

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.13.019

以橙皮苷为对照品的内加入法测定甘草中甘草苷和甘草酸含量

田 涛¹, 余敏灵^{2, Δ}

(1. 成都储备基地成都药材供应站, 四川 成都 610017; 2. 四川省乐山市食品药品检验检测中心, 四川 乐山 614000)
摘要:目的 建立测定甘草中甘草苷和甘草酸含量的替代对照品法。方法 以橙皮苷为替代对照品, 通过测定甘草苷和甘草酸铵相对橙皮苷的校正因子, 利用相对校正因子计算甘草中甘草苷和甘草酸的含量。色谱柱为 Welch Ultimate C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.1% 三乙胺溶液(用磷酸调节 pH 至 2.5) - 乙腈(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 276 nm(甘草苷)、284 nm(橙皮苷)、252 nm(甘草酸铵), 进样量为 10 μL, 柱温为 30 °C。结果 甘草苷、橙皮苷、甘草酸铵的进样量分别在 0.083 0 ~ 1.038 1 μg、0.098 7 ~ 1.233 7 μg、0.216 5 ~ 2.706 3 μg 范围内与其峰面积($r=0.999\ 5, 0.999\ 4, 0.999\ 7$)线性关系良好; 甘草苷和甘草酸铵与橙皮苷的相对校正因子的平均值分别为 1.081 3 和 0.449 5; 甘草苷和甘草酸的加样回收率分别为 99.62% 和 98.44%, RSD 分别为 0.87% 和 1.19% ($n=6$)。结论 该方法经济快速, 可行实用, 准确度高, 重复性好, 可用于甘草中甘草苷和甘草酸的含量测定。
关键词:替代对照品法; 内加入法; 相对校正因子; 高效液相色谱法; 甘草; 含量测定; 甘草苷; 甘草酸

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)13-0067-05

Content Determination of Liquiritin and Glycyrrhizic Acid in *Glycyrrhiza Uralensis* by Internal Addition Method with Hesperidin as Reference Substance

TIAN Tao¹, YU Minling²

(1. Chengdu Storage and Supply Base Medicinal Supply Station, Chengdu, Sichuan, China 610017; 2. Leshan Food and Drug Inspection Center, Leshan, Sichuan, China 614000)

Abstract: Objective To establish a replacement method of chemical reference substance for content determination of liquiritin and glycyrrhizic acid in *Glycyrrhiza uralensis*. **Methods** Hesperidin was used as a substitute for reference substance, and the relative correction factors of liquiritin and ammonium glycyrrhizinate with hesperidin were determined to calculate the contents of liquiritin and glycyrrhizic acid in *Glycyrrhiza uralensis*. The chromatographic column was Welch Ultimate C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 0.1% triethylamine solution (pH was adjusted to 2.5 with phosphoric acid) - acetonitrile with gradient elution, the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 276 nm for liquiritin, 284 nm for hesperidin and 252 nm for ammonium glycyrrhizinate, the injection volume was 10 μL, and the column temperature 30 °C. **Results** The linear ranges of liquiritin, hesperidin and ammonium glycyrrhizinate were 0.083 0 - 1.038 1 μg ($r=0.999\ 5$), 0.098 7 - 1.233 7 μg ($r=0.999\ 4$), 0.216 5 - 2.706 3 μg ($r=0.999\ 7$), respectively. The relative correction factors of liquiritin, ammonium glycyrrhizinate with hesperidin were 1.081 3 and 0.449 5, respectively. The average recoveries of liquiritin and glycyrrhizic acid were 99.62% ($RSD=0.87\%$, $n=6$) and 98.44% ($RSD=1.19\%$, $n=6$), respectively. **Conclusion** The method is economical, rapid, practical, accurate and reproducible, which can be used for the content determination of liquiritin and glycyrrhizic acid in *Glycyrrhiza uralensis*.

