

# 高效液相色谱测定小儿肺热咳喘口服液中 绿原酸与木犀草苷的含量

李云贵<sup>1</sup>, 李冲<sup>2</sup>, 文翔昊<sup>2</sup>, 鲁启明<sup>2</sup>, 郭露<sup>2</sup>

(1. 长沙医学院药理学系, 湖南长沙 410219; 2. 南华大学附属南华医院小儿科)

**摘要:** **目的** 高效液相色谱法(HPLC)测定小儿肺热咳喘口服液中绿原酸与木犀草苷含量。 **方法** 采用 ODS 色谱柱, 室温下, 以乙腈(A) - 0.1% 磷酸(B) 为流动相直线梯度洗脱; 0 min(A:10%; B:90%), 30 min(A:30%; B:70%), 流速 0.9 mL/min, 检测波长为 327 nm。 **结果** 绿原酸和木犀草苷浓度分别在 4.0 ~ 40.0 μg/mL 和 0.46 ~ 4.6 μg/mL 范围内与峰面积呈良好的线性关系; 平均回收率分别为 98.6% 和 98.2%。 **结论** 本方法简便可行, 结果准确可靠, 可用于小儿肺热咳喘口服液的质量控制。

**关键词:** 高效液相色谱法; 绿原酸; 木犀草苷; 小儿肺热咳喘口服液

中图分类号: R284 文献标识码: A

## Determination of Chlorogenic Acid and Galuteolin in Xiao'er Feire Kechuan Oral Liquid by High Performance Liquid Chromatography

LI Yungui, LI Chong, WEN Xianghao, et al

(Department of pharmacy, Medical College of Changsha, Hunan, Changsha 410219, China)

**Abstract:** **Objective** To determination of chlorogenic acid and galuteolin in Xiao'er Feire Kechuan oral liquid by high performance liquid chromatography (HPLC). **Methods** Chromatographic analysis was performed on ODS column with the room temperature. The mobile phase was acetonitrile(A) and 0.1% phosphoric acid(B) and the linear gradient mode was arranged as follows: 0 min(A:10%; B:90%), 30 min(A:30%; B:70%). The flow rate was 0.9 mL · min<sup>-1</sup> and the detection wavelength was 327 nm. **Results** The calibration curves of chlorogenic acid and galuteolin were separately linear in the ranges of 4.0 ~ 40.0 μg/mL and 0.46 ~ 4.6 μg/mL with correlation coefficient 0.9990. The average recoveries were 98.6% and 98.2%. **Conclusion** The method is simple, rapid and reliable. So it can be used as quantitative determination for quality control of Xiao'er Feire Kechuan oral liquid.

**Key words:** high performance liquid chromatography; chlorogenic acid; galuteolin; Xiao'er Feire Kechuan oral liquid

小儿肺热咳喘口服液收载于《中国药典》2010年版一部<sup>[1]</sup>, 是由麻黄、苦杏仁、黄芩、金银花等中药组方制成的中药制剂, 具有清热解毒、宣肺化痰的功效, 可明显改善流感患儿发热或高热、恶寒、肌肉

酸痛、鼻塞流涕、咳嗽、头痛、咽干咽痛等临床症状和体征。现行《中国药典》中该药的含量测定项目仅对麻黄碱进行测定。而金银花具有很强的抗菌解毒作用, 是本品中的重要有效成分之一。绿原酸与木犀草苷为金银花中重要成分, 建立可行的绿原酸与木犀草苷含量测定方法, 可更全面控制该药有效成分的含量。参考测定金银花中绿原酸和木犀草苷含量文献[2-4], 本文采用高效液相色谱法测定小儿肺热咳喘口服液中绿原酸及木犀草苷含量, 结果准确, 操作方便, 可用于该制剂的质量控制。

收稿日期: 2013-01-28

基金项目: 湖南省中医药局重点课题项目(201211)。

作者简介: 李云贵, 硕士, 研究方向: 中药有效成分及其质量分析研究, E-mail: 909885422@qq.com. 李冲为并列第一作者, E-mail: 29622986@qq.com.

