

## 绒毛诃子与诃子质量评价与比较

李先端, 顾雪竹, 肖碧英, 黄璐琦\*

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 对诃子与绒毛诃子成分含量等进行比较研究, 为完善其质量标准奠定基础。方法: 采用性状鉴别、薄层鉴别、HPLC 测定其没食子酸成分等。结果: 从所测定的 13 批诃子与 11 批绒毛诃子没食子酸含量看, 诃子含量显著高于绒毛诃子, 最高高 7 倍多。鉴别结果也表明两者差距很大。结论: 本文建立的没食子酸的含量测定方法, 能够对诃子进行准确的定量, 结果可靠, 重复性好。建立的薄层鉴别方法, 专属性较强, 能很好了解两者成分的差异, 可以达到鉴别目的。

[关键词] 诃子; 绒毛诃子; 薄层鉴别; 含量测定; 质量评价

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)17-0048-05

### Quality Evaluation and Comparative Study of *Terminalia chebula* Retz. and *T. chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt.

LI Xian-duan, GU Xue-zhu, XIAO Bi-ying, HUANG Lu-qi\*

(China Academy of Chinese Medical Science Institute of Materia Medica, Beijing 100700, China)

**[Abstract] Objective:** To study and compare the components content of *Terminalia chebula* Retz. and *T. chebula* Retz. Var. *tomentella* Kurt, lay the foundation for improving its quality standard. **Method:** Character identification, TLC and HPLC were used to determine the content of gallic acid from them. **Result:** According to the determination of the 13 batches of *T. chebula* Retz. and the 11 batches of *T. chebula* Retz. Var. *tomentella* Kurt., the content of gallic acid in *T. chebula* Retz. was significantly higher than that in *T. chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt., and the highest content was up to 7 times. The results of identification did also show large gap between them. **Conclusion:** The methods established in this article to determine the content of gallic acid can be used for the quality control of *T. chebula* Retz. and the result is reliable and reproducible. The method of TLC has a good specificity, which can well distinguish the component differences between them. The purpose of identification can be achieved.

**[Key words]** *Terminalia chebula* Retz.; *Terminalia chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt.; TLC; content determination; quality evaluation

诃子为使君子科植物诃子 *Terminalia chebula* Retz. 或绒毛诃子 *T. chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt. 的干燥成熟果实, 具涩肠敛肺, 降火利咽的功效, 临床用于久泻久痢, 便血脱肛, 肺虚喘咳, 久嗽不

止, 咽痛音哑等症。诃子中含有三萜及鞣质类成分, 如粉蕊黄杨醇酸、阿江榄仁酸、阿江榄仁素、和诃五醇、诃子酸、诃黎勒酸、没食子酸、没食子酸乙酯等。诃子的药理作用主要有抗氧化、抑菌、抗病毒、抗诱变、抗癌、止泻、强心等。2010 年版药典收录诃子来源为以上 2 个品种, 质量标准没有含量测定项, 定性鉴别是以诃子药材斑点为依据<sup>[1]</sup>。目前 2 个品种作为同一种中药应用, 但是从药材果实外表观察, 其质地、性状大不相同。经考证绒毛诃子是 50 年代为缓解诃子紧缺, 代替进口药材发现的新药用资源, 究竟

[收稿日期] 20100816(001)

[基金项目] 国家科技部基础性工作专项资助项目 (2003DIATH031)

[通讯作者] \* 黄璐琦, Tel: 010-64014411-2955, E-mail: huangluqi@263.net

两者内在质量有无区别, 缺乏较多的研究资料, 这也是中药行业一直关注的问题。从提高药材质量和治病质量的角度出发, 为解除临床用药疑虑, 以适应《药品管理法》对中药材质量的监督管理, 有必要对诃子与绒毛诃子的质量进行对比研究。本研究采用 HPLC 建立了诃子与绒毛诃子药材中没食子酸的含量测定方法; 利用薄层色谱技术, 对诃子与绒毛诃子进行了定性鉴别及比较研究。目前诃子和绒毛诃子 2 个品种均作为诃子药材的来源, 同样用于临床, 以往研究证明<sup>[4-5]</sup> 没食子酸具有抗菌、抗病毒等作用, 诃子中没食子酸是否起主要作用, 应当用药理的试验进一步证明, 为诃子与绒毛诃子的临床应用提供更充分的依据。

