

逍遥丸(水丸)质量标准

韩慧琴, 曾春萍*, 谢颖, 丁杰, 荆燕燕
(河北省张家口市药品检验所, 河北 张家口 075000)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 测定逍遥丸(水丸)甘草中甘草酸铵的含量。方法: 采用 HPLC 测定甘草中甘草酸铵的含量, 色谱柱 Agilent(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), YMC(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.2 mol·L⁻¹ 醋酸铵缓冲液 [0.2 mol·L⁻¹ 醋酸铵-冰醋酸(33:1)](62:38) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 250 nm, 柱温 30 ℃。结果: 甘草酸在 0.039 74 ~ 3.972 μg 呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 101.8%, RSD 1.4% ($n=9$)。结论: 建立的 HPLC 操作简便、结果准确、重复性好, 耐用性好, 可用于逍遥丸丸的质量控制。

[关键词] 逍遥丸; 高效液相色谱法; 甘草酸铵

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0116-03

Quality Standard of Xiaoyao Pills

HAN Hui-qin, ZENG Chun-ping*, XIE Ying, DING Jie, JING Yan-yan
(Zhangjiakou Institute for Drug Control of Hebei Province, Zhangjiakou 075000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a quality standard of Xiaoyao pills, Glycyrrhiza Radix et Rhizoma was determined by HPLC method. **Method:** HPLC Separation was achieved on a Agenlit PAK-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column as fixed phase and methanol-0.2 mol·L⁻¹ ammonium acetate buffer [0.2 mol·L⁻¹ ammonium acetate-Acetic anhydride(33:1)] (62:38) as mobile phase was adopted. The flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ and the detective wave length was 250 nm. Column temperature 30 ℃. **Result:** The linearity range was 0.039 74-3.972 μg ($r=0.999\ 9$), the average recovery of was hesperidin was 101.8%, RSD 1.4% ($n=9$). **Conclusion:** The established HPLC method is simple, accurate and repeatable and sensitive. It is can be used for quality control of Xiaoyao pills.

[Key words] Xiaoyao pills; HPLC; Glycyrrhiza Radix et Rhizoma

[收稿日期] 20111201(805)

[第一作者] 韩慧琴, 主管中药师, 学士, 从事中药检验及方法研究, Tel:13363139796, E-mail:497905208@qq.com

[通讯作者] * 曾春萍, 副主任药师, 学士, 从事药品检验及方法研究, Tel:15033663112, E-mail:hnhqiq668899@sohu.com

量为 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.9 mL·min⁻¹ 的色谱峰, 结果柱流量 1.9 mL·min⁻¹ 时出峰快且峰形较好。

α -三联噻吩的结构中含有不饱和共轭链, 具有高消光系数的近紫外吸收及氧的量子产额, 使其具有光活化性能^[5], 本实验最好避光操作。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010:244.

[2] Lin Y L, Huang R L, Kuo Y H, et al. Thiophenes from *Echinops grijisii*. Hance [J]. Chin Pharm J, 1995, 51 (3):201.

[3] 汪毅, 李铤, 张鹏. 禹州漏芦化学成分及药理活性的研究进展[J]. 中草药, 2005, 36(2):309.

[4] 李喜凤, 余云辉, 胡春月, 等. RP-HPLC 法测定不同产地禹州漏芦中 α -三联噻吩含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6):60.

[5] Marles R J, Hudson J B, Graham E A, et al. Structureactivity studies of photoactivated antiviral and cytotoxic tricyclic thiophenes [J]. Photochem Photobio, 1992, 56(4):479.

[责任编辑 顾雪竹]

逍遥丸由柴胡、当归、白芍、白术(炒)、茯苓、薄荷、甘草(炙)7味药组成。现行法定标准为《中国药典》2010年版一部。为了更好的控制逍遥丸的质量,对其质量标准进行了研究。

1 材料

1.1 仪器 岛津 LC-20AT, Waters e2695-2998 高效液相色谱仪,赛多利斯 CP225D 高效液相色谱仪(1/10万),常熟市衡器厂 DF160A(1/万),HS6150 型超声波清洗机,Agilent(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) PAK-C₁₈, YMC C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱。

