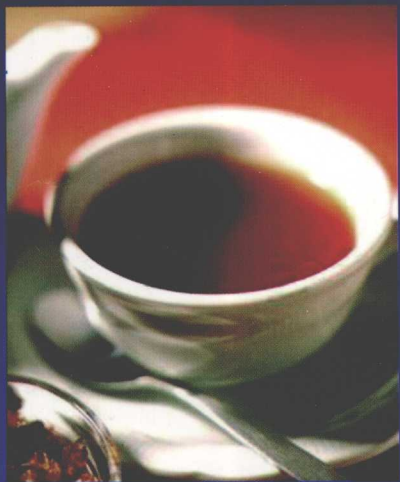




常用骨科中药有效成分分析

CHANGYONG GUKE ZHONGYAO YOUXIAOCHENG FEN FENXI

主编 谢 艳 殷明伟 曹海云



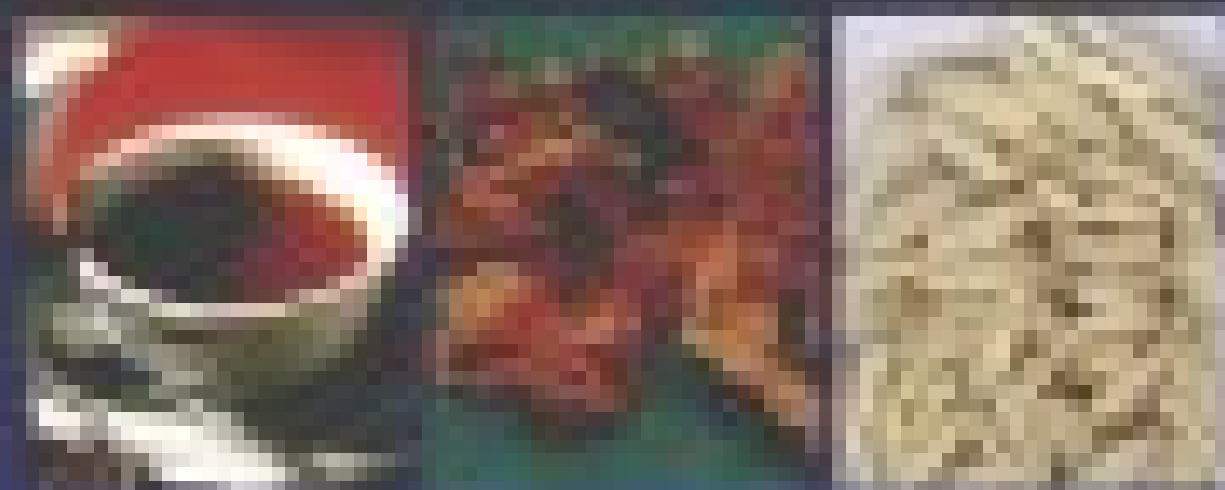
郑州大学出版社

第二版

常用骨科中药有效成分分析

王树强 主编 王树强 王树强 王树强 王树强 王树强

王树强 王树强 王树强 王树强 王树强



王树强 王树强 王树强 王树强 王树强



常用骨科中药有效成分分析

CHANGYONG GUKE ZHONGYAO YOUXIAOCHENG FEN FENXI

主编 谢 艳 殷明伟 曹海云



郑州大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

常用骨科中药有效成分分析/谢艳,殷明伟,曹海云主编,
—郑州:郑州大学出版社,2009.8
ISBN 978-7-5645-0137-2

I. 常… II. ①谢…②殷…③曹… III. 骨损伤-中药化学
成分-化学分析 IV. R284.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 146100 号

郑州大学出版社出版发行
郑州市大学路 40 号
出版人:王 锋
全国新华书店经销
河南龙华印务有限公司印制
开本:787 mm × 1 092 mm
印张:21.75
字数:542 千字
版次:2009 年 8 月第 1 版

