

## 毛细管区带电泳法测定石明止血合剂中没食子酸的含量

丁华<sup>1</sup>, 曹红<sup>2</sup>, 水彩虹<sup>2</sup>, 邢俊波<sup>2\*</sup>

(1. 鄂尔多斯市药品检验所, 内蒙古 鄂尔多斯 017000; 2. 中国人民解放军总后勤部卫生部药品仪器检验所, 北京 100011)

石明止血合剂是由石榴皮、五倍子、明矾等制成的中药制剂, 具有止血、固涩、收敛之功效, 用于各种原因所致的上、下消化道出血, 如消化道溃疡、出血性胃炎等病症。方中石榴皮、五倍子的主要有效成分都是没食子酸<sup>[1]</sup>。本品原质量标准为采用紫外分光光度法测定没食子酸的含量<sup>[2]</sup>。没食子酸的含量测定文献报道还有高效液相色谱法<sup>[3,4]</sup>。本实验采用毛细管区带电泳 (capillary zone electrophoresis, CZE) 法测定石明止血合剂中没食子酸的含量, 操作简便, 样品分离完全, 结果准确可靠。

## 1 仪器与试剂

HP<sup>3D</sup> CE毛细管电泳仪 (Agilent公司, 美国), DAD检测器, HP<sup>3D</sup> CD化学工作站。熔融石英毛细管柱 (河北省永年光导纤维厂生产)。

石明止血合剂由解放军第454医院制剂室提供 (批号为 020501, 020601, 020602)。没食子酸 (批号为 0831-9501)、绿原酸 (批号为 0753-200111) 对照品均由中国药品生物制品检定所提供。试剂均为分析纯, 实验用水为超纯水。

## 2 方法与结果

2.1 电泳条件: 毛细管柱: 未涂层毛细管 (48 cm×50 μm, 有效长度 40 cm); 缓冲液: 25 mmol/L 硼砂 (pH 9.68); 分离电压: 30 kV; 检测波长: 214 nm; 温度: 25℃; 进样条件: 5 kPa, 3.0 s。每天分析之前, 用 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液冲洗毛细管 15 min, 超纯水冲洗 3 min, 运行缓冲液冲洗 10 min。进样前分别用 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液运行缓冲液冲洗 5 min。电泳图见图 1。

2.2 标准曲线和线性范围: 分别取没食子酸对照品和内标绿原酸适量, 用乙醇溶解, 定容, 分别制得 0.5 mg/mL 对照品溶液及 1 mg/mL 内标溶液。分别取对照品溶液 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 2.0, 2.5 mL 置 5 mL 量瓶中, 各加内标溶液 1.0 mL, 用乙醇稀释至刻度, 按选定的电泳条件测定, 以没食子酸峰面积与内标峰面积的比值 (Y) 对没食子酸对照品的浓度 (X) 作回归曲线, 得标准曲线方程  $Y = -0.2103 + 0.0281X$ ,  $r = 0.9997$ 。线性范围为 25~250 μg/mL。

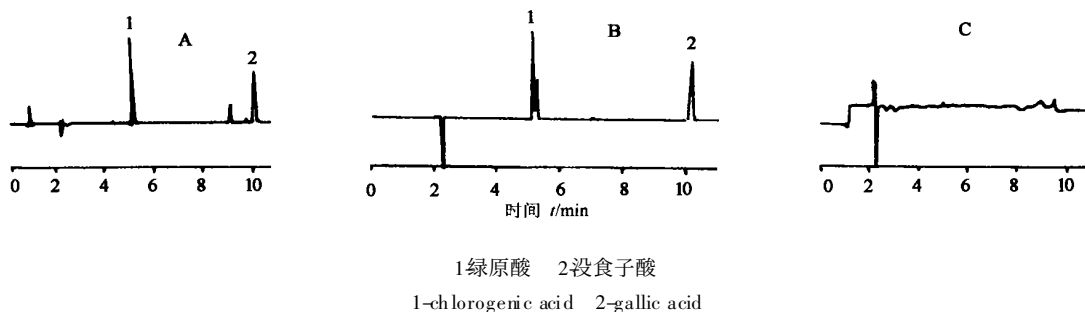


图 1 没食子酸对照品 (A)、石明止血合剂供试品 (B) 和空白样品 (C) 的色谱图

Fig. 1 CZE chromatograms of gallic acid (A), Shiming Zhixue Mistura (B) and blank sample (C)

2.3 精密度试验: 在选定的测定条件下, 将含有内标的没食子酸对照品溶液连续进样 6 次, 结果峰面积比值的 RSD= 1.1%。

2.4 重现性试验: 取同批号供试品 (020601) 按 2.7 项下方法制备溶液, 重复测定各样品 5 次, 测得石明

止血合剂中没食子酸平均含量为 33.44 mg/mL, RSD= 2.8%。

2.5 稳定性试验: 取同一份供试品溶液, 每隔 1 h 进样一次, 测定其没食子酸含量, 结果, 供试液在 6 h 内所测结果一致, 没食子酸含量 RSD= 1.3%。

