

高效液相色谱法测定十五味龙胆花丸中甘草酸的含量

张幸福

(青海省药品检验所, 西宁 810000)

摘要 目的: 建立 HPLC 法测定十五味龙胆花丸中甘草酸的含量。方法: 采用 SHISEIDO CAPCELL PAK C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温 25 °C, 乙腈 - 2% 醋酸 (体积比 35:65) 为流动相, 流速 0.8 mL · min⁻¹, 检测波长为 250 nm。结果: 该方法线性范围为 232~696 μg (r = 0.9998), 平均加样回收率为 99.8% (n = 9)。结论: 本方法准确、简便、灵敏、可靠, 可用于该制剂的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 十五味龙胆花丸; 甘草酸

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)04-0653-03

HPLC determination of glycyrrhizic acid in Shiwuwei Longdanhua pills

ZHANG Xing-fu

(Qinghai Institute for Drug Control, Xining 810000, China)

Abstract Objective To develop an HPLC method for determination of the content of glycyrrhizic acid in Shiwuwei Longdanhua pills. **Methods** SHISEIDO CAPCELL PAK C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was adopted, the mobile phase consisted of acetonitrile-water containing 0.2% acetic acid (21:79), at a flow of 0.8 mL · min⁻¹, the detection wavelength was 250 nm and the column temperature was at 25 °C. **Results** The calibration curve of glycyrrhizic acid was linear (r = 0.9998) in the range of 232-696 μg and the average recovery was 99.8% (n = 9). **Conclusion** This method is accurate, simple, sensitive and reliable and it can be used for the quality control of Shiwuwei Longdanhua pills.

Key words HPLC; Shiwuwei Longdanhua pills; glycyrrhizic acid

藏药十五味龙胆花丸由白花龙胆、檀香、诃子、毛诃子、余甘子、石灰华、木香、广枣、丁香、肉豆蔻、宽筋藤、沉香、巴夏嘎、无茎芥、甘草共十五味中藏药材组成。具有清热理肺、止咳化痰功效。用于支气管炎和肺气肿、咳嗽气喘、声嘶音哑。其质量标准^[1]仅规定了性状和检查项, 为完善和提高质量标准, 本文采用 HPLC 法测定本制剂中甘草酸的含量。

1 仪器与试剂

1100型高效液相色谱仪, G1314 A VWD 紫外检测器, HP 化学工作站 (美国 Agilent 公司); HAN-GPNG FA1004 电子天平 (上海天平仪器厂); OHAUS AR5120 电子天平 (奥豪斯上海公司); KQ 5200 B 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

甘草酸单铵盐对照品 (批号 11031-200511, 购

自中国药品生物制品检定所, 含量测定用, 经五氧化二磷干燥), 乙腈为色谱纯 (山东禹王实业有限公司化工分公司), 其余试剂为分析纯, 水为超纯水。十五味龙胆花丸样品 (青海珠峰虫草药业有限公司, 批号分别为 20071108, 20071109, 20071110), 3 批样品性状均符合规定。

2 色谱条件

色谱柱: SHISEIDO CAPCELL PAK C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温: 25 °C; 乙腈 - 2% 醋酸 (体积比 35:65) 为流动相; 流速 0.8 mL · min⁻¹; 检测波长 250 nm。理论板数按甘草酸峰计算不低于 2000。

3 溶液的制备

3.1 对照品溶液 取甘草酸单铵盐对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成甘草酸单铵盐浓度为 59.2 μg

• mL^{-1} 的溶液, 折算成甘草酸为 $58.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

3.2 供试品溶液 取样品 3 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加石油醚 ($30\sim 60\text{ }^\circ\text{C}$) 50 mL, 超声处理 (功率 200W, 频率 40 kHz) 10 min, 滤过, 弃去滤液, 药渣挥干, 精密加入流动相 50 mL, 称定重量, 水浴回流 0.5 h 放冷, 再称定重量, 用流动相补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

3.3 阴性样品溶液 模拟处方制备不含甘草的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液。

4 方法与结果

4.1 干扰试验 分别吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液各 10 μL , 按上述色谱条件进样测定, 结果表明方中其他各味药材不干扰甘草酸的测定。见色谱图 1。

