

HPLC 测定不同产地枫树叶中没食子酸的含量

陈梅荣, 王晖, 袁海铭(江西省药物研究所, 南昌 330029)

摘要:目的 建立高效液相色谱法测定不同产地枫树叶中没食子酸的含量。方法 色谱柱为 Alltima C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.05%磷酸溶液(4:96); 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 270 nm; 柱温为 30 ℃。结果 没食子酸进样浓度在 0.019 08~0.229 0 mg·mL⁻¹($r=0.999\ 6$)内与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为 101.52%, RSD 为 1.40%($n=6$)。结论 该方法简便、准确、重复性好, 可用于枫树叶的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 枫树叶; 没食子酸

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)09-0840-03

Determination of Gallic Acid in Leaf of Liquidambar taiwaniana Hance in Different Areas by HPLC

CHEN Meirong, WANG Hui, YUAN Haiming(*Jiangxi Province Institute of Materia Medica, Nanchang 330029, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the method of determination of gallic acid in Leaf of Liquidambar taiwaniana Hance in different areas. **METHODS** The chromatographic conditions included Alltima C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm) and the

作者简介: 陈梅荣, 女, 副研究员 Tel: (0791)8102554 E-mail: whcmr@sina.com

mobile phase consisted of acetonitril-0.05% phosphoric acid(4 : 96). Detection wavelength was at 270 nm. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. Column temperature was at 30 °C. **RESULTS** There was a good linear within the range of 0.019 08–0.229 0 mg·mL⁻¹ for Gallic acid with $r=0.999\ 6$. The average recovery was 101.52% with RSD=1.40%($n=6$). **CONCLUSION** The method is simple, accurate, reproducible and can be used for the quality control of Liquidambar taiwaniana Hance.

KEY WORDS: HPLC; leaf of Liquidambar taiwaniana Hance; gallic acid

枫树叶为金缕梅科植物枫香 *Liquidambar taiwaniana* Hance 的干燥叶, 本品性平、辛苦, 用于治疗急性胃肠炎、痢疾、产后风、小儿脐风、痈肿发背, 其富含鞣质^[1-2]。文献未见枫树叶中含没食子酸的报道, 本研究经薄层色谱及高效液相色谱识证明, 枫树叶酸水解液中含没食子酸。现代药理研究表明没食子酸具有多种药理活性^[3], 如抗菌、抗病毒等, 故没食子酸是其主要生物活性成分之一。现行的枫树叶药材标准中, 无含量测定项, 本试验采用高效液相色谱法测定本品中所含没食子酸的含量, 方法快速简便、准确可靠, 灵敏度高, 可为不同产地枫树叶的质量控制提供依据。

1 仪器与试剂

岛津高效液相色谱仪(包括 SCL-10A VP 控制器、LC-10AT VP 泵、SPD-10A VP 检测器、SIL-10AD VP 自动进样器、DGU-14A 脱气机、CTO-10AS VP 柱温箱、CLASS-VP 工作站); KQ-250 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司); Mettler M3 电子天平(梅特勒公司)。

没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110831-200302, 供含量测定用); 枫树叶(江西樟树药都中药饮片公司, 经本所朱良辉研究员鉴定, 均为金缕梅科植物枫香 *Liquidambar taiwaniana* Hance 的干燥叶); 乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其余所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Alltima C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05% 磷酸(4 : 96); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 270 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μL。理论板数按没食子酸峰计算应不低于 4 000。HPLC 图谱见图 1。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取没食子酸对照品适量, 加 50% 甲醇制成每 1 mL 约含 40 μg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备^[4]

取本品粉末(过三号筛)约 2 g, 精密称定, 置平底烧瓶中, 精密加入含 4% 盐酸的 50% 甲醇 100 mL,

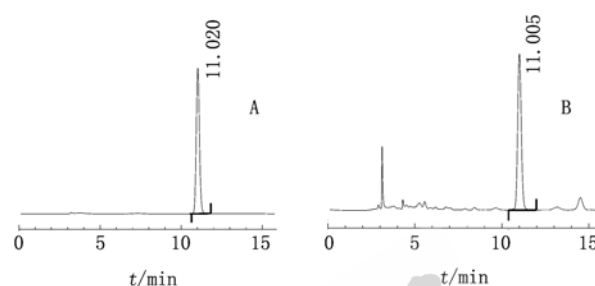


图 1 对照品及供试品 HPLC 图谱

A-对照品; B-供试品

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substance and sample

A-reference substance; B-sample

称定重量, 加热回流 4 h, 取出, 放冷, 再称定重量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 线性关系的考察