Key words: replacement method of chemical reference substance; internal addition method; relative correction factor; HPLC; *Glycyrrhiza uralensis*; content determination; liquiritin; glycyrrhizic acid

第一作者: 田涛, 男, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为药学与仓储管理, (电子信箱) 2289504403@qq.com。

Δ通信作者: 余敏灵, 男, 大学本科, 主任药师, 研究方向为药物分析, (电子信箱) 89729204@qq.com。

- 活性研究[J]. 贵州师范学院学报, 2016, 32(12): 59-63.
- [9] 杨树青, 周好乐, 温爱平, 等. 山苦英总黄酮正交提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 内蒙古医科大学学报, 2019, 41(3): 246-248.
- [10] LI SY, WANG QH, BAO B, et al. Structure Elucidation and NMR Assignments of a New Triterpenoid From *Ixeris Chinensis*[J]. Nat Prod Res, 2017, 31(13): 1551-1554.
- [11] 张 垠, 童志平, 薛鹏禧, 等. 藏药山苦英化学成分研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(29): 16222.
- [12] 梁 爽, 卢森华, 吴秀彩, 等. 中华小苦英化学成分的研究[J]. 中成药, 2019, 41(9): 2126-2130.
- [13] 陈英红, 姜翔之, 罗浩铭, 等. 抱茎苦蕒菜指纹图谱研究[J]. 中国药师, 2011, 14(12): 1711-1713.
- [14] 马 临, 洪心洁, 唐灵芝, 等. 清眩丸 UPLC 指纹图谱研究及化学模式识别[J]. 中药材, 2021, 44(1): 126-130.
- [15] 张 良, 罗 沙, 况 玉, 等. 基于 HPLC 与化学计量学方法的防风标准汤剂质量研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(9): 3082-3088.
- [16] 刘海霞, 裴香萍, 杜晨晖, 等. UHPLC-Q Exactive 轨道阱高分辨质谱分析中华苦蕒菜与苣荬菜中主要化学成分[J]. 中草药, 2018, 49(7): 1543-1547.

(收稿日期: 2020-07-08; 修回日期: 2021-01-27)

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhizaglabra* L. 的干燥根和根茎, 收载于 2015 年版《中国药典(一部)》, 具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳等功效^[1-3]。采用以甘草酸铵、甘草苷为对照品的外标法测定甘草酸和甘草苷含量^[4], 存在对照品价格昂贵、易吸潮等缺陷^[5]。替代对照品法是解决该问题的主要方法^[6-13]。本研究中采用替代对照品内加入法, 以橙皮苷、甘草苷、甘草酸铵色谱峰保留时间和紫外光谱特征相结合的定性方法, 将对照品色谱峰提取的紫外光谱图所建立的纯度检查图库应用于色谱峰的定性中, 通过甘草苷和甘草酸铵相对橙皮苷的相对校正因子(f)计算甘草中甘草苷和甘草酸的含量, 并对 3 批样品的测定结果与法定标准测定数据进行比较。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), 配有二极管阵列检测器和 OpenLAB CDS 工作站; PE-A10 型高效液相色谱仪(珀金埃尔默公司), 配有二极管阵列检测器; Ultimate 3000 型高效液相色谱仪(赛默飞世尔公司), 配有二极管阵列检测器; XSE205 Dual-Range 型电子天平(梅特勒-托利多公司, 精度为 0.01 mg); ULUP-II-10T 型优普系列超纯水器(成都超纯科技有限公司); CQ-100B 型超声仪(上海跃进医用光学器械厂, 功率为 200 W, 频率为 40 kHz)。

1.2 试剂

甘草苷对照品(批号为 111610-201607, 含量为 93.1%), 甘草酸铵对照品(批号为 110731-201720, 含量为 97.7%), 橙皮苷对照品(批号为 110721-201818, 含量为 96.2%), 均购于中国食品药品检定研究院; 甘草酸单铵盐 A 原料药(北京凯因科技股份有限公司, 批号为 1707003, 含量为 67.2%); 甘草(乐山市康发药业有限公司, 批号分别为 180913311, 190613311, 180721311); 乙腈为色谱纯, 磷酸、甲醇、三乙胺等均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Welch Ultimate LP-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.1% 三乙胺溶液(用磷酸调节 pH 至 2.5, B), 梯度洗脱(程序见表 1); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 276 nm(甘草苷), 284 nm(橙皮苷), 252 nm(甘草酸铵); 进样量: 10 μL; 柱温: 30℃。

2.2 溶液制备

混合对照品溶液: 取甘草苷对照品 17.84 mg, 精密称定, 置 100 mL 容量瓶中, 用 80% 甲醇溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为甘草苷对照品贮备液; 取橙皮苷对

表 1 流动相梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution procedure of mobile phase

