

黔产景天三七干·鲜品中没食子酸含量比较研究

何晶晶, 杜江* (贵阳中医学院, 贵州贵阳 550002)

摘要 [目的]建立黔产景天三七药材中没食子酸含量的测定方法,并对不同采收期、不同部位的干、鲜品药材中没食子酸含量进行比较研究。[方法]采用高效液相色谱法。色谱柱为 Phenomex Gemini C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇:0.05%磷酸水(5:95);流速为 1 mL/min;检测波长为 273 nm;柱温为 25 ℃。[结果]没食子酸在 0.018~0.570 μg ($r=0.9999$) 线性关系良好;平均加样回收率为 100.44%, RSD 值为 1.63% ($n=6$)。[结论]该方法简单、快速准确,可用于景天三七药材不同采收期、不同部位及干、鲜品的景天三七药材质量控制。

关键词 景天三七;高效液相色谱法;没食子酸;含量

中图分类号 S567.23*6 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)14-169-03

Comparative Study on the Content of Gallic Acid in the Fresh and Dried Herb of Guizhou *Sedum aizoon* L.

HE Jing-jing, DU Jiang* (Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550002)

Abstract [Objective] The determination method of the content of gallic acid in Guizhou *Sedum aizoon* L. was established and the method for the comparative analysis of its content in the fresh and dried raw material from different harvest time and different parts was conducted. [Method] HPLC method was adopted and the separation was carried with the column of Phenomex Gemini C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase of methanol-0.05% phosphoric(5:95) at the flow rate of 1.0 mL/min, the detection wavelength of 273 nm and column temperature of 25 ℃. [Results] The linear relation ($r=0.9999$) of gallic acid was good in the range of 0.018-0.570 μg. The average recovery rate was 100.44%, the value of RSD was 1.63% ($n=6$). [Conclusion] The method is rapid, simple and accurate, and can be used for the quality control of the fresh and dried medicinal material of Guizhou *Sedum aizoon* L. from different parts and harvest seasons.

Abstract *Sedum aizoon* L.; HPLC; Gallic acid; Content

景天三七又名费菜、养心草、土三七、吐血草、血山草、六月淋、见血散、活血丹、蝎子草等,为景天科植物费菜(*Sedum aizoon* L.)的根及全草,味甘、微酸、性平,归心、肝经^[1]。该药具有良好的止血活血、解毒消肿、养血安神效果,可用于防治心脏病、降血压,治疗神经衰弱、失眠、烦躁不安等临床常见病^[2-3]。没食子酸是景天三七药材中具有代表性的活性成分^[4-5],目前尚未见到对黔产景天三七药材不同采收期、不同部位及干、鲜品中该成分的含量研究。该试验采用高效液相色谱法对黔产景天三七药材不同采收期、不同部位的干、鲜品中没食子酸含量进行测定,以期为该药材的质量提供一种精密的控制方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药材。所用药材采集于贵阳市白云区种植基地及贵阳市小河区,经贵阳中医学院赵俊华老师鉴定为景天科植物费菜(*Sedum aizoon* L.)的全草。

1.1.2 仪器。Agilent1100 高效液相色谱仪(VWD 检测器),安捷伦科技有限公司;UV-1800 紫外可见分光光度计,日本岛津公司;AR1140 电子分析天平,奥豪斯国际有限公司;KQ5200E 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司。

1.1.3 试材。甲醇(天津科密欧化学试剂有限公司,色谱纯);水(杭州娃哈哈集团有限公司);磷酸(国药集团化学试剂有限公司,分析纯);乙醇(上海振兴化工一厂,分析纯);乙

醇(上海振兴化工一厂,分析纯);没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110831-200302)。

1.2 方法

1.2.1 对照品溶液的制备。精密称取于五氧化二磷干燥器中干燥 12 h 以上的没食子酸对照品 2.28 mg,置于 10 mL 容量瓶,以甲醇溶解并定容至刻度,配制成浓度为 0.228 mg/mL 的标准溶液,放入冰箱贮存,备用。

