

# HPLC法测定儿茶配方颗粒中儿茶素和表儿茶素的含量<sup>△</sup>

张特利\*,李军山,李振江(神威药业集团有限公司,石家庄 051430)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)15-2114-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.15.36

**摘要** 目的:建立同时测定儿茶配方颗粒中儿茶素和表儿茶素含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Shim-pack CLC-ODS-C<sub>18</sub>,流动相为0.04 mol/L枸橼酸溶液-N,N-二甲基甲酰胺-四氢呋喃(45:8:2,V/V/V),流速为1.0 ml/min,柱温为35℃,检测波长为280 nm。结果:儿茶素和表儿茶素的进样量分别在0.301 6~1.508 0、0.202 0~1.010 0 μg范围内与各自峰面积呈良好的线性关系( $r=0.999 9$ 、 $0.999 8$ );精密度、稳定性、重复性试验的RSD均 $<2\%$ ;平均加样回收率分别为96.60%(RSD=1.46%, $n=9$ )、96.36%(RSD=1.30%, $n=9$ )。结论:该方法简便、准确、重复性好,可用于测定儿茶配方颗粒中儿茶素和表儿茶素的含量。  
**关键词** HPLC;儿茶配方颗粒;儿茶素;表儿茶素

## Content Determination of Catechin and Epicatechin in Catechu Dispensing Granules by HPLC

ZHANG Te-li, LI Jun-shan, LI Zhen-jiang (Shineway Pharmaceutical Group Co., Ltd., Shijiazhuang 051430, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for content determination Catechu dispensing granules. METHODS: HPLC was conducted with the column of Shim-pack CLC-ODS-C<sub>18</sub>. The mobile phase was 0.04 mol/L citric acid-N,N-two methyl formamide-tetrahydrofuran(45:8:2, V/V/V), flow rate was 1.0 ml/min, column temperature was 35℃ and detecting wavelength was 280 nm. RESULTS: There was a good linear relationship between the volume of catechin and peak area in the range of 0.301 6-1.508 0 μg ( $r=0.999 8$ ) and epicatechin in the range of 0.202 0-1.010 0 μg ( $r=0.999 8$ ). The RSDs of precision, stability, repeatability test were less than 2%; the average recovery was 96.60% (RSD=1.46%,  $n=9$ ), 96.36% (RSD=1.30%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and repeatable, and can be used for the content determination of catechin and epicatechin in Catechu dispensing granules.

**KEYWORDS** HPLC; Catechu dispensing granules; Catechin; Epicatechin

儿茶最早见于《本草纲目》,为豆科合欢属植物儿茶树 *Acacia catechu* (L.f.) Willd. 的去皮枝、干的干燥煎膏<sup>[1]</sup>。其常用于治疗溃疡不敛、湿疹、口疮、跌扑伤痛、外伤出血。儿茶配方颗粒由儿茶饮片经提取浓缩制成,其质量控制方面的报道相对较少。本文参考有关文献<sup>[2-5]</sup>,采用高效液相色谱(HPLC)法对儿茶配方颗粒中儿茶素和表儿茶素的含量进行了测定。

## 1 材料

LC-10A型HPLC仪,包括SPD-10A型紫外检测器、化学工作站(日本岛津公司);AE240电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo有限公司);JCX-250超声提取器(山东济宁超声电子仪器厂)。

儿茶素对照品(批号:110877-201203)、表儿茶素对照品(批号:878-201004)均由中国食品药品检定研究院提供。儿茶配方颗粒(神威药业集团有限公司,批号:14081107、14081108、14081109);其他试剂均为分析纯,水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件<sup>[6-10]</sup>

色谱柱:Shim-pack CLC-ODS-C<sub>18</sub>(150 mm×6.0 mm, 10 μm);流动相:0.04 mol/L枸橼酸溶液-N,N-二甲基甲酰胺-四氢

呋喃(45:8:2, V/V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:280 nm;柱温:35℃。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取儿茶素对照品、表儿茶素对照品,精密称定,加甲醇-水(1:1, V/V)混合溶液制成每1 ml含儿茶素0.15 mg、表儿茶素0.10 mg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液 取本品适量,研细,称取20 mg,精密称定,置于50 ml量瓶中,加甲醇-水(1:1, V/V)混合溶液40 ml,超声(功率:250 W,频率:50 kHz)处理20 min,并加甲醇-水(1:1, V/V)混合溶液至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 取缺儿茶的阴性样品0.5 g,按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液,即得。