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)	时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~8	19	81	36~40	100→19	0→81
8~35	19→50	81→50	40~42	19	81
35~36	50→100	50→0			

照品 64.12 mg, 精密称定, 置 250 mL 容量瓶中, 加甲醇适量溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为橙皮苷对照品贮备液; 取甘草酸铵对照品 11.08 mg, 精密称定, 置 10 mL 容量瓶中, 用 80% 甲醇溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为甘草酸铵对照品贮备液。分别精密量取甘草苷对照品贮备液 2.5 mL, 橙皮苷对照品贮备液 2 mL, 甘草酸铵对照品贮备液 1 mL, 置同一 10 mL 容量瓶中, 加 80% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得。

供试品溶液: 取甘草(批号为 180913311)粉碎, 过 3 号筛, 取细粉 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加 80% 甲醇溶液适量, 超声处理(功率为 250 W, 频率为 40 kHz)30 min, 放冷, 加 80% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得。

橙皮苷-样品混合液: 另取上述细粉 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加 80% 甲醇溶液适量, 超声处理(功率为 250 W, 频率为 40 kHz)30 min, 放冷, 精密加入橙皮苷对照品贮备液 10 mL, 用 80% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得。

空白溶剂: 80% 甲醇溶液。

2.3 测定波长选择

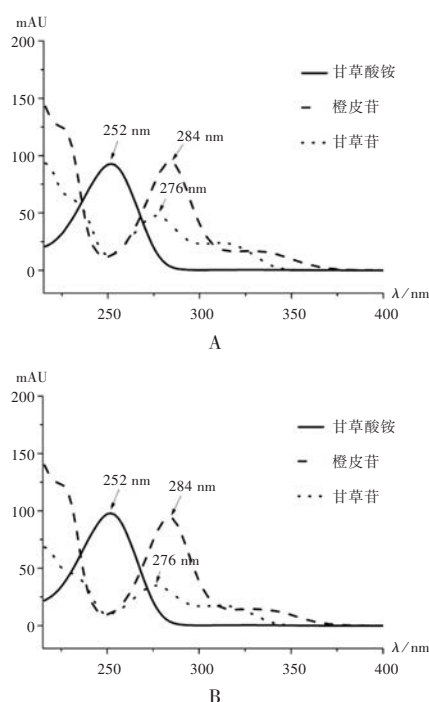
在混合对照品溶液提取的甘草苷、橙皮苷、甘草酸铵紫外光谱图中, 甘草苷、橙皮苷、甘草酸铵分别在 276, 284, 252 nm 波长处有最大吸收, 光谱图见图 1。故选择测定波长为 276 nm(甘草苷)、284 nm(橙皮苷)、252 nm(甘草酸铵)。

2.4 f 耐受性考察

取 2.2 项下混合对照品溶液适量, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 考察耐受性^[14-15]。分别在使用 3 台不同型号液相色谱仪(Agilent 1260 型、PE-A10 型、Ultimate 3000 型), 测定波长(248/272/280, 250/274/282, 252/276/284, 254/278/286, 256/280/288 nm), 柱温(28.0, 29.0, 30.0, 31.0, 32.0℃), 流动相 pH 值(2.3, 2.5, 2.7, 2.9), 流速(0.900, 0.950, 1.000, 1.050, 1.100 mL/min)条件下测定, 计算 f 。结果见表 2。

2.4 f 测定

分别取 2.2 项下混合对照品溶液 2, 5, 10, 15, 20, 25 μL, 按 2.1 项下色谱条件测定, 记录色谱图。以峰面积(Y)为纵坐标, 以进样量($X, \mu\text{g}$)为横坐标进行线性回归(校正截距为 0)。回归方程分别为 $Y_{\text{甘草苷}} = 1929.1908 X_{\text{甘草苷}}$



A. 混合对照品溶液 B. 橙皮苷-样品混合溶液

图1 紫外光谱图

A. Mixed reference solution B. Hesperidin-sample mixed solution

Fig.1 Ultraviolet spectrogram

表2 相对校正因子耐受性考察结果

Tab.2 Results of tolerance test of relative correction factors

序号	影响因素	f_A 值	$RSD(\%)$	f_B 值	$RSD(\%)$
1	不同液相色谱仪	1.0813	0.27	0.4495	0.23
2	测定波长	1.0811	0.58	0.4490	0.86
3	柱温	1.0815	0.52	0.4522	0.52
4	流动相 pH 值	1.0772	0.49	0.4481	0.74
5	流速	1.0818	1.12	0.4504	1.21

注: f_A 和 f_B 分别为甘草苷、甘草酸铵与橙皮苷在不同考察条件下测得的相对校正因子的平均值。

Note: f_A and f_B are the average relative correction factors of liquiritin, ammonium glycyrrhizinate and hesperidin under different conditions.

