

- [2] 薛立安, 李元波, 郭丹丹, 等. 复方丹参泡腾性渗透泵片的制备及释药机制研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(7): 848-851.
- [3] 张彦青, 解军波, 陈大为. 灯盏花素骨架缓释微丸释药机制的研究[J]. 中草药, 2004, 35(5): 517-519.
- [4] Sankalia JM, Sankalia MG, Mashru RC. Drug release and swelling kinetics of directly compressed glipizide sustained-release matrices: Establishment of level A IVIVC[J]. J Controlled Release, 2008, 129(1): 49-58.
- [5] 朱广强, 武亚玲, 张瑜. 氨茶碱魔芋胶骨架片的释药机制研究[J]. 中南药学, 2007, 5(4): 299-302.
- [6] 汤贯光, 李小芳, 李珂. HPMC 骨架片中中药有效部位释放影响因素的研究[J]. 成都中医药大学学报, 2007, 30(4): 41-42.
- [7] 秦婷婷, 姚静, 周建平. 溶胀型骨架片释药机制及其模型研究综述[J]. 药学进展, 2007, 31(4): 159-165.
- [8] 董志超, 蒋雪涛. 羟丙基甲基纤维素在凝胶骨架片的应用[J]. 国外医药, 1993, 14(1): 41-44.

(编辑: 邓响潮)

RP-HPLC 法测定不同产地地榆中没食子酸的含量

黄文平¹, 宋永贵^{1,2}, 刘 晓², 秦嫚嫚², 冯育林^{1,2}, 金浩鑫¹, 杨世林^{1,2}, 李志峰^{1,2}(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006; 2. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004)

摘要: **目的** 建立地榆药材中没食子酸的 RP-HPLC 测定方法。**方法** 采用高效液相色谱法, 色谱柱: Cosmosil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.5%磷酸溶液; 检测波长为 274 nm; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 柱温为 25 ℃。**结果** 没食子酸在 0.234~1.794 μg 内线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均回收率为 99.33%, RSD=1.19%。**结论** 该方法准确、简便、重现性好, 适用于没食子酸的含量测定, 有助于完善地榆药材的质量控制方法。

关键词: 没食子酸; 含量测定; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2014)05-0603-03

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.05.020

Determination of Gallic Acid of *Melastoma dodecandrum* Lour. from Different Producing Places by RP-HPLC

HUANG Wenping¹, SONG Yonggui^{1,2}, LIU Xiao², QIN Manman², FENG Yulin^{1,2}, JIN Haoxin¹, YANG Shilin^{1,2}, LI Zhifeng^{1,2} (1. National Engineering Center of Solid Preparation of Traditional Chinese Medicine Manufacturing Technology, Nanchang 330006 Jiangxi, China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China)

Abstract: **Objective** To establish a method for the determination of gallic acid in *Melastoma dodecandrum* Lour. from different sources by RP-HPLC. **Methods** HPLC method was validated on Cosmosil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with a mobile phase of methanol-0.5% phosphoric acid at a flow rate of 1 mL/min and a column temperature of 25 ℃. The detection wavelength was set at 274 nm. **Results** Gallic acid in the range of 0.234~1.794 μg ($r=0.9999$) had a good linear relationship, the average recovery was 99.33%, and RSD=1.19%. **Conclusion** The established method is simple, feasible and reproducible, and it can be used for the quality control of *Melastoma dodecandrum* Lour.

Keywords: Gallic acid; Content determination; RP-HPLC

地榆(*Melastoma dodecandrum* Lour.)为野牡丹科植物地榆的全草, 又名山地榆、地葡萄、地石榴等^[1],

分布于广西、湖南、贵州等地, 其味甘、涩, 性凉, 具有活血止血、消肿祛瘀、清热解毒之功效^[2], 临床

收稿日期: 2014-04-17

作者简介: 黄文平, 男, 实习研究员, 研究方向: 天然药物分离及其质量控制。Email: 510340840@qq.com。通讯作者: 李志峰, 副教授, 研究方向: 天然药物分离。Email: 549266363@qq.com。

基金项目: 《中华人民共和国药典》2015 版一部标准研究项目。

用于治疗高热、肿痛、咽喉肿痛、牙痛、痢疾、痛经、崩漏、痔疮、毒蛇咬伤等病症。《广东药材标准》和 2005 年《浙江省中药炮制规范》以“地菰”之名正式收载该药，特别是 2005 年《浙江省中药炮制规范》以菰药的名义收载，据菰医药数据库统计，约有 20 多个处方使用地菰，是极具开发前景的天然药物^[3]。临床研究^[4]表明，将地菰制成制剂，治疗消化道出血、止血功效显著。另有报道^[5-6]地菰有抗肿瘤、抗衰老、降血糖等作用，而对正常细胞没有毒副作用。地菰药材中没食子酸含量比较高，为评价地菰的质量，采用 HPLC 法测定地菰中的没食子酸，可用于药材的初步质量控制。

