

# 基于 HPLC 指纹图谱的亳白芍不同炮制品 标准汤剂 7 个成分含量测定

赵园园<sup>1</sup>, 梁德勤<sup>1</sup>, 金传山<sup>1\*</sup>, 魏庆红<sup>2</sup>, 张伟<sup>1</sup>, 许凤清<sup>1</sup>, 王林<sup>1</sup>

<sup>1</sup>安徽中医药大学药学院, 合肥 230012; <sup>2</sup>安徽协和成药业饮片有限公司, 亳州 236800

**摘要:** 建立亳白芍不同炮制品标准汤剂 HPLC 指纹图谱, 其中生白芍、炒白芍和酒白芍标准汤剂分别标定 16、14 和 13 个共有峰, 同时测定亳白芍不同炮制品标准汤剂中 7 种化学成分(没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖和苯甲酰芍药苷)含量, 经炒制后标准汤剂中芍药内酯苷和苯甲酸含量升高, 氧化芍药苷、芍药苷含量降低, 酒白芍标准汤剂中芍药苷含量升高, 苯甲酸含量降低, 并对含量测定结果进行聚类分析, 同一批亳白芍及其炮制品可聚为一类, 但聚类距离缩小后生品和炮制品各聚为一类。建立的 HPLC 指纹图谱和含量测定方法具有良好的重现性, 且简便快速, 二者结合可直观反映出亳白芍炒制、酒制后的变化差异。

**关键词:** 亳白芍; 炮制品; 标准汤剂; 指纹图谱; 含量测定

中图分类号: R283.1

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.3.010

## Determination of 7 Components in Standard Decoction of Different Processed Products of *Paeoniae Alba Radix* in Bozhou Based on HPLC Fingerprint Analysis

ZHAO Yuan-yuan<sup>1</sup>, LIANG De-qin<sup>1</sup>, JIN Chuan-shan<sup>1\*</sup>, WEI Qin-hong<sup>2</sup>, ZHANG Wei<sup>1</sup>, XU Feng-qing<sup>1</sup>, WANG Lin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China;

<sup>2</sup>Anhui Xiehecheng Chinese Herb Limited Corporation, Bozhou 236800, China

**Abstract:** To establish the HPLC fingerprint of standard decoction of different processed products of *Paeoniae Alba Radix* (PAR) in Bozhou. The standard decoction of PAR had 16 common peaks, fired PAR had 14 common peak, and PAR with wine had 13 common peak. The seven different chemical composition (including gallic acid, oxypaeoniflorin, alibiflorin, paeoniflorin, benzoic acid, 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose, benzoylpaeoniflorin) were measured. The content of alibiflorin and benzoic acid increased in the standard decoction after fired, meanwhile oxypaeoniflorin and paeoniflorin reduced. In the standard decoction of PAR with wine, the content of paeoniflorin increased and the content of benzoic acid decreased. The results were analyzed by cluster analysis (CA), the same PAR and processed products can get together for a class, but the different processed products of PAR were clustered into one category after clustering distance was reduced. The HPLC fingerprint and content determination methods had a good reproducibility and was simple as well as fast. The combination of the two methods can reflect the difference of the changes of different processed products of PAR in Bozhou.

**Key words:** *Paeoniae Alba Radix* in Bozhou; processed products; standard decoction; fingerprint; content determination

白芍为毛茛科植物芍药 (*Paeonia lactiflora* Pall.) 干燥根, 收载于 2015 版《中华人民共和国药典》, 具有平肝止痛, 养血调经, 敛阴止汗的功效<sup>[1]</sup>。

白芍产于安徽、浙江、四川、山东、湖南等地, 今以亳州白芍产量最大<sup>[2]</sup>。现临床除生白芍外, 炒白芍、酒白芍等炮制品也广泛应用, 白芍性凉, 炒制后缓和其酸寒之性, 用于缓脾止痛、养血和络等, 肝脾不和、脾虚、腹痛均有良好疗效<sup>[3]</sup>。白芍酒炒后能降低酸寒之性, 增强养血调经、和中缓急之功<sup>[4]</sup>。相关文献研究表明白芍炒制、酒制过程中在化学成分上会

收稿日期: 2017-08-11 接受日期: 2017-10-30

基金项目: 国家中药标准化项目 (ZYBZH-Y-AH-01); 省科技厅 2015 年公益性技术应用研究联动计划 (15011d04003); 安徽省 2015 年科技计划 (1501041174)

\* 通信作者 E-mail: jcs4@sohu.com

发生变化<sup>[4-10]</sup>,文献研究认为白芍经炒制、酒制后芍药苷含量降低,芍药内酯苷和苯甲酰芍药苷含量升高<sup>[3,11,12]</sup>,酒白芍较生品苯甲酸含量降低,但炮制机理与临床疗效之间的关系未有明确的研究结果。关于白芍的指纹图谱文献主要以白芍药材和饮片为主<sup>[13-17]</sup>,炮制品只涉及炒白芍<sup>[18]</sup>,未见酒白芍指纹图谱的相关研究,且白芍标准汤剂的指纹图谱未见研究,本实验从临床常用的标准汤剂出发,建立亳白芍生品与炒制品、酒制品标准汤剂的 HPLC 指纹图谱,并测定没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖和苯甲酰芍药苷 7 种化学成分的含量,为临床亳白芍不同炮制品用药提供实验依据。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪(G1312C 二元泵, G1316B DAD 检测器);KQ-300DE 型数控超声波清

