

为今后与黄药子的指纹图谱进行拟合比较,确定活性成分、毒性成分变化规律,确定减毒作用物质基础打下扎实基础,也为研究其吸收、代谢前后的活性、毒性变化情况提供了依据。

参考文献:

[1] LU Shu-min, LI Yu-jie, LUO Ming-mei. The Detoxification Action of Chinese Angelica Root to Dioscorea bulbifera L. [J]. traditional Chinese medicine and medical bind hepatopathy magazine, 2004, 14 (4): 216.

[2] Cong - Puzhu (Cong/Z). Application of mass spectrogram in natural organic chemistry[M]. Beijing: science publishing, 1987: 656

[3] Gao Huiyuan, Wu Lijun, Masanori Kuroyanagi. Seven compounds from Dioscorea bulbifera L. [J]. Natural Medicines, 2001, 55 (5): 277.

[4] Y. Ieda, S. Kubo, M. Fujita, T. Komori, T. Kawasaki. Furanoid norditerpenes from Dioscoreaceae plants. V. Structures of the diosbulbins - D, - E, - F, - G, and - H [J]. Justus Liebig's Annalen der Chemie, 1978, 5: 818.

赤芍与白芍药材高效毛细管电泳指纹图谱方法学研究

王磊磊¹, 陈军辉², 王虹¹, 殷月芬², 王小如^{2,3*}, 杨东方¹

(1. 上海海洋大学生命学院, 上海 200090;

2. 国家海洋局第一海洋研究所·青岛市现代分析技术及中药标准化重点实验室, 山东 青岛 266061;

3. 厦门大学化学化工学院·现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要:目的 确定赤芍和白芍的高效毛细管电泳分析方法, 建立赤芍和白芍的高效毛细管电泳法 (HPCE) 指纹图谱。方法 HPCE 工作条件: 采用未涂层熔融石英毛细管 (内径 75 μm, 有效长度 50 cm), 分离电压为 25 kV, 柱温 25 ℃, 二极管阵列检测器 (DAD) 检测波长为 220 nm, 缓冲液为 30 mmol/L 硼砂 (pH = 9.0) 溶液。按此条件对来自不同产地的 7 种赤芍样品和 8 种白芍样品进行了分析。结果 建立了赤芍和白芍 HPCE 指纹图谱, 采用中药指纹图谱相似度计算软件, 以系统生成的对照指纹图谱为对照模板对不同样品的图谱进行相似度计算。结论 该方法简捷、有效, 可以用于赤芍和白芍药材的质量控制。

关键词: 赤芍; 白芍; 高效毛细管电泳法; 指纹图谱

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0805 (2008) 10-2341-04

Methodologic Study of HPCE Fingerprints of Radix paeoniae Alba and Radix paeoniae Rubra

WANG Lei-lei¹, CHEN Jun-hui², WANG Hong¹, YIN Yue-fen², WANG Xiao-ru^{2,3}, YANG Dong-fang¹

(1. College of Aqua - life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090; 2. Qingdao Key Lab on Analytical Technology Development and Standardization of Chinese Medicines, First Institute Oceanography of SOA, Qingdao, 266061; 3. Department of Chemistry and the Key Laboratory of Analytical Science of the MOE, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Objective To set up a modern High Performance Capillary Electrophoresis analysis method for separating and detecting Radix paeoniae Alba and Radix paeoniae Rubra and establish their fingerprints. **Methods** Seven samples of Radix paeoniae Alba and eight samples of Radix paeoniae Rubra were carried out by HPCE under the following conditions: bare fused silica capillary (50 cm × 75 μm i.d.), 30 mmol/L borate (pH = 9.0) as buffer, the run voltage is +25 kV, detection wavelength of UV at 220 nm, and column temperature of 25 ℃. **Results** The fingerprints were confirmed and compared by the software of the similarity evaluation system for chromatographic fingerprint. **Conclusion** The results showed that the method of HPCE fingerprint is reliable and accurate to control the quality of two Chinese traditional medicines.