## 1 仪器与试药

高效液相色谱仪(LC-2010A HT, 岛津), 绿原酸和木犀草苷对照品(中国药品生物制品检定所, 110753-200413, 111720-200602), 小儿肺热咳喘口服液(黑龙江葵花药业股份有限公司, 规格: 每支装 10 mL), 乙腈为色谱纯, 磷酸为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液制备

**2.1.1 供试品溶液** 取样品适量, 混匀, 精密量取 1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 超声处理 5 min, 放冷至室温, 用 50% 甲醇定容至刻度, 摇匀, 用 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

**2.1.2 对照品溶液** 用 50% 甲醇溶解绿原酸和木犀草苷对照品, 制成每 1 mL 含绿原酸 40.0  $\mu\text{g}$  和木犀草苷 4.6  $\mu\text{g}$  的对照品溶液。

### 2.2 色谱条件与分析

采用十八烷基硅烷键合硅胶(octadecyl silane, ODS)色谱柱, 以乙腈(A) - 0.1% 磷酸(B)为流动相梯度洗脱: 0 min (A: 10%; B: 90%), 30 min (A: 30%; B: 70%), 流速 0.9 mL/min, 检测波长 327 nm, 柱温为室温, 进样量 10  $\mu\text{L}$ 。在上述色谱条件下, 分别取对照品、加有对照品的样品及样品测定, 其色谱图见图 1。

### 2.3 线性关系

精密吸取绿原酸浓度为 40.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的对照品溶液 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀。按上述色谱条件进样测定, 记录峰面积, 以峰面积(Y)为纵坐标、进样浓度(X)为横坐标进行线性回归, 得绿原酸的回归方程分别为:  $Y = 33506X + 3439$ ,  $r^2 = 0.9989$ , 线性范围为 4.0 ~ 40.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。同样方法, 精密吸取木犀草苷浓度为 4.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的对照品溶液稀释后测定, 得木犀草苷的回归方程分别为:  $Y = 27077X - 5049$ ,  $r^2 = 0.9990$ , 线性范围分别为 0.46 ~ 4.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

### 2.4 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 连续进样 5 次, 结果绿原酸、木犀草苷峰面积的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)分别为 0.71% 和 0.37%, 表

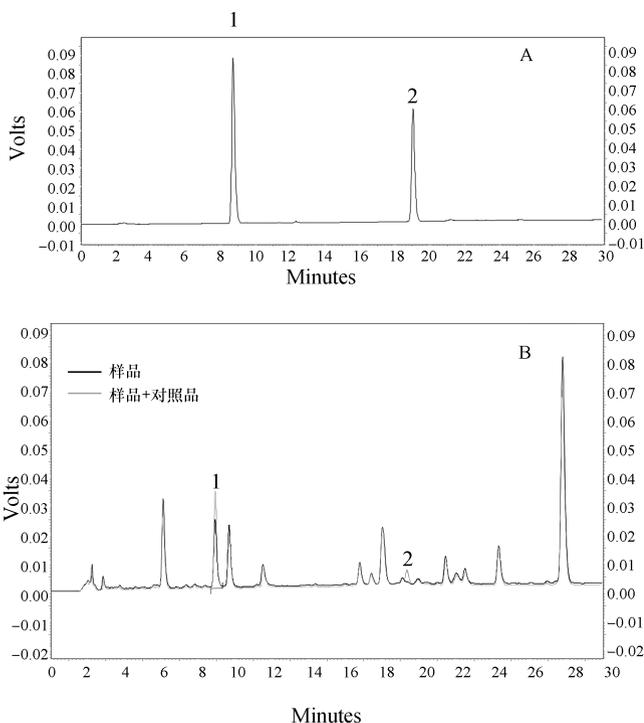


图 1 高效液相色谱图 A: 对照品, B: 样品与加有绿原酸与木犀草苷对照品的样品; (1: 绿原酸, 2: 木犀草苷)

明仪器的精密性良好。

### 2.5 重复性试验

取同 1 批号样品 5 份, 分别按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液, 进样测定。结果绿原酸及木犀草苷的含量分别为 0.3678 mg/mL 和 0.0609 mg/mL, RSD 分别为 0.26% 和 0.91%, 说明本法重复性良好。