1.2.2 供试品溶液的制备。称取景天三七药材干品粉末(过 40 目筛)约 0.5 g(鲜品碎末约 1.0 g)于锥形瓶中,精密称定,加 10 mL 蒸馏水,称定重量,水浴回流 1 h,放冷,再称定重量,用蒸馏水补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液测定,即得。

1.2.3 色谱分析条件。色谱柱为 Phenomex Gemini C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇:0.05%磷酸水(5:95),临用前以 0.45 μm 微孔滤膜滤过并经超声脱气处理;流速为 1 mL/min;检测波长 273 nm;柱温 25 ℃;进样体积 10 μL。

1.2.4 方法学考察。

1.2.4.1 系统适应性试验。分别吸取对照品溶液及供试品溶液各 10 μL,在“1.2.3”色谱条件下,注入液相色谱仪进行测定,记录色谱图,考察系统适应性。

1.2.4.2 线性关系考察。取一定量对照品溶液分别制成 0.114 0、0.056 9、0.028 5、0.014 2、0.007 1、0.003 6 mg/mL 6 个不同浓度的对照品溶液,分别进样 5 μL,测定峰面积,以没食子酸含量为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线。

1.2.4.3 精密度试验。取按“1.2.1”方法制备的对照品溶液重复进样 6 次,每次进样 10 μL,计算峰面积的 RSD 值。

1.2.4.4 稳定性试验。取同一供试样品溶液,按“1.2.3”色谱分析条件分别于 0、4、8、14、20、24 h 进样,进样量 10 μL,测

基金项目 国家自然科学基金项目(81450657)。

作者简介 何晶晶(1987-),女,土家族,贵州凤冈人,助教,硕士,从事中药学研究。*通讯作者,教授,硕士生导师,从事中药、民族医药的基础研究与开发工作。

收稿日期 2016-03-20

定峰面积并计算 *RSD* 值。

1.2.4.5 重复性试验。取同一批的样品(水分为 8.24%, 没食子酸含量为 1.93 mg/g, 过 40 目筛)按“1.2.2”方法制备供试品溶液 6 份, 按“1.2.3”色谱分析条件, 进样量为 10 μ L, 测定峰面积, 计算平均含量和 *RSD* 值。

1.2.4.6 加样回收率试验。取景天三七药材粉末(水分为 8.24%, 没食子酸含量为 1.96 mg/g, 过 40 目筛)共 9 份, 每份 0.25 g, 精密称定, 随机分为 3 组, 每组各 3 份, 各组分别精密加入没食子酸对照品 0.36、0.45、0.54 mg, 按“1.2.2”方法制备供试品溶液, 再按“1.2.3”色谱条件测定, 进样量为 10 μ L, 测定峰面积, 计算平均回收率和 *RSD* 值。

1.2.5 样品的含量测定。取不同批次景天三七药材, 按“1.2.2”方法制备供试品溶液各 3 份, 按“1.2.3”色谱分析条件进行含量测定, 通过标准曲线计算各药材中没食子酸的含量。

2 结果与分析

2.1 方法学考察

2.1.1 系统适用性试验。从图 1 可以看出, 在“1.2.3”色谱分析条件下, 没食子酸对照品及样品谱图中没食子酸的保留时间为 11 min 左右, 样品中没食子酸峰与其他组分峰分离度 >1.5 , 理论塔板数按没食子酸计算不低于 3 000。

2.1.2 线性关系的考察。按“1.2.4.2”方法操作, 以没食子

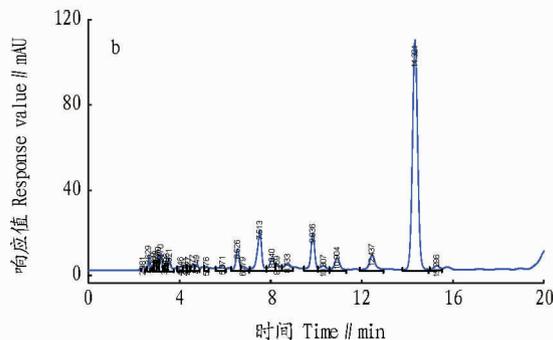
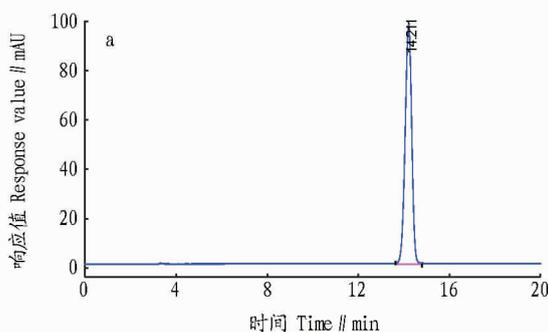


