

HPLC法同时测定余甘子中5种成分的含量及主成分、聚类分析^Δ

李琦^{1*},裴河欢^{2,3},李静^{2,3},罗亚虹^{1#}(1.桂林市食品药品检验所,广西桂林 541012;2.钦州市中医医院科研科,广西钦州 535000;3.钦州市中医药研究所,广西钦州 535000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)11-1491-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.11.13

摘要 目的:建立同时测定余甘子中5种成分含量的方法,同时对广西不同产地余甘子中5种多元酚类成分的含量进行主成分分析和聚类分析。方法:采用高效液相色谱法测定余甘子中没食子酸、没食子儿茶素、柯里拉京、诃子联苯酸、鞣花酸的含量。色谱柱为Agilent Eclipse XDB,流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为220 nm,柱温为25℃,进样量为20 μL。对含量测定结果进行主成分分析和聚类分析。结果:没食子酸、没食子儿茶素、柯里拉京、诃子联苯酸、鞣花酸检测质量浓度线性范围分别为1.994~31.90、0.159 8~2.556、4.533~45.33、14.75~88.49、2.956~47.30 μg/mL(r 均 ≥ 0.999 8);检测限分别为0.025 6、0.027 1、0.052 9、0.186 7、0.133 1 μg/mL,定量限分别为0.085 1、0.089 3、0.170 6、0.615 2、0.441 9 μg/mL;精密度、稳定性(24 h)、重复性试验的RSD均 $< 2.0\%$ ($n=6$ 或 $n=7$);加样回收率为96.19%~101.49%,RSD为0.98%~1.41% ($n=6$)。12批样品有3个主成分,可聚为2类,其中广西玉林市容县的余甘子综合主成分得分最高,药材质量较好。结论:建立的方法操作简便、结果准确可靠,可用于余甘子中没食子酸、没食子儿茶素、柯里拉京、诃子联苯酸、鞣花酸含量的同时测定;广西不同产地余甘子质量有差异。

关键词 余甘子;高效液相色谱法;含量测定;主成分分析;聚类分析

Simultaneous Determination of 5 Constituents in *Phyllanthus emblica* by HPLC and Its Principal Component and Cluster Analysis

LI Qi¹, PEI Hehuan^{2,3}, LI Jing^{2,3}, LUO Yahong¹(1.Guilin Institute of Food and Drug Inspection, Guangxi Guilin 541012, China; 2.Dept. of Science Research, Qinzhou Hospital of TCM, Guangxi Qinzhou 535000, China; 3. Qinzhou Institute of TCM, Guangxi Qinzhou 535000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of 5 constituents in *Phyllanthus emblica*, and to conduct principal component analysis and cluster analysis of contents of 5 polyphenolic constituents in *P. emblica* from different producing areas of Guangxi. METHODS: HPLC method was adopted to determine the contents of gallic acid, epigallocatechin, corilagin, terminalia biphenyl acid and ellagic acid in *P. emblica*. The determination was performed on Agilent Eclipse XDB column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 220 nm, and column temperature was 25℃. The sample size was 20 μL. The results of content determination was processed by principal component analysis and cluster analysis. RESULTS: The linear range of gallic acid, gallo catechin, corilagin, chebulagic acid and ellagic acid were 1.994-31.90, 0.159 8-2.556, 4.533-45.33, 14.75-88.49, 2.956-47.30 μg/mL ($r \geq 0.999$ 8), respectively. The limits of detection were 0.025 6, 0.027 1, 0.052 9, 0.186 7, 0.133 1 μg/mL; the limits of quantitation were 0.085 1, 0.089 3, 0.170 6, 0.615 2, 0.441 9 μg/mL, respectively. RSDs of precision, stability (24 h) and reproducibility tests were all $< 2.0\%$ ($n=6$ or $n=7$). The average recoveries were 96.19%-101.49% (RSD=0.98%-1.41%, $n=6$). 12 batches of samples had 3 main components. They could be divided into 2 categories. *P. emblica* from Rong county of Yulin city in Guangxi Zhuang Autonomous Region had highest comprehensive principal component score and best quality. CONCLUSIONS: Established method is simple, accurate and reliable, and can be used for the simultaneous determination of gallic acid, gallo catechin, corilagin, chebulagic acid and ellagic acid in *P. emblica*. The quality of *P. emblica* from different producing areas in Guangxi is different.