邮政编码:450052
发行部电话:0371-66966070

1/16

印次:2009 年 8 月第 1 次印刷

书号:ISBN 978-7-5645-0137-2 定价:45.00 元

本书如有印装质量问题,由本社负责调换

前 言

中药是中华民族对天然药物及其人工替代品的独特使用形式,中药之所以能防治疾病,是有物质基础的,并非空穴来风,其具有防治作用的物质基础即是中药有效成分。近年来中医方药尤其是中药有效成分的研究逐渐成为热点。自20世纪20年代由麻黄中提取麻黄素进行动物实验开始,中药提取物研究成果累累,已有几十种中药单体或有效成分取得了明确的临床疗效。例如从青黛中分离得到对慢性粒细胞白血病有效的靛玉红,从青蒿中分离得到具有明显抗疟效果的青蒿素,从北五味子中分离得到有较强降血清丙氨酸氨基转移酶的五味子丙素,从雷公藤中分离得到有较强免疫抑制作用的雷公藤素甲,从人参中分离得到对原发性肺癌、肝癌有辅助治疗作用的人参皂苷Rg₃等。

中药有效成分的研究具有以下优势:①有利于作用机制的阐明。对中药有效成分展开研究有利于明确药物作用的物质基础,阐明药物的作用机制。②有利于制剂的创新,改变中药“粗、大、黑”的弊端。③有利于质量标准的科学制定,以有效成分取代标示性成分进行药品质量标准的制定更加合理化。④有利于现代中药复方的创制。建立在中药有效成分基础上的复方制剂,通过研究配伍找到合理的剂量配比,使得新复方既能说明起效的物质基础,又能说明复方组方的合理性。⑤有利于药理学、治疗学新视野的拓展。对中药有效成分的研究可以拓展药理学新视野,研制出新的治疗药物。

然而,对于骨科中药有效成分研究的书籍目前很少,在此,我们收集了50味骨科常用中药,按药材汉语拼音为序排列。全书主要介绍50味中药主要化学成分的结构、性质、含量测定及主要有效成分骨伤科方面的药理作用等内容。希望对广大从事骨伤科的医务工作者、科研人员、药物工作者及大专院校相关专业师生有所帮助。

由于编者水平有限,并受时间限制,本书不足之处尚祈读者
指正。

编者
2009 年夏于洛阳

目 录

1	巴戟天	1
2	白芍	7
3	白头翁	16
4	白芷	19
5	补骨脂	28
6	苍术	37
7	柴胡	42
8	陈皮	50
9	赤芍	58
10	川乌	66
11	川芎	73
12	大黄	76
13	丹参	88
14	当归	101
15	党参	107
16	地黄	117
17	杜仲	126
18	莪术	134
19	儿茶	141
20	防风	146
21	甘草	152
22	葛根	161
23	枸杞子	172
24	红花	176
25	姜黄	182
26	金银花	187

27	桔梗	194
28	连翘	198
29	麻黄	208
30	马钱子	221
31	牛膝	226
32	蒲公英	233
33	茜草	237
34	羌活	240
35	秦艽	246
36	青风藤	252
37	肉苁蓉	258
38	三七	264
39	桑寄生	272
40	蛇床子	275
41	升麻	285
42	石菖蒲	290
43	天花粉	294
44	乌药	297
45	细辛	302
46	徐长卿	307
47	延胡索	312
48	益母草	320
49	知母	326
50	紫草	334

1 巴戟天

本品为茜草科巴戟属植物巴戟天 *Morinda officinalis* How 的干燥根。主产于广东、广西等地,具有补肾阳,强筋骨,祛风湿之功效。用于风湿痹痛,筋骨痿软等症的治疗。

1.1 主要化学成分、结构与性质

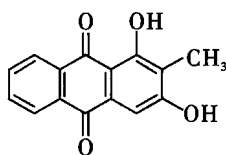
巴戟天的化学成分主要为糖类,尤其是还原糖及其苷,另含有黄酮、蒽醌及环烯醚萜成分。

1.1.1 水晶兰苷

水晶兰苷(Monotropein)的分子式 $C_{16}H_{22}O_{11}$, 相对分子质量 390.34。一水合物,无色针状或柱状结晶(水),mp. 170 ~ 173 °C (分解), $[\alpha]_D^{20} - 129.2^\circ$ (C=1.00, 水)。溶于水和乙醇,几乎不溶于乙酸乙酯。

