

HPLC法测定四草克银凝胶中没食子酸的含量

杨连滢, 肖玮璐, 文诗雨, 谢欣辛, 张红敏, 陈斌

Determination of gallic acid in sicaokeyin gel by HPLC method

YANG Lianyan, XIAO Weirong, WEN Shiyu, XIE Xinxin, ZHANG Hongmin, CHEN Bin

在线阅读 View online: <http://yxj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202508053>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

白及复方补脾中药的质量标准研究

Establishment of quality standard of *Bletilla* compound spleen-tonifying Traditional Chinese Medicine

药学实践与服务. 2025, 43(11): 564-566, 576 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202303040

HPLC-MS/MS测定当归六黄汤中4种不同成分的含量

Determination of four different components in Danggui Liu Huang decoction by HPLC-MS/MS

药学实践与服务. 2024, 42(6): 248-252, 266 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202305007

滴眼液中抑菌剂硫柳汞的HPLC含量测定方法研究

Determine antimicrobial preservatives thimerosal in eye drops by HPLC

药学实践与服务. 2025, 43(6): 293-297 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202404059

HPLC-MS/MS同时测定感冒安颗粒中5种黄酮成分的含量

Simultaneous determination of five flavonoids in Ganmao' an granules by HPLC-MS/MS

药学实践与服务. 2024, 42(9): 402-406 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202403030

中心切割二维液相色谱法测定人血浆中拉莫三嗪血药浓度的研究

Determination of lamotrigine in human plasma by central cutting two-dimensional liquid chromatography

药学实践与服务. 2026, 44(1): 53-58 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202306020

麝香接骨胶囊的HPLC特征图谱的研究及7种成分含量测定

Study on the characteristic chromatogram of Shexiang Jiegu Capsule and determination of seven components by HPLC

药学实践与服务. 2025, 43(8): 395-399 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202307059



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

HPLC 法测定四草克银凝胶中没食子酸的含量

杨连滢¹, 肖玮璐¹, 文诗雨¹, 谢欣辛², 张红敏², 陈 斌¹ (1. 上海市静安区食品药品检验所, 上海 200435; 2. 上海市皮肤病医院, 上海 200443)

[摘要] 目的 地榆为四草克银凝胶主药, 没食子酸常被用作评价地榆及其制剂质量的关键指标性成分, 本文旨在建立四草克银凝胶中没食子酸含量测定的液相色谱方法。方法 以没食子酸为对照品, 采用 HPLC 法, 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 柱(4.6 mm ×25 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.05% 磷酸(5 : 95), 流速 1.0 ml/min, 紫外检测波长为 272 nm, 柱温 30℃, 进样体积 10 μl。结果 没食子酸在 1.004 ~ 50.18 μg/ml($r=0.999\ 9$)浓度范围内呈良好的线性关系, 平均回收率为 102.9%($n=9$)。结论 本方法操作简便, 结果准确可靠, 可用于四草克银凝胶中地榆的质量控制。

[关键词] 四草克银凝胶; 地榆; 没食子酸; 含量测定; 高效液相色谱法

[文章编号] 2097-2024(2026)09-0468-04

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202508053

Determination of gallic acid in sicaokeyin gel by HPLC method

YANG Lianyan¹, XIAO Weirong¹, WEN Shiyu¹, XIE Xinxin², ZHANG Hongmin², CHEN Bin¹ (1. Shanghai Jing'an Institute for Food and Drug Control, Shanghai 200435, China; 2. Shanghai Skin Disease Hospital, Shanghai 200443, China)

[Abstract] **Objective** Sanguisorba officinalis is the principal medicinal ingredient of Sicaokeyin gel. Gallic acid is commonly used as a key indicator component for evaluating the quality of Sanguisorba officinalis and its preparations. To establish a HPLC method for the determinant of gallic acid in Sicaokeyin gel. **Methods** With gallic acid as reference substance, HPLC analysis was performed on a Agilent Eclipse XDB-C₁₈ column (4.6 mm ×25 mm, 5 μm) with methanol-0.05%phosphoric acid (5 : 95) under isocratic elution. The flow rate was 1.0 ml/min and the detection wavelength was 272 nm. The column temperature was 30℃, the injection volume was 10 μl. **Results** Gallic acid showed good linear relationship in the range of 1.004-50.18 μg/ml ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 102.9% ($n=9$). **Conclusion** The method was easy to operate; the result was accurate and reliable, which could be used for the quality control of sanguisorba officinalis in Sicaokeyin gel.