Key words: Radix paeoniae Alba; Radix paeoniae Rubra; High Performance Capillary Electrophoresis; Fingerprint

赤芍为毛茛科芍药 *Paeonia lactiflora* Pall 或川赤芍 *Paeonia veitchii* Lynch 直接使用的干燥根, 其味苦、微寒, 归肝经, 具有清热凉血、散瘀止痛之功能。白芍为毛茛科芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 水煮去皮后使用的干燥根, 其味苦、酸、微寒, 归肝、脾经, 具有平肝止痛、养血调经、敛阴止汗之功能^[1]。两种药材中均含有芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷等单萜苷类和苯甲酸、没食子

酸等酸类成分^[2,3], 其中总苷类物质为药材的主要活性成分^[4], 因此 2005 版《中国药典》规定芍药苷的含量作为赤芍和白芍的质控指标。但是赤芍和白芍的疗效和在临床使用上有很大不同, 仅使用单一成分作为指标进行质量控制, 不能全面反映药材的有效成分, 难以真正全面地控制药材的内在质量。中药指纹图谱是指中药材经适当处理后, 采用一定的分析手段, 得到的能够标示该中药材及其制剂的各组分群体特性的共有峰的图谱^[5]。色谱指纹图谱是通过把复杂的化学成分进行分离, 形成高低不同的峰, 组成一张色谱图, 整个色谱图表达了该样品所含化学成分的多少和量的大小, 不仅可用于已知成分的分析, 还可以用于未知成分的分析^[6]。因此指纹图谱目前被国际上公认为是植物药和中草药质量控制最有效的工具之一^[7], 如《美国草药典》(AHP) 为五味子、甘草等热点植物药确定了比较稳定可靠的 TLC、HPLC 分析结果和指纹图谱, 为该类药材的生产和应用提供依据^[8]。

近年来, 将色谱指纹图谱的方法用于赤芍和白芍研究的相关

收稿日期: 2008-02-25; 修订日期: 2008-09-25

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (No. 20235020);

青岛“2004 将才计划” (No. 04-3-JJ-11);

青岛市崂山区科技计划项目 (No. LS-05-KJZX-76)

作者简介: 王磊磊 (1983-), 女 (汉族), 山东烟台人, 现为上海海洋大学生命学院在读硕士研究生, 学士学位, 主要从事中药标准化和质量控制研究工作。

* 通讯作者简介: 王小如 (1949-), 女 (汉族), 辽宁大连人, 现为青岛市现代分析技术及中药标准化重点实验室教授, 主要从事中药现代化相关研究工作。

文献也不断出现,但这些文献多利用高效液相色谱法(HPLC)进行研究^[9-12],如王巧等^[10]利用 HPLC分析了三十多种赤芍和白芍药材的醇提取物,建立了白芍与赤芍的 HPLC指纹图谱分析方法。但用 HPLC进行中药成分分析,运行成本较高、分析时间长,而且常遇到一些问题,例如色谱柱易受污染,并且对于含极性成分较多的中药,其“指纹”的特征性不强。相比而言,高效毛细管电泳法(HPCE)分析中药则有独特的优势,具有柱效高、快速、进样体积小、水溶性样品的“指纹”特征性强、前处理简单,而且分析运行成本低^[13,14]的优点。关于赤芍或白芍 HPCE指纹图谱的研究未见报道,所以本文对赤芍和白芍药材的 HPCE指纹图谱进行了探索性研究,以期对有效控制赤芍和白芍药材质量提供新的方法。

1 仪器与试剂

G1062A型 HPCE仪(美国 Agilent公司),配有二极管阵列检测器(DAD);未涂层熔融石英毛细管(美国 Agilent公司),内径 75 μm,有效长度 50 cm;KQ-400KDE型高功率数控超声波仪(昆山市超声仪器有限公司);R201型旋转蒸发器(上海申生科技有限公司);FA1104型电子天平(上海精天电子仪器厂)。

硼砂、无水乙醇、氢氧化钠均为分析纯,甲醇为色谱纯,实验用水均为 Milli-Q超纯水。芍药苷标准品(110736-200629)购自中国药品生物制品检定所,其他样品购自各药品公司,来源为全国各产地。

2 方法与结果

2.1 标准溶液及供试品溶液的配制

2.1.1 标准溶液的配制 准确称量芍药苷标准品,加入甲醇溶解定容,用 30 mmol/L的硼砂溶液稀释。进入 HPCE系统前经 0.45 μm微孔滤膜过滤。

2.1.2 供试品溶液的制备 将供试样品干燥后进行粉碎,过 60 目筛。准确称取粉碎后的样品 1.0 g,置于 100 ml具塞锥形瓶中,加入 40 ml 95%乙醇,在 35 温度条件下超声辅助提取 30 min,提取液过滤,将滤液在 55 条件下进行旋转蒸发浓缩至干,再加入 30 mmol/L硼砂溶液 20 ml溶解,过 0.45 μm微孔滤膜后作为供试品溶液。

