

# HPLC 法测定小儿肺热咳喘口服液中连翘苷的含量

## Determination of Phillyrin in Lung-heat Cough Oral Solution for Children by HPLC

覃晓媚, 陆红萍, 黄妹春, 周征福, 韦 薇, 黄 园, 陈晓军

QIN Xiao-mei, LU Hong-ping, HUANG Mei-chun, ZHOU Zheng-fu, WEI Wei, HUANG Yuan, CHEN Xiao-jun

(广西博科药业有限公司, 广西南宁 530007)

(Guangxi Boke Pharmaceutical CO., LTD. Nanning, Guangxi, 530007, China)

**摘要:**采用 C18 色谱柱(4.6 mm×250mm, 5 $\mu$ m), 以乙腈-水(25:75)为流动相, 流速 1.0 ml·min<sup>-1</sup>, 检测波长 277nm, 建立反相高效液相色谱法(HPLC)测定小儿肺热咳喘口服液中的连翘苷含量。结果表明, 连翘苷在 0.4132~4.132 $\mu$ g 范围内与峰面积呈良好线性关系,  $r=0.9999$ , 平均加样回收率为 98.02%, RSD 为 1.24% ( $n=6$ )。本方法分离度好, 干扰小, 并具有良好的重复性, 适用于小儿肺热咳喘口服液中连翘苷的含量测定。

**关键词:**连翘苷 含量 小儿肺热咳喘口服液 高效液相色谱法

中图分类号:O657.72, R917 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2011)04-0359-02

**Abstract:** The HPLC determination method was used to detect the phillyrin in lung-heat cough oral solution for children by C18 (4.6 mm×250mm, 5 $\mu$ m), and acetonitrile and water (25:75) were used as the mobile phase. The flow was set at 1.0 ml·min<sup>-1</sup>, and the detection wavelength was 277nm. The precision and stability were fine in those conditions. The calibration curve was linear over the range of 0.4132~4.132 $\mu$ g for phillyrin ( $r=0.9999$ ). The average recovery rate ( $n=6$ ) was 98.02% for phillyrin. The proposed method can be used in the quantitative analysis of phillyrin in lung-heat cough oral solution for children.

**Key words:** phillyrin, content, lung-heat cough oral solution for children, HPLC

小儿肺热咳喘口服液是以麻黄、苦杏仁、石膏、甘草、金银花、连翘、知母等 11 味中药制成的中药复方制剂, 具有清热解毒、宣肺化痰的功效, 主要用于热邪犯于肺卫所致发热、汗出、微恶风寒、咳嗽、痰黄, 或兼喘息、口干而渴等症, 其标准收载于 2010 年版《中国药典》一部 485 页, 标准采用高效液相色谱法测定本品中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量<sup>[1]</sup>。但是其含量控制指标单一, 不能很好控制产品质量。为完善本品的质量控制方法, 提高产品质量可控性, 本文首次采用高效液相色谱法测定本品中连翘苷的含量。参考文献<sup>[2~7]</sup>, 制定了本品中连翘苷的 HPLC 测定方法, 并进行了方法学验证。实验结果表明, 该方法分离度高, 干扰小, 并且具良好的重复性, 可以用于小儿清肺止咳口服液的质量控制。

收稿日期:2011-01-07

作者简介:覃晓媚(1968-), 女, 工程师, 主要从事质量管理和质量检验工作。

## 1 实验仪器与试剂

日本岛津 LC-10ATvp 高效液相色谱仪, SPD-10Avp 紫外检测器, 威玛珑色谱工作站; 梅特勒-托利多 AB265-S 分析天平(梅特勒-托利多公司出品); 阿修罗 AXLC1820 超纯水机(重庆阿修罗科技发展有限公司出品)。

连翘苷化学对照品(批号:110821-200406)购于中国食品药品检定研究院。小儿肺热咳喘口服液(批号:201101016)是黑龙江葵花药业股份有限公司产品。乙腈为色谱纯, 水为自制超纯水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 实验方法与结果

### 2.1 色谱条件

Thermo Hypersil GOLD 色谱柱(4.6 mm×250mm, 5 $\mu$ m), 流动相为乙腈-水(25:75), 流速 1.0 ml·min<sup>-1</sup>, 检测波长 277nm。

## 2.2 对照品、供试品和阴性样品溶液制备

精密称取连翘苷对照品 10.33mg, 置入 50ml 容量瓶中, 加入 50% 甲醇使其溶解并稀释至刻度, 摇匀 (206.6 $\mu$ g/ml); 精密量取 5ml, 置入 10ml 容量瓶中, 加入 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 (每 1ml 含连翘苷 103.3 $\mu$ g) 连翘苷对照品溶液。