\* 收稿日期: 2002-11-26

作者简介: 丁华 (1973-), 女, 内蒙古鄂尔多斯人, 主管中药师, 1993年毕业于内蒙古农业大学药用植物专业, 研究方向为中药质量评价。Tel: (0477) 8323808

2.6 回收率考察:采用加样回收法按 2.7 项下方法精密吸取石明止血合剂 (020601) 3 份,每份 25 mL,分别加入 74 mg 没食子酸对照品,继续按 2.4 项下的方法操作,求得没食子酸平均回收率为 96.75%,RSD= 2.5%,(n= 6)

2.7 样品溶液的配制和测定:精密吸取石明止血合剂 5.0 mL,加盐酸 0.5 mL,于水浴中煮沸水解 1 h,冷却后用乙醚 20 mL,分 10、5、5 mL 3 次萃取,合并萃取液置蒸发皿中,蒸干,用乙醇定容至 25 mL 量瓶中。精密吸取 1 mL 置 5 mL 量瓶中,加乙醇稀释至刻度,摇匀。精密吸取 1 mL 上述溶液和 1 mL 内标置 5 mL 量瓶中,加乙醇稀释至刻度,作为供试品溶液。按选定的方法,测定石明止血合剂中没食子酸含量,结果见表 1

表 1 石明止血合剂中没食子酸的含量 (n= 3)  
Table 1 Determination of gallic acid in Shiming Zhixue Mistura (n= 3)

| 批 号    | 没食子酸含量 / (mg · mL <sup>-1</sup> ) | RSD/% |
|--------|-----------------------------------|-------|
| 020501 | 27.96                             | 2.9   |
| 020601 | 33.44                             | 2.7   |
| 020602 | 31.26                             | 2.3   |

### 3 讨论

3.1 最低检测限:以信噪比等于 3∶1 为标准,测定没食子酸的最小检测浓度为 1 μg/mL

3.2 运行缓冲液的 pH 对分离效果的影响:在 25 mmol/L 硼砂缓冲液 (pH= 9.68) 中添加不同浓度的氢氧化钠溶液 (相应 pH 分别为 10.52、12.24)。结果表明,pH 为 9.68 时的分离效果最佳

3.3 检测波长的选择:在实验中,对没食子酸对照品溶液在 200~ 600 nm 进行光谱扫描。结果没食子酸在 214 nm 处吸收值最大,灵敏度最高,故选择其为测定波长

3.4 空白试验:按处方比例制备不含石榴皮、五倍子药材的阴性对照溶液,按样品含量测定方法操作,结果空白溶液在与没食子酸对照品相同保留时间处,未显示明显色谱峰 (图 1),认为无干扰

### References

[1] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I .  
[2] Bian A F, Chang Y P, Jin R L. Determination of gallic acid in Shiming Zhixue Mistura [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 1994, 19(5): 287-289.  
[3] Wang B Q. Research of Quality Standard of Standard Materials on Chinese Patent Medicine (中成药质量标准与标准物质研究) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1994.  
[4] Mao X J, Xu Q L, Xiong H L, et al. Determination of gallic acid in Relingqing Capsules by HPLC [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2002, 8(8): 589-591.  
[5] An D K. Selected Topics on Modern Pharmaceutical Analysis (现代药物分析选论) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 2000.

## HPLC测定刺五加软胶囊中异秦皮啶含量

赵陆华,屠颖,赵振宇,徐继华,王广基\*  
(中国药科大学 分析中心,江苏,南京 210009)

刺五加软胶囊由刺五加浸膏粉、黄芪、枸杞等 6 味中药经特殊制剂工艺提取后,加定量植物油和赋形剂制成,具有益气健脾、补肾安神之功效,用于脾肾阳虚、体虚乏力、腰膝酸痛等。刺五加含有多种化学成分,其中异秦皮啶 (isofraxidin) 具有明显的镇静作用。因制剂成分较多,干扰较大,文献报道的异秦皮啶含量 HPLC 测定方法<sup>[1-3]</sup> 不适宜本品。经色谱优化,样品处理方法考察,本实验建立了一种 HPLC 法测定其中总异秦皮啶含量,重现性好,可用于评价刺五加及其制剂中该成分的指标。

### 1 仪器与试药

日本岛津 LC- 10A 高效液相色谱仪, SPT-

10A 检测器, G- R6A 记录仪。甲醇为色谱纯,其余均为分析纯,水为二次重蒸水。异秦皮啶对照品 (中国药品生物制品检定所提供), 刺五加软胶囊 (自制, 批号: 991011, 991013, 991016)。

### 2 方法与结果

2.1 测定波长的选择:取异秦皮啶对照品适量,加流动相溶解,在 200~ 400 nm 波长扫描 (图 1)。本品在 343.4 nm 处有最大吸收,故选择 344 nm 作为检测波长。

2.2 色谱条件:色谱柱: Alltima C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸 (45∶55∶1); 流速: 1 mL/min; 检测波长: 344 nm; 进样量: 20 μL

\* 收稿日期: 2003-03-31