

# 复方止咳冲剂中甘草酸和绿原酸的高效液相色谱法测定

## 高效液相色谱法测定

北京医科大学药学院(100083) 荣志芬\* 张慰青 胡文洁  
许克宁 邹安庆

**摘要** 用RP-HPLC-UV法同时测定了复方冲剂中的甘草酸和绿原酸,以甲醇(0.5%醋酸)-水(0.5%醋酸)为流动相,C<sub>18</sub>柱,外标法。

**关键词** HPLC 甘草酸 绿原酸 冲剂

复方止咳冲剂由甘草、金银花等10几味中药与赋形剂制备而成。本文建立了同时测定冲剂中甘草酸和绿原酸的HPLC方法,由于甘草酸和绿原酸的极性相差较大,且复方制剂中成分复杂,因此选用改变流动相比比例的方法同时测定两者,用外标法定量,测定了3批样品,得到满意结果。

### 1 实验方法与结果

1.1 仪器与试剂: Varian HPLC 9010泵, 9050UV检测器, 4270积分仪。

对照品: 甘草酸和绿原酸由中国药品生物制品检定所提供; 止咳冲剂样品由药学院应用药物研究所提供; 其余试剂均为分析纯, 水为重蒸去离子水。

1.2 色谱条件: C<sub>18</sub>(10 $\mu$ ) 3.9mm $\times$ 25cm不锈钢柱, 保护柱: C<sub>18</sub>; 流动相: A. 甲醇(0.5%醋酸), B. 水(0.5%醋酸)。

洗脱方法: a) A-B(25:75), 保持15min测定绿原酸tr $\sim$ 10min, b) A-B(25:75 $\xrightarrow{10min}$ 70:30), 线性梯度, c) A-B(70:30)保持10min测定甘草酸tr $\sim$ 30min, 流速1.0ml/min, 检测波长254nm。灵敏度0.05AUFs。

1.3 标准曲线: a) 对照品溶液的配制: 分别称取甘草酸和绿原酸对照品各10mg, 精密称定, 置10ml容量瓶中, 用50%乙醇定容,

为对照品的贮备液, 浓度为1mg/ml。贮存于冰箱中, 临用前再用50%乙醇稀释至浓度为0.05mg/ml。b) 标准曲线的测定: 将上述对照品溶液2、4、6、8和10 $\mu$ l依次进样后, 测峰面积, 以对照品的进样量对峰面积进行回归处理, 得回归方程。对甘草酸

$Y = 2467.4X + 145.9, r = 0.999$ ; 对绿原酸:

$Y = 1245.3X + 109.9, r = 0.9996$ 。

1.4 样品测定: 样品溶液的制备: 取适量的待测冲剂, 研磨后过60目筛, 精密称定细粉1g, 于100ml容量瓶中, 加适量80%乙醇, 超声振荡30min, 取上清液, 经适当稀释后, 用0.45 $\mu$ 的微孔滤膜过滤, 进样10 $\mu$ l, 得色谱图。

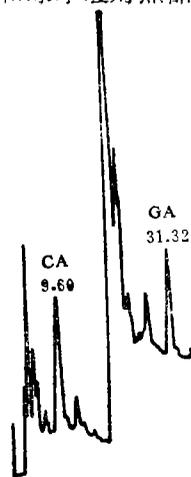


图 样品色谱图

CA-绿原酸 GA-甘草酸

\*Address: Rong Zhifen, School of Pharmacy, Beijing Medical University, Beijing

现在地址: 北京阜外医院药剂科

1.5 样品测定的精密度：测定了3批样品，甘草酸的CV=1.8%，绿原酸的CV=2.7%。

## 2 讨论

2.1 色谱条件的选择：选用C<sub>18</sub>柱和C<sub>8</sub>柱得到相符的结果，最后选用更为普遍的C<sub>18</sub>柱。

流动相选用过3种，即甲醇-水；乙醇-水；乙腈-水，其中乙腈效果最好，但价格昂贵，乙醇粘度大，常引起高柱压，最后选用甲醇。

检测波长的选择：经紫外扫描，甘草酸的 $\lambda_{max}$ 在254nm；绿原酸的 $\lambda_{max}$ 在326nm；但在254nm也有吸收，因样品中绿原酸的含量较高，所以选择在254nm测定，不影响绿原酸的检出。

2.2 由于绿原酸的极性比甘草酸的大得多，两者在柱上的保留特性也相差很大，且样品成分复杂，因此我们采用改变流动相比比例的方法进行洗脱，使甘草酸和绿原酸能与其他杂峰分开，又缩短了分析时间。

2.3 样品的处理：由于样品是中药复方冲剂，其中赋形剂糖粉和糊精都是水溶性的，当进样量大时，易在柱中析出而堵柱子，为此，我们用80%乙醇提取，然后再稀释后进样，即可避免上述现象。

(1994-04-11收稿)

# HPLC法测定梔子产地加工炮制品酶解前后梔子甙含量

中国药品生物制品检定所(北京 100050)