### 2.3 系统适用性试验

分别取“2.2”项下阴性对照溶液、对照品溶液、供试品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,对系统适用性参数进行考察。结果,儿茶素和原儿茶素的理论板数分别为3 860、4 256,分离度为3.68。供试品溶液中儿茶素和表儿茶素峰与其他峰均能达到基线分离,且阴性对照溶液无干扰。色谱见图1。

### 2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液2、6、12、16、20 μl,按“2.1”项下色谱条件测定,记录峰面积,以进样量( $x, \mu\text{g}$ )为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标绘制标准曲线,得儿茶素的回归方程

<sup>△</sup> 基金项目:国家中医药管理局中医药科学技术研究专项课题(No.国中医药科2013ZX07);河北省科技计划项目(No.14272504D)

\* 工程师。研究方向:药物制剂。电话:0311-88030066。E-mail: zhangteli1995@sina.com

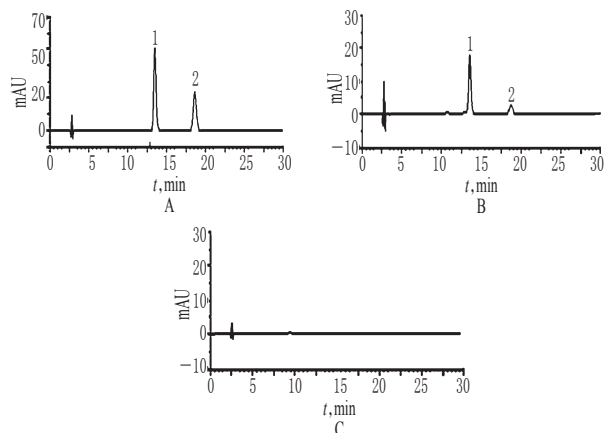


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.儿茶素;2.表儿茶素

Fig 1 HPLC chromatograms

A.control;B.test samples;C.negative control;1.catechin; 2. epicatechin  
为 $y=1\ 493\ 276x-8\ 894$  ( $r=0.999\ 9$ ),表儿茶素的回归方程为 $y=1\ 011\ 471x-5\ 233$  ( $r=0.999\ 8$ )。结果表明,儿茶素进样量在 $0.301\ 6\sim 1.508\ 0\ \mu\text{g}$ 、表儿茶素在 $0.202\ 0\sim 1.010\ 0\ \mu\text{g}$ 范围内与各自峰面积呈良好的线性关系。

### 2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液 $10\ \mu\text{l}$ ,按“2.1”项下色谱条件连续进样5次,记录峰面积。结果,儿茶素峰面积的RSD为 $0.80\%$ ,表儿茶素峰面积的RSD为 $1.0\%$ ,表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号:14081107),分别于放置 $0、2、4、6、8、10\ \text{h}$ 时按“2.1”项下色谱条件进样 $10\ \mu\text{l}$ ,记录峰面积。结果,儿茶素和表儿茶素峰面积的RSD均为 $0.5\%$ ,表明供试品溶液在 $10\ \text{h}$ 内稳定性良好。

### 2.7 重复性试验

称取同一批供试品(批号:14081107)适量,按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,计算各组分质量浓度。结果,儿茶素和表儿茶素质量浓度的RSD分别为 $0.62\%、1.02\%$ ,表明本方法重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(批号:14081107)适量,分别精密加入一定量的儿茶素和表儿茶素对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件下,平行9份,计算加样回收率,结果见表1、表2。

表1 儿茶素加样回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 1 Results of recovery test of catechin( $n=9$ )

样品中儿茶素的量,mg	加入儿茶素的量,mg	测得儿茶素的量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
2.325 7	1.998 4	4.238 9	95.74		
2.325 7	1.998 4	4.294 7	98.53		
2.325 7	1.998 4	4.263 6	96.97		
2.325 7	2.305 5	4.547 4	96.37		
2.325 7	2.305 5	4.568 2	97.27	96.60	1.46
2.325 7	2.305 5	4.485 3	93.67		
2.325 7	3.074 0	5.273 3	95.89		
2.325 7	3.074 0	5.317 6	97.33		
2.325 7	3.074 0	5.328 4	97.68		

### 2.9 样品含量测定

表2 表儿茶素加样回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 2 Results of recovery test of epicatechin( $n=9$ )

