

高效液相色谱法测定七味葡萄散中桂皮醛和甘草酸的含量

刘 刚¹, 谭生建¹, 谢雅君², 刘 琰³, 张 华¹, 姜 韧¹ (1. 解放军第 306 医院药学部, 北京 100101; 2. 南通大学医学院药学系, 江苏 南通 226000; 3. 安徽医科大学药理学系, 安徽 合肥 230601)

[摘要] 目的 建立高效液相色谱法同时测定七味葡萄散中桂皮醛和甘草酸的含量。方法 色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse SB2C₁₈ (4.6@150 mm, 5 Lm); 流动相为乙腈 25% 乙腈 (含 3% 冰醋酸) (27z 73); 流速为 1 ml/min; 检测波长为 250 nm。结果 桂皮醛和甘草酸保留时间分别约为 10.2 和 20.7 min, 与各自相邻峰的分度均大于 1.5。以峰面积对进样浓度 (Lg/ml) 线性回归, 桂皮醛回归方程为 $Y = 0.08305X - 1.205$, $r = 0.9999$, 线性范围 19.40~242.5 Lg/ml; 甘草酸回归方程为 $Y = 0.1420X + 1.340$, $r = 0.9999$, 线性范围 12.48~156.0 Lg/ml。桂皮醛和甘草酸的回收率分别为 100.2% 和 100.3%, RSD 分别为 1.3% 和 1.9%。**结论** 本方法操作简便, 测定结果准确, 重复性好, 可用于七味葡萄散中桂皮醛和甘草酸的含量测定。

[关键词] 高效液相色谱法; 七味葡萄散; 桂皮醛; 甘草酸

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)01-0014-03

Determination of cinnamaldehyde and glycyrrhizic acid in Qiwei Putao powder by HPLC

LIU Gang¹, TAN Shengjian¹, XIE Yajun², LIU Yan³, ZHANG Hua¹, JIANG Ren¹ (1. Department of Pharmacy Hospital 306 of PLA, Beijing 100101, China; 2. Department of Pharmacy Medical School of Nantong University, Nantong 226000, China; 3. Department of Pharmacy Anhui Medical University Hefei 230601, China)

[Abstract] Objective To establish an HPLC quantitative method for the determination of cinnamaldehyde and glycyrrhizic acid in Qiwei Putao powder simultaneously. Methods The chromatographic conditions include column C₁₈ (Agilent ZORBAX Eclipse SB2C₁₈, 4.6@150 mm, 5 Lm), acetonitrile 25% acetonitrile (include 3% glacial acetic acid) (27z 73) as mobile phase. The flow rate was 1 ml/min and monitored at 250 nm. Results The retention time of cinnamaldehyde and glycyrrhizic acid was about 10.2 min and 20.7 min respectively. The resolution was more than 1.5. The regression equation for cinnamaldehyde was $Y = 0.08305X - 1.205$, $r = 0.9999$, and the linear range was 19.40~242.5 Lg/ml. glycyrrhizic acid was $Y = 0.1420X + 1.340$, $r = 0.9999$ and the linear range was 12.48~156.0 Lg/ml. The average recovery of cinnamaldehyde and glycyrrhizic acid was 100.2% and 100.3%, RSD 1.3% and 1.9% respectively. Conclusion This method is simple, time-saving and accurate. It can be used for routine analysis of cinnamaldehyde and glycyrrhizic acid in Qiwei Putao powder.

[Key words] HPLC; Qiwei Putao powder; cinnamaldehyde; glycyrrhizic acid

七味葡萄散收载于中国药典 (2005年版一部), 由白葡萄干、肉桂、甘草、石膏、红花、香附、石榴加工制成, 具有清肺、止咳、定喘功能, 用于虚劳咳嗽, 年老气喘, 胸满郁闷。七味葡萄散中甘草酸的含量测定方法在药典中有收载, 也有文献报道^[1,2], 其他成分的含量测定方法未见报道。本文研究建立了高效液相色谱法同时测定七味葡萄散中桂皮醛和甘草酸含量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪 (Agilent 1200系列) 包括: G1311A 四元色谱泵, G1329A 自动进样器,

G1315B 二极管阵列检测器, G2170BA 色谱工作站, G1316A 柱温箱和 G1379B 在线脱气机。

1.2 试剂 桂皮醛对照品 (批号: 710-200011) 和甘草酸铵对照品 (批号: 110731-200203) 购自中国药品生物制品检定所。七味葡萄散由中国人民解放军第 306 医院制剂室生产 (批号: 090324, 090318, 090319)。乙腈 (FISHER, LOT NO: 063507), 水为纯化水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 试液制备

