

## 赤芍野生品与栽培品 4 种化学成分含量的比较

俞敬波<sup>1,2</sup>, 章军<sup>1</sup>, 王文全<sup>2</sup>, 黄璐琦<sup>1</sup>, 冯学锋<sup>1\*</sup>, 程明<sup>1</sup>, 格小光<sup>1</sup>, 杨连菊<sup>1</sup>, 杨京玉<sup>1</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

**[摘要]** 目的: 对中药赤芍的不同产地野生品及栽培品中芍药苷、没食子酸、儿茶素及苯甲酸含量进行比较研究。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Agilent Zorbax C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.02% 磷酸水溶液为流动相梯度洗脱, 检测波长 230 nm (儿茶素、苯甲酸), 272 nm (没食子酸、芍药苷), 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。结果: 赤芍野生品中没食子酸、儿茶素、芍药苷、苯甲酸的含量范围依次为 0.008 35% ~ 0.143%, 0.024 2% ~ 0.675%, 2.23% ~ 8.03%, 0.033 2% ~ 0.152%。赤芍栽培品以上 4 种化学成分的含量范围分别为 0.006 26% ~ 0.052 3%, 0.114% ~ 0.516%, 1.57% ~ 4.18%, 0.032 5% ~ 0.115%。黑龙江大庆和吉林梨树县产赤芍栽培品的芍药苷、儿茶素含量与野生品的没有显著性差异。结论: 建议以芍药苷及儿茶素共同做为评判赤芍道地药材质量的指标性成分; 黑龙江省和吉林省为适宜进行赤芍栽培的地域。

**[关键词]** 赤芍; 野生品; 栽培品; 芍药苷; 儿茶素; 没食子酸; 苯甲酸; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)18-0107-05

## Comparative Study on Content of Four Constituent between Wild and Cultivated Radix Paeoniae Rubra

YU Jing-bo<sup>1,2</sup>, ZHANG Jun<sup>1</sup>, WANG Wen-quan<sup>2</sup>, HUANG Lu-qi<sup>1</sup>, FENG Xue-feng<sup>1\*</sup>,  
CHENG Ming<sup>1</sup>, GE Xiao-guang<sup>1</sup>, YANG Lian-ju<sup>1</sup>, YANG Jing-yu<sup>1</sup>

(1. Institute of Chinese Material, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Beijing University of Chinese Medicine, School of Materia Medica, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** Paeoniflorin, gallic acid, catechin, and benzoic acid of Radix Paeoniae Rubra of different origins of wild and cultivation were compared by HPLC. **Method:** A agilent zorbax C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used with the mobile phase of acetonitrile-0.02% phosphoric acid solution, gradient elution. The detection wavelength were 230 nm and 270 nm respectively. Column temperature is 30 °C. The injection volume is 10 μL. **Result:** The content of catechin, gallic acid, paeoniflorin and benzoic acid in wild Radix Paeoniae Rubra were 0.008 35% - 0.143%, 0.024 2% - 0.675%, 2.23% - 8.03%, 0.033 2% - 0.152% respectively, in cultivated Radix Paeoniae Rubra were 0.006 26% - 0.0523%, 0.114% - 0.516%, 1.57% - 4.18%, 0.032 5% - 0.115% respectively. Cultivated Radix Paeoniae Rubra of Daqing and Lishu have no significant difference with wild Radix Paeoniae Rubra. **Conclusion:** Suggest Paeoniflorin and catechin as the indicative components of evaluating genuine medicinal materials. Heilongjiang and Jilin were the suited area for cultivating Radix Paeoniae Rubra.

**[Key words]** *Paeonia lactiflora*; wild Radix Paeoniae Rubra; cultivated Radix Paeoniae Rubra; paeoniflorin; catechin; gallic acid; benzoic acid; HPLC

