

HPLC 测定虎耳草中没食子酸的含量

丁家欣^{*}, 张秋海, 李淑莉, 刘泓

(中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立虎耳草中没食子酸的含量测定方法; 方法: 高效液相色谱法, Kromasil C₁₈ 色谱柱, 流动相为甲醇-0.1% 磷酸水(10:90), 紫外检测波长 271 nm; 结果: 没食子酸在 0.117 2 ~ 0.703 2 μg 范围内线性关系良好, 平均回收率为 96.48%; 结论: 该法简便、快速、重复性好, 可作为虎耳草药材的质量控制方法。

[关键词] 虎耳草; 没食子酸; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)03-0019-02

Determination of Gallic Acid in *Saxifraga Stolonifera* Curt. by HPLC

DING Jia-xin^{*}, ZHANG Qiu-hai, LI Shu-li, LIU Hong

(Institute of Chinese Medicine Basic Theory, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

[Abstract] Objective: To establish a method for determination of gallic acid in *Saxifraga stolonifera* Curt. **Method:** The analysis was performed on a Kromasil C₁₈ column, with the mixture of methanol and water with 0.1% phosphoric acid(10:90) as mobile phase. The detection wavelength was at 271 nm. **Result:** The linear range of gallic acid was 0.117 2 ~ 0.703 2 μg. The average recovery was 96.48%. **Conclusion:** The method is simple and repeatable, and it could be used for the quantitative analysis of gallic acid in *Saxifraga stolonifera* Curt.

[Key words] *Saxifraga stolonifera* Curt; gallic acid; HPLC

虎耳草为民间常用中药, 收载于 1977 年版《中国药典》^[1]。虎耳草具有祛风、清热、凉血解毒之功效。临床上用于治疗风疹、湿疹、急性中耳炎、风热咳嗽等疾病; 外治大泡性鼓膜炎, 风疹瘙痒^[2]。虎耳草中的主要有效成分有没食子酸、原儿茶酸等, 文献报道的有岩白菜素(bergenin)、槲皮素-3-鼠李糖苷(queretin-7-rhamnoside)、槲皮素、原儿茶酸、没食子酸、琥珀酸、反甲基丁烯二酸等^[3]。为控制虎耳草药材的质量, 我们选择没食子酸为指标成分对虎耳草药材进行研究, 建立了虎耳草药材中没食子酸的含量测定方法。

1 仪器与试剂

仪器: 美国 Agilent 1100 高效液相色谱仪(包括

G1311A 四元泵、G1315B 二极管阵列检测器、G1313A 自动进样器 HP Chemstation 化学工作站); 对照品: 没食子酸对照品(批号 0831-9501) 由中国药品生物制品检定所提供。虎耳草药材有市场购买和采集, 经中国中医科学院中药研究所谢宗万研究员鉴定为虎耳草科植物虎耳草 *Saxifraga stolonifera* Curt. 的全草。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1% H₃PO₄ 水溶液(10:90); 流速: 1 mL · min⁻¹; 检测波长: 271 nm; 柱温: 35 °C。理论板数按没食子酸计应不低于 3 000, 色谱图见图 1。

2.2 标准曲线的绘制 精密称取没食子酸对照品 2.93 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释到刻度, 摇匀; 精密吸取 0.117 2 mg · mL⁻¹ 的没食子酸对照品溶液 2.5 mL 于 5 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释

[收稿日期] 2009-08-13

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30371738)

[通讯作者] * 丁家欣, Tel: (010) 64014411-2503; E-mail: dingjiaxin06@126.com

至刻度, 摇匀, 即得 $0.0586 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的没食子酸对照品溶液。分别取对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12 μL 进样, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分值为纵坐标, 对照品进样量为横坐标绘制标准曲线, 计算得回归方程: $Y = 3047.12X + 4.4867$, $r = 0.9998$, 线性范围 $0.1172 \sim 0.7032 \mu\text{g}$ 。

2.3 供试品溶液的制备 取虎耳草药材粉末(60目)约 1.0 g, 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中精密加入 40% 乙醇溶液 25 mL, 称定重量, 水浴加热回流 90 min, 放冷, 再称定重量, 用 40% 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 澄清后, 滤过, 取续滤液, 通过 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜, 作为供试品溶液。

2.4 精密度试验 吸取供试品溶液 10 μL , 重复进样 6 次, 没食子酸峰面积的 RSD 为 0.34%。

2.5 稳定性试验 取虎耳草供试品溶液, 在 0, 1, 2, 4, 6, 24 h 分别进样测定, 结果 6 次进样, 没食子酸峰面积的 RSD 为 0.976%。

2.6 重复性试验 对同一批样品(产地: 安徽广德)6 份, 分别制备样品供试液, 测定, 结果虎耳草药材中没食子酸平均含量为 $0.8654 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 2.09%, 试验结果表明, 重复性良好。