2.1.1 混合对照品溶液制备 分别取桂皮醛对照品和甘草酸铵对照品适量, 精密称定, 用流动相溶解并稀释制成每 1 ml 分别含桂皮醛 97.20 Lg 和甘草

酸(由甘草酸铵折算为甘草酸,下同) 119.0 Lg的混合对照品溶液,摇匀,即得。

2.1.2 供试品溶液制备 取本品约 1 g精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入流动相 50 ml精密称定,超声(500 W, 50 Hz下同) 30 min,放至室温,精密称定,补足缺失的溶剂,摇匀,用 0.45 μm滤膜滤过,即得。

2.1.3 阴性供试品溶液制备 按照七味葡萄散的处方和制法,分别制备不含肉桂和不含甘草的七味葡萄散,分别作为桂皮醛阴性和甘草酸阴性样品。分别取阴性样品适量(相当七味葡萄散约 1 g),精密称定,按供试品溶液制备方法制备,即得阴性供试品溶液。

2.2 色谱条件和专属性 色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(Agilent ZORBAX Eclipse SB2 C₁₈, 4.6 mm × 150 mm, 5 μm),柱温为 30 °C;流动相为乙腈 25%乙腈(含 3%冰醋酸)(27:73);流速为 1 ml/min;检测波长为 250 nm。在此色谱条件下,分别取混合对照品溶液,桂皮醛阴性供试品溶液,甘草酸阴性供试品溶液和七味葡萄散供试品溶液各 10 L注入液相色谱仪,记录色谱图,结果见图 1。

图 1显示,七味葡萄散中其他成分对桂皮醛和甘草酸的测定没有干扰。桂皮醛和甘草酸的保留时间分别约为 10.2和 20.7 min,桂皮醛和甘草酸与相邻峰的分度均大于 1.5,理论板数分别约为 13 500和 8 000。

2.3 线性关系 分别取桂皮醛和甘草酸铵对照品适量,精密称定,用流动相溶解并稀释制成每 1 ml含桂皮醛分别为 191.40、381.80、521.20、971.00、1941.0、2421.5 Lg含甘草酸分别为 121.48、241.96、371.44、621.40、1241.8、1561.0 Lg的混合对照品溶液,分别取 10 L进样,桂皮醛色谱峰面积分别为 2391.7、4781.8、7161.1、11931.1、23681.4和 29161.8,甘草酸色谱峰面积分别为 741.40、1701.5、2541.4、4321.4、8611.9和 10931.1,以进样浓度对峰面积线性回归,桂皮醛回归方程为 $Y = 0.08305x - 1.205$, $r = 0.9999$,甘草酸回归方程为 $Y = 0.1420x + 1.340$, $r = 0.9999$,显示桂皮醛和甘草酸分别在 191.40~2421.5 Lg/ml和 121.48~1561.0 Lg/ml范围内与峰面积呈良好的线性关系。

