

# 含大黄复方制剂中没食子酸的定性定量方法研究

李曼玲<sup>1</sup>, 李铁林<sup>1</sup>, 冯伟红<sup>1</sup>, 范 丽<sup>2</sup>

(1. 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029)

中图分类号: R284.1 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2000)06-0012-02

脂复康胶囊具有活血祛瘀, 滋补肝肾作用, 主要用于高脂血症。肾衰胶囊具活血化瘀, 益肾健脾, 适用于慢性肾功能衰竭属阳虚瘀血阻滞证侯者。两个复方制剂的君药均为大黄。大黄中蒽醌类有明显的调血脂和改善血液流变性之活血化瘀作用。大黄中的没食子酸、儿茶素类具有降低毛细血管通透性, 抑制胰脂肪酶作用。关于大黄中没食子酸成分的测定已有多种方法报道, 本文在此基础上, 又对含大黄的复方制剂脂复康胶囊及肾衰胶囊中的没食子酸成分进行了定性定量方法研究, 从而进一步完善了上述两个复方制剂的质量标准研究。

## 1 仪器与试药

仪器: 美国沃特斯高效液相色谱仪, 486 检测器; Millennium32 色谱工作站; 没食子酸对照品购于中国药品生物制品检定所; 甲醇为 GR, 其它试剂均为 AR; 脂复康胶囊及肾衰胶囊由本所制剂组提供。

## 2 方法

**2.1 大黄薄层鉴别<sup>[1]</sup>** 分别取脂复康、肾衰胶囊内容物各 0.1g 于具塞锥形瓶中, 加入 30% 甲醇 15ml 溶解, 摇匀, 静置提取 15h, 过滤于 25ml 容量瓶中, 以 30% 甲醇溶液洗涤残渣, 定容, 混匀, 作为供试品溶液。同法制成缺大黄的脂复康空白溶液和肾衰空白溶液。另取大黄药材 0.1g, 按照供试品溶液制法, 制得大黄对照溶液。精密称取没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所 0831-9501) 10mg 于 10ml 容量瓶中, 加 30% 甲醇制成

1mg/ml 溶液, 再精密量取 1.0ml 于 10ml 容量瓶中, 30% 甲醇稀释至刻度, 制成 0.1mg/ml 的对照品溶液。分别吸取上述两个制剂的供试品溶液, 对照药材溶液, 空白溶液和对照品溶液点于同一硅胶 GF<sub>254</sub> 自制板上, 以石油醚(60~90℃)-醋酸乙酯-冰醋酸-浓盐酸(35:10:5:0.1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(2.54nm) 下检视, 可见供试品色谱相应位置上, 在与对照药材和对照品相应位置上显暗紫色相同斑点, 空白无干扰(图 1, 图 2)。

## 2.2 定量测定<sup>[2]</sup>

**2.2.1 液相色谱条件** 色谱柱为 -C<sub>18</sub> (4.6mm × 250mm)。流动相为 甲醇-冰醋酸-N, N-二甲基酰胺-水(2:1.8:40:157), 流速 0.5ml/min。检测波长为 271nm。在上述条件下没食子酸与其它组分均能达到基线分离(图 3、4、5), 空白试验表明方中其它成分对没食子酸的测定无干扰。

## 2.2.2 供试品溶液的制备

取大黄 1.0g 及两种制剂胶囊内容物各 0.1g, 精密称定, 置 50ml 具塞锥形瓶中, 精密加入 30% 甲醇 15ml, 冷浸 15h, 过滤, 用

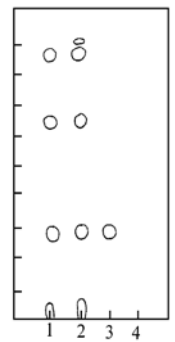


图 1 脂复康胶囊中大黄的 TLC 图谱

1. 供试品
2. 对照药材
3. 没食子酸对照品
4. 空白对照

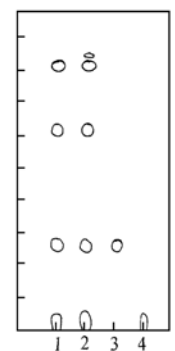


图 2 肾衰胶囊中大黄的 TLC 图谱

1. 供试品
2. 对照药材
3. 没食子酸对照品
4. 空白对照

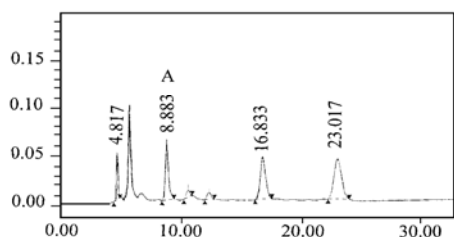


图3 大黄药材的 HPLC 图谱

A: 没食子酸(下图同)