KEYWORDS *Phyllanthus emblica*; HPLC; Content determination; Principal component analysis; Cluster analysis

余甘子为大戟科植物余甘子(*Phyllanthus emblica* L.)的干燥成熟果实,异名油甘子、牛甘子、喉甘子、鱼木

Δ 基金项目:广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项课题(No. GZYZ1137)

* 主管药师。研究方向:中药成分分析及质量控制。E-mail: gas-tonl@163.com

通信作者:主任药师。研究方向:药品检验和质量标准。E-mail: yhluo-001@163.com

果等,是一味传统民族药,主要分布于福建、广东、广西等地。其以果实入药,主治血热血瘀、消化不良、腹胀、咳嗽、喉痛等症^[1-2]。现代药理研究表明,余甘子中富含的多元酚类化合物具有抗氧化作用,能减轻自由基对机体的损伤,缓解疲劳^[3-4]。文献[5-7]报道了同时测定余甘子中3~4种多元酚类化合物的含量。为提高余甘子质量控制标准,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法同

时测定广西余甘子中5种多元酚类化合物的含量,并对广西12个采集地余甘子中所含5种多元酚类化合物的含量进行主成分分析和聚类分析^[8-14],将复杂的多指标转化为少数代表性的综合指标,从而识别药材质量的优劣和产地的规律性,为余甘子药材质量控制和综合评价提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent1260 Infinity II HPLC仪,包括G7115A二极管阵列宽波长范围检测器、G7129A自动进样器、G7111B四元梯度泵(美国Agilent公司);XS205DU电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);101-1-BS-II鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械有限公司);DTA-42超声波清洗机[鼎泰(湖北)生化科技设备制造有限公司];Simplicity超纯水系统(德国Merck Millipore公司)。

1.2 试剂

没食子酸对照品(批号:110831-201605,纯度:90.8%)、柯里拉京对照品(批号:111623-200301,纯度:100%)、鞣花酸对照品(批号:111959-201602,纯度:89.3%)均购自中国食品药品检定研究院;没食子儿茶素对照品(批号:PRF7081801,纯度:98%)、诃子联苯酸对照品(批号:PRF8032222,纯度:92%)均购自成都普瑞法科技开发有限公司;乙腈、磷酸为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

1.3 药材

药材来源见表1。所有样品经挑选,为饱满、质实、无虫霉者。经广西中医药大学药学院刘寿养副教授鉴定均为大戟科植物余甘子(*Phyllanthus emblica* L.)的新鲜成熟果实。将挑选后的样品用超纯水洗净,干燥,去核,粉碎制成直径为0.5~0.8 cm的粗颗粒,充分混合均匀,再按四分法取样,每份约200 g,备用。

生品:取余甘子粗颗粒,粉碎,过四号筛,混合均匀,备用。

表1 药材来源

Tab 1 Sources of *P. emblica*

样品编号	采集地	采集时间
S1	广西梧州市藤县太平镇	2017年9月
S2	广西梧州市藤县太平镇	2017年10月
S3	广西梧州市藤县太平镇	2017年10月
S4	广西梧州市藤县和平镇	2017年10月
S5	广西崇左市弄岗国家级自然保护区	2017年10月
S6	广西崇左市龙州县	2017年11月
S7	广西钦州市灵山县平南镇	2017年10月
S8	广西钦州市灵山县	2017年10月
S9	广西玉林市容县	2017年9月
S10	广西玉林市容县	2017年10月
S11	广西贵港市平南县官成镇	2017年9月
S12	广西百色市田林县	2017年10月

