

艺条件,符合减少服用剂量、提高疗效的要求,可以较好的保证制剂质量。

用多指标正交试验进行工艺筛选时,要针对指标间的重要性差异给出各指标权重,综合评分后再进行统计分析,应用多指标综合评分法时,如何设置指标权重要具体情况具体分析,在有效成分明确的情况下浸膏得率越高纯度越低,因此本实验设为负权重系数;如果有效成分不明确而以浸出物多少代

表有效成分时,权重系数应相应增大,并设为正值。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Zhu D Q, Luo Q J, Cui L, et al. Determination of total flavonoids in *Gluechoma longituba* (Nakai) Kupr. [J]. *Pharm Care Res* (药学服务与研究), 2003, 3 (1): 62-63.
- [3] Zhang T, Xu L Y, Tao J S, et al. Applying grading methods of synthesizing multiple guidelines to optimizing extract technology for *Radix Purariae* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (1): 38-40.

HPLC 测定藏成药七味诃子散中没食子酸

潘国庆¹, 卢永昌¹, 德吉措姆²

(1. 青海民族学院 化学系, 青海 西宁 810007; 2. 青海省藏医院 检验科, 青海 西宁 810007)

七味诃子散由诃子、波棱瓜子、草果、甘松、笨拔等 7 味藏药组成,方源于《四部医典》,临床常用于治疗劳伤引起的脾脏肿大、疼痛、脾热等症,是藏医治疗临床脾病的常用药物。诃子的化学成分中主要为鞣质,其中所含没食子酸具有抗菌、抗病毒和抗肿瘤的药理作用^[1],与诃子具有抗菌、强心、抗氧化及解痉、抗肿瘤、抗艾滋病病毒活性一致^[2]。诃子及其活性成分没食子酸的作用与七味诃子散的作用密切相关。七味诃子散质量标准收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》藏药第一册,但该标准中规定的检测项目只有性状鉴别和制剂常规检查项^[3]。为了提高藏药质量标准,达到更有效控制制剂内在质量的目的,本实验对方中主药诃子所含成分没食子酸,结合相关研究^[4~6],采用高效液相色谱法建立了测定方法。经方法学考察及阴性对照试验,表明方法专属性较强,处方中其他成分对没食子酸的测定无干扰,并且操作简便、快速、准确、重现性好,能够控制七味诃子散的质量。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪,包括 G1315A/B DAD 检测器,Agilent 1100 色谱工作站(美国安捷伦科技有限公司);KQ3200 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);SZ-97 自动三重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂)。

没食子酸对照品由中国科学院西北高原生物研究所胡凤祖研究员提供,质量分数大于 99%;甲醇

(色谱纯,山东禹王实业有限公司禹城化工厂);水为重蒸馏水。七味诃子散由青海省藏药厂提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Kromasil—C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱,流动相为甲醇-0.02%磷酸(5:95),体积流量为 1 mL/min,检测波长 274 nm,柱温 30 ℃。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取没食子酸适量,加甲醇溶解制成 20.6 μg/mL 的溶液作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取样品约 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50%甲醇水溶液 100 mL,摇匀,称定质量,超声处理 30 min,放冷,称定质量,用 50%甲醇水溶液补足减失的质量,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得供试品溶液。

2.4 阴性对照试验:取按制剂处方比例制备缺诃子的阴性对照,按供试品溶液制备法制得阴性对照溶液。分别精密吸取对照品溶液、阴性对照溶液、供试品溶液各 10 μL,分别注入高效液相色谱仪。结果阴性对照色谱图中在与没食子酸对照品以及供试品色谱图相对应的保留时间处无色谱峰出现,表明其他成分对没食子酸的测定无干扰。测定结果见图 1。

2.5 线性关系试验:取没食子酸对照品 2.06 mg 置 100 mL 量瓶中,加甲醇使溶解,并稀释至刻度,摇匀(20.6 μg/mL)。精密吸取 1.0、3.0、6.0、10.0、12.0 μL 溶液进样,测定。以峰面积对进样量进行回

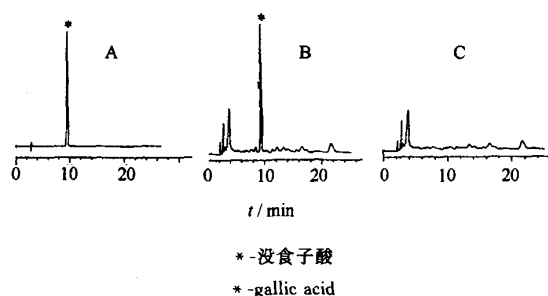


图 1 没食子酸对照品溶液(A)、供试品溶液(B)和阴性对照液(C)的色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of gallic acid (A), Qiwei Hezi Powder (B), and negative sample (C)

