

本文引用: 龚力民, 赵元, 严晟, 杨敏华, 赵国锋, 许光明. 不同产地五倍子的质量评价[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(2): 247-251.

不同产地五倍子的质量评价

龚力民¹, 赵元¹, 严晟¹, 杨敏华², 赵国锋², 许光明^{1*}

(1. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208; 2. 张家界久瑞生物科技有限公司, 湖南张家界 427000)

〔摘要〕 目的 对不同产地的五倍子质量开展评价, 以期五倍子的质量控制提供依据。方法 对不同产地的五倍子进行水分、总灰分、没食子酸含量测定, 建立特征图谱, 对五倍子开展多个角度的质量评价。结果 安徽、内蒙古、陕西、湖北及四川等地的五倍子水分、总灰分含量情况均符合中国药典标准, 且没食子酸含量高于标准; 特征图谱结果表明 12 批五倍子受产地的影响较大, 其中安徽和湖南产地的五倍子样品与贵州、内蒙古产地的五倍子样品相比差异较大。综合质量多方位评价结果, 内蒙古产五倍子为推荐品。结论 五倍子质量系统评价可更完整地体现不同产地的质量情况, 为完善五倍子质量控制方法提供一定科学基础。

〔关键词〕 五倍子; 没食子酸; 含量测定; 指纹图谱

〔中图分类号〕 R282.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.02.016

Quality Evaluation of Wubeizi (*Galla Chinensis*) from Different Origins

GONG Limin¹, ZHAO Yuan¹, YAN Sheng¹, YANG Minhua², ZHAO Guofeng², XU Guangming^{1*}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Zhangjiajie Jiurui Biotechnology Co., Ltd., Zhangjiajie, Hunan 427000, China)

〔Abstract〕 Objective To evaluate the quality of Wubeizi (*Galla Chinensis*) from different areas in order to provide the basis for the quality control of Wubeizi (*Galla Chinensis*). **Methods** The moisture, total ash, and gallic acid content of Wubeizi (*Galla Chinensis*) from different origins were determined, the characteristic maps were established, and the quality evaluation of Wubeizi (*Galla Chinensis*) from multiple angles was carried out. **Results** The moisture, and total ash content of Wubeizi (*Galla Chinensis*) in Anhui, Inner Mongolia, Shanxi, Hubei and Sichuan all met the Chinese pharmacopoeia standards, and the gallic acid content was higher than the standard; the characteristic map results showed that 12 batches of Wubeizi (*Galla Chinensis*) were greatly affected by the place of production, among them, the Wubeizi (*Galla Chinensis*) samples from Anhui and Hunan provinces were quite different from those from Guizhou and Inner Mongolia. Based on the results of multi-directional quality evaluation, Wubeizi (*Galla Chinensis*) produced in Inner Mongolia is recommended. **Conclusion** The quality system evaluation of Wubeizi (*Galla Chinensis*) can more completely reflect the quality of different producing areas, and provide a scientific basis for improving the quality control methods of Wubeizi (*Galla Chinensis*).

〔Keywords〕 Wubeizi (*Galla Chinensis*); gallic acid; content determination; fingerprint

五倍子 (*Rhus chinensis* Mill.) 为漆树科植物盐肤木、青麸杨或红麸杨叶上的虫瘿, 主要由五倍子蚜寄生而形成。五倍子性寒, 味酸、涩。有涩肠止泻, 敛

肺降火, 收湿敛疮, 敛汗, 止血等功效^{〔1〕}。我国五倍子产量占世界产量的 90% 以上, 其中湖南、湖北、四川、贵州、云南及陕西等省产量最高, 约占全国总产

〔收稿日期〕2020-08-16

〔基金项目〕黄姜及五倍子特色中药材全产业链研究开发与示范; 湖南省研究生科研创新项目 (CX20190527)。

〔作者简介〕龚力民, 男, 副教授, 研究方向: 中药鉴定、栽培与中药资源开发。

〔通讯作者〕* 许光明, 男, 副教授, E-mail: 1052262329@qq.com。

量的 80%。我国五倍子的品质好、有效成分含量高,临床药用价值高,但不同产地五倍子的质量差别较大,普遍采用单一指标评价方法尚不能较好地做出质量评价,不利于精准用药,也不利于高质量中药材的种植与供应。因此,建立科学的系统质量评价方法十分必要^[2-7]。本文利用多方位评价原理,对不同产地的五倍子进行水分测定、总灰分测定、没食子酸的含量测定及特征图谱的评价研究,形成五倍子多方位系统评价方法,以期对不同产地五倍子的科学质量评价提供一定科学依据。

