

# 咽立爽口含滴丸中甘草酸单铵盐的质量标准

冯华<sup>1</sup>, 聂明华<sup>1</sup>, 罗秀琼<sup>1</sup>, 茅向军<sup>2\*</sup>, 史蕙<sup>2</sup>

(1. 遵义市食品药品检验所, 贵州 遵义 563002; 2. 贵州省食品药品检验所, 贵阳 550004)

**[摘要]** 目的: 建立咽立爽口含滴丸的鉴别与含量测定方法。方法: 采用 TLC 对甘草酸单铵盐进行定性鉴别; 采用 HPLC 以羟基苯甲酸丁酯为内标物测定甘草酸单铵盐含量, 流动相乙腈-0.01 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸溶液 (38:62), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 250 nm, 柱温 25 °C。结果: 该方法专属性好、准确, 甘草酸单铵盐在 0.212~3.71 mg 具有良好线性关系 ( $r=0.9999$ ), 平均回收率为 101.07%。结论: 该法简便, 快速, 准确, 可用于产品的质量控制。

**[关键词]** 咽立爽口含滴丸; 薄层色谱; 高效液相色谱; 质量控制; 对羟基苯甲酸丁酯; 甘草酸单铵盐

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)09-0083-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014090083

## Quality Standard of Glycyrrhizic Acid Ammonium Salt in Yanlishuang Kouhan Diwan

FENG Hua<sup>1</sup>, NIE Ming-hua<sup>1</sup>, LUO Xiu-qiong<sup>1</sup>, MAO Xiang-jun<sup>2\*</sup>, SHI Hui<sup>2</sup>

(1. Zunyi Institute for Food and Drug Control, Zunyi 563002, China;

2. Gunzhou Provincial Institute for Food and Drug Control, Guiyang 550004, China)

**[Abstract]** **Objective:** The identification and determination method were established for Yanlishuang Kouhan Diwan. **Method:** The TLC method was used for identifying Glycyrrhizic acid ammonium salt; The HPLC method was used for determination of Glycyrrhizic acid ammonium salt in yanlishuang Kouhan Diwan, Butyl paraben as internal standard. Diamonsil C<sub>18</sub> column was adopted. The mobile phase was Acetonitrile-0.01 mol·L<sup>-1</sup> phosphoric acid (38:62) at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was 250 nm and column temperature was 25 °C. **Result:** This method is specific and accurate to Glycyrrhizic acid ammonium salt in Yanlishuang Kouhan Diwan. The linear range of Glycyrrhizic acid ammonium salt within 0.212 - 3.71 mg ( $r = 0.9999$ ), The average recovery was 101.07%. **Conclusion:** The method is convenient, sensitive and accurate, which could be used for quality control of the drug.

**[Key words]** Yanlishuang Kouhan Diwan; TLC; HPLC; quality control of the drug; butyl paraben; glycyrrhizic acid ammonium salt

**[收稿日期]** 20131029(007)

**[基金项目]** 国家药典委员会药品标准提高研究课题任务项目 2011(542号); 贵州省中药现代化研究专项(黔科合中药字[2012]5030号); 贵阳市现代药业计划项目([2012204]1号)

**[第一作者]** 冯华, 硕士, 主管中药师, 从事药品检验及新药研究, Tel: 0852-8928059, 15085016387, E-mail: fenghua781014@163.com

**[通讯作者]** \*茅向军, 博士, 主任药师, 从事药物研究, Tel: 13368610577, E-mail: 1074459931@qq.com

咽立爽口含滴丸是由艾片、艾纳香油、薄荷素油、薄荷脑、甘草酸单铵盐等五味药组成的中药成方制剂<sup>[1-2]</sup>。苗医: 具有宋宫证, 拾凯拾蒙; 中医: 具有疏风散热, 消肿止痛, 清利咽喉功效。用于急性咽炎, 慢性咽炎急性发作, 咽痛, 咽黏膜红肿, 咽干, 口臭等症。咽立爽口含滴丸原标准只对艾片和龙脑进行定性鉴别; 龙脑和薄荷脑进行含量测定<sup>[2-3]</sup>。查阅文献资料<sup>[8-10]</sup>, 对甘草酸单铵盐采用 HPLC 含量测定有报道, 都是采用外标法进行含量测定, 采用内标法对甘草酸单铵盐含量测定没有报道。内标法中

找到内标物很关键,本试验以对羟基苯甲酸丁酯为内标物,与甘草酸单铵盐峰完全达到分离,峰形很好,因此选择对羟基苯甲酸丁酯为内标物。笔者增加了薄层法对甘草酸单铵盐进行定性鉴别,采用高效液相色谱法对甘草酸单铵盐进行含量测定,为进一步评价和控制咽立爽口含滴丸的质量提供科学依据。

