**甘草酸二铵肠溶片有关物质检验方法**

**【检查】有关物质** 照高效液相色谱法（通则0512）测定。

**供试品溶液** 取重量差异项下本品，研细，精密称取适量（约相当于甘草酸二铵50mg），精密称定，置50ml量瓶中，用流动相溶解并稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液。

**对照品溶液** ①精密称取18α甘草酸铵对照品适量，加流动相溶解并稀释制成每毫升含18α甘草酸铵5μg/ml的溶液，作为对照品溶液。

②精密称取甘草酸铵对照品（中检院，批号：11073-202001）适量加流动相溶解并稀释制成每毫升含甘草酸铵5μg/ml的溶液，作为对照品溶液。

二者选一种即可。

**测定法** 精密量取供试品溶液与对照溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图至18α-甘草酸峰保留时间的3倍。

色谱条件、系统适用性要求与测定法 见含量测定项下

**限度** 供试品溶液的色谱图中如有杂质峰，按表1或表2中的相对保留时间确定，按对照品溶液主成分峰面积乘以校正因子的外标法计算，均应符合表1或表2（二选一）中的限度要求。

表1 以18α-甘草酸铵为对照品的相对校正因子与限度

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **杂质名称** | **相对保留时间** | **相对校正因子** | **限度（%）** |
| **杂质I** | 0.50 | 1.09 | 1.0 |
| **杂质II** | 0.58 | 1.03 | 4.0 |
| **杂质III** | 1.47 | 1.02 | 2.0 |
| **18α-甘草酸** | 1.00 | 1.00 | / |
| **其他单个杂质** | / | / | 2.0 |
| **其他杂质总和** | / | / | 4.0 |

表2 以甘草酸铵为对照品的相对校正因子与限度

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **杂质名称** | **相对保留时间** | **相对校正因子** | **限度（%）** |  |
| **杂质I** | 0.56 | 1.15 | 1.0 |  |
| **杂质II** | 0.63 | 1.26 | 4.0 |  |
| **杂质III** | 1.23 | 1.29 | 2.0 |  |
| **甘草酸铵** | 1.00 | 1.00 | / |  |
| **其他单个杂质** | / | / | 2.0 |  |
| **其他杂质总和** | / | / | 4.0 |  |

**【含量测定】**照高效液相色谱法（通则0512）测定。

**供试品溶液** 取重量差异项下本品，研细，精密称取适量（约相当于甘草酸二铵50mg），精密称定，置50ml量瓶中，用水溶解并稀释至刻度，摇匀，滤过。精密量取续滤液1ml置10ml量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液。

**对照品溶液** 精密称取18β-甘草酸铵对照品与18α-甘草酸铵对照品各适量，用流动相溶解并定量稀释制成每1ml中含18β-甘草酸铵20μg与含18α-甘草酸铵80μg的溶液。

**色谱条件** 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（Waters Xbridge RP C18或效能相当的色谱柱）；以磷酸盐缓冲液（取磷酸二氢钾6.80g与氢氧化钠1.6g，加水900ml使溶解，用磷酸或氢氧化钠试液调pH值至7.6，加水至1000ml）-乙腈（81:19）为流动相；柱温：35℃；检测波长为252nm；进样体积10μl；流速为1.5ml/min。

**系统适用性要求** 对照品溶液色谱图中，出峰顺序为18β-甘草酸（保留时间约为7.5min）、18α-甘草酸（保留时间约为8.5min），两峰分离度应符合要求。理论塔板数按18α-甘草酸峰计算不得小于2000。

**测定法** 精密量取供试品溶液与对照品溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图。按外标法分别计算18β-甘草酸与18α-甘草酸的含量。以甘草酸规格计，含18α-甘草酸不得低于标示量的65%。18β-甘草酸与18α-甘草酸的含量之和应为标示量的90.0%～110.0%。