

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.06.012

高效液相色谱法测定铋镁碳酸氢钠片中甘草酸含量

李志远¹, 左文松¹, 代明晶²

(1. 云南省食品药品监督检验研究院, 云南 昆明 650106; 2. 云南省文山壮族苗族自治州丘北县人民医院, 云南 文山 663000)

摘要:目的 建立测定铋镁碳酸氢钠片中甘草酸含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.05% 磷酸溶液(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 237 nm, 柱温为 30 ℃。结果 甘草酸质量浓度在 20.06~200.60 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好, $R^2=0.999\ 9$ ($n=5$); 平均加样回收率为 101.31%, RSD 为 0.39% ($n=6$)。结论 该方法简便、准确、可靠, 可用于铋镁碳酸氢钠片中甘草酸的含量测定。

关键词: 铋镁碳酸氢钠片; 甘草酸; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R932; R284.2; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)06-0034-03

Content Determination of Glycyrrhizic Acid in Bismut, Magnesium and Sodium Bicarbonate Tablets by HPLC

LI Zhiyuan¹, ZUO Wensong¹, DAI Mingjing²

(1. Yunnan Institute for Food and Drug Control, Kunming, Yunnan, China 650106; 2. Qiubei County People's Hospital, Wenshan, Yunnan, China 663000)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the content determination of glycyrrhizic acid in Bismut, Magnesium and Sodium Bicarbonate Tablets. **Methods** The chromatographic column was Kromasil C₁₈ column(150 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution(gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 237 nm, and the column temperature was 30 ℃. **Results** The glycyrrhizic acid showed good linear relationship in the range of 20.06~200.60 μg/mL, $R^2=0.999\ 9$ ($n=5$), the average recovery rate was 101.31%, RSD was 0.39% ($n=6$). **Conclusion** The method is simple, accurate and reliable, which can be used for the content determination of glycyrrhizic acid in Bismut, Magnesium and Sodium Bicarbonate Tablets.

Key words: Bismut, Magnesium and Sodium Bicarbonate Tablets; glycyrrhizic acid; HPLC; content determination

复方制剂铋镁碳酸氢钠片^[1]组方中, 甘草流浸膏占比为每 1 000 片 160 g, 而现行质量标准中仅收载该成分的鉴别项作为质量控制指标, 仅能判断处方中是否含有甘草流浸膏, 无法判断厂家在该药品生产过程中是否严格按处方量投料生产; 现行标准不能很好地区分不同厂家生产的药品的内在质量。本试验中选择处方中甘草浸膏的有效成分甘草酸为指标成分^[2-5], 建立测定其含量的高效液相色谱(HPLC)法^[6], 为该药的质量控制提供定量评价方法。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-20A 型高效液相色谱仪, 包括 DGU-20A 型脱气机、LC-20AT 型溶剂输送泵、SIL-20A 型自动进样器、CTO-20A 型柱温箱、SPD-20A 型紫外-可见检测器, LCU 化学工作站(日本岛津公司); FUNGI-LAB 型超声仪(FUNGILAB 仪器公司, 功率为 180 W, 频率为 50/60 kHz); CPA224S/CPA225D 型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司)。

1.2 试剂

铋镁碳酸氢钠片(昆明积大制药有限公司, 批号分别为 130301, 130305); 甘草酸铵对照品(中国食品药品

检定研究院, 批号为 110731); 乙腈(赛默飞世尔科技有限公司)、甲醇(默克公司)为色谱纯, 水为纯化水, 其他试剂均为国产分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Kromasil C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.05% 磷酸溶液(B), 梯度洗脱(洗脱程序见表 1); 检测波长: 237 nm; 柱温: 30 ℃; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 20 μL。

表 1 流动相梯度洗脱表(%)

<i>t</i> (min)	A	B	<i>t</i> (min)	A	B
0→8	19	81	35→36	50→100	50→0
8→35	19→50	81→50	36→40	100→19	0→81