图 1 没食子酸对照品(a)和样品(b)HPLC图

Fig 1 Result of HPLC in gallic acid(a: CK and b: sample)

酸含量为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线, 得到回归方程为 $Y = 3\,464.731\,22X + 7.4538\,739$ ($r = 0.999\,9$), 表明没食子酸在 0.018 ~ 0.570 μ g 线性关系良好。

2.1.3 精密度试验。按“1.2.4.3”方法操作, 计算得峰面积的 *RSD* 值为 0.81%, 表明此试验条件下精密度良好。

2.1.4 稳定性试验。按“1.2.4.4”方法操作, 计算得出峰面积积分值的 *RSD* 值为 0.62%, 表明没食子酸在 24 h 内比较

稳定。

2.1.5 重复性试验。按“1.2.4.5”方法操作, 分别计算各供试品中没食子酸含量, 得 *RSD* 为 1.65%, 表明该方法重复性良好。

2.1.6 加样回收试验。由表 1 可见, 平均回收率为 100.44%, *RSD* 值为 1.63%, 表明该方法准确、可靠, 可用于景天三七药材中没食子酸的含量测定。

表 1 加样回收率试验结果

Table 1 Average recovery rate

编号 No.	称样量 Sample g	样品中没食子酸含量 Content of gallic acid//mg	加入标准品的量 Amount of standard sample//mg	测得量 Tested value//mg	回收率 Recovery rate//%	平均回收率 Average recovery rate//%	<i>RSD</i> %
1	0.250 0	0.449 6	0.361 6	0.821 8	102.91	100.44	1.63
2	0.250 0	0.449 6	0.361 6	0.815 1	101.06		
3	0.250 1	0.449 8	0.361 6	0.813 2	100.50		
4	0.250 1	0.449 8	0.452 0	0.912 8	102.43		
5	0.250 1	0.449 8	0.452 0	0.904 5	100.60		
6	0.250 0	0.449 6	0.452 0	0.890 7	97.59		
7	0.250 0	0.449 6	0.542 4	0.993 0	100.18		
8	0.250 0	0.449 6	0.542 4	0.990 7	99.76		
9	0.250 0	0.449 6	0.542 4	0.986 4	98.96		

2.2 含量测定 由表 2 可见, 黔产景天三七不同采收期及不同药用部位中没食子酸的含量有明显变化, 但该药材干、鲜品中没食子酸含量并无明显差异; 黔产景天三七药材中没

食子酸含量以夏季采收的茎叶中最高, 各样品中没食子酸含量从大到小依次为夏季茎叶、春季根、夏季根、春季茎叶、秋季茎叶、秋季根; 干品药材中没食子酸含量明显高于陈品。

表 2 样品中没食子酸含量测定结果

Table 2 Detection result of content of gallic acid in sample

编号 No.	药材产地 Place	采收时间 Harvesting time	部位 Position	没食子酸含量 Content of gallic acid//mg/g
1	贵阳市白云区种植基地	2012-04-25	鲜品根	1.870 1
2	贵阳市白云区种植基地	2012-04-25	鲜品茎叶	1.002 8
3	贵阳市白云区种植基地	2012-04-25	干品根	1.933 0
4	贵阳市白云区种植基地	2012-04-25	干品茎叶	0.946 4
5	贵阳市白云区种植基地	2012-07-26	鲜品根	1.303 2
6	贵阳市白云区种植基地	2012-07-26	鲜品茎叶	1.227 4
7	贵阳市白云区种植基地	2012-07-26	干品根	1.400 1
8	贵阳市白云区种植基地	2012-07-26	干品茎叶	2.307 9
9	贵阳市白云区种植基地	2012-11-20	鲜品根	1.381 3
10	贵阳市白云区种植基地	2012-11-20	鲜品茎叶	0.812 7
11	贵阳市白云区种植基地	2012-11-20	干品根	0.645 2
12	贵阳市白云区种植基地	2012-11-20	干品茎叶	0.794 6
13	贵阳市小河区野生种	2012-08-24	干品根	0.584 7
14	贵阳市小河区野生种	2012-08-24	干品茎叶	2.023 0
15	贵阳市白云区种植基地	2011-07-20	陈品根	1.085 4
16	贵阳市白云区种植基地	2011-07-20	陈品茎叶	1.646 6