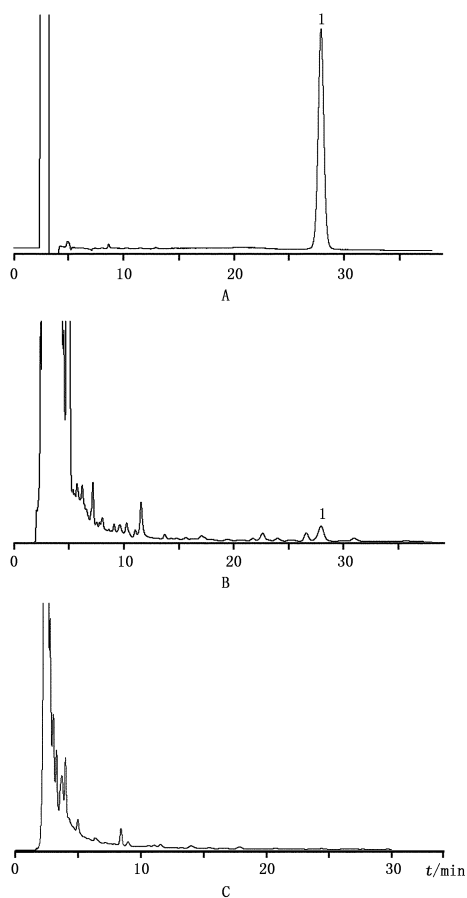


图 1 对照品(A)、样品(B)及阴性样品(C)的 HPLC 图

Fig 1 HPLC chromatograms of chemical reference substance(A), sample(B) and negative sample without Radix Glycyhizae(C)

1 甘草酸 (glycyhizic acid, 27.9 min)

4.2 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 (浓度为 $59.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 折算成甘草酸为 $58.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 4.6.8.10.12 μL , 注入液相色谱仪, 在上述色谱条件下, 测定峰面积。以甘草酸的进样量为横坐

标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线并计算得回归方程为:

$$Y = 1.032X - 0.337 \quad r = 0.9998$$

结果表明: 甘草酸进样量在 232~696 μg 范围内有良好的线性关系。

4.3 精密度试验 精密吸取上述供试品溶液 10 μL , 连续进样 5 次, 测定甘草酸峰面积, 峰面积 RSD 为 0.87%。

4.4 重复性试验 精密称取同一批号 (20071108) 样品 5 份, 按“3.2”项下方法制成供试品溶液, 在上述色谱条件下, 测定甘草酸的含量, 计算平均含量为 $0.92 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.8%。

4.5 稳定性试验 取供试品溶液 (批号 20071108) 10 μL , 按上述色谱条件分别于制备后 0.3.7.10.13.17.20 h 进样并测定峰面积, 计算峰面积 RSD 为 0.60%。结果表明供试品溶液在 20 h 内稳定性良好。

4.6 回收率试验 称取已知含量的十五味龙胆花丸 (批号 20071108, 含量 $0.92 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 1.5 g 共 9 份, 精密称定, 分别置 50 mL 具塞锥形瓶中, 平均分为 3 组, 每组分别加入浓度为 $0.3902 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的甘草酸对照品溶液 2.82.3.55.4.30 mL, 水浴挥干溶剂, 加石油醚 ($30\sim 60\text{ }^\circ\text{C}$) 50 mL, 按“3.2”项下方法制备所需溶液。按上述色谱条件测定, 将甘草酸单铵盐折算成甘草酸的量, 计算回收率, 结果低、中、高 3 种浓度的回收率 ($n=3$) 分别为 100.3% (RSD = 0.2%), 99.9% (RSD = 1.6%), 99.3% (RSD = 2.0%), 平均值 ($n=9$) 为 99.8%。

4.7 样品测定 取 3 个批号的样品, 按“3.2”项下方法制成供试品溶液。精密吸取供试品溶液 10 μL , 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 外标法计算甘草酸的含量。测定结果见表 1 (n 为平行取样的次数)。

表 1 样品测定结果

Tab 1 Determination of sample

批号 (Lot No.)	含量 (content) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD %
20071108	0.92	1.8 ($n=5$)
20071109	0.88	1.1 ($n=4$)
20071110	0.87	1.7 ($n=4$)

