

HPLC法测定余甘子不同提取部位中没食子酸的含量

轩辕欢^{1*},魏敏²,田红林¹,成杰^{3#}(1.新疆医科大学附属中医医院药学部,乌鲁木齐 830004;2.新疆医科大学第六附属医院药剂科,乌鲁木齐 830002;3.武警新疆总队医院药局,乌鲁木齐 830091)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)33-4743-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.33.48

摘要 目的:建立测定余甘子不同提取部位中没食子酸含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为ZORBAX Extend C₁₈,流动相为甲醇~0.1%磷酸(10:90, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为270 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:没食子酸检测质量浓度线性范围为0.042 5~0.212 5 mg/ml;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<3.0%;加样回收率为99.38%~102.14%(RSD=1.045, n=6)。余甘子中没食子酸为1.82%,各不同制备部位没食子酸含量为0.70%~2.38%。结论:该方法操作简便、重复性好,可用于余甘子不同提取部位中没食子酸含量的测定。

关键词 余甘子;高效液相色谱法;没食子酸

Content Determination of Gallic Acid in Different Preparation Parts of *Phyllanthus emblica* by HPLC

XUANYUAN Huan¹, WEI Min², TIAN Hong-lin¹, CHENG Jie³(1.Dept. of Pharmacy, Affiliated TCM Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830004, China; 2.Dept. of Pharmacy, the Sixth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830002, China; 3.Dept. of Pharmacy, Xinjiang Armed Police Corps Hospital, Urumqi 830091, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of gallic acid in different preparation parts of *Phyllanthus emblica*. METHODS: HPLC was performed on the column of ZORBAX Extend C₁₈ with mobile phase of methanol-0.1% phosphoric acid (10:90, V/V) at flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 270 nm, column temperature was 30 ℃ and the volume injection was 10 μl. RESULTS: The linear range of gallic acid was 0.042 5-0.212 5 mg/ml; RSDs of precision, accuracy and stability tests were lower than 3.0%; recovery was 99.38%-102.14% (RSD=1.045, n=6). The mass fraction of gallic acid in *P. emblica* was 1.80%, and the content of gallic acid in different preparation parts was 0.70%-2.38%. CONCLUSIONS: The method is simple, reproducibility, and can be used for the content determination of gallic acid in different preparation parts of *P. emblica*.

KEYWORDS *Phyllanthus emblica*; HPLC; Gallic acid

余甘子为大戟科植物余甘子 *Phyllanthus emblica* L.的干燥成熟果实^[1],二级干、一级寒^[2],味甘、酸、涩^[3],具有清热利咽、安神补心、润肺止咳、收敛止泻、开胃进食等功效^[4],其中没食子酸为其主要有效成分^[5]。目前,对于余甘子不同制备部位分离纯化的报道较少。为了加大余甘子药材的资源利用程度,本试验采用相关分离纯化技术制备了余甘子不同提取部位,并分析各提取部位中没食子酸的含量,以为余甘子的更深层次研究提供科学理论基础。

1 材料

1.1 仪器

1260型高效液相色谱仪,包括二级管阵列检测器(美国Agilent公司);721s型紫外分光光度计(上海精科仪器有限公司);KQ5200B型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);BS124S型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

1.2 试剂

没食子酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:11672-201304,纯度>98%);大孔吸附树脂(沧州宝恩吸附材

料科技有限公司);C₁₈硅胶(济南博纳生物技术有限公司);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

1.3 药材

试验所用药材,经新疆医科大学附属中医医院药学部田红林副主任药师鉴定为真品,具体来源见表1。

表1 余甘子来源

Tab 1 Origin of *P. emblica*

批号	产地	购入单位
20140601	江西	新疆维吾尔自治区维吾尔医院
20140601	四川	新疆维吾尔自治区维吾尔医院
20140603	贵州	喀什地区维吾尔医院
20140604	云南	喀什地区维吾尔医院
20140605	福建	和田地区维吾尔医院
20140606	广西	伊犁州维吾尔医院