($r=0.9995$)、 $Y_{\text{橙皮苷}}=1783.1814X_{\text{橙皮苷}}$ ($r=0.9994$)、 $Y_{\text{甘草酸铵}}=802.7713X_{\text{甘草酸铵}}$ ($r=0.9997$)。结果表明,甘草苷、橙皮苷和甘草酸铵进样量分别在 $0.0830 \sim 1.0381 \mu\text{g}$ 、 $0.0987 \sim 1.2337 \mu\text{g}$ 、 $0.2165 \sim 2.7063 \mu\text{g}$ 范围内与峰面积线性关系良好。以甘草苷和甘草酸铵回归曲线斜率与橙皮苷回归曲线斜率的比值分别计算 f ,以 2.4 项下 3 台液相色谱仪所测平均值为最终 f ,结果甘草苷、甘草酸铵与橙皮苷在不同考察条件下测得的 f 的平均值分别为 1.0813 和 0.4495, RSD 分别为 0.27% 和 0.23% ($n=3$)。

2.6 紫外光谱稳定性和相对保留时间考察

取 2.2 项下混合对照品溶液和橙皮苷-样品混合溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,除测定波长外,按 2.4

项下条件测定,记录色谱图。比较混合对照品溶液和橙皮苷-样品混合溶液各组分在不同条件下色谱峰相对保留时间的平均值和相对标准偏差、提取紫外光谱图中吸收曲线的最大吸收波长及各组分对照品建立的紫外图库比较的匹配因子平均值,结果见表 3。可见,不同测定条件下相对保留时间变化的 RSD 均未超过规定值 2.0%,在各测定条件下,甘草苷(276 nm)/橙皮苷(284 nm)/甘草酸铵(252 nm)最大吸收波长均无变化($\leq \pm 2 \text{ nm}$),匹配因子均大于 999.96/1000。

表3 紫外光谱稳定性和相对保留时间耐受性考察结果

Tab.3 Results of UV spectrum stability test and relative retention

time tolerance test					
影响因素	匹配因子	最大吸收波长(甘草苷/橙皮苷/甘草酸铵, nm)	相对保留时间(甘草苷/甘草酸铵, min)	$RSD(\text{甘草苷/甘草酸铵}, \%)$	
不同液相	A 999.98/1000	276/284/252	1.3350/0.5410	0.93/0.72	
色谱仪	B 999.98/1000	276/284/252	1.3361/0.5398	0.76/0.53	
柱温	A 999.97/1000	276/284/252	1.3403/0.5412	0.81/0.73	
	B 999.98/1000	276/284/252	1.3231/0.5356	0.93/0.72	
流动相	A 999.96/1000	276/284/252	1.3379/0.5409	0.89/0.95	
pH 值	B 999.96/1000	276/284/252	1.3407/0.5422	0.73/0.77	
流速	A 999.97/1000	276/284/252	1.3175/0.5397	0.56/0.36	
	B 999.98/1000	276/284/252	1.3298/0.5360	0.99/1.21	

注: A 为混合对照品溶液, B 为橙皮苷-样品混合溶液。

Note: A is the mixed reference solution, B is the hesperidin-sample mixed solution.