3 小结

该研究采用高效液相色谱法对黔产景天三七药材不同采收期、不同部位的干、鲜品中没食子酸含量进行测定,得出以下结论:

(1) 没食子酸在 0.018 ~ 0.570 μg 线性关系良好,平均加样回收率为 100.44%,RSD 值为 1.63%,表明该方法简单、快速准确,可用于景天三七药材的质量控制。

(2) 黔产景天三七不同采收期及不同药用部位中没食子酸的含量有明显变化,各样品中没食子酸含量从大到小依次为夏季茎叶、春季根、夏季根、春季茎叶、秋季茎叶、秋季根;干品药材中没食子酸含量明显高于陈品,提示该药材不宜长

期存放。

(3) 黔产景天三七药材的干、鲜品中没食子酸含量无明显差异。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草:第 3 册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:765-766.
- [2] 王二丽,郭素华. 养心草的药用价值及开发前景[J]. 海峡药学,2010,22(9):79-81.
- [3] 郭素华,黄华花,许飞,等. 养心草水提液和醇提液宁心安神药效比较的实验研究[J]. 福建中医学院学报,2009,19(4):28-29.
- [4] 尹德忠,赵红侠,吴耀国,等. 高效液相色谱测定景天三七中的没食子酸[J]. 分析实验室,2007,26(10):55-57.
- [5] 王志刚,黄岩. 高效液相色谱法测定景天三七胶囊中没食子酸的含量[J]. 实用药物与临床,2008,11(4):262-263.

(上接第 83 页)

3 小结

该研究结果表明,15 个监测点位中 Hg、Cr、Mn、Co、Pb、V、Tl 等监测因子均未超标现象;Cd、As、Cu、Zn、Ni 均有发现超标现象,最大超标倍数分别达到了 2.30、2.26、1.06、1.86、1.10。通过综合污染指数评价结果可知:15 个土壤点位中,有 6 个点位属于清洁,1 个属于尚清洁,8 个属于轻度污染,未发现中度和重度污染。对 3 个养殖场周边进行调查,未发现明显涉重企业。原因可能是一方面,土壤中背景值偏高;另一方面,养殖使用的饲料中所含重金属的累积作用。

参考文献

- [1] WANG Y P,SHI J Y,WANG H,et al. The influence of soil heavy metals

pollution on soil microbial biomass enzyme activity and community composition near a copper smelter[J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2007,67:75-81.

- [2] 潘琼,程运林. 土壤重金属污染现状调查与评价[J]. 环境与可持续发展,2013(6):47-49.
- [3] 中国环境监测总站. 土壤元素的近代分析方法[M]. 北京:中国环境科学出版社,1992:251.
- [4] 陈玲,赵建夫. 环境监测[M]. 北京:化学工业出版社,2004:413.
- [5] 国家环境保护总局. 土壤环境监测技术规范:HJ/T 166—2004[S]. 北京:中国环境出版社,2004.
- [6] 中国环境监测总站. 2013 年土壤环境质量监测质控方案[R]. 2013.
- [7] 邹志勇,张志朋,彭靖恺,等. 桂林蔬菜基地土壤监测的质量控制与质量保证[J]. 环境科学与技术,2014,37(S2):396-400.
- [8] 张声皓,龚德昌,孙云帆. 简述土壤监测的质量控制和评价方法[J]. 环球人文地理(评论版),2015,10(5):121.