

薄层扫描法测定漆大姑中没食子酸的含量*

Determination of Gallic Acid Content of *Glochidion eriocarpum* Champ by TLC-scanning

刘布鸣 彭维 梁凯妮
Liu Buming Peng Wei Liang Kaini

(广西中医药研究所 南宁市东葛路 20-1 530022)
(Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences,
20-1 Donggeliu, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要 采用双波长薄层扫描法测定漆大姑中没食子酸的含量,方法回收率大于 95%、 $RSD = 2.9\%$,可作为其质量控制的方法之一,为漆大姑的药材质量标准研究提供了科学依据。

关键词 漆大姑 没食子酸 薄层扫描法 含量测定

中图分类号 Q 949.753.506; O 658.11

Abstract The content of gallic acid of *Glochidion eriocarpum* Champ was determined by dual wavelength TLC-scanning. The recovery is up to 95% and RSD is 2.9%. This method could be used for quality control of *Glochidion eriocarpum* Champ.

Key words *Glochidion eriocarpum* Champ., gallic acid, TLC-scanning, content determination

漆大姑为大戟科植物毛果算盘子 (*Glochidion eriocarpum* Champ.) 的干燥地上部分,全年可采,具有驱风利湿,散瘀,止血,消肿的功效,治急性胃肠炎,痢疾,风湿关节痛,跌打损伤,创伤出血,漆疮,湿疹,皮炎^[1]。该植物在广西资源丰富,分布广泛,《广西中药材标准》第 2 册 1996 年版首次将其作为地方习用中药材品种收载,其功能主治:清热利湿,散瘀消肿,解毒止痒。用于治疗生漆过敏,水田皮肤瘙痒,荨麻疹,湿疹,剥脱性皮炎,跌打损伤^[2]。我们从漆大姑中分离鉴定出没食子酸及其衍生物^[3,4],没食子酸是漆大姑的主要成分之一,将其做为指标性成分对漆大姑药材进行薄层色谱鉴别,可增强药材质量标准鉴别的选择性与专属性^[4],现代药理研究表明,没食子酸具有抗菌、抗 HbsAg 病毒等活性^[5,6]。本文采用双波长薄层扫描法对漆大姑药材中没食子酸含量进行测定,方法简便、快速、结果满意,可作为漆大姑药材质量控制的方法之一。

1 仪器和实验材料

1.1 仪器

CS-9000 型双波长薄层扫描仪 (日本岛津); 点样

用微量进样器 (上海医用激光仪器厂出品); 薄层层析点样台 BXT-H 中国药品生物制品检定所监制 (国营陕西前进机械厂制造); 939 型自动薄层制板器 (重庆贝可得公司制造)。

1.2 药材

漆大姑分别采自广西桂平和南宁郊区,经鉴定为大戟科植物毛果算盘子 (*Glochidion eriocarpum* Champ.), 鉴定人: 广西中医药研究所赖茂祥副研究员。

1.3 试剂

没食子酸对照品 (中国药品生物制品检定所提供); 硅胶 G (青岛海洋化工厂); 所用试剂均为分析纯。

2 试验方法

2.1 提取方法选择

分别用乙醇、乙醚、乙酸乙酯为溶剂,以冷浸 24 h 索氏回流 6 h 超声振荡 0.5 h,进行提取试验,以所测得的没食子酸含量为指标,对提取方法进行选择,试验结果表明乙醇索氏回流提取率比较高,见表 1,故选择乙醇索氏回流提取。

2.2 层析条件

取硅胶 G 加 0.8% CMC-Na (1:3),用自动搅拌器搅匀后,以自动铺板器铺板,规格 10 cm× 20 cm×

0.5 mm, 晾干, 105°C活化 1 h, 置干燥器中备用 展
开剂: 氯仿-乙酸乙酯-甲醇-甲酸 (3: 6: 1: 1).