2 方法与结果

2.1 余甘子不同提取部位的制备

取余甘子药材适量,粉碎,精密称取1 g,置于250 ml量瓶中,加70%甲醇150 ml,超声(功率:70 W 频率:40 kHz,下同)处理2 h,加70%甲醇定容,静置2 h,滤过;滤液水浴60 ℃蒸干,加水溶解,用乙醚和乙酸乙酯先后萃取,萃取液过大孔树脂层析柱进行层析,以水~乙醇梯度洗脱,只留40%乙醇洗脱液和70%乙醇洗脱液(出膏率较高);大孔树脂40%、70%分流

* 助理药师。研究方向:药材检验及分析。E-mail: liu_chong02@163.com

通信作者:主任药师。研究方向:药材检验及分析。E-mail: 66949837@qq.com

液水浴蒸干,加水溶解,过C₁₈层析柱层析,分别得水、50%、70%甲醇洗脱液,60℃蒸干,依次得70%甲醇提取物、大孔树脂40%乙醇洗脱液、大孔树脂70%乙醇洗脱液、C₁₈水洗脱液、C₁₈50%甲醇洗脱液、C₁₈70%甲醇洗脱液的干燥粉末,出膏率分别为70.5%、55.6%、50.2%、7.1%、11.7%、15.9%。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:ZORBAX Extend C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸(10:90,V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:270 nm;柱温:30℃;进样量:10 μl。在上述色谱条件下进样测定,结果各成分理论板数均大于5 000,分离度均大于1.5,各成分基线分离良好,详见图1。

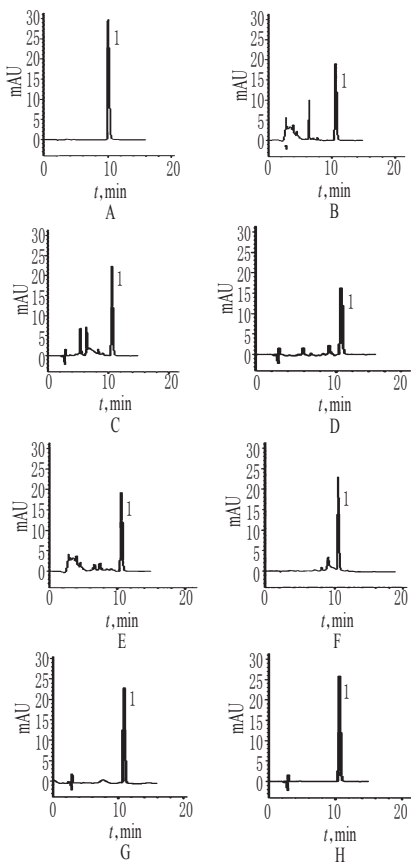


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.对照药材;C.70%甲醇提取部位;D.大孔树脂40%乙醇洗脱液;E.C₁₈水洗脱液;F.大孔树脂70%乙醇洗脱液;G.C₁₈50%甲醇洗脱液;H.C₁₈70%甲醇洗脱液;I.没食子酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substance; B.reference crude herbs; C. methanol 70% extracts; D. macroporous resin 40% ethanol eluent; E.C₁₈ water elution; F. macroporous resin 70% ethanol eluent; G.C₁₈ 50% methanol eluent; H. methanol C₁₈ 70% eluent; I. gallic acid

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品适量,置于25 ml量瓶中,加水溶解并定容,制成质量浓度为0.425 0 mg/ml的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取药材粉末0.1 g,精密称定,置于250 ml量瓶中,加水150 ml,放置过夜,超声处理10 min,放冷,用水定容,摇匀,静置,滤过;弃去初滤液50 ml,精密量取续滤液20 ml,置于100 ml棕色量瓶中,用水定容,摇匀,即得^[1]。

2.2.4 不同提取部位供试品溶液的制备 分别精密称取70%

甲醇提取物、大孔树脂40%乙醇洗脱液、大孔树脂70%乙醇洗脱液、C₁₈水洗脱液、C₁₈50%甲醇洗脱液、C₁₈70%甲醇洗脱液的干燥粉末(过2号筛)各10 mg,分别置于100 ml量瓶中,加水适量,放置过夜,超声处理10 min,放凉后加水定容,即得。

