

高效液相色谱法测定理中汤配方颗粒中甘草酸含量*

胡昌江,李兴华,杨 婷,吴 平,李兴迎

(成都中医药大学药学院,四川 成都 610075)

摘要 目的 建立理中汤配方颗粒中甘草酸的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法(HPLC法),以 Diamonsil - C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm)为分析柱,流动相为甲醇 - 0.2 mol/L 醋酸铵溶液 - 冰醋酸(67:33:1),检测波长为 250 nm,流速为 1.00 mL/min,柱温为 40℃。结果 甘草酸进样量在 0.573 6 ~ 4.015 2 μg 范围内与峰面积呈良好线性关系, $r = 0.999\ 8$, 平均回收率为 99.12%, $RSD = 1.19\%$ ($n = 9$)。结论 该方法可靠、准确、简便。

关键词 理中汤配方颗粒;甘草酸 高效液相色谱法 含量测定

中图分类号 R284.1

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2006)04-0010-02

Determination of Glycyrrhizic Acid in Lizhongtang Compatible Granule by HPLC

Hu Changjiang, Li Xinghua, Yang Ting, Wu Ping, Li Xingying

(Pharmacy College, Chengdu University of TCM, Chengdu, Sichuan, China 610075)

Abstract: Objective To establish the determination method of glycyrrhizic acid content in Lizhongtang compatible granule. **Methods** The Diamonsil - C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was used. The mobile phase was CH₃OH - 0.2 mol/L CH₃COONH₄ - CH₃COOH (67:33:1) and the detecting wavelength at 250 nm. The flow rate was 1.00 mL/min and the column temperature was 40℃. **Results** The linear range of glycyrrhizic acid content determination was 0.573 6 ~ 4.015 2 μg, $r = 0.999\ 8$. The average recovery was 99.12%, $RSD = 1.19\%$ ($n = 9$). **Conclusion** The result is reliable and the method is simple.

Key words: Lizhongtang compatible granule; glycyrrhizic acid; HPLC; content determination

理中汤来源于《伤寒论》,由干姜、人参、炙甘草、白术组成,具有温中散寒、补气健脾的功效,为中医治疗脾胃虚寒的经典方。理中汤配方颗粒的研制,既保持了中医辨证论治、随证加减的特点,又克服了汤剂和煎汤麻烦、保存不便等缺点。为了有效控制其质量,笔者采用高效液相色谱法(HPLC法)对其中的甘草酸进行了含量测定,方法重现性好、精密度高、操作简便,效果满意。

1 仪器与试剂

HP1100 型高效液相色谱仪(包括 G1311A 四元梯度泵、G1322A 脱气机、G1316A 柱温箱、G1313A 自动进样器、G1315A 二极管阵列紫外检测器);HPLC Station 6.04 软件包;赛多利斯 Bp211DAG 电子天平(德国 Sartorius);超声波清洗器 CX-100(北京医疗设备二厂)。甘草酸铵(中国药品生物制品检定所,批号为 110731-200409);甲醇为色谱纯;水为重蒸馏水;其余试剂均为分析纯。理中汤配方颗粒(四川绿色药业科技发展有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1]与系统适用性试验

色谱柱: Diamonsil - C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);**流动相:** 甲醇 - 0.2 mol/L 醋酸铵溶液 - 冰醋酸(67:33:1);**检测波长:** 250 nm;**流速:** 1.00 mL/min;**柱温:** 40℃;**灵敏度:** 0.005 AUFS。在选定条件下,甘草酸铵与样品中其他组分色谱峰达基线分离,其理论塔板数(N)大于 4 000,且阴性样品溶

液无干扰。对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液色谱图见图 1。

2.2 溶液制备

取甘草酸铵对照品适量,精密称定,置量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液(每 1 mL 含甘草酸铵对照品 0.292 8 mg,折合甘草酸为 0.286 8 mg)。取理中汤配方颗粒约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加流动相 50 mL,称定重量,水浴超声提取 30 min,放冷至室温,再称定质量,用流动相补足减失质量,摇匀,滤过,取续滤液,用微孔滤膜(0.45 μm),滤过,即得供试品溶液。按处方量制备不含甘草的阴性样品,按供试品溶液的制备方法,同法制备即得阴性样品溶液。