1.1.2 甲基异茜草素

甲基异茜草素(Rubiadin)橙红色针晶,分子式 $C_{15}H_{10}O_4$, 相对分子质量 253.984。



甲基异茜草素

1.1.3 其他成分

尚含有四乙酰车叶草苷(Asperuloside tetraacetate), β -谷甾醇、棕榈酸、葡萄糖、甘露醇以及维生素C、树脂和无机元素等。

1.2 主要化学成分的含量测定

1.2.1 薄层色谱法

甲基异茜草素-1-甲醚的测定:

(1) 仪器 岛津 CS-9000 薄层扫描仪。

(2) 薄层色谱条件 薄层板:在 20 × 10 的硅胶 GF₂₅₄ 板,展开剂:苯-乙酸乙酯-甲酸(8:2:0.1)。

(3) 扫描条件 $\lambda_s = 280$ nm,扫描方式:单波长锯齿扫描,SX=3,狭缝 0.25 mm × 0.25 mm,扫描速度 20 mm/min。

(4) 标准曲线 取甲基异茜草素-1-甲醚标准品加乙醇 10 ml,制成每 1 ml 含 0.1375 mg 的溶液,作为对照品溶液。精密吸取标准品溶液 1, 2, 3, 4, 5 μ l 按上述条件进行测定。以点样量(μ g)为横坐标,斑点面积积分值为纵坐标作图,甲基异茜草素-1-甲醚

在 0.137 ~ 0.550 μg 范围内有良好线性关系。计算得回归方程:

$$Y = 25\,325.54\,C + 11\,177.65 (r = 0.999\,9)$$

(5) 样品测定 取商品药材及在产地采集的巴戟天药材(过四号筛)约 5.0 g, 精密称定, 以氯仿分两次回流提取(80 ml, 50 ml), 每次提取 1 h。滤过, 合并滤液, 挥去氯仿, 残渣以乙醇精密定容至 2 ml 容量瓶中, 作为样品溶液。吸取供试品溶液 10 μl , 标准品溶液 3 μl , 5 μl , 分别点于同一薄层板上, 按上述条件测定, 结果甲基异茜草素-1-甲醚的含量见表 1-1。

表 1-1 不同采集期及市售巴戟天样品中甲基异茜草素-1-甲醚的含量

样品	甲基异茜草素-1-甲醚含量(%)
一年半生巴戟天(广东德庆)	0.004 03
两年半生巴戟天(广东德庆)	0.005 36
三年半生巴戟天(广东德庆)	0.009 25
清平市售	0.040 14
嘉和堂购	0.061 44

1.2.2 分光光度法

1.2.2.1 多糖的测定

(1) 仪器 T 9100 紫外分光光度计。

(2) 标准曲线 取 D-无水葡萄糖(105 $^{\circ}\text{C}$ 烘干), 精确称取 20 mg, 加水溶解, 定容至 25 ml, 摇匀, 作为葡萄糖对照品储备液。精密吸取葡萄糖对照品储备液 0.10, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00 ml, 分别置于 10 ml 容量瓶中, 加水定容。吸取上述溶液各 1.00 ml, 加 5% 苯酚溶液 1.00 ml, 摇匀, 再迅速加入浓硫酸 5.00 ml, 放置 5 min, 置沸水浴加热 15 min, 迅速冷却至室温。另以 1.00 ml 蒸馏水同上平行操作, 作为空白对照, 于 490 nm 处测吸光度, 求得标准曲线回归方程为:

$$Y = 0.008\,4X - 0.056\,4 (r = 0.999\,6)$$

(3) 巴戟天多糖的提取与精制 取巴戟天干制品, 粉碎, 烘干后, 称取 5 g, 加入 10 倍的水, 沸水浴抽提 1 h, 滤过, 加 3 倍体积的乙醇, 静置过夜, 收集沉淀, 干燥得粗多糖。将粗多糖复溶于适量的蒸馏水中, 采用 Sevag 法除蛋白(重复 3 次), 加乙醇使其浓度为 80%, 静置过夜, 收集沉淀。无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤, 干燥。取沉淀溶于蒸馏水, 加乙醇至乙醇浓度达 70%, 静置过夜, 滤过, 用 70% 乙醇反复淋洗, 沉淀干燥, 得巴戟天多糖纯品。