5 讨论

5.1 检测波长的确定 取甘草酸单铵盐对照品溶液适量, 经紫外光谱扫描, 其最大吸收波长为 250 nm, 因而选择检测波长为 250 nm。

5.2 提取方法的选择 根据甘草中主要化学成分

有皂苷(如甘草酸)和黄酮(如甘草苷)等物质及其化学性质,考察了不同溶剂的提取。用乙醇回流 45 h 提取,结果不易过滤。甲醇超声提取 30 min 样品干扰峰多^[2]。最后采用石油醚超声除去杂质,再用流动相回流的方法,同时也考察了回流时间(15, 30, 45 min)对提取的影响,结果显示回流 30 min 获得的色谱峰的分离度、分辨率都较为理想。

5.3 流动相的选择 选用甲醇 - 0.2 mol·L⁻¹醋酸铵 - 冰醋酸(62:37:1)^[3]为流动相进行试验,结果分离不太理想,后改用乙腈 - 0.017 mol·L⁻¹磷酸溶液(35:65)^[4]、乙腈 - 2% 醋酸溶液(35:65)^[5]等流动相,结果在 25 °C 时以乙腈 - 2% 醋酸溶液(35:65)进行等度洗脱可使样品中甘草酸峰与相邻峰完全分离,各峰的保留时间适中,且甘草酸峰的理论塔板数高,有利于图谱的分析,因此选择该流动相。

5.4 结果评价 实验结果表明,本实验所采用测定方法测定甘草酸,样品前处理简单,稳定性及重复性

良好,回收率较高。且在该色谱条件下,进样精密度良好,故本方法结论可靠,可作为十五味龙胆花丸的质量控制方法。

参考文献

- 1 Chinese Traditional Medicine Specification Promulgated by the Ministry of Public Health, P.R. China (Tibetan Medicine) (中华人民共和国卫生部·中华人民共和国卫生部药品标准 藏药). Vol I (第一册). 1995. Cf: 196
- 2 QUE Rui-yan (阙瑞艳), ZHOU Xiao-jun (周小军), JI Fang (季芳), *et al* HPLC determination of content of glycyrrhizic acid in Weiqiongning tablets (高效液相色谱法测定胃痛宁片中甘草酸的含量). *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2007, 23 (4): 265 - 266
- 3 ChP (中国药典). 2005 Vol I (一部): 479
- 4 ChP (中国药典). 2005 Vol I (一部): 519
- 5 QIAN Xiao-guang (钱晓光). Determination of glycyrrhizic acid in qinhuashangqing tablet by HPLC (HPLC 法测定噻化上清片中甘草酸的含量). *Anhui Med Pharm J* (安徽医药), 2007, 11 (12): 1087
(本文于 2008 年 3 月 31 日收到)

《药物残留溶剂分析》一书出版

胡昌勤 编著 978-7-122-03619-3 16开精装 45.00元 2009-01出版

特点:药品残留溶剂分析是当今药物分析的热点之一,已经成为药品质量控制的重要组成部分,是药品检验实验室的常规检测项目。本书在总结实践经验的基础上,针对药品残留溶剂分析中的常见问题,从理论和实践两方面探讨解决方案。书中简要介绍了残留溶剂控制标准的沿革和残留溶剂分析方法的沿革;较系统地介绍了顶空气相色谱法的原理及其在残留溶剂分析中的应用现状;重点探讨了在药品生产工艺复杂的情况下,如何实现对药品中的残留溶剂进行准确定性问题,以及残留溶剂分析中的快速定量问题;总结了药品残留溶剂测定中的各类常见问题,并提出解决方案;介绍了如何利用计算机辅助优化药品残留溶剂测定中色谱柱、色谱条件的选择等问题;最后探讨了如何制定药典各论品种的残留溶剂检测方法。

读者:本书对从事药物分析,特别是从事药品检验、新药研发等方面的科研工作者有参考和实用价值,亦可作为大专院校高年级学生和研究生色谱分析、药物分析课的参考书。

(摘自 化学工业出版社)