

高效液相色谱法测定风湿骨痛片中甘草酸的含量

单玉荣(安徽省药品检验所,安徽 合肥 230061)

摘要:目的 研究风湿骨痛片中甘草酸的含量测定方法。方法 高效液相色谱法, C_{18} 柱;流动相:甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(62:38:1:0.3);检测波长:250nm。结果 平均加样回收率为98.30%, RSD=1.09%。结论 本法简便、准确、重现性好,可用于风湿骨痛片的质量控制。

关键词:风湿骨痛片;甘草酸;高效液相色谱法

中图分类号:R286;R917.01

文献标识码:B

文章编号:1007-7693(2004)01-0047-02

Determination of glycyrrhizic acid in Fengshi Gutong tablet by HPLC

SHAN Yu-rong(Anhui Provincial Institute for Drug Control, Hefei 230061, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To determine glycyrrhizic acid content in Fengshi Gutong tablet. **METHOD** HPLC analysis was carried out with C_{18} column and methanol-water-acetic acid-triethylamine(62:38:1:0.3) as the mobile phase, the detection wavelength was 250nm. **RESULTS** The average recovery was 98.30%, RSD was 1.09%. **CONCLUSION** The method is simple, accurate and good reproducibility. It can be used as quality control of Fengshi Gutong tablet.

KEY WORDS: Fengshi Gutong tablet; glycyrrhizic acid; HPLC

风湿骨痛片由制川乌、制草乌、甘草、木瓜等多味中药组成,具有温经散寒、通络止痛之功。甘草为方中的主要药味之一,既能缓急止痛,又能调和诸药。而甘草酸为其主要有效成分。目前文献报道^[1-3]甘草酸的测定方法多为HPLC,流动相一般为三元系统,本实验在参考文献的基础上,经试验比较,采用四元流动相系统,使得甘草酸的分离、峰形得到了明显的改善,且方法稳定,重现性好。可作为本品的质量控制指标。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪:美国 Waters Model 510 泵、日本岛津 SPD-10Avp 检测器、C-R6A 数据处理机;天平:瑞士 METTLER AE-240(0.01mg);甘草酸铵对照品:中国药品生物制品检定所提供(批号:0737-9709);风湿骨痛片样品:由安徽省精方药业有限公司提供。所用试剂:水为重蒸馏水,甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Shim-pack CLC-ODS(150mm×4.6mm);流动相:甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(62:38:1:0.3);检测波长:250nm;柱温:28℃;流速:1mL/min;进样量:20μL。在此条件下,甘草酸与其他组分能达到较好地分离,其理论板数4456,分离度 $R=2.62$ 。

波长选择 参照中国药典及有关文献,并经 UV-260 型紫外可见分光光度计测试,甘草酸的最大吸收波长为250nm。因此选择250nm为测定波长。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取经五氧化二磷干燥器真空干燥24h的甘草酸铵对照品10.9mg,加50%甲醇溶解制成每1mL含0.109mg的溶液,作为对照品溶液(储备液)。

2.3 供试品溶液的制备

取本品10片,精密称定,研细,取约0.2g,精密称定,置50mL量瓶中,加50%甲醇40mL,超声处理30min,放冷,用50%甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液离心(10000r/min)15min,上清液作为供试品溶液。

2.4 阴性对照溶液的制备

按处方组成,取除甘草外的其余药味,按制备工艺要求,制成不含甘草的阴性对照样品,再按供试品溶液的制备方法,制成阴性对照溶液。

2.5 空白试验

按上述条件,吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液适量,分别注入液相色谱仪测定,结果其他成分对甘草酸的测定无干扰,符合测定要求。

2.6 标准曲线的制备与线性关系的考察

精密吸取对照品溶液1,2,3,4,5,6mL,分别置10mL量瓶中,加50%甲醇稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取上述溶液各20μL,注入液相色谱仪,依法测定峰面积积分值,以峰面积积分值为纵坐标,甘草酸铵的量(μg)为横坐标,进行直线回归,得回归方程为: $A=655174.84C-2892.72$, $r=0.9999$ ($n=6$),结果表明:甘草酸铵对照品在所试浓度0.218~1.308μg内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验

精密吸取 5 份相同量的同一供试品溶液,分别注入液相色谱仪,依法测定峰面积积分值,其 $RSD = 0.52\%$ ($n = 5$)。

2.8 稳定性试验

取制备好的供试品溶液,立即测定,和在室温下放置不同时间进行测定,结果测得供试品中甘草酸的峰面积积分值,在所试的 12h 内稳定,其 $RSD = 1.43\%$ ($n = 7$)。

2.9 重现性试验

取同一批号(20010201)样品 5 份,按拟定的含量测定方法测定样品中甘草酸的含量,结果平均含量为 2.869 mg/片, $RSD = 0.81\%$ ($n = 5$)。

2.10 回收率试验

取已知含量的样品(20010101)5 份,分别加入一定量的甘草酸铵对照品,按供试品溶液的制备方法制成检测溶液,并依法测定,其平均回收率为 98.30%, $RSD = 1.09\%$ ($n = 5$),结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery test

样品量 (g)	含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
0.114 7	0.874 1	0.654	1.508 6	97.02		
0.114 5	0.872 5	0.654	1.521 8	99.28		
0.114 3	0.871 0	0.654	1.511 3	97.91	98.30	1.09
0.114 8	0.874 8	0.654	1.514 1	97.75		
0.114 2	0.870 3	0.654	1.521 3	99.55		

2.11 样品测定

按拟定的含量测定方法,测定了 3 批样品中甘草酸的含量,结果见表 2。

表 2 样品测定结果

Tab 2 Determination results of samples

批号	含量(mg/ 片)
20010201	2.869
20010202	2.746
20010203	2.782

3 讨论

3.1 提取溶媒选择

比较了水、30 % 甲醇、50 % 甲醇、70 % 甲醇及流动相提取,结果色谱行为尤其是甘草酸的峰形无明显区别,但甘草酸的含量以 50 % 甲醇提取最高。

3.2 流动相的选择

比较了文献中常见的流动相系统甲醇-0.2 mol/L 醋酸铵溶液-冰醋酸(67:33:1)^[1-3]及其不同比例,甲醇-水-醋酸(65:30:5)^[2]及其不同比例,结果对本品中甘草酸的分离均不理想,峰形不好,前后有隐藏的肩峰。经试验比较采用甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(62:38:1:0.3)为流动相,可以得到很好的分离,且峰形好,柱效高。又经过对几批不同产地的甘草药材测定,相同条件下,其 HPLC 色谱图有较明显的差异,尤其是靠近甘草酸峰的前后,有的比较干净,有的始终有一些小的杂质峰。前者较易分离,后者用一般甘草酸的流动相系统很难达到好的分离,而文中的流动相系统可以使甘草酸和杂质成分得到有效地分离。

参考文献

[1] 中国药典 2000 年版.二部[S].2000:65.
[2] 陈发奎.常用中草药有效成分含量测定[M].北京:人民卫生出版社,1997:153.
[3] 陈建华,崔忠,崔波,等. HPLC 法测定六一散中甘草酸单铵的含量[J].中成药,2000,22(9):621.