(4) 换算因子的测定 精确称取干燥至恒重的精制巴戟天多糖 25 mg, 置于 100 ml 容量瓶中, 加水定容, 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热溶解, 放置至室温, 得巴戟天多糖储备液。吸取多糖储备液

4.00 ml, 置于 10 ml 容量瓶中, 加水定容。吸取上述溶液 1.00 ml, 按标准曲线项下操作, 测定吸收度, 同时做空白实验, 求得精制巴戟天多糖溶液中葡萄糖的含量, 按下式计算换算因子: 换算因子 $f = W / (C \times D)$, 式中, W 为多糖重量 (mg), C 为精制巴戟天多糖储备液的葡萄糖浓度 (mg/ml), D 为多糖的稀释因素。

(5) 供试品溶液的制备 精密称取样品粉末 3.0 g, 置圆底烧瓶中, 加 80% 乙醇 100 ml, 回流提取 1 h, 趁热过滤, 残渣用 80% 热乙醇洗涤 3 次, 每次 10 ml, 残渣连同滤纸置烧瓶中, 挥干乙醇, 加蒸馏水 100 ml, 沸水浸提 1 h, 趁热过滤, 残渣用热水洗涤 3 次, 每次 10 ml, 洗液并入滤液中, 放冷后, 移置 250 ml 的容量瓶中, 蒸馏水稀释至刻度, 摇匀。精密吸取上述溶液 1.0 ml 于 25 ml 容量瓶中, 蒸馏水定容, 摇匀, 即为供试品溶液。

(6) 样品中巴戟天多糖含量的测定 精密吸取供试品溶液 1.00 ml, 按标准曲线项下操作, 同时做空白实验, 测定吸收度。用回归方程计算供试品溶液中葡萄糖含量, 再按下式计算样品中多糖的含量。多糖含量 (%) = $(C \times D \times f) / W \times 100\%$ 。 C 为多糖供试液中以葡萄糖计的浓度 ($\mu\text{g/ml}$), D 为多糖的稀释因素, f 为换算因子, W 为多糖的重量。得多糖含量为 27.84%。

1.2.2.2 蒽醌的测定

(1) 仪器 721 分光光度计。

(2) 标准曲线 精确吸取 1,8-二羟基蒽醌乙醚的标准液 ($\rho = 0.1 \text{ mg/ml}$) 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, 3.00, 3.50 ml, 分别置于 25 ml 容量瓶中, 挥去乙醚, 残渣用 $\rho = 0.5\%$ 醋酸镁-甲醇溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 于 498 nm, 以 $\rho = 0.5\%$ 醋酸镁-甲醇溶液作参比测定吸光度。回归方程为:

$$Y = 0.0073 + 1.67X (r = 0.9999)$$

(3) 游离蒽醌的测定 精确称取巴戟天样品 1 g, 置于圆底烧瓶中, 加入 50 ml 氯仿于水浴上回流 2 h。分出氯仿提取液, 挥干氯仿, 剩余残渣中加入 $\rho = 0.5\%$ 醋酸镁-甲醇溶液溶解, 定量转移至 25 ml 容量瓶中, 定容, 摇匀, 按标准曲线项测定吸光度, 由回归方程求得样品中游离蒽醌的含量, 结果见表 1-2。

(4) 结合蒽醌的测定 精确称取巴戟天样品 1 g, 置圆底烧瓶中, 加入 0.245 g/ml 硫酸溶液 30 ml 回流水解 2 h, 冷却, 过滤, 滤液加入氯仿萃取, 滤渣再加入氯仿回流提取 1 h, 合并氯仿液。用少量蒸馏水将氯仿液洗至中性, 弃去水相, 挥干氯仿, 剩余残渣按游离蒽醌的测定项测定, 得总蒽醌的含量。由总蒽醌的含量减去游离蒽醌的含量即为结合蒽醌的含量, 结果见表 1-2。

表 1-2 巴戟天中蒽醌类成分含量(mg/g)