### 2.6 稳定性试验

取同 1 批供试品溶液, 在常温下放置, 于 12 h 内每间隔 2 h 测定 1 次, 连续共测定 7 次, 结果绿原酸及木犀草苷峰面积的 RSD 分别为 1.6% 和 1.4%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

### 2.7 回收率试验

取已知含绿原酸 0.1839 mg、木犀草苷 0.0339 mg 的小儿肺热咳喘口服液 6 份, 每份 0.5 mL, 分别置 50 mL 量瓶中, 精密加入绿原酸和木犀草苷对照品溶液各 0.183 mg 和 0.034 mg, 按照“2.1.1”项下方法制备供试溶液, 按上述色谱条件分别测定, 计算回收率。结果样品中绿原酸和木犀草苷平均回收率分别为 98.6% 和 98.2%, RSD 分别为 1.8% 和 2.1%。

## 2.8 样品含量测定

精密量取小儿肺热咳喘口服液样品 1 mL, 按“2.1.1”项下方法配制供试品溶液; 另精密称取绿原酸与木犀草苷对照品适量, 按上述色谱条件, 每次进样 10  $\mu$ L, 记录峰面积, 按外标法计算含量。结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果 (mg/mL,  $n=6$ )

样品编号	木犀草苷	绿原酸
1	0.0609	0.3678
2	0.0684	0.3709
3	0.0733	0.4510

## 3 讨 论

本实验分别考察了甲醇-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.5%冰醋酸溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液等作为流动相进行梯度洗脱的效果, 经过反复多次实验后, 最终确定乙腈-0.1%磷酸水溶液作为流动相, 并进行梯度洗脱所得色谱图基线平稳, 绿原酸与木犀草苷分离良好, 两成分与其相邻的色谱峰也达到基线分离, 峰形对称。考察本法的方法学指标结果表明该法达到分析要求, 表明本法可用于小儿肺热咳喘口服液中绿原酸与木犀草苷的同时含量测定。

小儿肺热咳喘口服液是专门针对儿童设计的一种中药复方制剂, 在临床上具有很好的防治急性呼吸道感染的作用, 是儿童普通感冒和流行感冒的基本药物。该药在 2009 年被黑龙江省卫生厅列为全国首个预防和治疗“儿童甲型 H1N1 流感”的指定

用药。研究证实其防治流感作用机制可能与抑制流感病毒复制和提高免疫系统功能有关<sup>[5]</sup>。2010 年版《中国药典》对小儿肺热咳喘口服液的鉴别项目新增连翘苷, 但含量测定项下仍仅测定盐酸麻黄碱。由于中药来源丰富, 成分复杂, 以中成药中主要药材的有效成分为分析目标, 是建立有效的中成药质量标准的基础。金银花是小儿肺热咳喘口服液主要药材之一, 而市场和企业有以价廉的山银花冒充金银花入药的现象。2005 年版《中国药典》已将金银花和山银花分列, 并增加了金银花中木犀草苷含量的测定。因此, 准确、有效地检测含金银花制剂的绿原酸和木犀草苷的含量, 将为其有效的质量标准的制订提供依据。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会编.《中华人民共和国药典》[M]. 第一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 485-486.
- [2] 王艳艳, 徐晓玉, 邓君, 等. HPLC 法同时测定灰毡毛忍冬中绿原酸与木犀草苷的含量[J]. 中药材, 2009, 32(11): 1705-1707.
- [3] 库尔班江, 苏文琴, 张鹏威. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定金银花中绿原酸和木犀草苷的含量[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(6): 1441-1442.
- [4] Gu XH, Xu R, Yuan GL, et al. Preparation of chlorogenic acid surface-imprinted magnetic nanoparticles and their usage in separation of traditional Chinese medicine [J]. Anal Chim Acta, 2010, 675(1): 64-70.
- [5] 郭姗姗, 刘颖, 高英杰, 等. 小儿肺热咳喘口服液防治甲型 H1N1 流感病毒感染免疫低下小鼠的研究[J]. 实验方剂学杂志, 2010, 16(17): 172-176.

(此文编辑: 秦旭平)