

高效液相色谱法测定地稔药材中没食子酸含量

★ 李才堂 宋友昕 李晶 文萍 吕武清 (江西省中医药研究院 南昌 330077)

摘要:目的:建立地稔药材质量标准。方法:用 HPLC 法测定没食子酸的含量。结果:加样回收率平均为 99.89% $RSD=2.83\%$,线性范围为 0.014 6~0.293 0 mg/ml($r=0.999\ 7$),没食子酸峰面积在 8 小时内稳定,重复性 $RSD=1.53\%$ ($n=6$),精密密度 $RSD=2.39\%$ ($n=6$)。结论:方法稳定、可靠,可作为该药材的质量控制方法之一。

关键词:地稔;没食子酸;含量测定;HPLC 法

中图分类号:TQ 460.6 **文献标识码:**A

地稔为野牡丹科植物地稔 *Melastoma dodecandrum* Lour. 的新鲜或干燥全株,收载于贵州省中药材、民族药材质量标准 2003 年版。现代研究发现地稔药材中含有鞣质^[1]。我们用高效液相色谱法测定了地稔药材中没食子酸含量,实验方法如下。

1 仪器与药品

HP-1100 高效液相色谱仪(美国:包括 1322A 在线脱气机、G1311A 四元梯度泵、G1315A 二极管阵列检测器、HP 化学工作站),SimplicityTM 个人型超纯水系统(Millipore 公司),CQ-250 超声波清洗仪(上海船舶电子设备研究所)。没食子酸对照品(自制,经 HPLC 归一化法测定纯度为 99.5%),甲醇为色谱纯,其它试剂均为分析纯。地稔药材经江西中医学院中药鉴定教研室褚小兰教授鉴定为野牡丹科植物地稔 *Melastoma dodecandrum* Lour.。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Alltech C₁₈ 4.6 mm×250 mm;流动相:甲醇-0.05%磷酸(1:99);流速:1 ml/min;检测波长:274 nm;柱温:25℃。在此条件下对照品、供试品在约 16 分钟相同时间有一色谱峰。

2.2 对照品溶液制备

精密称取经五氧化二磷干燥过夜的没食子酸对照品适量,加 50% 甲醇制成 0.04 mg/mL 溶液,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取地稔药材粉末约 2 g,精密称定,精密加入 50% 甲醇 50 mL 及 2 mL 盐酸,称定重量,加热回流 2 小时,冷却,称定重量,用 50% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液适量,通过微孔滤膜(0.45 μm),即得。

2.4 方法学研究

2.4.1 线性关系的考察 精密称取经五氧化二磷干燥过夜的没食子酸对照品适量,加 50% 甲醇稀释成以下浓度:14.648、29.296、58.592、87.888、117.184、146.48、292.96 μg/mL,分别吸取 10 μL,注入液相色谱仪中,照上述色谱条件测定对照品峰面积,将上述对照品浓度与相应峰面积进行回归处理,回归方程为: $Y=13.45X+18.95$ $r=0.999\ 7$,没食子酸对照品在 14.648~292.96 μg/mL 范围内样品浓度与峰面积呈良好的线性关系。

2.4.2 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μL,照上述色谱条件,每隔 0.5 小时或 1 小时,测定供试品溶液中没食子

酸峰面积值,结果没食子酸峰面积在 8 小时内稳定, RSD 为 2.05%。

2.4.3 精密密度试验 精密吸取供试品溶液 10 μL,按上述色谱条件,重复进样 5 次,测定供试品溶液中没食子酸峰面积值,结果 $RSD=2.39\%$ 。

2.4.4 重复性试验 取同一样品,共 6 份,照“2.3”项下方法制成供试品溶液,照上述色谱条件进行测定,结果 $RSD=1.53\%$ 。

2.4.5 加样回收率试验 精密称取同一样品地稔粉末约 1 g,共 5 份,各精密加入没食子酸对照品 50% 甲醇溶液(0.014 mg/mL)50 mL,余同供试品溶液制备项下操作,制成供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定,计算回收率,结果平均回收率 99.89%, $RSD=2.83\%$ 。

2.5 样品测定结果

分别精密称取不同产地的地稔药材,照供试品溶液制备项下方法制备,精密吸取上述对照品溶液与各供试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,测定,结果见表 1。

表 1 地稔药材中没食子酸含量

产地	没食子酸含量(%)
贵州遵义	0.0973
江西樟树	0.0667
广西百色	0.0822
安徽亳州	0.0771

3 小结

(1)地稔药材中没食子酸主要以结合型存在,如不水解直接以 50% 甲醇提取,则测得多批地稔药材没食子酸含量在 0.02%~0.03% 之间。

(2)供试品溶液制备研究中分别考察了加盐酸 1、2、3、4 mL 对提取效果的影响,以加 2 mL 盐酸效果最好;水解时间分别考察了 0.5、1、2、3 小时,2 小时与 3 小时组水解效果较好且无差异;提取溶剂用量分别考察 25、50、100 mL,50 mL 组与 100 mL 组提取效果较好,且无差异;确定以 50% 甲醇 50 mL 加盐酸 2 mL 水解 2 小时制备供试品溶液。

(3)从测定结果分析,不同产地地稔药材没食子酸的含量差别较大。

参考文献

[1]国家中医药管理局.中华本草(第 5 册)[M].上海:上海科学技术出版社,1999.678

(收稿日期:2005-04-30)