1.2 试药 甘草酸铵对照品(批号 110731-200614, 含量 100%), 购自中国药品生物制品检定所, 逍遥丸(河北永丰制药有限公司 批号 20110102), 逍遥丸(山西恒康制药有限公司 批号 20100828), 阴性样品自制。甲醇为色谱纯, 水为去离子水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1-5] 色谱柱 Agilent(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 甲醇-0.2 mol·L⁻¹ 醋酸铵缓冲液 [0.2 mol·L⁻¹ 醋酸铵-冰醋酸(33:1)](62:38) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 250 nm, 柱温 30 ℃, 进样量 10 μL。理论板数按甘草酸峰计算不低于 2 000。

2.2 溶液的制备 对照品溶液 取甘草酸铵对照品 0.010 14 g(相当于甘草酸 9.93 mg), 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀(质量浓度为 0.202 8 g·L⁻¹, 相当于甘草酸的浓度为 0.198 6 g·L⁻¹)。精密量取 10 mL, 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得(质量浓度为 0.040 56 g·L⁻¹, 相当于甘草酸的浓度为 0.039 74 g·L⁻¹)。

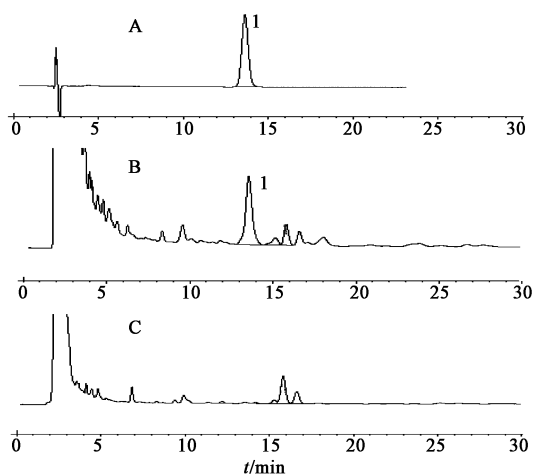
注:甘草酸的质量 = 甘草酸铵质量/1.020 7

供试品溶液 取供试品适量, 研碎, 混匀, 取约 0.5 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 40% 甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 用 40% 甲醇补足减失质量, 摇匀, 离心。取上清液, 滤过(0.45 μm), 即得。

阴性样品溶液 按处方比例制备不含甘草的阴性样品, 再按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.3 测定 取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL 分别注入液相色谱仪, 结果甘草酸与其他组分的分离度 > 1.5, 且阴性对照溶液无干扰。结果对照品有较好峰型, 供试品中的甘草酸能与其他杂质峰获得较好分离, 分离度 > 1.5。阴性样品在

与对照品峰相应的保留时间未出现杂质峰, 可见无干扰, 表明本法专属性强。见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性; 1. 甘草酸

图 1 逍遥丸 HPLC

2.4 线性关系考察 精密量取 2.2 项下对照品溶液质量浓度为 0.202 8 g·L⁻¹ 的溶液(相当于甘草酸的质量浓度为 0.198 6 g·L⁻¹) 各 20, 10 μL 注入液相色谱仪, 精密量取质量浓度为 0.040 56 g·L⁻¹ 的溶液(相当于甘草酸的质量浓度为 0.039 74 g·L⁻¹) 各 20, 10, 5, 2, 1 μL 注入液相色谱仪按拟定的色谱条件测定, 以峰面积积分值为纵坐标, 甘草酸对照品进样量为横坐标绘制标准曲线, 计算得回归方程 $Y = 764\ 598X - 43.05$ ($r = 0.999\ 9$), 结果表明甘草酸在 0.039 74 ~ 3.972 μg 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取供试品约 0.5 g, 精密称定, 按 2.2 项下的方法制成供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 测定甘草酸峰面积, 计算 RSD 0.24%, 表明精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品(批号 20110102) 溶液, 置室温条件下, 密闭保存, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 14, 18, 22, 24, 48 h 进样 10 μL, 记录甘草酸峰面积积分值, 计算甘草酸的含量分别为 2.034, 2.034, 2.054, 2.037, 2.058, 1.997, 2.012, 2.014, 2.011, 2.004 mg·g⁻¹, RSD 1.1%, 结果表明样品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一批供试品(河北永丰药业有限公司, 批号 20110102) 适量, 研细, 混匀, 取 6 份, 各 0.5 g, 精密称定, 按 2.2 项下的方法操作, 制成供试品溶液, 按上述检测方法测定, 结果样品中甘草酸的含量分别为 1.875, 1.832, 1.837, 1.852, 1.822, 1.905 mg·g⁻¹, RSD 1.7%。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品

