

[饮片炮制]

不同产地大黄药材中没食子酸和儿茶素的比较

芦雅丽¹, 赵建邦^{2*}, 宋平顺²

(1. 兰州大学药学院, 甘肃 兰州 730000 2. 甘肃省食品药品检验所, 甘肃 兰州 730000)

摘要:目的 建立不同产地(甘肃、四川、青海、安徽和重庆)大黄药材中没食子酸、儿茶素的测定方法。方法 采用超声提取法;用反相高效液相色谱法,色谱柱为 Diamonsil C₁₈(4.6 mm×250 mm 5 μm),流动相为甲醇-水(含 0.1% 磷酸)梯度洗脱,体积流量 1 mL/min,检测波长 280 nm,柱温为室温,按外标法定量。结果 没食子酸在 0.106~2.125 μg 范围内线性关系良好,加样回收率平均为 99.3%,RSD 为 0.71%;儿茶素在 0.465~9.296 μg 范围内线性关系良好,加样回收率平均为 98.9%,RSD 为 2.06%。结论 对不同产地的大黄药材中的儿茶素和没食子酸进行了比较,所建立方法简便快速,结果准确、稳定,可以作为大黄药材的质量评价方法。

关键词:大黄;没食子酸;儿茶素;HPLC

中图分类号:R284.1

文献标志码:A

文章编号:1001-1528(2011)05-0832-03

Content comparison of gallic acid and catechin in *Rheum palmatum* from different habitats

LU Ya-li¹, ZHAO Jian-bang^{1,2}, SONG Ping-shun²

(1. Pharmacy College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Gansu Provincial Institute for Food and Drug Control, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish a method for determining the contents of gallic acid and catechin in *Rheum palmatum*, and compare the contents from different habitats including Gansu, Sichuan, Qinghai, Anhui provinces, and Chongqing city. **METHODS** The samples were extracted with ultrasound method and analyzed on Waters C₁₈ column under gradient elution. The mobile phase was methanol-0.1% ortho-phosphoric acid and the flow rate was 1.0 mL/min. The wavelength of UV detector was set at 280 nm, the column temperature was room temperature, and the quantification was performed with external standard method. **RESULTS** The linear range of gallic acid was 0.106~2.125 μg, the average recovery was 99.3%, and the RSD was 0.71%. The linear range of catechin was 0.465~9.296 μg, the average recovery was 98.9%, and the RSD was 2.06%. **CONCLUSION** The method is quick, simple and accurate, and it can be used for the quality control of *Rheum palmatum*.

KEY WORDS: *Rheum palmatum*; gallic acid; catechin; HPLC

2010 年版《中国药典》记载的大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. 或药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根及根茎^[1]。大黄性味苦寒,功能泻热通便、凉血解毒、逐瘀通经,是临床最常用的中药之一,它的药理作用主要有:泻下、利肝保胆、抗病原微生物和抗炎作用^[2-4]。现代药理实验表明,番泻苷^[5]及蒽醌苷^[6]类为大黄泻下作用的主要有效成分,没食子酸等鞣质^[7-11]为大黄收敛止血作用的主

要有效成分。《中国药典》2010 年版中对大黄的质量控制是通过测定大黄中五种蒽醌类化合物,以它们的质量分数之和大于 1.5% 为合格,而与收敛止血药效成分无明确对应。本文通过建立 HPLC 测定大黄中没食子酸和儿茶素的方法,对不同产地的大黄药材进行比较,为大黄的质量控制提供了准确有效的方法,该方法简单、易行、快速。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪(717plus Autosampler,

收稿日期:2010-12-23

基金项目:甘肃省科技厅项目(GS035-A43-048-03);[国家科技重大专项课题]中药标准物质研制和开发技术平台(2009ZX09308-001)

作者简介:芦雅丽(1985—)女,硕士生,研究方向:中药质量标准与化学分析。Tel:15002554886, E-mail:luyali1985@tom.com

515 HPLC Pump 2487 紫外检测器; waters 公司), 超声波清洗器(HS10260D 型, 昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药 甲醇为色谱纯(山东禹王试剂公司), 纯净水(娃哈哈公司)。没食子酸对照品(0831-9501)和儿茶素对照品(877-200001)购自中国药品生物制品检定所, 大黄药材均由甘肃省药品检验所中药一室宋平顺鉴定为掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的根及根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 waters C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸, 体积流量 1 mL/min 梯度洗脱: 0 ~ 10 min, 甲醇比例 8%; 10 ~ 30 min, 甲醇比例 30%; 30 ~ 35 min, 甲醇比例 40%; 35 ~ 40 min, 甲醇比例 8%; 40 ~ 50 min, 甲醇比例 8%; 检测波长 280 nm; 进样 5 μ L。该色谱条件下没食子酸和儿茶素与其他组分都有很好的分离, 见图 1。