### 1 材料

惠普-1100 型高效液相色谱仪, 紫外检测器。没食子酸对照品由中国药品生物制品检定所提供。批号 0831-8501, 含量 99% 以上。盐酸、三乙醇胺、磷酸等试剂为分析纯, 水为纯水。层析用中性氧化铝(粒度 70 ~325 筛孔, 上海市五四农场化学试剂厂出品); Alltech C<sub>18</sub> 柱(300 mg 柱床); 硅胶 G 预制板(青岛海洋化工厂出品)。诃子药材为云南、广州、珠海、江西樟树等地, 市售及采集样品见表 1。

表 1 采集和收集诃子及绒毛诃子药材样品

No.	名称	收集(采集)地	产地	鉴定人
1	诃子	广州同健药店	广东	陈建南
2	诃子	珠海	珠海	陈建南
3	诃子	广州北京路药店	广东	陈建南
4	诃子	广州康利堂药店	广东	陈建南
5	诃子	深圳友和药店	深圳	陈建南
6	诃子	香港余仁生药店	香港	陈建南
7	诃子	广东廉美医药	广东	陈建南
8	诃子	泰国	广东	陈建南
9	诃子	江西樟树	广东	陈建南
10	诃子	广东(自采)	广东	陈建南
11	诃子	广东笋岗镇(自采)	广东	陈建南
12	诃子	珠海济生医药	珠海	陈建南
13	诃子	广州	广西	陈建南
14	绒毛诃子	昆明一心堂药店	云南	何文有
15	绒毛诃子	云南施甸县	云南	何文有
16	绒毛诃子	云南施甸县	云南	何文有
17	绒毛诃子	保山永昌大药房	云南	何文有
18	绒毛诃子	永德县永康镇(自采)	云南	何文有
19	绒毛诃子	永德县益寿堂药店	云南	何文有
20	绒毛诃子	龙陵县勐兴镇(自采)	云南	何文有
21	绒毛诃子	龙陵县勐兴镇(自采)	云南	何文有
22	绒毛诃子	龙陵县旧城乡(自采)	云南	何文有
23	绒毛诃子	昆明市菊花园市场	云南	何文有
24	绒毛诃子	西双版纳(自采)	云南	何文有

### 2 方法与结果

**2.1 诃子与绒毛诃子药材的性状鉴别** 试验用诃子自采自广州笋岗镇, 经广州中医药大学陈建南教授鉴定; 绒毛诃子自采自云南龙陵县勐兴镇, 经龙陵县勐兴镇卫生院何文有院长鉴定。采集的鲜果于干燥的通风处自然干燥或在 50℃ 左右烘干, 自拍药材外形图, 见图 1。



图 1 诃子, 绒毛诃子性状

诃子: 果实卵圆形或椭圆形, 长 1.5 ~2.5 cm, 直径 1.2 ~1.8 cm; 表面黄绿色或黄棕色, 略具光泽, 有明显的纵棱及不规则的皱纹, 基部收缩略成短尖, 有

圆形果梗痕;质坚实。果肉厚 2 ~4 mm,绿黄色或棕黄色。果核卵圆形,黄白色,长 1.5 ~1.8 cm,直径 0.8 ~1.2 cm,厚 3 ~4 mm;表面具圆凹窝及不规则条状棱线;质坚硬。种子一枚,纺锤形,长 0.6 ~1 cm,直径 3 ~5 mm;两端尖,淡黄色,色浅一端有合点,种皮薄,紧包于子叶之外;子叶 2 片,白色,互相重叠卷旋。气无,味酸涩后甜。

绒毛诃子:果实卵圆形或椭圆形,长 2.5 ~3.5 cm,直径 1 ~2 cm;表面多紫黑色或棕褐色,有极皱缩纹,多呈网纹状,纵棱线不明显。基部钝圆,具圆形梗痕;质坚实。果肉厚 3 ~4 mm,黄棕色。果核卵圆形或椭圆形,黄白色,长 1.2 ~2 cm,直径 1 ~1.5 cm,厚 3 ~4 mm;表面具圆点状凹窝和不规则棱线;质坚硬。种子 1 枚,长卵圆形或椭圆形,长 0.8 ~1.2 cm,直径 3 ~4 mm,浅黄色。气微,味酸涩后甜。

