

# 白芍及炮制品饮片的指纹图谱研究

高慧<sup>1</sup> 杨洪琼<sup>1</sup> 殷宁<sup>1</sup> 罗晶<sup>1</sup> 雷志强<sup>2\*</sup>

1 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330006

2 江西中医药大学临床医学院, 江西 南昌 330006

**摘要:**目的:通过测定白芍普通饮片、樟帮白芍薄片、樟帮酒炒白芍、樟帮煨白芍、建昌炒白芍、建昌酒白芍的指纹图谱,对比其指纹图谱相似度,建立能系统反映樟帮炮制特色的饮片指纹图谱技术及方法。方法:色谱柱:Diamonsil(R)C18柱(4.6mm×250mm,5μm),流动相:乙腈:0.1%磷酸水溶液(梯度洗脱),检测波长:230nm,柱温:25℃,流速:1.0ml·min<sup>-1</sup>,进样量:20μl。采用相似度评价方法对白芍不同炮制品进行研究。结果:建立了白芍不同炮制方法的UPLC指纹图谱,从该组图谱中确定7个共有峰色谱图。各炮制方法之间相似度存在一定的差异,建立的指纹图谱能够反应白芍药材及樟帮法和药典法炮制白芍饮片的共性与特性,揭示樟帮炮制方法的科学性。结论:不同炮制方法对白芍化学成分有很大的影响,而樟帮法炮制白芍有其特殊科学性。

**关键词:**白芍;樟帮炮制;UPLC指纹图谱;相似性分析

白芍为一种临床常用中药,为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,味苦、酸,性微寒<sup>[1]</sup>。主要含有芍药苷、芍药内酯苷,羟基芍药苷等单萜苷类和苯甲酸、没食子酸、儿茶素、鞣质等成分<sup>[2-4]</sup>。现代药理研究表明,白芍具有镇静、镇痛、抗炎、保肝、免疫调节和抑制血小板凝集等作用<sup>[5-7]</sup>。

历代对白芍的炮制方法主要有蒸制、炒制、熬制等不加辅料制与酒制、土米姜制、盐制等加辅料制法。《中国药典》2015版收载有白芍、炒白芍、酒白芍三种饮片规格的炮制方法。江西的中药饮片炮制历史悠久,其中以白芍(薄片)切至“白芍飞上天”的程度为最佳而使其成为具有特色的“樟树帮”炮制工艺的商品饮片。近年来,因指纹图谱技术可较全面地反映中药材及植物药产品的药效学物质特征,并评价其稳定性及一致性而越来越受到国际的认可[8]。本实验以樟帮白芍炮制方法为研究对象,利用指纹图谱比较药典普通白芍饮片、樟帮白芍薄片、樟帮酒炒白芍、樟帮煨白芍、建昌帮炒白芍、建昌帮酒白芍饮片工艺;建立能系统反映樟帮炮制特色的饮片指纹图谱技术及方法,从而实现炮制工艺的现代化。

## 1 仪器和药品

### 1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪 (DAD 检测器, VWD 检测器); Sartorius BS214-D 天平 (万分之一); Mettler AE240 天平 (十万分之一); KQ3200 超声波清洗器 (昆山超声仪器厂); FW100 高速万能粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司) 自动双重蒸馏水器 (上海亚荣生化仪器有限公司)。

### 1.2 试剂

白芍:收集安徽亳州白芍药材;芍药苷对照品:购于中国药品生物制品检定所批号 110736-200629;芍药内酯苷对照品:购于 DELTA 天然有机化合物信息中心,批号 20070591;白芍对照药材:购于中国药品生物制品检定所,批号 120905-200508;甲醇、乙腈为色谱醇;自制双蒸水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

#### 2.1.1 混合对照品的配制

精密称取芍药内酯苷约 6mg、芍药苷对照品约 7.5mg,分于 25ml 容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,经 0.45μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为混合对照品溶液。

#### 2.1.2 供试品溶液的制备

取白芍干燥药材及各炮制品,粉碎,过 40 目筛。取粉末约 0.2g,精密称定,置于 25ml 容量瓶中,精密入乙醇-水 (50:50)25ml,超声提取 30min,待冷却后加 50%乙醇定容至刻

度,摇匀,经 0.45μm 的微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

### 2.2 色谱条件

色谱柱:Diamonsil(R)C18柱(4.6mm×250mm,5μm),流动相:乙腈:0.1%磷酸水溶液(梯度洗脱),检测波长:230nm,柱温:25℃,流速:1.0ml·min<sup>-1</sup>,进样量:20μl。

