

高效液相色谱法测定肝康颗粒中甘草酸单铵盐的含量

戚雁飞(浙江省药品检验所,浙江 杭州 310004)

摘要:目的 建立高效液相色谱法测定肝康颗粒中甘草酸单铵盐的含量。方法 超声提取,使用 Dikma C18(4.6mm×250mm,5μm)色谱柱,甲醇-2%醋酸水溶液(68:32)为流动相,流速 1mL/min;检测波长:250nm。结果 此方法线性关系良好,平均回收率为 100.14%,RSD=1.0%(n=6)。重现性试验的 RSD=1.4%(n=6)。结论 本方法分离良好,可用于肝康颗粒的质量控制。

关键词:肝康颗粒;甘草酸单铵盐;高效液相色谱法

Determination of glycyrrhizic acid in gankang keli by HPLC

QI Yan-fei(Zhejiang institute for Drug Control 310004,China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To establish a HPLC method for determination of Glycyrrhizic acid in Gankang Keli. **METHOD** Ultrasonic extraction,HPLC was used to determine Glycyrrhizic acid in Gankang Keli on Dikma C18 column. The mobile phase was methanol-2% glacial acetic acid(68:32). The detection wavelength was 250nm. **RESULTS** The linearity of this method was well. The average recovery was 100.14% and the relative standard deviation was 1.0%(n=6). **CONCLUSION** The method has good peak resolution and can be used quality control of Gankang Keli.

KEY WORDS: HPLC; Common fenugreek seed; trigonelline

肝康颗粒是由柴胡、田基黄、茵陈、甘草等多味中药提取,精制而成。其他味药材中较难找到合适的对照品,故选择甘草中的甘草酸单铵盐作为测定指标(1)。本实验应用 HPLC 法,建立了肝康颗粒中甘草酸单铵盐的含量测定方法。实验结果表明,方法简便、准确、重现性好,可作为肝康颗粒质量控制的有效方法。

1 仪器与试剂

HP1100 系列高效液相色谱仪(G1322A 脱气机、G1313A 自动进样仪、G1316a 柱温箱、G1314A 紫外检测器;岛津 UV-260 紫外分光光度计。甘草酸单铵盐对照品,有中国药品生物制品检定所提供。甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其余为分析纯。样品由某企业提供。

2 实验方法与结果

2.1 测定波长的选择

取甘草酸单铵盐适量,加 50%酸性乙醇制成对照品溶液,置紫外分光光度计下记录其紫外吸收光谱,结果显示,甘草酸单铵盐在 250nm 波长处有最大吸收,故选择 250nm 为测定波长。

2.2 色谱条件

色谱柱:Dikma C18(4.6×250mm,5μm);流动相:甲醇-2%醋酸水溶液(68:32);流速 1mL/min;检测波长:250nm。进样量:10μL;柱温 30℃。理论板数按甘草酸单铵盐峰计算不得低于 3000。在此色谱条件下甘草酸单铵盐峰与其它组分峰能得到较好分离,结果见图 1、图 2。

2.3 对照品、供试品溶液和空白溶液的制备

2.3.1 对照品溶液 精密称取甘草酸单铵盐对照品适量,

加 50%酸性乙醇(100mL50%乙醇中含 1mL 冰醋酸)制成每 1mL 中含 15μg 的对照品溶液(每 1mL 含甘草酸单铵盐对照品 0.2mg,折合甘草酸为 0.1959mg)。

2.3.2 供试品溶液的制备 精密称取肝康颗粒 0.25g,置 100mL 量瓶中,精密加入 50%酸性乙醇 50mL,称定重量,超声处理 30min,放冷,用 50%酸性乙醇补足损失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