1 仪器与试药

1.1 仪器 安捷伦 LC-1260 型液相色谱仪，含自动进样器，美国安捷伦公司；AUW220D 型电子天平（十万分之一），日本岛津公司；BS224S 型电子天平（万分之一），美国 Sartorius 公司；KQ250DB 型数控超声波清洗器，巩义市予华仪器有限责任公司；KQ5200 型水浴锅，昆山市超声仪器有限公司。

1.2 试药 没食子酸对照品，批号：M05-20130113，中国食品药品检定研究所；甲醇为色谱纯；水为超纯水；其余试剂均为分析纯。地菰药材分别采集于江西、安徽等地，样品经江西中医药大学钟国跃教授鉴定为地菰植物 *Melastoma dodecandrum* Lour.。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 见图 1。经优选色谱条件，确定固定相为 Cosmosil C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)；以甲

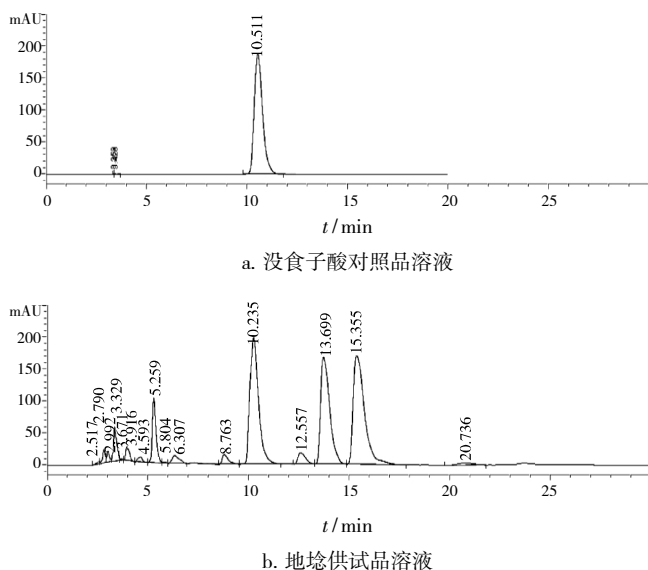


图 1 地菰 HPLC 色谱图

Figure 1 HPLC Chromatogram of *Melastoma dodecandrum* Lour

醇为流动相 A，0.5 %磷酸溶液为流动相 B，按 A : B=5 : 95 进行洗脱；检测波长为 274 nm；柱温为 25 ℃；流速：1.0 mL·min⁻¹；结果显示，色谱峰分离良好。

2.2 对照品溶液的制备 取没食子酸对照品适量，精密称定 7.8000 mg，置于 100 mL 量瓶中，加入 50 % 甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，即得没食子酸对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 称取地菰药材粉末 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 h，冷却，称定质量，用 50 % 甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.4 线性关系的考察 分别精密吸取 2.2 项下对照品溶液各 3, 8, 13, 18, 23, 28 μL，注入高效液相色谱仪，按 2.1 项下色谱条件测定峰面积，以进样量 (mg) 对峰面积绘制标准曲线，没食子酸回归方程为： $Y=2803524.3225X-17.7768$ ， $r=0.9999$ ($n=6$)。结果表明，在上述色谱条件下，没食子酸在 0.234 ~ 1.794 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 见表 1。精密吸取对照品溶液 10 μL，连续进样 6 次，测定没食子酸平均峰面积为 218.3，RSD 为 1.82 %，表明仪器精密度良好。

表 1 精密度试验

Table 1 Precision test

样号	1	2	3	4	5	6	平均值	RSD/%
峰面积	216.7	218.4	226.2	216.4	216.1	216	218.3	1.82

2.6 重复性试验 取同一批次的地菰药材粉末共 6 份，按照 2.3 项下方法分别制备供试品溶液，精密吸取 10 μL，按 2.1 项下方法测定并计算没食子酸的含量，结果测得没食子酸的含量为 0.168 %，RSD 为 0.15%，表明本方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 见表 2。取同一供试品溶液，分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样，测定没食子酸的峰面积。结果测得没食子酸的峰面积为 3550.3，RSD 为 0.68 %，表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验 见表 3。取已知含量的地菰药材各 6 份，分别精密加入没食子酸对照品适量，按 2.3 项下制备方法操作，测定并计算没食子酸的回收率，结果没食子酸的回收率为 99.33 %，RSD 为 1.19 %，表明该法具有良好的回收率。