### 3 方法学考察

#### 3.1 空白试验

精密吸取提取溶剂 20μl,注入高效液相色谱仪,记录色谱图,结果显示为一条直线,表明空白溶剂无干扰现象。

#### 3.2 精密度实验

取安徽亳州白芍药材,照“供试品溶液的制备”制备供试品溶液,按选定的色谱条件,连续 5 次进样,计算得其共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3%,表明精密度良好。

#### 3.3 稳定性实验

取安徽亳州白芍药材,分别于 2, 4, 6, 8, 12, 48 小时检测其指纹图谱。结果表明,各主要色谱峰的相对保留时间与相对峰面积比值 RSD 值分别在 0.41%~3.10%与 0.11%~1.00%之间,说明样品在 48 小时内较稳定。

#### 3.4 重复性实验

取安徽亳州白芍药材,照供试品溶液制备方法制备 5 份供试品溶液,在选定的色谱条件下测定。计算得其共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3%,表明重复性良好。

## 4 白芍饮片 HPLC 指纹图谱的测定

### 4.1 样品测试

按照供试品溶液制备方法,分别取白芍药材(安徽亳州)10 批制备供试品溶液,在选定的色谱条件下取 20μl 注入高效液相色谱仪进行分析测定,色谱图如图 1。

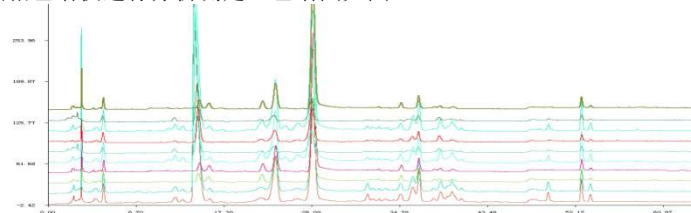


图 1 10 批白芍色谱图

### 4.2 共有峰的标定

白芍药材制备后,经 HPLC 分析出现多个色谱峰,比较 10 批样品的色谱图,由于芍药苷在各样品中含量较高且相对稳定,与其相邻色谱峰能达到基线分离,故选择芍药苷作为参照物。根据相对保留时间,确定共有峰,共有峰 10 个,其

中 S 峰为芍药苷的峰,其他峰依次标号为 1、2、……10。测定结果按公式分别计算其各峰相对保留时间、相对峰面积。

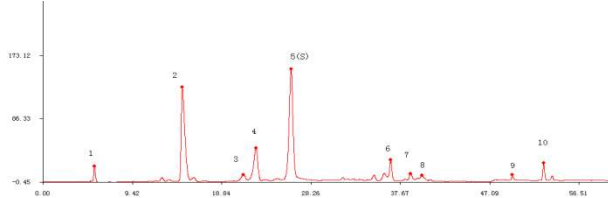


图 2 对照图谱

### 5 白芍不同炮制制品指纹图谱研究

#### 5.1 样品测定

按照供试品溶液制备方法,分别测定药典普通饮片、樟帮白芍薄片、樟帮酒炒白芍、樟帮煨白芍、建昌帮炒白芍、建昌帮酒白芍的指纹图谱,从该组图谱中确定 7 个共有峰,如图 3。