表 1 提取方法试验

Table 1 Selection of extraction methods

方法 Method	没食子酸含量 Gallic acid content(%)		
	乙醇 Ethanol	乙醚 Ether	乙酸乙酯 Acetidin
冷浸 Cold immersion	0.042 5	0.011 4	0.015 6
索氏回流 Refluxing	0.059 0	0.048 0	0.055 4
超声振荡 Supersonic oscillating	0.056 7	0.024 6	0.026 9

2.3 对照品液的制备

精密称取没食子酸对照品 5.00 mg, 加无水乙醇定容于 5 ml 量瓶中, 即得 1 mg/ml 的对照品液

2.4 样品液的制备

将漆大姑枝叶均匀切碎, 60°C 干燥 24 h, 精密称取 2 g, 置索氏提取器中, 加 95% 的乙醇 125 ml 回流提取至无色 (约 6 h), 回收乙醇, 残渣加 100 ml 氯仿回流约 1 h, 弃去氯仿, 残渣挥干氯仿后, 用无水乙醇定容于 5 ml 量瓶中, 即得样品液。

2.5 薄层定性

同一块薄层板上, 分别点对照品液和样品液 3 μl, 10 μl, 按上述条件展开, 晾干, 放置一定时间, 结果在样品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 喷以三氯化铁试液, 斑点则都显蓝色。

2.6 扫描条件

分别取对照品液和样品液, 按薄层层析条件展开, 对两者位置相同的斑点, 在 200 nm~ 370 nm 波长处进行紫外光谱扫描测定, 结果表明没食子酸与样品在 280 nm 波长处均有最大吸收, 而在 370 nm 波长处的吸收较小, 故以 λ_R= 370 nm 为参比波长, λ_S= 280 nm 为测定波长, 双波长反射法锯齿扫描, S_X= 3 紫外光谱扫描图见图 1, 薄层色谱扫描图见图 2

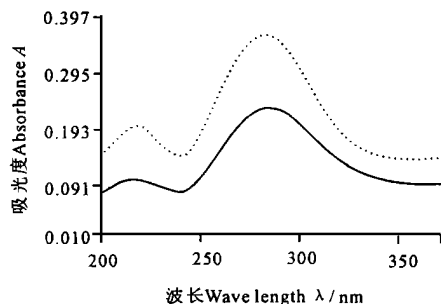


图 1 薄层紫外光谱扫描图

Fig. 1 UV of TLC-scanning

— 没食子酸对照品 Gallic acid; 漆大姑 *Glochidion eriocarpum* Champ.

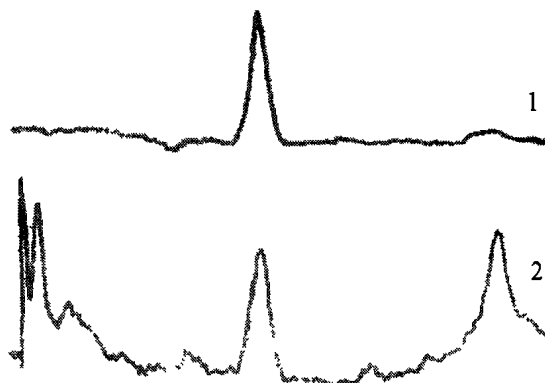


图 2 薄层色谱扫描图

Fig. 2 TLC-scanning

1. 没食子酸对照品 Gallic acid; 2. 漆大姑 *Glochidion eriocarpum* Champ.

2.7 线性关系

用微量进样器精密吸取没食子酸对照品 2 μl, 3 μl, 4 μl, 5 μl, 6 μl, 点于同一薄层板上, 按上述条件展开, 定位, 扫描测其峰面积, 得回归方程 $A = 23576.7C - 26461.9$, $r = 0.9992$ 表明没食子酸在 2.0 μg~ 6.0 μg, 浓度与峰面积积分值呈良好线性关系, 结果见表 2

表 2 标准曲线测定结果

Table 2 Results of standard curve

编号 No.	浓度 Concentration C (μg)	积分峰面积 Peak area A
1	2.0	18 666.8
2	3.0	43 892.2
3	4.0	63 452.9
4	5.0	89 627.0
5	6.0	110 382.0

2.8 精密度试验

按上述条件对没食子酸同一斑点连续扫描 5 次, 测得峰面积 RSD 分别为 0.58%, 同一样品在同一薄层板不同位置点样, 依法展开扫描, 测得结果 RSD 为 2.08%, 同一样品在不同薄层板上点样, 依法展开扫描, 测得结果 RSD 为 3.63%。

2.9 稳定性试验

取没食子酸对照液, 按上述条件点样, 展开, 晾干, 定位, 扫描测定每隔 30 min 测定 1 次, 结果表明, 没食子酸斑点在展开晾干后 1 h~ 3 h 内较稳定, 结果见表 3

2.10 样品测定

精密吸取对照品液 2 μl, 4 μl 及样品液 10 μl, 分别点于同一块薄层板上, 按上述条件展开, 晾干, 定位, 扫描测定对照品和样品的峰面积积分值, 按外标两点法计算含量, 结果见表 4