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Eclipse XDB(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~10 min,4% A;10~11 min,4%→6% A;11~25 min,6%→13% A;25~35 min,13%→14% A;35~36 min,14%→15% A;36~50 min,15%→17% A;50~60 min,17%→4% A);流速:1.0 mL/min;检测波长:220 nm;柱温:25℃;进样量:20 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备液 ①精密称取没食子酸对照品10.98 mg,置于50 mL棕色量瓶中,加50%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为199.4 μg/mL的对照品贮备液A。精密吸取对照品贮备液A 5 mL,置于25 mL棕色量瓶中,加50%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为39.88 μg/mL的对照品贮备液B。②精密称取没食子儿茶素对照品10.19 mg,置于100 mL棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密吸取5 mL,置于25 mL棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为19.97 μg/mL的对照品贮备液C。精密吸取对照品贮备液C 5 mL,置于50 mL棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为1.997 μg/mL的对照品贮备液D。③精密称取柯里拉京对照品15.11 mg,置于100 mL棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为151.1 μg/mL的对照品贮备液E。④精密称取诃子联苯酸对照品20.04 mg,置于50 mL棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为368.7 μg/mL的对照品贮备液F。⑤精密称取鞣花酸对照品16.55 mg,置于50 mL棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为295.6 μg/mL的对照品贮备液G。精密吸取对照品贮备液G 5 mL,置于50 mL棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为29.56 μg/mL的对照品贮备液H。

2.2.2 混合对照品溶液 分别精密吸取“2.2.1”项下对照品贮备液B、D、E、F、H各1 mL,置于同一10 mL棕色量瓶中,甲醇定容,制成含没食子酸、没食子儿茶素、柯里拉京、诃子联苯酸、鞣花酸质量浓度分别为3.988、0.199 7、15.11、36.87、2.956 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液 取“1.3”项下生品约0.1 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入50%甲醇50 mL,称定质量,超声(功率:900 W,频率:40 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用50%甲醇补足减失的质量,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3 系统适用性试验

取“2.2.2”项下混合对照品溶液和“2.2.3”项下供试品溶液(编号S5)适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,在该色谱条件下,各待测成分间与杂质峰间均能达到基线分离,分离度>1.5,其他成分对待测成分的测定无干扰,理论板数以没食子酸、没食子

儿茶素、柯里拉京、诃子联苯酸、鞣花酸峰计均>3 000, 色谱图见图1。

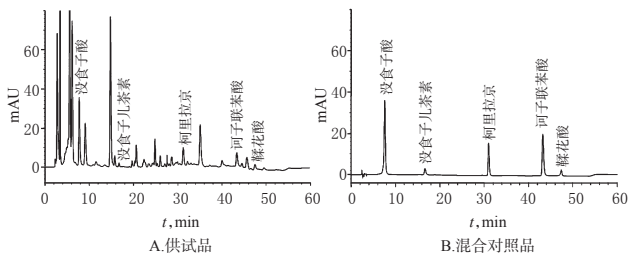


图1 高效液相色谱图
Fig 1 HPLC chromatograms

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品贮备液A 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mL,对照品贮备液C 0.4、0.8、1.6、3.2、6.4 mL,对照品贮备液E 1.5、3.0、6.0、12.0、15.0 mL,对照品贮备液F 2.0、4.0、8.0、10.0、12.0 mL,对照品贮备液G 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mL,分别置于50 mL棕色量瓶中,加甲醇定容,制成系列混合对照品溶液。精密量取上述系列混合对照品溶液各20 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以没食子酸、没食子儿茶素、柯里拉京、诃子联苯酸、鞣花酸质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归。线性关系考察结果见表2。

表2 线性关系考察结果

Tab 2 Results of linear range investigation			
待测成分	回归方程	r	线性范围, μg/mL
没食子酸	y=153.9x-65.42	0.999 8	1.994~31.90
没食子儿茶素	y=97.53x-0.207 5	0.999 9	0.159 8~2.556
柯里拉京	y=91.07x-103.4	0.999 8	4.533~45.33
诃子联苯酸	y=51.83x-474.3	0.999 8	14.750~88.49
鞣花酸	y=34.37x+0.291 7	0.999 9	2.956~47.30