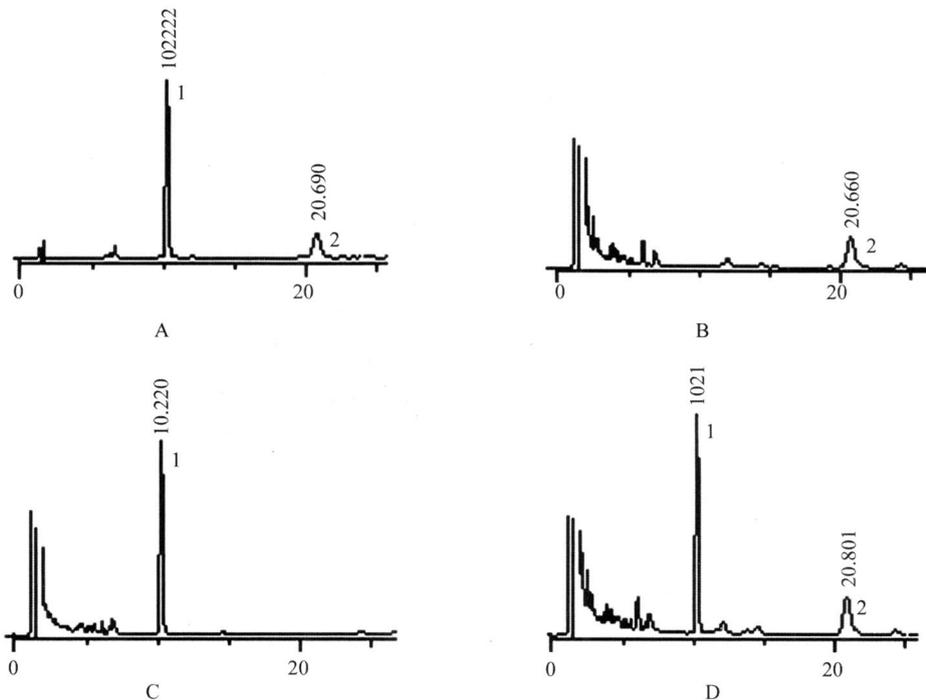


图 1 对照品和样品色谱图

A:混合对照品溶液; B:桂皮阴性溶液; C:甘草阴性溶液; D:七味葡萄散溶液; 1:桂皮醛 2:甘草酸

2.4 定量限 取对照品溶液稀释至峰高约为基线噪音的 10倍,测得桂皮醛定量限约为 0.2 Lg/ml,甘草酸定量限约为 0.5 Lg/ml。

2.5 重复性

2.5.1 对照品溶液连续进样重复性 取桂皮醛(971.20 Lg/ml)和甘草酸(119.0 Lg/ml)的混合对照

品溶液 10 L进样,连续进样 5次,桂皮醛色谱峰面积分别为 1144.8、1142.1、1146.4、1143.3和 1147.5, RSD为 0.19%;甘草酸色谱峰面积分别为 846.9、851.4、844.9、844.3和 847.0, RSD为 0.13%。

2.5.2 样品测定重复性 取同一批样品重复制备 6个七味葡萄散供试品溶液,按样品测定项下方法

测定, 桂皮醛含量分别是 3.288、3.269、3.267、3.1246、3.264和 3.262 mg/g RSD为 0.42%; 甘草酸含量分别是, 3.371、3.422、3.413、3.389、3.523和 3.1449 mg/g RSD为 1.0%。

2.6 供试品溶液稳定性 配制供试品溶液, 置自动进样器中, 8 h内重复进样测定 9次, 桂皮醛、甘草酸和峰面积的 RSD分别为 0.87%和 1.2%, 显示供试品溶液在 8 h内稳定。

2.7 加样回收率 取已测得含量的七味葡萄散(批号 090324 每 1 g含桂皮醛 3.266 mg 含甘草酸

3.428 mg)适量, 精密称定, 置 50 mL量瓶中, 精密加入每 1 mL含桂皮醛 146.8 μg的对照品溶液 10 mL, 精密加入每 1 mL含甘草酸 173.6 μg的对照品溶液 10 mL, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 超声 30 min, 放至室温, 作为加样回收样品。同法制备 6份加样回收样品, 按照样品测定项下方法测定含量, 计算回收率, 结果见表 1和表 2。

2.8 含量测定 按照以上方法测定了 3批样品中桂皮醛和甘草酸的含量并将甘草酸含量测定结果与药典法进行了比较, 结果见表 3。

表 1 桂皮醛加样回收率试验结果

供试品取样量 (g)	供试品含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.4234	1.383	1.468	2.875	101.7		
0.4219	1.378	1.468	2.863	101.2		
0.4233	1.382	1.468	2.874	101.6		
0.4112	1.343	1.468	2.800	99.2	100.2	1.5
0.4179	1.365	1.468	2.802	97.9		
0.4116	1.344	1.468	2.804	99.4		

表 2 甘草酸加样回收率试验结果

供试品取样量 (g)	供试品含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.4234	1.451	1.736	3.208	101.2		
0.4219	1.446	1.736	3.226	102.5		
0.4233	1.451	1.736	3.214	101.6		
0.4112	1.410	1.736	3.103	97.6	100.5	1.9
0.4179	1.433	1.736	3.190	101.2		
0.4116	1.411	1.736	3.124	98.7		

表 3 药典法和本法含量测定结果

样品批号	甘草酸含量 (mg/g)		相对平均偏差%	桂皮醛含量 (mg/g)
	本法	药典法		
090324	3.428	3.465	0.54	3.266
090318	3.078	3.123	0.73	3.146
090319	3.100	3.120	0.32	3.099

注: 本法与药典法测定甘草酸含量结果的相对平均偏差。

表 3结果显示, 用药典法和本法分别测定七味葡萄散中甘草酸含量的结果一致。

3 讨论

3.1 桂皮醛的最大吸收在 285 nm附近, 在 220~320 nm 波长之间均有吸收, 在 250 nm 处吸收比较平滑。甘草酸在 250 nm 波长处有最大吸收, 为了兼顾桂皮醛和甘草酸的同时测定, 本方法在 250 nm 波长下测定, 桂皮醛的灵敏度也可以满足准确测定的要求。

3.2 以流动相为溶剂, 考察了超声 25、30、40和 50 min 的提取效果, 显示超声 30 min 即可提取完全。

3.3 七味葡萄散生产工艺中有烘干步骤, 试验显示在 100℃、1 h 烘干后, 桂皮醛含量下降约 50%。某些蒙药散剂的生产工艺也存在类似有效成分烘干损失的问题, 应进行生产工艺改进。

3.4 本法操作简便, 结果准确, 可用于七味葡萄散中桂皮醛和甘草酸的含量测定。

参考文献 >

[1] 中国药典, 2005年版一部 [S]. 2005: 3051
 [2] 金花, 乌云. RP2-HPLC测定七味葡萄散中的甘草酸的含量 [J]. 中国药学杂志, 2006, 6: 5181

[收稿日期] 2009204213

[修回日期] 2009210220