

RP-HPLC法测定抗病毒胶囊中绿原酸和甘草酸的含量

刘 燕¹, 马双成², 毕培曦^{2*}

(1. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050; 2. 香港中文大学, 香港)

抗病毒胶囊是由金银花、连翘、板蓝根、甘草精制而成的中药制剂, 用于治疗急慢性咽炎、扁桃体炎、肺炎等症。其中绿原酸为金银花中清热解毒的有效成分之一, 甘草酸为甘草解毒和抗炎的有效成分, 为了有效地控制该产品的内在质量, 本研究建立了 HPLC 法测定该制剂中绿原酸和甘草酸含量的方法。

1 仪器和试剂

岛津 LC-10A 高效液相色谱仪, SPD-10A 紫外可见检测器

绿原酸、甘草酸对照品 (中国药品生物制品检定所), 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

实验用抗病毒胶囊 (自制)

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Intersil ODS-C₁₈ 柱 (5 μ m, 250 mm $\times$ 4.6 mm), 流动相: (绿原酸) 乙腈-水-冰醋酸 (10: 90: 1.0), 检测波长: 326 nm; (甘草酸) 乙腈-NaH₂PO₄ 缓冲液 (35: 65), 检测波长: 254 nm, 进样量 10 μ L, 流速 2 mm/min

2.2 对照品溶液的制备及线性关系: 精密称取绿原酸和甘草酸对照品各 5 mg, 置 50 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取对照品溶液 1, 3, 5, 7, 9 μ L 进样, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积, 以峰面积对进样量作图, 得直线回归方程为:

绿原酸: $Y = 1\,056\,981X - 117\,3$, $r = 0.999\,9$,

甘草酸: $Y = 1\,225\,998X + 238\,1$, $r = 0.999\,9$

绿原酸和甘草酸均在 0.1~0.9 μ g 范围内呈良好的线性关系。

2.3 样品溶液的制备: 绿原酸: 取抗病毒胶囊 10 粒, 精密称取内容物 1 g, 加水充分混匀, 盐酸调 pH=1, 转移至分液漏斗中, 用乙酸乙酯提取 4 次, 每次 40 mL, 合并乙酸乙酯提取液, 挥干, 残渣加甲醇溶解, 定量转移至 250 mL 容量瓶中, 并稀释至刻度, 备用。甘草酸: 取抗病毒胶囊 10 粒, 取出内容物

混匀研细, 精密称取 1 g, 加 50% 乙醇 50 mL, 称重, 超声处理 40 min, 放冷, 称重, 用 50% 乙醇补足重量, 用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 弃去初滤液, 续滤液备用。

2.4 色谱行为: 分别取对照品溶液、样品溶液 5, 10 μ L, 按上述色谱条件分别进样, 绿原酸和甘草酸与抗病毒胶囊中其他组分良好分离。

2.5 仪器精密度和方法重复性: 取样品溶液 10 μ L, 重复进样 6 次, 绿原酸和甘草酸峰面积积分值的日内 RSD 分别为 1.7% 和 1.2%。连续 1 d 进样, 绿原酸和甘草酸峰面积积分值的 24 h 内 RSD 分别为 1.6% 和 1.8%。

同一批样品, 分别按样品制备项下方法操作, 制备样品溶液 5 份, 进样测定, 计算绿原酸和甘草酸峰面积的 RSD 分别为 2.1% 和 2.2%。

2.6 加样回收率: 取同一已知绿原酸和甘草酸含量的抗病毒胶囊内容物细粒, 精密称取 5 份, 分别准确加入不同量的对照品, 各份均依样品测定项下方法测定, 计算平均回收率和 RSD, 分别为 99.2%、2.18% 和 98.8%、1.9% ($n=5$)。

2.7 样品测定: 按样品溶液制备项下方法制备样品溶液。取 10 μ L 注入高效液相色谱仪, 记录色谱峰面积, 外标法计算, 结果 3 批样品中绿原酸的含量为 2.1, 1.9, 2.2 mg/粒, RSD 为 1.2%、1.7%、1.59%, 甘草酸含量为 1.7, 1.6, 1.6 mg/粒, RSD 为 1.12%、1.2%、1.64% ($n=3$)。

3 讨论

在提取甘草酸时, 我们对比了乙醇、甲醇和 50% 乙醇的提取效果, 结果发现 50% 乙醇的提取效果最好。

本测定方法方便、快速、专属性及重现性好, 结果准确可靠, 可用于该制剂的质量控制。

* 收稿日期: 2001-08-23

作者简介: 刘 燕 (1963-), 女, 天津人, 副主任药师, 1986 年毕业于中国药科大学, 现在中国药品生物制品检定所中药室工作, 研究方向为中成药质量控制与质量标准。