

- [3] YANG X Y, SU Y G, CHEN H Z. The pharmacology and clinical application of coenzyme Q₁₀ [J]. *Chin Pharm acol Bull* (中国药理学通报), 1994, 10(2): 88-91.
- [4] WANG C L. The application of coenzyme Q₁₀ in cardiac disease [J]. *New Chin Med* (新医学), 1991, 22(7): 377-379.
- [5] DING L, YANG J, HUA Y P, *et al*. Determination of coenzyme Q₁₀ and its concentration-time curve in human plasma by HPLC [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1999, 34(3): 218-221.
- [6] TANG P H, MILES M V, DEGRAUW A, *et al*. HPLC Analysis of reduced and oxidized coenzyme Q₁₀ in human plasma [J]. *Clin Chem*, 2001, 47(2): 256-265.
- [7] EVANS M, BA SLEY J, BARSS S *et al*. A randomized, double-blind trial on the bioavailability of two Co Q₁₀ formulations [J]. *J Funct Foods*, 2009, 1(1): 65-73.
- [8] ZHOU T Y, SUN H D, ZHANG D W, *et al*. Determination of total coenzyme Q₁₀ in plasma following dose oral administration of 50 mg coenzyme Q₁₀ sustained release tablets and regular tablets in healthy volunteers [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2002, 37(3): 189-192.
- [9] JIANG P, HE D P, XU G W. Rapid determination of coenzyme Q₁₀ in human plasma by high performance liquid chromatography [J]. *J Instrumental Anal* (分析测试学报), 2006, 25(2): 106-108.
- [10] LIZ, DENG Y J, LIB Q, *et al*. Study on the preparation and stability of coenzyme Q₁₀ liposome [J]. *Chin J Pharm* (中国药理学杂志), 2006, 4(2): 36-39.
- [11] YANG J D, NG L, LIP, *et al*. Pharmacokinetics of soft capsule of CoQ₁₀ in Chinese healthy volunteers [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2001, 32(2): 117-121.
- [12] XIAO S H, WEIG L, LU R, *et al*. Bioavailability of ubiquinone 10 tablets in healthy volunteer [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther* (中国临床药理学与治疗学), 2000, 5(1): 39-42.

(收稿日期: 2010-03-30)

变换波长高效液相色谱法测定八味檀香散中丁香酚和甘草酸的含量

薛克昌, 王杰松, 史宁, 谭生建, 吴久鸿* (中国人民解放军第 306 医院药学部, 北京 100101)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法同时测定八味檀香散中丁香酚和甘草酸含量的方法。方法 采用 Agilent ZORBAX Eclipse SB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱。流动相为乙腈-5% 乙腈 (含 3% 冰醋酸) (27: 73); 流速 1 mL · min⁻¹, 检测波长程序: 0~ 17.0 min 为 280 nm, 17.0~ 30 min 为 250 nm。结果 丁香酚和甘草酸保留时间分别约为 15 和 21 min, 与各自相邻峰的分度均大于 1.5。以峰面积对进样质量浓度 (μg · mL⁻¹) 线性回归, 丁香酚回归方程: $Y = 0.10640 - 1.338r = 0.9999$ 线性范围 77.76 ~ 777.6 μg · mL⁻¹。甘草酸回归方程: $Y = 0.1339 - 0.2220r = 0.9999$ 线性范围 14.40 ~ 144.0 μg · mL⁻¹。丁香酚和甘草酸的回收率分别为 99.0% 和 97.3%、RSD 分别为 1.5% 和 1.8%。结论 本法操作简便, 测定结果准确, 重复性好, 可用于八味檀香散中丁香酚和甘草酸的含量测定。

关键词: 八味檀香散; 丁香酚; 甘草酸; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2011)03-0228-03

Determination of Eugenol and Glycyrrhizic Acid in Bawei Tanxiang San by HPLC

XUE Ke-chang, WANG Jie-song, SHI Ning, TAN Sheng-jian, WU Jiuhong* (Department of Pharmacy, Hospital 306 of PLA, Beijing 100101, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC quantitative method for the determination of eugenol and glycyrrhizic acid in Bawei Tanxiang San simultaneously. **METHODS** The separation was performed on an Agilent ZORBAX Eclipse SB-C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) with the mobile phase consisting of acetonitrile-5% acetonitrile (include 3% glacialacetic acid) (27: 73). The flow rate was 1 mL · min⁻¹ and the detection wavelength was at 280 nm (0~ 17.0 min), 250 nm (17.1~ 30 min). **RESULTS** The retention time of eugenol and glycyrrhizic acid was about 15 min and 21 min respectively. The resolution was more than 1.5. The regressive equation for eugenol was $Y = 0.10640 - 1.338(r = 0.9999)$, and the linear range was 77.76 - 777.6 μg · mL⁻¹, glycyrrhizic acid was $Y = 0.1339 - 0.2220(r = 0.9999)$, and the linear range was 14.40~ 144.0 μg · mL⁻¹. The average recoveries of eugenol and glycyrrhizic acid were 99.0% and 97.3%, RSDs were 1.5% and 1.8%, respectively. **CONCLUSION** This method is simple, time saving and accurate. It can be used for routine analysis of eugenol and glycyrrhizic acid in Bawei Tanxiang San.