序号	样品采集点	品种	生长年限	游离蒽醌	总蒽醌	结合蒽醌
1	德庆高良镇政府旁	短茎薯种	3	0.049	0.303	0.254
2	德庆高良镇政府旁	长茎薯种	3	0.040	0.327	0.287
3	德庆高良镇政府旁	白梗薯种	3	0.030	0.267	0.237
4	德庆高良镇江南村	短茎薯种	2	0.036	0.389	0.353
5	德庆高良镇江南村	长茎薯种	2	0.014	0.361	0.347
6	德庆高良镇对面山	短茎薯种	4.5	0.021	0.280	0.259
7	德庆武垄镇	长茎薯种	3	0.014	0.223	0.209
8	德庆武垄镇	不详	3	0.025	0.208	0.183
9	郁南大方镇	广宁薯种	3	0.037	0.178	0.141
10	郁南大方镇	大用薯种	3	0.020	0.253	0.233
11	广州清平药材市场	不详	不详	0.013	0.236	0.223

1.3 主要有效成分的药理作用

1.3.1 甘露醇

对肢体骨折肿胀明显、脊柱骨折或手术创伤大者,用 20% 甘露醇 250 ml 快速静脉滴注,每隔 8~12 h 用药 1 次,或加 20% 甘露醇 250 ml 加速尿快速静滴完 1 h 后观察肢体脱水情况,用药疗程 3~10 d。给药要求 20~30 min 滴完,使药物在血液中迅速达到所需的浓度。使血浆渗透压增高、组织脱水,达到消肿的目的。用药 1 h 后,应注意观察肢体肿胀是否有消肿迹象,肤色如由青紫转向红紫色,尿量增多,说明达到消肿目的。第 2 天肿胀的肢体由硬肿转向松软,皮肤出现皱纹,末梢循环明显好转。说明肿胀的肌肉组织已明显脱水。

80 例骨折病人,在骨折早期及骨折术后早期使用甘露醇进行脱水治疗,观察用药后的疗效。结果术后无一例发生骨筋膜室综合征及严重伤口感染,早期未肿胀病例经预防治疗后无一例发生张力性水泡,未见有严重药物不良反应发生。说明甘露醇可作为四肢骨折的临床辅助用药。

1.3.2 葡萄糖

用 M-CSF、RANKL 诱导大鼠骨髓单个核细胞分化为破骨细胞(OC),同时给予不同浓度的葡萄糖(0.5, 5, 15, 25 mmol/L)干预,通过观察抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)染色阳性 OC 数、TRAP 活性测定、OC 膜表面 RANK mRNA 表达量来分析葡萄糖对破骨细胞分化的影响。结果显示:① 高浓度葡萄糖组(25 mmol/L)培养 7 d 时 TRAP 染色阳性 OC 数及 TRAP 活性测定均高于对照组(0 mmol/L)、葡萄糖 5.5 mmol/L 组($P < 0.01$);与对照组比较高浓度葡萄糖组培养 3 d 时 TRAP 染色阳性 OC 数明显增多($P < 0.01$)。② 葡萄糖呈浓度依赖性上调 OC 膜表面 RANK mRNA 的表达,其中高浓度葡萄糖组培养的各时间点与其他 3 组比较差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$)。说明:① 高浓度葡萄糖可促进破骨细胞的分

化,其促进作用始于诱导分化的早期。②骨髓微环境中高浓度葡萄糖可引起 OC 分化增多,可能是糖尿病骨质疏松的发病机制之一。

1.3.3 多糖

3 周龄乳兔,引颈处死,无菌条件下从肱骨头、股骨远端和胫骨近端关节面切取软骨,体外培养。在培养过程中加入巴戟天多糖。实验结果证实巴戟天多糖能够促进软骨细胞增殖,以 $1.25 \mu\text{g/ml}$ 的浓度为最优,巴戟天多糖促进软骨细胞的增殖作用可能与其使细胞增殖核抗原(PCNA)的表达增加有关。

1.3.4 寡糖

以 ^3H -TdR 掺入法进行淋巴细胞增殖实验,以溶血空斑实验检测抗体生成反应。结果巴戟天寡糖 $25, 50 \text{ mg/kg}$ 可使小鼠脾细胞增殖反应明显增强,使小鼠脾细胞抗体形成细胞数目明显增加;体外应用,在 $25 \sim 200 \mu\text{g/ml}$ 对脾细胞增殖反应和 PP 结细胞增殖反应无明显促进作用。说明巴戟天寡糖对小鼠免疫功能具有增强作用。