**2.2 诃子与绒毛诃子的薄层鉴别** 诃子中主含没食子酸类化合物,但游离型没食子酸含量少,主要以苷类和酯类的结合型存在。所以薄层鉴别其游离型没食子酸,常常不易得到清晰的色谱斑点。我们采用酸水解、乙酸乙酯萃取等方法制备样品溶液,得到了比较满意的薄层结果。还根据诃子含有三萜类成分的报道<sup>[2-3]</sup>,对诃子与绒毛诃子的薄层鉴别进行了探讨。

**2.2.1 没食子酸薄层鉴别** 称取诃子样品粉末(80 目)0.4 g,加入甲醇 20 mL,回流提取 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣用盐酸 20 mL 溶解,水解(100 ℃)1 h,水解溶液转移分液漏斗中,用乙酸乙酯提取 2 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇溶解,诃子溶解至 10 mL,绒毛诃子溶解至 5 mL,备用。分别吸取各供试品溶液与没食子酸对照品溶液(1 g·L<sup>-1</sup> 甲醇溶液)各 2 μL,点于同一硅胶 G 薄层板(自制)上,以氯仿-乙酸乙酯-甲酸(6:4:1)为展开剂,预饱和 15 min 后,展开 9 cm,取出,晾干,喷以 2% 三氯化铁乙醇溶液。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的斑点。

**2.2.2 三萜类成分薄层鉴别** 称取诃子样品粉末(80 目)1 g,加入无水乙醇 20 mL,回流提取 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣用无水乙醇 5 mL 溶解,过中性氧化铝柱(2 g,1 cm),用 50% 乙醇 50 mL 洗脱,蒸干洗脱液,残渣用 5 mL 水溶解,滤过,残渣再用水洗涤 2 次,每次 5 mL,滤过,合并滤液,过 Alltech C<sub>18</sub> 柱,用 10 mL 水洗脱,再用 30% 甲醇、甲醇各 15 mL 洗脱,

收集甲醇洗脱液,蒸干,残渣加甲醇溶解,制成 2 mL 溶液作为供试品溶液。吸取各供试品溶液 20 μL,分别以条带状点于同一硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂预制板)上,以甲苯-冰醋酸-水(7.5:2.5:0.25)的上层为展开剂,预饱和 30 min 后,展开 14 cm,取出,晾干,喷以 5% 磷钼酸乙醇溶液,在 90 ℃ 加热 5 min 至斑点显色清晰。结果在试验的 10 批绒毛诃子与 13 批诃子的薄层色谱中,绒毛诃子与诃子除有清晰相同的 A 斑点外,其余诃子的斑点,绒毛诃子几乎没有,差异非常大(图 2)。