作者简介: 薛克昌, 男, 主管药师 研究方向: 药剂学 * 通讯作者: 吴久鸿, 女, 主任药师 研究方向: 医院药学 Tel: (010) 66354564 E-mail: jiuhongwu@hotmail.com

八味檀香散收载于《中国药典》(2010年版,一部),由檀香、甘草、丁香、石膏、红花、北沙参、拳参、白葡萄干加工制成,具有清热润肺,止咳化痰功能,用于肺热咳嗽,痰中带脓。丁香酚和甘草酸为八味檀香散所含活性成分。八味檀香散中甘草酸的含量测定方法药典有收载^[1],也有文献报道^[2],八味檀香散中丁香酚的含量测定方法未见报道,其他中药中丁香酚的含量测定方法有文献报道^[3],本实验建立了八味檀香散中丁香酚和甘草酸含量的高效液相色谱测定方法,有助于提高其质量的可控性。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

高效液相色谱仪(Agilent 1200系列)包括:G1311A 四元色谱泵, G1329A 自动进样器, G1315B 二极管阵列检测器, G2170BA 色谱工作站, G1316A 柱温箱和 G1379B 在线脱气机。

1.2 试剂

丁香酚对照品(批号:110725-200711)和甘草酸铵对照品(批号:110731-200614)(中国药品生物制品检定所)。八味檀香散(中国人民解放军第306医院制剂室制备,批号:090413、090414、090415)。水为纯化水,其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 试液制备

2.1.1 混合对照品溶液 分别取丁香酚对照品和甘草酸铵对照品适量,精密称定,用流动相溶解并稀释制成每1 mL分别含丁香酚 388.8 μg 和甘草酸(用甘草酸铵折合为相当量的甘草酸) 72.00 μg 的混合对照品溶液,摇匀,即得。

2.1.2 供试品溶液 取本品 1.5 g 精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入流动相 50 mL,称定质量,超声(功率 250 W,频率 50 kHz) 45 min 放至室温,补足减失的溶剂,摇匀,用 0.45 μm 滤膜滤过,即得。

2.1.3 阴性供试品溶液 按照八味檀香散的处方和制法,制备不含丁香或不含甘草的八味檀香散,分别作为丁香阴性和甘草阴性样品,取阴性样品适量(约相当八味檀香散 1.5 g),精密称定,按“2.1.2”方法制备,即得阴性供试品溶液。

2.2 系统适用性实验

色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂

(Agilent ZORBAX Eclipse SB-C₁₈, 4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-3% 乙腈(含 3% 冰醋酸)(27:73); 流速为 1 mL·min⁻¹; 检测波长程序: 0~17.0 min 为 280 nm, 17.1~30 min 为 250 nm。在此色谱条件下,分别取混合对照品溶液,丁香酚阴性供试品溶液,甘草酚阴性供试品溶液和八味檀香散供试品溶液各 10 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,结果见图 1。八味檀香散的其他成分对丁香酚和甘草酸的测定没有干扰。丁香酚和甘草酸的保留时间分别约为 15 和 21 min,理论板数分别约为 8 000 和 9 000。丁香酚和甘草酸与相邻峰的分离度均大于 1.5。

2.3 线性关系

分别取丁香酚和甘草酸混合对照品适量,精密称定,用流动相溶解并稀释制成每 1 mL 含丁香酚分别为 77.76、116.64、194.4、388.8 和 777.6 μg,每 1 mL 含甘草酸分别为 14.40、21.60、36.00、72.00 和 144.0 μg 的混合对照品溶液,分别取 10 μL 进样,丁香酚色谱峰面积分别为 738.5、1 108.6、1 841.1、3 675.7 和 7 318.5,甘草酸色谱峰面积分别为 104.0、170.3、265.4、544.7 和 1 075.5,以进样浓度对峰面积线性回归:丁香酚回归方程: $Y = 0.1064x - 1.338$, $r = 0.9999$; 甘草酸回归方程: $Y = 0.1339x - 0.2220$, $r = 0.9999$,丁香酚和甘草酸分别在 77.76~777.6 和 14.40~144.4 μg·mL⁻¹ 内与峰面积呈良好的线性关系。

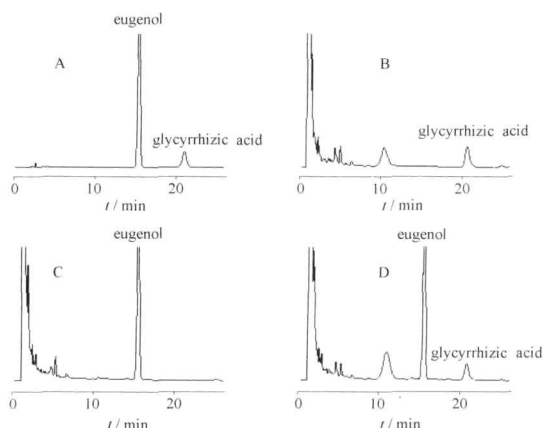


图 1 丁香酚和甘草酸对照品和样品色谱图

A-混合对照品; B-丁香阴性; C-甘草阴性; D-八味檀香散

Fig 1 HPLC Chromatogram of reference substances and samples eugenol and glycyrrhizic acid