取没食子酸对照品约 10 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 从中分别精密吸取 0.5, 1, 2, 3, 4, 6 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以峰面积(A)对进样量(C)进行线性回归, 得回归方程: $A=2\ 458\ 592.31C+99\ 558.89$, $r=0.999\ 6$, 表明没食子酸进样浓度在 0.019 08~0.229 0 mg·mL⁻¹ 内与峰面积有良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取没食子酸对照品溶液 20 μL, 重复进样 6 次, 测定峰面积, 结果 RSD 为 0.37%。

2.6 稳定性试验

取供试品溶液, 分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 测定, 结果 RSD 为 0.82%, 表明样品溶液在 10 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批号样品 6 份, 精密称定, 依法平行测定, 结果没食子酸平均含量为 0.183%, RSD 为 0.89%。

2.8 加样回收试验

取已知含量的样品 6 份, 精密称定, 分别精密

加入没食子酸对照品适量，依法测定，计算平均回收率为 101.52%，RSD 为 1.40%，结果见表 1。

表 1 枫树叶中没食子酸加样回收试验结果
Tab1 Results of recovery of gallic acid in Leaf of Liquidambar taiwaniana Hance

取样量/g	样品中含量/mg	对照品加入量/mg	测得总量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1.036 4	1.897	1.851	3.761	100.69	101.52	1.40
1.007 8	1.844	1.843	3.676	99.40		
1.008 1	1.845	1.798	3.693	102.76		
1.024 3	1.874	1.839	3.776	103.31		
1.045 5	1.913	1.883	3.818	101.15		
1.011 6	1.851	1.805	3.689	101.78		

2.9 样品测定

取不同产地的枫树叶 10 批，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，依上述色谱条件测定没食子酸含量，结果见表 2。

表 2 不同产地枫树叶中没食子酸含量测定结果(n=3)
Tab 2 Results of determination of gallic acid in Leaf of Liquidambar taiwaniana Hance in different areas(n=3)

药材产地	没食子酸含量/%	RSD/%
福建 1	0.299	0.95
福建 2	0.183	1.21
江西 1	0.243	1.06
江西 2	0.171	0.84
江西 3	0.205	1.17
安徽 1	0.314	1.62
安徽 2	0.212	0.96
安徽 3	0.269	1.38
贵州 1	0.187	1.04
贵州 2	0.213	1.29

3 讨论

在流动相选择时，曾比较了乙腈-磷酸、乙腈-冰醋酸系统及不同比例乙腈-磷酸系统，最终确定以乙腈-0.05%磷酸(4：96)为流动相，能使没食子酸达到基线分离，且其他成分对测定无干扰。

样品前处理时，进行了超声提取、加热回流及不同加热回流时间比较试验，结果发现加热回流含量较高，且加热回流提取 4 h，基本可以提取完全。

检测波长确定时，取没食子酸对照品溶液，在紫外 200 nm~400 nm 波长范围内进行扫描，结果没食子酸在 270 nm 波长处有最大吸收，因此确定检测波长为 270 nm。

对 10 批不同产地枫树叶样品进行测定，发现含量差异较大，提示产地会影响枫树叶中没食子酸的含量，而采摘季节、干燥及贮藏方式对其含量的影响则有待进一步研究。

REFERENCES

[1] Jiangxi Provincial Health Office. Standard Chinese Herbal Medicines in Jiangxi Province(江西省中药材标准)[S]. Jiangxi: Jiangxi Science and Technology Press, 1996: 130.
[2] Jiangsu New Medical College. Dictionary of Chinese Herbal Medicines(中药大辞典)[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1977: 1261.
[3] ZHONG Y T, WANG X L, MA L L. Studies on antimicrobial of liquidambar taiwaniana hance's leaf [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2007, 18(7): 1693-1694.
[4] NIE S P, WANG Y X, XIE M Y, et al. Determination of gallic acid in houerhuan anti-inflammatory capsule by HPLC [J]. Pract Clin J Integr Tradit Chin West Med(实用中西医结合临床), 2003, 3(2): 3-4.

收稿日期：2010-01-12