

高效液相色谱法测定猴耳环消炎胶囊中没食子酸的含量

聂少平¹ 王远兴¹ 谢明勇¹ 傅志红² 章志明¹

(1 南昌大学教育部食品科学重点实验室 南昌 330047; 2 江西中医学院 南昌 330006)

摘要:目的:建立一种高效液相色谱法直接测定猴耳环消炎胶囊中没食子酸的含量。方法:色谱柱为 alltima C₁₈ (250mm×4.6mm,5μm),流动相为甲醇:水(0.1%磷酸)=6:94,流速为 0.9mL/min,检测波长为 273nm。结果:没食子酸在 15.2~152μg/mL 范围内呈良好的线性关系,平均回收率为 98.8%(RSD=0.73%)。结论:本法操作简便,重现性好,结果准确,快速,可作为猴耳环消炎胶囊的质量控制方法。

关键词: 高效液相色谱法;猴耳环消炎胶囊;没食子酸;含量测定

Abstract: Objective A high performance liquid chromatographic method was developed for the determination of gallic acid in houerhuanjiaonang. Methods: The chromatographic conditions included alltima-C₁₈ column (250mm×4.6mm,5 μm) and the mobile phase consisting of a mixture of methanol-water(0.1%phosphoric acid) (6:94, volume ratio) at a flow rate of 0.9mL/min⁻¹ at 35℃. The detection wavelength was 273nm. Results: The calibration curve was linear over the concentration range of 15.2~152μg/mL⁻¹ for gallic acid. The correlation coefficient was $r=0.9997$. The average recovery of gallic acid was 98.8% with the RSD of 1.28 respectively. Conclusion: The determination of gallic acid was found to be simple, fast, accurate and reliable.

中图分类号:R 287.7

文献标识码:B

文章编号:1671-4040(2003)02-0003-02

猴耳环消炎胶囊是由猴耳环制成的胶囊。猴耳环(Pithecellobium clypearia)又名蛟龙木、落地金钱、鸡三树等,是含羞草科猴耳环属植物,其叶、果实和种子均可入药,民间用于烧伤、烫伤治疗^[1]。本胶囊制剂具有清热解毒、凉血消肿、止泻之功效,适用于上呼吸道感染、急性咽喉炎、急性扁桃体炎、急性肠炎,亦可试用于细菌性痢疾。没食子酸为主要有效成分之一。有关猴耳环消炎片中没食子酸含量的测定,已有文献报道^[2-3],但对猴耳环消炎胶囊中没食子酸的含量尚未有测定。考虑到两者制备工艺及辅料的不同,故本文对其中没食子酸含量进行测定。通过方法学研究,建立了没食子酸含量测定方法,证明该法具有准确、重现、专属性强、快捷、简便等特点,可用于控制本品的内在质量。

1 实验材料

1.1 仪器 高效液相色谱仪(Waters 公司 515 二元高压梯度系统),515 泵,2487 紫外可变检测器,PCM 泵控制器,Millennium32 色谱工作软件,柱温箱,手动进样器(20μL 定量环)。

1.2 药品与试剂 没食子酸对照品由中国药品生物制品检定所提供(供鉴别用,批号为 0831-9501),甲醇为色谱纯,水为蒸馏水,其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 根据文献资料^[4-5],对猴耳环消炎胶囊中的没食子酸的含量测定进行实验研究,确定以下色谱条件:色谱柱为 alltima-C₁₈ (250mm×4.6mm,5μm),流动相为甲醇:水(0.1%磷酸)=6:94,流速为

0.9mL/min,检测波长为 273nm,柱温为 35℃,进样量 20μL。

2.2 供试品溶液的制备 精密称取剥去外壳的胶囊粉末约 200mg 置 100mL 量瓶中,加入甲醇水(1:1)至刻度,超声 30min,补足甲醇水,充分摇匀,用微孔滤膜(0.45μm)滤过,取滤液,即得供试品溶液。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品 15.2mg,置 100mL 容量瓶中,加甲醇水(1:1)溶解并稀释至刻度,摇匀,即得(每 1mL 中含没食子酸 0.152mg)。

2.4 供试品液相色谱分离情况 按 2.1 色谱条件测定,比较供试品溶液色谱及没食子酸对照品溶液色谱,可以看出在此条件下色谱峰分离良好。

2.5 标准曲线的制作 精密吸取 2.3 所得对照品溶液 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10mL 置 10mL 量瓶中,加甲醇水(1:1)稀释至刻度,摇匀,得 0.0152、0.0304、0.0608、0.912、0.1216、0.152mg/mL 的溶液,分别进样 20μL,按 2.1 色谱条件测定没食子酸峰面积(见表 1),以没食子酸峰面积为纵坐标,对照品浓度(μg/mL)为横坐标,绘制标准曲线,求得回归方程为: $C=1.597E-5 \cdot A - 0.1867$, $r=0.9997$,没食子酸含量在 15.2~152μg/mL 之间呈良好线性关系。

