

# HPLC 测定小儿清肺化痰口服液中 5 种成分的含量

胡英婕\*

(辽宁医学院 医疗学院, 辽宁 锦州 121000)

**[摘要]** 目的:建立 HPLC 同时测定小儿清肺化痰口服液中 5 种成分(盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷、黄芩苷、白花前胡甲素)含量的方法。方法:采用 ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液, 梯度洗脱, 体积流量 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 35 °C, DAD 检测器, 检测波长 210 nm(盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱), 225 nm(苦杏仁苷), 277 nm(黄芩苷), 321 nm(白花前胡甲素)。结果:5 个成分的峰面积与质量浓度的线性关系良好, 加样回收率 98.52% ~ 99.93%。结论:该方法简便、准确、灵敏, 重复性好, 可用于测定小儿清肺化痰口服液中 5 种成分的含量。

**[关键词]** 小儿清肺化痰口服液; 盐酸麻黄碱; 盐酸伪麻黄碱; 苦杏仁苷; 黄芩苷; 白花前胡甲素

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)13-0062-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015130062

## Quantitative Determination of Five Ingredients in Xiaoer Qingfei Huatan Oral Solution by HPLC

HU Ying-jie\* (Medical College, Liaoning Medical University, Jinzhou 121000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop a HPLC method for determining five constituents (ephedrine hydrochlorid, pseudoephedrine hydrochloride, amygdalim, baicalin and praeruptorin A) in Xiaoer Qingfei Huatan oral solution. **Method:** Five constituents were analyzed by ZORBAX SB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with acetoni-trile-water (containing 0.1% phosphonic acid) as mobile phases in gradient elution, 0.8 mL·min<sup>-1</sup> as flow-rate and 35 °C as temperature of column. The detection wavelengths were at 210 nm for ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride, 225 nm for amygdalim, 277 nm for baicalin and 321 nm for praeruptorin A respectively. **Result:** Five constituents were separated perfectly and good linear relationships were obtained. The recoveries were between 98.52% -99.93% %. **Conclusion:** The developed method is simple, specific, accurate and with good reproducibility, which can be used for quality control of Xiaoer Qingfei Huatan oral solution.

**[Key words]** Xiaoer Qingfei Huatan oral solution; ephedrine hydrochloride; pseudoephedrine hydrochloride; amygdalim; baicalin; praeruptorin A

小儿清肺化痰口服液是由麻黄、前胡、黄芩、石膏、苦杏仁、竹茹、紫苏子(炒)、葶苈子 8 种药材组成的复方制剂,具有清热化痰、止咳平喘的功效。方中麻黄、前胡为君药,盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱是麻黄的主要有效成分,白花前胡甲素是前胡的主要有效成分,黄芩、石膏、紫苏子、苦杏仁、葶苈子、竹茹共为佐使,黄芩苷是黄芩的主要有效成分,苦杏仁苷是苦杏仁的主要有效成分。《中国药典》2010 年版规定用高效液相色谱法分别测定盐酸麻黄碱和黄芩苷的含量<sup>[1]</sup>,操作繁琐,且无法评价复方制剂中其他组分的内在质量。制剂中多指标含量检测是中药

质量标准现代化的必然要求。目前已有文献报道 HPLC 测定制剂中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷单一成分或几个成分<sup>[2-9]</sup>,但本制剂中 5 个成分同时测定未见报道。本研究以小儿清肺化痰口服液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷、黄芩苷、白花前胡甲素为研究对象,采用 HPLC-DAD 检测器,流动相梯度洗脱,同时测定这 5 种成分的含量,为该复方制剂多指标成分含量测定提供了依据。

### 1 材料

Fϕ2200 型高效液相色谱仪(温岭福立分析仪器有限公司),二极管阵列检测器(北京普朋科技有限公

[收稿日期] 20140608(001)

[通讯作者] \* 胡英婕, 硕士, 讲师, 从事药物化学成分分析研究及教学工作, Tel: 0416-3345196, E-mail: yingjiehu@163.com

司), BP211D 型 1/10 万电子分析天平(德国 Satorius 公司), KQ-100A 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 北京金欧亚科技发展有限公司)。盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷、黄芩苷、白花前胡甲素对照品(批号 171241-201303, 165427-201305, 110820-201303, 154725-201301, 185145-201305)均购自中国食品药品检定研究院。甲醇、乙腈为色谱纯, 磷酸为分析纯。小儿清肺化痰口服液(批号 20130224, 20130314, 20130515), 葵花药业集团(冀州)有限公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 混合对照品溶液** 精密称取盐酸麻黄碱 1.00 mg, 盐酸伪麻黄碱 1.00 mg, 苦杏仁苷 4.00 mg, 黄芩苷 4.00 mg, 白花前胡甲素 3.00 mg, 加甲醇定容至 100 mL, 制成分别含 10.0, 10.0, 40.0, 40.0, 30.0 mg·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