洗器(昆山市超声仪器有限公司),HL-200A 型打粉机(上海塞耐机械有限公司),艾柯 Exceed-Ad-40 型超纯水机(成都唐氏康宁科技发展有限公司,Sartorius ME5 百万分之一电子天平(德国 Sartorius 公司)。

### 1.2 试药与药材

芍药苷对照品(批号:X27F8C30162),没食子酸对照品(批号:YA0505YA14),氧化芍药苷对照品(批号:Y31D5J1),1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖(批号:P29F7F10218),苯甲酸对照品(批号:TS0911CA14),苯甲酰芍药苷对照品(批号:P02D7F26004),含量均 $\geq 98\%$ ,芍药内酯苷对照品(含量: $\geq 91.4\%$ ,批号:Z16M6B1),对照品均购自上海源叶生物科技有限公司,乙腈为色谱纯,磷酸、甲醇为分析纯、水为超纯水。

10 批亳白芍药材均采收于安徽亳州及其周边省市,采收信息如表 1。经安徽中医药大学俞年军教授鉴定为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根。

表 1 白芍药材样品信息  
Table 1 Information of *P. lactiflora*

编号 No.	采集地 Gathering areas	经纬度 Longitude and latitude	采集时间 Collection time
1	魏岗镇谭楼	东经 115°38'09.17" 北纬 33°53'22.41"	2016.08.20
2	魏岗镇郑桥	东经 115°40'34.82" 北纬 33°53'06.51"	2016.08.20
3	华佗镇住集	东经 115°44'57.07" 北纬 33°58'06.79"	2016.08.22
4	华佗镇住集	东经 115°45'23.56" 北纬 33°57'48.18"	2016.08.22
5	五马镇芍花村	东经 115°49'08.68" 北纬 33°55'14.07"	2016.08.22
6	观堂镇张庄	东经 115°56'24.93" 北纬 33°48'24.93"	2016.08.23
7	观堂镇崔庄	东经 115°55'09.52" 北纬 33°49'35.32"	2016.08.24
8	十八里镇十八里社区	东经 115°39'57.02" 北纬 33°51'18.78"	2016.08.24
9	十八里镇十八里社区	东经 115°39'41.36" 北纬 33°51'18.09"	2016.08.25
10	鹿邑县大崔村	东经 115°36'23.55" 北纬 33°51'07.09"	2016.08.25

## 2 实验方法

### 2.1 药材及炮制品的制备

将 10 批新鲜白芍药材按传统加工方式制成生

白芍饮片,后按下列工艺<sup>[5,19-21]</sup>分别加工成炒白芍和酒白芍。炒白芍:取净白芍片 300 g,置于热锅内,饮片表面温度 110~120 °C,炒制 10~12 min,取出晾凉即可;得样品呈微黄色或淡黄棕色,略带焦斑,

气微香。酒白芍:取净白芍片 300 g,加 10% 黄酒拌匀,闷润,待黄酒被吸尽后,置于热锅内,饮片表面温度 85 ~ 105 °C,炒制 8 ~ 10 min,取出晾凉即可;得样品呈微黄色或淡黄棕色,略带焦斑,有酒香气。

## 2.2 对照品溶液的制备

精密称取没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖和苯甲酰芍药苷 0.001628、0.002895、0.000503、0.000479、0.005116、0.000882、0.000626 g 置于 25 mL 的容量瓶中,加色谱甲醇至刻度处,得到没食子酸 0.06512 mg/mL,氧化芍药苷 0.11580 mg/mL,芍药内酯苷 0.01839 mg/mL,芍药苷 0.01916 mg/mL,苯甲酸 0.20464 mg/mL,1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖 0.03528 mg/mL,苯甲酰芍药苷 0.02504 mg/mL 的混合对照品溶液。

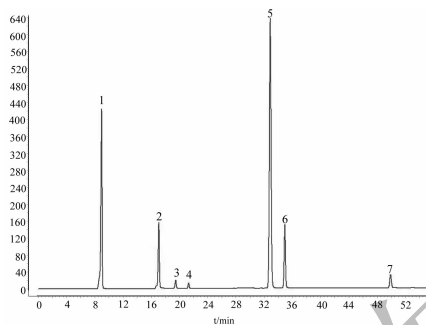


图 1 混合对照品的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference standards

注:1. 没食子酸,2. 氧化芍药苷,3. 芍药内酯苷,4. 芍药苷,5. 苯甲酸,6. 1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖,7. 苯甲酰芍药苷

Note: 1. Gallic acid; 2. Oxypaeoniflora; 3. Alibiflorin; 4. Paeoniflorin; 5. Benzoic acid; 6. 1,2,3,4,6-Pentagalloylglucose; 7. Benzoylpaeoniflorin