2.3 线性关系考察

精密吸取甘草酸对照品溶液(浓度为 0.286 8 mg/mL)2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 μL,注入液相色谱仪,测定峰面积。以峰面积值(A)对进样量(C)进行回归,得标准曲线方程: $A = -13.64 + 316.87 C$, $r = 0.999\ 8$ 。结果表明甘草酸进样量在 0.573 6 ~ 4.015 2 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μL,重复进样 5 次。结果峰面积的 $RSD = 1.06\%$,表明仪器的精密度良好。

2.5 重现性试验

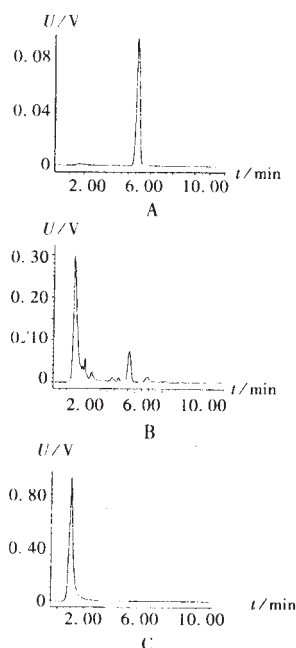
取同一批样品(批号 050305)5 份,分别按供试品溶液的制备方法制备,进样 10 μL,测定峰面积,计算含量。结果的 $RSD = 1.61\%$,表明该方法重现性良好。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 时进样 10 μL,测定峰面积,计算含量。结果的 $RSD = 1.37\%$,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 加样回收试验

精密称取 9 份已知含量的样品(批号为 050305,含量为 15.174 mg/g)0.2 g,分成 3 组,每组分别加入甘草酸对照品溶液浓度为(1.328 mg/mL)1.80, 2.20, 2.70 mL,按供试品溶液的制备方法制备,进样 10 μL,测定峰面积,计算回收率。结果见表 1。



A. 对照品溶液
B. 供试品溶液
C. 阴性样品溶液

图 1 高效液相色谱图

* 国家“十五”重大科技专项,项目编号 2001BA701A40-1。

清热利咽茶的薄层色谱鉴别

李义清

(潍坊医学院附属医院, 山东 潍坊 261031)

摘要: 目的 建立清热利咽茶的质量标准。方法 采用薄层色谱法(TLC法)对制剂中的金银花、连翘、陈皮、甘草、荆芥、桔梗、玄参进行定性鉴别。结果 TLC法可鉴别出金银花、连翘、陈皮、甘草。结论 该方法简便、可靠,可供制订清热利咽茶质量控制时参考。

关键词: 清热利咽茶 质量标准 薄层色谱法

中图分类号 R284.1

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2006)04-0011-02

TLC Identification on Qingreliyan Tea

Li Yiqing

(Hospital Affiliated of Weifang Medical College, Weifang, Shandong, China 261031)

Abstract: **Objective** To establish a quality standard for Qingreliyan tea. **Methods** TLC was used to study the identification of Jinyinhua, Lianqiao, Chenpi, Gancao, Jingjie, Jugeng, Xuanshen. **Results** Jinyinhua, Lianqiao, Chenpi, Gancao were identified by TLC. **Conclusion** The identification method of four drugs is simple and accurate. It can be used for the quality control of Qingreliyan tea.

