

中图分类号: R917; R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2024)08-0083-05

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.08.020



# 小儿清热止咳口服液高效液相色谱指纹图谱的建立 及8种成分含量测定

潘燕<sup>1,2</sup>, 胡林水<sup>1,2</sup>, 吴明<sup>1,2</sup>

(1. 浙江康恩贝制药股份有限公司, 浙江 金华 321109; 2. 浙江省中药制药技术重点实验室, 浙江 金华 321109)

**摘要:**目的 建立小儿清热止咳口服液的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,并测定其中8种主要成分的含量。方法 色谱柱为 Agilent Infinity Lab Poroshell 120 EC - C<sub>18</sub> 柱(150 mm × 4.6 mm, 2.7 μm),流动相为乙腈-甲醇(89:11, V/V)-0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液(pH 3.2),梯度洗脱,流速为 1.0 mL/min,检测波长为 210 nm(0~31 min)、270 nm(31~75 min),柱温为 30 °C,进样量为 10 μL。结果 共得到 28 个共有峰,其中 26 个可找到归属,各批样品间相似度均大于 0.99。盐酸麻黄碱、黄芩苷、苦杏仁苷、甘草酸铵、盐酸伪麻黄碱、黄芩素、甘草苷、(R,S)-告依春质量浓度分别在 2.05~41.06 μg/mL、38.42~768.48 μg/mL、9.00~179.93 μg/mL、3.23~64.61 μg/mL、1.09~21.90 μg/mL、1.49~29.80 μg/mL、1.94~38.87 μg/mL、0.69~13.71 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好( $r \geq 0.9994$ ),检测限为 0.068 6~0.857 6 μg/mL,定量限为 0.328 4~1.615 2 μg/mL;稳定性、重复性、中间精密度试验结果的 RSD 均小于 3.0%;平均加样回收率为 97.90%~101.44%,RSD 为 0.45%~1.85%( $n=6$ )。结论 该方法灵敏、简便、准确,可用于小儿清热止咳口服液的质量控制。

**关键词:** 小儿清热止咳口服液;高效液相色谱法;指纹图谱;盐酸麻黄碱;黄芩苷;苦杏仁苷;含量测定

## Establishment of HPLC Fingerprint and Determination of Eight Components in Xiaoe Qingre Zhike Oral Liquid

PAN Yan<sup>1,2</sup>, HU Linshui<sup>1,2</sup>, WU Ming<sup>1,2</sup>

(1. Zhejiang CONBA Pharmaceutical Co., Ltd., Jinhua, Zhejiang, China 321109; 2. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pharmaceutical Technology in TCM, Jinhua, Zhejiang, China 321109)

**Abstract: Objective** To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint of Xiaoe Qingre Zhike Oral Liquid, and to determine the contents of eight main components. **Methods** The chromatographic column was Agilent Infinity Lab Poroshell 120 EC - C<sub>18</sub> column (150 mm × 4.6 mm, 2.7 μm), the mobile phase was acetonitrile - methanol (89:11, V/V) - 0.01 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (pH 3.2), with gradient elution, the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelengths were 210 nm (0 - 31 min) and 270 nm (31 - 75 min), the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** A total of 28 common peaks were obtained, of which 26 could be attributed specific medicinal herb, and the similarity of different batches of samples was greater than 0.99. The linear ranges of ephedrine hydrochloride, baicalin, amygdalin, ammonium glycyrrhizinate, pseudoephedrine hydrochloride, baicalein, liquiritin and (R, S) - epigallocatechin gallate were 2.05 - 41.06 μg/mL, 38.42 - 768.48 μg/mL, 9.00 - 179.93 μg/mL, 3.23 - 64.61 μg/mL, 1.09 - 21.90 μg/mL, 1.49 - 29.80 μg/mL, 1.94 - 38.87 μg/mL, 0.69 - 13.71 μg/mL ( $r \geq 0.9994$ ) respectively. The limit of detection (LOD) and the limit of quantification (LOQ) were in the range of 0.068 6 to 0.857 6 μg/mL, 0.328 4 to 1.615 2 μg/mL respectively. The RSDs of stability, repeatability and intermediate precision tests were all lower than 3.0%. The average recovery rate of the above eight components was in the range of 97.90% to 101.44%, with the RSD in the range of 0.45% to 1.85% ( $n=6$ ). **Conclusion** This method is sensitive, simple and accurate, which can be used for the quality control of Xiaoe Qingre Zhike Oral Liquid.