1 材料

1.1 仪器

万能高速粉碎机(浙江红景天工贸有限公司,型号 DE-800 g);电子恒温水浴锅(菏泽市牡丹区俊腾电子仪器有限公司,型号 DZKW-4);电热恒温鼓风干燥箱(上海和呈仪器制造有限公司,型号 101-3AB);生物显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司,型号 Motic BA-80);高效液相色谱仪(日本岛津公司,型号 LC-20A)。

1.2 试剂

甲醇(国药集团化学试剂有限公司);磷酸(川东化工集团);怡宝水(国药集团化学试剂有限公司);没食子酸标准品(质量分数 $\geq 98\%$,上海源叶生物科技有限公司);化学试剂均为色谱纯。

1.3 药材

五倍子样品共 12 批,经湖南中医药大学药学院中药鉴定教研室龚力民老师鉴定,均为正品。产地见表 1。

表 1 药材收集信息表

样品编号	品种	批号	产地
S1	五倍子	180706	安徽
S2	五倍子	180524	湖南
S3	五倍子	180703	贵州
S4	五倍子	180904	内蒙古
S5	五倍子	180626	广东
S6	五倍子	180728	湖北
S7	五倍子	181012	陕西
S8	五倍子	181123	湖北
S9	五倍子	180929	陕西
S10	五倍子	181223	四川
S11	五倍子	180923	陕西
S12	五倍子	181120	广西

2 方法

2.1 五倍子水分、总灰分测定

参照《中华人民共和国药典》(2020 年版)附录相关方法,进行五倍子水分、总灰分的测定^[1]。

2.2 五倍子没食子酸含量测定

2.2.1 样品的制备 除去五倍子样品中的杂质,干燥粉碎后过四号筛(65 目),备用。

2.2.2 色谱条件 色谱柱为 WondaSil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液(15:85);检测波长为 273 nm;柱温为 25 ℃;流速为 1.0 mL/min;分析时间为 20 min;理论板数按没食子酸峰计算应不低于 3 000。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品适量,加入浓度为 50%的甲醇制成 40 μg/mL 的对照品溶液,备用。

2.2.4 供试品溶液的制备 依据中国药典^[1],取本品粉末(过四号筛)约 0.5 g,精密称定,精密加入 4 mol/L 盐酸溶液 50 mL,水浴中加热水解 3.5 h,放冷,滤过。精密量取续滤液 1 mL,置 100 mL 量瓶,加 50%甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.5 精密度试验 取 S2 号样品溶液在“2.3.2”项色谱条件下连续进样分析 6 次,根据峰面积计算出 RSD 值为 2.6%。结果证明仪器的精密度好。

2.2.6 重复性试验 取 S6 号样品粉末 6 份,按“2.3.4”项下方法制备样品溶液,在“2.3.2”项色谱条件下进样分析,根据峰面积计算出 RSD 值为 2.6%。结果证明本方法重复性好,准确度高。

2.2.7 稳定性试验 取 S11 号样品溶液,按“2.3.2”项色谱条件于 0、2、8、12、24、48 h 进样分析,根据 6 次峰面积,计算出 RSD 值为 2.8%。结果证明五倍子样品溶液在 48 h 内稳定。

2.2.8 线性关系考察 取没食子酸标准品,按“2.3.3”项方法配置 10、20、40、80、160 μg/mL 的标准品溶液,在“2.3.2”项色谱条件下进样分析,根据峰面积,使用 EXCEL 绘制标准曲线,标准品浓度(μg/mL)作横坐标,峰面积作纵坐标,回归方程: $Y=52856X+47\ 563$, $R^2=0.999\ 9$ 。结果证明没食子酸在 10~

160 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内线性关系好。

2.2.9 加标回收率试验 精密量取 200 μL 浓度为 70 $\mu\text{g/mL}$ 的 S1 样品 9 份,其中每 3 份分别加入同体积(200 μL)的按“2.3.3”项方法制得的浓度为样品浓度的 0.8 倍(56 $\mu\text{g/mL}$)、1.0 倍(70 $\mu\text{g/mL}$)及 1.2 倍(84 $\mu\text{g/mL}$)的对照品溶液,按“2.3.2”项色谱条件下进样分析,根据峰面积,计算没食子酸含量。加标回收率为 100.8%~107.4%,说明仪器稳定。加标回收率结果见表 2。