A- reference substance B- negative Dingxiang C- negative Gancao D- Bawei Tanxiang San

2.4 精密度实验

对照品进样重复性: 取丁香酚 ($388.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和甘草酸 ($72.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的混合对照品溶液 $10 \mu\text{L}$ 进样, 连续进样 5 次, 丁香酚色谱峰面积的 RSD 为 0.21% ; 甘草酸色谱峰面积的 RSD 为 1.2% 。

2.5 重复性实验

取八味檀香散 (批号: 090413) 制备 6 份供试品溶液, 按“2.1~2.2”项下方法测定, 丁香酚含量的 RSD 为 0.79% 、甘草酸含量的 RSD 为 0.89% 。

2.6 定量限

取混合对照品溶液稀释至峰高约为基线噪音的 10 倍, 测得丁香酚定量限约为 $0.4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、甘草酸定量限约为 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.7 加样回收率

取已经测得含量的八味檀香散 (批号 090415, 每 1g 分别含丁香酚 15.70mg 和甘草酸 2.849mg) 适量, 精密称定, 置 10mL 量瓶中, 精密加入每 1mL 含丁香酚 $648.0 \mu\text{g}$ 对照品溶液 3mL , 精密加入每 1mL 含甘草酸 $180.0 \mu\text{g}$ 的对照品溶液 2mL , 用流动相稀释至刻度, 超声 (功率 250W , 频率 50kHz) 45min 放至室温, 补足损失的溶剂, 摇匀, 作为加样回收样品。同法制备 6 份加样回收样品, 按照样品测定项下方法测定含量, 计算回收率, 丁香酚和甘草酸的回收率分别为 99.0% 和 97.3% , RSD 分别为 1.5% 和 1.8% 。

2.8 供试品溶液稳定性

配制供试品溶液, 置自动进样器中, 18h 内重复进样测定 9 次, 丁香酚和甘草酸峰面积的 RSD 分别为 0.81% 和 0.72% , 显示供试品溶液在 18h 内稳定。

2.9 样品测定

①混合对照品溶液: 分别取丁香酚对照品和甘草酸对照品适量, 精密称定, 用流动相溶解并稀释制成每 1mL 分别含丁香酚 $400 \mu\text{g}$ 和甘草酸 $100 \mu\text{g}$ 的混合对照品溶液, 摇匀, 即得。②供试品溶液: 取本品 1.5g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入流动相 50mL , 称定质量, 超声 (功率 250W , 频率 50kHz) 45min , 放至室温, 补足减失的溶剂, 摇匀, 用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜滤过, 即得。③测定法: 分别精密吸取

混合对照品溶液和供试品溶液各 $10 \mu\text{L}$ 注入液相色谱仪, 测定, 按外标法以峰面积计算, 即得。测定了 3 批样品, 并与药典法甘草酸测定结果进行了比较, 结果见表 1。

表 1 结果显示, 用药典法和本法分别测定八味檀香散中甘草酸含量, 结果一致。

3 讨论

3.1 检测波长的确定

丁香酚在 280nm 波长处有最大吸收, 甘草酸在 250nm 波长处有最大吸收, 为了同时测定丁香酚和甘草酸含量, 本方法在丁香酚出峰的时间窗内采用 280nm 波长测定, 在甘草酸出峰的时间窗内变换为 250nm 波长测定。

3.2 以流动相为溶剂

实验了超声 (功率 250W , 频率 50kHz) 不同时间的提取效果, 结果显示, 超声 45min 可以提取完全, 因此, 确定超声时间为 45min 。

4 小结

本法操作简便, 测定结果准确, 重复性好, 可用于八味檀香散中丁香酚和甘草酸的含量测定。

表 1 丁香酚和甘草酸的 3 批样品测定结果

Tab. 1 Determination of three samples eugenol and glycyrrhizic acid

Sample batch	Eugenol $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	Glycyrrhizic acid $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$		RSD %
		Pharmacopoeia method	Paper method	
090413	15.40	2.296	2.376	1.7
090414	14.89	2.623	2.702	1.5
090415	15.70	2.756	2.849	1.7

REFERENCES

- [1] Ch.P (2010) Vol I (中国药典 2010 年版·一部) [S]. 2010 433.
- [2] SHI Q, XU H, SHEN Y, et al. Determination of glycyrrhizic acid in BaweiTanxiang San [J]. Chin J Med Guid (中国医药导刊), 2005, 24(2): 155-156.
- [3] ZHAO M, FU C, XU B X, et al. Determination of eugenol in DingguiSan by RP-HPLC [J]. Spectrosc Spectral Anal (光谱学与光谱分析), 2003, 12(4): 40-41.

(收稿日期: 2010-09-25)