

高效液相色谱法测定扁桃叶中没食子酸的含量

黄祥远^{1*}, 戴航², 侯小涛², 周丽霞²

(1. 广西百色食品药品检验所, 广西百色 533000; 2. 广西中医学院, 广西南宁 530001)

[摘要] 目的: 建立扁桃叶中没食子酸的含量测定方法, 测定不同产地扁桃叶中没食子酸的含量。方法: 采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法, 外标法定量, Shim pack CLC-ODS柱分离; 流动相: 甲醇-0.5%冰醋酸(5:95); 检测波长: 267 nm; 柱温: 25℃; 流速: 1 mL·min⁻¹。结果: 没食子酸在进样量0.201 0 μg~1.005 μg范围内线性关系良好; 平均回收率101.7%, RSD=2.0% (n=5); 3批扁桃叶样品中没食子酸平均含量分别为0.250 4, 0.252 0, 0.249 9 mg·g⁻¹。结论: 所建立的RP-HPLC含量测定方法灵敏度高, 准确, 快速, 专属性强, 重复性好, 为控制扁桃叶的内在质量提供了指标和方法。

[关键词] 高效液相色谱法; 扁桃叶; 没食子酸; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)11-0007-02

扁桃叶系漆树科植物扁桃 *Mangifera persiciformis* C. Y. Wu et T. L. Ming 的干燥叶, 在我国南方地区有丰富的资源, 其化学成分有芒果苷、鞣皮素、原儿茶酸、没食子酸等^[1]。药理研究表明没食子酸体外对金黄色葡萄球菌、八叠球菌、伤寒杆菌、副伤寒杆菌A、流感病毒等有抑制作用^[2]; 具有较为肯定的抗肿瘤、杀锥虫等生物学作用^[3]。扁桃叶为广西地方习用药材, 尚未收载于药材标准, 亦未建立质量标准。本文采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定扁桃叶中没食子酸的含量, 为建立扁桃叶的质量标准和进一步研究开发扁桃叶提供科学依据。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪 Agilent 1100; 检测器: HP1100 Variable Wavelength Detector(190~600) nm 可变波长,

可编程紫外检测器; 超声仪(上海超声仪器厂); 0.45 μm 微孔滤膜。

没食子酸对照品由广西中医药研究所提供; 扁桃叶经广西中医学院周子静教授鉴定为 *Mangifera persiciformis* C. Y. Wue T. L. Ming 的干燥叶。乙酸为分析纯(洛阳市化学试剂厂), 水为去离子重蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温: 25℃; 流动相: 甲醇-0.5%冰醋酸(5:95); 流速1 mL·min⁻¹; 检测波长267 nm; 进样量10 μL。此条件下芒果苷理论塔板数不低于3 000。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品5.025 mg, 置25 mL量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 得浓度为0.201 0 mg·mL⁻¹溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取扁桃叶粗粉1 g, 精

[收稿日期] 2007-07-03

[通讯作者] * 黄祥远, Tel: (0776) 2822339

密称定, 置索氏提取器中, 加石油醚 50 mL, 回流 1 h, 弃去石油醚, 挥干石油醚后的药渣用 30 mL 水加热回流至无色, 提取液以水定容至 50 mL。

2.3 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 (0.201 0 mg·mL⁻¹) 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 离心, 进样 10 μL。以峰面积为纵坐标, 对照品进样量为横坐标进行线性回归, 得回归方程: $Y = 5.9546 \times 10^4 + 1.3729 \times 10^4 X$, $r = 0.9999$ ($n = 5$)。结果表明: 没食子酸在 (0.201 0~ 1.005) μg 范围内线性关系良好。

2.4 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液 10 μL, 重复进样 5 次, 记录没食子酸峰面积, RSD 为 2%

($n = 3$)。

2.5 稳定性试验 取同一批扁桃叶供试品溶液, 分别在 0, 3, 6, 9 h 测定, 没食子酸的峰面积的 RSD 为 1.2% ($n = 3$), 表明供试液在 9 h 内稳定。

2.6 重复性试验 取同一批样品共 5 份, 每份 1.0 g, 精密称定, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 测定并计算没食子酸含量, 结果没食子酸平均含量为 0.252 0 mg·g⁻¹, RSD 为 0.32%, 重复性好。

2.7 加样回收率试验 取已知含量的同一批样品 5 份, 每份约 1 g, 精密称定。分别精密加入对照品溶液 5 mL, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 依法测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 没食子酸加样回收率试验测定结果 ($n = 5$)

样品称样量 (g)	样品中没食子酸含量 (mg)	没食子酸加入量 (mg)	没食子酸测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1.022 0	0.257 6	0.201 0	0.462 0	101.0		
1.017 6	0.256 4	0.201 0	0.465 6	104.1		
1.024 0	0.258 0	0.201 0	0.468 0	104.5	101.7	2.0
1.011 2	0.254 8	0.201 0	0.455 6	99.9		
0.999 6	0.251 8	0.201 0	0.454 2	100.7		

2.8 样品测定 分别精密吸取对照品溶液和扁桃叶供试品溶液 10 μL 进样, 重复测定 3 次, 求没食子酸峰面积的平均值, 按外标一点法计算含量, 结果 3 批样品中没食子酸平均含量分别为 0.250 4, 0.252 0, 0.249 9 mg·g⁻¹。

3 讨论

本试验研究首次建立了测定扁桃叶中没食子酸含量方法, 并测定了本地扁桃叶中没食子酸的含量。本法灵敏、快速、准确, 为控制扁桃叶的内在质量提供了指标和方法。

直接采用水回流提取, 所得样品液经 HPLC 分析, 杂质干扰严重, 分离效果不佳。经石油醚处理后样品杂质干扰少, 回收率高, 分离效果满意。

没食子酸的水溶液的紫外光谱图显示其具有 2 个吸收峰, 波长分别在 204 nm 和 267 nm 左右, 由于 204 nm 太接近紫外的边界, 且流动相系统中的乙酸在 204 nm 附近有一非常显著的吸收峰, 为避免流动相对含量测定的干扰, 故采用 267 nm 做为检测波长。

据文献报道, 测定其它植物中没食子酸含量所用流动相有: 乙腈-0.032 mol·L⁻¹四丁基硫酸氢氨-水 (5: 15: 80), 甲醇-0.025 mol·L⁻¹磷酸 (15: 85), 0.2% 甲醇/乙腈-0.1% 磷酸和 0.1% 三乙胺 (3: 97), 水-四氢呋喃-冰醋酸-甲醇 (154: 40: 1: 5) 等。本实验采取甲醇与冰醋酸作为流动相, 流动相中甲醇和冰醋酸的比例对样品中物质的分离度及保留时间影响较大, 随乙酸的增加分离度减小。通过甲醇与冰醋酸不同比例试验, 最后确定甲醇: 0.5% 冰醋酸 (5: 95), 对没食子酸的分离效果好。

[参考文献]

[1] 黄海滨, 戴航, 李学坚, 等. RP-HPLC 法测定不同产地扁桃叶中芒果苷的含量[J]. 广西中医药, 2004, 27(2): 52.

[2] 张颖, 张立木, 高允升, 等. 高效液相色谱法测定翻白草中没食子酸含量[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(3): 355.

[3] 李肖玲, 崔岚, 祝德秋, 等. 没食子酸生物学作用的研究进展[J]. 中国药师, 2004, 7(10): 767.