## 2.3 标准汤剂供试品溶液的制备<sup>[22,23]</sup>

取白芍饮片 20 g,加 7 倍量水浸泡 30 min,加热回流 1 h,过滤,留煎煮液备用;药渣加 6 倍水加热回流 40 min,合并两次煎煮液,浓缩定容至 100 mL 容量瓶,即得浓度为 0.2 g/mL 的原药材溶液。取浓缩液 1 mL,加甲醇定容至 10 mL,摇匀,静置 20 min,分出上清液,0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得供试品溶液。

## 2.4 色谱条件

色谱柱为 Symmetry Shield RP18 色谱柱(沃特世,250 mm × 4.6 mm,5 μm);柱温 25 °C;流动相为 0.1% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱,洗脱程序如下:0 ~ 20 min,5% ~ 20% B;20 ~ 30 min,20% ~

25% B;30 ~ 45 min,25% ~ 30% B;45 ~ 55 min,30% ~ 35% B;流速 1.0 mL/min;进样量 10 μL;检测波长为 214 nm(0 ~ 14 min,测定没食子酸)、257 nm(14 ~ 18 min,测定氧化芍药苷)、232 nm(18 ~ 20.5 min,测定芍药内酯苷)、220 nm(20.5 ~ 28 min,测定芍药苷)、228 nm(28 ~ 34 min,测定苯甲酸)、217 nm(34 ~ 38 min,测定 1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖)、229 nm(38 ~ 55 min,测定苯甲酰芍药苷)。

## 2.5 方法学考察

### 2.5.1 线性关系考察

精密称取没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、1,2,3,4,5,6-五没食子酰葡萄糖、苯甲酰芍药苷对照品适量,用甲醇溶解并定容,精密量取对照品溶液分别稀释至对应浓度,以对照品浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),进行线性回归,其回归方程式和线性范围分别为没食子酸: $Y = 75416X - 54.845$ ,  $r = 0.9998$ , 3.73 ~ 118.4 μg/mL,定量限:0.95 μg/mL,检测限:0.43 μg/mL;氧化芍药苷: $Y = 17498X - 3.616$ ,  $r = 0.9995$ , 1.49 ~ 29.9 μg/mL,定量限:0.71 μg/mL,检测限:0.32 μg/mL;芍药内酯苷: $Y = 12569X - 5.6849$ ,  $r = 0.9996$ , 8.36 ~ 166.8 μg/mL,定量限:1.63 μg/mL,检测限:0.56 μg/mL;芍药苷: $Y = 8088.7X + 73.872$ ,  $r = 0.9997$ , 61.2 ~ 1009.8 μg/mL,定量限:21.03 μg/mL,检测限:6.61 μg/mL;苯甲酸: $Y = 54002X - 8.15$ ,  $r = 0.9992$ , 0.58 ~ 56.3 μg/mL,定量限:0.26 μg/mL,检测限:0.09 μg/mL;1,2,3,4,5,6-五没食子酰葡萄糖: $Y = 59526X - 26.948$ ,  $r = 0.9994$ , 0.61 ~ 23.4 μg/mL,定量限:0.32 μg/mL,检测限:0.14 μg/mL;苯甲酰芍药苷: $Y = 20674X - 2.3951$ ,  $r = 0.9992$ , 1.06 ~ 32.3 μg/mL,定量限:0.57 μg/mL,检测限:0.23 μg/mL。

### 2.5.2 精密度试验

取同一批白芍样品,参照“2.3”项下方法制备供试液,按“2.4”项下色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图,以芍药苷为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。检测结果表明各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.10%,各共有峰的相对峰面积的 RSD 均小于 0.50%,表明仪器的精密度良好。

### 2.5.3 重复性试验

取同一批白芍样品 6 份,参照“2.3”项下制备供试品溶液,在“2.4”项色谱条件下进行测定,记录

指纹图谱,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。检测结果表明各共有峰的相对保留时间的 RSD 值均小于 0.30%,各共有峰的相对峰面积的 RSD 值均小于 3.00%。表明重复性良好。

#### 2.5.4 稳定性试验

取同一批白芍样品,按“2.3”项方法下制备供试品,分别于 0、2、4、8、12、24、48 h 在“2.4”项色谱条件下进行测定,记录指纹图谱,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。检测结果表明各共有峰的相对保留时间的 RSD 值均小于 0.30%,各共有峰的相对峰面积的 RSD 值均小于 1.00%。结果表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

#### 2.5.5 加样回收率试验

平行精密量取已知含量的供试品溶液 5 份,分别加入适量没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖、苯甲酰芍药苷对照品,混匀,按供试品制备方法备样,在“2.4”项色谱条件下进样,记录峰面积,平均加样回

收率为 96.95%、103.09%、99.32%、99.80%、102.01%、100.69%、103.01%,RSD 值均小于 3.00%。

## 3 结果与分析

### 3.1 亳白芍及其炮制品标准汤剂指纹图谱的建立

#### 3.1.1 样品图谱的采集

将 10 批生白芍、炒白芍、酒白芍样品,按“2.3”项方法下分别制备供试品溶液,在“2.4”项色谱条件下进行测定,记录指纹图谱。

#### 3.1.2 生白芍标准汤剂共有峰的标定及指纹图谱相似度评价

采用国家药典委员会《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012.130723 版本)对 10 批生白芍标准汤剂的 HPLC 图谱进行分析:以 S1 号样品的图谱作为参照图谱,中位数法生成对照图谱 R(图 2A),建立生白芍标准汤剂的共有模式,最终确定 10 批生白芍标准汤剂有 16 个共有峰,计算相似度。具体分析结果见图 2(A、B)和表 2。

