

HPLC 测定地榆配方颗粒中没食子酸的含量

陈壮¹, 李耀华^{2*}, 梁臣艳², 莫满芳², 郑锡任²

(1. 广西中医药大学附属瑞康医院, 南宁 530011; 2. 广西中医药大学, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定地榆配方颗粒中没食子酸的定量分析方法, 为制定其质量标准及开发利用提供科学依据。方法: 色谱柱: Diamonsil C₁₈(2) 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.05% 磷酸(5:95), 检测波长 272 nm, 柱温 20 ℃。结果: 在上述色谱条件下, 没食子酸进样量在 0.009 72 ~ 0.097 2 mg·kg⁻¹ 与其峰面积成良好的线性关系, 回归方程 $Y = 34\ 347.2X + 10.887$ ($r = 0.999\ 9$); 平均加样回收率为 99.83%, RSD 2.3% ($n = 6$)。结论: 该测定方法简便易行, 结果准确, 重复性好, 可用于地榆配方颗粒中没食子酸的含量测定, 并为其提供了有一定参考价值的实验数据。

[关键词] 地榆配方颗粒; 没食子酸; HPLC 法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0106-03

Determination of Content of Gallic acid in Sanguisorba Granule by HPLC

CHEN Zhuang¹, LI Yao-hua^{2*}, LIANG Chen-yan², MO Mian-fang², ZHEN Xi-ren²

(1. Ruikang Hospital of Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530011, China;
2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quantitative analysis method for determining the content of gallic acid in Sanguisorba Granule by HPLC so as to provide a scientific basis for development of the drug as well as establishment of its quality standards. **Method:** Diamonsil C₁₈(2) column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used with methanol-0.05% phosphoric acid (5:95) as the mobile phase; the detection wavelength was 272 nm, the velocity of flow was 1.0 mL · min⁻¹, and the column temperature was 20 ℃. **Result:** Under the above chromatographic conditions, the injection volume of gallic acid showed a linear relationship with peak area when ranging between 0.009 72-0.097 2 mg · kg⁻¹, the corresponding regression equation being $Y = 34\ 347.2X + 10.887$ ($r = 0.999\ 9$); the average recovery of gallic acid was 99.83% with corresponding relative standard deviation (RSD) being 2.3% ($n = 6$). **Conclusion:** The method is simple, accurate, reproducible and can be used for determination of the content of gallic acid in Sanguisorba Granule.

[Key words] Sanguisorba Granule; gallic acid; HPLC

地榆具有凉血止血、解毒敛疮的功效, 用于便血, 痔血, 血痢, 崩漏, 水火烫伤, 痈肿疮毒^[1]。地榆含有多种药用化学成分, 主要为皂苷、鞣质和黄酮类^[2-4]。目前, 《中国药典》地榆饮片项下, 只有没食

子酸的薄层鉴别项和以鞣质为检测指标的含量测定项。曾有地榆饮片中没食子酸含量测定的报道^[5-9], 但地榆配方颗粒含量测定尚未见有相关报道。本研究采用 HPLC 测定地榆配方颗粒中没食子酸的含量, 可以更好地控制配方颗粒质量, 保证用药安全。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1100 型高效液相色谱仪, 包括四元泵(G-1311A), 真空脱气机(G-1322A), 自动进样器(G-1313A), VWD 检测器(G-1314A), Agilent

[收稿日期] 20120523(366)

[基金项目] 广西科技基础条件平台建设项目(桂科 0900706)

[第一作者] 陈壮, 主管药师, 硕士, 从事医院药学, Tel: 13878858459, E-mail: chzh511@163.com

[通讯作者] * 李耀华, 讲师, 从事中药及天然药物质量分析, Tel: 0771-2219867, E-mail: yaohuali@163.com

1100LC 化学工作站;B3500S-MT 型超声波清洗器(上海必能信仪器有限公司),赛多利斯 BP211D 型电子天平,LG16-W 型高速微量离心机(北京医用离心机厂)。

