

HPLC 测定注射用甘草酸二铵及其注射液的含量和有关物质

刘晓岚¹, 赫晓军², 付莉², 张轶华^{2*} (1.四川省交通运输厅公路局医院, 成都 611730; 2.河北省药品检验研究院, 石家庄 050011)

摘要:目的 建立测定注射用甘草酸二铵及其注射液的含量和有关物质的高效液相色谱法。方法 选用 Agilent Extend-C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.01 mol·L⁻¹ 磷酸溶液(38:62); 检测波长: 252 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹。

结果 甘草酸二铵的线性范围为 12.5~1 250 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$), 最低检测限 5.2 ng, 平均回收率在 99.4%以上。**结论** 本方法专属性好, 操作简便, 结果准确可靠, 可用于甘草酸二铵制剂的质量控制。

关键词: 注射用甘草酸二铵; 注射液; 含量测定; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)08-0982-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.08.018

Content Determination of Diammonium Glycyrrhizinate Preparation by HPLC

LIU Xiaolan¹, HE Xiaojun², FU Li², ZHANG Yihua^{2*} (1.Sichuan Province Transportation Department Highway Bureau Hospital, Chengdu 611730, China; 2.Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for the content determination and related substance of diammonium glycyrrhizinate preparation. **METHODS** Agilent Extend-C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm)was used with the mobile phase acetonitrile-0.01 mol·L⁻¹ phosphate solution(38:62), the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, determination wavelength at 252 nm. **RESULTS** The linear range of the method was 12.5–1 250 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$), the limit of detection was 5.2 ng, the recovery of diammonium glycyrrhizinate was >99.4%. **CONCLUSION** The method is convenient, accurate and can be used for quality control of diammonium glycyrrhizinate preparation.

KEY WORDS: diammonium glycyrrhizinate; injection; content determination; related substance; HPLC

甘草酸二铵是从豆科植物甘草中分离筛选的主要活性成分甘草酸的二铵盐, 具有非特异性抗炎、抗过敏、稳定溶酶体膜及免疫调节作用, 其抗病毒作用尤为突出, 临床上被广泛用于治疗病毒性肝炎及多种疾病和理化因素引起的肝脏损伤。甘草酸二铵注射液药品质量标准由国家药品标准第 46 册收载, 试行标准有 YBH38602005, YBH10152009, YBH23862006 等; 注射用甘草酸二铵试行标准有 YBH33172005, YBH19212005 等。标准中有关物质的控制方法不尽相同, 甚至未对有关物质进行控制, 但含量测定方法一致, 均采用紫外-可见分光光度法, 以烟酰胺为对照品, 测定结果乘以 1.898, 该方法专属性差, 测定结果无法真实反映药品的质量。有文献报道测定甘草酸二铵制剂的含量或有关物质^[1-3], 但尚未见报道同时测定含量及其有关物质。本实验采用高效液相色谱法, 以乙腈-磷酸溶液为流动相直接测定甘草酸二铵制剂中的含量及其有关物质, 专属性好,

线性范围宽, 检测限低, 且主峰与杂质峰有良好的分离效果, 适用于甘草酸二铵制剂的质量控制。

1 仪器与试剂

DIONEX ULTIMATE 3000 高效液相色谱仪(美国戴安公司)。

甘草酸二铵对照品(A 厂家提供, 批号: 100501, 纯度: 98.4%); 注射用甘草酸二铵样品由 2 个厂家提供(B 厂, 批号: 100131; C 厂, 批号: 0908021, 规格: 0.15 g); 甘草酸二铵注射液样品由 3 个厂家提供(A 厂, 批号: 1003271, 1004031, 1004241; D 厂, 批号: 0908021; E 厂, 批号: 060111, 规格: 5 mg·mL⁻¹)。乙腈为色谱纯(美国 Fisher Chemical), 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 含量测定用溶液制备 取注射用甘草酸二铵 5 支, 倾出内容物, 混合均匀, 精密称取适量(约相当于甘草酸二铵 12.5 mg)置 25 mL 量瓶中, 加

基金项目: 河北省科学技术厅项目(10276430)

作者简介: 刘晓岚, 女, 主管药师 Tel: 15931692892
(0311)85212004-8040 E-mail: zhangyihua0915@163.com

E-mail: 49567976@qq.com

*通信作者: 张轶华, 女, 硕士, 主管药师 Tel:

流动相溶解并稀释至刻度，即得注射用甘草酸二铵供试品溶液 a；取甘草酸二铵注射液 5 支，混匀，精密量取 5 mL 置 50 mL 量瓶中，加流动相溶解并稀释至刻度，即得甘草酸二铵注射液供试品溶液 b；再精密量取上述 2 种溶液各 5 mL 分别置 10 mL 量瓶中，加流动相稀释至刻度，作为样品溶液。另取甘草酸二铵对照品适量，用流动相稀释成每 1 mL 中约含 0.25 mg 的对照品溶液。

2.1.2 有关物质溶液制备 分别精密量取“2.1.1”

项下 2 种供试品溶液各 3 mL 置 100 mL 量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，即得。

2.2 色谱条件

色谱柱：Agilent Extend-C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)，流动相：乙腈-0.01 mol·L⁻¹ 磷酸溶液 (38 : 62)，检测波长：252 nm，流速：1.0 mL·min⁻¹，进样量：20 μL，柱温：35 °C，辅料无干扰，色谱图见图 1，样品以 A 厂 (批号：1003271) 为例。

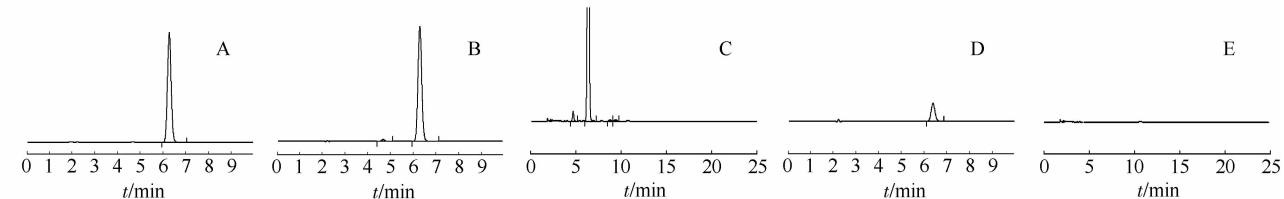


图 1 含量和有关物质的色谱图
A-对照品溶液；B-样品溶液；C-供试品溶液 a；D-有关物质溶液；E-空白溶剂。
Fig. 1 Chromatogram of assay and related substance
A-control solution; B-sample solution; C-test solution a; D-related solution; E-negative solution.

2.3 线性试验

精密称定甘草酸二铵对照品 125 mg，置 100 mL 量瓶中，加流动相溶解并稀释至刻度，摇匀。逐级稀释成浓度为 0.625, 0.5, 0.25, 0.125, 0.062 5, 0.012 5 mg·mL⁻¹ 的溶液，分别精密量取 20 μL，注入高效液相色谱仪，记录色谱图。以峰面积 Y 对浓度 X 作线性回归，线性方程为 Y=8 442.6X-999 9, r=0.999 9。结果表明，甘草酸二铵在 12.5~1 250 μg·mL⁻¹ 内呈良好的线性关系。

2.4 仪器精密度与稳定性试验

取对照品溶液，连续进样 5 次，测得峰面积 RSD 为 0.4%。

取对照品溶液，分别于 1, 4, 8, 12, 24 h，进样测定，测定峰面积 RSD 为 0.8%，说明甘草酸二铵在 24 h 内稳定。

2.5 重复性试验

取 A 厂，批号为 1003271 的样品，按“2.1”项下方法配制 6 份样品溶液，精密量取 20 μL 注入高效液相色谱仪，记录色谱图，按外标法计算含量，测得平均含量为 101.93%，RSD 为 0.4%。

2.6 检出限和定量限

将“2.3”项下的溶液逐步稀释进样，当信噪比 S/N=3，最低检测限为 5.2 ng；当 S/N=10，定量限为 15.6 ng。

2.7 回收率试验

精密量取“2.1”项下的溶液 b 10.0 mL 置 50 mL 量瓶中，共 9 份，精密称定甘草酸二铵对照品 (B 厂家提供，批号：100501，纯度：98.4%) 约 5.0, 7.5, 10 mg，各 3 份，置上述量瓶中，加流动相适量使溶解，并稀释至刻度，摇匀。按外标法计算回收率，结果见表 1。