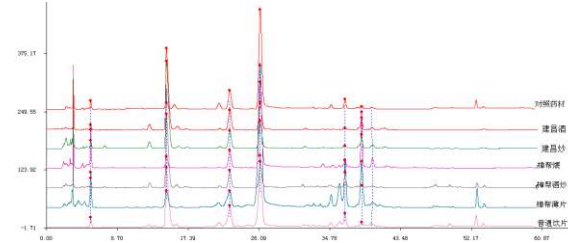


图 3 白芍不同炮制制品指纹色谱图

#### 5.2 相似度评价结果

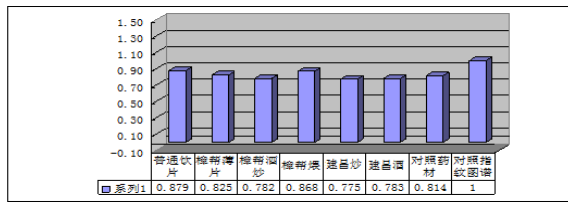


图 4 白芍不同炮制制品相似度结果

以共有模式图谱为参照,通过《中药色谱指纹图谱相似

表 1 白芍不同炮制制品相似度结果

样品	普通饮片	樟帮薄片	樟帮酒炒	樟帮煨	建昌炒	建昌酒	对照药材	对照指纹图谱
药典普通饮片	1	0.957	0.592	0.921	0.565	0.586	0.978	0.879
樟帮薄片	0.957	1	0.455	0.958	0.433	0.443	0.964	0.825
樟帮酒炒	0.592	0.455	1	0.473	0.985	0.987	0.429	0.782
樟帮煨	0.921	0.958	0.473	1	0.481	0.479	0.931	0.868
建昌炒	0.565	0.433	0.985	0.481	1	0.993	0.4	0.775
建昌酒	0.586	0.443	0.987	0.479	0.993	1	0.418	0.783
对照药材	0.978	0.964	0.429	0.931	0.4	0.418	1	0.814
对照指纹图谱	0.879	0.825	0.782	0.868	0.775	0.783	0.814	1

表 2 白芍不同炮制制品峰面积结果

共有峰编号	1	2	3 芍药内酯苷	4 芍药苷	5	6	7
保留时间	5.43	14.73	22.5	26.24	36.66	38.68	39.97
建昌酒	132.05	4064.14	1098.23	1517.02	101.11	409.44	131.39
建昌炒	197.82	4377.19	1014.68	1547.52	122.94	562.44	218.35
樟帮酒炒	219.45	3754.63	912.2	4435.85	548.58	81.99	92.05
对照图谱	396.53	2179.63	1047.3	4472.49	518.8	744.44	206.53
樟帮煨	864.45	498.75	965.71	4592.45	271.53	1570.47	393.03
药典饮片	205.26	1330.76	999.26	5242.48	342.27	169.38	104.5
对照药材	205.26	262.17	1012.99	5856.3	343.05	114.72	93.26
樟帮薄片	951.41	969.79	1328.05	11115.77	1902.12	2302.63	413.13

度评价系统软件 2004A 版)计算得到 7 种供试品指纹图谱的相似度,见表 1。从表 2 和图 4 看出,樟帮生白芍、樟帮酒炒白芍、建昌炒白芍和建昌酒白芍指纹图谱的相似度均在

0.900 以上,说明各炮制方法的炮制工艺稳定可行,具有很好的重现性,但各炮制品的指纹图谱相似度不高且差异较大。从表 4 可以看出同等条件下,不同炮制品共有峰峰面积也不同,其中樟帮白芍薄片即“白芍飞上天”测到的含芍药内酯苷和芍药苷在内的 7 个共有峰的峰面积是最大的,含量最高。由此可见樟帮法的炮制特色能促进药物有效成分的溶出,起到增效作用,说明了“白芍飞上天”有其特殊科学性。综上,建立的指纹图谱能够反应白芍药材及樟帮法和建昌法炮制白芍饮片的共性与特性,揭示樟帮炮制方法的科学性。

#### 参考文献

[1]张娟,刘美,肖炯昌,李先宽,苏永健,马琳.白芍不同提取方法及指纹图谱的研究[J].中国现代中药,2018,20(12):1549-1553.  
 [2]张丽宏,顾雪竹,钮正鑫,等.白芍的传统规格等级与内在成分的相关性研究[J].中成药,2012,34(3):535-538.  
 [3]朱如彩,蔡萍,李雅,等.不同产地白芍 HPLC 指纹图谱及芍药苷和芍药内酯苷含量的比较研究[J].湖南中医药大学学报,2012,32(3):34-37.  
 [4]严倩茹,鄂伟魁.白芍饮片的质量现状与质量控制方法研究进展[J].药物评价研究,2015,38(2):229-232.  
 [5]Chang Y, Zhang L, Wang C, et al. Paeoniflorin inhibits function of synoviocytes pretreated by rIL-1 $\alpha$  and regulates EP4 receptor expression [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 137(3):1275-1282.  
 [6]张源潮,孙红胜,潘正伦,等.白芍总苷在风湿免疫病中的研究进展[J].世界临床药物,2010,31(8):449-453.  
 [7]Chang Y, Wei W, Zhang L, et al. Effects and mechanisms of total glucosides of paeony on synoviocytes activities in rat collagen-induced arthritis [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 121(1):43-48.  
 [8]李强,杜思逸,张忠亮,等.中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望[J].中草药,2013,44(22):3095-3104.  
 基金项目:国家自然科学基金项目(81560723) & 江西省中药学一流学科专项科研基金项目 JXSYLXK-ZHYA009、JXSYLXK-ZHYA0082.

作者简介: \*通讯作者:雷志强(1978—), 硕士, 讲师, 研究方向: 中药信息学, 通讯地址: 南昌市湾里区兴湾大道 818 号江西中医药大学, 330006。