**Key words:** Xiaoe Qingre Zhike Oral Liquid; HPLC; fingerprint; ephedrine hydrochloride; baicalin; amygdalin; content determination

小儿清热止咳口服液为《伤寒论》名方“麻杏石甘汤”加板蓝根、北豆根、黄芩而制成,有清热宣肺、平喘利咽功效,主治小儿外感风热所致咳嗽,症见发热、恶寒、咳嗽、咳黄痰、气促、喘息、口干、声音嘶哑、咽喉肿痛等<sup>[1-2]</sup>。2020年版《中国药典(一部)》中该制剂仅以盐酸麻黄碱为质量控制指标,成分单一,不能全面反映

制剂特征<sup>[3]</sup>,而中药指纹图谱已成为中药制剂质量控制的有效手段之一<sup>[4-12]</sup>。目前已有高效液相色谱(HPLC)法测定小儿清热止咳口服液中各类成分的报道<sup>[13-16]</sup>,但尚未见对其指纹图谱的研究。为此,本研究中尝试建立了该制剂的HPLC指纹图谱,并定量分析了除北豆根、石膏外的5味药材中的盐酸麻黄碱、黄芩苷、苦杏仁

苷、甘草酸铵、盐酸伪麻黄碱、黄芩素、甘草苷、(R,S)-告依春等8种成分,以为该制剂的质量控制提供理论依据。现报道如下。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

XSE205DU型电子天平(精度为0.01 mg)、S210型Seven Compact™ pH计(瑞士Mettler Toledo公司);Agilent 1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);WSZ-100A型回旋振荡器(上海一恒科学仪器有限公司)。

### 1.2 试药

小儿清热止咳口服液(浙江康恩贝制药股份有限公司,6批,批号分别为210610-1,210610-2,210611-1,210611-2,210612-1,210612-2,依次编号S1-S6,规格均为每支10 mL);盐酸麻黄碱对照品(批号为171241-201809,含量100.0%),黄芩苷对照品(批号为110715-202122,含量94.2%),苦杏仁苷对照品(批号为110820-201808,含量88.2%),甘草酸铵对照品(批号为110731-202021,含量96.2%),盐酸伪麻黄碱对照品(批号为171237-201510,含量99.9%),黄芩素对照品(批号为111595-201808,含量97.9%),甘草苷对照品(批号为111610-201908,含量95.0%), (R,S)-告依春对照品(批号为111753-202007,含量100.0%),均购自中国食品药品检定研究院;磷酸为高纯,甲醇、乙腈均为色谱纯,磷酸二氢钾为分析纯,水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm,2.7 μm);流动相:A为乙腈-甲醇(89:11,V/V),B为0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液(pH 3.2),梯度洗脱(0~5 min时2%A→3%A,5~15 min时3%A→5%A,15~25 min时5%A→10%A,25~35 min时10%A→15%A,35~60 min时15%A→25%A,60~68 min时25%A→41%A,68~75 min时41%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:210 nm(0~31 min),270 nm(31~75 min);柱温:30℃;进样量:10 μL。

### 2.2 溶液制备

混合对照品溶液:取盐酸麻黄碱、黄芩苷、苦杏仁苷、甘草酸铵、盐酸伪麻黄碱、黄芩素、甘草苷、(R,S)-告依春对照品各适量,精密称定,加50%甲醇制成每1 mL分别含20,380,90,40,10,10,20,7 μg的混合对照品溶液。