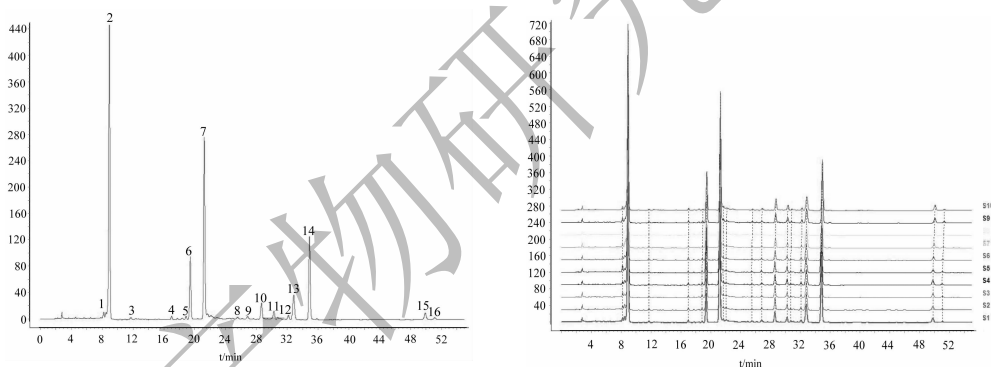


图 2 生白芍标准汤剂指纹图谱的 16 个共有峰 (A) 和生白芍标准汤剂的指纹图谱 (B)

Fig. 2 The 16 common peaks (A) and HPLC chromatograms (B) of standard decoction of Paeoniae Alba Radix

表 2 生白芍标准汤剂的相似度计算结果

Table 2 Results of similarity analysis of standard decoction of Paeoniae Alba Radix

编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity
生白芍 1	0.997	生白芍 6	0.999
生白芍 2	0.997	生白芍 7	0.995
生白芍 3	0.999	生白芍 8	0.998
生白芍 4	0.999	生白芍 9	0.996
生白芍 5	1	生白芍 10	0.999

#### 3.1.3 炒白芍标准汤剂共有峰的标定及指纹图谱相似度评价

采用国家药典委员会《中药色谱指纹图谱相似

度评价系统》(2012.130723 版本)版对 10 批炒白芍标准汤剂的 HPLC 图谱进行分析:以 S1 号样品的图谱作为参照图谱,中位数法生成对照图谱 R(图

3A),建立 10 批炒白芍标准汤剂的共有模式,最终确定 14 个共有峰,计算相似度。具体分析结果见图

3(A、B)和表 3。

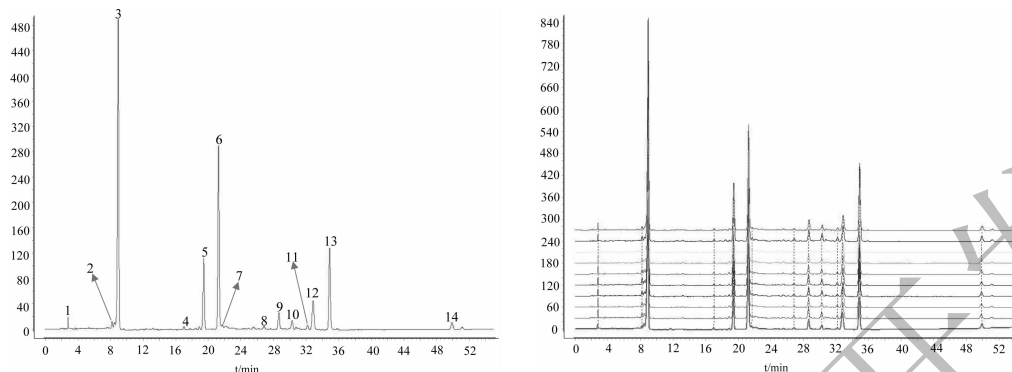


图 3 炒白芍标准汤剂指纹图谱 14 个共有峰 (A) 和炒白芍标准汤剂指纹图谱 (B)

Fig. 3 The 14 common peaks (A) and HPLC chromatograms (B) of standard decoction of pure sauteed Paeoniae Alba Radix

表 3 炒白芍标准汤剂的相似度计算

Table 3 Results of similarity analysis of standard decoction of pure sauteed Paeoniae Alba Radix

编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity
炒白芍 1	0.995	炒白芍 6	0.999
炒白芍 2	0.996	炒白芍 7	0.995
炒白芍 3	0.995	炒白芍 8	0.998
炒白芍 4	0.999	炒白芍 9	0.993
炒白芍 5	0.997	炒白芍 10	0.998

### 3.1.4 酒白芍标准汤剂共有峰的标定及指纹图谱相似度评价

采用国家药典委员会《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012.130723 版本)版对 10 批酒白芍标准汤剂的 HPLC 图谱进行分析:以 S1 号样品的图谱作为参照图谱,中位数法生成对照图谱 R(图 4, A),建立 10 批酒白芍标准汤剂的共有模式,确定 13 个共有峰,计算相似度。具体分析结果见图 4(A、

