

HPLC法测定丹皮中丹皮酚的含量

房杏春 安登魁 董善士¹ 沈 铮²(药物分析研究室; ¹理化测试中心)

牡丹皮为毛茛科牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr. 的根皮,常用作清热、凉血药,丹皮酚是其主要成分之一,具有降压、止血等多种药理作用。丹皮酚含量测定方法有直接蒸馏-UV法、HPLC法等^[1-7]。本文建立的HPLC法以价廉易得的甲醇为流动相,内标法定量。方法稳定、简便快速,重现性良好,所用药材量仅为10 mg,结果较为理想。

实 验 部 分

一、仪器与试药

高效液相色谱,泵 Model 510 (Waters); 检测器, 490 Programmable Multiwavelength Detector (Waters); 数据处理机, 740 Data Modul (Waters)。对照品丹皮酚(中国药品生物制品检定所); 内标, 非那西汀(天津力生制药厂); 试剂均为分析纯; 生药样品购自各地、经鉴定为原植物。

二、分析条件

色谱柱为不锈钢柱, 150×3.9 mm, 填料为NOVA-PAKC₁₈, 5 μm; 流动相, 甲醇-水(1:1), 流速, 0.7 ml/min; 检测波长274 nm, 室温。本法最低检测量为8 ng (S/N > 3)。

三、生药样品液的制备

取药材粉末(真空干燥24 h, 60目过筛)约10 mg, 精密称定, 置于10 ml 刻度离心管中, 加含有内标(非那西汀40 μg/ml)的甲醇液10.0 ml, 超声波振荡30 min, 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液10 μl 进行分析, 见图1。

四、线性关系

1. 丹皮酚标准溶液的制备 取丹皮酚对照品约10 mg, 精密称定于100 ml量瓶中, 甲

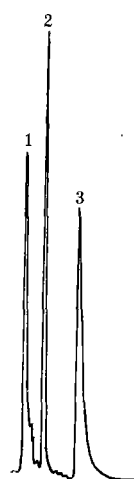


Fig 1. Chromatogram of methanol extract obtained from *Paeonia suffruticosa* Andr.

1. unknown substances ($t_R = 2.1 \text{ min}$)
2. internal standard ($t_R = 4.2 \text{ min}$)
3. paeonol ($t_R = 8.4 \text{ min}$)

醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。

2. 内标液的配制 取内标约80 mg, 精密称定, 置100 ml量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀得内标贮备液。

3. 标准曲线 分别吸取适量丹皮酚标准溶液置于10 ml量瓶中, 加入内标液0.5 ml, 以甲醇稀释至刻度, 摇匀, 进样分析。以丹皮酚与内标的峰高比为响应值, 丹皮酚的量为变量, 应用最小二乘法得回归方程 $h_s/h_i = 63.07 C (\mu\text{g}) - 0.121$, 相关系数 $r = 0.9992$, ($n = 7$)。结果表明丹皮酚在0.06~0.84 μg 范围内与峰高比呈线性关系。

五、加量回收率试验

取生药样品10 mg, 精密称定, 添加适量的丹皮酚, 按生药样品液制备方法操作; 测得丹皮酚总量需减去药材中丹皮酚的量, 计算回收率。结果平均回收率99.92%, 变异系数2.2% ($n = 10$)。

六、稳定性试验

取一定量非那西汀和丹皮酚,加甲醇溶解后,在 UV-260 紫外检测器上测定各自的吸光度,其结果表明 8 h 内稳定。

七、样品测定

取各产地牡丹皮约 10 mg,精密称定,加含内标的甲醇 10.0 ml,依法操作,所得峰高比,按回归方程计算药材中丹皮酚的含量。见表 1。

Tab 1. Paeonol content in *Paeonia suffruticosa* Andr. from different territories

Territories	Nanjing	Hefei	Sichuan Changshou	Yunnan	Hubei Lichuan	Anhui Tongling	Anhui Boxian
Content \pm SD %	1.29 \pm 0.036	0.89 \pm 0.020	0.97 \pm 0.010	1.90 \pm 0.015	1.00 \pm 0.011	1.94 \pm 0.032	1.51 \pm 0.060
CV %	2.8	2.3	1.2	0.8	1.1	1.7	4.2

讨 论

1. 本文采用超声波振荡提取丹皮中丹皮酚,方法简易快速。经研究比较不同的提取方法(参见表 2),结果表明超声波振荡 30 min 已基本提取完全。

Tab 2. Comparison of extraction methods (using methanol as solvent)

Time(min)	Ultrasonic extraction				Reflux- extraction
	10	20	30	40	240
Content(%)	1.05	1.11	1.31	1.31	1.33

Tab 3. Paeonol contents(%) in *Paeonia suffruticosa* Andr. determined by using different methods

Territories	Methods*			Relative error
	1	2	3	
Hefei	0.89	0.91	0.91	1.0
Anhui Tongling	1.94	1.91	1.89	0.9
Anhui Boxian	1.51	1.49	1.50	0.4
Nanjing	1.29	1.33	1.33	1.3
Yunnan	1.90	1.79	1.89	2.2
Sichuan Changshou	0.97	1.04	1.03	2.9
Hubei Lichuan	1.00	0.96	0.97	1.7