供试品溶液:精密量取样品5 mL,置100 mL容量瓶中,加50%甲醇50 mL,回旋振荡40 min,用50%甲醇定容,摇匀,即得。

阴性对照品溶液:按小儿清热止咳口服液处方及

工艺<sup>[1]</sup>制备缺石膏、炒苦杏仁、板蓝根、麻黄、黄芩、甘草、北豆根的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制备,即得。

### 2.3 HPLC 指纹图谱建立

#### 2.3.1 方法学考察

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液(编号S2)适量,分别于室温下放置0,6,12,18,24,36 h按2.1项下色谱条件进样测定。以黄芩苷(18号峰)为参照峰,结果各共有峰相对保留时间的RSD均小于0.49%(n=6),相对峰面积的RSD均小于2.79%(n=6),表明供试品溶液室温放置36 h内基本稳定。

重复性试验:取2.2项下供试品溶液(编号S2)适量,平行6份,按2.1项下色谱条件进样测定。以黄芩苷(18号峰)为参照峰,结果各共有峰相对保留时间的RSD均小于0.27%(n=6),相对峰面积的RSD均小于2.59%(n=6),表明方法重复性良好。

中间精密度试验:取2.2项下供试品溶液(编号S2)适量,平行6份,按2.1项下色谱条件进样测定,以黄芩苷(18号峰)为参照峰,同时取重复性试验项下6份样品共12份样品,结果各共有峰相对保留时间的RSD均小于1.15%(n=12),相对峰面积的RSD均小于3.14%(n=12),表明该方法中间精密度良好。

#### 2.3.2 指纹图谱生成

取编号S1-S6样品,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定。使用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版),以S1为参照图谱,选择中位数法,设定时间宽度为0.1 min,经多点校正进行匹配,生成叠加指纹图谱及对照图谱,详见图1和图2。

#### 2.3.3 共有峰指认及归属

共28个共有峰,将对照指纹图谱与对照品保留时间、紫外吸收光谱进行对比,指认了8种成分,分别为(R,S)-告依春(1号峰)、盐酸麻黄碱(2号峰)、盐酸伪麻黄碱(3号峰)、苦杏仁苷(7号峰)、甘草苷(12号峰)、黄芩苷(18号峰)、黄芩素(27号峰)、甘草酸铵(28号峰),其中选取分离度较好,峰面积较大且稳定,保留时间适中的黄芩苷峰(18号峰)为参照峰(s)。将单味药材图谱与样品图谱进行对比,确认1号峰来自板蓝根,2-3,5号峰来自麻黄,6-7号峰来自炒苦杏仁,9-11号峰来自北豆根,12-13,19,28号峰来自甘草,13-27号峰来自黄芩。4,8号峰尚无药材归属,可能因为在煎煮过程产生了新成分。详见表1。

#### 2.3.4 相似度评价

采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)计算6批样品的相似度,结果均大于0.99,表明各批样品间的相似度高。