表 2 加标回收率结果

编号	样品含量/ μg	样品加入量/ μg	测得量/ μg	加标回收率/%
1	14.04	11.20	25.61	103.3
2	14.04	11.20	25.63	103.5
3	14.04	11.20	26.07	107.4
4	14.04	14.00	28.44	102.9
5	14.04	14.00	28.44	102.8
6	14.04	14.00	29.50	110.3
7	14.04	16.80	31.67	104.9
8	14.04	16.80	31.36	103.1
9	14.04	16.80	30.98	100.8

2.3 五倍子特征图谱研究

2.3.1 供试品溶液的制备 同“2.2.4”项下制备方法。

2.3.2 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱为 WondaSil C_{18} 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm,5 μm);流动相为甲醇(A)-0.1%磷酸溶液(B);检测波长为 273 nm;柱温为 25 $^{\circ}\text{C}$;流速为 1.0 mL/min;分析时间为 80 min;理论板数按没食子酸峰计算应不低于

3 000。色谱条件设为梯度洗脱,以甲醇(A)-0.05%磷酸水(B)为流动(A:0 min,5%;65 min,80%;80 min,100%),色谱峰基本能达到基线分离,且峰型好,说明该梯度洗脱条件较佳。采用 DAD 检测器,在 273 nm 下五倍子药材的特征图谱峰数量最多,且峰形较佳,确定 6 个共有峰,1 号峰为没食子酸,建立五倍子的指纹图谱。见图 1。

2.3.3 精密度实验 取湖南的五倍子供试液 1 份,主要色谱峰的保留时间 RSD 值小于 2.0%,而主要色谱峰峰面积 RSD 值在 3.0%左右,说明该方法精密度较好。

2.3.4 重复性实验 取湖南的五倍子 6 份,主要色谱峰的保留时间 RSD 值均小于 2.0%,主要色谱峰峰面积 RSD 值在 4.0%以内,说明该方法重复性较好。

2.3.5 稳定性实验 取湖南的五倍子供试液 1 份,主要色谱峰的保留时间 RSD 值均小于 2.0%,主要色谱峰峰面积的 RSD 值均低于 4.0%,说明该方法 24 h 以内基本稳定。

3 结果

3.1 五倍子水分、总灰分和没食子酸含量测定

《中华人民共和国药典》2020 版规定,五倍子水分含量不得过 12.0%,实验结果表明,12 批五倍子样品的水分含量均 \leq 12.0%($n=3$)。五倍子总灰分含量不得过 3.5%,12 批五倍子样品的总灰分含量均 \leq 3.5%($n=3$)。除 12 号样品的没食子酸含量低于

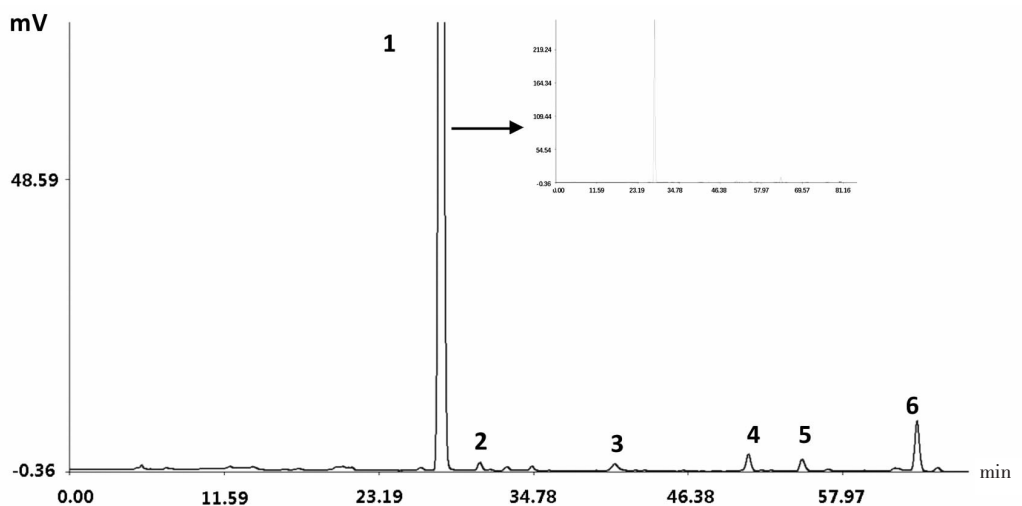


图 1 五倍子样品在 273 nm 波长下的特征图谱

50%外,其余 11 批五倍子样品的没食子含量均大于 50%($n=3$),符合药典标准。结果见表 3。

表 3 五倍子的水分、总灰分和没食子酸含量($n=3$)