2.5 检测限与定量限考察

取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为3:1时,得检测限;当信噪比为10:1时,得定量限。结果,没食子酸、没食子儿茶素、柯里拉京、诃子联苯酸和鞣花酸的检测限分别为0.025 6、0.027 1、0.052 9、0.186 7、0.133 1 μg/mL,定量限分别为0.085 1、0.089 3、0.170 6、0.615 2、0.441 9 μg/mL。

2.6 精密度试验

取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积,计算日内精密度;连续进样测定3 d,计算日间精密度。结果,没食子酸、没食子儿茶素、柯里拉京、诃子联苯酸、鞣花酸峰面积的日内精密度RSD分别为0.21%、0.88%、0.14%、0.20%、0.64%(n=6),日间精密度RSD分别为0.26%、1.42%、0.25%、0.24%、0.67%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.3”项下供试品溶液(编号S5)适量,分别于室

温下放置0、2、4、8、10、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,没食子酸、没食子儿茶素、柯里拉京、诃子联苯酸、鞣花酸峰面积的RSD分别为0.45%、0.63%、0.27%、0.57%、0.60%(n=7),表明供试品溶液在室温放置24 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

精密称取编号S5的生品约0.1 g,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并扣除生品(编号S5)含水量后,再计算含量。结果,没食子酸、没食子儿茶素、柯里拉京、诃子联苯酸、鞣花酸含量平均值分别为2.314 4、0.109 1、6.138 6、12.394 5、1.938 1 mg/g, RSD分别为0.76%、1.38%、0.55%、0.84%、1.02%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的“1.3”项下生品(编号S5)约0.05 g,共6份,分别加入一定体积的“2.2.1”项下对照品贮备液,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并扣除生品(编号S5)含水量计算,结果见表3。

表3 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 3 Results of recovery tests(n=6)							
待测成分	取样量, g	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
没食子酸	0.049 56	105.25	99.70	204.10	99.15	99.10	1.09
	0.050 98	108.27	99.70	207.67	99.70		
	0.051 06	108.44	99.70	208.97	100.83		
	0.050 92	108.14	99.70	206.38	98.54		
	0.050 56	107.37	99.70	204.75	97.67		
	0.050 84	107.97	99.70	206.38	98.71		
没食子儿茶素	0.049 56	4.96	4.99	9.90	99.00	98.13	1.27
	0.050 98	5.10	4.99	9.90	96.19		
	0.051 06	5.11	4.99	10.05	99.00		
	0.050 92	5.10	4.99	10.05	99.20		
	0.050 56	5.06	4.99	9.90	96.99		
	0.050 84	5.09	4.99	10.00	98.40		
柯里拉京	0.049 56	279.16	302.20	577.28	98.65	98.07	1.04
	0.050 98	287.16	302.20	581.67	97.46		
	0.051 06	287.61	302.20	587.71	99.31		
	0.050 92	286.82	302.20	582.77	97.93		
	0.050 56	284.79	302.20	582.77	98.60		
	0.050 84	286.37	302.20	577.83	96.45		
诃子联苯酸	0.049 56	563.66	553.05	1 101.96	97.33	98.19	0.98
	0.050 98	579.81	553.05	1 124.14	98.42		
	0.051 06	580.72	553.05	1 132.82	99.83		
	0.050 92	579.12	553.05	1 116.43	97.15		
	0.050 56	575.03	553.05	1 117.39	98.07		
	0.050 84	578.21	553.05	1 122.21	98.36		
鞣花酸	0.049 56	88.14	88.68	174.99	97.94	98.76	1.41
	0.050 98	90.66	88.68	177.90	98.38		
	0.051 06	90.81	88.68	180.81	101.49		
	0.050 92	90.56	88.68	177.90	98.49		
	0.050 56	89.92	88.68	176.45	97.58		
	0.050 84	90.41	88.68	177.90	98.66		