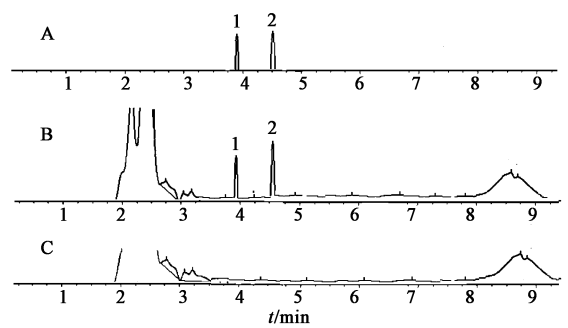
**2.1.2 供试品溶液** 精密量取小儿清肺化痰口服液 10.00 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇适量, 超声处理 30 min, 放置至室温, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

**2.1.3 阴性样品溶液** 按小儿清肺化痰口服液处方及工艺设备, 制备不含麻黄, 黄芩, 苦杏仁, 前胡的阴性样品, 按 2.1.2 项下方法制备阴性样品溶液。

**2.2 色谱条件** ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温 35 °C, 流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, DAD 检测器, 进样量 10 μL。流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B) 梯度洗脱(0 ~ 20 min, 5% A; 20 ~ 30 min, 5% ~ 10% A; 30 ~ 50 min, 10% ~ 45% A; 50 ~ 60 min, 45% ~ 70% A; 60 ~ 75 min, 70% ~ 85% A)。

**2.3 系统适应性试验** 在上述色谱条件, 进样测定, 采集 210 nm(盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱), 225 nm(苦杏仁苷), 277 nm(黄芩苷), 321 nm(白花前胡甲素)的色谱图。理论塔板数均不低于 3 000, 分离度 > 1.5。在盐酸麻黄碱, 盐酸伪麻黄碱, 苦杏仁苷, 黄芩苷, 白花前胡甲素对照品出峰位置, 供试品溶液在相同保留时间处有对应峰, 而阴性对照品无对应峰, 说明样品中其他成分对以上 5 个成分的测定无干扰。见图 1~4。

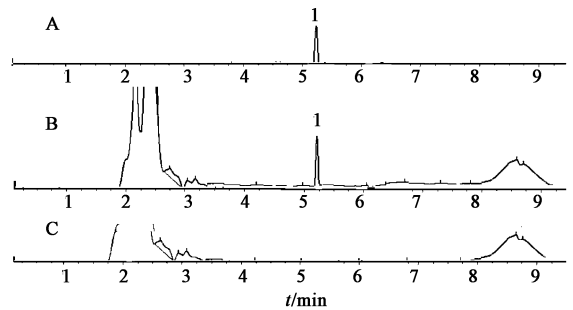
**2.4 线性关系考察** 分别精密吸取混合对照品溶液 10, 20, 30, 40, 50, 60 μL, 注入高效液相色谱仪,



A. 对照品; B. 供试品; C. 阳性样品; 1. 盐酸麻黄碱; 2. 盐酸伪麻黄碱

图 1 小儿清肺化痰口服液 HPLC(210 nm)

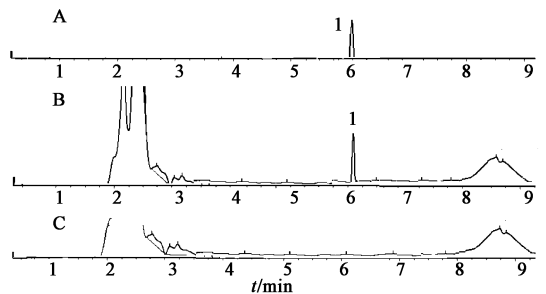
Fig. 1 HPLC chromatograms of Xiaoer Qingfei Huatan oral solution(210 nm)



A. 对照品; B. 供试品; C. 阳性样品; 1. 苦杏仁苷

图 2 小儿清肺化痰口服液 HPLC(225 nm)

Fig. 2 HPLC chromatograms of Xiaoer Qingfei Huatan oral solution(225 nm)