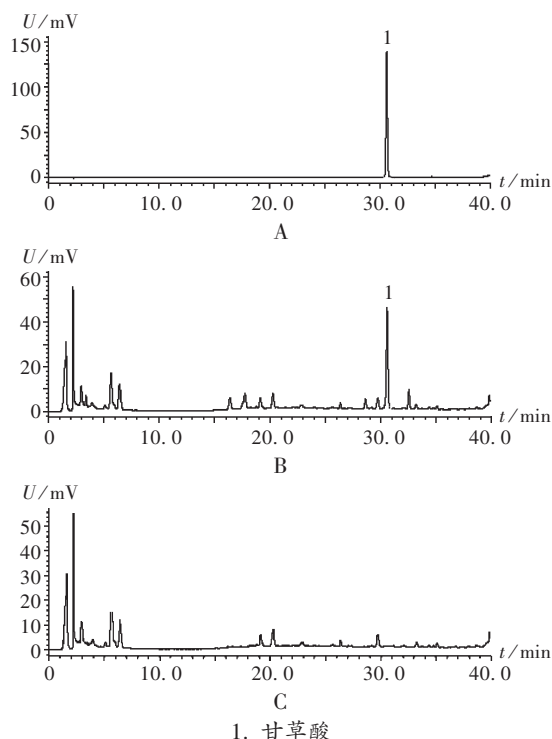
2.2 溶液制备

取甘草酸铵对照品 10.00 mg, 精密称定, 置 25 mL 容量瓶中, 加 50% 甲醇溶解并定容, 摇匀, 作为对照品贮备液。取样品适量, 研细, 称取 0.3 g, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加 50% 甲醇适量, 超声提取 10 min, 冷却, 加 50% 甲醇定容, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。按铋镁碳酸氢钠片的处方和工艺制备不含甘草的阴性样品, 同法制备阴性

对照品溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性试验：取2.2项下3种溶液，按2.1项下色谱条件进样测定，记录色谱图(图1)。可见，待测峰与其他峰分离良好，阴性对照品溶液无干扰，理论板数按甘草酸峰计应不低于5000。



1. 甘草酸
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液
图1 高效液相色谱图

线性关系考察：精密吸取对照品贮备液0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 mL，分别置10 mL容量瓶中，用50%甲醇定容至刻度，摇匀，精密吸取20 μ L，按2.1项下色谱条件分别进样测定，计算峰面积，记录色谱图，并以甘草酸质量浓度(μ g/mL)为横坐标(X)、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归，得回归方程 $Y = 10\,498X + 4\,625.6$ ， $R^2 = 0.999\,9$ ($n = 5$)。结果表明，甘草酸质量浓度在20.06 ~ 200.60 μ g/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验：精密量取同一供试品溶液20 μ L，按2.1项下色谱条件连续进样6次，测定峰面积。结果的 $RSD = 0.45\%$ ($n = 6$)，表明方法精密度良好。

稳定性试验：取样品(批号为130305)适量，依法制备供试品溶液，精密量取20 μ L，分别于室温下放置0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h时进样测定，测定峰面积。结果的 RSD 为2.00% ($n = 7$)，表明室温下供试品溶液在24 h内稳定。

加样回收试验：取样品(批号为130305)适量，每份0.15 g，共6份，精密称定，置50 mL容量瓶中，加50%甲醇适量，超声提取10 min，分别精密加入对照品溶液，

加50%甲醇定容，摇匀，滤过，取续滤液20 μ L，按2.1项下色谱条件进样测定，计算回收率。结果见表2。

表2 甘草酸加样回收试验结果 ($n = 6$)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.1513	2.27	2.29	4.58	100.87	101.31	0.39
0.1518	2.28	2.29	4.61	101.75		
0.1528	2.33	2.29	4.65	101.31		
0.1516	2.29	2.29	4.61	101.31		
0.1518	2.31	2.29	4.62	100.87		
0.1514	2.29	2.29	4.62	101.75		

重复性试验：取样品(批号130301)适量，共6份，同法制备供试品溶液，按2.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果的 RSD 为1.56% ($n = 6$)，表明方法重复性良好。

耐用性试验：取供试品溶液，其他色谱条件不变，改变流速、改变柱温、改变色谱柱品牌、相同品牌不同长度，按拟订色谱条件分别进样分析，记录色谱图峰面积。结果的 RSD 为1.09% ($n = 5$)，表明方法耐用性好。

2.4 样品含量测定

取2批样品各适量，研细，称取0.15 g，精密称定，置50 mL容量瓶中，加50%甲醇适量，超声提取10 min，冷却，加50%甲醇定容，摇匀，滤过，取续滤液，按2.1项下色谱条件进样测定，记录色谱图，用标准曲线法以峰面积计算样品中甘草酸含量。结果见表3。

表3 样品含量测定结果 ($n = 7$)

批号	取样量(g)	甘草酸含量(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
130301	0.15046	1.54	1.545	0.61
	0.15073	1.55		
130305	0.15054	1.58	1.560	1.80
	0.15077	1.54		

3 讨论

3.1 前处理条件优化

提取溶剂确定：取样品0.3 g，精密称定，置50 mL容量瓶中，分别以30%, 50%, 70%, 100%的甲醇溶液作为提取溶剂，按2.1项下色谱条件进样10 μ L测定，记录峰面积。结果显示，以50%甲醇溶液作为提取溶剂效果较好。

提取容积确定：称取样品0.3 g，精密称定，分别置25, 50, 100 mL容量瓶中，以50%甲醇作为提取溶剂，制成不同质量浓度的供试品溶液，按2.1项下色谱条件进样测定，进样量分别为5, 10, 20 μ L，测定峰面积。结果显示，提取容积为50 mL时效果较好，故选择此法作为样品的提取方法，并超声10 min。

3.2 色谱条件选择

参考2010年版《中国药典(一部)》甘草含量的测定