2.3.3 空白溶液的制备 取不含甘草的阴性样品按供试品溶液同法操作,制成空白对照溶液。

2.4 测定方法

精密吸取对照品、供试品溶液各 10μL,分别注入高效液相色谱仪,测得色谱峰面积,计算样品含量(色谱图见图 1、2)。

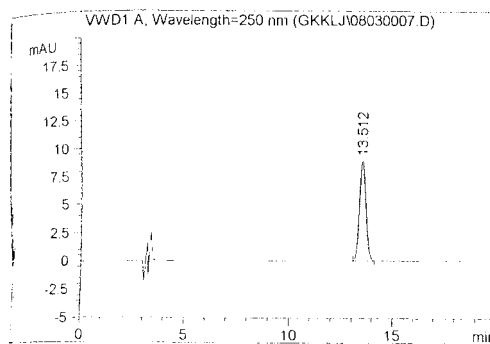


图 1 甘草酸单铵盐对照品图谱

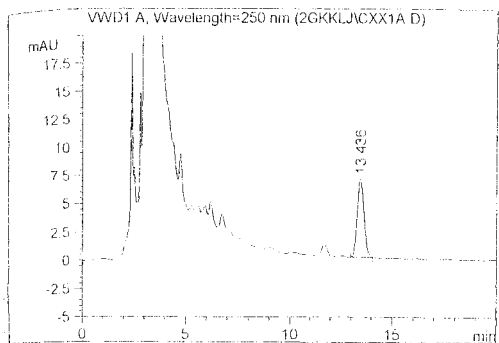


图2 肝康颗粒图谱

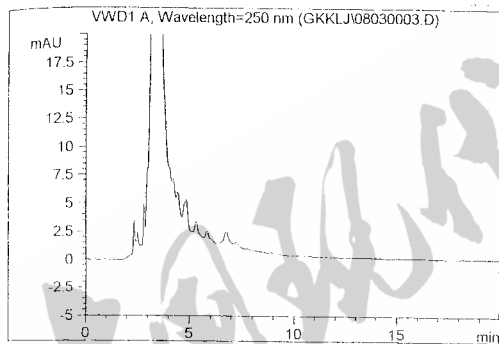


图3 肝康颗粒空白对照图谱

2.5 线性关系考察

精密量取甘草酸单铵盐对照品溶液(33.603 μ g/mL)1, 3, 5, 7, 10, 15, 20 μ L注入液相色谱仪,测定峰面积Y,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,作标准曲线,并以最小二乘法计算得回归方程:Y=0.8594X-0.6297, r=0.99999,结果显示进样量在33.603-672.06ng范围内有良好的线性关系。

2.6 进样精密度试验

取供试品溶液,按以上色谱条件,重复进样6次,测定峰面积,结果RSD=1.4%(n=6)。

2.7 样品重现性试验

对同一样品按拟定的方法作多次测定,其含量相对标准偏差为0.9%(n=6)。

2.8 2.8 取空白溶液同法测定,在甘草酸单铵盐对照品峰相应的位置,空白溶液没有色谱峰(见图3)。说明空白溶液对甘草酸单铵盐的测定无干扰。

2.9 稳定性试验

从0~17h,取供试品溶液,按以上色谱条件,每隔一定时间进样1针,测定峰面积,结果RSD为1.9%。说明样品放置17h稳定。

2.10 回收率试验

精密称定已知含量的肝康颗粒0.125g六份,精密加入甘草酸单铵盐对照品适量,按供试品溶液制备法制备,依法测定并计算,结果显示平均回收率为100.14%,RSD=1.0%,结果见下表1。

表1 回收率试验

编号	称样量 (g)	样品中含 量(mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 %	平均回 收率%	RSD %
1	0.1286	0.5039	0.4389	0.9357	98.39		
2	0.1101	0.4314	0.4389	0.8713	100.24		
3	0.1305	0.5113	0.4389	0.9506	100.11	100.14	1.0
4	0.1193	0.4674	0.4389	0.9092	100.66		
5	0.1270	0.4976	0.4389	0.9374	100.22		
6	0.1410	0.5525	0.4389	0.9970	101.30		

2.11 样品测定

按拟定方法测定三批样品,结果见下表2。

表2 样品测定结果

批号	含量(mg /g)
010501	3.92
010502	4.95
010503	5.40

3 讨论

本实验分别考察了水、50%乙醇、酸性乙醇3种提取溶剂;同时还考察了不同的超声时间、不同的溶剂体积,结果正文所述的提取方法简便且得率最高。