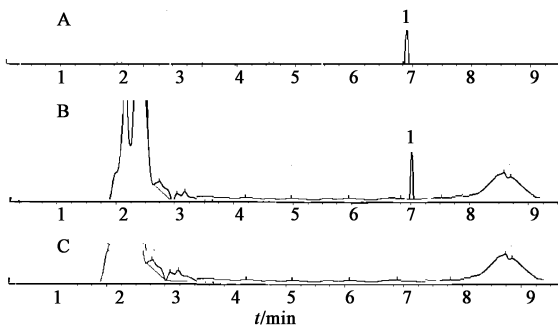
A. 对照品; B. 供试品; C. 阳性样品; 1. 黄芩苷

图 3 小儿清肺化痰口服液 HPLC(277 nm)

Fig. 3 HPLC chromatograms of Xiaoer Qingfei Huatan oral solution(277 nm)

按 2.2 项下色谱条件进行测定, 以各对照品进样量(μg)为 X 轴, 峰面积为 Y 轴, 得到回归方程, 相关系数和线性范围见表 1。

**2.5 精密度试验** 精密吸取对照品混合溶液 10 μL, 按 2.2 项色谱条件重复进样 6 次, 测定, 结果盐酸麻黄碱, 盐酸伪麻黄碱, 黄芩苷, 苦杏仁苷, 白花前胡甲素峰面积的 RSD 分别为 1.1%, 0.8%,



A. 对照品; B. 供试品; C. 阳性样品; 1. 白花前胡甲素

图 4 小儿清肺化痰口服液 HPLC (321 nm)

Fig. 4 HPLC chromatograms of Xiaoer Qingfei Huatan oral solution (321 nm)

表 1 回归方程、相关系数和线性范围

Table 1 Regression equations correlation coefficients and linear ranges

成分	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}$
盐酸麻黄碱	$Y = 14.5948X + 0.2154$	0.9999	0.10 ~ 0.60
盐酸伪麻黄碱	$Y = 7.3356X + 0.1129$	0.9997	0.10 ~ 0.60
苦杏仁苷	$Y = 13.3058X + 0.259$	0.9997	0.40 ~ 2.40
黄芩苷	$Y = 10.2356X - 2.1290$	0.9996	0.40 ~ 2.40
白花前胡甲素	$Y = 14.3369X - 0.8527$	0.9998	0.30 ~ 1.80

0.9%, 0.8%, 0.7% 和 1.0%, 表明仪器的精密度良好。

**2.6 稳定性试验** 取同一样品 (批号 20130224), 按 2.1.2 项下方法制成供试品溶液, 分别在 0, 4, 8, 12, 24 h 进行测定, 结果盐酸麻黄碱, 盐酸伪麻黄碱, 黄芩苷, 苦杏仁苷, 白花前胡甲素峰面积的 RSD 分别为 1.1%, 0.9%, 1.0%, 0.8%, 1.2%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.7 重复性试验** 取同一样品 (批号 20130314), 按 2.1.2 项下方法制成供试品溶液, 进行 6 次平行测定, 得到盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷、黄芩苷、白花前胡甲素峰面积, 求得质量浓度分别为 0.106, 0.117, 0.343, 0.388, 0.256  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , RSD 分别为 1.8%, 0.9%, 1.2%, 0.8%, 1.1%。表明方法的重复性良好。

**2.8 加样回收率试验** 精密量取已知含量的小儿清肺化痰口服液 (批号 20130224) 9 份, 每份 5.00 mL, 分别按相当于样品中盐酸麻黄碱, 盐酸伪麻黄碱, 苦杏仁苷, 黄芩苷, 白花前胡甲素含有量的 80%, 100%, 120% 的量加入各对照品 (不同加入量各 3 份), 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2 项色谱条件进样, 测定含量, 并计算加样回收率和 RSD。结果见表 2。

