱仪(Waters, 996-486), UV 检测器, 电子分析天平 梅特勒-托利多仪器(上海) 有限公司, 型号 AL204], 干燥烘箱(北京西城区医疗器械二厂, 型号: DF205), 超声仪(上海科导超声仪器有限公司, 型号: SK250HP), 真空泵(上海亚荣生化仪器厂, 型号: SHZ-III)。

1.3 试药 芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110736-200732, 供含量测定用), 芍药内酯苷(天津一方科技有限公司, 供含量测定用), 乙腈(色谱纯, Fisher Scientific, 批号: 2606 L-9864), 95% 乙醇(分析纯, 北京化工厂, 批号: 20080320), 磷酸(北京化工厂, 分析纯, 批号: 20080516), 甲醇(北京化工厂, 分析纯, 批号: 20080919), 双蒸水。样品: 芍药全根, 洗净, 50 °C 干燥箱干燥, 样品粉碎, 过筛孔内径 0.250 mm 筛(60 目), 备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Lichro CART RP-C₁₈(4 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液(14 : 86); 流速: 1 mL · min⁻¹; 检测波长: 230 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品 6.05 mg, 用甲醇溶解并定容至 50 mL, 取 5 mL 稀释定容至 10 mL, 制成每毫升含 60.5 μg 的芍药苷溶液, 即得芍药苷对照品溶液。精密称取芍药内酯苷对照品 6 mg, 用甲醇溶解并定容至 50 mL, 取 5 mL 稀释定容至 10 mL, 制成每毫升含 60.0 μg 的芍药内酯苷溶液, 即得芍药内酯苷对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取供试药材样品粉碎, 过筛孔内径 0.250 mm 筛(60 目), 50 °C 干燥至恒重, 精密称定细粉 0.1 g, 置 50 mL 量瓶中, 加稀乙醇(取乙醇

529 mL, 加水稀释至 1 000 mL, 即得) 35 mL, 超声处理(功率 240 W, 频率 45 kHz) 30 min, 放冷, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 过孔径 0.45 μm 有机滤膜, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 系统适应性考察 在上述色谱条件下白芍原植物中芍药苷、芍药内酯苷与其他组分均能达到基线分离, 理论板数按芍药苷计算 ≥ 2 000。

2.4.2 线性关系考察 精密称定芍药苷对照品 6.05 mg, 用甲醇溶解并定容至 50 mL。分别精密量取 1, 3, 5, 7, 9, 10 mL, 用甲醇定容至 10 mL, 制成浓度分别为 12.1, 36.3, 60.5, 84.7, 108.9, 121.0 μg · mL⁻¹ 溶液, 按上述色谱条件进样 10 μL, 测定芍药苷峰面积。以芍药苷溶液浓度为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标, 得回归方程 $Y = 13.512X - 34.591$, $R^2 = 0.9998$ ($n = 6$), 在 12.1 ~ 121.0 μg · mL⁻¹ 范围内线性良好。精密称定芍药内酯苷对照品 6.00 mg, 用甲醇溶解定容至 50 mL。分别精密量取 0.125, 0.25, 0.5, 1, 3, 5, 7, 9, 10 mL 用甲醇定容至 10 mL, 制成浓度分别为 1.5, 3.0, 6.0, 12.01, 36.0, 60.0, 84.0, 108.0 μg · mL⁻¹ 溶液, 按上述色谱条件进样 10 μL, 测定芍药内酯苷峰面积。以芍药内酯苷溶液浓度为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标, 得回归方程 $Y = 172.953X - 11.443$, $R^2 = 0.9997$ ($n = 9$), 芍药内酯苷浓度在 1.5 ~ 108.0 μg · mL⁻¹ 范围内线性关系良好。

2.4.3 精密度实验 精密量取芍药苷对照品溶液 10 μL, 按上述色谱条件重复进样 5 次, 计算峰面积的积分值, 结果 RSD = 1.52% ($n = 5$)。精密量取芍药内酯苷对照品溶液 10 μL, 按上述色谱条件重复进样 5 次, 计算峰面积的积分值, 结果 RSD = 1.21% ($n = 5$)。

2.4.4 稳定性实验 取供试品溶液分别在 1,2,4,8,12,24 h 进样 10 μ L,重复 3 次,测定峰面积的积分值。结果样品在 24 h 内稳定性良好,RSD=0.73% ($n=6$);测定芍药内酯苷的峰面积积分值,结果样品在 24 h 内稳定性良好,RSD=1.34% ($n=6$)。

2.4.5 重复性实验 精密称取同一样品 5 份,每份 0.1 g,按供试品溶液制备方法进行提取处理后,各精密量取 10 μ L 注入液相色谱仪,按上述色谱条件分析测定芍药苷、芍药内酯苷,计算芍药苷、芍药内酯苷含量。结果芍药苷含量为(2.86 $\pm$ 0.04)% ,RSD=1.40% ($n=5$);芍药内酯苷含量为(0.77 $\pm$ 0.01)% ,RSD=1.53% ($n=5$)。表明芍药苷、芍药内酯苷重复性较好。