2.2.5 线性范围考察 精密量取“2.2.2”项下对照品溶液1、2、3、4、5 ml,分别置于10 ml量瓶中,加流动相定容,制成系列对照品溶液。精密吸取上述系列对照品溶液各10 μl,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以没食子酸质量浓度(x, mg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=20\ 210x+110.1$ ($r=0.999\ 9, n=6$)。结果表明,没食子酸检测质量浓度线性范围为0.042 5~0.212 5 mg/ml。

2.2.6 精密度试验 取“2.2.2”项下对照品溶液适量,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,没食子酸峰面积的RSD为1.1%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号:20140601)适量,分别于放置0、2、4、6、8 h时进样测定,记录峰面积。结果,没食子酸峰面积的RSD为2.4%($n=5$),表明供试品溶液在8 h内基本稳定。

2.2.8 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:20140601)适量,按“2.1”项下方法制备不同提取部位,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,没食子酸峰面积的RSD为1.5%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 取已含量的样品(批号:20140601)适量,共6份,按“2.1”项下方法制备不同提取部位,分别加入适量对照品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery test($n=6$)

取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
1.000 2	26.11	26.25	52.51	100.59		
1.001 4	26.14	26.25	52.22	99.38		
1.003 5	26.19	26.25	53.00	102.14	100.57	1.045
1.004 2	26.21	26.25	52.72	100.99		
1.003 2	26.18	26.25	52.67	100.89		
1.000 3	26.11	26.25	52.20	99.40		

2.2.10 样品含量测定 取3批样品各适量,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,结果见表3。

表3 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 3 Results of contents determination of sample($n=3$)

不同提取部位供试品	没食子酸含量,%
余甘子药材	1.82
70%甲醇提取物	2.38
大孔树脂40%乙醇洗脱液	1.26
大孔树脂70%乙醇洗脱液	1.33
C ₁₈ 水洗脱液	1.71
C ₁₈ 50%甲醇洗脱液	1.01
C ₁₈ 70%甲醇洗脱液	0.70

3 讨论

余甘子中富含大量水解类鞣质、没食子酸及酚酸类化合物,本试验以用甲醇作为溶剂,所得没食子酸含量较高,并筛选了20%、40%、50%、60%、70%、80%、90%甲醇的提取效果,最终选择70%甲醇为提取溶剂。

不同剂量⁶⁰Co辐照对藿胆丸挥发性成分的影响

张正锋^{1,2*}, 石克^{1,2}(1.重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121; 2.重庆市药物过程与质量控制工程技术研究中心, 重庆 401121)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)33-4745-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.33.49

摘要 目的: 建立测定藿胆丸中挥发性成分含量的方法, 研究不同剂量⁶⁰Co辐照对藿胆丸挥发性成分的影响。方法: 采用气相色谱-质谱联用法测定经过不同剂量⁶⁰Co辐照后的藿胆丸中百秋李醇含量与 β -百秋李烯、 α -愈创木烯、塞舌尔烯、 α -百秋李烯、 α -布萹烯、5,11-愈创木二烯、未鉴定物的相对含量。色谱柱为HP-5MS, 柱温采用程序升温, 进样口温度为250℃, 分流比为50:1, 检测器为三重四级杆质谱检测器, MS1四级杆温度为150℃, MS2四级杆温度为150℃, 载气为氦气, 柱流速为1.2 ml/min, 进样量为1 μ l; 离子源为电子轰击, 轰击能量为70 eV, 离子源温度为230℃, 传输线温度为280℃, 扫描范围为50~500 amu。结果: 百秋李醇检测进样量线性范围为0.103 1~2.062 0 μ g($r=0.999 4$); 精密度、重复性、稳定性试验的RSD<1.0%; 加样回收率为98.05%~102.32%(RSD=1.8%, $n=9$)。不同剂量⁶⁰Co辐照对藿胆丸中8种挥发性成分的含量影响不大。结论: 藿胆丸可采取⁶⁰Co辐照灭菌, 但应控制辐照剂量。该方法操作简便、重复性好, 可用于藿胆丸中挥发性成分含量的测定。