[Key words] Sicaokeyin gel; sanguisorba officinalis; gallic acid; content assay; HPLC method

皮肤病学作为重点专科之一, 其病种丰富、临床科技成果转化需求迫切, 在国内多个医疗机构中获得了国家级和省级的重点支持。上海市皮肤病医院在长期临床实践中总结并创新了不少“经方”, 其中“四草克银方”用于治疗银屑病效果良好^[1]。其方原本为中药药浴处方, 针对银屑病主要病因病机进行治疗, 达到良好的治疗作用。因药浴治疗操作多有不便, 在其基础上, 改进并开发了外用药膏制剂四草克银凝胶, 已申请注册上海市医疗机构新制剂品种。银屑病在中医范畴中称为“白疔”, 主要病

因为气血失衡, 血热内蕴, 化燥生风, 肌肤失养, 而凝胶剂具有渗透性强, 刺激性低, 释药性好, 携带方便等优势, 治疗方式简便, 效果更为直观。地榆为我国传统要药^[2], 是四草克银凝胶中的重要组成部分, 具有凉血止血、解毒敛疮、抗菌消炎等功效, 常用于改善皮肤感染、湿疹、出血等问题^[3]。其含有的鞣质、黄酮类成分可促进创面修复, 减轻炎症反应, 同时具备一定抗氧化作用, 适合外用于多种皮肤问题^[4-5]。因此, 对四草克银凝胶中的主药地榆进行有效成分的质量控制显得尤为重要, 这对保证该制剂的稳定性和有效性具有重要意义。

本实验参考了不同制剂以及药材中地榆含量测定的方法, 以没食子酸为定量指标, 对样品前处理和色谱条件等进行了优化^[6-10], 建立了四草克银凝胶中没食子酸含量测定的液相方法, 以提高四草克银凝胶质量控制水平, 达到有效提升制剂品质的目的, 为保障临床疗效打好坚实基础。

[基金项目] 上海市科委创新行动计划项目(23S21900800); 上海市卫健委医学新技术研究与转化种子计划项目(2024ZZ1009); 上海市药品监督管理局课题研究项目(LX-2025-25)

[作者简介] 杨连滢, 本科, 主管药师, 研究方向: 药物分析, Tel: 13918235113, Email: mischayoung@163.com

[通信作者] 陈 斌, 博士, 主任药师, 研究方向: 药物分析, Tel: 13917661219, Email: chenbin_zb@foxmail.com

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1260 Infinity 型高效液相色谱仪(安捷伦), KUDOS 超声波清洗机(上海科导超声仪器有限公司), Sartorius CP124S 电子天平(赛多利斯、万分之一), Sartorius MCE125S-2CCN-U 电子天平(赛多利斯、十万分之一), 大容量高速台式冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

1.2 试药和试剂

没食子酸对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 110831-202408, 含量: 96.5%), 供含量测定用。四草克银凝胶(皮肤病医院, 批号 24052701、24060501、24061801, 规格: 20 g/支)。甲醇为色谱纯(Fisher Scientific)、氯化钠(国药集团化学试剂有限公司), 其他试剂均为分析纯、水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 柱(4.6 mm × 25 mm, 5 μm), 流动相 甲醇-0.05% 磷酸(5:95), 流速 1.0 ml/min, 紫外检测波长为 272 nm, 柱温 30℃, 进样体积 10 μl。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备

精密称取没食子酸对照品 10.40 mg 于 100 ml 量瓶中, 用水溶解并定容至刻度, 稀释制成每 1 ml 中含 100.4 μg 没食子酸的对照品储备溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备

取四草克银凝胶约 1.0 g, 精密称定, 置 20 ml 量瓶中, 加入 1 ml 饱和氯化钠溶液, 涡旋 1 min, 加水适量, 超声 20 min, 用水稀释并定容至刻度, 摇匀, 转移至 50 ml 的离心管中, 转速为 9 000 r/min, 4℃ 条件下, 高速离心 10 min, 取上清液, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液, 进样。

2.2.3 阴性对照溶液的制备

另取缺地榆阴性样品(批号 24112501), 按照“2.2.2”项下同法操作, 制成缺地榆阴性对照溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性考察

取对照品储备液 5 ml, 用水稀释至 100 ml, 作为专属性考察对照品溶液。取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液, 注入液相色谱仪, 记录峰面积和保留时间。结果显示, 供试品溶液色谱图中呈现与对照品色谱图中没食子酸对照品保留时间相