1.3.5 维生素 C

(1)用尾吊法模拟失重的 SD 种雄性大鼠补充大剂量维生素 C(250 mg/kg 体重),22 d 后测定股骨及股软骨理化指标及生物力学参数。结果表明,补充维生素 C 组大鼠股软骨的羟脯氨酸、灰分的含量和密度以及股骨的弹性载荷、最大应力和硬度均明显高于悬吊对照组。结果提示,大剂量补充维生素 C 对尾吊大鼠股软骨的理化特性和股骨的生物力学性能有明显的改善作用。

(2)分离、培养大鼠肋生长板软骨细胞(RGC),以组织化学和免疫组织化学的方法鉴定第 2 代 RGC 的表型;分别用 ^3H -TdR 和 ^3H -Proline 掺入法检测 $25, 50$ 和 100 mg/L 维生素 C 对第 2 代 RGC 增殖和胶原合成的影响。结果 3 种浓度的维生素 C 均能促进 RGC 胶原合成($P < 0.05$), 25 mg/L 和 50 mg/L 维生素 C 的促胶原合成作用明显强于 100 mg/L ($P < 0.05$); 25 mg/L 和 50 mg/L 的维生素 C 促进 RGC 增殖($P < 0.05$), 100 mg/L 的维生素 C 抑制 RGC 的增殖($P < 0.05$)。因此一定浓度的维生素 C 具有促进 RGC 增殖和胶原合成的作用, $25 \sim 50 \text{ mg/L}$ 是较为合适的添加浓度。

参考文献

- [1] 丁平,詹若挺,徐鸿华. 巴戟天质量标准的初步研究. 时珍国医国药,2001,12(12):1057-1058.
- [2] 郭素华,王和鸣,黄涛,等. 南靖巴戟天多糖的含量测定. 福建中医学院学报,2006,16(1):32-33.
- [3] 陈红宏,黄丽玫. 德庆等地巴戟天中蒽醌及多糖的含量测定. 广东药学院学报,2002,18(2):103-105.
- [4] 谢黎芳,黄江英. 20% 甘露醇在骨科患者中的应用和护理[J]. 中华临床新医学,2002,2(5):466.
- [5] 卢山,邓险峰,肖汉. 甘露醇在四肢骨折中的应用(附 80 例报告)[J]. 生物骨科材料与临床研究,2004,1(5):24-25.
- [6] 孙彦,李兴,朱亦堃. 不同浓度葡萄糖对大鼠骨髓破骨细胞分化的影响[J]. 中

国骨质疏松杂志,2007,13(4):239-241.

\[7\]黄涛,李楠,王和鸣.巴戟天多糖对体外培养兔软骨细胞增殖的影响\[J\].北京体育大学学报,2007,30(9):1216-1218.

\[8\]徐超斗,张永祥,杨明,等.巴戟天寡糖的促免疫活性作用\[J\].解放军药学学报,2003,19(6):466-468.

\[9\]白树民,刘成林,沈士良,等.大剂量维生素C对尾吊大鼠股骨理化性能的影响\[J\].航天医学与医学工程,1995,8(1):42-45.

\[10\]季煜华,曾耀英.维生素C对大鼠肋骨生长板软骨细胞增殖和胶原合成的影响\[J\].基础医学与临床,2004,24(10):629-632.

2 白芍

本品为毛茛科植物芍药 *Paeonia Lactiflora* Pall. 的干燥根。栽培于浙江、安徽、四川等地。白芍具有平肝止痛,养血调经,敛阴止汗的功能。用于四肢挛痛。

2.1 主要化学成分、结构与性质

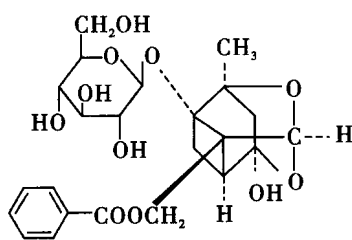
白芍中主要含芍药苷 3.3% ~ 5.7%, 尚含芍药花苷, 牡丹酚等。

2.1.1 芍药苷

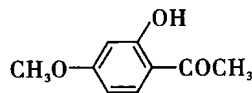
芍药苷(Paeoniflorin)的分子式 $C_{23}H_{28}O_{11}$, 相对分子质量 480.45。吸湿性无定形粉末, $[\alpha]_D^{16} - 12.8^\circ$ (C=4.6, 甲醇), 四醋酸酯为无色针状结晶, mp. 196 °C。

