

文章编号:1008-9926(2004)04-0300-02 中图分类号:R927.2 文献标识码:A

HPLC法测定麻杏石甘汤中甘草次酸的含量

毕云生,赵普军,潘菡清

(中国人民解放军济南军区总医院,药学部 山东 济南 250031)

摘要:目的 建立麻杏石甘汤中甘草次酸含量的 HPLC 测定方法。方法 采用 Irregular-H C₁₈柱(5 μ m,4.6mm $\times$ 250mm),流动相为甲醇-水(95:5),在 252nm 波长处检测,流速为 0.8ml/min,柱温为 25 $^{\circ}$ C。结果 甘草次酸在 1.36~6.80 μ g 范围内呈良好的线性关系, $r=0.9995$;平均加样回收率为 98.38%, $RSD=1.33\%$ ($n=5$)。结论 该方法结果准确,重现性好,可以用于测定麻杏石甘汤中甘草次酸的含量。

关键词:麻杏石甘汤;甘草次酸;高效液相色谱法

Determination of enoxolone in Mxing Shigan Decoction by HPLC

BI Yun-Sheng, ZHAO Pu-Jun, PAN Han-Qing

(Department of Pharmacy General Hospital of Jinan Military Region, Ji'nan 250031, Shandong China)

ABSTRACT: Aim To establish an HPLC method for the determination of enoxolone in Mxing Shigan Decoction. **Method** A Irregular-H C₁₈ column(5 μ m,4.6mm $\times$ 250mm) was used. The mobile phase was methanol-water(95:5). The detection wavelength was at 252nm. The flow rate was 0.8ml/min, the column temperature was 25 $^{\circ}$ C. **Results** The linear range of enoxolone was 1.36~6.80 μ g, $r=0.9995$. The average recovery was 98.38%, $RSD=1.33\%$ ($n=5$). **Conclusion** The result is accurate and the reproducibility is good. This method can be used for the determination of enoxolone in Mxing Shigan Decoction.

KEY WORD: Enoxolone; Mxing Shigan Decoction; HPLC

麻杏石甘汤由麻黄、杏仁、石膏、炙甘草 4 味药组成,具有解热、抗炎、抗病毒、镇咳、祛痰等作用,广泛应用于临床。甘草次酸作为其制剂质量控制指标之一,文献多采用薄层色谱法测定其含量^[1,2],用高效液相色谱法测定其中甘草次酸的却未见报道。本文采用高效液相色谱法测定麻杏石甘汤中甘草次酸的含量,方法简单易行,结果精确可靠,可以用于控制制剂质量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 LC-10AT 高效液相色谱仪含 SPD-10A 检测器(日本岛津制作所);N2000 数据工作站(浙江大学智能信息工程研究所);pHS-3C 型精密 pH 计(上海雷磁仪器厂);MA110 型电子分析天平(上海第二分析仪器厂);LXJ- 型离心沉淀机(上海医疗器械三厂)。

1.2 试剂 麻杏石甘汤按规定处方和工艺自制,实验用药材经山东中医药大学张兆旺教授鉴定,麻黄为麻黄科植物木贼麻黄 *Ephedra equisetina* Bge. 的

干燥草质茎;苦杏仁为蔷薇科植物山杏(*Prunus armeniaca* L. var. *ansa* Maxim.)的干燥成熟种子;石膏为硫酸盐类矿物硬石膏族石膏(*Gypsum Fibrosum*);甘草为豆科植物甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)的干燥根及根茎。甘草次酸(中国药品生物制品检定所);甲醇色谱纯;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备 按处方比例称取 10~20 目 4 味药材粗粉,混匀,浸泡 30min 后,用“双提法”(水提、油提)在常压下加热回流提取三次(加水量分别为药材重量的 10、6、6 倍,水的 pH 值为 2.0、6.5、9.0,煎煮 2.0、1.0、0.5h),分别滤过,离心,合并上清液,浓缩,将挥发油加入浓缩液后定容至 100ml,即得样品提取液^[2,3]。精确吸取样品提取液 10.0ml,用稀盐酸调 pH 值为 1.00,水浴回流 2h。转移至蒸发皿中,水浴蒸至近干,加硅藻土 2g,烘干研匀。转移至三角瓶中,加入氯仿 30ml,超声提取 20min。滤

作者简介:毕云生(1968-),男,山东莱芜人,理学硕士,主管药师。研究方向:药物制剂。Tel: (0531) 2166814

过,用氯仿洗涤,氯仿液水浴挥干,用甲醇定容至 25ml,得甘草次酸供试液。

2.2 对照品溶液的制备 (1)精密称取甘草次酸标准品至 10ml 量瓶中,用适量甲醇溶解,超声助溶 10min,再稀释至刻度,制成含量为 $0.340\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的对照品溶液。(2)除甘草外按处方比例称取其余三味药材,混匀后按 2.1 项下制备,得阴性甘草次酸对照液。