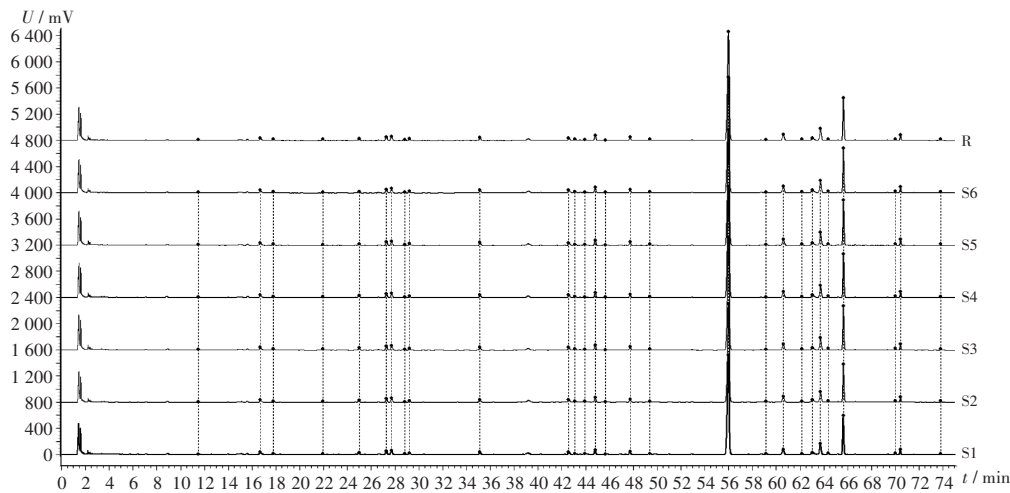


图1 6批小儿清热止咳口服液的高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprint of six batches of Xiaoe Qingre Zhike Oral Liquid

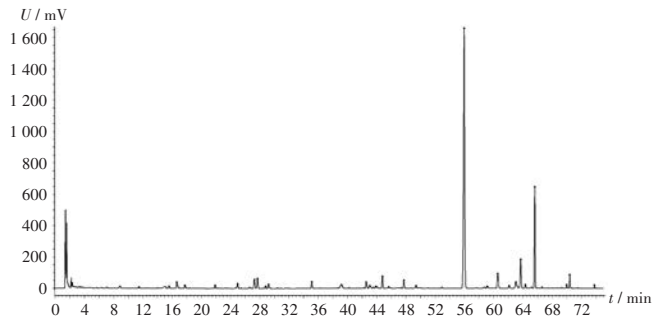


图2 小儿清热止咳口服液对照图谱

Fig. 2 HPLC reference fingerprint of Xiaoe Qingre Zhike Oral Liquid

## 2.4 各成分含量测定

### 2.4.1 方法学考察

专属性试验:取混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,按 2.1 项下色谱条件进样测定。结果各成分色谱峰分离度均大于 1.5,且阴性对照无干扰。详见图 3。

线性关系考察:取各对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇稀释制成不同质量浓度的系列对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定。以待测成分质量浓度 ( $X, \mu\text{g}/\text{mL}$ ) 为横坐标、峰面积 ( $Y$ ) 为纵坐标进行线性回

表 1 共有峰归属及指认

Tab. 1 Attribution and identification of common peaks

| 峰号 | 保留时间(min) | 药材归属 | 峰指认       | 峰号 | 保留时间(min) | 药材归属  | 峰指认 | 峰号 | 保留时间(min) | 药材归属  | 峰指认 | 峰号 | 保留时间(min) | 药材归属 | 峰指认  |
|----|-----------|------|-----------|----|-----------|-------|-----|----|-----------|-------|-----|----|-----------|------|------|
| 1  | 11.404    | 板蓝根  | (R,S)-告依春 | 8  | 28.669    |       |     | 15 | 45.496    | 黄芩    |     | 22 | 62.837    | 黄芩   |      |
| 2  | 16.575    | 麻黄   | 盐酸麻黄碱     | 9  | 29.075    | 北豆根   |     | 16 | 47.560    | 黄芩    |     | 23 | 63.530    | 黄芩   |      |
| 3  | 17.686    | 麻黄   | 盐酸伪麻黄碱    | 10 | 34.996    | 北豆根   |     | 17 | 49.219    | 黄芩    |     | 24 | 64.210    | 黄芩   |      |
| 4  | 21.806    |      |           | 11 | 42.414    | 北豆根   |     | 18 | 55.755    | 黄芩    | 黄芩苷 | 25 | 65.523    | 黄芩   |      |
| 5  | 24.872    | 麻黄   |           | 12 | 42.904    | 甘草    | 甘草苷 | 19 | 58.969    | 黄芩、甘草 |     | 26 | 69.969    | 黄芩   |      |
| 6  | 27.151    | 炒苦杏仁 |           | 13 | 43.759    | 黄芩、甘草 |     | 20 | 60.382    | 黄芩    |     | 27 | 70.380    | 黄芩   | 黄芩素  |
| 7  | 27.587    | 炒苦杏仁 | 苦杏仁苷      | 14 | 44.624    | 黄芩    |     | 21 | 61.942    | 黄芩    |     | 28 | 73.749    | 甘草   | 甘草酸铵 |

