

不同采收期凤丹皮中3种药效成分动态变化研究

孔昭琰, 巢建国, 谷巍, 胡煜雯, 孔令婕

(南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046)

摘要: 目的 通过研究不同采收期安徽南陵凤丹皮3种药效成分的动态变化, 确立凤丹皮的最佳采收期, 为牡丹皮GAP生产提供依据。方法 采用高效液相色谱法, 以甲醇-乙腈(1:1)-0.5%甲酸为流动相进行梯度洗脱, 在265 nm波长处, 同时测定不同生长发育期凤丹皮中没食子酸、丹皮酚、芍药苷3种化学成分的含量。结果 凤丹皮中3种药效成分的含量不同时期存在差异, 但均以9月份为最高。结论 9月份为安徽凤丹皮的最佳采收时期; 该法简便、精密度高、重复性好, 为有效地控制牡丹皮的内在质量提供了科学依据。

关键词: 凤丹皮; 高效液相色谱法; 采收期; 没食子酸; 丹皮酚; 芍药苷; 质量标准

DOI: 10.3969/j.issn.1005-5304.2011.01.026

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 1005-5304(2011)01-0063-02

Research on Dynamic Changes of Three Effective Components of Moutan Cortex at Different Harvesting Periods in Anhui Nanling

KONG Zhao-yan, CHAO Jian-guo, GU Wei, HU Yu-wen, KONG Ling-jie
(College of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

Abstract: **Objective** By studying the dynamic changes of three effective components of moutan cortex at different harvesting periods in Anhui Nanling, to establish the best harvesting time and provide basis of GAP. **Methods** HPLC was used, with the mobile phase of methanol-acetonitrile (1:1)-0.5% formic acid, to detect the gallic acid, paeonol and paeoniflorin in 265 nm wavelength at the same time. **Results** Three kinds of chemical components contents of moutan cortex in different harvesting periods were different, but all was the highest in september. **Conclusion** September is the best harvesting time for moutan cortex. This method is simple, precise and repeatable, and provide the scientific reference to effectively control the internal quality of moutan cortex.

Key words: Feng-moutan cortex; HPLC; harvesting time; gallic acid; paeonol; paeoniflorin; quality standard

牡丹皮来源于毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr. 的干燥根皮, 味苦、辛, 微寒, 具有清热凉血、活血化瘀的功效^[1]。安徽为牡丹皮的主产区, 尤以铜陵、南陵产的凤丹皮奉为道地药材^[2]。植物各生长发育阶段所含的化学成分种类、含量均有差异, 因此, 药材采收期不同, 直接影响药材品质和产量^[3]。丹皮酚具有镇痛、抗炎、解热等作用, 是牡丹皮中最主要的有效成分, 没食子酸和芍药苷也具有一定的生理活性^[4-5]。本研究采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定不同采收期凤丹皮中丹皮酚、芍药苷、没食子酸3种药效成分的含量, 确立凤丹皮的最佳采收期, 为牡丹皮的GAP生产提供参考。

1 仪器与试剂

Waters 515 高效液相色谱仪, Waters 2487 二极管阵列检测器, Waters 717 plus 自动进样器, Waters Empower Pro 色谱工作站; Hanbon Science & Technolog Co., Ltd 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); FA1104N 万分之一电子天平; KQ-500B 超声清洗机, Driect2 Q5 超纯水机(millipore)等。

Acetonitrile(色谱纯, Honeywell, 批号 10071743); 甲醇(色谱纯, 上海星可生化有限公司, 批号 20902010); 超纯水(自

制)等。丹皮酚对照品、芍药苷对照品、没食子酸对照品(均购自江苏省药检所); 凤丹皮采自安徽省南陵县丫山丹皮种植基地, 分别于5、6、7、8、9、10、11月的中旬采集1次, 样品采集后去木心, 晒干, 打粉, 过60目筛, 装于棕色瓶中备用。所有样品均由南京中医药大学药学院中药资源学教研室巢建国教授鉴定, 为毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr. 的干燥根皮。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

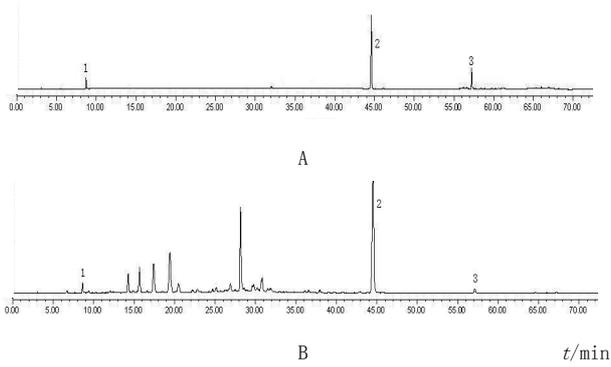
经多次试验考察, 选定以下色谱条件: HEDERA ODS-2 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 甲醇-乙腈(1:1)-0.5%甲酸溶液为流动相梯度洗脱(见表1); 柱温: 30℃; 流速: 1.0 mL/min; 检测波长为265 nm; 记录时间: 75 min。色谱图见图1。

表1 流动相梯度条件

时间(min)	0.5%甲酸溶液(%)	甲醇-乙腈(1:1)(%)
0	94	6
5	85	15
7	78	22
15	78	22
45	40	60
65	15	85
70	94	6
75	94	6

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划(2006BAI09B05); 南京中医药大学校科团队资助项目(2007)

通讯作者: 巢建国, Tel: 13851562488



注: 1. 没食子酸对照品; 2. 丹皮酚对照品; 3. 芍药苷对照品;