2.10 样品含量测定

各取12批生品约0.1 g,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并扣除12批生品中含水量后,再计算样品含量。结果显示,12批生品中,诃子联苯酸含量差异最小,其余4种成分含量差异较大,其中没食子酸含量高低相差近5倍,表明广西不同产地余甘子药材质量存在一定差异,结果见表4。

表4 样品含量测定结果(n=3,mg/g)

Tab 4 Results of contents determination of samples (n=3,mg/g)

样品编号	没食子酸	没食子儿茶素	柯里拉京	诃子联苯酸	鞣花酸
S1	9.303 1	0.331 9	5.082 0	12.954 4	3.659 5
S2	5.372 9	0.155 0	7.198 2	15.413 3	2.857 2
S3	6.658 4	0.191 0	5.850 3	11.876 9	1.897 0
S4	9.478 7	0.266 8	5.222 8	13.022 6	2.272 8
S5	2.314 4	0.109 1	6.138 6	12.394 5	1.938 1
S6	4.146 9	0.094 5	6.462 8	11.296 2	2.279 2
S7	2.096 8	0.102 8	4.184 9	13.513 6	2.045 1
S8	4.061 0	0.100 7	4.740 5	16.072 0	2.271 6
S9	7.167 3	0.378 3	5.697 3	13.705 2	2.342 1
S10	5.685 2	0.289 9	6.863 0	13.816 9	2.588 4
S11	9.375 0	0.187 5	4.589 1	11.181 1	5.271 7
S12	5.415 5	0.107 4	4.713 5	16.299 2	2.091 2

2.11 主成分分析

主成分分析具有降维思想,可以把多个指标转化为少数几个综合指标,使这些少数的综合指标又能尽量多地反映原来较多指标所反映的信息。通过SPSS 25.0软件对12批样品含量测定结果进行主成分分析。结果,特征值>0.95的前3个主成分累积方差贡献率为85.753%,能基本说明样本大部分信息,见表5、表6。主成分1贡献度最显著,其中没食子酸、没食子儿茶素、鞣花酸载荷较高,说明主成分1主要反映了这3种成分指标的信息;主成分2主要体现诃子联苯酸的信息;对主成分3贡献最大的是柯里拉京。根据各主成分得分进行综合评价,其综合得分(F)=0.513 1×F₁+0.265 4×F₂+0.221 5×F₃,结果发现所收集的样品中编号S9的综合得分(F)最高,药材质量较好,结果见表7。

表5 主成分特征值和方差贡献率

Tab 5 Characteristic value and variance contribution rate of principal component

主成分	初始特征值			主因子贡献率		
	特征值	方差贡献率,%	累积方差贡献率,%	特征值	方差贡献率,%	累积方差贡献率,%
1	2.200	43.997	43.997	2.200	43.997	43.997
2	1.138	22.756	66.753	1.138	22.756	66.753
3	0.950	19.000	85.753	0.950	19.000	85.753
4	0.533	10.663	96.416			
5	0.179	3.584	100.000			

2.12 聚类分析

为了考察广西余甘子中5种成分的含量差异与产地之间的相互关系,通过SPSS 25.0软件和欧式距离系数对12批样品进行聚类分析。当15<阈值<25时,可分

表6 主成分矩阵

Tab 6 Principal component matrix

待测成分	主成分		
	1	2	3
没食子酸	0.895	-0.233	-0.210
没食子儿茶素	0.913	0.019	0.208
柯里拉京	0.040	-0.076	0.936
诃子联苯酸	-0.056	0.940	-0.114
鞣花酸	0.490	-0.535	-0.449