2.2 HPCE工作条件 采用压力进样方式,压力 50 mbar,进样时间 3s,分离电压 25 kV,运行温度保持 25,紫外检测波长 220 nm,带宽 8 nm,参比波长 500 nm,运行缓冲液为 30 mmol/L的硼砂溶液(用氨水调 pH值至 9.0)。试样进入毛细管前,均需过 0.45 μm微孔滤膜,分析开始前,依次用 1 mol/L NaOH溶液,超纯水和缓冲液冲洗毛细管各 5 min,分析过程中,及时更换缓冲液瓶中的缓冲溶液,以保证两缓冲液瓶中缓冲液组分一致,保证分析精度。

2.3 提取方法优化

2.3.1 提取溶剂的选择 根据 2005版《中国药典》,对赤芍与白芍进行鉴别时,选用乙醇作为提取溶剂,对赤芍项下芍药苷进行含量测定时,选用甲醇作为提取溶剂,而水煎提取是中草药传统提取方法,所以本研究对不同溶剂(水、甲醇、乙醇)作提取溶剂时所得到的图谱进行了比较。测定结果表明,以水为提取溶剂时,出峰数量少且各峰响应值较低,不适于做指纹图谱;甲醇为提取溶剂时,提取结果与乙醇类似,但是甲醇与乙醇相比,有较强的毒性,会对实验人员及环境造成一定的危害;而用乙醇提取时,分离度较好,基线较平稳,适合做指纹图谱,而且安全无害,因此选择乙醇做提取溶剂。但是由于乙醇与缓冲盐溶液极性不同,对各种化学成分的溶解度也不相同,因此直接将乙醇提取液进样检测时,色谱峰会出现较严重的拖尾现象,而将乙醇蒸干,以缓冲溶液重新溶解提取物再进样,可以解决这个问题,得到峰形较好的色谱图。

继续考察了 50%,70%和 95%3种不同浓度的乙醇作为提取溶剂得到的提取结果。结果表明,以 50%乙醇为提取溶剂时,分离度较差,基线漂移严重,以 70%乙醇为提取溶剂时,基线也略有漂移,而以 95%乙醇为提取液时分离结果较为理想(见图 1

~3)。

2.3.2 提取方法的选择 比较了回流法和超声辅助提取法对样品进行提取,结果显示,回流法与超声辅助提取法得到类似结果,但是回流法操作复杂,处理时间较长,且加热过程可能会引起其它组分的变化,比较而言,超声法方便快捷,提取效率较高,且结果良好,因而选用超声法进行提取。

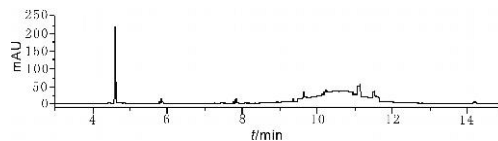


图 1 50%乙醇的提取结果

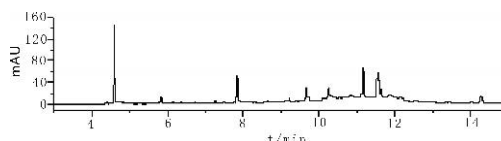


图 2 70%乙醇的提取结果

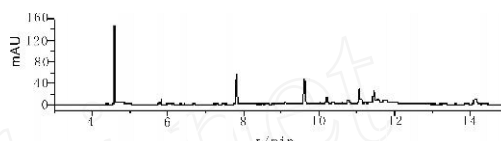


图 3 95%乙醇的提取结果

2.4 HPCE实验条件优化

2.4.1 缓冲溶液性质对分离结果的影响 HPCE分离各种组分是利用电泳的原理,但由于电渗的存在,又与传统的电泳不同,电渗就是毛细管中的溶剂因轴向直流电场作用而发生的定向流动,这种流动能够实现所有样品组分的同向泳动,实现正负离子的同时分离,而 HPCE运行中的缓冲溶液可以直接影响或改变电渗^[15],因此缓冲溶液的性质会直接影响样品分离结果。

根据文献报道,出于对药材中的成分进行质谱定性分析的期望,本实验首先选择可进行质谱分析的碳酸铵和乙酸铵水溶液作为缓冲溶液,但是结果表明碳酸铵水溶液和乙酸铵水溶液作缓冲液时,样品响应值低,分离度不高,得到的 HPCE谱图不适于作指纹图谱,而选择紫外吸收比较低,pH缓冲范围比较宽的硼砂水溶液作为缓冲液时,则取得了较好的分离结果,因此确定硼砂溶液作为分离赤芍和白芍样品的缓冲体系,并对其浓度和 pH值的选择作了系统的考察。