**[收稿日期]** 20110315(015)

**[基金项目]** 中医药行业科研专项(200707014); 科技部科技基础性工作专项重点项目(SB2007FY020)

**[第一作者]** 俞敬波, 硕士, 研究方向: 中药资源开发利用, E-mail: yujingbo1985@126.com

**[通讯作者]** \* 冯学锋, Tel: 010-64014411-2983, E-mail: hfj@mx.cei.gov.cn

赤芍为活血化瘀、清热凉血、散瘀止痛功效的常用中药,来源为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 野生种群的根。长久以来市场流通的赤芍均为野生品,并以内蒙古多伦县出产赤芍为道地药材,称“多伦赤芍”<sup>[1]</sup>。随着近年来临床需求量的不断加大及赤芍资源的紧缺,在内蒙古、黑龙江、吉林、安徽等地出现了野生芍药的试验性栽培,即以野生芍药的种子或芽头在大田或果园下人工种植。道地药材“多伦赤芍”与其他产地赤芍在化学成分方面的差异以及与赤芍栽培品成分的差异,是赤芍药材质量控制和资源利用中值得关注的问题。赤芍试验性栽培引来的问题,与其同物种 *P. lactiflora* 的传统药用栽培品,是功效完全不同的另一种常用中药白芍,赤芍的栽培是否会引起药性的改变,是另一值得关注的问题。

赤芍化学成分主要有芍药苷(paeoniflorin)、芍药内酯苷(albiflorin)等单萜类化合物,尚含有酚类、黄酮类、鞣质类成分。对于赤芍中芍药苷的含量测定,以及同时测定 3~5 种成分的研究已有一些报道<sup>[2-4]</sup>,但对赤芍不同产地野生品、栽培品多个成分含量同时比较的报道较少。本文选取大量多伦产和其他地区产的赤芍野生品及赤芍的栽培品,进行没食子酸、儿茶素、芍药苷和苯甲酸 4 种成分含量的比较研究,探讨道地药材的质量标准,以及赤芍栽培品的品质和质量问题。以期制订赤芍道地药材的质量标准,指导中药赤芍在适当区域的栽培提供理论依据。

## 1 仪器与试剂

岛津 LC-20A 液相色谱仪,二极管阵列检测器,LC solution 工作站。Agilent Zorbax C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),舒美 KQ-3200E 型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

芍药苷(批号 1287-0902212)购于中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,没食子酸(批号 110831-200302)、儿茶素(批号 877-200001)、苯甲酸(批号 100419-200301)均购于中国药品生物制品检定所。甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、磷酸(分析纯)、色谱分析用水。

赤芍药材分别购买或采集于内蒙古、河北、黑龙江、辽宁和吉林等省区,共 32 份样品;赤芍栽培品采自吉林梨树县、黑龙江大庆市和安徽临泉县,共 7 份样品。吉林梨树县赤芍栽培样品,为当地野生芍药

种子播种或用根茎栽种的生长不同年限样品。黑龙江大庆市和安徽临泉县赤芍栽培样品,为内蒙古海拉尔地区采挖的野生芍药根茎栽种的生长不同年限样品。均自然干燥。所有样品经中国中医科学院冯学锋研究员及北京中医药大学刘春生教授鉴定,均为毛茛科植物芍药 *P. lactiflora* 的干燥根。

## 2 方法与结果

**2.1 混合对照品溶液的制备** 精密称取对照品适量,加 50% 甲醇溶解制成含没食子酸 9.608 mg·L<sup>-1</sup>,儿茶素 46.28 mg·L<sup>-1</sup>,芍药苷 882.2 mg·L<sup>-1</sup>,苯甲酸 8.856 mg·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