样品编号	水分含量/%	总灰分含量/%	没食子酸含量/%
S1	11.5	2.0	64.9
S2	11.5	2.0	55.3
S3	10.5	2.5	59.7
S4	11.8	1.9	66.1
S5	11.3	2.5	50.6
S6	11.6	2.5	52.6
S7	11.8	3.3	68.7
S8	11.5	2.7	70.0
S9	11.0	2.6	50.9
S10	11.8	3.3	51.9
S11	11.1	3.3	62.9
S12	9.3	3.4	32.9

3.2 指纹图谱及共有峰的建立

采用 HPLC-DAD 法共采集了 12 批五倍子药材指纹图谱信息,标记了 6 个共有峰,计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积,其相对保留时间 RSD 值在 0.34%~0.52%,相对峰面积 RSD 值在 24.89%~79.03%,结果见表 4-5。12 批样品中 6 个共有峰均能一一对应,表明样品整体的化学成分组成相似,其有效成分含量有显著差异。建立五倍子指纹图谱,峰 1 的峰面积最大,且分离度较好,为五倍子的药控成分,故选择没食子酸为参照峰。结果见图 2。

表 4 12 批五倍子药材共有峰的相对保留时间

编号	相对保留时间					
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6
S1	1.000	1.104 3	1.466 3	1.827 4	1.971 1	2.280 6
S2	1.000	1.104 5	1.466 6	1.827 0	1.971 0	2.280 4
S3	1.000	1.102 5	1.466 3	1.827 8	1.971 9	2.281 4
S4	1.000	1.103 9	1.466 7	1.826 9	1.971 0	2.279 9
S5	1.000	1.099 8	1.462 3	1.803 7	1.950 2	2.243 5
S6	1.000	1.103 4	1.462 5	1.823 3	1.962 5	2.253 7
S7	1.000	1.109 8	1.477 0	1.814 7	1.968 2	2.264 4
S8	1.000	1.111 0	1.477 1	1.815 1	1.968 7	2.264 4
S9	1.000	1.111 7	1.479 7	1.820 3	1.974 6	2.271 3
S10	1.000	1.109 3	1.480 3	1.821 1	1.975 4	2.272 5
S11	1.000	1.107 5	1.477 5	1.815 6	1.969 5	2.265 1
S12	1.000	1.107 6	1.483 3	1.823 2	1.977 6	2.275 0
RSD/%	1.00	0.34	0.52	0.39	0.36	0.52

表 5 12 批五倍子药材共有峰的相对峰面积

编号	相对峰面积					
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6
S1	1.000	0.003 7	0.006 9	0.009 3	0.007 5	0.020 3
S2	1.000	0.004 3	0.007 1	0.010 9	0.009 2	0.032 8
S3	1.000	0.003 8	0.011 9	0.005 1	0.005 7	0.017 0
S4	1.000	0.003 3	0.010 2	0.004 0	0.006 2	0.013 2
S5	1.000	0.003 9	0.007 3	0.004 9	0.022 3	0.016 2
S6	1.000	0.003 6	0.011 5	0.004 6	0.005 1	0.012 8
S7	1.000	0.003 3	0.005 2	0.010 5	0.010 5	0.028 9
S8	1.000	0.003 1	0.006 8	0.004 5	0.007 8	0.016 3
S9	1.000	0.002 6	0.007 4	0.003 9	0.008 4	0.013 8
S10	1.000	0.005 0	0.007 2	0.024 4	0.009 5	0.078 9
S11	1.000	0.002 8	0.009 0	0.003 3	0.008 1	0.011 7
S12	1.000	0.007 0	0.009 7	0.005 4	0.014 6	0.020 5
RSD/%	0.00	30.57	24.89	78.3	49.35	79.03

3.3 相似度评价

采用“中药色谱特征图谱相似度分析”软件计算 12 个产地样品的指纹图谱相似度,以省份划分产地,陕西指纹图谱相似度均为 81.3%。陕西、四川和广西相似度为 81.3%,广东和湖北相似度只有 25%,说明广东和湖北与其他省份的五倍子化学成分差异大。见表 6。

4 讨论

12 批不同产地五倍子样品的性状鉴别结果、水分及总灰分含量均达标;不同产地五倍子的没食子酸含量差别大,12 批样品中仅广西产五倍子的没食子酸含量不符合药典标准,其余 11 批样品的没食子酸含量均大于 50.0%,其中安徽、内蒙古产的五倍子没食子酸含量较高,均高于 60.0%;特征图谱研究表明 12 批样品整体的化学成分组成相似,但含量有显著差异,说明 12 批五倍子受产地的影响较大,其含量差异可能受到了不同地区海拔、土壤、温度、水质等的影响;综合质量多方位评价结果,内蒙古产的五倍子为推荐品。

