

# HPLC 测定玄麦甘桔颗粒中甘草苷和甘草酸的含量

张萍<sup>1</sup>, 郭亚东<sup>2</sup>, 马银海<sup>3\*</sup>, 熊春媚<sup>2</sup> (1. 江苏省徐州医药高等职业学校, 江苏 徐州 221116; 2. 昆明医学院药学院, 昆明 650031; 3. 昆明学院化学科学与技术系, 昆明 650031)

**摘要:**目的 建立同时测定玄麦甘桔颗粒中甘草苷和甘草酸含量的 HPLC。方法 采用 LiChrospher C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-1.2% 甲酸溶液为流动相, 梯度洗脱, 检测波长 254 nm。结果 甘草酸和甘草苷在 0.005 ~ 0.5 mg · mL<sup>-1</sup> 内呈良好的线性关系。甘草苷的回归方程为  $Y = 5\,735.789\,7X - 2.702\,7$ ,  $r = 0.999\,9$ , 平均回收率为 99.7%, RSD 为 1.72% ( $n = 9$ ), 甘草酸的回归方程为  $Y = 6\,968.182\,6X - 3.448\,4$  ( $r = 0.999\,8$ ), 平均回收率为 100.8%, RSD 为 1.31% ( $n = 9$ )。结论 方法操作简便, 结果可靠, 重复性好, 可作为同时测定玄麦甘桔颗粒中甘草苷与甘草酸含量的方法。

**关键词:** 高效液相色谱法; 玄麦甘桔颗粒; 甘草苷; 甘草酸

中图分类号: R917.101; R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2009)04-0335-03

## Determination of Liquiritigenin and Glycyrrhizic Acid in Xuanmaiganjie Granule by HPLC

ZHANG Ping<sup>1</sup>, GUO Yadong<sup>2</sup>, MA Yin Hai<sup>3\*</sup>, XIONG Chunmei<sup>2</sup> (1. Jiangsu Provincial Xuzhou Pharmaceutical Vocational College, Xuzhou 221116, China; 2. School of Pharmacy, Kunming Medical College, Kunming 650031, China; 3. Chemical Science and Technology Department, Kunming University, Kunming 650031, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an HPLC method for the determination of liquiritigenin and glycyrrhizic acid in Xuanmaiganjie granule. **METHODS** A LiChrospher C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used, the mobile phase was acetonitrile-water (1.2% methanoic acid) for gradient elution. The detection wavelength was set at 254 nm. **RESULTS** The linear range was 0.005-0.5 mg · mL<sup>-1</sup>. The regression equation of liquiritigenin was  $Y = 5\,735.789\,7X - 2.702\,7$  ( $r = 0.999\,9$ ), and the average recovery was 99.7% (RSD = 1.72%,  $n = 9$ ). The regression equation of glycyrrhizic acid was  $Y = 6\,968.182\,6X - 3.448\,4$  ( $r = 0.999\,8$ ), and the average recovery was 100.8% (RSD = 1.31%,  $n = 9$ ). **CONCLUSION** The method is convenient and accurate. It can be used to determine the contents of liquiritigenin and glycyrrhizic acid in Xuanmaiganjie granule.

**KEY WORDS:** HPLC; Xuanmaiganjie granule; liquiritigenin; glycyrrhizic acid

玄麦甘桔颗粒由玄参、麦冬、桔梗、甘草 4 味中药组方, 用现代科学方法精制而成, 具有清热滋阴, 祛痰利咽的功效, 用于治疗阴虚火旺、虚火上浮、口

鼻干燥、咽喉肿痛等症<sup>[1]</sup>。其中甘草酸、甘草苷是该药中主要成分, 具有补脾益气、清热解毒之功效。国内测定甘草苷和甘草酸的方法有 RP-HPLC

作者简介: 张萍, 女, 硕士生, 助教 Tel: 15852203572 E-mail: zp197574@163.com \* 通信作者: 马银海, 男, 教授 Tel: (0871) 5329251 E-mail: myh5929251@163.com

法<sup>[2,4]</sup>、比色法<sup>[5]</sup>、薄层扫描法<sup>[6]</sup>、毛细管电泳法<sup>[7]</sup>、紫外分光光度法<sup>[8]</sup>、电位法等。对玄麦甘桔颗粒中甘草苷和甘草酸同时进行含量测定的方法尚未见报道。本研究采取 HPLC 梯度洗脱的方法,建立了同时测定玄麦甘桔颗粒中甘草苷和甘草酸含量的方法。该方法操作简便,结果可靠,重复性好,可以作为该产品中甘草苷和甘草酸的含量测定方法。