同的色谱峰。对照品溶液中没食子酸的保留时间为 6.158 min, 供试品溶液中没食子酸的保留时间为 6.162 min, 理论板数大于 9 000, 主峰与相邻杂质峰分离度大于 2.0。阴性对照溶液色谱图中, 在与没食子酸相同保留时间处无干扰。表明该方法专属性良好。液相色谱图详见图 1。

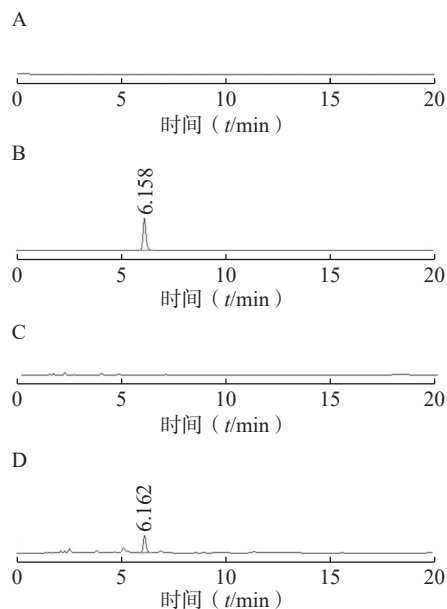


图1 四草克银凝胶液相色谱图

A. 溶剂; B. 对照品; C. 缺地榆阴性对照; D. 供试品

2.3.2 线性关系的考察

精密吸取对照品储备液 1、5、5、5、5 ml 分别置 100、100、50、25、10 ml 量瓶中, 加水稀释并定容至刻度, 分别制得浓度为 1.004、5.020、10.04、20.08、50.20 μg/ml 没食子酸系列对照品溶液。精密吸取对照品溶液各 10 μl 依次注入 HPLC 仪, 测定峰面积, 以对照品浓度(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y = 31.85X + 2.408$ ($r = 0.9999$), 结果表明, 在上述色谱条件下, 没食子酸在 1.004 ~ 50.20 μg/ml 浓度范围内与峰面积线性关系良好。

2.3.3 检出限与定量限

精密吸取对照品储备液 5 ml 于 50 ml 的量瓶中, 加水稀释至刻度, 取上述溶液按照 S/N=3 和 S/N=10 时制备并测定检出限和定量限。测得检出限浓度为 0.03 μg/ml, 定量限浓度为 0.07 μg/ml。

2.3.4 精密度

精密量取对照品溶液(浓度为 5.020 μg/ml), 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 测定并记录峰面积, 结果按峰面积计算, RSD 为 0.33%, 结果表明精密度良好。

2.3.5 重复性

取同一供试品(批号 24052701)约 1.0 g,精密称定,按“2.2.2”项下方法,平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件,精密吸取 10 μ l 进样,测定并计算没食子酸的含量,结果为 73.86 μ g/g, RSD 为 0.70%。表明该方法重复性良好。

2.3.6 稳定性实验

取供试品(批号 24052701)约 1.0 g,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备,按“2.1”项下方法测定,在 0~24 h 内分别进样(0、2、4、8、12、16、24 h),

每次 10 μ l,计算峰面积,考察其稳定性,测得 RSD=1.03%。表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.3.7 加样回收试验

精密称取已知没食子酸含量的同一批供试品(批号 24052701),没食子酸含量为 74.04 μ g/g,取供试品约 0.5 g,精密称定,共称取 9 份,置于 20 ml 量瓶中,分别精密加入对照品储备溶液 0.3、0.4 和 0.5 ml,平行操作 3 份,加入 1 ml 饱和氯化钠溶液,按“2.2.2”项下方法制备,按“2.1”项下方法测定,计算没食子酸的回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验

	称样量(m/g)	样品含量(m/ μ g)	加入量(m/ μ g)	测得量(m/ μ g)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
没食子酸1	0.534 9	39.60	30.12	70.65	103.1	102.2	0.79
	0.527 6	39.06	30.12	69.81	102.1		
	0.531 5	39.35	30.12	69.91	101.5		
没食子酸2	0.534 4	39.57	40.16	80.83	102.7	102.4	0.68
	0.519 8	38.49	40.16	79.81	102.9		
	0.526 5	38.98	40.16	79.79	101.6		
没食子酸3	0.523 3	38.75	50.20	89.96	102.0	101.6	0.35
	0.540 9	40.05	50.20	90.89	101.3		
	0.537 5	39.80	50.20	90.79	101.6		

2.4 样品中没食子酸的含量测定

取 3 批四草克银凝胶样品,各自操作 3 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,测定,计算没食子酸的含量,结果见表 2。