2.3 色谱条件 色谱柱: Irregular- H C_{18} 柱 ($5\mu\text{m}$, $4.6\text{mm}\times 250\text{mm}$); 流动相: 甲醇-水 (95:5); 检测波长: 252nm ; 流速: $0.8\text{ml}/\text{min}$; 灵敏度 0.05AUFS ; 进样量 $20\mu\text{l}$; 柱温: 25°C 。理论塔板数按甘草次酸计应不低于 4 000。

2.4 线性关系考察 精密吸取 2.2 项下甘草次酸对照液适量,稀释成适当浓度分别进样分析。按 2.3 项色谱条件进行测定,以峰面积积分值 A 为纵坐标,对照品量 $X(\mu\text{g})$ 为横坐标,得回归方程为:

$$A = 962\ 207.426X - 22\ 734.161, r = 0.999\ 5$$

结果表明甘草次酸在 $1.36\sim 6.80\mu\text{g}$ 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 吸取甘草次酸对照液 $20\mu\text{l}$,重复进样 5 次,按上述色谱条件测定,甘草次酸峰面积积分值的相对标准偏差 RSD 为 1.2% 。

2.6 重复性试验 取同一批号样品 (020428) 5 份,分别按样品测定法测定,结果甘草次酸含量为 98.38% , RSD 为 1.3% 。

2.7 空白干扰试验 分别取 2.1 项和 2.2 项下供试液和阴性甘草次酸对照液 $20\mu\text{l}$ 进样,测定,结果在与甘草次酸对应的保留时间处,阴性对照溶液在相同位置处无甘草次酸吸收峰,表明空白对照无干扰,见图 1。

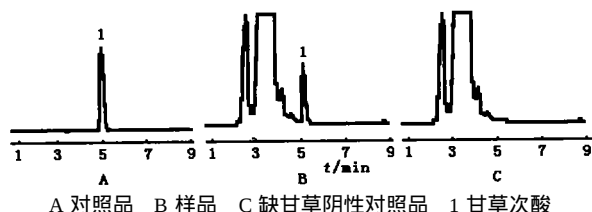


图 1 麻杏石甘汤的 HPLC 图

Fig 1 Chromatograms of HPLC for Maxing shigan decoction

2.8 稳定性试验 取供试品溶液,每隔 1h 进样一次,共进样 6 次,按上述色谱条件分别测定,峰面积积分值的 RSD 为 0.58% ,表明供试品溶液在 6h 内稳定。

2.9 加样回收率试验 精密吸取已测得甘草次酸含量的样品液 50ml ,稀释至 250ml ,精取 10ml (含甘

草次酸 $0.610\ 8\text{mg}$),加入对照液 ($1.43\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) 0.5ml ,混匀。照 2.1 项下供试液精制方法制备,测定含量,计算回收率,结果见表 1。

表 1 甘草次酸加样回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery test for enoroloni

编号	样品量 (mg)	加入量 (mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
1	0.611	0.715	1.305	96.56		
2	0.610	0.715	1.312	97.87		
3	0.600	0.715	1.310	99.17		
4	0.589	0.715	1.294	98.30	98.38	1.33
5	0.586	0.715	1.301	100.00		
6	0.611	0.715	1.305	96.56		

2.10 样品测定 精密吸取 2.1 项供试液,按上述色谱条件进行测定,计算各供试液甘草次酸含量,结果见表 2。

表 2 麻杏石甘汤中甘草次酸的含量测定结果 ($n=3$)

Tab 2 Results of termination for Maxing shigan decoction ($n=3$)

批号	含量 ($\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$)	RSD (%)
020418	0.168	1.42
020421	0.179	1.77
020425	0.180	2.01

3 讨论

3.1 甘草酸及甘草次酸具有抗炎、抗过敏、增强免疫及解毒等多方面的药理作用。甘草酸在遇热遇酸的环境下不稳定,在制备样品液过程中容易分解。因此,在供试液制备过程中调样品液 pH 值为 1,并在水浴加热回流,使其中的甘草酸完全分解成为甘草次酸,这样就可以依据甘草次酸的含量说明制剂中甘草成分的多少,为质量控制提供参考依据。

3.2 试验中对流动相甲醇量、波长、流速作为考察的三个因素,每个因素各取三个水平,以测得甘草次酸的含量为考察指标,用正交试验考察甲醇量对甘草次酸含量影响较大,其次为波长,流速影响最小。

3.3 本法色谱条件简单,准确性、重复性较好,可以用于麻杏石甘汤制剂的质量控制。

参考文献:

- [1] 杨建红,韩桂茹,冯 丽,等. 薄层扫描法测定甘草中甘草次酸的含量[J]. 中国中药杂志,1991,16(4):233
- [2] 张兆旺,孙秀梅,王 蕾,等. 麻杏石甘汤 2 种提取方法的成分比较[J]. 中国中药杂志,1997,22(7):413
- [3] 张瑞亭,张兆旺,孙秀梅. 思维方式的转换与中药“半仿生提取法”[J]. 中国中药杂志,1997,22(9):542

(收稿日期:2003-08-25;修回日期:2004-05-31)

(本文编辑 王绪明)