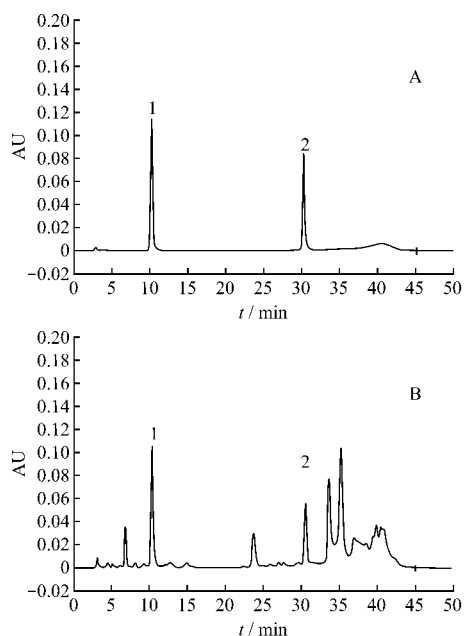


图 1 大黄对照品与供试品的 HPLC 图

Pic. 1 HPLC chromatogram of standards and samples

A. 混合对照 B. 供试品 1. 没食子酸 2. 儿茶素
A. standards B. samples 1. gallic acid 2. catechin

2.2 对照品溶液及标准曲线制备 精密称取没食子酸与儿茶素对照品适量, 用 50% 甲醇溶解, 定容, 制成没食子酸 0.053 1 mg/mL 与儿茶素 0.232 mg/mL 的混合对照溶液。依次吸取 2、5、10、20、30、40 μ L 注入高效液相色谱仪, 按 2.1 项下色谱条件测定峰面积。用峰面积的对数 Y 对进样体积的对数 X 进行线性回归, 得没食子酸与儿茶素的回归方程分

别为 $Y = 0.5710X + 5.6351$ ($r = 0.9994$), $Y = 0.5801X + 5.4933$ ($r = 0.9992$)。没食子酸在 0.106 ~ 2.125 μ g、儿茶素在 0.465 ~ 9.296 μ g 范围内线性关系良好。

2.3 供试品溶液制备 精密称取大黄药材细粉 0.5 g, 置锥形瓶中, 精密加入 25 mL 20% 甲醇溶液, 超声 40 min, 过滤, 取续滤液, 用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 即得。

2.4 精密度实验 精密吸取质量浓度为 0.106 mg/mL 和 0.115 mg/mL 的没食子酸与儿茶素的混合对照品溶液 5 μ L, 按 2.1 项下色谱条件重复进样 6 次, 即得, 没食子酸的 RSD 为 1.22%, 儿茶素的 RSD 为 0.74%。

2.5 稳定性实验 取同一份供试品溶液, 在 0、4、8、12、16、20、24 h 按 2.1 项下色谱条件进样, 按峰面积计算, 没食子酸的 RSD 为 3.01%, 儿茶素为 2.52%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6 重复性实验 取同一批样品按 2.3 项供试品溶液制备方法平行制备 5 份, 按 2.1 项色谱条件测定, 得没食子酸 RSD 为 2.63%, 儿茶素 RSD 为 2.21%。

2.7 加样回收率 精密称取同一批样品 5 份, 每份约 0.25 g, 精密加入没食子酸对照品 1.958 mg, 儿茶素对照品 5.810 mg, 按 2.3 项下制备供试品溶液, 再按 2.1 项下条件测定, 计算结果见表 1。

表 1 加样回收率 ($n=5$)

Tab. 1 Recoveries ($n=5$)

对照品	原有量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
没食子酸	2.212	1.958	4.128	98.1	99.32	0.71
	2.212	1.958	4.158	99.5		
	2.222	1.958	4.177	99.9		
	2.217	1.958	4.162	99.4		
	2.219	1.958	4.171	99.7		
儿茶素	5.809	5.810	11.713	101.6	98.92	2.06
	5.974	5.810	11.682	98.2		
	6.005	5.810	11.751	98.8		
	6.008	5.810	11.587	96.5		
	6.001	5.810	11.799	99.8		

2.8 样品测定 取各供试品溶液, 按 2.3 项下方法和 2.1 项下色谱条件对不同产地的大黄药材进行测定, 测定结果见表 2。

3 讨论

3.1 方法学考察过程中发现, 对超声和加热回流的提取方法进行了比较试验, 结果表明两种方法提取率相差不多, 又因为超声方法简单快速, 所以选用超

表 2 大黄中没食子酸和儿茶素的测定 ($n=22$)