赵淑杰\* 鲁静 陈德昌

梔子为茜草科植物梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis的成熟果实，是常用中药，具有泻火除烦，清热利尿，凉血解毒等功效<sup>[1]</sup>。自古以来多以生品及炒黄、炒焦、炒炭、姜炙等炮制品应用于临床，其中有效成分为梔子甙。因为含有甙类的中药，多数受相应的酶易产生酶解作用，使其甙类成分降低，所以根据杀酶保甙的机理，检测梔子产地加工及炮制品酶解前后梔子甙的含量，以考察杀酶保甙的效果，为炮制和制定饮片标准奠定基础。

## 1 仪器、试剂与样品

仪器：岛津LC-6A高效液相色谱仪，SPD-6AV紫外检测器，C-R3A色谱处理机。

试剂：所用试剂均为分析纯。梔子甙，内标物，芍药甙，均为本所提供。

样品：梔子及炮制品(炒黄，炒焦，炒炭等)均按中国药典90版梔子项下操作。

## 2 色谱条件

分析柱：Nucleosil C<sub>18</sub> 10 $\mu$ m (4.5 $\times$ 254 mm) ODS柱，流动相：水-乙腈-醋酸(86:14:0.01)，检测波长：238nm，流速：0.8ml/min，灵敏度：0.08AUFS，纸速：2mm/min，进样：10 $\mu$ l，内标法定量，内标物：芍药甙。

## 3 溶液制备

3.1 梔子甙对照品溶液：精密称取梔子甙约2.00mg于10ml的容量瓶中，甲醇溶解并稀释至刻度。

3.2 内标溶液：精密称取芍药甙13.00mg于25ml容量瓶中，甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，待用。

3.3 标准溶液：精密吸取梔子甙对照品溶液及内标溶液各1ml于5ml容量瓶中，甲醇定容，待用。

3.4 供试品溶液A的制备：精密称取干燥恒重的梔子及炮制品粉末(过40目筛)约100mg于三角瓶中，加甲醇-水(1:1)混合溶剂(以下简称混合溶剂)40ml，于超声波振荡器提取0.3h后，转入50ml容量瓶中，并用混合溶剂定容，摇匀，滤过，取续滤液及内标液各1ml于5ml量瓶中。

3.5 供试品溶液B的制备：精密称取供试品溶液A项下的同批样品粉末约100mg，于三角瓶中，加20ml水，置于水浴锅中，50 $^{\circ}$ C酶解2h，取出，再加入20ml甲醇摇匀，以下按供试品溶液A项下从“超声波振荡……摇匀”止，依次操作，即得。

## 4 测定方法及结果

4.1 校正因子的测定：取标准溶液按上述色谱条件进样10 $\mu$ l，测定校正因子3~5次，取其平均值

(下转第192页)

# ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

## Studies on the Chemical Constituents of *Sargentodoxa yvone*

(*Sargentodoxa cuneata*)

Miao Kangli, Zhang Jianzhong, Wang Feiyin, et al

Six compounds were isolated from the EtOH extract of stems of *Sargentodoxa cuneata*. They were identified as  $\beta$ -sitosterol (I),  $\beta$ -daucosterol (II), madasiatic acid (III), acanthoside D (IV), sargencuneside (V), and sucrose (VI) on the basis of chemical and spectral analyses. Among them, V is a new compound.

(Original article on page 171)

## A Study on Polysaccharide of the Hongshier (*Umbilicaria hypococeinea*)

Ding Dongning, Yan Baoqi, et al

UMH polysaccharide was isolated and purified with alcohol precipitation from hot water extract of *Umbilicaria hypococeinea* Liano. By Sephadex G-150 column chromatography, UMH was shown to be a single homogeneous substance, sugar content 90.4%. By gas chromatography analysis, UMH was composed of glucose, mannose and glucuronic acid, their molecule ratio was about 45:1:9. Its mean molecular weight was estimated to be  $40 \times 10^4$ . IR analysis, periodate oxidation and Smith degradation showed that the main chain of UMH is composed, of  $\alpha(1 \rightarrow 6)$  and  $(1 \rightarrow 4)$  linkage, and was an acidic heterosaccharide.

(Original article on page 175)

## Studies on the Chemical Constituents Bigflower Rhodiola (*Rhodiola crenulata*)

Peng Jiangnan, Ma Chengyu, Ge Yongchao, et al

Five compounds were isolated from the rhizome and roots of *Rhodiola crenulata* S.H.Fu. They were identified as rhodionin (I), rhodiosin (II), tyrosol (III), salidroside (IV) and gallic acid (V), respectively, by UV, MS,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ NMR spectroscopic and chemical reactions.

(Original article on page 177)

## Determination of Glycyrrhizic Acid and Chlorogenic Acid by HPLC

Rong Zhifen, Zhang Weiqing, Hu Wenjie, et al

A method for the determination of glycyrrhizic acid and chlorogenic acid in Chinese medicinal preparation by Rp-HPLC-UV was described. Mobile phase: methanol (0.5% HAc) :  $\text{H}_2\text{O}$  (0.5% HAc);  $\text{C}_{18}$  column and external standard was used.

(Original article on page 181)

## Quantitative Determination of Borneol in Yuqingan Liquid

Wei Xiaoshu

Borneol in Yuqingan liquid was determined quantitatively by GC. The sample was first extracted by ethyl acetate and component determined by two types of column packed with 10% OV-17 and 10% PEG-20M/chromosorb WHP respectively. N-tetradecane was used as an