关键词 藿胆丸; ⁶⁰Co辐照; 百秋李醇; 气相色谱-质谱联用

Effects of ⁶⁰Co Irradiation with Different Doses on the Volatile Components in Huodan Pill

ZHANG Zheng-feng^{1,2}, SHI Ke^{1,2}(1.Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing 401121, China; 2.Chongqing Engineering Research Center for Pharmaceutical Process and Quality Control, Chongqing 401121, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the contents determination of volatile components in Huodan pill and study the effects of ⁶⁰Co irradiation with different doses on the volatile components in Huodan pill. METHODS: GC-MS was used to determine the contents of patchouli alcohol and the relative contents of β -patchouliene, α -guaiacene, seychellese, α -patchouliene, α -bulnesene, 5,11-diene guaiacyl, and unidentified objects in Huodan pill after ⁶⁰Co irradiation with different doses. Column was HP-5MS by programmed temperature, volume temperature was 250℃, split ratio was 50:1, detector was triple quadrupole mass spectrometer detector, MS1 quadrupole temperature was 150℃, MS2 was 150℃, carrier gas was helium, flow rate of column was 1.2 ml/min, and the volume injection was 1 μ l; ion source was EI, bombarding energy was 70 eV, temperature of ion source was 230℃, temperature of transmission line was 280℃ and scan range was 50-500 amu. RESULTS: The linear range of patchouli alcohol was 0.103 1-2.062 0 μ g($r=0.999 4$); RSDs of precision, reproducibility and stability tests were lower than 1.0%; recovery was 98.05%-102.32% (RSD=1.8%, $n=9$). ⁶⁰Co irradiation with different doses had little effects on the 8 volatile components in Huodan pill. CONCLUSIONS: ⁶⁰Co irradiation can be used for sterilization on Huodan pill, but irradiation dose should be controlled. The method is simple, good reproducibility, and can be used for the contents determination of volatile components in Huodan pill.

KEYWORDS Huodan pill; ⁶⁰Co irradiation; Patchouli alcohol; GC-MS

笔者首次采用大孔树脂方法应用于维吾尔药材余甘子总鞣质提取液的分离纯化, 洗脱时, 采用水-乙醇梯度洗脱, 分别选取不同质量浓度乙醇(20%、40%、50%、60%、70%、80%、95%、100%)进行了预试验, 测定出膏率, 最终选择了出膏率较高的40%乙醇和70%乙醇进行没食子酸的含量测定。采用C₁₈层析柱层析洗脱时, 采用了水、甲醇30%、50%、70%、90%、100%)进行了洗脱, 测定出膏率, 选择了出膏率较高的水、50%甲醇、70%甲醇进行没食子酸的含量测定。

综上所述, 该方法操作简便、重复性好, 可用于余甘子不同制备部位中没食子酸含量的测定。

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

* 副主任药师。研究方向: 药品质量控制与安全性。电话: 023-86072755。E-mail: 26506579@qq.com

版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 311

- [2] 茹克娅·胡加阿不都拉, 帕提古力·雅克甫, 希尔艾力·吐尔逊, 等. 余甘子的维吾尔医应用及研究进展[J]. 中国民族医药杂志, 2011, 17(12): 61.
- [3] 王飞, 包永睿, 孟宪生, 等. 不同产地余甘子酚酸类成分HPLC指纹图谱研究[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(4): 31.
- [4] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编: 下[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 335.
- [5] 王吉文, 房志坚, 成金乐, 等. HPLC法同时测定铁包金不同药用部位中芦丁和槲皮素的含量[J]. 中国药房, 2014, 25(43): 4 098.

(收稿日期: 2015-05-13 修回日期: 2015-06-30)

(编辑: 张静)