

# 高效液相色谱法测定参苓白术丸中甘草酸含量

魏建英<sup>1\*</sup>, 索建政<sup>2</sup>

(1. 清华大学第一附属医院, 北京 100016; 2. 北京市卫生局临床药学研究所, 北京 100011)

**[摘要]** 目的: 建立参苓白术丸中甘草酸的 HPLC 测定方法。方法: 采用 HPLC 法测定参苓白术丸中甘草酸含量, 在 C<sub>18</sub> 反相柱以乙腈-水-磷酸三乙胺为流动相, 柱温: 40℃, 流速: 1mL/min, 检测波长: 250nm。结果: 甘草酸在 0.2030~4.060μg 范围内, 与色谱峰面积呈线性关系, 加样回收率为 99.68%, RSD=1.24%。结论: 该法快速、准确、简便、专属性强、灵敏度高, 可为参苓白术丸质量评价提供有效手段。

**[关键词]** HPLC; 参苓白术丸; 甘草酸

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)09-0011-02

参苓白术丸是常用中药, 由人参、茯苓、白术、山药、甘草、白扁豆、莲子等 10 种中药材制成。甘草酸是甘草中的重要成分, 通过测定参苓白术丸中甘草酸的含量, 可以作为控制该产品质量的一个重要指标。本文对参苓白术丸中甘草酸的含量测定方法进行研究, 结果表明, 该测定方法灵敏、专属、可靠。

## 1 试验材料

**1.1 仪器** 岛津公司 LC-10AT 高效液相色谱仪 检测器 SPD-2010A; 岛津公司 LC-10ATvp 高效液相色谱仪 检测器 SPD-10AVvp; 安捷伦 1100 高效液相色谱仪 DAD 检测器。

**1.2 试剂与样品** 乙腈: 色谱纯 (Fisher Scientific), 水: 超纯水, 磷酸: 优级纯 (天津天和化工厂) 其余试剂均为分析纯; 甘草酸单铵盐: 中国药品生物制品检定所提供, 批号 110731-200408 (0.2mg 甘草酸单铵盐折合甘草酸为 0.1959mg)。参苓白术丸 (批号: 5082041, 5082017, 5089041)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub> 150mm × 4.6mm, 5μm, 流动相乙腈-磷酸三乙胺溶液 (35: 65) (磷酸三乙胺溶液: 100mL 水: 磷酸 5mL: 三乙胺 9mL 调 pH3.0); 检测波长为 250nm, 柱温 40℃, 流速 1mL/min。理论板数以甘草酸计 4000。

**2.2 供试品溶液的制备** 取本品粉碎过 4 号筛, 精密称取粉末 1g, 置具塞三角瓶中, 加入 50% 甲醇 50.00mL, 称重, 超声提取 (25W, 4000Hz) 45min, 回重, 过滤, 取续滤液, 即得。

**2.3 标准曲线的制备** 精密称取甘草酸单铵盐标准品约 20mg, 置 50mL 容量瓶中, 加甲醇溶解, 定容, 分别精密吸取上清溶液 (0.406mg/1mL) 0.5, 2.5, 5, 7.5, 10mL, 置 20mL 容量瓶中, 用 50% 甲醇定容, 为标准液, 分别进样 20μL, 测定峰面积, 以峰面积值为纵坐标, 甘草酸进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程:  $y = 1.148 \times 10^{-6} x - 0.00428$ ,  $r = 0.9999$ 。表明甘草酸在 0.20~4.0μg 范围内具有良好的线性关系。

**2.4 干扰性实验考察** (1) 按处方比例及工艺制成除去甘草药材的空白样品, 按供试品溶液制备法制

[收稿日期] 2005-11-07

[通讯作者] \* 魏建英, Tel: (010) 64314595; E-mail: wjzhl18@yahoo.com

成阴性对照液, 进行测定, 结果表明处方中其他药材不干扰甘草酸的测定。(2) 按上述色谱条件进行分离, 用 DAD 检测器对供试品中甘草酸的峰进行峰纯度分析, 结果样品中的甘草酸峰纯度在 99.9% 以上。