表3 稳定性试验结果

Table 3 Test results of stability

时间 Time (h)	峰面积 Peak area A	时间 Time (h)	峰面积 Peak area A
0	156 022	3.5	51 174
0.5	90 902	4.0	45 171
1.0	56 927	6.0	34 238
1.5	55 179	12.0	29 646
2.0	53 161	24.0	18 927
2.5	52 983		
3.0	53 074		

表4 漆大姑中没食子酸含量测定结果

Table 4 Gallic acid content of *G. eriocarpum* samples

采集地 Location	样品 Sample	测得结果 Gallic acid measured (%)	RSD (%)
南宁郊区 of Nanning	Suburb 枝叶 Branches and leaves	0.058 4	2.68
	枝 Branches	0.031 3	2.14
	叶 Leaves	0.076 0	1.97
桂平 Guiping	枝叶 Branches and leaves	0.039 1	3.28

2.11 加样回收率试验

取已知含量的样品各加入一定量对照品,加入量分别为 1.056 mg, 2.112 mg 高低两个水平,按样品液的制备及样品测定方法进行测定,结果见表 5

表5 加样回收率测定结果

Table 5 Recovery of addition

原样品含量 Original content of sample (mg)	加入对照 品 Amount added (mg)	测得总量 Total content measured (mg)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
1.531	2.112	3.579	96.97		
1.673	2.112	3.789	100.19	97.05	3.20
1.528	2.112	3.513	93.99		
0.785	1.056	1.882	98.20		
0.752	1.056	1.733	92.90	95.11	2.90
0.721	1.056	1.716	94.22		

3 讨论

提取过程中,用乙醇索氏回流至无色,因提取物杂质含量较高,薄层层析分离不理想,我们用氯仿回流除去部分杂质,经试验证明,先氯仿除杂质再用乙醇提取所需时间较长,杂质亦难除尽;而先用乙醇提取后再加氯仿除杂质,所需时间相对较短,杂质除得比较干净,故选择先用乙醇索氏回流提取,再加氯仿除杂质的提取方法。

曾采用甲苯-乙酸乙酯-甲酸-水(7:10:3:4)上层、石油醚-乙酸乙酯-甲酸-水(2:8:3:2)上层、氯仿-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(3:6:1:1)三种展开系统进行薄层层析比较,结果选用氯仿-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(3:6:1:1)为展开剂,斑点较圆,分离较好。

经薄层层析后,样品斑点的稳定性随时间变化而变化,在层析展开后 1h~3h 内基本稳定,故应在这段时间内进行扫描测定。

本法具有操作简单、不用显色剂、方法线性特点,回收率、精密度均可满足测定要求,因此可用薄层扫描法测定漆大姑中没食子酸含量,从而控制药材内在质量。

参考文献

- 1 江苏新医学院编. 中药大辞典. 下册. 上海: 上海人民出版社, 1977. 2574.
- 2 广西壮族自治区卫生厅编. 广西中药材标准. 第 3 册, 1996. 281.
- 3 刘布鸣, 陈荣光等. 漆大姑化学成分的初步研究. 广西中医药, 2000, 23 (1): 52.
- 4 刘布鸣, 陈荣光, 韦汝武等. 漆大姑中没食子酸的分离鉴定与薄层色谱鉴别. 广西科学, 1999, 6 (3): 203.
- 5 国家医药管理局中草药情报中心站编. 植物药有效成分手册. 北京: 人民卫生出版社, 1986. 479.
- 6 郑民实, 孔庚星, 张鑫等. 没食子酸抗 HbsAg/HbeAg 的实验研究. 实用中医药杂志, 1998, 14 (1): 5.

(责任编辑: 蒋汉明)

生物相互作用如何加剧灾害事件的影响

据 2001 年 7 月 12 日出版的英国《自然》杂志报道, 两年前, 飓风“佛洛伊德”进入巴哈马群岛一个实验场地后, 为科学家提供了一个难得的研究机会。在实验中, 科学家将捕食者引入海岛生态群落中, 观察灾害事件如何影响一个生态系统的结构, 这种影响被看作是评估全球气候变化潜在影响的一个重要因子。研究发现, 在没有捕食者的海岛上, 作为被捕食者的蜥蜴经历这场飓风后生存了下来, 多数是以卵的形式保存下来的, 其种群数量恢复到了最初的水平。但在引入一种作为捕食者的蜥蜴的三分之二的海岛上, 飓风过后被捕食者的种群绝灭了。这一发现让我们看到, 生物间的相互作用是怎样加剧一场灾害事件的影响。