1.2 试药 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),甲醇为 HPLC 级(美国 Fisher),水为超纯水,其他试剂为市售分析纯,地榆配方颗粒(批号 0908039,0912075,1003061,江阴天江药业有限公司)。

2 方法^[10-13]

2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.05% 磷酸(5:95),流速 1.0 mL · min⁻¹,紫外检测波长 272 nm,柱温 20 °C,进样体积 5 μL。

2.2 对照品溶液的制备 取没食子酸对照品 6.08 mg,精密称定,用 50% 乙醇溶解并定容至 25 mL 量瓶中,配成每 1 mL 中含 0.243 mg 没食子酸的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取地榆配方颗粒约 0.1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 乙醇 25 mL,密塞,称定质量,超声处理(200 W, 40 kHz)30 min,取出,放冷,用 50% 乙醇补足缺失的质量,滤过,取续滤液置 1 mL 离心管中,10 000 r · min⁻¹离心 10 min,取上清液,即得。

2.4 线性关系考察 吸取对照品母液 8 mL 定容至 20 mL 量瓶,分别精密吸取稀释后的对照品溶液(0.097 2 g · L⁻¹)1,2,4,8,10 mL 置 10 mL 量瓶,进样 5 μL,按上述色谱条件进行测定,以峰面积对应没食子酸进样浓度进行线性回归,得回归方程 $Y = 34\,347.2X + 10.887$ ($r = 0.999\,9$),表明没食子酸在 0.009 72 ~ 0.097 2 mg · kg⁻¹ 具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取 3.2 项下的没食子酸对照品溶液 2 μL,连续进样 6 次,测定峰面积。结果没食子酸峰面积的 RSD 0.28%,表明仪器的精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批样品(批号 0912075),按 2.3 项下方法制备供试品溶液,平行 6 份,分别进样 5 μL,依法测定没食子酸含量,得平均含量为 19.40 mg · g⁻¹,RSD 0.61%,表明本方法有较好的重复性。

2.7 稳定性试验 取同一批样品(批号 0912075),按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件,分别于供试品溶液制备后 0,2,4,8,12,24 h 进行测

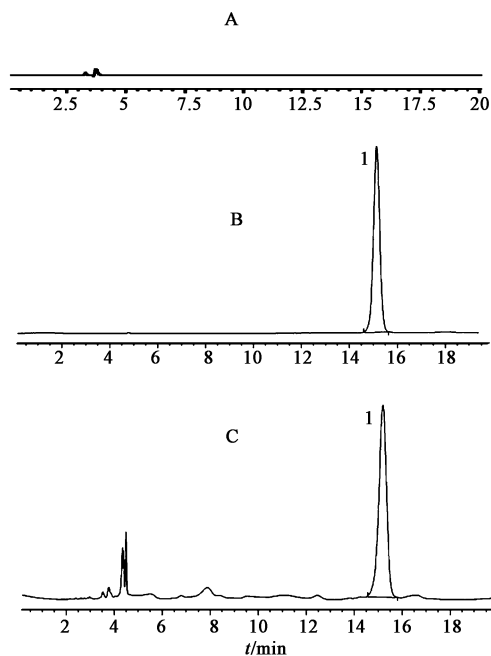
定。结果没食子酸峰面积的 RSD 1.8%,表明 24 h 内供试品溶液的稳定性良好。

2.8 加样回收率试验 称取同一批号地榆配方颗粒样品(批号 0912075)0.05 g,精密称定,平行 6 份,分别精密加入没食子酸对照品溶液(0.040 43 mg · kg⁻¹)25 mL。按供试品溶液制备项下操作,按上述色谱条件测定含量,计算回收率,得平均回收率 99.83%,RSD 2.3%,结果见表 1。