2.4.6 加样回收率实验 精密称取同一样品 5 份,每份 0.1 g,分别精密加入 0.518 mg $\cdot$ mL⁻¹芍药苷对照品溶液和 0.250 mg $\cdot$ mL⁻¹芍药内酯苷对照品溶液各 5 mL。按样品溶液制备方法提取处理,各量取 10 μ L 注入液相色谱仪,按上述色谱条件进行芍药苷、芍药内酯苷分析测定,计算芍药苷、芍药内酯苷的含量。结果芍药苷平均回收率为 98.92% ,RSD=1.01% ($n=5$),芍药内酯苷平均回收率为 99.06% ,RSD=1.34% ($n=5$)。

2.4.7 样品测定 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 10 μ L 进样,分别按芍药苷、芍药内酯苷测定方法测定,记录色谱图。

2.5 白芍原植物不同种质、不同部位芍药苷、芍药内酯苷的含量测定

2.5.1 不同种质白芍原植物中芍药苷、芍药内酯苷的含量测定 分别精密量取对照品溶液 10 μ L 进样,分别按芍药苷、芍药内酯苷测定方法测定不同种质的芍

药苷、芍药内酯苷含量,含量测定结果见表 2。

表 2 中数据为 3 次重复的平均值;小写英文字母相同者为差异无统计学意义,不同者为差异有统计学意义($P<0.05$);大写英文字母相同者为差异无统计学意义,不同者为差异有统计学意义($P<0.01$)

从表 2 可知,各种质的芍药苷含量依次为北京 2 号>种生粉>北京 1 号>杭白芍>昆山霞光>北京 4 号>高杆红>亳州 1 号>亳州 3 号>大富贵>亳州 2 号>北京 3 号。方差 SNK 分析上呈现 5 组,分别为北京 3 号;亳州 2 号、大富贵、亳州 3 号、亳州 1 号;大富贵、亳州 3 号、亳州 1 号、高杆红、北京 4 号;亳州 3 号、亳州 1 号、高杆红、北京 4 号、昆山霞光、杭白芍;北京 1 号、种生粉、北京 2 号。各种质的芍药内酯苷的含量依次为北京 3 号>北京 1 号>北京 4 号>杭白芍>亳州 1 号>亳州 3 号>大富贵>亳州 2 号、北京 2 号>高杆红>昆山霞光>种生粉,方差 SNK 分析上呈现 6 组,分别为种生粉;昆山霞光、高杆红;亳州 2 号、北京 2 号、大富贵、亳州 3 号、亳州 1 号、杭白芍;北京 4 号;北京 1 号;北京 3 号。各种质间芍药苷、芍药内酯苷含量的一致性低。

2.5.2 白芍原植物不同种质、不同部位芍药苷、芍药内酯苷的含量测定 白芍的地下部主要包括根茎(当地称为芍头)、主根和须根 3 部分。白芍的药用部位主要为主根;根茎主要作为分根繁殖用,但也有将根茎不煮制去皮直接晒干作为赤芍入药,这样的药材能否充当赤芍药用还有待研究;须根部分多废弃不用。笔者在本实验中对地下部的不同部分进行了芍药苷、芍药内酯苷含量的测定,测定结果见表 3(表 3 中数据为 3 次重复的平均值)。

表 2 不同种质白芍原植物中芍药苷、芍药内酯苷含量

Tab.2 The content of paeoniflorin and albiflorin of different germplasms radix *Paeoniae alba*

$\bar{x}\pm s$

种质	产地	芍药苷		芍药内酯苷	
		含量/%	排序	含量/%	排序
亳州 1 号	安徽亳州	3.14 $\pm$ 0.29 ^{aceAC}	8	0.83 $\pm$ 0.12 ^{adAB}	5
亳州 2 号	安徽亳州	2.78 $\pm$ 0.18 ^{bB}	11	0.72 $\pm$ 0.05 ^{bA}	8
亳州 3 号	安徽亳州	2.98 $\pm$ 0.20 ^{abfABE}	9	0.77 $\pm$ 0.04 ^{abAB}	6
杭白芍	浙江杭州	3.45 $\pm$ 0.04 ^{cefC}	4	0.90 $\pm$ 0.01 ^{aBE}	4
北京 1 号	北京药用植物研究所	4.26 $\pm$ 0.13 ^{dD}	3	1.23 $\pm$ 0.01 ^{aC}	2
北京 2 号	北京药用植物研究所	4.54 $\pm$ 0.01 ^{dD}	1	0.72 $\pm$ 0.02 ^{bdABH}	8
北京 3 号	北京药用植物研究所	2.34 $\pm$ 0.09 ^{gF}	12	2.62 $\pm$ 0.09 ^{eD}	1
北京 4 号	北京药用植物研究所	3.34 $\pm$ 0.07 ^{ehCE}	6	1.05 $\pm$ 0.03 ^{fE}	3
种生粉	山东菏泽	4.50 $\pm$ 0.04 ^{dD}	2	0.25 $\pm$ 0.04 ^{gF}	12
昆山霞光	山东菏泽	3.40 $\pm$ 0.02 ^{efCE}	5	0.50 $\pm$ 0.03 ^{hG}	11
大富贵	山东菏泽	2.87 $\pm$ 0.01 ^{abAB}	10	0.75 $\pm$ 0.01 ^{bdAB}	7
高杆红	山东菏泽	3.26 $\pm$ 0.02 ^{fhAC}	7	0.55 $\pm$ 0.01 ^{hGH}	10