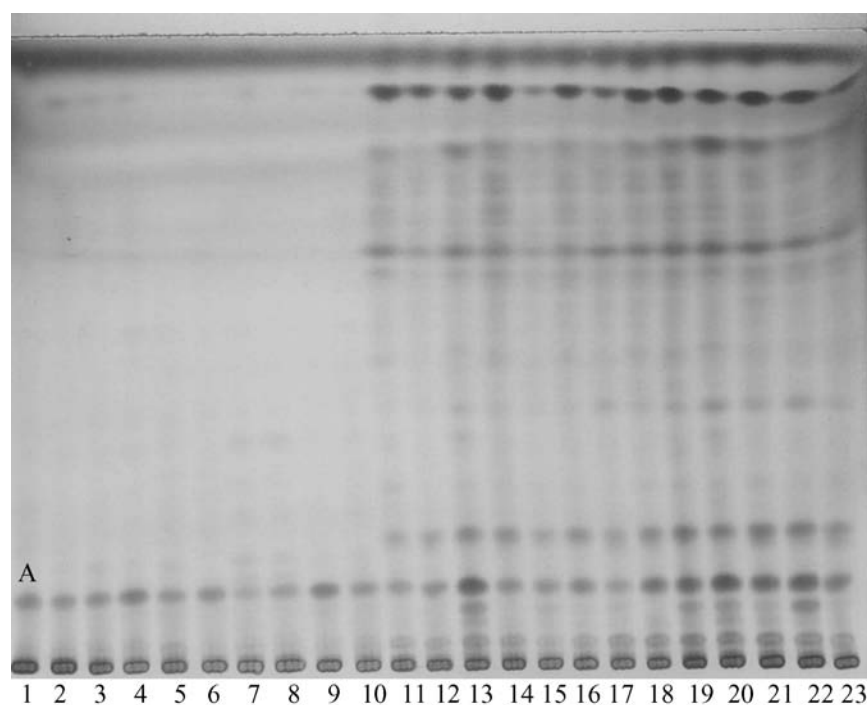


图 2 绒毛诃子与诃子三萜类成分薄层色谱

1 ~10. 云南绒毛诃子(1. 施甸县 号;2. 施甸县 号;3. 昆明一心堂药店;4. 永德县永康镇;5. 永德县益寿堂药店;6. 保山市大药房;7. 施甸旧城;8. 西双版纳;9. 昆明市菊花园;10. 龙陵县勐兴镇);11 ~23. 诃子(11. 广州笋岗镇;12. 深圳友和药店;13. 珠海;14. 泰国进口;15. 江西樟树;16. 广西产;17. 广东康美;18. 珠海济生药店;19. 香港余仁生药店;20. 广州笋岗镇;21. 广州北京路药店;22. 广州市同健药店;23. 广州康利堂药店)

### 2.3 没食子酸含量测定

**2.3.1 色谱条件** ZY1104-型液相色谱柱,填料为 Kromasil-C<sub>18</sub>(4.6 mm ×250 mm,5 μm,北京分析仪器厂出品)。检测波长 268 nm。流动相 0.4% 三乙醇胺水溶液-0.4% 磷酸水溶液(50:50)。流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。柱温 25 ℃。没食子酸色谱峰相互分离度大于 1.5。理论板数按没食子酸计算不低于 3 000。

**2.3.2 流动相选择** 通过流动相选择试验,认为以 0.4% 三乙醇胺水溶液-0.4% 磷酸水溶液(50:50)作为流动相,诃子中没食子酸分离效果较好,与杂峰达到基线分离。见图 3。

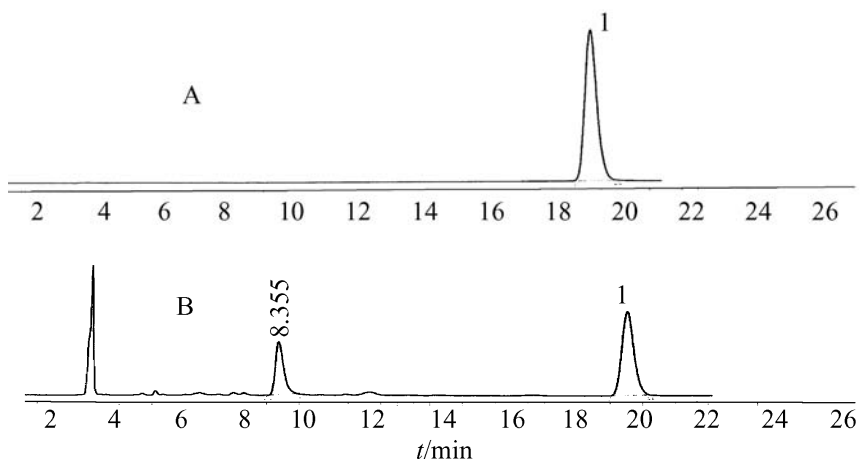


图 4 诃子药材高效液相色谱  
A. 对照品; B. 诃子样品; 1. 没食子酸

**2.3.3 6%, 8%, 10% 盐酸水解比较试验** 诃子中没食子酸主要以结合形式存在, 测定时必须进行酸水解。参考有关文献, 选择 6%, 8%, 10% 盐酸溶液进行了水解比较, 测定, 10% 盐酸水解诃子, 测得没食子酸含量最高。