A. 对照品; B. 供试品

图1 风丹皮 HPLC 图谱

2.2 供试品溶液的制备

取各样品约 0.5 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞三角锥形瓶中, 加入 70% 甲醇溶液 25 mL, 称重, 超声提取 30 min, 放冷, 补足重量, 滤过, 滤液摇匀, 15 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 即得供试品溶液。

2.3 对照品溶液的配制

精密称取没食子酸、丹皮酚、芍药苷对照品适量, 加甲醇溶解制成含没食子酸 0.028 mg/mL、丹皮酚 0.91 mg/mL、芍药苷 0.33 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.4 线性关系考察

取混合对照品溶液, 按上述色谱条件测定。分别进样 2、6、10、16、24、32 μ L, 以各对照品的浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 回归方程分别为: 没食子酸 $Y=18\,223X+5\,502.2$, $r=0.99993$; 丹皮酚 $Y=25\,900X+8\,122.18$, $r=0.99993$; 芍药苷 $Y=909.87X+1\,192\,547$, $r=0.99997$ 。表明没食子酸在 5.6~89.6 μ g/mL、丹皮酚在 182~2 912 μ g/mL、芍药苷在 66~1 056 μ g/mL 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

取供试品溶液, 在上述色谱条件下进样 10 μ L, 重复进样 6 次。以没食子酸、丹皮酚和芍药苷峰面积计算 RSD, 其值分别为 1.07%、0.78% 和 0.61%。表明在此条件下, 仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

常温下, 取一份供试品溶液, 按上述色谱条件分别在 0、4、8、16、24 h 测定, 计算没食子酸、丹皮酚和芍药苷含量及 RSD, 其 RSD 值分别为 1.37%、0.97%、1.12%。结果表明, 在常温下 24 h 内供试品溶液保持稳定。

2.7 重复性试验

按供试品溶液制备方法重复制备同一样品 5 份, 分别按上述色谱条件测定, 计算没食子酸、丹皮酚和芍药苷含量及 RSD, 其 RSD 值分别为 1.95%、1.69%、1.24%, 表明该方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取 8 月份的牡丹皮粉末 0.25 g, 分别加入已知含量的没食子酸、芍药苷和丹皮酚混合标样, 按样品测定方法项下方法测定, 计算得没食子酸平均回收率为 95.12%, RSD=2.49%

($n=5$), 丹皮酚平均回收率为 96.60%, RSD=1.48% ($n=5$), 芍药苷平均回收率为 95.86%, RSD=1.89% ($n=5$)。

2.9 含量测定

分别精密吸取供试品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 计算没食子酸、丹皮酚和芍药苷含量及 RSD, 结果见表 2。

表 2 不同采收期风丹皮中 3 种药效成分含量测定结果 (%)

采收日期	没食子酸		丹皮酚		芍药苷	
	含量	RSD	含量	RSD	含量	RSD
2009-05-15	0.313	0.66	2.673	1.19	0.361	1.69
2009-06-15	0.179	1.72	1.305	1.81	0.171	1.11
2009-07-15	0.321	2.20	2.508	1.89	0.555	0.11
2009-08-16	0.229	1.90	1.276	0.70	0.383	1.46
2009-09-15	0.540	1.35	4.449	0.96	0.809	1.68
2009-10-15	0.175	1.47	1.836	1.03	0.252	2.41
2009-11-15	0.091	0.61	1.175	0.63	0.502	0.85

3 讨论

试验结果显示, 不同采收期风丹皮中丹皮酚、芍药苷、没食子酸的含量有差异, 各成分含量均在 9 月份达到最高值, 因此, 9 月份是风丹皮的最佳采收时期。

本试验从样品的提取方法、提取方式、流动相比、色谱条件等多个方面进行考察, 结果 70% 甲醇超声法提取样品, 采用 HPLC 方法, 甲醇-乙腈 (1:1)-0.5% 甲酸溶液为流动相进行梯度洗脱, 得到的色谱峰数目、峰型、各峰分离度均较理想。该方法操作简便、精密度高、重复性好, 可作为同时测定牡丹皮中多种化学成分的检测标准, 为有效控制牡丹皮的内在质量提供了科学依据。

不同产地、采收季节、产地加工方法、炮制方法等因素对牡丹皮中主要化学成分含量均有一定影响。本试验得出 9 月份为风丹皮的最佳采收时期, 在今后牡丹皮的品质研究中, 还应考虑产地因素、加工方法、炮制方法等对其质量的影响。

9 月后丹皮酚的含量下降较大, 可能是因为进入休眠期, 主要以丹皮酚总苷的形式储存, 在今后风丹皮的品质研究中, 将会对这一变化趋势做进一步的研究, 为确立牡丹皮的最佳采收期提供依据。

参考文献:

- [1] 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, 2005: 119.
- [2] 方成武. 安徽道地药材牡丹皮的采收及产地加工方法考察[J]. 中药材, 2000, 23(2): 82-83.
- [3] 李海燕, 陈小坚. 牡丹皮中丹皮酚含量动态变化研究[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(3): 197-198.
- [4] 白志川. 不同采收期川丹皮多组分化学成分变化规律研究[J]. 中国农业科学, 2006, 39(5): 997-1003.
- [5] 张留记, 屠万倩, 屈凌波, 等. 不同产地牡丹皮中丹皮酚和芍药苷含量的 HPLC 法测定[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2007, 20(2): 223-231.

(收稿日期: 2010-07-12, 编辑: 华强)