## 1 材料

Agilent LC-1260 型高效液相色谱仪(包括四元泵,配备 DAD 全波长检测器,自动进样器,Agilent LC-1260 工作站);AB204-S 型梅特勒电子天平,KQ-500DV 型数控超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司),甘草酸单铵盐对照品(中国食品药品检定研究院,批号 731-9403),硅胶 G(购于青岛海洋化工有限公司),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,Filter Unit 滤膜(0.45 μm);咽立爽口含滴丸(贵州立爽药业有限公司提供滴丸剂,批号为 20110927,20111209,20111225),阴性样品自制。

## 2 方法与结果

**2.1 TLC 鉴别** 取本品 8 丸,研细,置具塞试管中,加水 10 mL,振摇溶解,用正丁醇振摇提取 2 次,每次 15 mL,合并正丁醇液,水浴蒸干,残渣用 50% 甲醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取甘草酸单铵盐对照品,加 50% 甲醇溶液制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述两种溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,105 °C 加热至斑点显色清晰,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。置紫外光灯(365 nm)下检视,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。结果表明,分离度好,斑点显色清晰,阴性无干扰。

### 2.2 甘草酸单铵盐的含量测定

**2.2.1 色谱条件** Diamonsil C<sub>18</sub>(5.0 mm × 200 mm, 5 μm),对羟基苯甲酸丁酯为内标物,流动相乙腈-0.01 mol·L<sup>-1</sup>磷酸溶液(38:62);检测波长 250 nm,柱温 25 °C,流速 1.0 mol·L<sup>-1</sup>,进样量 10 μL。理论板数以甘草酸单铵盐峰计算不低于 2 500,其他成分对样品中甘草酸单铵盐的含量测定无干扰。

#### 2.2.2 溶液的配制

**2.2.2.1 内标物溶液的制备** 精密称取对羟基苯甲酸丁酯 22.40 mg 置 100 mL 量瓶中,加稀乙醇溶

解至刻度,即得内标物溶液。

**2.2.2.2 对照品溶液的制备** 取甘草酸单铵盐对照品约 10 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加稀乙醇溶解,并精密加入内标溶液 10 mL,用稀乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

**2.2.2.3 供试品溶液的制备** 取本品适量,研细,取约 0.12 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加稀乙醇适量振摇使溶解,并精密加入内标溶液 5 mL,用稀乙醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得

**2.2.2.4 阴性对照溶液制备** 取阴性对照样品,按照 2.2.2.3 项下供试品溶液制备方法制备,作为阴性对照品溶液。

**2.3 阴性干扰试验** 取对照品溶液、内标溶液、阴性对照溶液和供试品溶液各 10 μL 注入高效液相色谱仪中,供试品溶液色谱图中甘草酸单铵盐保留时间与对照品的保留时间吻合,而阴性对照溶液在此保留时间处没有峰,表明对咽立爽口含滴丸的含量测定无干扰。见图 1。

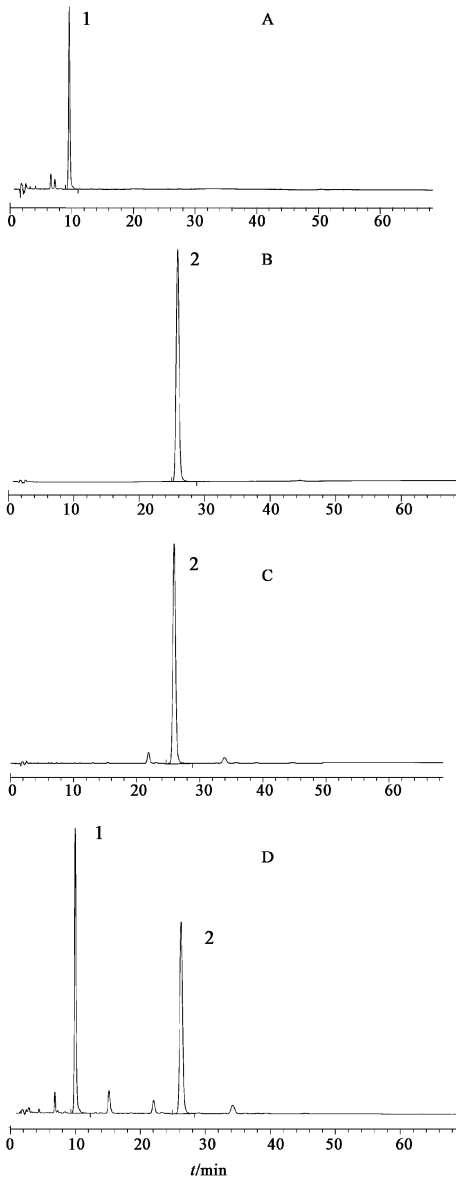
**2.4 线性关系考察** 精密称取甘草酸单铵盐对照品 13.60 mg,置 25 mL 量瓶中,加稀乙醇溶解至刻度,得对照品储备溶液(0.530 g·L<sup>-1</sup>)。精密吸取不同体积对照品储备溶液加同体积内标溶液配制对照品溶液(浓度分别为 0.021 2, 0.106, 0.212, 0.318, 0.371 g·L<sup>-1</sup>),分别精密吸取上述对照品溶液 10 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。以甘草酸单铵盐量 X(mg)为横坐标,峰面积比 Y 为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程  $Y = 0.1475X - 0.0048$  ( $r = 0.9999$ ),甘草酸单铵盐在 0.212 ~ 3.71 mg 呈良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 精密吸取甘草酸单铵盐对照品溶液(0.530 g·L<sup>-1</sup>)4 mL 置 10 mL 量瓶中,加内标物溶液 2 mL,加稀乙醇至刻度,即得(浓度为 0.212 g·L<sup>-1</sup>),进样 10 μL,重复进样 6 次,测定  $A_{\text{内峰面积}}/A_{\text{对峰面积}}$  平均为 1.48, RSD 0.53%,表明仪器精密度良好。