首先比较了 10,20,30和 40 mmol/L的硼砂溶液作缓冲液时得到的色谱图(见图 4~7),由图 4~7可以看到,随着浓度的升高,样品中各峰的保留时间差别逐渐增大,分离效果也越好,但由于硼砂溶液有较高的电导率,浓度过高时,会导致产生热量较多,不利于分离,而且保留时间过长,会延长每次进样分析的周期,因此选择 30 mmol/L的硼砂溶液作为缓冲液,各峰得到较好的分离,且分析时间较短。

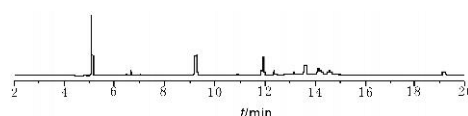


图 4 40 mmol · L⁻¹的缓冲液得到的色谱图

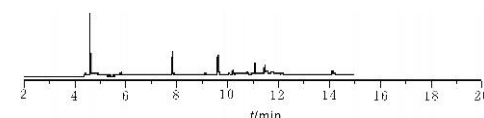
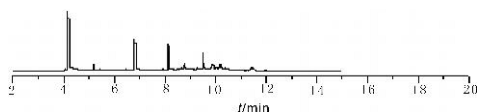
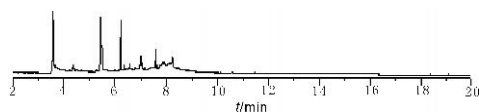


图 5 30 mmol · L⁻¹的缓冲液得到的色谱图

图 6 20 mmol · L⁻¹的缓冲液得到的色谱图图 7 10 mmol · L⁻¹的缓冲液得到的色谱图

缓冲液的 pH 值控制弱电解质样品的有效淌度、电渗甚至样品在管壁上的吸附水平,因此对柱效和样品的分离度有显著的影响,本实验比较了缓冲液 pH 值分别是 4.1, 6.4, 7.2 和 9.0 时得到的分离结果(见图 8~11),随着缓冲液的 pH 值逐渐升高,保留时间变短,分离度显著提高,峰形更好,所以本研究最终选择 pH 9.0 的硼砂溶液作为缓冲液。

缓冲液中加入少量的有机溶剂常常能有效改善分离度,并使许多水难溶的样品得以用毛细管电泳分析,所以本实验尝试在硼砂水溶液中分别加入少量的甲醇和乙腈,但是结果只略影响响应值的大小,对分离度并无显著影响,所以本研究只选用硼砂水溶液作缓冲液,不加任何有机添加剂。

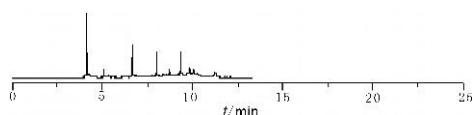


图 8 pH 9.0 的缓冲液得到的色谱图

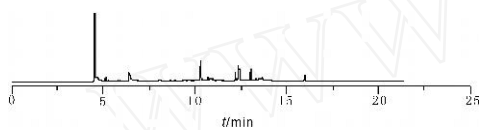


图 9 pH 7.2 的缓冲液得到的色谱图

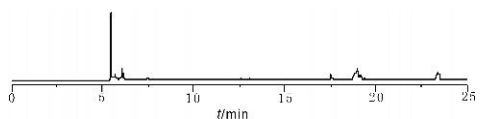


图 10 pH 6.4 的缓冲液得到的色谱图

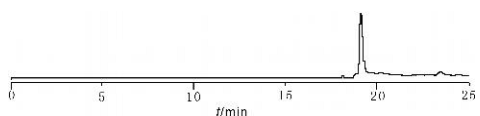


图 11 pH 4.1 的缓冲液得到的色谱图

2.4.2 HPCE 电压和温度的选择 本实验采用瞬间升压的恒压工作方式,对不同的工作电压进行比较选择。在 15~30 kV 的范围内,随着电压的升高,分离效率升高,分离速度加快,但在较高的电压下,焦耳热效应过大,导致峰形较差,噪音明显增大,不利于进行分析,所以选择 25 kV 作为运行电压,在此条件下电流稳定,且可以得到较好的分离结果。

