

中药科技

铜陵不同土壤生长的凤丹皮中丹皮酚和芍药苷含量比较[△]纪开明^{1*}, 方成武^{2,3}, 管玉云¹, 管太平¹, 钱世兵¹

(1. 安徽省铜陵市食品药品检验所, 安徽 铜陵 244000;

2. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230031;

3. 亳州职业技术学院, 安徽 亳州 236800)

[摘要] 目的: 用高效液相色谱法测定铜陵不同土壤生长的同年生凤丹皮中丹皮酚和芍药苷的含量, 并比较其质量差异。方法: 采用 Waters VP-ODS-C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 丹皮酚含量测定流动相: 甲醇-水 (60:40), 检测波长: 274 nm, 柱温: 30 ℃, 流速 1.0 mL·min⁻¹; 芍药苷含量测定流动相: 乙腈-0.1% H₃PO₄ (20:80), 检测波长: 230 nm, 柱温: 30 ℃, 流速: 1.0 mL·min⁻¹。结果: 丹皮酚在 1.073 ~ 5.365 μg, 芍药苷在 0.593 ~ 2.965 μg 均呈良好线性关系, *r* 分别为 0.999 9, 0.999 1, 丹皮酚平均回收率为 99.96% (RSD=0.72%), 芍药苷平均回收率为 99.03% (RSD=0.49%)。结论: 选定的 3 种土壤生长的凤丹皮的丹皮酚和芍药苷含量均是金沙土 > 稻田土 > 马钢土。

[关键词] 凤丹皮; 不同土壤生长; 丹皮酚; 芍药苷

凤丹皮是安徽著名的道地药材, 其最出名的产区为铜陵县新桥镇凤凰村, 故名“凤丹”, 根皮药用, 称为“凤丹皮”。牡丹皮是一种常用中药, 性苦、辛, 微寒, 具有清热凉血、活血化瘀的功能, 用于热入营血, 温毒发斑, 吐血衄血, 夜热早凉, 无汗骨蒸, 经闭痛经, 跌扑伤痛, 痈肿疮毒^[1]。丹皮酚等酚酸类成分和芍药苷等糖苷类成分是牡丹皮中主要有效成分^[2-3]。丹皮酚具有抗动脉硬化、抗心率失常、保护缺血组织、促进微循环、增强免疫力、抗癌、抑菌等作用^[4-5]; 芍药苷具有保护脑神经细胞和心肌、抗局灶性脑缺血、提高造血机能、肿瘤抑制、免疫调节等生物活性^[6-8]。在牡丹皮及其复方制剂的质量标准中多用丹皮酚为定量控制指标, 考虑到芍药苷是牡丹皮中的活性成分, 实验采用高效液相色谱法, 同时测定道地产区不同土壤生长的同年生凤丹皮中丹皮酚和芍药苷的含量, 为凤丹皮的生

长条件筛选以及提高其质量标准、全面评价内在质量提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪; Waters VP-ODS-C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); Waters 2489UV/visible Detector 紫外检测器; Waters Millennium32 工作站; 瑞士梅特勒 AB135-S 电子天平 (0.01 mg); 瑞士梅特勒 GB-204 电子天平 (0.1 mg); JL-180DT 型超声波提取器。

1.2 样品与对照品

实验所用凤丹皮样品由作者 2012 年 11 月 12 日采挖于北京同仁堂安徽铜陵中药材 GAP 种植基地, 经安徽中医药大学药学院方成武教授鉴定为毛茛科多年生落叶灌木牡丹 *Paeonia ostii* T. Hong et J. X. Zhang 的干燥根皮^[9]; 丹皮酚对照品 (中国食品

[△] [基金项目] 安徽省食品药品监督管理系统科研资助项目 (0011); 国家中医药管理局项目——20 种道地药材特色栽培及加工技术整理、规范及应用 (201107009); 国家十二五科技支撑计划 (2011BAI04B05)