2.1.2 牡丹酚

牡丹酚(Paeonol)的异名为丹皮酚、芍药醇、Paeonal、Peonol。分子式 $C_9H_{10}O_3$, 相对分子质量 166.7。无色针状结晶(乙醇), mp. 50 °C, 稍溶于水, 能随水蒸气挥发, 溶于乙醇、乙醚、丙酮、氯仿、苯和二硫化碳。



芍药苷



牡丹酚

2.1.3 其他

含少量氧化芍药苷(Oxypaeoniflorin)、芍药内酯苷(Albiflorin)、苯甲酰芍药苷(Benzoylpaeoniflorin)、芍药新苷(Lactiflorin), 对小鼠神经肌肉有阻断作用的新单萜芍药吉酮(Paeoniflorigenone), 有抗病毒作用的 1,2,3,4,6-黄栌酰单宁(1,2,3,4,6-Pentagalloylglucose), 栲单宁(Gallotannin)以及 d-儿茶素(d-Catechin)、没食子酸、没食子酸乙酯、鞣质、β-谷甾醇、糖、淀粉、黏液质, 还含挥发油, 油中主要成分为苯甲酸和芍药酮(Paeonol)。

2.2 主要化学成分的含量测定

2.2.1 高效液相色谱法

2.2.1.1 芍药苷的测定

(1) 测定方法一

1) 仪器 LC-6A 高效液相色谱仪, SPP-6AV 紫外可见检测器。

2) 色谱条件 色谱柱: Tskgel ODS-120A 柱(4 mm × 15 cm, 5 μm, Tosoh), 流动相:

1/15 mol/L 磷酸缓冲液(PH7.44) - 甲醇(8:2), 流速:1.0 ml/min, 柱温:50 ℃, 检测波长:230 nm。

3) 标准曲线 精密称取芍药苷对照品 10 mg, 加 50% 乙醇溶解, 配成 25, 50, 100, 150, 175 $\mu\text{g/ml}$ 的溶液, 作为对照品溶液。分别精密吸取 10 μl , 注入液相色谱仪, 测定, 以峰面积(Y)对进样浓度(X)绘制标准曲线, 计算, 回归方程为:

$$Y = 130.8X + 4\ 889 (r = 0.999\ 3)$$

4) 样品测定 精密称取芍药苷对照品 4 mg, 置 10 ml 容量瓶中, 加 50% 乙醇溶解后定容至刻度, 精密量取该溶液 2 ml, 置 5 ml 容量瓶中, 加 50% 乙醇至刻度, 作为对照品溶液。

精密称取一年生、二年生、三年生以上的 3 种白芍粉末各 0.3 g, 置 100 ml 容量瓶中, 加 50% 乙醇 20 ml, 在 85 ℃ 水浴加热回流 1 h, 冷却, 加 50% 乙醇至刻度, 取该溶液 15 ml, 离心, 上清液作为供试品溶液。精密量取对照品溶液、供试品溶液各 10 μl , 注入液相色谱仪, 测定, 计算, 样品中芍药苷含量见表 2-1。

表 2-1 不同生长年限芍药苷含量测定结果(%)

	一年生	二年生	三年生
含量	1.06	2.23	3.59
RSD	1.73	2.08	1.95

(2) 测定方法二

1) 仪器 Waters 600 高效液相色谱仪, Waters 2487 双通道检测器。

2) 色谱条件 色谱柱: 十八烷基键合硅胶柱(4 mm $\times$ 15 cm, 5 μm , Tosoh), 流动相: 甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钾-异丙醇-醋酸(67:173:4:4), 流速:0.8 ml/min, 柱温:室温, 检测波长:230 nm, 灵敏度:0.02AUFS。