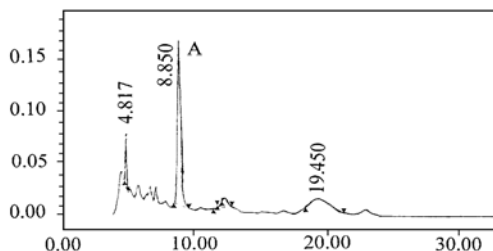


图4 脂复康胶囊中大黄的 HPLC 图谱

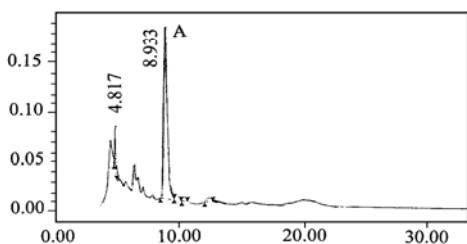


图5 肾衰胶囊中大黄的 HPLC 图谱

30% 甲醇溶液洗涤残渣及滤纸 3 次, 定容于 25ml 量瓶中, 摇匀。0.45 $\mu$ m 滤膜过滤, 备用。

**2.2.3 线性关系的考察** 精密吸取对照品溶液(0.1mg/ml) 2, 4, 6, 8, 10 $\mu$ l, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分值为纵坐标, 没食子酸含量为横坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程  $Y = 4.6 \times 10^4 + 5.32 \times 10^6 X$ , ( $r = 0.999$ ) 表明没食子酸在 0.2 $\mu$ g~1.0 $\mu$ g 范围内呈线性关系。

**2.2.4 精密度试验** 精密吸取上述对照品溶液 6 $\mu$ l, 重复进样 5 次, 没食子酸峰面积值的平均值为 3295808,  $RSD = 1.8\%$ 。

**2.5 重现性试验** 按照含量测定项下进行, 取同一批大黄药材样品进行 5 次测定, 计算相对标准偏差,  $RSD = 1.63\%$ 。

**2.2.6 样品测定** 分别精密吸取对照品溶液 10 $\mu$ l, 供试品溶液各 20 $\mu$ l, 注入液相色谱

仪, 按上述色谱条件测定, 结果见表 1。

表1 样品测定结果

批号	没食子酸含量%(n=2)
大黄药材	0.221
脂复康胶囊(950501)	0.0842
肾衰胶囊(980101)	0.0872

**2.2.7 回收率试验** 采用加样回收测定法。取已知含量的供试品, 分别添加没食子酸对照品(样品与对照品比例为 1:1) 按上述色谱条件测定, 计算回收率: 结果见表 2。

表2 没食子酸回收率测定结果

药材中含量 ( $\mu$ g)	加入量 ( $\mu$ g)	测得总量 ( $\mu$ g)	回收率 (%)
0.1823	0.2002	0.3787	98.10
0.1895	0.2002	0.3898	100.05
0.1830	0.2002	0.3817	99.25
平均回收率(%)	99.13	$RSD$ (%)	0.99

### 3 讨论

**3.1 样品提取方法的选择** 根据大黄中鞣质分解产物的溶解性及参考文献, 选用甲醇为提取溶媒, 对冷浸 15h, 热回流 1h 及超声处理 45min 三种方法进行了比较试验, 结果表明冷浸提取效果最佳。

**3.2 样品冷浸时间的选择** 对冷浸 10h, 15h 及 20h 的提取结果进行试验, 结果表明冷浸 10h 测得没食子酸含量偏低, 冷浸 15h 和 20h 相差不多, 故确定冷浸 15h。

**3.3 溶剂提取浓度的选择** 确定冷浸提取 15h 之后, 分别对 10%, 30% 及 50% 甲醇提取浓度进行考查, 结果表明 10% 和 30% 甲醇提取结果相近, 但 30% 甲醇提取液, 液相色谱分离效果较好, 故选用 30% 甲醇。

**3.4 测定波长的确定** 采用沃特斯液相色谱仪 996 二极管矩阵检测器进行了没食子酸紫外全波长扫描, 确定最大紫外吸收波长为 271nm。

参考文献:

- [1] 邵爱新, 唐盈, 陈跃辉. 大黄及其炮制品中没食子酸的薄层扫描测定[J]. 中药通报, 1987, 7: 20.
- [2] 罗文毓, 章育中. 大黄中鞣质测定方法的研究 II. 鞣质单体-没食子酸和 d-儿茶素的 HPLC 测定[J]. 药物分析杂志, 1986, 6(1): 15.