* [通讯作者] 纪开明, 主管药师, 从事药品检验与质量标准研究, E-mail: jkin125@sina.com

药品检定研究院, 供含量测定用, 批号: 110708-200506); 芍药苷对照品(中国食品药品检定研究院, 供含量测定用, 含量: 96%, 批号: 110736-201136)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Waters VP-ODS- C_{18} 色谱柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 丹皮酚含量测定流动相: 甲醇-水(60:40), 检测波长: 274 nm, 柱温: 30 $^{\circ}$ C, 流速: 1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$; 芍药苷含量测定流动相: 乙腈-0.1% H_3PO_4 (20:80), 检测波长: 230 nm, 柱温: 30 $^{\circ}$ C, 流速: 1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$; 进样量: 10 μ L。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取对照品丹皮酚 10.73 mg, 芍药苷 12.35 mg, 分别置于 50, 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成丹皮酚浓度为 0.214 6 mg $\cdot$ mL $^{-1}$, 芍药苷浓度为 0.118 6 mg $\cdot$ mL $^{-1}$ 的溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取样品粗粉(过 60 目)约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 摇匀, 称定重量, 超声处理(功率 300 W, 频率 50 Hz) 30 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量。摇匀滤过, 续滤液用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取 2.2 项下的对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25 μ L, 分别注入高效液相色谱仪, 测定丹皮酚和芍药苷吸收峰峰面积积分值, 以进样量(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 得丹皮酚回归方程为: $Y = 7.9 \times 10^5 X - 46\ 122$, $r = 0.999\ 9$ 。芍药苷回归方程为: $Y = 2.3 \times 10^6 X + 3.7 \times 10^5$, $r = 0.999\ 1$ 。结果表明, 丹皮酚在 1.073 ~ 5.365 μ g, 芍药苷在 0.593 ~ 2.965 μ g 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

吸取同一供试品溶液 10 μ L, 注入高效液相色谱仪, 连续重复进样 6 次, 测定丹皮酚和芍药苷的峰面积并计算 RSD 值, 结果丹皮酚的峰面积 RSD = 0.46%, 芍药苷的峰面积 RSD = 0.74%。结果表明, 本方法精密度较好。

2.6 稳定性试验

吸取同一供试品溶液 10 μ L, 分别于 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 注入高效液相色谱仪, 测定丹皮酚和芍药苷的峰面积并计算 RSD 值, 结果丹皮酚的峰面积 RSD = 0.94%, 芍药苷的峰面积 RSD = 1.63%, 表

明供试品溶液在 12 h 内稳定性较好。

2.7 重复性试验

取同一批风丹皮药材, 平行制备 6 份供试品溶液, 测得丹皮酚的平均含量为 2.26% (RSD = 0.32%), 芍药苷的平均含量为 0.69% (RSD = 1.21%), 表明该方法重复性较好。

2.8 加样回收率试验

取已测定含量的风丹皮样品(丹皮酚 2.05%, 芍药苷 0.56%)约 0.25 g, 精密称定, 置具塞三角瓶中, 分别精密加入丹皮酚、芍药苷对照品适量, 按 2.3 项下操作, 分别平行制得 6 份加样供试品溶液。分别吸取加样供试品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定丹皮酚和芍药苷的含量, 计算加样回收率及 RSD 值, 结果丹皮酚的平均回收率为 99.96% (RSD = 0.72%), 芍药苷的平均回收率为 99.03% (RSD = 0.49%)。

2.9 样品含量测定

作者精选金沙土、马钢土和稻田土生长的 4 年生风丹皮田地各一块, 分别精选 3 株采挖, 鲜品去芯, 按传统方法晾干, 按 2.3 项下制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进行含量测定, 计算样品中丹皮酚和芍药苷的含量, 结果见表 1。