**2.5 稳定性实验** 取同一供试品溶液, 分别于配制后 0, 2, 4, 6, 8, 10h 进样, 结果表明, 样品的稳定性很好, RSD 为 0.13%, 在 10h 内所测的峰无变化, 很稳定。

**2.6 重复性试验** 按上述方法, 对同一批号 (5082041) 样品 6 份进行测定, 结果平均含量为 4.11 (mg/g), RSD 1.10%, 重复性好。

**2.7 回收率实验** 采用加样回收法, 精密称取甘草酸单铵盐对照品 3 份, 分别为 7.08, 8.36, 9.68mg, 分别置 200mL 容量瓶中, 加 50% 甲醇溶解至刻度; 精密称取已知含量的同一批号 (5082041) 样品 (含量: 4.12mg/g) 0.5g, 置具塞三角瓶中, 分别精密加入上述 3 个浓度的溶液 50mL, 每个浓度做 3 份, 按供试品溶液的制备方法制备并测定, 结果见表 1。

表 1 甘草酸单铵盐回收率测定结果

序 号	取样量 (g)	样品中 含量 (mg)	加入对 照品量 (mg)	测得总 含量 (mg)	回收率 (%)	平均 回收率 (%)	RSD (%)
1	0.5087	2.096	1.734	3.843	100.75		
2	0.5024	2.070	1.734	3.812	100.46		
3	0.5011	2.065	1.734	3.795	99.77		
4	0.5055	2.083	2.047	4.107	98.88		
5	0.5082	2.094	2.047	4.085	97.26	99.68	1.24
6	0.5048	2.080	2.047	4.120	99.66		
7	0.5002	2.061	2.370	4.402	98.78		
8	0.5044	2.078	2.370	4.482	101.43		
9	0.5081	2.093	2.370	4.466	100.13		

**2.8 样品测定** 分别精密吸取对照品溶液 20 $\mu$ L 与供试品溶液各 20 $\mu$ L, 注入液相色谱仪进行测定, 以外标法计算甘草酸含量, 结果见表 2。

表 2 三批样品含量测定结果

批号	含量 (mg/g)
5082041	4.11
5082017	4.61
5089041	4.07

### 3 讨论

**3.1** 参苓白术丸在临床用于治疗脾胃虚弱、食少便溏、气短咳嗽、肢倦乏力等症, 具有较确切的疗效, 甘草酸是可测定的重要成分之一。采用高效液相色谱法测定样品中甘草酸的含量, 具有简便、快速、准确、专属的特点, 可以作为产品质量控制的方法。

**3.2** 根据文献报道, 甘草酸的提取方法有, 甲醇超声提取<sup>[1]</sup>; 50% 甲醇超声提取<sup>[2]</sup>; 通过实验我们认为 50% 甲醇提取最好, 又进行了超声提取时间 (15, 30, 45, 60min) 的考察, 45min 即达到提取平衡。

**3.3** 近几年的文献报道, 用 HPLC 测定甘草酸的方法中, 流动相主要为甲醇: 水: 酸<sup>[3,4]</sup>, 甲醇一般为 60%~65%, pH 为 3.5~4.2。甲醇系列流动相在本品中无法把甘草酸与其它成分分开, 经我们研究在乙腈-磷酸三乙胺溶液流动相系列里甘草酸与其它成分可以很好的分离, 在乙腈-磷酸三乙胺溶液 (乙腈在 30%~35%: 磷酸三乙胺溶液在 70%~65%) 的范围内甘草酸与其它成分都能分离, 以 (35: 65) 分离情况最好, 为了温度的恒定我们把柱温度定在 40 $^{\circ}$ C, 色谱图分离的效果较好。

### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2000. 65-66.

[2] 阴健, 郭力弓. 中药现代研究与临床应用[M]. 北京: 学苑出版社, 1995. 196-198.

[3] 王君耀, 方莹芝. HPLC 测定沉香宣气丸中甘草酸单铵盐的含量[J]. 中成药, 2003, 25(6): 507-508.

[4] 郑怡, 张岱兰, 潘文华. HPLC 法测定感冒炎咳灵糖浆中甘草酸单铵盐含量[J]. 福建中医学院学报, 2004, 14(5): 39-40.