

· 中药工业 ·

小儿消积止咳口服液的 HPLC 指纹图谱研究<sup>△</sup>范建伟<sup>1,2,3</sup>, 刘武占<sup>1,2,3</sup>, 李艳芳<sup>1,2,3</sup>, 张贵民<sup>1,2,3</sup>, 苏瑞强<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 鲁南制药集团股份有限公司, 山东 临沂 276006;

2. 中药制药共性技术国家重点实验室, 山东 临沂 276006;

3. 山东省中药制药新技术重点实验室, 山东 临沂 276006)

**[摘要]** 目的: 建立小儿消积止咳口服液的 HPLC 指纹图谱, 科学评价及有效控制该制剂的质量, 保证其生产的稳定性。方法: 采用 HPLC 建立小儿消积止咳口服液的指纹图谱, 采用国家药典委员会《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》软件(2004 A 版)对 22 批小儿消积止咳口服液样品进行相似度评价。结果: 通过 22 批样品的测定, 以柚皮苷峰为参照峰, 建立了小儿消积止咳口服液的 HPLC 指纹图谱, 相似度均在 0.90 以上, 共确认了 19 个共有色谱峰。结论: 所建立的方法稳定、可靠、重复性好, 可为小儿消积止咳口服液的质量控制提供依据。

**[关键词]** 小儿消积止咳口服液; 指纹图谱; 高效液相色谱

## HPLC Fingerprint Study of Xiao'er Xiaoji Zhike Oral Liquid

FAN Jianwei<sup>1,2,3</sup>, LIU Wuzhan<sup>1,2,3</sup>, LI Yanfang<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Guimin<sup>1,2,3</sup>, SU Ruiqiang<sup>1,2,3\*</sup>

(1. Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 276006, China;

2. State Key Laboratory of Generic Manufacture Technology of Chinese Traditional Medicine, Linyi 276006, China;

3. Shandong Provincial Key Laboratory of New Manufacture Technology of Chinese Traditional Medicine, Linyi 276006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish HPLC fingerprint of Xiao'er Xiaoji Zhike Oral Liquid for evaluating and controlling its quality scientifically, and ensuring its production stability. **Methods:** The fingerprint of Xiao'er Xiaoji Zhike Oral Liquid was acquired by HPLC, and the similarities of HPLC chromatograms of 22 batches of Xiao'er Xiaoji Zhike Oral Liquid were analyzed by means of Fingerprint Similarity Evaluation Software (edition 2004 A) of Chinese Pharmacopoeia Commission. **Results:** Using the peak of naringin as a reference peak, the HPLC fingerprint common mode was established with the similarities of 22 samples all exceeding 0.90, and 19 mutual peaks were obtained and identified from 22 HPLC chromatograms. **Conclusion:** The method has good precision, stability and repeatability, which will be conducive to the quality control of Xiao'er Xiaoji Zhike Oral Liquid.

**[Keywords]** Xiao'er Xiaoji Zhike Oral Liquid; fingerprint; HPLC

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.6.024

小儿消积止咳口服液是依据“食积咳嗽”论治理论研制的儿科用中药制剂<sup>[1]</sup>, 为国家中药保护品种, 由炒山楂、槟榔、枳实、瓜蒌、连翘、桔梗、蝉蜕等 10 味中药组成, 具有清热肃肺、消积止咳的功能, 临床用于小儿饮食积滞、痰热蕴肺所致的咳嗽、夜间加重、喉间痰鸣、腹胀、口臭等症<sup>[2]</sup>。现行《中华人民共和国药典》标准对该制剂的主要质量控制方法与与槟榔、连翘、桔梗对照药材及辛弗

林对照品进行 TLC 鉴别和 HPLC 测定辛弗林的含量, 未对方剂进行整体质量控制的研究, 难以有效反映制剂的整体质量。中药指纹图谱作为一种综合的、可量化的鉴定手段, 其信息量大、特征性强、整体性、模糊性等特点能全面地反映中药所含化学成分的种类和数量, 目前已成为符合中药特点的质量控制模式之一, 并在中药制剂质量控制上的应用愈加广泛<sup>[3-6]</sup>。本研究通过建立小儿消积止咳口服液的 HPLC

<sup>△</sup> [基金项目] 山东省自主创新专项计划项目(2013CXC20001)

\* [通信作者] 苏瑞强, 研究员, 研究方向: 药品生产工艺技术与新产品研发; Tel: (0539) 8336079, E-mail: ruiqiangsu@163.com