表 2 不同批次四草克银凝胶中没食子酸的含量

批号	没食子酸(μ g/g)	平均值(μ g/g)	RSD(%)
24052701	73.95	74.04	0.19
	73.97		
	74.20		
24060501	66.83	66.56	1.81
	67.60		
	65.23		
24061801	68.20	69.26	1.50
	69.31		
	70.27		

3 分析与讨论

3.1 检验方法及检测波长的确定

没食子酸的检测可以通过分光光度法、液相色谱法等^[11-14]实现。分光光度法需要通过辅助显色等实现,如福林酚试剂、三氯化铁试液等,操作复杂且专属性不佳。而液相色谱法作为最常用的方法,适用于药品、化妆品、植物提取物等复杂样品的分析,因此,我们最终采用液相色谱法。在选择波长时,考虑到没食子酸在 220、272、280 nm 等波长下均有较好吸收,最终参考 2020 年版《中国药典》一部中地榆的含量测定^[15],结合响应值大小、阴性无

干扰等条件,选择 272 nm 为最终检测波长。四草克银凝胶配方中的紫草也为本制剂的主药,但是其主要成分紫草素的含量测定面临多项技术难点,主要源于其复杂的理化特性,且样品基质对于提取有效成分具有干扰。紫草素对光、热敏感,全程需避光操作,在提取和分析的过程中可能降解造成测得含量不准确。样品中紫草素的提取需经多步萃取纯化,如碱液提取、酸中和、有机溶剂萃取、硅胶柱层析等预分离步骤,操作繁琐且易引入误差^[16-17]。综合考察四草克银凝胶中几味药,地榆为本制剂的君药,其含有的大量鞣质具有收敛作用,能迅速干燥创面、减少渗出、缓解瘙痒。地榆中的特征成分没食子酸性质稳定,提取过程方便,其测定结果能较好的反映样品中总酚的含量,因此,选择没食子酸作为四草克银凝胶的质量控制指标。

3.2 色谱条件的选择

根据考察的各种流动相组成,例如,乙腈-三乙胺-磷酸水溶液^[18]、甲醇-磷酸溶液^[19]、乙腈-磷酸溶液^[20]以及甲醇-冰醋酸水溶液^[21]等体系后,最终采用甲醇-0.05% 磷酸(5:95)为流动相,结果表明,本文采用的流动相峰形良好,洗脱效果佳,分离度良好,基线平稳,分析时间适中。在柱温条件方面,分别考察了 25、30、35℃,结果表明,当柱温 25℃ 时,色谱峰易存在拖尾现象;柱温 35℃ 时,没食子酸出峰过快,与杂质的分离度不如柱温 30℃ 时好,因

此,选择柱温为 30℃。

3.3 提取条件的选择

针对本凝胶剂,先后采用甲醇直接提取^[22]、加稀盐酸溶液后提取^[23]以及加氯化钠溶液后提取^[24]等方法。实验结果发现用溶剂直接提取的供试品含量检测偏低,加稀盐酸或加饱和氯化钠溶液的供试品含量结果相当,但是稀盐酸对液相色谱基线有干扰、对于色谱柱的损耗较大。因此,选择了加饱和氯化钠溶液涡旋混匀后用水溶解,作为供试品溶液的预处理方法。在加饱和氯化钠溶液提取过程中依次采用了超声处理、水浴回流、索氏提取等方法,因产品中凝胶基质的关系,加热后提取溶液难以过滤澄清且回流提取耗费时间较长;而超声提取温度上升不明显,操作简便效率高。考察不同超声提取时间,取供试品分别超声提取 5、10、20、30 min,超声提取 5 min 及 10 min 时测得没食子酸含量均低于 20 min 时,而超声提取 30 min 时测得的含量与 20 min 时相当,表明经过超声提取 20 min 已基本能将没食子酸提取完全,因此,选择超声提取 20 min 为最佳预处理时间。最终确定本文供试品溶液的制备方法为加 1 ml 饱和氯化钠溶液涡旋 1 min 混匀后,加水适量,超声提取 20 min 后定容。

4 结论

地榆作为传统中医药治疗皮肤病的要药,具有解毒敛疮、凉血活血、抗炎抑菌的作用,常用于疮痈肿毒、湿疹皮炎、水火烫伤等。其含有的没食子酸、槲皮素、地榆皂苷等都对皮肤病的治疗起到重要作用。四草克银凝胶作为上海市皮肤病医院的新制剂品种,还未建立有效、可控的质量标准体系。本文考察了采用 HPLC 法测定四草克银凝胶中没食子酸的含量,该方法专属性强,线性良好,定量准确,操作简便。测得的 3 个批次样品中,没食子酸含量稳定,批次之间差异不大,可为四草克银凝胶的质量控制提供坚实可靠的参考依据,更好的保障其临床有效性。