3) 标准曲线 精密称取芍药苷对照品 7 mg, 置 10 ml 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 作为对照品溶液、精密吸取:2, 4, 6, 8, 10 μl , 注入液相色谱仪, 测定, 以峰面积(Y)对进样量(X)绘制标准曲线, 计算, 在 1.4 ~ 7.0 μg 之间呈线性关系, 回归方程为:

$$Y = 249\ 590X + 8\ 097 (r = 0.999\ 8)$$

4) 样品测定 精密称取白芍及炒白芍浓缩颗粒 0.5 g, 精密加入 25 ml 甲醇, 浸泡放置 12 h, 滤过, 取续滤液 5 ml, 置 25 ml 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 作为供试品溶液。精密吸取供试品溶液 10 μl , 注入液相色谱仪, 测定, 计算, 结果 6 批白芍浓缩颗粒和炒白芍浓缩颗粒中芍药苷平均含量分别为 12.5% 和 11.1%, RSD 分别为 1.64% 和 1.27%。

2.2.1.2 白芍总苷的测定

(1) 色谱条件 色谱柱: Supelco Discovery C₁₈ 柱(4.6 mm $\times$ 15 cm, 5 μm), 流动相: 甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钾-异丙醇-冰醋酸(67:173:4:4), 流速:1 ml/min, 柱温:35 ℃,

检测波长:230 nm。

(2)标准曲线 精密称取5.2 mg 苯甲酸对照品,置25 ml 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,精密吸取该溶液1 ml,置25 ml 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为苯甲酸对照品溶液(每1 ml 含8.32 μg 苯甲酸)。

(3)样品测定 精密称取白芍总苷粗品约30 mg,置25 ml 容量瓶中,加5% NaOH 溶液至刻度,溶解,摇匀。精密吸取该溶液0.5 ml,置5 ml 具塞试管中,沸水浴水解2 h 后,冷却至室温,转移至10 ml 容量瓶中,用流动相与甲醇反复荡洗试管壁,定容至刻度,摇匀,作为供试品溶液(应呈弱酸性)。精密吸取该溶液5 μl ,注入色谱仪。由峰面积计算出苯甲酸的含量。按如下公式计算白芍总苷含量:

$$\text{白芍总苷含量}(\%) = \text{苯甲酸含量}(\%) \times 480.27/122.12$$

取3 批白芍总苷样品,测定,样品中白芍总苷的含量分别为64.7%、65.9%、66.3%。

2.2.1.3 芍药苷和芍药内酯苷的测定

(1)仪器 岛津 LC-10AD 高效液相色谱仪,SPD-10A 检测器。

(2)色谱条件 色谱柱:Hypersil-C₁₈ 柱(4.6 mm×20 cm,5 μm),流动相:甲醇-乙腈-水(10:10:80),流速:0.8 ml/min,检测波长:230 nm,柱温:室温。

(3)标准曲线 精密称取芍药苷对照品12 mg、芍药内酯苷对照品6 mg,分别置25 ml 容量瓶中,加甲醇至刻度,作为对照品溶液。精密称取咖啡因对照品50 mg,置100 ml 容量瓶中,加甲醇至刻度,作为内标溶液。精密吸取芍药苷对照品溶液0.2,0.4,0.8,1.2,1.6,2.0,3.0 ml,芍药内酯苷对照品溶液0.1,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.5 ml 置5 ml 容量瓶中,加入内标溶液0.50 ml,加甲醇至刻度,精密吸取10 μl ,注入液相色谱仪,测定,以峰面积(Y)对进样浓度(X)绘制标准曲线,计算,回归方程分别为:

$$\text{芍药苷 } Y=0.017X+0.0139(r=0.9996)$$

线性范围18.24~273.6 $\mu\text{g/ml}$ 。

$$\text{芍药内酯苷 } Y=0.015X+0.0092(r=0.9997)$$

线性范围4.96~74.4 $\mu\text{g/ml}$ 。

(4)样品测定 精密称取白芍样品粉末1 g,加8 倍量75%乙醇提取3 次,合并提取液,回收乙醇,残渣置25 ml 容量瓶中,加甲醇至刻度,精密量取0.5 ml 置5 ml 容量瓶中,加入内标溶液0.50 ml,加甲醇至刻度,作为供试品溶液。精密吸取对照品与供试品溶液,注入液相色谱仪,测定,结果见表2-2。