

## HPLC 法测定芪仙汤微丸中没食子酸含量\*

★ 刘芳菊<sup>1</sup> 王跃生<sup>2\*\*</sup> 罗晓健<sup>2</sup> 张国松<sup>2</sup> 孙艳荣<sup>1</sup> 刘晓谦<sup>1</sup> (1. 江西中医学院 南昌 330006; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 南昌 330006)

**摘要:**目的:建立用高效液相法(HPLC)测定芪仙汤微丸中没食子酸含量的方法。方法:采用 Hypersil ODS 柱,流动相为甲醇:0.05%磷酸水溶液(5:95),检测波长为 271 nm。结果:没食子酸在 0.1~0.534 μg 范围内线性关系良好,平均回收率为 98.12%,RSD=0.89%。结论:该方法不仅操作简便,准确,而且重复性好,可用于芪仙汤微丸体外溶出实验以及控制芪仙汤包衣微丸的质量。

**关键词:**HPLC;没食子酸;芪仙汤微丸

**中图分类号:**R 927.2 **文献标识码:**B

芪仙汤是名中医朱良春教授的经验方,由黄芪、仙鹤草、白术、五倍子、细辛、乌梅等组成,具有健脾益气,温阳涩肠,止泻止痛,兼活血之功。芪仙汤口服与灌肠结合治疗溃疡性结肠炎经过长期的临床观察,对溃疡性结肠炎有较好的疗效。

前期已有报道,建立了芪仙胶囊中黄芪甲苷的含量测定方法<sup>[1]</sup>,黄芪甲苷虽为处方中君药的有效

成分,但是测定黄芪甲苷时样品处理方法比较繁琐,且含量较低,为了更好的控制芪仙汤微丸的质量以及为后期的芪仙汤微丸体外溶出实验提供方法学基础,本实验选择五倍子中没食子酸为指标成分,建立测定芪仙汤微丸中没食子酸的含量方法<sup>[2~3]</sup>。

成分,但是测定黄芪甲苷时样品处理方法比较繁琐,且含量较低,为了更好的控制芪仙汤微丸的质量以及为后期的芪仙汤微丸体外溶出实验提供方法学基础,本实验选择五倍子中没食子酸为指标成分,建立测定芪仙汤微丸中没食子酸的含量方法<sup>[2~3]</sup>。

### 1 仪器与试药

仪器:Agilent 1100 系列高效液相色谱仪;KQ-

ioptervides christ。

《本草纲目》、《植物名实图考》记载的石长生,经考证应是凤尾蕨属植物凤尾草 *Pteris multifida* poir;而《神农本草经》、《名医别录》、《本草经集注》记载的石长生,经考证应是铁线蕨科的单盖钱线蕨 *Adiantum monochlamys* Eaton。

### 参考文献

- [1]浙江植物志编委会.浙江植物志(第1卷)[M].杭州:浙江科学技术出版社,1993:75-87.
- [2]张美珍,赖明洲.华东五省一市植物名录[M].上海:上海科学普及出版社,1993:103.
- [3]江苏省植物研究所.新华本草纲要·第3册[M].上海:上海科学技术出版社,1990:655-659.
- [4]谢宗万.中药材正名词典[M].北京:北京科学技术出版社,2004:936-938.
- [5]中国医学科学院、药用植物资源开发研究所.中药材·第4册[M].北京:北京人民卫生出版社,1988:201-204.
- [6]刘勇,姚振生.江西凤尾蕨属药用植物资源及其利用[J].江西林业科技,1996(6):29-30.

(收稿日期:2008-11-11 责任编辑:曹征)

类有井栏边草、刺齿凤尾蕨、凤尾蕨、蜈蚣草。而分布区域狭窄、资源量少不宜开发利用的种类有岩凤尾蕨、傅氏凤尾蕨、栗柄凤尾蕨、半边旗。

该属药用植物主要含有蕨类衍生物(蕨素 A、B、C、D、E 等),黄酮类化合物、玉龙草甙及茛菪满酮等有效成分,此外,尚有刺齿凤尾蕨酸 C、刺齿凤尾蕨内酯等。尚具有清热解毒、消炎止痢、止血生肌、止咳祛痰、消肿散结等功效。如蜈蚣草、凤尾蕨、半边旗,刺齿凤尾蕨等对治疗黄疸性肝炎、痢疾、风湿疼痛、外伤出血等症具有较好的临床疗效。其中刺齿凤尾蕨根的止血效果近似云南白药,是一味具开发潜力的药用植物。

本草文献记载的凤尾草与现在常用药用植物凤尾草的原植物有所不同。它们分别来源于凤尾蕨科凤尾蕨属的井栏边草 *Pteris multifida* poir. ex Lam, 剑叶凤尾蕨 *Pteris ensiformis* Bum 而凤尾蕨的原植物应是大叶井口边草 *Pteris cretica* L。此外本草文献记载的还阳草原植物就是猪鬃凤尾蕨 *Pteris acrin-*

\* 基金项目:江西省自然科学基金

\*\* 通讯作者:王跃生,男,研究员,博士生导师,长期从事中药研发工作。

250 超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司);