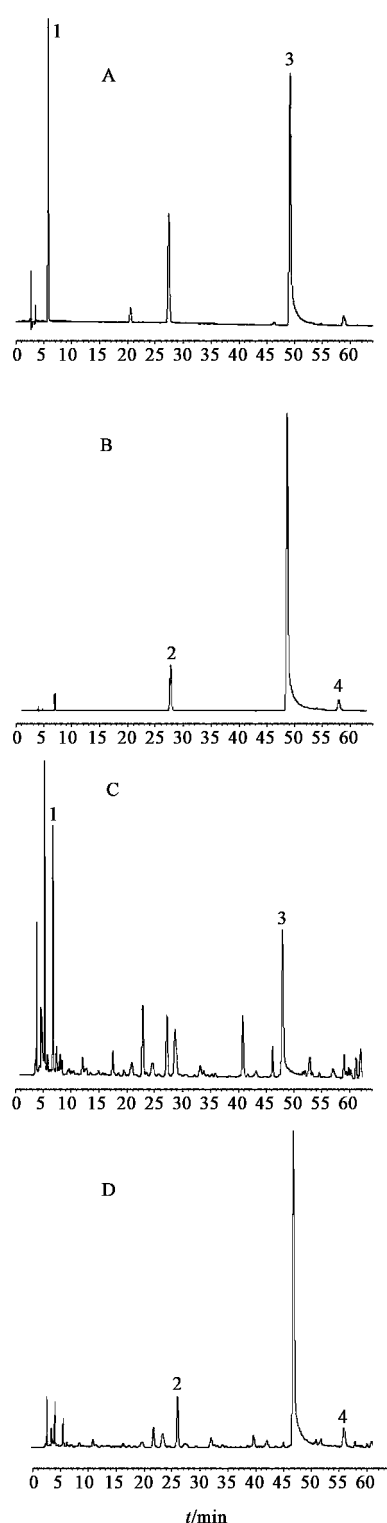
**2.2 供试品溶液的制备** 取赤芍药材粉末(60 目)0.5 g,精密称定,加入 50% 甲醇 25 mL,称重,超声处理(150 W, 40 Hz) 15 min。放冷,称重,原溶液补足减失的质量,摇匀,离心(8 000 r·min<sup>-1</sup>, 5 min),取上清液过微孔滤膜,取续滤液,即得。

**2.3 色谱条件** Agilent Zorbax C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.02% 磷酸水溶液,梯度洗脱(0~28 min, 5:95; 28~64 min, 8.5:91.5; 64~17.5 min, 8.5:91.5; 17.5~82.5 min, 8.5:91.5),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长儿茶素、苯甲酸为 230 nm,没食子酸、芍药苷为 272 nm,柱温 30℃,进样量 10 μL。在该条件下 4 成分分离良好,经二极管阵列检测器检验,纯度均合格。见图 1。

**2.4 线性关系的考察** 精密吸取系列浓度的混合对照品溶液,在上述色谱条件下进样分析,以峰面积为纵坐标,进样量(μg)为横坐标,绘制标准曲线,得没食子酸、儿茶素、芍药苷和苯甲酸的标准曲线和相关系数分别为  $Y_{\text{没食子酸}} = 3.067 \times 10^6 X - 3.334 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ );  $Y_{\text{儿茶素}} = 2.682 \times 10^6 X - 8.970 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ );  $Y_{\text{芍药苷}} = 7.868 \times 10^4 X - 2.571 \times 10^4$  ( $r = 0.9998$ );  $Y_{\text{苯甲酸}} = 4.947 \times 10^6 X - 1.612 \times 10^4$  ( $r = 0.9999$ )。各成分的线性范围分别为 0.0048~0.72 μg, 0.022~3.3 μg, 0.34~26 μg, 0.021~3.2 μg。标准曲线均过原点,以外标一点法计算含量。

**2.5 精密度试验** 精密量取 2.2 项下的供试品溶液 10 μL,连续进样 6 次,没食子酸、儿茶素、芍药苷和苯甲酸峰面积的 RSD 分别为 0.5%, 0.2%, 0.1%, 0.8%。

**2.6 重复性试验** 精密称取同一赤芍药材粉末,按 2.2 项下方法制备 5 份供试品溶液,在上述色谱条件下进样分析,结果没食子酸、儿茶素、芍药苷和苯



A, B, C, D 检测波长分别为 272, 230, 272, 230 nm

1. 没食子酸; 2. 儿茶素; 3. 芍药苷; 4. 苯甲酸

图1 对照品(A, B)与赤芍供试品(C, D)色谱

甲酸的质量分数分别为 0.044 7% , 0.210% , 3.88% , 0.049 3%; RSD 分别为 1.4% , 0.6% , 1.0% , 1.2% 。

**2.7 稳定性试验** 取同一 2.2 项下供试品溶液, 室温下放置, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 24 h 在上述色谱条件下进样分析, 计算没食子酸、儿茶素、芍药苷和苯甲酸峰面积的 RSD 分别为 1.7% , 0.2% , 0.3% , 1.2% , 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.8 回收率试验** 取已知含量赤芍药材粉末 6 份, 每份 0.25 g 精密称定, 分别加入混合对照品溶液适量, 按 2.2 项下方法制备成供试品溶液, 在上述色谱条件下进样分析, 计算回收率, 结果见表 1。