【参考文献】

- [1] 郑淇,王玲玲,姜文成,等.四草克银方药浴治疗寻常型银屑病血热证的随机对照研究[J].世界临床药物,2021,42(6):463-467.
- [2] 倪天宇,张水利,俞冰,等.经典名方中地榆的本草考证[J].中国实验方剂学杂志,2023,29(5):58-67.
- [3] 梁兆松,姜明辉.止血“明珠”说地榆[J].家庭医学,2021(4):53.
- [4] 罗小军,姚群.中药地榆复方汤剂冲洗、外敷术后切口的有效性及地榆作用机制分析[J].中医临床研究,2021,13(14):136-138.
- [5] 代秋颖,王永灵,李琰,等.复方地榆凝胶贴膏的制备工艺及透皮实验研究[J].上海中医药大学学报,2024,38(3):66-73.
- [6] 邓赞,胡佳,李莎,等.同时测定地榆或地榆类制剂中没食子酸和地榆皂苷 I 含量的 HPLC 波长切换法:CN107064322B[P].2019-12-31.
- [7] 范琳姿,崔彬彬,吴承翠,等.HPLC 法测定地榆中六种酚酸的含量[C].世界中医药大会第四届夏季峰会暨世界中医药学会体质研究专业委员会第七届学术年会论文集.2018:1-7.
- [8] 陆永辉,戴衍朋,孙立立.UPLC 波长变换测定地榆饮片中没食子酸、鞣花酸含量[J].时珍国医国药,2018,29(11):2570-2571.
- [9] 徐佳丽,苏拓,陈龙,等.HPLC 测定地榆鞣质提取物中游离没食子酸的含量[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(20):84-86.
- [10] 胡佳,李莎,广兵,等.地榆升白片质量标准提升研究[J].中国现代中药,2016,18(12):1641-1645.
- [11] 骆婷婷,蓝海,张海珠,等.紫地榆中总鞣质的含量测定[J].大理学院学报(综合版),2014(2):12-14.
- [12] 邹绒弟,骆婷婷,苏敏,等.紫地榆中鞣花酸和没食子酸含量测定[J].大理大学学报,2016,15(6):47-49.
- [13] 陈斯玮.地榆中鞣质含量的测定[J].安徽农业科学,2012,40(13):7711-7712.
- [14] 张伟清,侯俐南,刘慧锦,等.高效液相色谱法测定化妆品用植物原料月柿提取物中没食子酸含量[J].日用化学品科学,2025,48(3):66-70.
- [15] 国家药典委员会.地榆[S]/中华人民共和国药典:二部.北京:中国医药科技出版社,2020:130-131.
- [16] 崔晓秋,刘云刚.HPLC 测定新疆紫草中紫草素的含量及提取方法的优化[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(16):94-97.
- [17] 杨沁,陈梦婷,刘虹,等.HPLC 法测定紫草中紫草素的含量[J].新教育时代电子杂志(教师版),2015(31):123.
- [18] MAHAJAN A D, PAI N R. Development and validation of HPLC method for quantification of phytoconstituents in Haritaki churna[J]. Int J ChemTech Res, 2011, 3(1): 329-336.
- [19] 陈哲妮,黄婉锋.地榆炭配方颗粒的质量控制研究[J].现代中药研究与实践,2012,26(2):66-68.
- [20] 覃媛媛,沈嘉华.HPLC 法测定复方大红袍止血胶囊中没食子酸的含量[J].医学信息,2021(16):98-101.
- [21] 高林晓,石慧丽,文冬冬,等.高效液相色谱法同时测定刺三加叶中芦丁和没食子酸含量[J].理化检验-化学分册,2021,57(4):339-343.
- [22] 冯秋瑜,蒋云霞,胡宇婷,等.HPLC 法同时测定复方山茶油乳凝胶中 7 个化学成分[J].中药材,2022,45(3):674-678.
- [23] 丰艳梅,王敏春,车晓侠.高效液相色谱法测定复方虎杖烧伤凝胶中没食子酸的含量[J].现代中药研究与实践,2010,24(6):78-80.
- [24] 周晓英,姜敏,葛亮,等.HPLC 波长切换法同时测定中药复方凝胶剂中 4 种成分含量[J].中华中医药学刊,2022,40(9):197-200.

【收稿日期】 2025-08-22 【修回日期】 2026-01-12

【本文编辑】 费永和