*Method 1 The method proposed by this paper

2 Methanol reflux-extraction -HPLC

3 Direct steam distillation-UV method

2. 为进一步考察本法的准确性,文中应用直接蒸馏—紫外分光光度法⁽⁴⁾、甲醇热回流(4 h) HPLC 法以及采用本法测定比较了七个产地丹皮中丹皮酚的含量(参见表 3),结果较为一致。最大相对偏差小于 3 %。

关键词 HPLC; 牡丹; 丹皮酚

致 谢 江苏植物研究所袁昌齐研究员帮助进行品种鉴定

参 考 文 献

- 1 中华人民共和国药典委员会编. 中华人民共和国药典. 一部. 1985 年版. 1985: 392
- 2 南京药学院《中草药学》编写组编著. 中草药学. 南京: 江苏人民出版社, 1976: 252
- 3 徐礼桑, 沙世炎编著. 中草药有效成分分析法. 北京: 人民卫生出版社, 1984: 112
- 4 张伯崇, 岳秀文, 冯祥瑞. 直接蒸馏—紫外分光光度法测定牡丹皮中的丹皮酚. 中成药研究 1983, (7): 33-34
- 5 张伯崇, 岳秀文. 六味地黄丸中丹皮酚的含量测定. 中成药研究 1984 增刊(1): 49-50
- 6 汪海孙, 刘信顺. 高效液相色谱法测定中成药中丹皮酚的含量. 中成药研究 1986; (1): 12
- 7 赤田信良, 河野贞子, 山岸正治. 高速液体クロマトグラフィーによる医薬品の分析(第 7 報) ボタン皮中のペオニールの定量. 药学杂志 1980; 100(2): 212-215

DETERMINATION OF PAEONOL IN THE CHINESE TRADITIONAL DRUG CORTEX MOUTAN RADICIS (*PAEONIA SUFFRUTICOSA* ANDR.) BY HPLC

Fang Xingchun, An Dengkui, Dong Shanshi¹ and Shen Zeng

(Division of Pharmaceutical Analysis, ¹Physico-Chemical Analysis Laboratory)

A reversed-phase high performance liquid chromatographic method for determination of paeonol contained in Cortex Moutan Radicis was proposed. Paeonol contained in Cortex Moutan Radicis and internal standard, phenacetin, was extracted with methanol with the aid of ultrasonic cleaner and the extract was directly analyzed on NOVA-PAK C₁₈ (150×3.9 mm, 5 μm) using CH₃OH-H₂O(1:1) as the mobile phase. Calibration graph was linear in the range of 0.06~0.84 μg and recovery was 99.92% (CV 2.2%, n=10). The paeonol contents in *P. Suffruticosa* from different territories were detected and were agreeable with those obtained by direct steam distillation-UV method.

Key words HPLC; *Paeonia suffruticosa* Andr.; Paeonol

〔文摘020〕 苄基四氢巴马汀对 α 和 β 等受体的影响
张纪思, 黄枕亚, 姚伟星等. 药学学报 1988; 23(9): 641-645

采用离体兔主动脉条、大鼠肛尾肌和豚鼠右房标本及毁脊髓大鼠实验, 观察了苄基四氢巴马汀(BTHP)对 α、β 受体的作用, 同时也观察了 BTHP 与哌唑嗪对大鼠再灌注所致心率失常的影响。结果提示, BTHP 对 α 受体的阻断及对 β 和 H₂ 受体的非竞争性拮抗作用可能与该药抗心律失常作用有部分关系, 但并非其主要机理。

〔文摘021〕 吸收度线性组合法进一步探索 孙汉涛, 王育良, 钱金娥等. 药学学报 1988; 23(9): 693-697

本文应用新的计算分光光度法—吸收度线性组合法测定了乳糖干扰下盐酸麻黄素的含量, 计算了不同测试点数的线性组合法并同正交函数法进行比较。结果表明, 同样数据线性组合法的精度比正交函数法提高约10倍。同时给出了最佳组合方式, 反映了线性组合法简易的特点。

〔文摘022〕 四氢巴马汀等单胺排空作用的比较

刘国卿, 马志清. 药学学报 1988; 23(10): 721-726

利血平单独给药 (1.5mg/kg, ip) 后 24h 显著降低大鼠脑内 NA (-60%) 和 DA (-75%); 显著增加纹状体和边缘区 5-HT 代谢物 5-HIAA 含量; 使家兔脑干 5-HT 显著降低, 纹状体 5-HT 无明显变化。四氢巴马汀 (dl-THP) 对利血平有协同作用, 丁苯那嗪有拮抗作用。此外, dl-THP 与利血平不同, 对 Na⁺-K⁺-ATP 酶和 Mg²⁺-ATP 酶活性无显著影响。l- 或 d-THP 在 10⁻⁴mol/L 能诱发豚鼠输精管节律性收缩并不被多种受体阻断剂拮抗。dl-THP 在较大剂量下降低大鼠体温, 与利血平相似。

〔文摘023〕 动态规划法在去痛片及克感敏片定量分析中的应用 杨金玉, 吴桥. 药学学报 1988; 23(10): 756-761

报道在多组分复方制剂的定量分析中, 用面积拟合法建立一个含有 n 个未知数的方程组, 然后用动态规划求出一组 (n 个) 最佳比例系数值, 从而求出各单一组分在复方制剂中含量。测定中的数据处理均用微机进行。该法对克感敏、去痛片中各组分测定结果表明, 平均回收率均在 100.0±1.0% 之间, CV<2.0%。