Key words: Qingreliyan tea; quality standard; TLC

清热利咽茶是在传统方剂银翘散的基础上加减形成的协定处方,由赤芍、金银花、连翘、荆芥、桔梗、玄参、陈皮、甘草组成,具有抗炎、调节免疫、杀菌等功效^[1-2]。我院制剂室通过有关工艺研究制成了其半生药型袋泡剂。为有效控制本品质量,笔者对方中各药进行了定性鉴别,最后确定了金银花、连翘、陈皮、甘草的薄层色谱(TLC)鉴别方法,报道如下。

1 仪器与试剂

聚酰胺薄膜、硅胶 GF₂₅₄ 薄层板(青岛海洋化工集团)金银花、连翘、荆芥、桔梗、玄参、陈皮、甘草[潍坊海王医药股份有限公司,符合2000年版《中国药典(一部)》药品标准],甘草酸铵、橙皮苷对照品(中国药品生物制品检定所),对照药材金银花、连翘(山东中医药大学代龙副教授鉴定),清热利咽茶(批号为20020614,潍坊医学院附属医院),所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

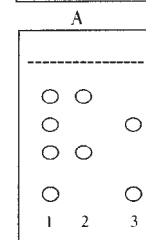
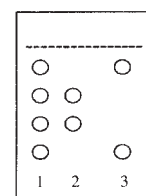
2.1 金银花^[3]

取本品2g,加乙醇20mL,回流提取30min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇2mL使溶解,作为供试品溶液。另取金银花对照

药材,同法制成对照药材溶液。取缺金银花的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。照TLC法^[3],吸取上述3种溶液各1μL,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以36%醋酸为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点,阴性对照品溶液则无(图1A)。

2.2 连翘^[3]

取本品5g,加乙醇50mL,回流提取30min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加15mL水使溶解,用乙醚萃取2次,每次10mL,弃去乙醚液,水溶液再用水饱和正丁醇萃取2次,每次20mL,合并正丁醇萃取液,蒸干,残渣加乙醇1mL使溶解,作为供试品溶液。另取连翘对照药材1g,同法制成对照药材溶液。取



1. 供试品溶液
2. 对照药材溶液
3. 阴性对照品溶液
A. 金银花 B. 连翘
图1 薄层色谱图

表1 甘草酸加样回收试验结果

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
3.030 2	2.390 4	5.414 6	99.75		
2.878 5	2.390 4	5.275 1	100.26		
3.048 5	2.390 4	5.399 5	98.35		
3.191 1	2.921 6	6.101 6	99.62		
2.995 3	2.921 6	5.856 1	97.92	99.12	1.19
3.212 3	2.921 6	6.169 3	101.21		
3.042 4	3.585 6	6.541 9	97.60		
3.317 0	3.585 6	6.844 9	98.39		
3.465 7	3.585 6	7.014 7	98.98		

2.8 样品含量测定

取3批样品,分别按供试品溶液的制备方法,制备供试品溶液。分别进样10μL,测定峰面积,计算含量。结果批号为050301,050305,050310的3批样品中甘草酸含量分别为12.993,15.174,13.148mg/g。

3 讨论

3.1 中药经方配方颗粒的研究,以经方为基础,经过系统研究,使

其质量稳定可控,服用、携带方便,疗效可靠,同时还保持了中医辨证施治、随证加味的优势,是改革中医传统用药方式的一种新的探索。

3.2 理中汤主治脾胃虚寒之证,相当于现代医学中的急性胃肠炎、胃及十二指肠溃疡、慢性结肠炎等疾病,中医辨证属脾胃虚寒者,均可应用^[2]。而甘草酸为甘草中的主要成分,故对其进行含量测定,作为控制理中汤配方颗粒质量的方法之一。

3.3 甘草酸的含量测定,已报道的有HPLC法、薄层扫描等多种方法^[3]。由于HPLC法具有分离效能高、灵敏、准确等优点,故采用其建立了理中汤配方颗粒中甘草酸的含量测定方法。

作者简介 胡昌江,教授,(电话)028-88194696。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005:59-60.
- [2] 段富津. 方剂学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1995:100-101.
- [3] 丁桂兰,孙鹏远,温立义. 高效液相色谱法测定生化汤丸中甘草酸的含量[J]. 中国药业,2003,12(10):27-28.

(收稿日期 2005-10-17)