**2.6 重复性试验** 取同一批咽立爽口含滴丸样品 6 份,按 2.2.2.3 项下方法制备供试品溶液,测得甘草酸单铵盐平均质量分数为 51.45 mg·g<sup>-1</sup>,表明该方法重复性良好。

**2.7 稳定性试验** 取同一份供试品溶液,分别于 0, 4, 8, 12, 16, 24 h 进样测定,  $A_{\text{内峰面积}}/A_{\text{对峰面积}}$  RSD 1.21%,结果表明样品溶液在 24 h 内稳定。

**2.8 回收试验** 精密称取 6 份已测定含量的样品约 0.06 g(批号 20110927,咽立爽口含滴丸中甘草酸单



1. 甘草酸单铵盐; 2. 对羟基苯甲酸丁酯;  
A. 对照品; B. 内标物; C. 阴性样品; D. 供试品

图1 咽立爽口含清丸 HPLC

铵盐含量为  $51.46 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ), 置 25 mL 量瓶中, 精密加入甘草酸单铵盐对照品溶液(浓度为  $3.80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 1 mL, 精密加入 5 mL 内标物溶液, 用稀乙醇溶解至刻度, 即得供试品溶液, 测定并计算回收率。甘草酸单铵盐的平均回收率见表 1。

**2.9 样品测定** 精密称取 3 批不同批号的样品适量, 按 2.2.2.3 项下方法制备成供试品溶液。进样  $10 \mu\text{L}$ , 记录峰面积, 以内标法计算每批样品中甘草酸单铵盐的含量。结果分别为  $51.46, 50.76, 49.70 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

### 3 讨论

对甘草酸单铵盐的 TLC 鉴别进行了研究。样

表 1 咽立爽口含滴丸中甘草酸单铵盐加样回收试验

No.	称样量 /g	样品 含量 /mg	加入量 /mg	实测量 /g	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.064 1	3.304	3.80	7.203	102.61		
2	0.064 5	3.324	3.80	7.168	101.16		
3	0.063 8	3.288	3.80	7.157	101.82	101.07	0.41
4	0.053 7	2.767	3.80	6.467	97.37		
5	0.065 0	3.350	3.80	7.189	101.03		
6	0.064 0	3.300	3.80	7.192	102.42		

品提取方法<sup>[1-2]</sup>采用乙酸乙酯提取后, 水振摇萃取, 水溶液点样, 点样斑点较大, 分离效果不佳, 经过实验摸索, 对样品提取方法进行修改, 解决了上述问题。按正文方法操作, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。置紫外光灯(365 nm)下检视, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。结果表明, 分离度好, 斑点显色清晰, 阴性无干扰。

TLC 鉴别选择乙酸乙酯-甲醇-冰醋酸-水(15:1:1:2)及乙酸乙酯-甲酸-水(15:1:2)为展开剂, 斑点均不清晰<sup>[3]</sup>。乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2)溶液为展开剂, 斑点清晰, 分离完全, 阴性无干扰。所以选择乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2)溶液为展开剂。

甘草酸单铵盐的 HPLC 含量测定的流动相<sup>[4-7]</sup>有甲醇- $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵溶液-冰醋酸(67:33:1)系统, 乙睛- $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸等。优先选择乙睛- $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸溶液系统, 经摸索确定了正文中流动相比例, 得到较好分离。故最终决定采用乙睛- $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸溶液(38:62)为流动相检测甘草酸单铵盐, 该方法重复性好, 准确性高, 并且简捷快速。