B)和表 4。

### 3.1.5 指纹图谱分析

10 批生白芍标准汤剂指纹图谱中检测到 16 个共有峰,炒白芍标准汤剂供试液指纹图谱 14 个共有峰,酒白芍标准汤剂指纹图谱检测到 13 个共有峰,与对照品保留时间比较,没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、1,2,3,4,5,6-五没食子酰葡萄糖和苯甲酰芍药苷 7 个化学成分分别对应生

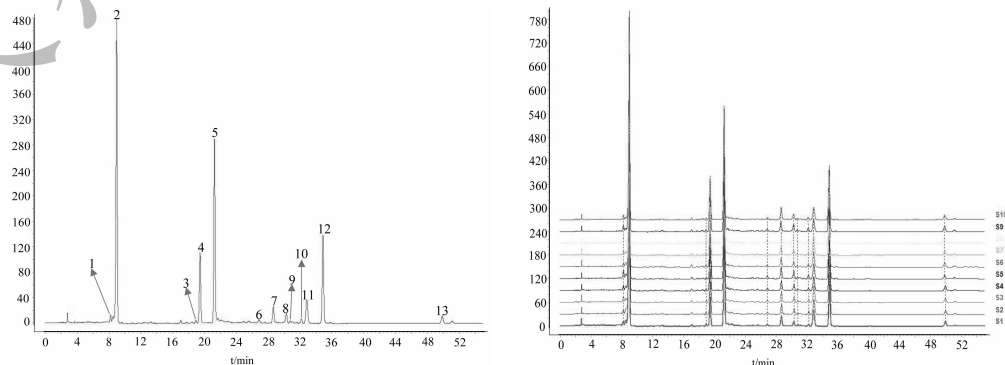


图 4 酒白芍标准汤剂指纹图谱的 13 个共有峰 (A) 和酒白芍标准汤剂指纹图谱 (B)

Fig. 4 The 13 common peaks (A) and HPLC chromatograms (B) of standard decoction of wine sauteed Paeoniae Alba Radix

表 4 酒白芍标准汤剂的相似度计算

Table 4 Results of similarity analysis of standard decoction of wine sauteed Paeoniae Alba Radix

编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity
酒白芍 1	0.996	酒白芍 6	0.998
酒白芍 2	0.998	酒白芍 7	0.991
酒白芍 3	0.997	酒白芍 8	0.996
酒白芍 4	0.995	酒白芍 9	0.993
酒白芍 5	0.997	酒白芍 10	1

白芍指纹图谱中的 2、4、6、7、13、14 和 15 号色谱峰,对应炒白芍中的 3、4、5、6、12、13 和 14 号色谱峰;酒白芍指出 6 个色谱峰,其中 2、4、5、11、12 和 13 号色谱峰分别对应没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、1,2,3,4,5,6-五没食子酰葡萄糖和苯甲酰芍药苷。

炒白芍标准汤剂指纹图谱与生品比较,多了 7 号峰,但缺少了生品中的 5、8、16 号峰;酒白芍指纹图谱共有模式较生品多了 9 号峰,缺少了生品指纹图谱中的 3、4、8 和 16 号峰。

### 3.1.6 相似度分析

10 批生白芍标准汤剂相似度在 0.995 ~ 1 之

间,相似度均在 0.990 以上,说明这 10 批亳白芍药材质量稳定,差异小。10 批炒白芍标准汤剂相似度在 0.995 ~ 0.999 之间,酒白芍标准汤剂相似度在 0.991 ~ 1 之间,说明炒白芍、酒白芍炮制过程中,工艺较稳定。

### 3.2 亳白芍及其炮制品标准汤剂含量测定

按“2.3”项下的方法制备供试品溶液,在“2.4”项下的色谱条件下分别进样 10  $\mu$ L,测定了白芍标准汤剂中氧化芍药苷、芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷 4 种单萜苷和没食子酸、苯甲酸、1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖 7 种成分,标准曲线法计算含量,结果如表 5。

表 5 亳白芍及其炮制品 7 种成分含量测定结果

Table 5 Content of seven components of different processed products of Paeoniae Alba Radix in Bozhou

