

贵州虎耳草的质量对比研究

张丽艳^{*}, 李燕, 杨玉琴, 徐昌艳, 王晖
(贵阳中医学院, 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 采用高效液相色谱法测定贵州虎耳草中没食子酸的含量, 并结合虎耳草现行质量标准对贵州虎耳草品质进行对比研究, 为虎耳草质量控制方法的提升和 GAP 规范化种植提供一定的技术依据。方法: 采用 HPLC 法分别对虎耳草中没食子酸、岩白菜素的含量进行测定。结果: 贵州各地虎耳草药材中岩白菜素明显高于现行质量标准中最低含量限度 0.080%, 没食子酸的平均含量为 0.121%, 不同采收期、不同产地加工方法的虎耳草药材中没食子酸和岩白菜素含量均具有一定差异。结论: 该研究运用多种成分指标来综合判断虎耳草质量, 为虎耳草质量控制方法的提升和 GAP 规范化种植提供了一定的技术依据。

[关键词] 虎耳草; 没食子酸; 岩白菜素; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)18-0057-03

Comparative Research Quality of *Saxifraga stolonifera* in Guizhou

ZHANG Li-yan^{*}, LI Yan, YANG Yu-qin, XU Chang-yan, WANG Hui
(Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** Gallic acid of *Saxifraga stolonifera* in Guizhou was determined by HPLC. The difference of the quality of *S. stolonifera* in Guizhou was studied by the current quality criteria of *S. stolonifera*. It aims at providing a technological basis of improving the method of controlling the quality of *S. stolonifera* and the standardization planting. **Method:** The content of bergenin and gallic acid in *S. stolonifera* was determined by HPLC. **Result:** The content of bergenin of *S. stolonifera* was higher than 0.080%, the minimum of current quality criteria, and the average content of gallic acid was 0.121%. The content of bergenin and gallic acid in *S. stolonifera* was different from various habitats, various collection time and various processing methods. **Conclusion:** The quality of *S. stolonifera* was evaluated by using various componential indices and to provide a standardized planting technological basis for GAP and improve the method of quality control of *S. stolonifera*.

[Key words] *Saxifraga stolonifera*; gallic acid; bergenin; HPLC

虎耳草始见于《履巉岩本草》, 1977 年版《中国药典》收载^[1], 现收载于《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003 年版)^[2]。具有止咳平喘、消炎解毒的疗效^[3]。虎耳草成分复杂, 目前国内外的研究主要集中在对有效成分岩白菜素含量测定及药理作

用方面, 其他成分如没食子酸等研究较少; 而虎耳草现行质量标准则以岩白菜素为指标成分进行的, 该质量控制方法存在一定片面性, 不能全面地反映虎耳草药材的品质。本研究以没食子酸为指标成分建立虎耳草没食子酸含量测定方法, 并结合虎耳草现行质量标准中岩白菜素含量测定方法, 对虎耳草进行多指标质量控制。同时对贵州不同产地、不同采收期、不同产地加工方法的虎耳草药材中岩白菜素、没食子酸进行含量对比研究, 为虎耳草药材质量控制方法的提升及虎耳草药材 GAP 规范化种植奠定一定基础。

[收稿日期] 2010-06-17
[基金项目] 贵阳市科学技术计划项目([2008]筑科农合同字第 7-3 号)
[通讯作者] ^{*} 张丽艳, 教授, 硕士生导师, Tel: 13984870641, E-mail: zly1964@163.com

1 材料

1.1 仪器 Agilent1100 高效液相色谱仪(在线脱气机,二元泵,DAD 检测器,自动进样器,智能恒温柱温箱,Agilent Chemstation 色谱工作站),XS205 型电子天平(瑞士梅特公司)。

1.2 试药 没食子酸对照品(批号 0831-9501,含量测定用)、岩白菜素对照品(批号 111532-200202,含量测定用)均由中国药品生物制品检定所提供。虎耳草药材样品均采自贵州各地经贵阳中医学院魏升华副教授鉴定为虎耳草科植物虎耳草 *Saxifraga stolonifera* Meerb. 的全草(标本存放于贵阳中医学院药物分析实验中心)。

2 方法

2.1 虎耳草中没食子酸含量测定方法研究

2.1.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相甲醇-0.1% 磷酸(10 90);检测波长 272 nm;柱温 25 ;流速 1 mL·min⁻¹;进样量 10 μL;理论塔板数按没食子酸峰计算应不低于 4 000,见图 1。