2.9 样品的测定 见表 4。取 10 批样品，按照 2.3 项下方法制备供试品溶液，精密吸取供试品溶液各

表 2 稳定性试验

Table 2 Stability test

<i>t</i> /min	0	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	平均值	RSD/%
峰面积	3512.5	3532.1	3548.2	3569.2	3564.5	3575	3550.25	0.68

表 3 加样回收率试验结果(*n*=6)

Table 3 Sample recovery test results

试验号	取样量/g	含量/mg	加入量/mg	测定量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	2.0151	1.7914	1.4331	3.228	99.99		
2	2.0125	1.7891	1.4341	3.2259	100.55		
3	2.0102	1.7871	1.7871	3.5355	99.79	99.33	1.19
4	2.0126	1.7871	1.7871	3.5273	97.24		
5	2.0201	1.7959	2.155	3.9618	99.64		
6	2.0106	1.7874	2.1449	3.9277	98.79		

20 μL, 注入液相色谱仪, 按照 2.2 项下色谱条件进行测定, 结果 10 批药材平均含量为 1.0867 mg·g⁻¹, 含量在 0.3902~1.6458 mg·g⁻¹ 范围内。

表 4 10 批地榆药材中没食子酸含量测定结果(mg·g⁻¹)

Table 4 Determination of gallic acid in 10 batches of *Melastoma dodecandrum* Lour

批次	含量	批次	含量	平均含量
江西 130411	0.984	广西 130712	1.1041	
江西 130914	1.6458	江西 130703	0.3902	
安徽 130902	1.4942	江西 130709	1.0145	1.0867
云南 130908	1.029	江西 130712	0.8882	
江西 130923	0.759	江西 130725	1.5582	

3 讨论

根据没食子酸的理化性质, 本研究考察了加盐酸后超声与回流 2 种提取方法, 没食子酸的保留率分别为 0.02 % 和 0.1 %, 故采用回流提取的方法; 考察了提取溶媒的种类, 如盐酸 + 50 % 甲醇、盐酸 + 70 % 甲醇、盐酸 + 90 % 甲醇等进行提取, 没食子酸的保留率分别为 0.11 %, 0.07 %, 0.09 %, 盐酸 + 50 % 甲醇提取效果佳, 故选择盐酸 + 50 % 甲醇为溶媒; 以甲醇 - 0.5 % 磷酸为基础, 比较甲醇 - 0.5 % 磷酸溶液(1 : 99)、乙腈 - 0.1 % 磷酸溶液(1 : 99)及甲醇 - 0.5 % 磷酸溶液(5 : 95)3 种流动相的分离效果, 结

果发现甲醇 - 0.5 % 磷酸溶液(5 : 95)时, 地榆药材中没食子酸的分离效果好, 且出峰时间适中。故确定流动相为甲醇 - 0.5 % 磷酸溶液(5 : 95)。综上, 确定了供试品溶液的制备方法及流动相组成。同时, 采用二极管阵列检测器对检测波长进行选择, 结果表明, 检测波长为 274 nm 时, 对照品有最大吸收波长。

目前, 国内研究地榆含量测定的方法比较缺乏, 有文献报道^[7]测定地榆中槲皮素的含量, 但成分比较单一, 且含量较低, 不足以控制地榆药材的质量。本研究建立了地榆药材中没食子酸的含量测定方法, 通过比较多批次的地榆药材, 发现不同批次药材的没食子酸含量差异较大, 最低的样本含量为 0.3092 mg·g⁻¹, 而最高的样本含量为 1.6458 mg·g⁻¹。在以上 4 个产地(江西、安徽、云南、广西)中, 没食子酸含量范围为 1.029~1.6458 mg·g⁻¹, 其中安徽含量最高, 云南最低, 这可能是地域的差异性、气候条件所致。地榆中没食子酸含量的差异, 也为临床用药选择提供了一定的依据。本研究采用高效液相色谱法测定地榆中没食子酸的含量, 灵敏度高、准确性和精密度好、操作简便、色谱峰分离优良、回收率高, 为地榆的合理利用奠定了一定的基础。

参考文献:

[1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第 2 册)[M]. 北京: 科学出版社, 1972: 1002.

[2] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草(5)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 628.

[3] 陈志英, 李水福. 浅谈畚药地榆的研究概况[J]. 中草药, 2007, (7): 1117-1118.

[4] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册[M]. 上海: 上海人民出版社, 1997: 804.

[5] 程剑华, 李以侯. 抗癌植物药及其验方[M]. 南昌: 江西科学技术出版社, 1998: 295.

[6] 田庚元, 冯宇澄, 林颖. 植物多糖的研究进展[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(7): 441-444.

[7] 李光喜, 宋粉云, 毋福海, 等. HPLC 测定地榆中的槲皮素[J]. 华西药理学杂志, 2007, 22(4): 455-456.

(编辑: 邓响潮)