2.6 回收率试验 精密称取已知含量的本品约(批号 20021123)50mg 于 50mL 容量瓶中,再精密加入没食子酸对照品溶液(0.152mg/mL)10mL,加入甲醇水(1:1)至刻度,超声 30min,补足甲醇水,充分摇匀,用微孔滤膜(0.45μm)滤过,取滤液 20μL,注入液相色谱仪,测定,计算回收率,结果

表 1 线性关系测定结果

峰面积	没食子酸 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
853393	15.2
1976516	30.4
3858147	60.8
5790498	91.2
7636173	121.6
9460646	152

表 2 回收率试验结果

取样量	样品中没食子酸量	添加没食子酸量	测出没食子酸量	回收率	平均回	RSD
/mg	/mg	/mg	/mg	(%)	收率(%)	(%)
48.7	1.283	1.52	2.830	97.9		
48.9	1.289	1.52	2.816	99.5		
50.3	1.336	1.52	2.856	99.2	98.8	0.73
49.6	1.331	1.52	2.831	98.2		
50.9	1.350	1.52	2.870	99.3		

2.7 精密度试验

精密吸取对照品溶液（60.8 $\mu\text{g/mL}$ ）20 μL ，按 2.1 色谱条件，重复进样 6 次，结果绿原酸峰面积相对标准偏差为 1.14%，见表 3。

表 3 精密度试验结果

峰面积值	平均峰面积值	RSD (%)
3685390		
3662975		
3620234	3643314	1.14
3676604		
3640085		
3573395		

2.8 稳定性试验 精密吸取供试品溶液（批号 20021123），按 2.1 色谱条件，每隔一定时间进样 1 次，结果供试品溶液中没食子酸在 8h 内峰面积无明显变化，没食子酸峰面积相对标准偏差为 0.89%，见表 4。

表 4 稳定性试验结果

时间(h)	峰面积值	平均峰面积值	RSD (%)
0	3594715		
2	3578072		
4	3544440	3555275	0.89
6	3545261		
8	3513891		

2.9 重现性试验 取样品(批号 20021123)适量，按 2.2 将其制备成供试品溶液，按 2.1 色谱条件，将样品重复测定 5 次，结果见表 5，没食子酸平均含量为 26.40mg/g，RSD=0.44%。

2.10 样品测定 取本品 3 批，按 2.2 将其制备成供试品溶液，按 2.1 色谱条件，测定没食子酸含量，结果见表 6。

表 5 重现性试验结果

编号	没食子酸含量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	平均含量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD (%)
1	26.45		
2	26.47		
3	26.51	26.40	0.44
4	26.36		
5	26.22		

表 6 样品中没食子酸含量测定结果 (n=3)

批号	没食子酸 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD (%)
20021201	26.29	0.13
20021119	26.11	0.46
20021123	26.35	0.73

根据表 6 测定结果，可以制定猴耳环消炎胶囊中没食子酸的含量测定标准。

3 讨论

对中草药及其制成品中与其功效、主治相吻合的主要活性成分进行定量分析，以评价其质量是中药现代化及中药走向世界的关键问题之一。猴耳环消炎胶囊是从中药中提取其有效成分研制而成的。本文建立了该药的活性成分即没食子酸的 RP-HPLC 含量测定方法。在本文拟定的色谱条件下，色谱峰之间能有效地分离，精密度、重现性及线性关系好，回收率满意，故认为本法是可行的，可作为其质量控制方法。

实验过程中曾改变甲醇与水的比例和调节不同的 pH 值及调节不同的流速，结果表明，现在选定的流动相比较合适，分离度好且保留时间适宜。在调节不同的 pH 值中发现，流动相中酸度影响着对没食子酸的分离。

在选择供试品溶液制备方法的过程中，分别采用了 10、20、30、40、50min 进行超声提取，经过试验发现超声提取 30min 后没食子酸得率就趋于稳定，所以确定 30min 为超声提取时间。

参考文献

[1]《全国中草药汇编》编写组.全国中草药汇编[M].北京：人民卫生出版社，1978.615~616
[2]刘起中，张家国，李京平.HPLC 测定猴耳环消炎片中没食子酸的含量[J].中成药，2001，23（9）：687~688
[3]万安凤，周浪.HPLC 法测定猴耳环消炎片中没食子酸的含量[J].中药材，2000，23（11）：708
[4]李宗，阮时宝，詹富强.复方珍珠口疮颗粒中没食子酸的含量测定[J].中药新药与临床药理，2000，11（1）：39~40
[5]陈连剑，刘新宇，郭华.紫外分光光度法测定猴耳环消炎片中没食子酸的含量[J].广东药学院学报，1998.16（4）：322~323

（收稿日期：2002 - 12 - 31）