(甘草酸质量分数 $1.855 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 0.25 g , 共称取 9 份, 前 3 份加 $0.0948 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的甘草酸对照品 40% 甲醇溶液(取甘草酸铵对照品 9.68 mg , 相当于甘草酸 9.48 mg , 置 100 mL 量瓶中, 加 40% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 相当于甘草酸的质量浓度 $0.0948 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 4 mL , 中间 3 份加 5 mL , 后 3 份加 6 mL 。制成供试品溶液, 按上述检测方法测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 逍遥丸加样回收率测定

No.	取样量 /g	供试品中含量 /mg	加入量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /%
1	0.250 0	0.463 8	0.379 2	0.851 0	102.10
2	0.249 9	0.463 6	0.379 2	0.854 9	103.19
3	0.249 7	0.463 2	0.379 2	0.854 3	103.14
4	0.249 9	0.463 6	0.474 0	0.936 5	99.77
5	0.250 4	0.464 5	0.474 0	0.935 4	99.35
6	0.250 0	0.463 8	0.474 0	0.944 4	101.39
7	0.250 2	0.464 1	0.568 8	1.045 8	102.27
8	0.249 9	0.463 6	0.568 8	1.049 7	103.04
9	0.250 0	0.463 8	0.568 8	1.044 8	102.15
平均回收率/%			101.82		
RSD/%			1.4		

2.9 耐用性试验 取同一批供试品(批号 20110102)适量, 研细, 混匀, 精密称定适量, 按上述方法操作, 制成供试品溶液, 选用不同厂家的色谱柱 Agilent($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$), YMC($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$) 按上述色谱条件进行测定, RSD 0.4%, 结果表明该方法耐用性好。

2.10 样品测定 取 20 个企业(四川禾润制药有限公司, 太极集团重庆桐君阁药厂有限公司, 河北永丰药业有限公司, 漳州片仔癀药业股份有限公司, 北京御生堂集团石家庄制药有限公司, 陕西香菊药业集团有限公司, 三九黄石制药厂, 吉林省力胜制药有限公司, 石家庄市海天药业有限公司, 山东三九药业有限公司, 山西旺龙药业有限公司, 黑龙江葵花药业有

限公司, 河北世济唐威药业有限公司, 襄樊隆中药业有限责任公司, 河北冀衡(集团)制药有限公司, 河南明康制药有限公司, 赤峰天奇制药有限公司, 承德天原药业有限公司, 承德颈复康药业集团有限公司, 赤峰丹龙药业有限公司)的样品共 56 批按上述方法操作, 制成供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 计算样品的含量, 结果在 $3.2 \sim 0.4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。见图 2。

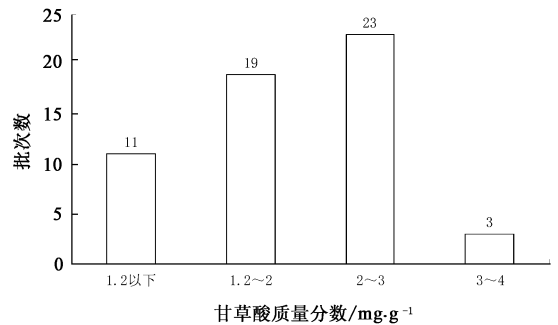


图 2 甘草酸含量分布

3 讨论

本文在甘草酸的含量测定方法^[6]的基础上对色谱条件进行适当调整, 选用甲醇- $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵缓冲液 [$0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵-冰醋酸 (33:1)] 溶液 (62:38) 为流动相, 结果峰纯度、峰型、分离度均比较好。

本法简便, 准确, 灵敏, 重复性好, 可用于逍遥丸的质量控制。

[参考文献]

- [1] 陈建华, 崔忠, 崔波, 等. HPLC 测定六一散中甘草酸单铵的含量[J]. 中成药, 2000, 22(9): 621.
- [2] 徐树芸, 王海宁. HPLC 测定甘草提取物中甘草酸的含量[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(24): 10297.
- [3] 谷会岩, 郭兴顺, 杨逢建. 国内甘草酸测定方法研究进展[J]. 东北林业大学学报, 2002, 30(4): 79.
- [4] 杨桦, 易红, 马振山, 等. 活血止痛颗粒剂质量标准的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 1998, 4(6): 3.
- [5] 孟蕾, 曹杰, 张海鸣, 等. HPLC 法测定铁笛丸中甘草酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 35.
- [6] 中国药典. 一部[S]. 2010: 995.

[责任编辑 顾雪竹]