2.7 方法学考察

专属性试验:分别取 2.2 项下混合对照品溶液、供试品溶液、橙皮苷-样品混合溶液、空白溶剂,按 2.1 项下色谱条件测定,色谱图见图 2。结果橙皮苷-样品混合溶液色谱图中,有与混合对照品溶液色谱图中甘草苷、橙皮苷和甘草酸铵相应的色谱峰,各组分色谱峰与其相邻的色谱峰分离度均大于 1.5;供试品溶液色谱图中,有与混合对照品溶液色谱图中甘草苷和甘草酸铵相应的色谱峰,且样品溶液色谱图中,在与橙皮苷-样品混合溶液色谱图橙皮苷色谱峰相应位置上无色谱峰。以混合对照品溶液色谱图中橙皮苷、甘草苷、甘草酸铵的色谱峰提取紫外图谱建立其相应的纯度检查图库,并与橙皮苷-样品混合溶液色谱图中各成分色谱峰紫外图谱比较,橙皮苷色谱峰匹配因子为 999.954/1000,甘草苷色谱峰匹配因子为 999.917/1000,甘草酸铵匹配因子为 999.936/1000。橙皮苷色谱峰与甘草苷和甘草酸铵色谱峰保留时间的比值分别为 1.3350 和 0.5410。由图 2 C 可知,混合对照品溶液色谱图中,甘草苷、橙皮苷、甘草酸铵出峰时间分别为 13.213, 17.639, 32.602 min;混合对照品溶液和橙皮苷-样品混合溶液色谱图中,橙皮苷、甘草苷、甘草酸铵色谱峰紫外光谱图分别于 284,

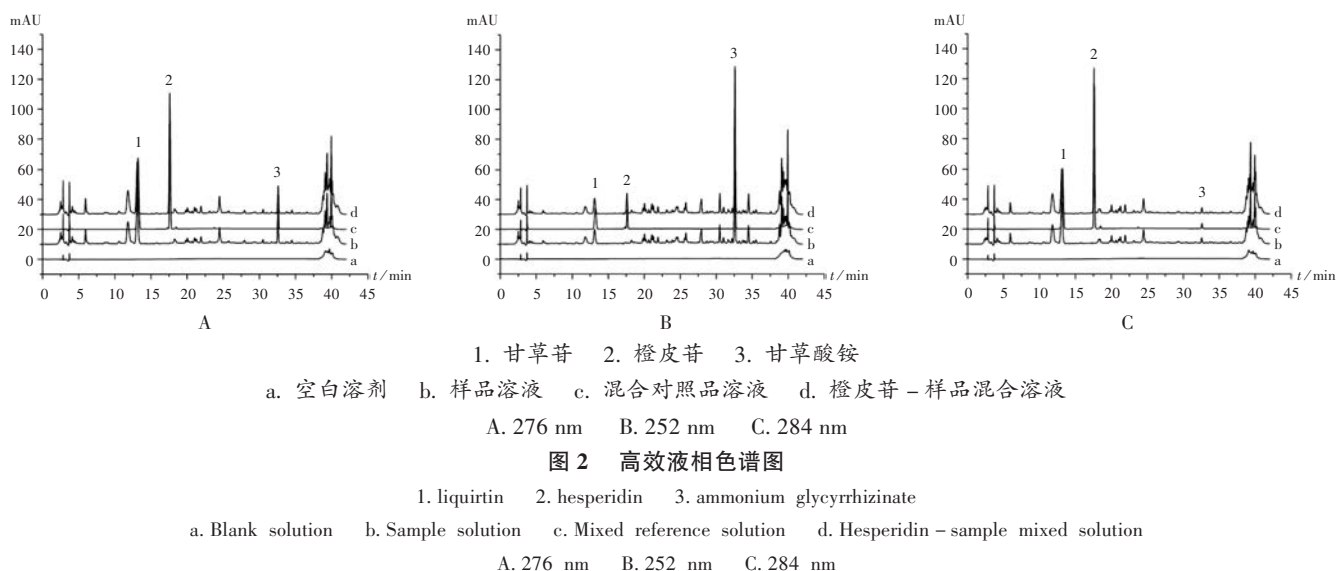


图2 高效液相色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms

276, 252 nm 波长处有最大吸收。

精密度试验:取 2.2 项下混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件重复进样 6 次,记录色谱图。结果甘草苷、橙皮苷、甘草酸铵的 RSD 分别为 0.22%, 0.18%, 0.23% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取 2.2 项下甘草细粉 0.2 g,精密称定,共 6 份,依法制备橙皮苷-样品混合溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果橙皮苷平均峰面积为 881.4,甘草苷和甘草酸铵的平均峰面积(以称样量为 0.2 g 计算)分别为 562.4 和 817.5, RSD 分别为 0.65% 和 0.72% ($n=6$),表明方法重复性好。