归分析,结果没食子酸在 $0.0206 \sim 0.2472 \mu\text{g}$ 与峰面积呈良好的线性关系。回归方程为 $A = 9202.6C + 2.6144$, $r = 0.9998$ 。

2.6 稳定性试验:取同一供试品溶液,分别于 0、2、4、8、12 h 进样测定,结果在 12 h 内没食子酸峰面积积分值基本稳定不变,RSD 为 1.28%。

2.7 精密度试验:精密吸取没食子酸对照品溶液 $10 \mu\text{L}$,连续进样 5 次,测定没食子酸峰面积,计算得其 RSD 为 0.86%。

2.8 重复性试验:取同一批号的样品 5 份,制备供试品溶液,测定没食子酸质量分数,平均质量分数为 1.0165 mg/g ,RSD 为 1.24%。

2.9 加样回收试验:取 9 份研细,每份约 1 g,精密称定,分为 3 组,每组 3 份。分别加入 0.206 mg/mL 没食子酸对照品溶液 4.0 、 5.0 、 6.0 mL ,制备供试品溶液,每份取 $10 \mu\text{L}$ 进样,测定没食子酸质量分数,计算回收率。结果平均回收率为 98.47%,RSD 为 0.68%。

2.10 样品测定:取批号不同的样品 5 批,制备供试品溶液。精密吸取没食子酸对照品溶液与供试品溶液各 $10 \mu\text{L}$,分别注入色谱仪,测定,计算没食子酸的质量分数。测定结果见表 1。

3 讨论

3.1 没食子酸为传统中药的常见成分,由于藏药大多具有药材味数多而所占比例小的特点,且处方中常见动物药和矿物药,其有效成分不明确,因此,不

表 1 七味诃子散中没食子酸的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Results of gallic acid in Qiwei Hezi Powder ($n=3$)

批号	没食子酸/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD/%
20050501	1.015 6	0.80
20050502	1.016 9	0.77
20050601	1.014 7	0.69
20050603	1.017 0	0.58
20050802	1.016 4	0.71

能完全按照中药的君、臣、佐、使原则对方方的关键药材加以质量控制。本实验利用 HPLC 的高效分离能力,将没食子酸从复杂的多味药材干扰成分中分离并准确测定。

3.2 提取方法的考察:精密称取同一批样品 3 份,分别用本实验流动相为溶剂,室温浸渍提取 12 h 和用 15、30、45、60 min 超声时间(功率为 150 W、频率为 40 kHz)考察对提取效率的影响,结果表明超声处理 30 min 后,没食子酸的量基本不再增加,故确定超声时间为 30 min。

3.3 提取溶剂的选择:精密称取同一批号样品 6 份,分别用 20%、30%、40%、50%、60%和 70%甲醇水溶液超声波振荡器超声提取 30 min,结果 50%甲醇水溶液提取效果最好,峰形分离好,分析时间适中。

References:

- [1] Information Center Station of Traditional Medicine of State Drug Administration. *Handbook of the Effective Composition of Plant Medicine* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.
- [2] Zhang H L, Pei Y H, Hua H M. Chemical constituents and pharmacological development of *Terminalia chebula* Retz [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2001, 18 (6): 452-455.
- [3] The Pharmacopoeia Committee of the Health Department of the People's Republic of China. *The Standard of Drugs by the Health Department of China* (卫生部药品标准) [S]. 1995.
- [4] Mao X J, Xu Q L, Xiong H L. Determination content of gallic acid in Relinqing Capsules by HPLC [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27 (8): 589-591.
- [5] Huang X M. Quantitative determination of gallic acid in Shengjin Yanhou Tablet by HPLC [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharm* (中药新药与临床药理), 2002, 13 (1): 37-38.
- [6] Ji L J. Determination content of gallic acid in granule of Sangqingtianxiang by HPLC [J]. *J Qinghai Med Coll* (青海医学院学报), 2004, 25 (2): 83-84.

《中草药》投稿特别注意事项

1. 实验性论文需要单位介绍信(注明:论文内容真实,作者排名无争议,无一稿两投,无泄密)。
2. 创新性论文优先发表,新化合物免收版面费。
3. 图题、表题、图注、表注需中英文双语表示。
4. 文后参考文献译成英文。
5. 本刊不收审稿费,但利用稿件要收取版面费。
6. 投稿时请留下联系方式(电话和 E-mail)。