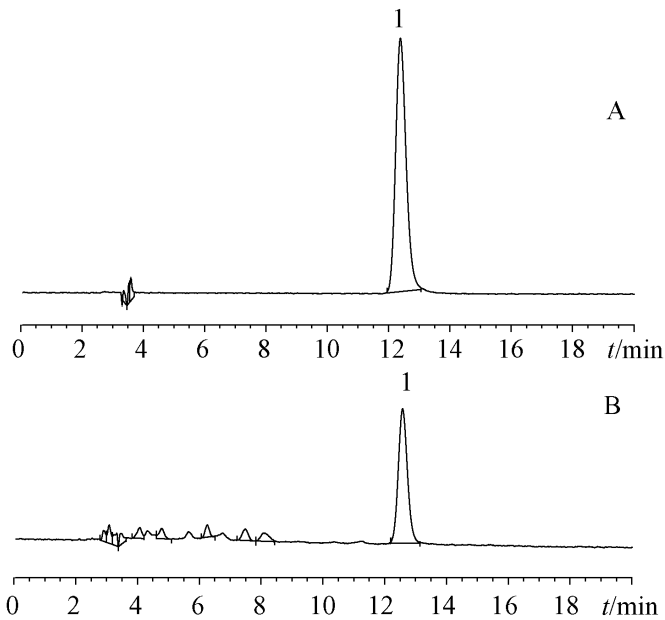


图 1 虎耳草样品 HPLC
A. 对照品; B. 样品; 1. 没食子酸

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品适量,加甲醇溶解并稀释,摇匀,制成 16.50 mg·L⁻¹ 的溶液,即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 取样品粉末约 0.5 g,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 25% 甲醇 50 mL,密塞,称重,加热回流 2 h,放冷,再称定质量,用 25% 甲醇补足减失质量,摇匀,滤过,取续滤液过微孔滤膜(0.45 μm),即得。

2.1.4 线性关系考察 精密吸取没食子酸对照品溶液 2,4,8,12,16 μL 进样,按 2.1.1 项下色谱条件

测定,以没食子酸进样量(μg)为横坐标 X,峰面积为纵坐标 Y,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 3.02 \times 10^3 X + 15.23$ ($r = 0.9994$),结果表明,没食子酸在 0.033 ~0.264 μg 线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 精密吸对照品溶液,重复进样 6 次,没食子酸平均峰面积为 505.6, RSD 为 1.5%。

2.1.6 重复性试验 取同一虎耳草样品(贵阳高坡)粉末约 0.5 g,精密称定,共 6 份,按 2.1.3 项下方法制备,并按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算得没食子酸平均质量分数 0.11%, RSD 1.9%

2.1.7 稳定性试验 精密吸取同一虎耳草供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8,10 h 进样测定,平均峰面积 354.5, RSD 2.7%,表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.1.8 加样回收率试验 分别称取已知含量(0.11%)的虎耳草药材样品 9 份,每份约 0.25 g,精密称定,分别加入没食子酸对照品溶液适量,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,并按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算得平均回收率为 100.4%, RSD 2.7%,见表 1。

表 1 虎耳草中没食子酸加样回收试验

No.	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值	RSD/%
1	0.251 2	0.267 9	0.214	0.481 9	100.00		
2	0.242 8	0.258 9	0.214	0.462 4	95.06		
3	0.253 0	0.269 8	0.214	0.484 5	100.33		
4	0.253 4	0.270 3	0.270	0.543 7	101.28		
5	0.258 4	0.275 6	0.270	0.561 7	105.96	100.4	2.7
6	0.252 8	0.269 6	0.270	0.540 6	100.37		
7	0.252 9	0.269 7	0.324	0.595 1	100.44		
8	0.253 2	0.270 0	0.324	0.595 3	100.38		
9	0.252 8	0.269 6	0.324	0.593 4	99.94		

2.1.9 样品的测定 按 2.1.3 项下制备方法,对贵州不同产地、不同采收期、不同产地加工方法的虎耳草进行提取,并按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果见表 2,图 2 ~3。

2.2 虎耳草中岩白菜素的含量测定方法 按《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003 年版一部)^[2]中虎耳草项下岩白菜素含量测定方法进行,结果见表 2,图 2 ~3。

表 2 不同产地虎耳草中岩白菜素和没食子酸含量(*n* = 3) %

产地	岩白菜素	RSD	没食子酸	RSD
松桃	0.49	1.40	0.18	2.03
龙里	0.34	2.09	0.14	1.47
清镇	0.37	0.55	0.11	1.60
凯里炉山	0.35	1.92	0.07	1.94
凯里湾水	0.64	1.82	0.13	1.60
毕节亮岩	0.35	1.56	0.12	1.25
贵阳高坡	0.34	0.74	0.10	1.54