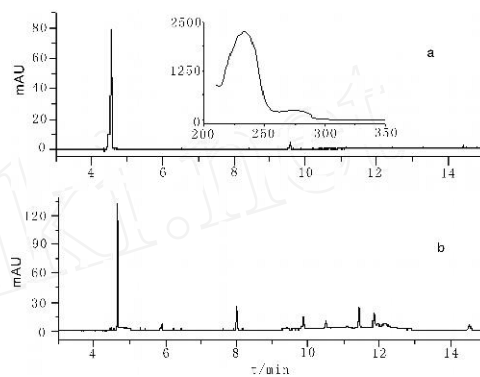
电泳温度的选择主要指毛细管外表温度的选择与控制,应该考虑热效应控制、重复性控制、分离效率控制和分离介质对温度的限制等因素,同时受到仪器条件的影响。本实验考察了温度在 15~30 的范围内得到的不同分离结果,温度过低时,分离效率不高,分离速度过慢,而温度过高时,热效应过大,也会影响分离结果,所以最终选择 25 作为电泳温度。

2.4.3 检测波长的选择 根据文献报道,利用 HPLC 对赤芍或白

芍样品进行紫外检测时,多选用 230 nm 作为检测波长^[16,17],故本实验首先选择 230 nm 波长进行检测,结果发现芍药苷响应值较大,而其他成分响应值则相对较低,导致谱图中出峰数量少,不适于作为表现所有成分整体情况的指纹图谱。而通过分析一个样品提取物的三维-紫外-毛细管电泳(3D-UV-CE)图,比较不同波长下的紫外吸收值的大小,确定 220 nm 为检测波长时,得到的谱图较之其他检测波长基线平稳,分离度较好,可以得到最佳的指纹图谱,所以最后选择 220 nm 作为检测波长。

2.5 方法学考察

2.5.1 色谱峰的定位 本文主要根据对照品的保留时间对样品进行色谱峰定性。芍药苷作为赤芍和白芍中的重要有效成分之一,在药材中含量较高,而且药典规定以它作为赤芍和白芍的质控指标,所以本实验选择芍药苷标准品对样品中的芍药苷峰进行定性,并以此峰作为参照峰。实验时以标准溶液和样品供试溶液按相同的条件进样分析,通过对比得到的两份色谱图,并将其 UV 谱图与相应已知标准品图谱进行比较印证,以确定与对照品相应的峰位,最终确认样品谱图中与标准品谱图保留时间相同的峰为芍药苷峰(见图 12)。



a - 标准品 b - 供试样品

图 12 在相同条件下芍药苷标准品的 HPLC 色谱图和光谱图与供试样品的 HPLC 色谱图

2.5.2 精密度实验 按优化后的 HPCE 工作条件,对一个赤芍样品供试品溶液进行 6 次重复进样分析,测得谱图中芍药苷峰的峰面积和保留时间,分别计算其标准偏差,得到峰面积和保留时间的 RSD 值分别是 2.46% 和 0.59%,表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性实验 精密称取同一样品 5 份,分别按“2.1 项下处理方法制成供试品溶液,然后按照“2.2 项下的 HPCE 工作条件进样测定,测得芍药苷峰面积和保留时间,并计算其标准偏差,峰面积和保留时间的 RSD 值分别为 3.93% 和 0.42%,表明该方法重复性良好。

2.5.4 稳定性实验 将一个赤芍样品的供试品溶液按照“2.2 项下 HPCE 工作条件,分别在 0, 4, 6, 14, 20, 24h 时进样测定,将一个白芍样品的供试品溶液按相同条件,分别在 0, 2, 4, 8, 18, 24 h 时进样测定,结果显示供试品溶液中芍药苷在 24 h 内峰面积和保留时间无明显变化,赤芍样品中峰面积和保留时间的 RSD 值分别为 2.66% 和 0.88%,白芍样品中峰面积和保留时间的 RSD 值分别为 2.93% 和 0.34%,说明供试品溶液在 24 h 内化学性质稳定。

2.6 不同药材样品指纹图谱的建立 本文检测了经“2.1 项下方法处理的 7 个赤芍样品和 8 个白芍样品按“2.2 项下 HPCE 方法进样分析得到的结果,每个样品平行进样两次,得到色谱图。遵循建立 HPCE 指纹图谱的技术参数,建立赤芍和白芍样品的指纹图谱。