编号 No.	没食子酸 Gallic acid (%)	氧化芍药苷 Oxypaeoniflorin (%)	芍药内酯苷 Alibiflorin (%)	芍药苷 Paeoniflorin (%)	苯甲酸 Benzoic acid (%)	五没食子酰 基葡萄糖 1,2,3,4,6- Pentagalloylglucose (%)	苯甲酰芍药苷 Benzoylpaeoniflorin (%)
生 1	0.399 $\pm$ 1.68	0.019 $\pm$ 0.27	0.360 $\pm$ 1.45	2.112 $\pm$ 1.18	0.075 $\pm$ 0.56	0.190 $\pm$ 1.72	0.049 $\pm$ 0.45
生 2	0.335 $\pm$ 1.66	0.018 $\pm$ 0.25	0.388 $\pm$ 0.59	2.136 $\pm$ 0.32	0.073 $\pm$ 0.56	0.160 $\pm$ 0.47	0.041 $\pm$ 0.57
生 3	0.329 $\pm$ 0.65	0.017 $\pm$ 0.25	0.380 $\pm$ 1.91	1.831 $\pm$ 1.90	0.063 $\pm$ 0.39	0.135 $\pm$ 0.55	0.045 $\pm$ 0.29
生 4	0.410 $\pm$ 0.57	0.019 $\pm$ 0.39	0.561 $\pm$ 1.86	2.076 $\pm$ 1.32	0.064 $\pm$ 0.30	0.162 $\pm$ 0.93	0.057 $\pm$ 0.31
生 5	0.392 $\pm$ 0.99	0.017 $\pm$ 0.19	0.550 $\pm$ 1.71	2.186 $\pm$ 1.27	0.064 $\pm$ 0.51	0.171 $\pm$ 0.94	0.034 $\pm$ 0.43
生 6	0.320 $\pm$ 0.37	0.022 $\pm$ 0.34	0.462 $\pm$ 2.17	1.904 $\pm$ 1.27	0.069 $\pm$ 0.53	0.129 $\pm$ 0.91	0.042 $\pm$ 0.82
生 7	0.326 $\pm$ 0.67	0.017 $\pm$ 0.24	0.560 $\pm$ 1.93	2.064 $\pm$ 1.69	0.075 $\pm$ 0.39	0.118 $\pm$ 0.45	0.045 $\pm$ 0.38
生 8	0.403 $\pm$ 0.56	0.019 $\pm$ 0.20	0.514 $\pm$ 1.82	1.993 $\pm$ 1.74	0.056 $\pm$ 0.25	0.180 $\pm$ 0.34	0.053 $\pm$ 0.29
生 9	0.400 $\pm$ 0.35	0.018 $\pm$ 0.16	0.593 $\pm$ 0.52	1.839 $\pm$ 1.31	0.060 $\pm$ 0.47	0.144 $\pm$ 0.52	0.054 $\pm$ 0.44
生 10	0.362 $\pm$ 0.71	0.019 $\pm$ 0.33	0.482 $\pm$ 1.01	2.107 $\pm$ 1.95	0.061 $\pm$ 0.55	0.148 $\pm$ 0.30	0.062 $\pm$ 0.72
生白芍平均含量 Mean content of Paeoniae Alba Radix	0.368 $\pm$ 3.69	0.019 $\pm$ 0.15	0.485 $\pm$ 8.49	2.025 $\pm$ 12.68	0.066 $\pm$ 0.65	0.154 $\pm$ 2.32	0.048 $\pm$ 0.84
炒 1	0.357 $\pm$ 0.48	0.018 $\pm$ 0.27	0.386 $\pm$ 1.10	2.023 $\pm$ 1.56	0.077 $\pm$ 0.22	0.099 $\pm$ 0.79	0.053 $\pm$ 0.33
炒 2	0.372 $\pm$ 0.37	0.017 $\pm$ 0.34	0.426 $\pm$ 1.80	2.061 $\pm$ 1.31	0.073 $\pm$ 0.37	0.192 $\pm$ 0.28	0.048 $\pm$ 0.24
炒 3	0.352 $\pm$ 0.33	0.015 $\pm$ 0.18	0.464 $\pm$ 0.91	1.732 $\pm$ 1.10	0.087 $\pm$ 0.25	0.086 $\pm$ 0.24	0.041 $\pm$ 0.54
炒 4	0.421 $\pm$ 0.49	0.017 $\pm$ 0.32	0.519 $\pm$ 0.87	2.039 $\pm$ 0.99	0.064 $\pm$ 0.31	0.158 $\pm$ 0.30	0.054 $\pm$ 0.55

续表 5 (Continued Tab. 5)