归,结果见表 2。

检测限与定量限考察:取 8 种对照品,分别用 50% 甲醇溶解并逐级稀释,按 2.1 项下色谱条件进样测定。分别以信噪比 ( $S/N$ ) 为 3:1 和 10:1 时待测成分的质量浓度作为检测限和定量限,结果见表 2。

稳定性、重复性及中间精密度试验:按 2.3.1 项下对应方法进行稳定性、重复性及中间精密度试验。结果的  $RSD$  均小于 3.0%,表明方法精密度良好,供试品溶液在室温下放置 36 h 内基本稳定,方法重复性、精密度良好。

加样回收试验:精密量取本品 2.5 mL,置 100 mL 容

量瓶中,分别精密加入 8 种对照品各适量,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,平行 6 份,记录峰面积,并计算加样回收率,结果见表 3。

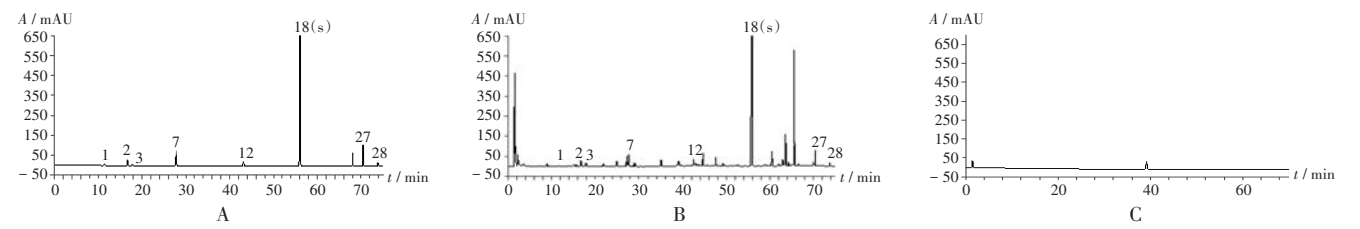
### 2.4.2 样品含量测定

取 6 批样品,各平行 2 份,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品含量,结果见表 4。

## 3 讨论

### 3.1 提取溶剂选择

预试验中分别选择 50% 甲醇、50% 乙腈等不同提



1. (R,S) - 告依春 2. 盐酸麻黄碱 3. 盐酸伪麻黄碱 7. 苦杏仁苷 12. 甘草苷 18. 黄芩苷 27. 黄芩素 28. 甘草酸铵  
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图3 高效液相色谱图

1. (R,S) - epigotitrin 2. Ephedrine hydrochloride 3. Pseudoephedrine hydrochloride 7. Amygdalin 12. Liquiritin 18. Baicalin 27. Baicalein  
28. Ammonium glycyrrhizinate

A. Mixed reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 3 HPLC chromatograms

表2 线性关系及检测限、定量限考察结果

Tab. 2 Results of the linear relation test, LOD and LOQ investigation

| 待测成分  | 回归方程                        | 线性范围<br>(μg/mL) | r      | 检测限<br>(μg/mL) | 定量限<br>(μg/mL) | 待测成分        | 回归方程                        | 线性范围<br>(μg/mL) | r      | 检测限<br>(μg/mL) | 定量限<br>(μg/mL) |
|-------|-----------------------------|-----------------|--------|----------------|----------------|-------------|-----------------------------|-----------------|--------|----------------|----------------|
| 盐酸麻黄碱 | $Y_1 = 19.405 X_1 + 2.3158$ | 2.05~41.06      | 0.9999 | 0.1369         | 0.2737         | 盐酸伪麻黄碱      | $Y_3 = 19.758 X_3 + 0.0281$ | 1.09~21.90      | 1.0000 | 0.1095         | 0.3284         |
| 黄芩苷   | $Y_2 = 30.008 X_2 + 75.438$ | 38.42~768.48    | 0.9999 | 0.1281         | 0.2562         | 黄芩素         | $Y_6 = 47.648 X_6 + 18.908$ | 1.49~29.80      | 0.9994 | 0.3725         | 0.7450         |
| 苦杏仁苷  | $Y_3 = 9.3053 X_3 + 3.8264$ | 9.00~179.93     | 1.0000 | 0.4498         | 0.8996         | 甘草苷         | $Y_7 = 16.429 X_7 + 1.4506$ | 1.94~38.87      | 0.9999 | 0.2429         | 0.4859         |
| 甘草酸铵  | $Y_4 = 3.3804 X_4 + 0.3198$ | 3.23~64.61      | 1.0000 | 0.8576         | 1.6152         | (R,S) - 告依春 | $Y_8 = 23.332 X_8 + 4.8269$ | 0.69~13.71      | 0.9998 | 0.0686         | 0.2057         |