指纹图谱,运用相似度评价方法进行分析,为小儿消积止咳口服液的全面质量控制和评价提供依据。

## 1 仪器与试药

Agilent 1100 型高效液相色谱系统,包括四元梯度泵、DAD 检测器、自动进样器、ChemStation 色谱工作站;国家药典委员会《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A 版)软件。

柚皮苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110722-201312);乙腈为色谱纯;水为重蒸馏水;其余试剂均为分析纯。

22 批小儿消积止咳口服液样品(鲁南厚普制药有限公司,批号分别为 00414003、00414004、00414005、00414006、00414053、00414055、00414156、00414043、00414047、00414048、00414050、00414058、00414059、00414132、11053020、11063026、11123016、12023020、12033028、00413305、00413238、00413484,依次编号为 S1-S22 号)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub>柱(天津特纳,250 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈(A)和0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱,梯度条件见表1;检测波长:203 nm;柱温:30 ℃;流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>;进样量:5 μL。

表1 流动相梯度条件

t/min	A (%)	B (%)
0	2	98
40	30	70
50	40	60

### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取柚皮苷对照品适量,置10 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,制成质量浓度为0.44 mg·mL<sup>-1</sup>的对照品溶液。

### 2.3 供试品溶液的制备

精密量取小儿消积止咳口服液2 mL,置10 mL量瓶中,加甲醇稀释并定容至刻度,摇匀,以0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

### 2.4 方法学考察

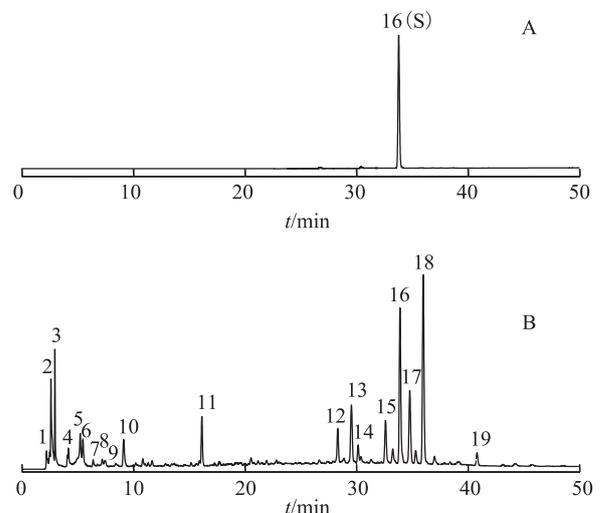
2.4.1 精密度试验 取S12号样品,按2.3项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件,连续进样测定6次,记录色谱图。6张谱图经中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算,相似度均大于0.99,各主要色谱峰的相对保留时间和峰面积的RSD均小于3%,表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 取S12号样品,按2.3项下方法制备供试品溶液,分别于0、2、4、8、12、24 h按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。6张谱图经中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算,相似度均大于0.96,各主要色谱峰的相对保留时间和峰面积的RSD均小于3%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.4.3 重复性试验 取S12号样品,按2.3项下方法平行制备6份供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。6张谱图经中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算,相似度均大于0.99,各主要色谱峰的相对保留时间和峰面积的RSD均小于3%,表明方法重复性良好。

### 2.5 指纹图谱的建立与分析

2.5.1 参照峰的选择 取对照品溶液和供试品溶液(S12号样品),按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。2张谱图中,16号峰(柚皮苷峰)保留时间适中,分离度好,峰面积较大且稳定,故选其为参照峰,标记为S,见图1。



注: A. 对照品; B. 样品; 16. 柚皮苷。

图1 对照品和样品的HPLC图

2.5.2 指纹图谱的建立及共有峰的确证 取小儿消积止咳口服液样品,按2.3项下方法分别制备S1~

S22号供试品溶液(共22批),按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。将所得的22批样品的图谱数据依次导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统中,以柚皮苷峰为参照峰,以S12号样品图谱为参照图谱,经多点校正以匹配色谱峰,采用平均值法生成

对照指纹图谱,见图2~3。结果显示,19个色谱峰为小儿消积止咳口服液所共有,故确认为共有峰,且共有峰面积占总峰面积的90%以上。选取柚皮苷(16号峰)作为指标成分,计算各共有峰对指标成分的相对保留时间和峰面积,结果见表2~3。