## 1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪,包括四元梯度泵、自动进样器、柱温箱、紫外检测器;分析天平(德国赛多利斯 CP-224S)。

甘草苷(批号:111610-200604,纯度 >98%)、甘草酸(批号:110731-200511,纯度 >98%)对照品购于中国药品生物制品检定。

乙腈为色谱纯(美国 Merck 公司),水为超纯水(自制),其它试剂均为分析纯。天紫红牌玄麦甘桔颗粒由云南白药集团天紫红药业提供,其余均从药店购得。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: LiChrospher C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 乙腈-1.2% 甲酸溶液梯度洗脱: 0 ~ 20 min(20:80 ~ 32:68); 流速为 1 mL · min<sup>-1</sup>; 进样体积为 5 μL; 柱温: 30 °C; 检测波长: 254 nm。理论板数按甘草酸色谱峰计算,应不少于 3 000。

### 2.2 对照品及供试品溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取甘草苷、甘草酸对照品各 10.0 mg,分别置于 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。分别精密量取 5 mL 置 10 mL 量瓶中,摇匀,即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取玄麦甘桔颗粒样品(批号:20060501)约 5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入 50% 乙醇 75 mL,称定重量,超声 45 min,放冷,再称定重量,用 50% 乙醇补足重量。摇匀,即得供试品溶液。进样前,取适量用 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

### 2.3 线性关系考察试验

精密量取混合对照品溶液适量分别稀释成甘草苷、甘草酸质量浓度分别均为 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.25, 0.5 mg · mL<sup>-1</sup> 的系列溶液,精密吸取各混合对照品溶液 5 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图。测量甘草酸和甘草苷的峰面积(Y)对浓度(X)进行线性回归。甘草苷的回归方程为:  $Y = 5\,735.789\,7X - 2.702\,7$ ,  $r = 0.999\,9$ ; 甘草酸的回归

方程为  $Y = 6\,968.182\,6X - 3.448\,4$ ,  $r = 0.999\,8$ 。结果表明,在 0.005 ~ 0.5 mg · mL<sup>-1</sup> 内,甘草酸和甘草苷色谱峰面积与其浓度之间有良好的线性关系。最低检测限(S/N = 3)约为 0.20 μg · mL<sup>-1</sup>,最低定量限为 0.50 μg · mL<sup>-1</sup>。

### 2.4 仪器精密度试验

精密量取甘草苷、甘草酸质量浓度分别为 0.25 mg · mL<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液 5 μL,重复进样 6 次,测定峰面积,甘草苷和甘草酸 RSD 分别为 0.54% 和 1.21%。

### 2.5 稳定性试验

精密吸取新配制的供试品溶液(批号:20060501),每隔 2 h 进样 1 次,共进样 7 次,测定峰面积,甘草苷和甘草酸的 RSD 分别为 0.60%, 和 0.83%,表明样品在 12 h 内稳定。

### 2.6 重复性试验

分别精密称取同一批样品 6 份,按“2.2.2”项下方法操作,进样测定,甘草苷和甘草酸含量的 RSD 分别为 0.41% 和 0.28%。

### 2.7 回收率试验

精密称取甘草苷和甘草酸铵对照品 9 份,按照低、中、高的原则置于含有待处理样品的锥形瓶中,按“2.2.2”项下方法处理,测定峰面积。甘草苷的平均回收率为 99.7%, RSD = 1.72%; 甘草酸的平均回收率为 100.8%, RSD = 1.31%。结果见表 1、2。

表 1 甘草苷的回收率(n = 9)

Tab 1 Recoveries of liquiritigenin(n = 9)

已知量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率/%	平均回收率 /%	RSD/%
148	118.7	263.6	97.5		
149	118.7	267.7	99.2		
150	118.7	267.1	97.5		
148	148.1	294.1	98.7		
147	147.0	294.4	100.0	99.7	1.72
149	149.1	300.0	101.3		
152	182.7	334.3	99.5		
152	182.7	338.0	101.6		
151	181.7	336.8	102.2		

### 2.8 样品测定

**2.8.1 同一厂家不同批次样品含量测定** 分别取云南白药集团天紫红药业提供的不同批号样品,精密称定,按“2.2.2”项下方法处理测定峰面积,甘草苷和甘草酸与相邻峰的分度均大于 2。结果见表 3。

表2 甘草酸的回收率(n=9)

已知量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD/%
223	169.5	391.9	99.4		
224	171.0	400.2	102.9		
225	171.0	396.0	100.0		
225	211.5	438.1	100.5		
223	210.0	439.1	102.9	100.8	1.31
225	213.0	441.2	101.4		
226	261.0	487.2	100.0		
226	261.0	485.9	99.6		
225	259.5	487.4	100.8		

表3 同一厂家样品含量测定结果(n=3)

Tab 3 Results of sample determination in the same factory(n=3)