表 1 铜陵不同土壤生长的风丹皮中丹皮酚和芍药苷的含量

不同土壤	丹皮酚含量				芍药苷含量				/%
	1	2	3	平均	1	2	3	平均	
金沙土	4.91	3.74	3.60	4.08	1.08	1.17	0.90	1.05	
马钢土	2.98	3.08	3.02	3.02	0.69	0.76	0.75	0.74	
稻田土	3.50	3.59	3.55	3.55	0.89	0.86	0.85	0.87	

3 讨论

中药材 GAP 种植基地的遴选相当重要, 包括周边大气、水质、污染源等问题, 具有良好的生态环境, 才能生产出无公害的中药产品, 这是无公害中药的基础。因此种植地点、生长土壤的选择对中药材的质量影响是巨大的。

实验结果表明, 在道地产区铜陵不同土壤生长的风丹皮中丹皮酚和芍药苷的含量差异较大, 且金沙土生长的风丹皮药用成分含量较高。实验可为更科学、更全面地对风丹皮进行质量评价、中药材 GAP 基地的遴选以及质量标准的提升提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 160-161.
- [2] 王祝举, 唐力英, 赫炎. 牡丹皮的化学成分和药理作用[J]. 国外医药·植物药分册, 2006, 21(4): 155-159.
- [3] 吴少华, 马云保, 罗晓东, 等. 丹皮的化学成分研究[J]. 中草药, 2002, 33(8): 679.
- [4] 石琳, 范盘生. 丹皮酚对实验性动脉硬化及血小板聚集的抑制作用[J]. 中国药理学报, 1998, 9(6): 555-558.
- [5] 戴敏, 刘青云, 顾承刚, 等. 丹皮酚对脂质过氧化反应及低密度脂蛋白氧化修饰的抑制作用[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(10): 625-627.
- [6] 孙蓉, 衣银萍, 吕丽莉, 等. 芍药苷对大鼠全脑缺血模型的影响[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(23): 2521-2522.
- [7] 杨军, 何丽娜, 何素冰, 等. 芍药贰对大鼠皮层神经细胞钙超载损伤的保护作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2001, 16(3): 164-168.
- [8] 郭平, 王继峰, 王升启. 芍药苷对放射线致血虚证小鼠骨髓Epo和G-CSF基因的影响[J]. 山东中医药大学学报, 2005, 29(3): 236-239.
- [9] 洪德元, 潘开玉. 芍药属牡丹组的分类历史和分类处理[J]. 植物分类学报, 1999, 37(4): 351-368.

Compare the Paeonol and Paeoniflorin Content of Feng-Moutan Cortex in Different Growth soil by HPLC

JI Kai-ming^{1*}, FANG Cheng-wu^{2,3}, GUAN Yu-yun¹, GUAN Da-ping¹, QIAN Shi-bing¹

(1. Institute for Food and Drug Control of Tongling, Tongling, 244000, China;

2. Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China;

3. Bozhou Vocational and Technical College, Bozhou 236800, China)

[Abstract] **Objective:** Comparison the paeonol and paeoniflorin content of Feng-Moutan Cortex in different growth soil of Tongling by HPLC. **Methods:** Using the Waters VP-ODS-C₁₈ chromatographic column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); mobile phase for paeonol: methanol-water (60:40), detection wavelength: 274 nm, column temperature: 30 °C, the flow rate: 1.0 mL·min⁻¹; mobile phase for the paeoniflorin: acetonitrile - 0.1% H₃PO₄ (20:80), detection wavelength: 230 nm, column temperature: 30 °C, the flow rate: 1.0 mL·min⁻¹. **Results:** Paeonol and paeoniflorin had good linear relationship in 1.073-5.365 μg ($r = 0.9999$) and 0.593-2.965 μg ($r = 0.9991$) respectively. The average recovery of paeonol was 99.96% (RSD = 0.72%), of paeoniflorin was 99.03% (RSD = 0.49%). **Conclusion:** Paeonol and paeoniflorin content from Jinsha growth soil > Daotian growth soil > Magan growth soil.

[Key words] Feng-Moutan Cortex; Different growth soil; Paeonol; Paeoniflorin

(收稿日期 2013-01-09)