**2.9 样品测定** 取所收集的不同产地赤芍野生品与栽培品药材, 按 2.2 项下方法制备成供试品溶液, 在上述色谱条件下进样分析, 按外标一点法计算上述 4 种成分的百分含量, 结果见表 2。

结果显示, 赤芍野生品没食子酸、儿茶素、芍药苷、苯甲酸质量分数范围分别为 0.008 35% ~ 0.143% , 0.024 2% ~ 0.675% , 2.23% ~ 8.03% , 0.033 2% ~ 0.152% , 赤芍栽培品 4 种化学成分的含量范围分别为 0.006 26% ~ 0.052 3% , 0.1145 ~ 0.516% , 1.57% ~ 4.18% , 0.032 5% ~ 0.115% 。以黑龙江大庆和吉林梨树县产赤芍栽培品的 4 种化学成分含量与赤芍野生品的含量进行 *t* 检验, 除没食子酸的含量外, 其他 3 成分含量两者没有显著性差异。

### 3 讨论

从结果可知, 道地药材多伦赤芍的主要成分芍药苷质量分数不是最高的, 而处在一个中等偏上的位置, 为 3.65% ~ 5.47%; 儿茶素的质量分数亦然, 为 0.126% ~ 0.421% 。周红涛<sup>[2]</sup> 曾经提出将儿茶素作为赤芍药材质量的化学评价指标之一。鉴于此, 建议将芍药苷、儿茶素共同作为赤芍优质的道地药材质量的化学评价指标。

实验样品中儿茶素含量表现出一定的地域性。有 2 份样品未检出儿茶素, 分别为山西柯岚和安徽临泉样品。这两处的地理位置偏南, 在北纬 39° 以下。有 2 个儿茶素相对偏低地域, 质量分数为 0.024 2% ~ 0.117% 。这 2 个地域分别为: 一为内蒙古呼伦贝尔市中部地区, 包括海拉尔、鄂伦春、牙克石等地样品; 二为内蒙古兴安盟南部, 包括科右前旗、突泉县样品。有关赤芍儿茶素含量地域性问题, 有待进一步研究。

赤芍栽培品样品中黑龙江大庆和安徽临泉栽培赤芍的材料为种苗, 采自内蒙古海拉尔地区, 吉林梨

表 1 4 种成分的加样回收率 (n = 6)

| 成分   | 药材中量 /mg | 加入量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均回收率 /% | RSD /% |
|------|----------|---------|---------|--------|----------|--------|
| 没食子酸 | 0.112 1  | 0.129 7 | 0.241 9 | 100.1  | 100.9    | 1.4    |
|      | 0.112 0  | 0.129 7 | 0.241 4 | 99.8   |          |        |
|      | 0.111 8  | 0.129 7 | 0.245 1 | 102.8  |          |        |
|      | 0.111 9  | 0.129 7 | 0.243 0 | 101.1  |          |        |
|      | 0.111 8  | 0.129 7 | 0.244 5 | 102.3  |          |        |
|      | 0.111 8  | 0.129 7 | 0.240 9 | 99.5   |          |        |
| 儿茶素  | 0.526 3  | 0.547 3 | 1.065   | 98.4   | 98.6     | 0.7    |
|      | 0.526 5  | 0.547 3 | 1.063   | 98.0   |          |        |
|      | 0.527 3  | 0.547 3 | 1.072   | 99.5   |          |        |
|      | 0.526 4  | 0.547 3 | 1.064   | 98.2   |          |        |
|      | 0.526 7  | 0.547 3 | 1.064   | 98.2   |          |        |
|      | 0.526 6  | 0.547 3 | 1.071   | 99.5   |          |        |
| 芍药苷  | 9.724    | 10.31   | 19.85   | 98.2   | 99.9     | 1.8    |
|      | 9.727    | 10.31   | 19.87   | 98.4   |          |        |
|      | 9.742    | 10.31   | 19.91   | 98.6   |          |        |
|      | 9.726    | 10.31   | 20.32   | 102.8  |          |        |
|      | 9.732    | 10.31   | 20.04   | 100.0  |          |        |
|      | 9.729    | 10.31   | 20.16   | 101.2  |          |        |
| 苯甲酸  | 0.123 4  | 0.126 3 | 0.246 0 | 97.1   | 97.3     | 1.0    |
|      | 0.123 6  | 0.126 3 | 0.248 7 | 99.0   |          |        |
|      | 0.123 5  | 0.126 3 | 0.245 3 | 96.4   |          |        |
|      | 0.123 4  | 0.126 3 | 0.245 9 | 97.0   |          |        |
|      | 0.123 4  | 0.126 3 | 0.245 3 | 96.5   |          |        |
|      | 0.123 7  | 0.126 3 | 0.247 0 | 97.6   |          |        |