2.7 回收率试验 取已知含量的虎耳草药材(产地: 安徽广德, 没食子酸含量为 $0.8654 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的药材)约 0.5 g, 精确加入没食子酸对照品溶液适量(0.464 mg), 按上述供试品溶液制备方法制备, 并按上述色谱条件测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 没食子酸回收率试验结果

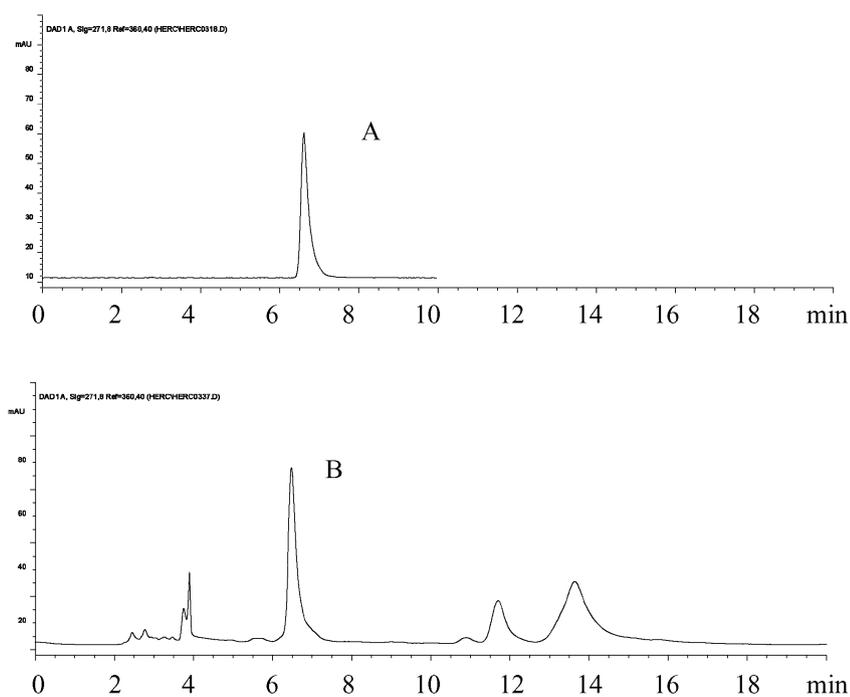
编号	称样量 (g)	样品中含量 (mg)	实测含量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.5015	0.4338	0.8877	97.82		
2	0.5008	0.4334	0.8897	98.34		
3	0.5037	0.4359	0.8779	95.26		
4	0.502	0.4347	0.8789	95.73	96.48	1.33
5	0.5013	0.4338	0.8771	95.53		
6	0.5010	0.4336	0.8800	96.21		

注: 没食子酸加入量均为 0.464 mg。

2.8 样品测定 按供试品溶液制备方法制备, 在上述色谱条件下测定了 6 批虎耳草药材中没食子酸的含量, 每个样品平行测定 3 次, 结果见表 2。

表 2 虎耳草药材中没食子酸的含量测定 ($n=3$)

药材来源	没食子酸含量 (%)
安徽广德(采集)	0.0858
浙江莫干山(采集)	0.0210
江苏苏州(采集)	0.1098
湖北红安(采集)	0.1140
安徽亳州(购买)	0.0544
实验室(种植)	0.1753



A 对照组 B 样品

A 对照品; B 样品

图 1 虎耳草色谱图

3 讨论

3.1 检测波长的选择 应用二极管阵列检测器在 190 ~ 400 nm 对没食子酸进行扫描, 在 271 nm 有最大吸收, 故检测波长选择为 271 nm。

3.2 流动相的选择 实验过程中考察了甲醇-磷酸水溶液不同比例及甲醇-甲酸水溶液不同比例的流动相, 当流动相为甲醇-0.1% 磷酸(10:90)时, 分离情况良好。

3.3 提取溶剂的选择 实验中对不同溶剂的提取进行了对比研究, 选用 30% 乙醇、60% 乙醇、30% 甲醇、50% 甲醇、70% 甲醇、乙酸乙酯为提取溶剂, 实验结果表明, 30% 乙醇提取效果较好, 但是 30% 乙醇提取液过滤较慢, 又考察了 40% 乙醇和 50% 乙醇作为提取溶剂时没食子酸的含量, 结果 40% 乙醇和 30% 乙醇提取的结果差别不大, 但解决了过滤问题, 因此选择 40% 乙醇作为提取溶剂。

本文建立的虎耳草中没食子酸的含量测定方法简便、快速、干扰少, 可用于虎耳草药材的质量控制。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 人民卫生出版社, 1977: 339.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上册, 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 1335.
- [3] 罗厚蔚, 吴葆金, 陈节庵, 等. 虎耳草有效成分的研究[J]. 中国药科大学学报, 1988, 19(1): 1.