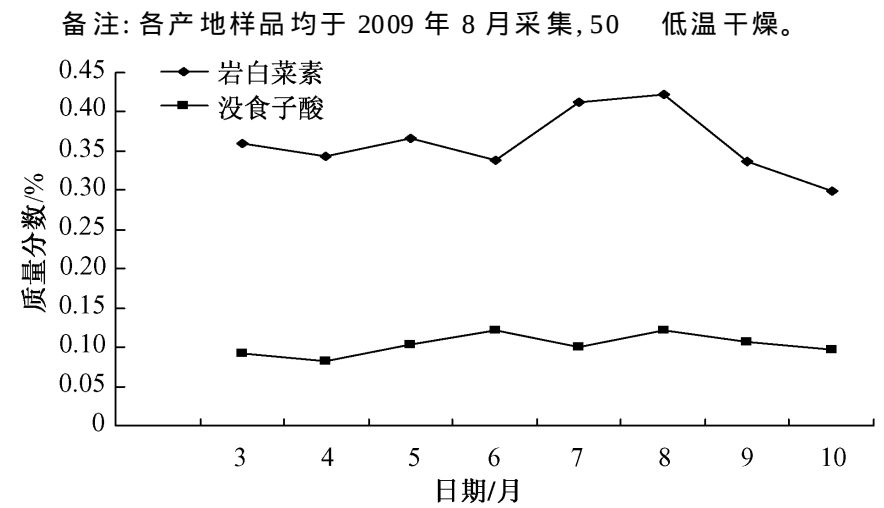


图 2 不同采收期虎耳草中岩白菜素和没食子酸含量(贵阳高坡)

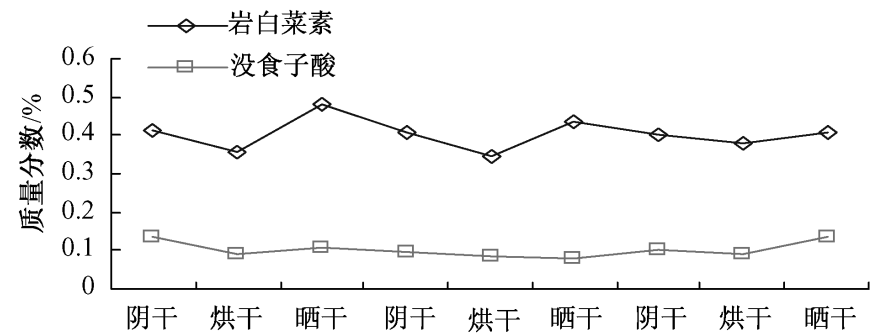


图 3 不同产地加工方法虎耳草中岩白菜素、没食子酸的含量

3 结果

3.1 不同产地虎耳草中岩白菜素、没食子酸的含量对比 结果表明虎耳草中没食子酸和岩白菜素含量不具有相关性, 黔产虎耳草中以凯里湾水所产的虎耳草中岩白菜素含量相对较高, 以松桃冷家坝所产的虎耳草没食子酸含量相对较高。

3.2 不同采收期虎耳草中岩白菜素、没食子酸的含量对比 结果表明 8 月采收的药材中岩白菜素及没食子酸含量均较高, 7 月份采收含量次之。因此虎耳草药材以 8 月份采收为宜。

3.3 不同产地加工方法虎耳草中岩白菜素、没食子酸的含量对比 结果表明不同产地加工方法对虎耳草中岩白菜素、没食子酸的含量影响不显著, 其中以阴干和直接晒干方式得到的虎耳草药材岩白菜素、没食子酸的含量稍高, 因此, 在虎耳草药材的产地加工中, 应因地制宜选择适宜的产地加工方法。

4 讨论

本实验首次对虎耳草中没食子酸的含量进行测定, 经过多次优化、筛选确定采用甲醇-0.1% 磷酸(10 90) 作为流动相, 检测波长为 272 nm, 方法简单易行, 重现性好, 灵敏度高, 便于操作。

本实验同时考察了不同产地、不同采收期、不同产地加工方法的虎耳草药材中岩白菜素和没食子酸含量, 结果表明不同产地、不同采收期、不同产地加工方法的虎耳草药材中岩白菜素和没食子酸含量均具有一定的差异。因此, 不能根据某单一化学成分的含量来判断虎耳草质量的优劣。

通过研究发现, 贵州各地虎耳草药材中岩白菜素明显高于现行质量标准中最低含量限度 0.080%^[2], 而没食子酸的平均含量为 0.121%。因此, 为确保临床疗效及生产用药安全有效, 拟定在生产中使用的虎耳草其岩白菜素含量应不低于 0.30%, 同时没食子酸含量应不低于 0.10%; 并建议现行标准增加虎耳草中没食子酸的含量测定, 以便全面地反映贵州产虎耳草质量, 为虎耳草药材质量多指标控制方法的制定提供一定参考依据, 并为虎耳草药材 GAP 规范化种植奠定基础。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S] . 1977: 339.
[2] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药质量标准[S] . 贵阳: 贵州科技出版社. 2003: 235.
[3] 江苏新医学院. 中药大辞典[M] . 上海: 科学技术出版社, 1997: 1335.

[责任编辑 顾雪竹]