表 1 没食子酸加样回收率

No.	取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.050 32	0.976 2	1.011	2.021	103.34		
2	0.051 33	0.995 8	1.011	1.992	98.54		
3	0.050 96	0.988 6	1.011	2.018	101.82		
4	0.051 24	0.994 1	1.011	1.994	98.90	99.83	2.3
5	0.050 66	0.982 8	1.011	1.983	98.93		
6	0.050 83	0.986 1	1.011	1.971	97.42		

2.9 阴性试验 按处方比例称取糊精辅料,按供试品溶液的制备方法制备空白辅料溶液,进行色谱分析,见图 1。



A. 阴性;B. 对照品;C. 供试品;1. 没食子酸

图 1 地榆配方颗粒 HPLC

2.10 样品测定 取 3 批地榆配方颗粒,按 3.3 项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下,分别进样 5 μL,测定没食子酸峰面积,计算含量,结果平均

含量分别为 21.97, 19.42, 20.23 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

分别选用水、甲醇(浓度分别为 30%, 50%, 70%)、50% 乙醇为溶剂,进行超声提取,结果水提取效果较差,30%, 50%, 70% 浓度的甲醇与 50% 乙醇为提取溶剂的提取含量均较高,且两种溶剂的提取含量差异性不大,而由于乙醇为无毒性溶剂,故选用 50% 乙醇为提取溶剂。

分别进行了超声提取时间 15, 30, 45, 60 min 的比较,结果表明 30, 45, 60 min 提取含量较高且差异性不大,故选用超声提取 30 min。

本文以 HPLC 测定地榆配方颗粒中没食子酸的含量试验显示,该方法简单易行、准确、重复性好,阴性无干扰,可作为地榆配方颗粒的含量测定方法。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:117.
[2] 夏红旻, 孙立立, 敬勇, 等. 地榆化学成分及药理活性研究进展[J]. 食品与药品, 2009, 11(7): 67.
[3] 戴衍朋, 孙立立, 夏红旻, 等. HPLC 测定不同炮制程度地榆炭中地榆皂苷元 Z 的含量[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(5): 395.
[4] 程悦, 陈嘉升, 陈建萍, 等. 地榆提取物中不同类型鞣质的测定[J]. 中成药, 2011, 33(5): 852.

[5] 孙立立, 江波, 袁振海, 等. HPLC 测定地榆饮片中没食子酸的含量[J]. 中成药, 2006, 28(8): 1144.
[6] 史伟国, 王丽敏, 刘翠娟, 等. 地榆不同部位没食子酸的含量测定[J]. 黑龙江医药科学, 2011, 34(1): 14.
[7] 陈新玉, 李健和, 黎银波, 等. 地榆、地榆片、地榆炭的质量标准研究[J]. 中国医药导报, 2011, 17(8): 64.
[8] 沙明, 曹爱民, 王冰, 等. 高效液相色谱法测定地榆中没食子酸的含量[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(2): 99.
[9] 张东方, 袁长季, 祝峥, 等. HPLC 法测定不同地区地榆中地榆苷-I 的含量[J]. 云南中医学院学报, 2009, 32(1): 37.
[10] 黄祥远, 戴航, 侯小涛, 等. 高效液相色谱法测定扁桃叶中没食子酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(11): 7.
[11] 李艳芳, 夏泉, 许风清, 等. HPLC 法同时测定热淋清制剂中没食子酸和槲皮素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(12): 15.
[12] 李慧, 许亮, 徐保利, 等. HPLC 测定地锦草中没食子酸、槲皮素及山奈素含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 100.
[13] 王爽, 张丽艳, 谢宇, 等. HPLC 测定头花蓼及制剂热淋清颗粒中没食子酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 112.

[责任编辑 顾雪竹]

欢迎订阅 2013 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊现为半月刊,16 开本,320 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价 35 元,全年 840 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:SM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:syfjx_2010@188.com,网址:www.syfjxzz.com。