树县繁殖材料的种子为当地采集。黑龙江大庆和吉林梨树县赤芍栽培品中芍药苷质量分数 1.57% ~ 4.18% ,儿茶素质量分数 0.114% ~ 0.516% ,没食子酸的质量分数为 0.006 26% ~ 0.052 3% ,苯甲酸的质量分数范围为 0.032 5% ~ 0.115% ,除没食子酸外,栽培品与野生品没有显著性差异,可以认为这些地区是适宜进行赤芍栽培的地域。安徽临泉赤芍栽培品表现出特殊性,其芍药苷质量分数 1.57% ,未达到药典规定的 1.8%<sup>[5]</sup>;儿茶素未检出,说明在该地种植的芍药不可以做为中药赤芍药用。

吉林梨树县栽培赤芍以第 4 年的芍药苷含量为最高,而儿茶素的含量则呈现出随栽培年限的增长而增加的趋势(不包括芽头栽培赤芍)。有关赤芍栽培方式、栽培年限与药效成分的关系有待进一步

研究。

考察了甲醇、75% 甲醇、50% 甲醇、25% 甲醇、10% 甲醇和水 6 种提取溶剂,结果采用 50% 甲醇为提取溶剂时,儿茶素和芍药苷含量最高。同时发现,提取溶剂中水含量越高,芍药苷越容易水解,从而导致苯甲酸含量上升;同样提取溶剂中水含量越高,芍药根中的鞣质越易水解,从而导致没食子酸含量上升。由于不宜测定水解产物,因此确定采用 50% 甲醇为提取溶剂。而后,考察了提取方法和提取时间,结果发现采用回流和超声时间较长的方法提取时,同样会造成水解,因此采用超声 15 min。而在提取浓度的考察试验中,发现提取浓度对含量没有显著的影响。最终确定了本文中的供试品制备方法。