表7 主成分得分综合评价结果

Tab 7 Results of comprehensive principal component evaluation

样品编号	F ₁	F ₂	F ₃	F	排序
S1	1.464 1	-0.233 0	-0.526 8	0.572 7	3
S2	0.042 6	0.606 4	1.068 1	0.419 4	5
S3	-0.131 5	-0.554 5	0.595 6	-0.082 7	7
S4	0.947 7	0.138 6	-0.104 9	0.499 8	4
S5	-1.307 8	-0.558 7	0.771 3	-0.648 4	10
S6	-1.104 4	-1.285 5	0.913 9	-0.705 4	11
S7	-1.382 9	0.164 2	-1.023 4	-0.892 6	12
S8	-0.687 9	1.293 1	-0.944 7	-0.219 0	8
S9	1.275 8	0.638 3	0.576 5	0.951 7	1
S10	0.631 2	0.260 9	1.323 3	0.686 2	2
S11	0.658 3	-1.967 3	-1.680 7	-0.556 6	9
S12	-0.405 2	1.497 3	-0.968 3	-0.025 0	6

为两类,第Ⅰ类:S11;第Ⅱ类:S1、S2、S3、S4、S5、S6、S7、S8、S9、S10、S12。结合主成分得分排序,可知S11质量稍差。当5<阈值<9时,可将第Ⅱ类细分为四类,第1类:S4、S9、S1,在表7评价排序中分别为第4、1、3位;第2类:S2、S10,在表7评价排序中分别为第5、2位,第1类和第2类又可聚成一类,说明这两类质量较好,可见排第1、2位广西玉林市容县的质量最好。第3、4类中S12、S3、S8、S5、S6、S7在表7评价排序中为第6~12位(第9位除外),说明这两类质量稍差,结果见图2。

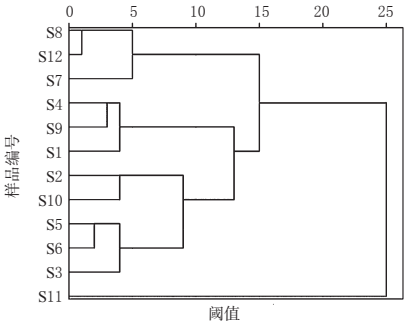


图2 聚类分析树状图

Fig 2 Cluster analysis tree diagram

3 讨论

笔者在预试验中考察了用25%甲醇、50%甲醇、甲醇对余甘子的超声提取率,结果其提取率分别为11%、19%、19%,结果显示50%甲醇和甲醇的超声提取率较高。因鞣花酸具水难溶性^[15],在低浓度甲醇中溶解性能较差,而高浓度甲醇提取出的杂质成分较多,检测易造成干扰,故采用50%甲醇作为提取溶剂。预试验二极管

阵列检测器图谱分析结果显示,没食子酸、没食子儿茶素、柯里拉京、诃子联苯酸和鞣花酸分别在 270、220、280、254 nm 波长处有最大吸收。在 220 nm 波长处基线平稳,色谱峰相互之间分离效果较好,且各峰形较好,故选择检测波长为 220 nm。当有机相选用甲醇时,流动相梯度洗脱过程中基线波动较大,而当乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相时,基线平稳,各色谱峰分离效果也较好,故选择乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相。

在化学结构上,多元酚类化合物是氢或电子供体,因具有酚类游离基中间体的共振非定域作用和没有适合分子氧进攻的位置,所以比较稳定,不会引起新的游离基或者因链反应而被迅速氧化^[16],因此具有抗氧化作用。另据文献^[17]报道,多元酚类化合物在余甘子中含量高达 12.9%,而没食子酸是余甘子中多元酚类化合物的主要成分。这与表 6 中没食子酸、没食子儿茶素在主成分 1 中载荷较高相一致。由表 4 可知,没食子酸含量在广西不同产地之间差异较大,梧州市藤县和平镇的没食子酸含量为 9.478 7 mg/g,而钦州市灵山县平南镇的没食子酸含量为 2.096 8 mg/g,相差近 5 倍,说明产地不同,化学成分的含量存在较大差异,为确保余甘子药材质量,应相对固定产地采收。经主成分分析,表 7 中 *F* 值越大说明余甘子中成分综合含量越高,质量越好,由此可知 S9 质量较好。经聚类分析,广西不同产地余甘子质量有差异。基本按地域性聚成 2 类,其中 1 类又可细分为四小类:玉林市容县、梧州市藤县等地区分别聚成质量较好的两小类,崇左市龙州县、钦州市灵山县及百色市田林县等地区分别聚成质量稍差的另两小类,该分类符合地域分布特征。但梧州市藤县个别地区与崇左市龙州县地区聚成一类,这也说明除不同分布区地理和气候因子影响外^[18],造成同一分布区质量差异还可能与当地的种植栽培条件等因素有关。