通过多种内标物试验, 最终选择对羟基苯甲酸丁酯为内标物, 通过内标法测定甘草酸单铵盐含量, 解决了不受进样量影响的问题。

### 4 小结

咽立爽口含滴丸原标准只对艾片和龙脑进行定性鉴别; 对龙脑和薄荷脑采用气相色谱法进行含量测定<sup>[1]</sup>。目前咽立爽口含滴丸中甘草酸单铵盐含量测定方法尚属空白, 本实验采用薄层法对甘草酸单铵盐进行定性鉴别, 采用高效液相色谱法对甘草酸单铵盐进行含量测定, 为咽立爽口含滴丸进一步评价和控制质量提供依据。

# 红参中美拉德反应产物研究

初红梅<sup>1</sup>, 曲桂武<sup>2</sup>, 戴胜军<sup>1,2</sup>, 李桂生<sup>1,2\*</sup>

(1. 烟台大学药学院, 山东烟台 264005; 2. 吉林长白绿叶人参产业有限公司, 山东烟台 264670)

**[摘要]** 目的: 对红参 *Panax ginseng* C. A. Meyer. 中美拉德反应产物进行研究。方法: 采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、制备薄层及高效液相色谱等方法分离化合物, 根据理化性质和波谱数据鉴定其结构。结果: 分离并鉴定了9个化合物, 分别为丙酮-1-*O*- $\alpha$ -*D*-甘露糖苷(1), 5-羟甲基糠醛(2), 3-羟基-2-甲基-4-吡喃酮(3), 烟酸(4), 4-甲氧基烟酸(5), 异麦芽酚-3-*O*- $\alpha$ -*D*-甘露糖苷(6), 阿魏酸(7), 对羟基桂皮酸(8), 芒柄花素(9)。结论: 化合物1~6为美拉德反应产物, 7~8为苯丙酸类化合物, 9为异黄酮类化合物; 其中化合物1为新化合物, 化合物4~5及7~9均为首次从红参中发现。

**[关键词]** 五加科; 红参; 美拉德反应产物; 丙酮-1-*O*- $\alpha$ -*D*-甘露糖苷

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)09-0086-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfix.2014090086

## Study on Maillard Reaction Products from Chinese Red Ginseng

CHU Hong-mei<sup>1</sup>, QU Gui-wu<sup>2</sup>, DAI Sheng-jun<sup>1,2</sup>, LI Gui-sheng<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Pharmaceutical Science, Yantai University, Yantai 264005, China;

2. Jilin Changbai-Luye Ginseng Industry Co. Ltd., Yantai 264670, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the Maillard reaction products from Chinese red Ginseng. **Method:** The compounds were isolated and purified by column chromatography over silica gel and Sephadex LH-20, preparative TLC and preparative HPLC. The structures were elucidated by means of physico-chemical properties and spectral data. **Result:** Nine compounds were separated and identified as: ketopropyl-1-*O*- $\alpha$ -*D*-mannopyranoside (1), 5-hydroxymethyl-2-furfural (2), 3-hydroxyl-2-methyl-pyrone (3), nicotinic acid (4), 4-methoxyl nicotinic acid (5), isomaltol-3-*O*- $\alpha$ -*D*-mannopyranoside (6), ferulic acid (7), *p*-hydroxycinnamic acid (8), formononetin (9). **Conclusion:** Compounds 1-6 were attainable to Maillard reaction products, 7-8 due to phenylpropionic acids and 9 due to isoflavone, furthermore, compound 1 was a new one, and compounds 4-5

**[收稿日期]** 20130627(006)

**[基金项目]** 吉林省科技发展计划项目(YYZX201113)

**[第一作者]** 初红梅, 在读硕士, 从事天然产物化学的研究, Tel:13854599082, E-mail:chu\_hong\_mei@sina.com

**[通讯作者]** \*李桂生, 博士, 教授, 从事生药学及天然产物化学的研究, Tel:0535-380010, Fax:0535-3800101, E-mail:guisheng@luye.cn

### [参考文献]

- [1] 国家药品监督管理局国家药品标准(试行)WS-10237(ZD-0237)-2002(s). 51.
- [2] 国家药品监督管理局国家药品标准(试行)WS-10237(ZD-0237)-2002-2011Z(S).
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 376.
- [4] 张玲, 刘振丽, 宋志前, 等. 四君子汤和理中丸中甘草酸及甘草苷含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,

2007, 13(6): 4.

- [5] 陈璐, 许润春, 邹文铨, 等. 甘草-青黛药对配伍的增溶作用考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(23): 17.
- [6] 张幸福, 高效液相色谱法测定五味龙胆花丸中甘草酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(4): 653.
- [7] 王小丽, 陈思东. 甘草酸作用的研究进展[J]. 中国医药导报, 2012, 9(24): 21.

[责任编辑 顾雪竹]