**2.3.4 提取时间选择** 取样品数份, 加入甲醇, 分别回流提取 30, 60, 90 min, 按样品测定方法制备样品溶液, 进行测定, 回流提取 60 min, 可将诃子中没食子酸提取完全。

**2.3.5 水解时间选择** 取样品数份, 加入甲醇提取, 取续滤液 2 mL, 蒸干, 残渣加 10% 盐酸溶液, 分别水解 1, 2, 3, 4, 5 min, 制备样品溶液, 进行测定, 水解 4 min, 没食子酸含量最高, 故采用 4 min 作为水解时间。

**2.3.6 对照品溶液的制备** 精密称取没食子酸 5 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密吸取此溶液 2.5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加水稀释刻度, 摇匀, 即得  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.3.7 供试品溶液的制备** 取本品粉末(80 目)约 60 mg, 精密称定, 置 50 mL 圆底烧瓶中, 精密加甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 2 mL, 置 50 mL 圆底烧瓶中, 挥去甲醇, 残渣加 10% 盐酸溶液 5 mL, 沸水浴中加热水解 4 h, 取下, 冷却至室温, 移至 25 mL 量瓶中, 用水定溶至刻度, 摇匀, 滤过(0.45  $\mu\text{m}$  滤膜), 即得。

**2.3.8 标准曲线考察** 精密吸取没食子酸对照品水溶液( $0.0984 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 得没食子酸系列对照品溶液, 精密吸取 20  $\mu\text{L}$  注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 以对照品进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程为  $Y = 3490.27X - 19.585$ ,  $r = 0.9999$ , 线性范围在  $0.0984 \sim 0.9840 \mu\text{g}$ 。

**2.3.9 精密度试验** 精密称诃子样品, 制成供试品溶液, 重复进样 5 次, 测定峰面积, 结果 RSD 1.02%。

**2.3.10 稳定性试验** 精密称取诃子样品, 制成供试品溶液, 分别于制备后 0, 3, 6, 9, 12, 24 min 进行测定, 结果表明没食子酸在 24 h 内基本稳定, RSD 1.39%。

**2.3.11 重复性试验** 精密称取诃子样品, 制成供试品溶液, 进行测定, 求得平均含量 13.56%, RSD 2.01%, 说明含测方法可行。

**2.3.12 回收率试验** 采用加样回收法, 精密称取没食酸对照品 4.13, 4.17, 4.08, 4.09, 4.17, 4.08 mg 6 份, 再分别加入精密称取已知含量的诃子样品约 30 mg 6 份, 制成供试品溶液, 进行测定, 以下式计算回收率, 结果见表 2。

表 2 诃子中没食子酸回收率测定

No.	称样量 /mg	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测出量 /mg	检出量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	30.33	4.1127	4.13	8.3703	4.2576	103.09	100.69	2.21
2	30.56	4.1440	4.17	8.4328	4.2888	102.85		
3	30.45	4.1290	4.08	8.1797	4.0507	99.28		
4	30.21	4.0965	4.09	8.2406	4.1441	101.32		
5	30.46	4.1304	4.17	8.3141	4.1837	100.33		
6	30.04	4.0694	4.08	8.0375	3.9681	97.26		

**2.3.13 测定** 分别精密吸取上述对照品溶液与供试品溶液各 20  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 测定, 即得。收集、采集各地药材中没食子酸含测结果见表 3。

表 3 诃子和绒毛诃子药材中没食子酸测定 %

药材名称	样品来源	没食子酸
诃子	广东珠海济生药店	13.56
诃子	广东珠海药店	7.81
诃子	广州同健医药	16.22
诃子	广州北京路药店	16.43
诃子	广州康利堂药店	13.61
诃子	深圳友和医药药店	18.07
诃子	香港余仁生药店	11.27
诃子	广东康美医药	16.81
诃子	广州(泰国进口)	7.96
诃子	广州(广西产)	10.65
诃子	江西樟树	17.76
诃子	广州(自采)	5.81
绒毛诃子	昆明一心堂药店	3.52
绒毛诃子	云南施甸县医药公司 1	3.01
绒毛诃子	云南施甸县医药公司 2	4.96
绒毛诃子	云南保山永昌大药房	3.93
绒毛诃子	云南永德永康镇(自采)	4.17
绒毛诃子	云南永德县益寿堂	4.27
绒毛诃子	云南龙陵县勐兴镇(自采 1)	4.58
绒毛诃子	云南龙陵县勐兴镇(自采 2)	3.95
绒毛诃子	云南龙陵县旧城乡(自采)	2.44
绒毛诃子	昆明市菊花园饮片市场	2.81
绒毛诃子	山西大同市药店	3.47