表3 白芍原植物不同部位芍药苷、芍药内酯苷含量测定

Tab. 3 The content of paeoniflorin and albiflorin in different parts of *radix paeoniae alba* % , $\bar{x} \pm s$

种质及部位	芍药苷含量	芍药内酯苷含量
亳州1号		
根茎(芍头)	3.91±0.06	1.16±0.03
主根	3.14±0.29	0.83±0.12
须根	3.38±0.17	1.48±0.04
亳州2号		
根茎(芍头)	4.23±0.07	1.20±0.07
主根	2.78±0.18	0.72±0.05
须根	3.01±0.07	1.79±0.01

从表3可以看出,白芍地下各部分芍药苷的含量差异明显,均呈现根茎(芍头)>须根>主根。

3 讨论

笔者在本实验所采用的方法能较好地分离测定芍药苷和芍药内酯苷含量,干扰峰少,峰形好,该方法简便,重复性好。本研究测定不同种质芍药苷含量均>2.0%,且部分种质芍药苷含量>4.0%。从12份材料的研究中发现,生长年限对于不同种质芍药苷含量的影响较小。芍药苷含量较高的3份种质分别为北京2号、种生粉(山东)和北京1号,说明仅就芍药苷单一评价指标很可能是其种质比较优异,但二者芍药内酯苷含量差异极显著。芍药内酯苷的含量变化较大,最低为来源山东的种生粉(芍药内酯苷含量为0.25%),最高为来源北京的北京3号(芍药内酯苷含量为2.62%),相差10.48倍。

不同种质芍药苷含量有很大差异,生长地域和生长年限的影响不是主要因素,差异的产生主要来源于种质的不同。从生长地域上分析,不同种质芍药苷含量高低交错存在,未呈现相关性;从生长年限上分析,虽然种质间生长年限有较大差异,有4a生、5a生和15a生的差别,但不同生长年限之间芍药苷、芍药内酯苷均未呈现相关性。

通过收集种质从道地产区和非道地产区初步分析,白芍道地产区主要有亳州1号、亳州2号、亳州3号和杭白芍;其他8份种质主要为非道地产区。道地产区的白芍芍药苷含量为(2.78±0.18)%~(3.45±0.04)%,平均为(3.09±0.28)%,变异系数为9.06%。芍药内酯苷含量为(0.72±0.05)%~(0.90±0.01)%,平均为(0.81±0.08)%,变异系数为9.88%;非道地产区的白芍芍药苷含量为(2.34±0.09)%~(4.54±0.01)%,平均为(3.56±0.80)%,变异系数为22.47%。芍药内酯苷含量为(0.25±0.04)%~(2.62±0.09)%,平均为(0.96±0.74)%,变异系数为77.08%;非道地产区的芍药苷、芍药内酯苷的含量变异范围要比道地产区大很多。道地产区和非道地产区就芍药芍药内酯苷的含量变化分析可见,来源山东的大富贵可划入道地产区种质行列。针对种质混乱,能否均能入药有待于更进一步系统化、规范化研究确定。

通过不同部位的测定,发现根茎(芍头)中的芍药苷含量远高于主根,须根中芍药苷的含量也高于主根,变化趋势为根茎(芍头)>须根>主根。但芍药内酯苷的含量变化却同芍药苷的含量分布不一致。二者如何结合起来更好地评价白芍的质量,不同种质能否均合格入药有待进一步探讨和分析^[4]。

[DOI] 10.3870/yydb.2011.11.029

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 96-97, 147-148.
- [2] 周学刚. 白芍种质资源的初步评价及传粉生物学研究 [D]. 中国协和医科大学, 2009: 1-118.
- [3] 周学刚, 张丽萍, 王艳芳, 等. 安徽白芍不同种质评价研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(5): 28-30.
- [4] 胡世林, 付桂兰, 冯学峰, 等. 不同产地和部位赤芍中芍药苷的含量测定 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(12): 714-716.

欢迎订阅 2011 年 8 月出版的《医药导报》增刊

应广大读者、作者要求,经报湖北省新闻出版局批准,《医药导报》编辑部将于2011年8月底出版1期增刊,该增刊收录论文200余篇,每本定价20.00元。若需订购请直接将订阅款汇至:武汉市解放大道1095号同济医院《医药导报》编辑部,邮政编码:430030,并请在汇款单上注明“购增刊”字样。款到寄书。