Tab. 2 Content of gallic acid and catechin in

Rheum ($n=22$)

产地	没食子酸 / %	儿茶素 / %
礼县陶平北山	1.99	6.66
礼县上坪乡	0.34	3.79
礼县陶平南山	0.54	2.28
礼县沙金	1.23	2.49
礼县陶平	1.82	6.60
礼县白关	0.83	0.51
礼县桥头乡	0.20	3.20
礼县教场堤	1.41	4.02
岷县水根	0.58	1.46
华亭	1.62	1.50
岷县和驮乡	1.58	7.92
兰州黄河市场	0.31	0.70
青海民和	1.18	1.48
四川平武	0.60	1.46
四川野生	0.40	6.33
四川壤塘	0.28	6.39
和政	0.58	7.24
河北	0.74	1.04
四川	1.72	4.66
安徽	0.76	1.41
重庆	1.14	1.89
甘南迭部县	0.13	6.22

声提取方法。根据文献报道没食子酸与儿茶素的溶解性选用纯水、20% 甲醇、50% 甲醇、70% 甲醇、甲醇进行了比较试验,结果表明提取溶媒为 20% 甲醇时没食子酸与儿茶素的质量分数都很高。并对超声提取时间 30、40、50 min 进行了比较试验,结果表明以 40 min 超声提取率最高。确定选用 20% 甲醇超声提取 40 min 为最佳。

3.2 大黄中鞣质质量分数很高,约为 10% ~ 30%^[13]。本实验用 HPLC 测定了大黄药材中没食子酸与儿茶素,结果表明,在此实验条件下,不同产地大黄中,没食子酸量较小,0.20% ~ 1.99%,而儿茶素的量较大,为 0.51% ~ 7.29%。

3.3 采用 DAD 检测器考察了不同波长下没食子酸与儿茶素的峰形及峰面积,发现检测波长为 280 nm 时,没食子酸与儿茶素的紫外吸收较强,因此,选择 280 nm 作为测定波长。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010 年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:22.
- [2] 聂克. 大黄药理作用研究及思考[J]. 山东中医药大学学报. 2009, 33(3):239-240.
- [3] 张向红,程黎晖. 大黄的药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国药业,2009, 18(21):76-78.
- [4] 李锋,王胜春,王新,等. 大黄泻下效应的药理学新解释[J]. 中国中药杂志,2008, 33(4):481-484.
- [5] 孙佩,李敏,杨小多,等. HPLC 法测定大黄药材和饮片 中番泻苷 A 和番泻苷 B 的含量[J]. 成都中医药大学学报. 2008, 31(3):51-53.
- [6] 张村,李丽,肖永庆,等. HPLC 法同时测定大黄不同来源药材中 2 个蒽醌苷类成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(1):53-55.
- [7] 石碧,狄莹,何有节,等. 鞣质的药理活性[J]. 中草药, 1998, 29(7):487-490.
- [8] 雷鹏,李新中,朱诗塔,等. 不同炮制方法对大黄中没食子酸含量的影响[J]. 中药新药与临床药理,2008, 19(6):477-479.
- [9] 张丹,曹纬国. 高效液相色谱法测定大花红景天中没食子酸、红景天苷及儿茶素的含量[J]. 时珍国医国药,2009, 20(9):2237.
- [10] 王云,李丽,张村,等. 大黄 5 种饮片中没食子酸和儿茶素的含量比较研究[J]. 中国中药杂志,2010, 35(17):2267-2269.
- [11] 谭志国,雷鹏,李新中,等. 高效液相色谱法测定大黄不同炮制品中没食子酸的含量[J]. 中南药学,2007, 10(5):479-480.
- [12] 徐翔,郇柏平,徐慧芬,等. 大黄的研究进展[J]. 上海中医药杂志. 2003, 37(4):56-57.
- [13] 张学兰. 大黄炮制研究简述[J]. 山东中医药学报,2002, 26(5):399.

不同加工方法对厚朴主要化学成分的影响研究

胡慧玲, 卫莹芳*, 马雪玮, 潘拉, 闫婕, 卢君蓉

(成都中医药大学药学院 中药材标准化教育部重点实验室 四川 成都 611137)

收稿日期:2010-12-21

基金项目:科技部国家科技支撑计划项目子课题(2009BAI84B03)

作者简介:胡慧玲(1978—),女,讲师,博士生,研究方向:中药炮制制剂及中药质量。E-mail: hhlmedicine@126.com

* 通信作者:卫莹芳(1945—),女,教授,研究方向:中药品种、质量及资源研究。E-mail: wyfang6@163.com