样品中表儿茶素的量,mg	加入表儿茶素的量,mg	测得表儿茶素的量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
0.554 8	0.302 4	0.845 4	96.10		
0.554 8	0.302 4	0.849 7	97.52		
0.554 8	0.302 4	0.845 9	96.26		
0.554 8	0.403 2	0.946 4	97.12		
0.554 8	0.403 2	0.945 0	96.78	96.36	1.30
0.554 8	0.403 2	0.933 6	93.95		
0.554 8	0.504 0	1.034 0	95.08		
0.554 8	0.504 0	1.049 1	98.08		
0.554 8	0.504 0	1.040 6	96.39		

取3批样品,精密加入对照品溶液适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以外标法计算样品含量,结果见表3。

表3 样品含量测定结果( $n=3, \text{mg/g}$ )

Tab 3 Results of content determination of samples ( $n=3, \text{mg/g}$ )

批号	儿茶素	表儿茶素
14081107	17.20	17.30
14081108	17.30	17.10
14081109	17.20	16.98

## 3 讨论

儿茶配方颗粒含量测定方面的报道很少,本文参考2010年版《中国药典》(一部)儿茶【含量测定】项下方法,建立了水溶性成分的含量测定方法,结果表明阴性对照无干扰、专属性强。

笔者还比较了提取溶剂(乙醇、甲醇)和提取方式(回流提取、超声提取)对提取效果的影响,最终确定以甲醇超声提取效果最好。

综上所述,本方法简便、准确、重复性好,可用于测定儿茶配方颗粒中儿茶素和表儿茶素的含量。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:9.
- [2] 潘燕,高明,刘占岭.不同产地儿茶的质量比较研究[J].辽宁中医杂志,2012,39(9):1 821.
- [3] 冯怡,李媛,付荣杰,等.儿茶及儿茶提取物的质量标准研究[J].中成药,2004,26(4):325.
- [4] 李杏翠,王洪庆,刘超,等.儿茶化学成分研究[J].中国中药杂志,2010,35(11):1 425.
- [5] 王淑敏,李惠琳,刘志强,等.儿茶药材中儿茶素和表儿茶素的高效液相色谱法分析研究[J].时珍国医国药,2006,17(4):490.
- [6] 王夏青,於洪建,赵余庆.干红葡萄酒中儿茶素、表儿茶素、白藜芦醇和原花青素的测定[J].中草药,2009,40(5):745.
- [7] 谭生建,贺业谦,李勉珊,等.HPLC法测定七厘散中儿茶素和表儿茶素的含量[J].解放军药学学报,2012,28(1):72.
- [8] 曲银锋,李松武,刘乃强,等.HPLC法测定小儿泻速停颗粒中儿茶素和表儿茶素的含量[J].食品与药品,2009,11(5):39.

# 柱前衍生化HPLC法测定不同基源金线莲多糖的单糖组成<sup>Δ</sup>

吴岩斌<sup>1\*</sup>, 张秀才<sup>1</sup>, 易骏<sup>2</sup>, 郑淑霞<sup>1</sup>, 吴建国<sup>1</sup>, 谭春江<sup>1</sup>, 吴锦忠<sup>1#</sup> (1. 福建中医药大学中西医结合研究院, 福州 350122; 2. 福建教育学院理科部, 福州 350001)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)15-2116-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.15.37

**摘要** 目的: 建立测定不同基源金线莲多糖中单糖组成的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Alltima-C<sub>18</sub>, 柱温为 30 ℃, 流动相为 0.1 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH=6.7)-乙腈 (83:17, V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 254 nm。结果: 花叶开唇兰多糖由甘露糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖组成, 其物质的量之比为 2.52:0.53:1.00:5.07:1.58; 台湾银线兰多糖由甘露糖、半乳糖醛酸、葡萄糖和半乳糖组成, 其物质的量之比为 1.10:0.50:1.00:1.92; 滇越金线兰多糖由甘露糖、葡萄糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖组成, 其物质的量之比为 2.95:0.28:0.53:1.00:9.30:2.26。甘露糖、半乳糖醛酸、半乳糖、葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖的进样量分别在 0.32~3.18 μg ( $r=0.999\ 9$ )、0.08~0.83 μg ( $r=0.999\ 9$ )、0.08~0.78 μg ( $r=0.999\ 9$ )、0.13~1.32 μg ( $r=0.999\ 9$ )、0.38~3.75 μg ( $r=0.999\ 8$ )、0.24~2.43 μg ( $r=0.999\ 7$ ) 范围内与各自峰面积呈良好线性关系; 精密性、重复性、稳定性试验的 RSD < 3%; 平均加样回收率分别为 99.34%、98.43%、99.79%、98.93%、99.50%、99.71% ( $n=6$ )。结论: 该方法简单、快速、分离效率高, 可用于测定不同基源金线莲多糖中的单糖组成。