编号 No.	没食子酸 Gallic acid (%)	氧化芍药苷 Oxypaeoniflorin (%)	芍药内酯苷 Alibiflorin (%)	芍药苷 Paeoniflorin (%)	苯甲酸 Benzoic acid (%)	五没食子酰 基葡萄糖 1,2,3,4,6- Pentagalloylglucose (%)	苯甲酰芍药苷 Benzoylpaeoniflorin (%)
炒 5	0.443 ± 0.95	0.014 ± 0.09	0.679 ± 0.51	2.101 ± 0.92	0.075 ± 0.20	0.130 ± 0.46	0.040 ± 0.53
炒 6	0.318 ± 0.43	0.020 ± 0.19	0.439 ± 0.56	1.841 ± 1.34	0.080 ± 0.20	0.121 ± 0.18	0.046 ± 0.21
炒 7	0.324 ± 1.90	0.015 ± 0.16	0.581 ± 0.20	2.062 ± 1.58	0.089 ± 0.23	0.118 ± 0.22	0.048 ± 0.55
炒 8	0.389 ± 0.77	0.019 ± 0.27	0.654 ± 1.14	2.097 ± 1.58	0.068 ± 0.30	0.191 ± 0.30	0.050 ± 0.38
炒 9	0.468 ± 0.75	0.020 ± 0.30	0.773 ± 0.78	2.104 ± 1.72	0.071 ± 0.21	0.245 ± 0.22	0.064 ± 0.33
炒 10	0.327 ± 0.43	0.017 ± 0.02	0.540 ± 0.25	1.957 ± 1.49	0.067 ± 0.18	0.143 ± 0.05	0.053 ± 0.03
炒白芍平均含量 Mean content of pure sauteed Paeoniae Alba Radix	0.377 ± 5.21	0.017 ± 0.21	0.546 ± 12.52	2.002 ± 12.42	0.075 ± 0.4.89	0.148 ± 4.89	0.050 ± 0.71
酒 1	0.366 ± 0.86	0.017 ± 0.29	0.360 ± 1.47	2.074 ± 1.48	0.070 ± 0.34	0.124 ± 0.45	0.052 ± 0.56
酒 2	0.335 ± 0.91	0.017 ± 0.28	0.437 ± 0.70	2.029 ± 0.82	0.066 ± 0.35	0.150 ± 0.31	0.047 ± 0.55
酒 3	0.348 ± 0.46	0.018 ± 0.35	0.431 ± 0.36	2.088 ± 0.98	0.071 ± 0.35	0.179 ± 0.19	0.049 ± 0.56
酒 4	0.476 ± 0.70	0.015 ± 0.16	0.666 ± 0.41	2.223 ± 0.34	0.060 ± 0.41	0.152 ± 0.39	0.056 ± 0.55
酒 5	0.465 ± 0.61	0.017 ± 0.16	0.717 ± 0.80	2.357 ± 0.46	0.063 ± 0.25	0.243 ± 0.29	0.041 ± 0.80
酒 6	0.328 ± 0.77	0.022 ± 0.25	0.510 ± 0.55	2.040 ± 0.34	0.064 ± 0.34	0.128 ± 0.35	0.048 ± 0.55
酒 7	0.321 ± 0.66	0.016 ± 0.27	0.635 ± 0.94	2.144 ± 0.71	0.076 ± 0.35	0.103 ± 0.23	0.047 ± 0.56
酒 8	0.386 ± 0.46	0.019 ± 0.24	0.623 ± 0.17	2.238 ± 0.39	0.056 ± 0.27	0.222 ± 0.31	0.055 ± 0.55
酒 9	0.448 ± 0.77	0.019 ± 0.28	0.725 ± 0.89	1.903 ± 0.99	0.057 ± 0.32	0.200 ± 0.19	0.063 ± 0.35
酒 10	0.376 ± 0.65	0.017 ± 0.28	0.554 ± 0.93	2.116 ± 0.90	0.054 ± 0.30	0.150 ± 0.20	0.054 ± 0.58
酒白芍平均含量 Mean content of wine sauteed Paeoniae Alba Radix	0.385 ± 5.81	0.018 ± 0.20	0.566 ± 12.75	2.121 ± 12.74	0.064 ± 0.72	0.165 ± 4.51	0.051 ± 0.62

毫白芍生品及其炮制品标准汤剂中 7 种成分含量测定结果显示,10 批炒白芍标准汤剂中苯甲酸含量较生品有 8 批升高,第 2、4 两批含量无变化;芍药内酯苷含量较生品 8 批升高,第 4、6 两批降低;氧化芍药苷含量与生品比较,其中 9 批含量均降低,而第 9 批含量升高;芍药苷含量较生品降低的有 8 批,其中第 8、9 批含量升高;1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖和苯甲酰芍药苷含量均有升有降,无明显规律。10 批酒白芍标准汤剂与生品比较,芍药内酯苷含量均升高,芍药苷含量 8 批升高,第 1、2 批含量降低;苯甲酰芍药苷第 4、10 批含量降低,其他均升高;苯甲酸含量除第 3、7 批,其他批次均降低,没食子酸、氧化芍药苷、1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖含量较生品均有升有降,无显著规律。

### 3.3 毫白芍及其炮制品标准汤剂聚类分析

将毫白芍及其炮制品标准汤剂含量测定的结果

导入 SPSS23.0,采用组间连接法及欧氏距离平方法进行聚类。聚类分析结果见图 5。聚类距离为 10 时,第 5、6、7 批毫白芍生品和炮制品聚为一类,结果同一批毫白芍较为接近,大多可聚为一类,表明同一批白芍药材质量较稳定;聚类距离为 5 时,同一批毫白芍的生品与炒制品、酒制品各聚为一类,表明经过炮制后其内部化学成分发生变化,在聚类上体现了其差异性,不同炮制品各聚为一类。

## 4 讨论与结论

通过毫白芍及其炮制品指纹图谱分析发现,炒白芍、酒白芍标准汤剂指纹图谱与生品有明显差异,10 批生白芍标准汤剂指纹图谱共有模式共监测到有 16 个共有峰,10 批炒白芍和酒白芍分别检测到 14、13 个共有峰;在标准汤剂含量测定中,炒白芍标准汤剂中化学成分含量与生品标准汤剂的比较发