稳定性试验:取 2.2 项下橙皮苷-样品混合溶液,分别于室温放置 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 时,按 2.1 项下色谱条件进样测定。结果甘草苷、橙皮苷和甘草酸铵色谱峰峰面积变化不大, RSD 分别为 0.28%, 0.37%, 0.31% ($n=7$),表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定。

检测限与定量限确定:取 2.2 项下混合对照品溶液 1 mL,置 25 mL 容量瓶中,加 80% 甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,记录色谱图。结果甘草苷(276 nm)、甘草酸铵(252 nm)的信噪比(S/N)分别为 30.4 和 77.6。分别以 S/N 的 3 倍和 10 倍计算检测限和定量限,结果甘草苷(276 nm)的检测限与定量限(以进样量计)分别为 1.64 ng 和 5.46 ng,甘草酸铵(252 nm)的检测限与定量限(以进样量计)分别为 1.67 ng 和 5.58 ng。

加样回收试验:取甘草酸单铵盐 A 原料药 334.82 mg,精密称定,置 100 mL 容量瓶中,用 80% 甲醇溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,作为甘草酸铵原料药贮备液;取 2.2 项下甘草细粉(每 1 g 样品中含甘草苷 7.296 1 mg,甘草酸 24.914 1 mg)0.1 g,精密称定,置 50 mL 容量瓶

中,精密加入甘草苷对照品贮备液 4 mL,甘草酸铵原料药贮备液 1 mL,橙皮苷对照品贮备液 10 mL,按 2.2 项下方法制备橙皮苷-样品混合溶液,平行 6 份,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱图。按 $C_m = (A_m \times C_s) / (f \times A_s)$ 计算含量。式中, C_m 为供试品溶液中甘草苷或甘草酸铵的进样量(μg), A_m 为供试品溶液中甘草苷或甘草酸铵的峰面积, C_s 与 A_s 分别为供试品溶液中橙皮苷的进样量(μg)与峰面积。甘草酸含量 = 测得的甘草酸铵含量 $\times 0.9797$ 。结果见表 4。

2.8 样品含量测定

取甘草,粉碎,过 3 号筛,取细粉 0.2 g,精密称定,置 50 mL 容量瓶中,依法制备橙皮苷-样品混合溶液和供试品溶液,取橙皮苷-样品混合溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱图。按加样回收试验项下方法计算被测定样品中甘草苷和甘草酸铵进样量,以进样量计算每 1 g 样品中甘草苷和甘草酸含量,并将测定结果与法定检验方法测定结果比较。结果见表 5。

3 讨论

替代对照品内加入法是将替代对照品定量加入被测定溶液中作为供试品溶液,并按规定色谱条件进样分析,以色谱图中替代对照品峰面积和被测定成分峰面积,通过替代对照品与被测定成分的 f 计算被测定成分含量的方法。使用替代对照品内加入法测定样品,应对未加入替代对照品的样品溶液进行分析,在替代对照品所选定的检测波长的色谱图中,与替代对照品保留时间一致的位置上不应有其他干扰峰。



表4 替代对照品法加样回收试验结果($n=6$)

Tab. 4 Results of the recovery test by the replacement method of chemical reference substance($n=6$)

取样量(g)		样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}(\%)$		RSD(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.102 4	0.102 4	0.747 1	2.551 2	0.664 4	2.204 3	1.402 4	4.740 2	98.63	99.31				
0.110 2	0.110 2	0.804 0	2.745 5	0.664 4	2.204 3	1.465 6	4.935 8	99.58	99.36				
0.102 2	0.102 2	0.745 7	2.546 2	0.664 4	2.204 3	1.411 7	4.714 3	100.24	98.36	99.62	98.44	0.87	1.19
0.105 3	0.105 3	0.768 3	2.623 5	0.664 4	2.204 3	1.422 8	4.757 2	98.51	96.80				
0.104 7	0.104 7	0.763 9	2.608 5	0.664 4	2.204 3	1.430 6	4.802 1	100.35	99.51				
0.103 8	0.103 8	0.757 3	2.586 1	0.664 4	2.204 3	1.424 4	4.730 4	100.41	97.28				

注:A为甘草苷,B为甘草酸。

Note:A is liquiritin,B is glycyrrhizic acid.