试剂: 芪仙汤微丸(自制), 没食子酸对照品(含测用, 批号: 110831-200302, 中国药品生物制品检定所), 甲醇为色谱纯, 其它试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil ODS 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇: 0.05% 磷酸水溶液(5:95); 检测波长: 271 nm; 流速: 1 ml/min; 柱温: 25 ℃。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品适量, 置于 250 ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 配制成浓度为 0.0534 mg/ml 的没食子酸溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取部分包衣微丸, 研碎, 取 1 g, 精密称定, 置于 250 ml 量瓶中, 加水至刻度, 称定重量, 超声处理 1 h, 放冷, 再称定重量, 补足缺失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 没食子酸检测波长的确定 取 2.2 项下没食子酸对照品溶液, 于 200 ~ 400 nm 范围内进行紫外扫描, 确定检测波长。对没食子酸对照品溶液在 200 ~ 400 nm 范围内进行扫描, 测得其在 215 nm 和 271 nm 有最大吸收。

另取 2.3 项下供试品溶液, 于 200 ~ 400 nm 范围内进行紫外扫描。比较相同光谱条件下供试品于 215 nm 和 271 nm 波长下的光谱图, 检测波长为 271 nm 的光谱图没食子酸峰可以与其它峰达到良好的基线分离, 并且杂质干扰少, 因此采用 271 nm 为检测波长。

2.5 阴性对照试验 取缺没食子酸样品制成阴性供试品, 按上述色谱条件进样, 记录色谱图, 结果阴性样品色谱图中未出现没食子酸的峰。结果表明处方中的其他成分对没食子酸的检测无干扰。

2.6 标准曲线的制备 分别精密吸取 2.2 项下对照品溶液 2.5、5、10、15、20 ml 至 25 ml 量瓶中, 加水稀释至刻度。分别精密吸取 10 μl, 依次注入液相色谱仪, 测定, 以峰面积对浓度(μg/ml) 进行线性回归, 得回归方程  $A = 431.6C - 5.2417$  ( $r = 0.9998$ )。结果表明, 没食子酸在 0.1 ~ 0.534 μg 范围内线性关系良好。

2.7 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL, 按上述色谱条件, 重复进样 5 次, 测定对照品溶液中没食子酸峰面积值, 结果  $RSD = 0.96\%$ 。

2.8 重复性试验 取同一批芪仙汤包衣微丸(批号为 080916), 研细, 取细粉六份, 每份 1 g, 精密称定, 按 2.3 项下方法制成供试品溶液, 照上述色谱条件进行测定没食子酸含量。结果没食子酸含量分别为 1.73%, 1.76%, 1.74%, 1.67%, 1.81%, 1.79%,  $RSD = 0.82\%$ 。

2.9 加样回收率试验 取已知含量的芪仙汤包衣微丸(批号 080916, 含量为 1.74%), 研细, 取 1 g(9 份), 分成三组, 精密称定, 置 250 ml 量瓶中, 分别精密加入对照品溶液 0.8, 1, 1.2 ml, 照 2.3 项下方法制备供试品溶液, 分别测定含量, 计算回收率。结果平均加样回收率为 98.12%,  $RSD = 0.89\%$ 。

2.10 稳定性试验 分别取同一份供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、10、12 h 进样, 测定峰面积, 结果表明供试品溶液在 12 h 内峰面积积分值基本稳定,  $RSD = 0.86\%$ 。

2.11 样品测定 取芪仙汤包衣微丸(批号 080916) 三份, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 分别取上述供试品溶液和对照品溶液 10 μl 进样, 以峰面积按外标法计算没食子酸的含量。结果平均含量 1.57%,  $RSD = 0.33\%$ 。

## 3 讨论

芪仙汤处方包括黄芪、仙鹤草、白术、五倍子、细辛、乌梅六味药材, 除黄芪以及五倍子外, 其它药材中的有效成分均难以形成稳定的含量测定方法, 黄芪中的黄芪甲苷测定含量时, 样品处理方法繁琐, 含量低, 而五倍子中含大量的没食子酸, 且样品前处理方法简单, 所以本实验选择五倍子中的没食子酸作为指标成分。

本品选用 HPLC 法测定芪仙汤包衣微丸中没食子酸含量, 不仅操作简便、准确, 而且重现性好, 可为后期的芪仙汤微丸体外溶出实验以及控制芪仙汤包衣微丸的质量提供方法学基础。

### 参考文献

- [1] 魏惠珍, 黄周华, 方海红, 等. HPLC-ELSD 测定芪仙胶囊中黄芪甲苷的含量[J]. 江西中医学院学报, 2007, 12(6): 44-45.
- [2] 任源, 堵年生. HPLC 测定没食子中没食子酸的含量[J]. 华西药理学杂志, 2005, 20(1): 71-72.
- [3] 刘起中, 张可可. HPLC 法测定五倍子中没食子酸的含量[J]. 中草药, 2002, 33(5): 427.

(收稿日期: 2008-12-31 责任编辑: 曹征)

欢 迎 投 稿 ! 欢 迎 订 阅 !