表3 加样回收试验结果 (n = 6)

Tab. 3 Results of the recovery test (n = 6)

| 待测成分  | 样品含量(mg) | 加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) | $\bar{X}$ (%) | RSD(%) | 待测成分        | 样品含量(mg) | 加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) | $\bar{X}$ (%) | RSD(%) |
|-------|----------|---------|---------|--------|---------------|--------|-------------|----------|---------|---------|--------|---------------|--------|
| 盐酸麻黄碱 | 1.0100   | 1.0335  | 2.0508  | 100.71 | 101.44        | 1.06   | 盐酸伪麻黄碱      | 0.4525   | 0.4433  | 0.8910  | 98.92  | 100.05        | 1.57   |
|       | 1.0100   | 1.0335  | 2.0665  | 102.23 |               |        |             | 0.4525   | 0.4433  | 0.9049  | 102.05 |               |        |
|       | 1.0100   | 1.0335  | 2.0703  | 102.59 |               |        |             | 0.4525   | 0.4433  | 0.8880  | 98.24  |               |        |
|       | 1.0100   | 1.0335  | 2.0405  | 99.71  |               |        |             | 0.4525   | 0.4433  | 0.8960  | 100.05 |               |        |
|       | 1.0100   | 1.0335  | 2.0638  | 101.96 |               |        |             | 0.4525   | 0.4433  | 0.9038  | 101.80 |               |        |
|       | 1.0100   | 1.0335  | 2.0581  | 101.41 |               |        |             | 0.4525   | 0.4433  | 0.8925  | 99.26  |               |        |
| 黄芩苷   | 26.4579  | 27.3036 | 53.2577 | 98.15  | 97.97         | 0.45   | 黄芩素         | 0.4675   | 0.4757  | 0.9421  | 99.77  | 99.53         | 1.51   |
|       | 26.4579  | 27.3036 | 53.1578 | 97.79  |               |        |             | 0.4675   | 0.4757  | 0.9377  | 98.84  |               |        |
|       | 26.4579  | 27.3036 | 53.3139 | 98.36  |               |        |             | 0.4675   | 0.4757  | 0.9446  | 100.29 |               |        |
|       | 26.4579  | 27.3036 | 52.9931 | 97.19  |               |        |             | 0.4675   | 0.4757  | 0.9291  | 97.04  |               |        |
|       | 26.4579  | 27.3036 | 53.3112 | 98.35  |               |        |             | 0.4675   | 0.4757  | 0.9504  | 101.51 |               |        |
|       | 26.4579  | 27.3036 | 53.2168 | 98.00  |               |        |             | 0.4675   | 0.4757  | 0.9419  | 99.73  |               |        |
| 苦杏仁苷  | 3.3563   | 3.4435  | 6.7288  | 97.94  | 98.32         | 0.53   | 甘草苷         | 0.6350   | 0.6829  | 1.3353  | 102.55 | 99.48         | 1.71   |
|       | 3.3563   | 3.4435  | 6.7577  | 98.78  |               |        |             | 0.6350   | 0.6829  | 1.3148  | 99.55  |               |        |
|       | 3.3563   | 3.4435  | 6.7655  | 99.00  |               |        |             | 0.6350   | 0.6829  | 1.3127  | 99.24  |               |        |
|       | 3.3563   | 3.4435  | 6.7182  | 97.63  |               |        |             | 0.6350   | 0.6829  | 1.3033  | 97.86  |               |        |
|       | 3.3563   | 3.4435  | 6.7483  | 98.50  |               |        |             | 0.6350   | 0.6829  | 1.3039  | 97.95  |               |        |
|       | 3.3563   | 3.4435  | 6.7340  | 98.09  |               |        |             | 0.6350   | 0.6829  | 1.3159  | 99.71  |               |        |
| 甘草酸铵  | 1.6313   | 1.6000  | 3.2082  | 98.56  | 97.90         | 0.54   | (R,S) - 告依春 | 0.2063   | 0.2129  | 0.4145  | 97.79  | 99.09         | 1.85   |
|       | 1.6313   | 1.6000  | 3.1986  | 97.96  |               |        |             | 0.2063   | 0.2129  | 0.4219  | 101.27 |               |        |
|       | 1.6313   | 1.6000  | 3.1986  | 97.96  |               |        |             | 0.2063   | 0.2129  | 0.4180  | 99.44  |               |        |
|       | 1.6313   | 1.6000  | 3.1823  | 96.94  |               |        |             | 0.2063   | 0.2129  | 0.4160  | 98.50  |               |        |
|       | 1.6313   | 1.6000  | 3.1991  | 97.99  |               |        |             | 0.2063   | 0.2129  | 0.4213  | 100.99 |               |        |
|       | 1.6313   | 1.6000  | 3.1998  | 98.03  |               |        |             | 0.2063   | 0.2129  | 0.4119  | 96.57  |               |        |