表 1 回收率测定结果
Tab. 1 The result of recovery test

样品量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
5.00	5.02	10.06	100.79		
5.00	5.05	10.03	99.60	100.3	0.6
5.00	5.03	10.05	100.39		
5.00	7.51	12.47	99.46		
5.00	7.52	12.45	99.06	99.4	0.3
5.00	7.55	12.52	99.60		
5.00	10.02	15.04	100.19		
5.00	10.05	15.02	99.70	100.1	0.4
5.00	10.03	15.06	100.29		

2.8 样品测定

对 5 个厂家的 7 批样品，测定含量，并比较用现行标准和用甘草酸二铵对照品替代现行方法中用烟酰胺对照品，用紫外-可见分光光度法测的的含量。同时对 7 批样品的有关物质进行了测定和分析，结果见表 2。

表 2 3 种方法测定含量测定结果比较
Tab. 2 The comparative assay result of three methods

剂型	厂家	批号	含量测定			有关物质	
			HPLC/%	UV/%	现行标准/%	最大杂质/%	其他杂质总和/%
注射用甘草酸二铵	B	100131	97.10	98.14	98.18	3.4	1.9
	C	0908021	86.38	87.41	87.44	3.8	2.2
甘草酸二铵注射液	A	1003271	101.93	102.51	102.54	1.3	1.1
		1004031	100.05	101.15	101.19	1.4	1.0
		1004241	100.73	101.93	101.96	1.2	1.1
	D	0908021	97.25	98.64	98.68	2.1	2.0
	E	060111	96.86	97.10	97.14	3.0	4.7

3 讨论

本研究考察了乙腈-0.01 mol·L⁻¹ 醋酸铵溶液 (pH 4.53, 4.04, 3.54, 3.04), 乙腈-1%冰醋酸和乙腈- 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸溶液等体系, 结果显示: 前 2 个缓冲体系色谱峰峰形拖尾严重且分离度欠佳; 而后者效果较好, 色谱峰峰形对称且主峰与相邻杂质峰完全分离。

表 2 可以看出, 对照品紫外-分光光度法测定含量的结果与现行标准基本一致, 但 HPLC 测定的结果低于现行标准, 原因可能为紫外可见分光光度法测定时将含其他三萜皂苷母核的物质均计入, 说明 HPLC 专属性更强, 能更好的控制药品质量。

在测定有关物质时发现最大杂质高达 3.8%, 其他杂质和最高达 4.7%, 充分说明标准中增订有关物质检查项的必要性。

REFERENCES

[1] GAO Z C, LU L X, KANG L. HPLC determination related substance of diammonium glycyrrhizinate [J]. Chin J Coal Indust Med(中国煤炭工业医学杂志), 2010, 13(1): 122-123.
[2] XU B Y. HPLC determination assay of diammonium glycyrrhizinate [J]. Jiangsu Pharm Clin Res(江苏药学与临床研究), 2005, 13(4): 15-16.
[3] XIE S G, CHEN S, ZHENG G G. HPLC determination of 18-isomer of diammonium glycyrrhetate for injection and its ratio evaluation [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(7): 772-775.

收稿日期: 2013-11-12

补骨脂酚在大鼠血清、肝和肾中的含量测定

张昀^{a,b}, 刘路^b(河南大学, a.民生学院, b.药学院, 河南 开封 475004)

摘要: 目的 建立一种快速检测大鼠灌胃给药后, 补骨脂酚在血清、肝脏、肾脏中含量测定的方法。方法 Agilent HC-C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~10 min, B 35%→45%, 10~25 min, B 80%), 流速: 1 mL·min⁻¹, 柱温: 30 ℃, 检测波长: 0~10 min, 295 nm(氯霉素), 10~25 min, 260 nm(补骨脂酚)。结果 补骨脂酚在血清、肝匀浆液、肾匀浆液中均能达到很好的分离, 在 0.1~10.0 mg·L⁻¹ 内有良好的线性关系。结论 本方法简便准确, 可用于测定给药后血清、肝脏、肾脏中补骨脂酚的含量。

关键词: 补骨脂; 补骨脂酚; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2014)08-0984-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.08.019

基金项目: 河南大学民生学院教育教学改革研究项目资助计划(MSJG2013-41); 河南省教育厅研究项目(14B350009)
作者简介: 张昀, 女, 硕士, 讲师 Tel: (0378)3880680 E-mail: 201zhangyun@sina.com.cn