精密量取小儿肺热咳喘口服液 5.0ml, 加在中性氧化铝柱 (100~200 目, 6g, 内径为 1cm) 上, 用 70% 乙醇 50ml 洗脱, 收集洗脱液, 浓缩至干, 残渣加 50% 甲醇适量, 温热使其溶解, 转移至 5ml 容量瓶中, 定容, 即得供试品溶液。

按处方比例称取除连翘外的药味, 按制法制成连翘阴性制剂, 再取此阴性制剂按上述供试品溶液的制备方法制备不含连翘的阴性样品溶液。

## 2.3 专属性试验

分别吸取对照品溶液、供试品溶液及不含连翘的阴性样品溶液各 20 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 绘制色谱。结果 (图 1) 其他组分对测定无干扰。

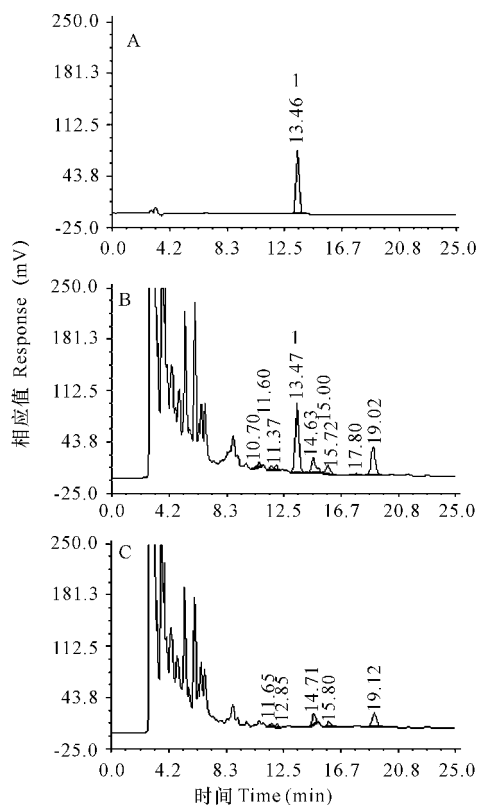


图 1 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC chromatograms

A. 对照品, B. 小儿肺热咳喘口服液样品, C. 连翘阴性样品, 1. 连翘苷。

A. Reference substances chromatogram, B. Sample of lung-heat cough oral solution for children chromatogram, C. Negative sample without *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl. chromatogram, 1. phillyrin.

## 2.4 标准曲线测定

精密称取连翘苷对照品溶液 10.33mg, 置入 50ml 容量瓶中, 加入 50% 甲醇使其溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 1ml、2ml、5ml、8ml、10ml, 分别置入 10ml 量瓶中, 加 50% 甲醇使其溶解至刻度, 摇匀。按上述色谱条件, 分别进样 20 $\mu$ l, 测定。以峰面积积分值 A 对连翘苷含量 C ( $\mu$ g) 进行回归分析, 绘制标准曲线, 得回归方程为:  $A = 6.96 \times 10^5 C - 4.10 \times 10^4$ ,  $r = 0.9999$ 。说明连翘苷进样量在 0.4132~4.132 $\mu$ g 范围内线性关系良好。

## 2.5 精密度、稳定性和重复性试验

精密度试验分别精密吸取 103.3 $\mu$ g/ml 的连翘苷对照品溶液 20 $\mu$ l, 重复进样 5 次, 结果连翘苷峰面积平均值为 1383870, RSD 为 0.44%, 表明仪器精密度较好。稳定性试验取供试品溶液, 分别放置 0h、2h、4h、6h、8h、24h 时进样 20 $\mu$ l, 依法测定峰面积, 结果连翘苷峰面积平均值为 1705963, RSD 为 1.76%, 表明供试品溶液在 24h 内稳定性好。重复性试验取同一批样品, 按供试品溶液的制备方法制备 6 份供试品溶液, 依法测定, 计算含量及相对标准偏差, 结果连翘苷平均含量每支 1.27mg, RSD 为 1.92%, 表明方法重复性较好。

## 2.6 加样回收率试验

精密量取已测知含量 (0.127mg/ml) 的样品 2.5ml, 加在中性氧化铝柱 (100~200 目, 6g, 内径为 1cm) 上, 精密加入 0.1033mg/ml 连翘苷对照品溶液 (精密称取连翘苷对照品 10.33mg, 置入 100ml 容量瓶中, 加入 50% 甲醇使其溶解并稀释至刻度, 摇匀制得) 3ml, 按照供试品溶液制备方法试验, 平行 6 份, 依法测定, 计算加样回收率, 结果 (表 1) 连翘苷平均回收率为 98.02%, RSD 为 1.24%。方法回收率比较好。

表 1 连翘苷加样回收率试验

Table 1 Experiments of recovery for phillyrin

编号 No.	样品含量 Sample contents (mg)	加入量 Adding amount (mg)	测得量 Measured amount (mg)	回收量 Recovery amount (mg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
1	0.3175	0.3099	0.6221	0.3046	98.29	98.02	1.24
2			0.6211	0.3036	97.97		
3			0.6257	0.3082	99.45		
4			0.6242	0.3067	98.97		
5			0.6151	0.2976	96.03		
6			0.6194	0.3019	97.42		