**关键词** 金线莲; 多糖; 单糖; 高效液相色谱法

## Determination of the Monosaccharide Composition in *Anoectochilus Roxburghii* Polysaccharide from Different Origins by Pre-column Derivatization HPLC Method

WU Yan-bin<sup>1</sup>, ZHANG Xiu-cai<sup>1</sup>, YI Jun<sup>2</sup>, ZHENG Shu-xia<sup>1</sup>, WU Jian-guo<sup>1</sup>, TAN Chun-jiang<sup>1</sup>, WU Jin-zhong<sup>1</sup> (1. Academy of Integrative Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2. Dept. of Science, Fujian College of Education, Fuzhou 350001, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of the monosaccharide composition in *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide from different origins. METHODS: HPLC was conducted. The column was Alltima-C<sub>18</sub> with the mobile phase of 0.1 mmol/L phosphate buffer solution (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH=6.7)-acetonitrile (83:17, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min and the temperature was 30 ℃, the detection wavelength was 254 nm. RESULTS: *A. roxburghii* polysaccharides were composed of mannose, galacturonic acid, glucose, galactose and arabinose with a substance amount ratio of 2.52:0.53:1.00:5.07:1.58; *anoectochilus formosanus* polysaccharides were composed of mannose, galacturonic acid, glucose and galactose with a substance amount ratio of 1.10:0.50:1.00:1.92; *anoectochilus chapaensis* polysaccharides were composed of mannose, glucuronic acid, galacturonic acid, glucose, galactose and arabinose with a substance amount ratio of 2.95:0.28:0.53:1.00:9.30:2.26. There was a good linear relationship between the volume of mannose, glucuronic acid, galacturonic acid, glucose, galactose, arabinose and the peak area in the range of 0.32-3.18 μg ( $r=0.999\ 9$ ), 0.08-0.83 μg ( $r=0.999\ 9$ ), 0.08-0.78 μg ( $r=0.999\ 9$ ), 0.13-1.32 μg ( $r=0.999\ 9$ ), 0.38-3.75 μg ( $r=0.999\ 8$ ) and 0.24-2.43 μg ( $r=0.999\ 7$ ), respectively; the RSDs of precision, reproducibility and stability tests were less than 3%; the average recovery was respectively 99.34%, 98.43%, 99.79%, 98.93%, 99.50% and 99.71% ( $n=6$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, with high separating efficiency, and can be used for the determination of monosaccharide composition in *A. roxburghii* polysaccharide from different origins.

**KEYWORDS** *Anoectochilus roxburghii*; Polysaccharide; Monosaccharide; HPLC

金线莲 (*Anoectochilus roxburghii*) 为兰科开唇兰属植物, 是一种多年生的珍贵中草药, 喜阴湿环境, 常生长在山地林下

或沟谷阴湿处, 主要分布于我国浙江、江西、福建、云南和台湾等地<sup>[1]</sup>。金线莲在民间素有“药王”之美誉, 具有清热凉血、祛

[9] 龙潇鸿, 范卫东, 郑娇妮. HPLC法同时测定复方儿茶酞

Δ 基金项目: 福州市科技项目 (No.2014-G-61); 福建中医药大学校管科研课题 (No.X2014138-学科)

\* 助理研究员。研究方向: 中药活性成分及品质评价。电话: 0591-22861157。E-mail: wxsq1@163.com

# 通信作者: 教授。研究方向: 中药活性成分及品质评价。电话: 0591-22861611。E-mail: jinzhongfj@126.com

中儿茶素与原儿茶素的含量[J]. 中国药房, 2012, 23 (43): 4 093.

[10] 曲园, 张振秋, 张杰, 等. HPLC法同时测定儿茶青黛复合膜中4个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(10): 1 698.

(收稿日期: 2014-12-15 修回日期: 2015-01-25)

(编辑: 余庆华)