表4 样品含量测定结果(mg/mL, n=2)

Tab. 4 Results of the content determination of eight components in samples (mg/mL, n=2)

| 编号 | 盐酸麻黄碱 | 黄芩苷    | 苦杏仁苷  | 甘草酸铵  | 盐酸伪麻黄碱 | 黄芩素   | 甘草苷   | (R,S)-告依春 |
|----|-------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|-----------|
| S1 | 0.414 | 10.696 | 1.361 | 0.632 | 0.185  | 0.183 | 0.272 | 0.084     |
| S2 | 0.406 | 10.669 | 1.359 | 0.639 | 0.185  | 0.185 | 0.265 | 0.083     |
| S3 | 0.475 | 12.274 | 1.430 | 0.803 | 0.216  | 0.218 | 0.265 | 0.083     |
| S4 | 0.468 | 12.211 | 1.418 | 0.797 | 0.214  | 0.220 | 0.307 | 0.082     |
| S5 | 0.472 | 12.607 | 1.447 | 0.768 | 0.209  | 0.230 | 0.303 | 0.085     |
| S6 | 0.462 | 12.521 | 1.429 | 0.739 | 0.207  | 0.229 | 0.295 | 0.084     |

取溶剂进行操作,结果表明,50%甲醇作为提取溶剂时供试品溶液色谱图的色谱峰更丰富,其成分色谱峰峰高也最高,故以其为提取溶剂。

3.2 流动相优化

预试验中比较了乙腈-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢铵、(乙腈-甲醇)-0.01 mol/L磷酸二氢钾等不同系统的洗脱效果,结果表明,选择乙腈-甲醇(89:11)-0.01 mol/L磷酸二氢钾洗脱系统时,供试品溶液色谱图中各成分分离度较好,故以该流动相进行梯度洗脱。

3.3 检测波长选择

预试验中采用DAD检测器对供试品溶液中各色谱峰的紫外吸收进行全波长扫描,结果(R,S)-告依春在245 nm波长处,苦杏仁苷、盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱在210 nm波长处,黄芩素、黄芩苷在276 nm波长处,甘草苷在234 nm波长处,甘草酸铵在250 nm波长处分别有最大吸收。为避免波长频繁切换造成基线漂移,且盐酸麻黄碱、苦杏仁苷、(R,S)-告依春、盐酸伪麻黄碱均在0~31 min出峰,而黄芩素、甘草酸铵、黄芩苷、甘草苷均在31~75 min出峰,故最终确定0~31 min时检测波长为210 nm,31~75 min时检测波长为270 nm,结果各共有峰均有较好吸收,能满足分析要求。