研究选择的 12 批五倍子南北跨度大,若以秦岭-淮河为南北界限,据表 3 可知,随着纬度不断地增加,五倍子没食子酸含量不断增加,五倍子中没食子酸含量的积累可能受到高纬度低温的影响。

五倍子按药材形态判断,以个大、完整、壁厚、色

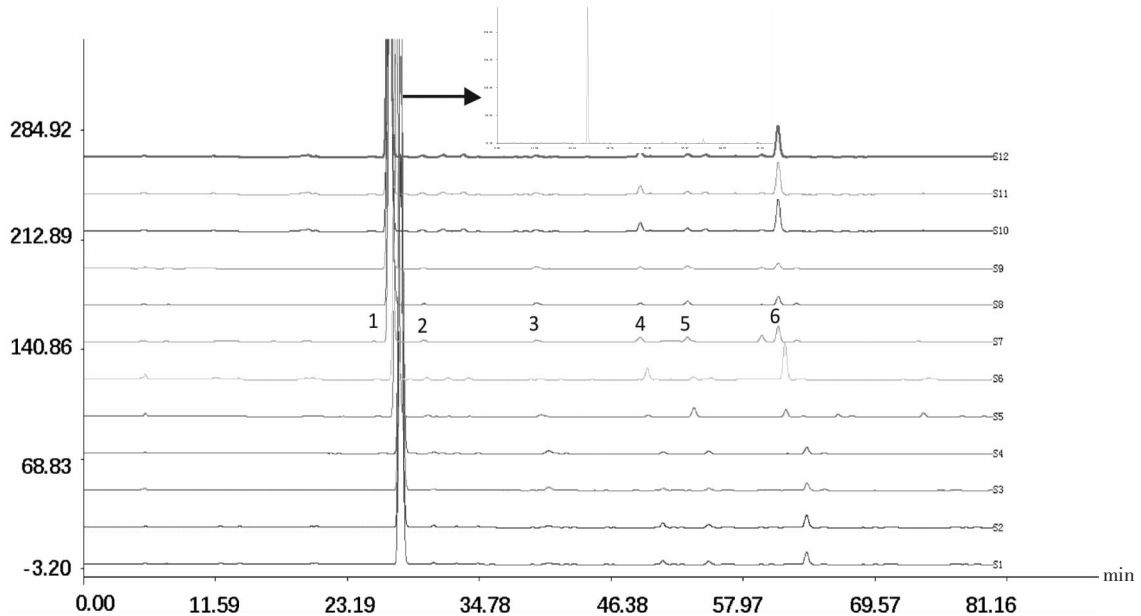


图2 12批次五倍子药材特征图谱

表6 12批次五倍子相似度

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.525	S7	0.813
S2	0.525	S8	0.813
S3	0.525	S9	0.813
S4	0.525	S10	0.813
S5	0.250	S11	0.813
S6	0.250	S12	0.813

灰褐者为佳^[8]。在面对五倍子药材化学成分的丰富性和复杂性时^[9],中药指纹图谱能全面反应中药所包含的化学信息,可用于五倍子药材质量评价,更完整地体现不同产地五倍子质量情况。因此,进一步建立多实验方法体系的五倍子质量系统评价方法,对全面评价五倍子品质显得尤为重要。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典·一部[S].北京:中国医药科

技出版社,2020:68-69.

- [2] 庞春洁.高效液相色谱法同时测定五倍子提取物中没食子酸与鞣花酸的含量[J].饮食保健,2018,5(27):24-25.
- [3] 钟可,吴亚丽,王世清,等.高效液相色谱法测定黔产五倍子中没食子酸的含量[J].中国医院用药评价与分析,2018,18(1):36-39.
- [4] 基于色谱指纹图谱的五倍子定量测定方法[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(21):137-140.
- [5] 郭小瑞,李里,孙哲,等.五倍子的HPLC指纹图谱研究[J].中国药房,2013,24(27):2546-2548.
- [6] 冯淑萍.五倍子药材及制剂质量标准研究[D].陕西中医药大学;陕西中医院,2009.
- [7] 李志国,杨文云,夏定久.中国五倍子研究现状[J].林业科学研究,2003,16(6):760-767.
- [8] 国家中医药管理局《中华本草》编委会编.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,2009.
- [9] 李和.中药指纹图谱质控及其评价方法[J].中药材,2002(4):290-292.

(本文编辑 苏维)