指纹图谱中主要特征峰的相对保留时间或峰面积比值能较全面地反映所含成分的相对关系,体现中药成分的复杂性和相关

性,有利于更好地评价、控制中药材及中药产品质量^[18]。本文选择在所有赤芍和白芍样品中均存在,且具有一定峰面积的芍药苷峰作为参照峰,分别求出赤芍与白芍指纹图谱中各特征峰的相对保留时间的平均值()及相对标准偏差(RSD%)和相对峰面积(结果见表1~2)。由所得的相对保留时间的数据可以判断标定,赤芍样品色谱指纹图谱中共有10个共有峰,其峰面积总和占总峰面积的93%以上,其中3号峰确认为芍药苷(见图13);白芍样品色谱指纹图谱中共有15个共有峰,其峰面积总和占总峰面积的97%以上,其中2号峰确认为芍药苷(见图14)。

表1 赤芍 HPLC 指纹图谱中共有峰的相对保留时间和相对峰面积

序号	RSD (%)	相对峰面积																		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10									
1	0.952	0.072	0.042	0.010	0.039	0.029	0.045	0.009	0.011											
2	0.962	0.047	0.021	0.019	0.022	0.031	0.020	0.023	0.039											
3	1.0	1	1	1	1	1	1	1	1											
4	1.274	0.219	0.046	0.055	0.057	0.053	0.054	0.030	0.025											
5	2.122	0.695	0.336	0.295	0.311	0.263	0.837	0.531	0.253											
6	2.259	0.772	0.144	0.146	0.241	0.115	0.461	0.128	0.401											
7	2.475	1.093	0.267	0.350	1.428	0.737	0.818	0.483	2.842											
8	2.565	0.977	0.189	0.256	0.410	0.784	0.208	0.277	2.098											
9	2.632	0.885	0.107	0.145	0.105	0.704	0.158	0.129	0.695											
10	3.138	1.606	0.178	0.169	0.608	0.508	6.620	1.207	2.759											

表2 白芍 HPLC 指纹图谱中共有峰的相对保留时间和相对峰面积

序号	RSD (%)	相对峰面积								
		1	2	3	4	5	6	7	8	
1	0.965	0.234	0.106	0.059	0.046	0.052	0.053	0.036	0.053	0.029
2	1.0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3	1.259	0.254	0.173	0.195	0.171	0.226	0.144	0.140	0.143	0.114
4	1.274	0.327	0.041	0.058	0.047	0.066	0.029	0.022	0.034	0.022
5	1.332	0.431	2.009	2.817	2.583	3.274	1.361	0.237	0.368	0.051
6	1.612	0.314	0.271	0.268	0.290	0.278	0.364	0.049	0.083	0.054
7	2.096	0.380	0.200	0.283	0.237	0.340	0.276	0.217	0.344	0.082
8	2.227	0.393	0.133	0.192	0.198	0.274	0.149	0.121	0.196	0.077
9	2.425	0.409	2.501	3.031	3.552	3.316	2.389	1.763	1.997	1.127
10	2.515	0.400	2.104	2.905	2.827	3.241	1.846	0.733	0.757	0.477
11	2.543	0.426	0.129	0.178	0.128	0.184	0.074	0.044	0.041	0.027
12	2.589	0.437	0.968	1.525	1.223	1.439	0.837	0.292	0.262	0.195
13	2.640	0.482	0.243	0.362	0.232	0.288	0.149	0.059	0.063	0.044
14	3.027	0.452	0.597	0.787	0.653	0.976	0.419	0.084	0.122	0.062
15	3.077	0.471	2.013	2.742	2.684	3.599	2.145	1.644	1.940	1.087

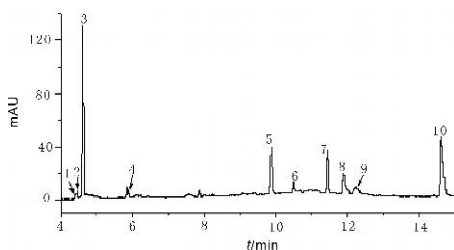


图13 赤芍样品提取物的共有指纹图谱

2.7 指纹图谱相似度分析 指纹图谱反映的是样品整体的特征,进行指纹图谱比较,可以反映样品之间的亲疏程度,但是单纯的直观比较指纹图谱的峰的多少和峰的大小,带有个人的主观性。相似度可以定量的描述指纹图谱,本实验用相似度分析对样品进行了比较,可以定量的、客观的对样品进行评价^[19]。

相似度计算方法多有不同,有文献采用 Excel 软件,按相关系数原理进行处理^[19],但大多采用专门的相似度计算软件处理。本研究采用国家药典委员会推荐使用,由浙江大学制药工程研究