3.4 方法评价

本研究中建立了小儿清热止咳口服液HPLC指纹图谱,确定了28个共有峰,覆盖了方中除石膏外其余6味中药主要特征性成分,并同时盐酸麻黄碱、黄芩苷、苦杏仁苷、甘草酸铵、盐酸伪麻黄碱、黄芩素、甘草苷和(R,S)-告依春8个成分进行定量分析,方法灵敏、简便、准确,重复性好,能较全面地反映制剂的质量信息,可用于制剂的质量控制。处方中炒苦杏仁、北豆根均为小毒药材,故本研究中仅考察了炒苦杏仁中的苦杏仁苷含量,北豆根的蝙蝠葛苏林碱和蝙蝠葛碱等与安全性相关的指标有待进一步研究。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 634.

[2] 武 薇,徐梓轩,赵文字,等. 基于网络药理学与分子对接技术探讨小儿清热止咳口服液治疗小儿发热作用机制[J]. 神经药理学报, 2022, 12(4): 10-22.

[3] 钟 兰,肖小武,杨甲玺,等. 基于对照制剂的复方鲜竹沥液指纹图谱和多组分含量测定研究[J]. 中国药学杂志, 2023, 58(2): 178-187.

[4] 赵 娟,谢世静,赵兴华,等. 中药指纹图谱质控方法研究发展[J]. 云南中医中药杂志, 2020, 41(1): 82-86.

[5] 张 辉,黄凯伟,郑晓英,等. 筋骨草配方颗粒高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 中国药业, 2023, 32(8): 56-60.

[6] 关永霞,庄会芳,袁晓梅,等. 柴胡口服液超高效液相色谱指纹图谱及6组分含量测定研究[J]. 中国药业, 2022, 31(6): 78-82.

[7] 罗华玲,林海霞,朱敏凤,等. 佛手外皮和果肉的HPLC指纹图谱及多成分定量分析对比[J]. 食品工业科技, 2023, 44(6): 309-316.

[8] 杨 钊,高 欢,周浩明,等. 蓝布正HPLC指纹图谱建立及8种成分测定[J]. 中成药, 2023, 45(1): 123-126.

[9] 魏 培,曹春泉,朱瑞娟,等. 高效液相色谱指纹图谱法结合化学模式识别评价脑安胶囊整体质量[J]. 中国药业, 2023, 32(3): 67-72.

[10] 徐 鑫,魏 彤,薛倩倩,等. 基于定量指纹图谱技术的经典名方清骨散基准样品量值传递分析[J]. 色谱, 2023, 41(2): 142-151.

[11] 苟小军,黄 颖,李雯洁,等. 经典名方大秦芩的HPLC指纹图谱研究及多指标成分定量分析[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(5): 486-493.

[12] 王彬宇,黄家宇,陈思忆,等. 筋骨伤喷雾HPLC指纹图谱建立及8种成分测定[J]. 中成药, 2022, 44(1): 33-38.

[13] 陈玲玲. HPLC法测定小儿清热止咳口服液中苦杏仁苷、甘草苷和甘草酸的含量[J]. 海峡药学, 2017, 29(3): 79-83.

[14] 冯家龙. HPLC法测定小儿清热止咳口服液中(R,S)-告依春的含量[J]. 中国药房, 2013, 24(40): 3825-3827.

[15] 张 项,蔺 千,唐玉婷. HPLC波长切换法同时测定小儿清热止咳口服液中8种成分的含量[J]. 中国药师, 2019, 22(8): 1531-1534.

[16] 高瑞敏,王 萍. HPLC法对于小儿清热止咳口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量的检测结果分析[J]. 中国实用医药, 2013, 8(35): 232-234.

(收稿日期: 2023-06-06; 修回日期: 2023-11-11)