### 3 讨论

本文通过对诃子中主要成分没食子酸的含量分析试验, 系统考察了样品制备条件及液相色谱测定条件, 建立的含量测定方法, 该方法能够对诃子中没食子酸进行准确的定量, 结果可靠, 重复性好。

从所测定的 13 批诃子与 11 批绒毛诃子中没食子酸的含量数据来看, 诃子中没食子酸含量都高于绒毛诃子, 有的甚至高 7 倍多。结果证明诃子与绒毛诃子中的没食子酸含量相差悬殊, 诃子高于绒毛诃子 3.6 ~7.2 倍; 按三萜类成分的提取方法, 制备样品溶液, 薄层分析结果发现绒毛诃子与诃子的斑点明显不同, 具有两者鉴别作用。

经直接薄层试验表明, 绒毛诃子可见到没食子酸的斑点, 但诃子大部分样品的没食子酸斑点不清晰, 说明诃子所含没食子酸主要以结合型存在, 其游离型含量很低。另采用甲醇或乙醇的提取液, 由于杂质多, 不能够加大点样量, 容易产生严重拖尾现象, 得不到集中的鉴别斑点。根据其性质性质, 经多次试验后采用甲醇提取, 再对提取物进行水解, 采用乙酸乙酯萃取制得样品溶液, 又经过不同展开剂选择甲苯-醋酸乙酯-甲酸(3 5.4 0.6), 甲苯-甲酸乙酯-甲酸(10 5 1), 氯仿-甲醇-甲酸(10 3 2), 氯仿-乙酸乙酯-甲酸(6 4 1), 最后以氯仿-乙酸乙酯-甲酸(6 4 1) 作为展开剂, 没食子酸得到了比较好的试验结果, 但不能将两个品种加以鉴别。

借鉴文献<sup>[3]</sup>, 对诃子中三萜类成分进行薄层分析, 采用 10% 硫酸乙醇溶液显色, 在紫外光灯(365 nm) 下观察色谱带。经试验不能得到诃子与绒毛诃子的区别斑点, 而且硫酸显色, 重复性不好, 有的斑点忽有忽无。通过反复摸索采用 5% 磷钼酸乙醇溶液显色, 诃子与绒毛诃子的薄层色谱呈现不同, 可得到清晰的色谱斑点, 专属性较强, 可以达到鉴别目的。民间用诃子我国大约有 4 个品种, 现药典规定两个正品, 因此市场上可见大诃子等伪品<sup>[6]</sup>, 我们也发现广东市场上就有伪品出现, 因此研究专属性强的定性定量鉴别方法及标准, 以利于有关部门监督管理, 保证药材质量。

### [参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 173.
- [2] 卢普平, 刘星锴, 李兴从, 等. 诃子三萜成分研究[J]. 植物学报, 1992, 34(2): 126.
- [3] 卢平华, 颜玉贞. 诃子质量标准研究[J]. 中药新药与临床药理, 2002, 13(6): 385.
- [4] 傅乃斌, 郭蓉, 刘福成, 等. 诃子鞣质和五倍子鞣酸抑制体内亚硝酸胺生成和对抗活性氧作用[J]. 中草药, 1992, 23(11): 585.
- [5] 杜平华, 朱世真, 吕品. 20 种中药材对幽门螺旋杆菌体外抗菌活性研究[J]. 中药材, 2001, 24(3): 188.
- [6] 徐鸿华, 陈建南, 赖小平, 等. 中药诃子的药源调查及商品鉴定[J]. 中药材, 1996, 19(3): 125.

[责任编辑 顾雪竹]