表2 赤芍药材中4种化学成分含量测定

%

| 品种 | 产地           | 采购时间       | 质量分数     |                    |       |         |
|----|--------------|------------|----------|--------------------|-------|---------|
|    |              |            | 没食子酸     | 儿茶素                | 芍药苷   | 苯甲酸     |
| 野生 | 河北崇礼县太平庄镇    | 2008-06-12 | 0.063 3  | 0.391              | 5.49  | 0.074 4 |
|    | 河北丰宁县        | 2008-06-13 | 0.035 2  | 0.675              | 8.03  | 0.082 9 |
|    | 河北省青龙县土门子乡镇  | 2007-10-29 | 0.061 8  | 0.215              | 5.02  | 0.075 2 |
|    | 河北省赤城县独石口镇   | 2008-06-11 | 0.043 9  | 0.227              | 4.55  | 0.073 7 |
|    | 黑龙江佳木斯市      | 2009-09    | 0.022 7  | 0.575              | 5.00  | 0.048 1 |
|    | 黑龙江密山市       | 2007-09    | 0.011 4  | 0.445              | 5.05  | 0.069 5 |
|    | 黑龙江完达山       | 2009-09    | 0.008 35 | 0.334              | 4.83  | 0.072 2 |
|    | 黑龙江伊春        | 2009-09    | 0.014 8  | 0.109              | 4.62  | 0.082 4 |
|    | 辽宁凤城县        | 2008-09-08 | 0.010 2  | 0.071 9            | 6.11  | 0.152   |
|    | 辽宁凤城县        | 2009-09-03 | 0.015 1  | 0.091 7            | 5.21  | 0.037 8 |
|    | 辽宁西丰县        | 2009-09    | 0.011 1  | 0.435              | 3.99  | 0.051 0 |
|    | 内蒙古多伦县       | 2003-09    | 0.062 9  | 0.120              | 3.65  | 0.052 1 |
|    | 内蒙古多伦县       | 2004-09-13 | 0.126    | 0.302              | 5.47  | 0.082 1 |
|    | 内蒙古多伦县       | 2005-09    | 0.086 0  | 0.353              | 4.42  | 0.068 6 |
|    | 内蒙古多伦县       | 2007-10-03 | 0.022 7  | 0.421              | 4.03  | 0.037 1 |
|    | 内蒙古多伦县       | 2009-09-12 | 0.010 4  | 0.305              | 3.85  | 0.033 2 |
|    | 内蒙古额尔古纳市恩河乡  | 2007-09    | 0.073 3  | 0.223              | 3.62  | 0.069 7 |
|    | 内蒙古额尔古纳市恩河乡  | 2009-07-10 | 0.064 8  | 0.030 9            | 3.74  | 0.073 0 |
|    | 内蒙古鄂伦春旗阿里河   | 2007       | 0.082 6  | 0.103              | 4.51  | 0.128   |
|    | 内蒙古鄂伦春旗      | 2008-08-10 | 0.040 4  | 0.034 2            | 2.60  | 0.042 9 |
|    | 内蒙古陈巴尔虎旗     | 2007       | 0.061 1  | 0.379              | 3.94  | 0.063 4 |
|    | 内蒙古海拉尔       | 2007       | 0.045 8  | 0.117              | 4.12  | 0.085 5 |
|    | 内蒙古海拉尔       | 2008-07    | 0.128    | 0.033 8            | 3.19  | 0.053 3 |
|    | 内蒙古海拉尔       | 2009       | 0.032 8  | 0.024 2            | 4.01  | 0.086 9 |
|    | 内蒙古牙克石市      | 2007       | 0.073 0  | 0.068 6            | 3.30  | 0.050 6 |
|    | 内蒙古牙克石市乌尔旗汗  | 2007-08    | 0.114    | 0.148              | 2.75  | 0.070 5 |
|    | 内蒙古科右前旗呼和马场  | 2007-08-04 | 0.086 8  | 0.072 9            | 4.42  | 0.051 7 |
|    | 内蒙古突泉县老头山林场  | 2007-07-29 | 0.143    | 0.0766             | 2.23  | 0.040 9 |
|    | 内蒙古阿尔山市      | 2007-08    | 0.073 1  | 0.337              | 3.97  | 0.060 0 |
|    | 内蒙古阿尔山市明水镇   | 2007-08-02 | 0.037 7  | 0.452              | 4.49  | 0.039 7 |
|    | 内蒙古阿尔山市索伦镇   | 2009-07    | 0.029 5  | 0.295              | 3.96  | 0.063 4 |
|    | 山西柯岚县        | 2008-08-23 | 0.113    | 未检出                | 4.32  | 0.065 9 |
| 栽培 | 安徽临泉(3年)     | 2009-05    | 0.052 3  | 未检出                | 1.57  | 0.115   |
|    | 黑龙江大庆(3年)    | 2009-08    | 0.037 2  | 0.193              | 4.18  | 0.063 6 |
|    | 吉林四平梨树(3年)   | 2009-08-31 | 0.014 4  | 0.114              | 3.21  | 0.073 2 |
|    | 吉林四平梨树(4年)   | 2009-08-31 | 0.006 64 | 0.213              | 3.72  | 0.045 7 |
|    | 吉林四平梨树(4年芽栽) | 2009-08-31 | 0.009 29 | 0.516              | 4.17  | 0.032 5 |
|    | 吉林四平梨树(5年)   | 2009-08-31 | 0.007 73 | 0.286              | 3.23  | 0.069 2 |
|    | 吉林四平梨树(6年)   | 2009-08-31 | 0.006 26 | 0.296              | 2.96  | 0.067 6 |
|    | <i>t</i>     |            |          | 2.66 <sup>1)</sup> | -0.38 | 1.64    |

注: <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ 。

## [参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 中药材手册 [M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 121.
- [2] 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]. 中国药学杂志 2003, 38(9): 654.
- [3] 张克荣, 刘荣霞, 许俊博, 等. RP-HPLC 同时测定赤芍 3 种化学成分[J]. 中国药学杂志 2003, 38(10): 793.
- [4] 董玄, 高文远, 高颖. RP-HPLC 法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.
- [5] 中国药典. 一部[S]. 2010: 147.

[责任编辑 邹晓翠]