综上,本研究建立的方法操作简便、结果准确可靠,可用于余甘子中没食子酸、没食子儿茶素、柯里拉京、诃子联苯酸、鞣花酸含量的同时测定。另外,在同时测定余甘子中 5 种成分含量的基础上,结合主成分分析和聚类分析,提示广西不同产地余甘子质量有差异。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015 年版.北京:中国医药科技出版社,2015:179.
- [2] 南京中医药大学.中药大辞典[M]. 2 版.上海:上海科学技术出版社,2014:1387-1388.
- [3] 元旗,崔雅萍,梁文仪,等.藏药余甘子与诃子化学和药理作用比较[J].世界科学技术(中医药现代化),2016,18

(7):1171-1176.

- [4] 姜红,史亚军,赵生玉,等.基于偏最小二乘法对三果汤抗氧化作用谱-效关系的分析[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(3):8-12.
- [5] 沙磊,张兰珍,徐义侠,等. RP-HPLC 法测定余甘子中诃黎勒酸、没食子酸、粘酸-2-O-没食子酸酯的含量[J].药物分析杂志,2011,31(2):293-295.
- [6] 张鸿雁,沙磊,石任兵,等. RP-HPLC 法测定不同产地余甘子药材和鞣质有效部位中 3 种成分的含量[J].中华中医药杂志,2012,27(11):2834-2838.
- [7] 朱智芸,赵毅,邓林,等. UPLC 法测定余甘子中 4 种抗氧化活性成分的含量[J].中药材,2017,40(12):2894-2897.
- [8] 周利兵.统计学方法中的多元分析和灰色系统理论在化学中的应用研究[M].北京:北京理工大学出版社,2017:132-146.
- [9] 孙雪飞,张鸿雁,夏青,等.藏药余甘子药材及其鞣质部位的指纹图谱评价研究[J].中国中药杂志,2014,39(7):1173-1178.
- [10] 轩辕欢,魏敏,田红林,等. HPLC 法测定余甘子不同提取部位中没食子酸的含量[J].中国药房,2015,26(33):4743-4745.
- [11] 王元清,韩彬,向荣,等.总量统计矩结合聚类分析与主成分分析评价虎杖饮片一致性与差异性[J].中草药,2015,46(19):2863-2869.
- [12] 葛重宇,庞慧,李楠,等. 18 家企业阿胶中氨基酸的含量分析与比较研究[J].中国药房,2017,28(1):122-126.
- [13] 茆丽丽,魏岚,赵健,等.了哥王药材中 7 种成分的含量测定及其主成分、聚类分析[J].中国药房,2017,28(33):4706-4710.
- [14] 徐柯心,尹泽楠,张文婷,等.鸡骨草 UPLC 指纹图谱研究[J].药物分析杂志,2018,38(1):168-174.
- [15] 武花花.包埋技术在天然产物中的应用研究[D].北京:北京化工大学,2010.
- [16] 彭知云.没食子儿茶素电子等排体的合成及抑制尿素酶活性研究[D].吉首:吉首大学,2013.
- [17] KUMAR GS, NAYAKA H, DHARMESH SM, et al. Free and bound phenolic antioxidants in amla (*Embllica officinalis*) and turmeric (*Curcuma longa*) [J]. *J Food Compos Anal*, 2006, 19(5):446-452.
- [18] 熊仪俊,姚小华,王开良,等.我国余甘子地理气候分类及其特征分析[J].江西农业大学学报,2003,25(2):215-221.

(收稿日期:2018-01-12 修回日期:2018-03-31)

(编辑:余庆华)