所计算机辅助中药分析实验室研发的“中药指纹图谱相似度计算软件”^[20],以夹角余弦作为相似度的评价指标,对测定结果进行图谱比对,评价供试样品指纹图谱与系统生成的对照指纹图谱(各样品图谱峰面积的平均值)的相似性,对照共有图说分别计算得到赤芍和白芍药材提取物的相似度。结果见表3~4。

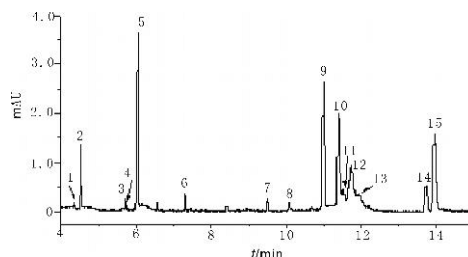


图14 白芍样品提取物的共有指纹图谱

表3 赤芍样品提取物指纹图谱相似性分析结果

序号	相似度
1	0.85
2	0.71
3	0.71
4	0.66
5	0.71
6	0.70
7	0.73

表4 白芍样品提取物指纹图谱相似性分析结果

序号	相似度
1	0.97
2	0.90
3	0.95
4	0.95
5	0.96
6	0.60
7	0.84
8	0.55

由表3中的数据,可以看出各产地赤芍相似度一般。虽然由表1中的数据可以看出各赤芍样品的谱图中各峰出峰时间的相对标准偏差很小,但是峰面积相差较大,说明样品中的化学成分种类相仿,而各成分的含量不同,推测可能是由于赤芍中的化学成分受各产地生长环境影响较大造成的。

同样,由表4中的数据,可以看出除了6号和8号样品,其他产地的白芍样品相似度都较高。

由上可见,以芍药苷作为唯一指标,不能全面的反映赤芍和白芍中所有成分的信息,难以真正控制药材质量,指纹图谱可以弥补这一缺陷,全面反映药材的内在质量。而指纹图谱的相似度分析,又为这种方法提供了定量分析的保证,从而对中药产品质量作出较全面、准确的评价。

3 结论

虽然药典中规定赤芍与白芍药材都以芍药苷的含量作为质控指标,但是两种药材疗效及临床应用相当不同,由本研究经过一系列条件优化最终建立的 HPLC 指纹图谱,则可以看出两者的指纹图谱区别明显,说明赤、白芍化学成分的种类与含量有明显不同,这点与其他文献得到的结果相符,推测由指纹图谱所反映出的这些区别可能与其临床疗效的不同有相关性。本文所建立的赤、白芍 HPLC 检测方法,前处理便易操作,分析速度快,具有

良好的重现性、稳定性,得到的结果可用于两者的质量分析与评价。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典, 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 68, 109.
- [2] 王朝虹, 闵知大. 芍药化学成分及药理研究[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(7): 544.
- [3] Ivanka N. Kostova, Mario F. Simeonov, Daniela I. Todorova et al. Petkova. Two acylated monoterpene glucosides from *Paeonia peregrina* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 48(3): 511.
- [4] 马双成, 邓少伟. 赤芍总苷的生产工艺条件研究[J]. 中草药, 1998, 29(10): 664.
- [5] 国家食品药品监督管理局. 中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)的通知[J]. 中成药, 2000, 22(10): 671.
- [6] 罗国安, 王义明. 中药指纹图谱的分类和发展[J]. 中国新药杂志, 2002, 11(1): 46.
- [7] 张克荣, 毕开顺. 赤芍 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中草药, 2003, 34(11): 1048.
- [8] 李玉娟, 王瑞, 车镇涛, 等. 中药材指纹图谱质量控制方法研究[J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12(3): 192.
- [9] 张克荣, 毕开顺. 白芍 HPLC 指纹图谱相似度的研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(4): 380.
- [10] 王巧, 刘荣霞, 于海兰, 等. 白芍与赤芍 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药理学杂志, 2007, 42(8): 581.
- [11] 姚仲青, 张志杰, 周俊. 指纹图谱在赤芍总苷精制工艺中的应用[J]. 中药材, 2006, 29(6): 601.
- [12] 邹忠梅, 徐丽珍, 杨世林. 芍药总苷高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 药学学报, 2003, 38(1): 46.
- [13] 孙毓庆, 阮婧华, 马欣. 中药的毛细管电泳指纹图谱研究[J]. 色谱, 2003, 21(4): 303.
- [14] 李利军, 冯军, 黄文艺, 等. 高效毛细管电泳同时分离测定栀子苷、芍药苷及丹皮酚的研究[J]. 分析实验室, 2007, 26(5): 35.
- [14] 陈义. 毛细管电泳技术及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 48.
- [15] 李鑫, 王汀, 王珍. 高效液相色谱法测定赤芍中赤芍总苷的含量[J]. 安徽医药, 2005, 9(11): 820.
- [16] 张克荣, 白丽, 徐赞美, 等. RP-HPLC 法同时测定白芍中芍药苷和芍药内酯苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2003, 23(3): 222.
- [17] 李文龙, 陈军辉, 韩超, 等. 太子参中环肽 Pseudostellarin B 含量 HPLC 测定及其指纹图谱研究[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(2): 206.
- [18] 晏媛, 许重远, 刘世霆. 中药及其制剂指纹图谱质量标准的研究[J]. 医药导报, 2005, 24(12): 1160.
- [19] 蒋轶伦, 韩超, 邱招钊, 等. 液相色谱指纹图谱在泽泻动态研究中的应用[J]. 分析实验室, 2006, 25(3): 70.
- [20] 刘永锁, 孟庆华, 蒋淑敏, 等. 相似系统理论用于中药色谱指纹图谱的相似度评价[J]. 色谱, 2005, 23(2): 158.