批号	甘草苷平均含 量/mg·g <sup>-1</sup>	RSD /%	甘草酸平均含 量/mg·g <sup>-1</sup>	RSD/%
20040501	0.435	1.16	0.679	1.87
20050103	0.359	0.48	0.492	1.35
20050801	0.314	0.80	0.469	1.57
20060201	0.499	0.42	0.628	1.77
20060203	0.437	0.23	0.646	0.47
20060204	0.451	0.34	0.654	1.57
20060402	0.401	0.29	0.459	1.03
20060403	0.387	1.49	0.477	1.36
20060501	0.384	1.05	0.461	1.30
20060903	0.342	1.03	0.538	1.56
20060904	0.367	0.57	0.574	1.22

2.8.2 不同厂家样品含量测定 分别取 A 公司、B 公司、C 公司所生产的玄麦甘桔颗粒,精密称定,按“2.2.2”项下方法测定峰面积,结果见表4。

表4 不同生产厂家样品含量测定结果(n=3)

Tab 4 Results of sample determination in different factory(n=3)

厂家(批号)	甘草苷平均含 量/mg·g <sup>-1</sup>	RSD /%	甘草酸平均 含量/mg·g <sup>-1</sup>	RSD
A 公司(060701)	0.046	1.87	0.065	1.61
B 公司(060602)	0.072	1.63	0.549	0.79
C 公司(060508)	0.182	1.36	0.506	0.83
云南白药集团天紫红 药业(20060201)	0.449	0.19	0.654	1.68

### 2.9 干扰试验

取不含甘草的样品适量,按“2.2.2”项下方法制备阴性样品溶液;取上述对照品溶液、供试品溶液,进样测定,结果表明,玄麦甘桔中其它成分在所设定的实验条件下对甘草苷和甘草酸的测定无干扰。甘草苷和甘草酸与相邻峰的分度均大于2。见图1。

### 3 讨论

测定甘草中甘草苷和甘草酸的含量的 HPLC 在国内也有报道,但耗时较长,也不适用于组成较复杂

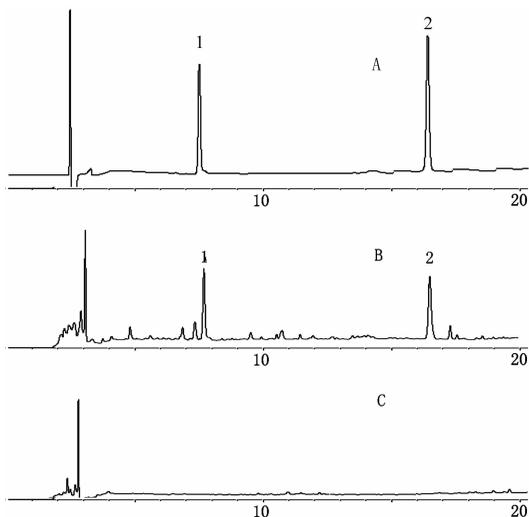


图1 高效液相色谱图

A-对照品;B-样品;C-阴性样品;1-甘草苷;2-甘草酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A-standards;B-sample;C-blank;1-liquiritigenin;2-glycyrrhizic acid

的玄麦甘桔颗粒中该两种成分的测定,本试验所建立的方法简便易行,在20 min内使甘草苷与甘草酸与玄麦甘桔颗粒中的其它成分实现完全分离。实验证明,该方法操作简便,结果可靠,重复性好,可作为玄麦甘桔颗粒及其它含甘草产品中同时测定甘草苷与甘草酸含量的方法。

### REFERENCES

- [1] Ch. P(2005) Vol I (中国药典2005年版.一部)[S]. 2005: 427-428.
- [2] GAO Q T, BI K S. HPLC determination of the contents of liquiritin and coumarin in the Gancao-fuzi decoction [J]. J Shengyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报), 2003, 20(6): 439-441.
- [3] ZHAO X L, CUI X B, WU H. Determination of liquiritin, liquiritigenin and iso-liquiritigenin in Licorice mixture by HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2002, 24(23): 175-178.
- [4] LI T, WANG T Z, XU Y, et al. Determination of the contents of glycyrrhizine and paeoniflorin in Fubao Danggui Jiao by RP-HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2002, 24(11): 834-836.
- [5] DENG L Y, YAO D H, LI T Z, et al. Study on the content of glycyrrhiza acid in glycyrrhiza uralensis fisch by thin-layer colorimetry[J]. Chem Eng, 2001, 82(1): 35-36.
- [6] XU C Y, LI G F, CHENG Z L, et al. Determination of glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid in suppositories radix glycyrrhizae by high performance capillary electrophoresis (HPCE) [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2000, 22(11): 792-793.
- [7] RU R P, LV J, WU X M. Compare with the determination of glycyrrhizic acid by spectrophotometric method and chromatography[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 1995, 2(12): 54.
- [8] DONG S Y, CHENG Y Q, SHI Q, et al. The determination of glycyrrhizic acid in AC oscillographic chronopotentiometry based on microcomputer[J]. J Wenzhou Teachers Coll(Nat Sci)(温州师范学院学报 自然科学版), 1998, 19(3): 45-47.

收稿日期:2007-07-24