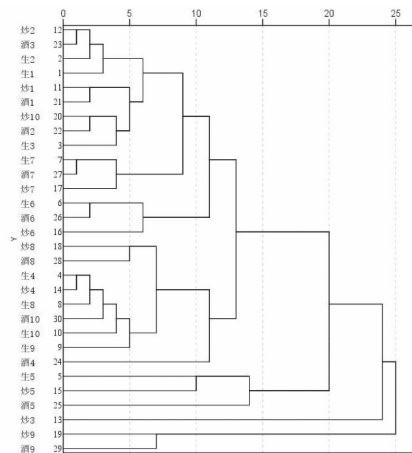


图5 亳白芍及其炮制品标准汤剂的聚类树状图

Fig. 5 Dendrogram of standard decoction of different processed products of Paoniae Alba Radix in Bozhou

现,炒制后氧化芍药苷、芍药苷含量基本呈降低趋势,芍药内酯苷和苯甲酸含量普遍升高。亳白芍酒制后标准汤剂中芍药苷、芍药内酯苷和苯甲酰芍药苷含量较生品普遍升高,苯甲酸含量普遍降低。含量测定结果一定程度上反映了指纹图谱的分析结果,从指纹图谱中可明确得到生白芍、炒白芍、酒白芍的相关化学成分信息。白芍炮制中认为,酒白芍能降低生品的酸寒之性,研究发现临床用药中如逍遥丸中白芍用酒炒更为合宜<sup>[24]</sup>,认为白芍酒制后更能充分发挥白芍柔肝止痛的功效,通过含量测定结果发现酒白芍标准汤剂中苯甲酸含量降低,因苯甲酸对胃有刺激性,可加重肝脏解毒的负担,说明化学成分变化与临床功效密切相关。

在聚类分析结果中发现同一批亳白芍药材大部分可聚为一类,体现了药材质量的稳定性,但当聚类距离缩小时,生品、炒制品、酒制品各聚为一类,聚类分析结果体现了亳白芍不同炮制品的差异性,为其临床生品与炮制品用药提供理论依据。

本实验对亳白芍生品及其炮制品炒白芍、酒白芍标准汤剂指纹图谱的建立进行了初步研究,为亳白芍生品及炮制品鉴别提供了新方法,结合含量测定的结果更全面的反映了炒白芍、酒白芍炮制前后物质基础的变化规律,丰富了亳白芍饮片质量评价内容,为炒白芍、酒白芍炮制机理的进一步研究提供实验基础,同时为亳白芍不同炮制品的临床应用提供依据。

#### 参考文献

1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人

民共和国药典)[M]. Beijing:China Medical Science Press, 2015.

- Liu YW (刘耀武), Qi B (齐彪), Wang J (王军), et al. Radix Paoniae Alba in Bozhou Primacy processing method of investigation[J]. *Heilongjiang Sci Technol Infor* (黑龙江科技信息), 2016, 16:51-52.
- Li K (李琨). Effect of two processing methods on quality of radix paeoniaealba[J]. *Int Med Health Guid News* (国际医药卫生导报), 2016, 22:3169-3171.
- Zhou GE (周国儿). Studies on process improvement of Paoniae Radix Alba processed with wine[J]. *Shanghai J TCM* (上海中医药杂志), 1985, 12:21.
- Wang JK (王建科), Li W (李玮), Zhang SG (张水国), et al. Process optimization of *Paonia lactiflora* by rice wine moistening to stir-baking with bran[J]. *Guizhou Agric Sci* (贵州农业科学), 2014, 42:157-160.
- Jin X (晋霞), Zhang JF (张家富). Study on optimized processing technics of fried radix paeoniaealbe with bran by orthogonal test[J]. *Anhui Med J* (安徽医药), 2006, 10:817-818.
- Li SX (李素霞). Study on the method of improving paeoniflorin content in Radix Paoniae Alba[J]. *J Commun Med* (社区医学杂志), 2013, 11(14):87-89.
- Zhu RC (朱如彩), Cai P (蔡萍), Li Y (李雅), et al. Comparative study of HPLC fingerprints and Paeoniflorin and Albiflorin contents in Paoniae Radix Alba from different regions[J]. *J Hunan Univ Chin Med* (湖南中医药大学学报), 2012, 32(3):34-37.
- Wu ZW (吴忠旺), Wu YC (吴一超), Wang L (王丽), et al. Effect of different drying methods on six chemical components of Paoniae Radix Alba[J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2016, 28:1764-1770.
- Lan YQ (兰亦青), Fan YH (范友华), Lu N (卢宁), et al. Determination of paeonol, paeoniflorin and benzoic acidin paeonialactiflora by rptlc[J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2001, 13:42-44.
- Xue JH (薛建海), Xiao TH (肖统海), Wang XH (王晓华), et al. 白芍不同炮制法对芍药甙含量的影响[J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1990, 8:27-28.
- Hu Y (胡雨), Jin CS (金传山), Zhang W (张伟), et al. Effect of different processing methods on quality of Radix Paoniae Alba[J]. *J Anhui Univ Chin Med* (安徽中医药大学学报), 2015, 34(2):91-94.
- Zhu RC (朱如彩), Cai P (蔡萍), Liu YG (刘亚刚). Study on the correlation HPLC fingerprint between crude drugs and extracts from Paoniae Radix Alba in different origins[J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2013, 25:25-30.