两种方法测定槐花 3 种饮片中鞣质含量

李尧尧, 吴丽莎, 原思通

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

摘要:目的 采用《中国药典》2005 版和 2000 版所记载的鞣质含量方法分别测定 3 种槐花饮片, 分析结果, 比较两种方法的优缺点。方法 根据《中国药典》2005 版附录的磷钼钨酸-干酪素比色法和 2000 版附录项下的皮粉法分别测定槐花、炒槐花和槐花炭中鞣质含量; 采用 SPSS 软件对结果进行统计学分析。结果 两种方法所测得的槐花 3 种饮片中鞣质含量结果无显著性差异 ($P > 0.05$)。比色法与皮粉法相比较, 操作简便, 用量少, 准确度高。结论 比色法比皮粉法更简单、方便, 更适用于中药中鞣质含量的测定。

关键词:鞣质含量; 槐花; 饮片; 比色法; 皮粉法

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0805(2008)10-2345-02

Determination of the Content of Tannin in Three Processed Pieces of Flos Sophorae by Two Methods

LI Rao-rao, WU Li-sha, YUAN Si-tong

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing, 100700, China)

Abstract: Objective The merits and demerits of two methods for determining the content of tannin in processing pieces of Flos Sophorae were analyzed according to Chinese Pharmacopoeia 2005 and 2000. **Methods** A tungsten molybdophosphate-casein colorimetric method was established according to the addenda of Chinese Pharmacopoeia in 2005, and a hide powder method was established according to the addenda of Chinese Pharmacopoeia 2000. Both of the two methods were used for determining the content of tannin in Flos sophorae, Flos sophorae stir-baked and Flos sophorae carbonized, respectively. Then SPSS software was carried on for statistic analysis. **Results** The studies showed that the two testing methods hold no significant difference. **Conclusion** The colorimetric method is more simple, convenient and accurate than the hide powder method.

Key words: Chinese Pharmacopoeia; Flos Sophorae; Processing pieces; Hide powder method; Colorimetric method; Content of tannin

槐花为常用凉血止血药^[1], 临床常用饮片包括生用、炒黄、炒炭 3 种规格。传统经验认为与槐花相比, 炒槐花止血作用略有

增强, 槐花炭止血作用显著增强^[2]。现代研究认为鞣质为止血的有效成分之一, 槐花炭止血作用的显著增强, 与鞣质含量大幅度增加有关^[3]。

《中国药典》2000 版附录项所记载的鞣质含量测定方法为皮粉法^[4], 而 2005 版附录项下则改收载磷钼钨酸-干酪素比色法^[5]。采用皮粉法测定槐米不同炮制品中鞣质含量已有报道^[6], 而这两种测定方法的对比研究尚未见到报道。因此文章

收稿日期: 2008-03-27; 修订日期: 2008-09-19

基金项目: 国家“十五”科技攻关项目 (No. 2001BA701A11-2)

作者简介: 李尧尧 (1974-), 女 (汉族), 河南郑州人, 现任中国中医科学院中药研究所助理研究员, 博士学位, 主要从事中药质量标准研究工作。