表5 3批样品含量测定结果

Tab. 5 Content determination of liquiritin and glycyrrhizic acid in three batches of samples

成分	180913311(A/B)		190613311(A/B)		180721311(A/B)	
	含量	相对偏差	含量	相对偏差	含量	相对偏差
	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)
甘草苷	7.296 1/7.181 8	0.79	7.044 1/6.928 3	0.83	6.832 4/6.858 4	0.19
甘草酸	24.914 1/24.819 3	0.19	25.102 4/24.829 2	0.55	23.821 5/23.873 2	0.11

注:A为法定标准方法,B为替代对照品法。

Note: A is the statutory standard method, B is the replacement method of chemical reference substance.

本试验中,色谱柱的改变对相对保留时间有较大影响,建议实验室采用 Welch Ultimate LP-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);定性色谱峰时,参照国家药品监督管理局标准 YBH06492018 有关物质项下相对保留时间确定方法,建议相对保留时间的数值保留一位有效数字,通过与对照品色谱峰所建立的紫外纯度检测图库比较,并按匹配因子和紫外特征吸收进行定性,由于在 OpenLAB CDS 工作站建立的图库文件只能应用于其他 Agilent 高效液相色谱仪,二极管阵列检测器和系列 OpenLAB CDS 工作站(安捷伦公司),故采用该法作为色谱峰定性使用有较大局限性,在其他操作系统应用时还需建立其他操作系统的相关图库。

替代对照品内加入法中,不再单独制备和测定对照品溶液,简化了操作过程。该方法同时测定对照品和样品,与外标法相比,结果更准确,测定时间更短,相对保留时间更稳定。但由于替代对照品是加入供试品溶液,试验时要确认样品溶液色谱图在替代对照品色谱峰的位置是否有其他物质色谱峰的干扰,以排除干扰,可采用供试品溶液色谱图和样品加替代对照品溶液色谱图比较或色谱峰纯度检查。

参考文献

[1] 陆宝华,陈翔.黄药子配伍甘草对胃癌细胞增殖及侵袭的

影响[J].中国药业,2020,29(7):68-70.

- [2] 陈千,熊富良,张雪琼,等.甘草苷对感染后咳嗽(肺阴虚证)小鼠的止咳作用机制及抗氧化作用的研究[J].华中师范大学学报(自然科学版),2020,54(5):841-848.
- [3] 宁雪,杨振泳,王凤文,等.HPLC同时测定甘草及其炮制品中7种成分的含量[J].中药材,2020,43(9):2146-2150.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:中国医药科技出版社,2015:86-87.
- [5] 宫玺,谢子婷,李康.浊点萃取甘草中甘草苷的实验研究[J].海峡药学,2019,31(6):33-35.
- [6] 林宏琳,钟碧萍,林国斌.对照品替代法用于缓解视疲劳片叶黄素含量测定的研究[J].药物分析杂志,2014,34(5):934-938.
- [7] 张玮婕,李翠华,罗建光,等.替代对照品法同时测定前胡炮制品中主要香豆素成分[J].中国药科大学学报,2015,46(3):316-321.
- [8] 杨青军,王华,高延甲,等.替代对照品法在镇静安神类药物HPLC快速检验方法中的应用[J].中国现代应用药学,2015,32(11):1376-1381.
- [9] 于新兰,包蓉,蔡磊,等.基于多波长检测和替代对照品法用于通滞苏润江制剂的综合质量控制[J].中国药学杂志,2018,53(18):1594-1602.
- [10] 许佳,金红宇,孙磊.替代对照品法测定龙血竭原料中龙血素A和B的含量[J].药物分析杂志,2011,31(11):2058-2062.
- [11] 魏锋,程显隆,马玲云,等.药品标准中替代对照品研究技术要求探讨[J].中国药品标准,2012,13(1):12-15.
- [12] 孙磊,金红宇,马双成,等.中药标准物质替代测定法技术指导原则[J].中国药学杂志,2015,50(4):284-286.
- [13] 何昌雄.一测多评法测定参芪扶正注射液中苯丙素苷类和核苷类成分含量[J].中国药业,2020,29(19):52-57.
- [14] 田明,李伟,孙宏宇,等.高效液相色谱测定条件的耐用性试验研究[J].中医药学报,2010,38(3):77-80.
- [15] 商国举,尹文龙,蔡振华,等.药物分析中C₁₈色谱柱的差异与选择[J].药物评价研究,2015,38(3):341-344.

(收稿日期:2020-12-12)