(下转第 368 页 Continue on page 368)

西南桦选优的主要性状指标。本研究采用了林分对比法和单株对比法选择西南桦优质林分和优良单株,与陈强的相同之处,都是采用对比法选择优良单株,采用的指标也是材积生长量以及树干通直圆满度,不同之处是增加了优质林分选择环节;此外,本研究还进行了子代测定,测定结果表明,子代林继承了采种母树生长速度快、树干通直圆满的优良性状,说明优树选择是成功的。因此,选择体现林木生长量综合指标的材积生长量以及木材质量指标之一的通直圆满度作为西南桦选优的主要性状,普遍被人们所接受,具有现实指导意义。毕波<sup>[2]</sup>、陈国彪<sup>[3]</sup>、郭文福<sup>[4,5]</sup>等开展了西南桦种源选择和优良家系苗期选择试验,也采用了对比法进行苗期或幼林早期的优树选择,但是没有进行子代测定。我们认为,优树选择应当经过子代测定才能充分证明选择结果的科学性和合理性,采集优良单株的种子进行育苗造林和子代测定,则更加科学合理。

本次研究确定凌云县伶站乡、右江区大楞乡和靖西县五岭林场的西南桦天然林已经成为百色市西南桦采种基地,制定了《百色市西南桦天然林采种基地

建设方案》,在百色市林业局建立了西南桦种子冷藏库,2000年初开始采种育苗,每年采种量约25kg。2001~2004年开展示范造林。从现有的西南桦天然林中选择优树,既是保护西南桦优良种质资源的重要基础,也是解决良种问题的技术关键。

参考文献:

- [1] 陈强,周跃华,常恩福,等.西南桦优树选择的研究[J].浙江林学院学报,2005,22(3):291-295.
- [2] 毕波,陈强,周跃华,等.西南桦优良家系苗期选择的研究[J].广西林业科学,2005,34(2):58-62.
- [3] 陈国彪.福建漳州西南桦种源家系试验初报[J].福建林业科技,2005,32(3):78-81.
- [4] 郭文福,曾杰,黎明.广西凭祥西南桦种源家系选择试验[J].幼林生长性状的变异,林业科学研究,2008,21(5):652-656.
- [5] 郭文福.西南桦种源(家系)联合试验苗木生长观察[J].广西林业科学,2005,34(2):63-68.

(责任编辑:邓大玉)

(上接第360页 Continue from page 360)

### 3 结束语

本实验参考2010年版《中国药典》一部连翘含量测定项,选择277nm作为检测波长。色谱柱选择时,我们比较不同厂家色谱柱对分离效果的影响后,对Thermo Hypersil GOLD C18色谱柱(4.6mm×250mm,5μm),YMC-Pack ODS-A C18(4.6mm×150mm,5μm),Welch Ultimate XB-C18(4.6mm×250mm,5μm)进行了实验,结果分离效果均较好;综合考虑了价格和耐用性,以及色谱峰的理论塔板数、分离度等因素,本实验选用Thermo Hypersil GOLD C18色谱柱(4.6mm×250mm,5μm)。

供试品溶液的制备中,由于小儿肺热咳喘口服液药味比较多,成分比较复杂,而且含有糖类水溶性成分,因此在测定连翘苷含量时,须对其进行分离纯化。我们在实验中曾取口服液直接稀释进样,发现杂质峰干扰比较严重,连翘苷峰无法与杂质峰完全分离。本实验参考文献[4],采用70%甲醇作为洗脱液和中性氧化铝柱进行样品前处理,能够有效地去除杂

质干扰。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:159.
- [2] 楼灵通,叶英响,宋俊英.HPLC法测定风痛安胶囊中连翘苷的含量[J].浙江中医杂志,2011,46(3):215-216.
- [3] 何绍萍,陈华龙.高效液相色谱法测定小儿清解冲剂中连翘苷的含量[J].中国药业,2011,20(3):21-22.
- [4] 汪永忠,夏伦祝,陈莉,等.HPLC法测定重连口服液连翘苷的含量[J].中医临床杂志,2010,22(4):340-341.
- [5] 索银科,邝小莉,罗兰,等.HPLC法测定退热解毒注射液连翘苷的含量[J].中国药事,2010,24(10):1005-1007.
- [6] 程晓英,赵明会.高效液相色谱法测定双黄连注射液中连翘苷含量[J].中国药业,2011,20(8):41-42.
- [7] 范瑞,冯慧.高效液相色谱法测定清喉咽颗粒中连翘苷的含量[J].海峡药学,2010,22(6):87-88.

(责任编辑:邓大玉)