表 2 小儿清肺化痰口服液 5 种成分的加样回收率试验

Table 2 Results of recovery tests of Xiaoer Qingfei Huatan oral solution

成分	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
盐酸麻黄碱	0.510	0.408	0.912	98.53	99.29	0.4
	0.510	0.408	0.917	99.75		
	0.510	0.408	0.916	99.51		
	0.510	0.510	1.015	99.02		
	0.510	0.510	1.018	99.61		
	0.510	0.510	1.014	98.82		
	0.510	0.612	1.121	99.83		
	0.510	0.612	1.118	99.35		
	0.510	0.612	1.117	99.18		
	盐酸伪麻黄碱	0.590	0.472	1.061		
0.590		0.472	1.058	99.15		
0.590		0.472	1.055	98.52		
0.590		0.590	1.176	99.32		
0.590		0.590	1.173	98.81		
0.590		0.590	1.175	99.15		
0.590		0.708	1.295	99.58		
0.590		0.708	1.292	99.16		
0.590		0.708	1.289	98.73		
苦杏仁苷		1.710	1.368	3.066	99.12	99.06
	1.710	1.368	3.077	99.93		
	1.710	1.368	3.059	98.61		
	1.710	1.710	3.417	99.82		
	1.710	1.710	3.405	99.12		
	1.710	1.710	3.387	98.07		
	1.710	2.052	3.742	99.03		
	1.710	2.052	3.738	98.83		
	1.710	2.052	3.741	98.98		
	黄芩苷	1.935	1.548	3.477	99.61	
1.935		1.548	3.462	98.64		
1.935		1.548	3.470	99.16		
1.935		1.935	3.860	99.48		
1.935		1.935	3.855	99.22		
1.935		1.935	3.847	98.81		
1.935		2.322	4.232	98.92		
1.935		2.322	4.244	99.44		
1.935		2.322	4.239	99.22		
花前胡甲素		1.265	1.012	2.266	98.91	99.02
	1.265	1.012	2.270	99.31		
	1.265	1.012	2.264	98.72		
	1.265	1.265	2.522	99.37		
	1.265	1.265	2.514	98.74		
	1.265	1.265	2.519	99.13		
	1.265	1.518	2.774	99.41		
	1.265	1.518	2.768	99.01		
	1.265	1.518	2.761	98.55		

**2.9 样品含量测定** 取 3 批样品,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件进样,计算样品中 5 种成分的含量。结果见表 3。

表 3 小儿清肺化痰口服液 5 种成分的含量测定

Table 3 Assay results of Xiaoe Qingfei Huatan oral solution

批号	g·L <sup>-1</sup>				
	盐酸麻黄碱	盐酸伪麻黄碱	苦杏仁苷	黄芩苷	白花前胡甲素
130224	0.102	0.118	0.342	0.387	0.253
130314	0.105	0.117	0.343	0.388	0.256
130515	0.108	0.116	0.344	0.387	0.258

### 3 讨论

本实验采用高效液相色谱仪联用二极管阵列检测器,对小儿清肺化痰口服液中 5 种成分同时分离、定量。首先用适当梯度的流动相改变不同酸碱性、不同极性的成分在同一色谱柱上的保留行为,使需要定量的成分与其他干扰物质完全分离,并利用二极管阵列检测器的时时扫描功能,获得所有波长下的色谱图及每一时间点的色谱图,从而达到同时测定 5 种成分含量的目的。

供试品溶液制备方法曾考察提取方法(超声、回流),提取溶剂(50%乙醇、80%乙醇、50%甲醇),提取时间(15,30,45 min)。实验结果表明加热回流与超声处理样品,两者提取的各物质含量相差不大,从操作简便角度考虑,确定提取方法为超声提取;3 种不同溶剂进行提取,甲醇提取液更为澄清,容易滤过,因此提取溶剂为甲醇;超声处理 30 min 与 45 min 结果近似,略高于超声处理 15 min,因此选择样品超声处理 30 min。

曾采用乙腈-水、甲醇-水、乙腈-磷酸溶液等系统的不同梯度作为流动相,结果采用乙腈-0.1%磷酸溶液梯度洗脱,分离效果好,重复性强。

### [参考文献]

- [1] 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,2010:348-350.
- [2] 黄良勇,王永慧,雷震,等. HPLC 法同时测定宣肺止咳糖浆中盐酸麻黄碱和苦杏仁苷的含量[J]. 中国药师,2010,13(6):837-838.
- [3] 杨德斌,马振山,王琳,等. HPLC 法同时测定小儿平喘祛痰颗粒中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷的含量[J]. 中国中药杂志,2013,38(5):687-689.
- [4] 王苏会,闫荟,孙晓迪,等. HPLC 法测定小儿感冒丹中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(6):145-147.
- [5] 刘倩,陈金月,黄权芳,等. HPLC 法测定麻杏二陈汤主散剂中盐酸麻黄碱和苦杏仁苷的含量[J]. 中医药导报,2013,19(1):80-82.
- [6] 韩超. HPLC 法测定白花前胡提取物中白花前胡甲素的含量[J]. 湖北中医药大学学报,2011,13(1):32-33.
- [7] 王进,张平,唐海涛,等. HPLC 法同时测定生脉注射液中九种成分[J]. 中成药,2013,35(3):508-512.
- [8] 杨世艳,何兵,张燕. HPLC 同时测定银黄颗粒中七种有机酸及四种黄酮类成分[J]. 中草药,2013,44(3):301-304.
- [9] 俞永梅,牟娜,张平. HPLC-DAD 法同时测定小儿肺热咳喘口服液中 9 个成分[J]. 中成药,2013,35(4):709-713.

[责任编辑 顾雪竹]