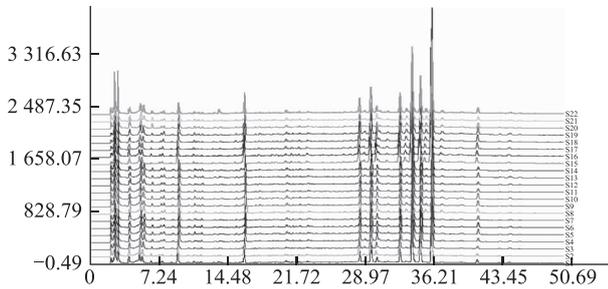


图2 22批小儿消积止咳口服液的HPLC指纹图谱

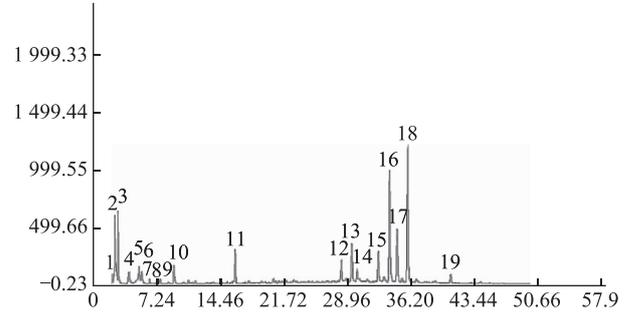


图3 小儿消积止咳口服液的HPLC对照指纹图谱

表2 22批小儿消积止咳口服液共有峰相对保留时间

样品	峰号																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
S1	0.065	0.077	0.087	0.122	0.154	0.162	0.190	0.215	0.224	0.272	0.479	0.838	0.873	0.891	0.963	1.000	1.026	1.061	1.202
S2	0.066	0.078	0.088	0.122	0.155	0.163	0.190	0.215	0.225	0.273	0.479	0.836	0.871	0.889	0.962	1.000	1.026	1.062	1.204
S3	0.066	0.077	0.088	0.123	0.156	0.165	0.192	0.218	0.228	0.275	0.480	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.203
S4	0.066	0.077	0.088	0.124	0.158	0.168	0.193	0.220	0.230	0.276	0.481	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.203
S5	0.066	0.077	0.088	0.124	0.159	0.168	0.193	0.220	0.230	0.276	0.481	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.203
S6	0.066	0.077	0.088	0.124	0.159	0.169	0.193	0.220	0.230	0.276	0.481	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.203
S7	0.066	0.077	0.088	0.124	0.159	0.169	0.194	0.220	0.230	0.276	0.482	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.203
S8	0.066	0.077	0.088	0.125	0.157	0.167	0.193	0.223	0.232	0.277	0.486	0.838	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.203
S9	0.066	0.077	0.088	0.124	0.157	0.167	0.193	0.221	0.230	0.276	0.482	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.203
S10	0.066	0.077	0.088	0.124	0.157	0.166	0.192	0.221	0.229	0.275	0.481	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.203
S11	0.066	0.077	0.088	0.124	0.157	0.166	0.192	0.221	0.229	0.275	0.481	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.202
S12	0.066	0.077	0.088	0.125	0.158	0.168	0.193	0.222	0.231	0.276	0.482	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.202
S13	0.066	0.077	0.088	0.125	0.158	0.168	0.193	0.222	0.230	0.276	0.481	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.203
S14	0.066	0.077	0.088	0.125	0.158	0.168	0.193	0.221	0.230	0.276	0.481	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.203
S15	0.066	0.077	0.088	0.123	0.154	0.162	0.190	0.216	0.225	0.272	0.479	0.836	0.871	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.204
S16	0.066	0.077	0.088	0.122	0.154	0.162	0.190	0.217	0.226	0.273	0.479	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.062	1.204
S17	0.066	0.077	0.088	0.123	0.154	0.163	0.191	0.218	0.226	0.273	0.479	0.836	0.871	0.889	0.962	1.000	1.026	1.062	1.205
S18	0.066	0.077	0.088	0.124	0.156	0.165	0.192	0.220	0.228	0.274	0.480	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.062	1.204
S19	0.066	0.077	0.088	0.124	0.157	0.166	0.193	0.221	0.230	0.275	0.481	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.204
S20	0.066	0.077	0.088	0.125	0.158	0.168	0.193	0.222	0.230	0.276	0.481	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.062	1.204
S21	0.066	0.077	0.088	0.124	0.158	0.168	0.193	0.222	0.230	0.276	0.481	0.836	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.204
S22	0.066	0.077	0.088	0.124	0.158	0.167	0.193	0.221	0.230	0.276	0.480	0.837	0.872	0.890	0.962	1.000	1.026	1.061	1.204

表3 22批小儿消积止咳口服液共有峰相对峰面积

样品	峰号																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
S1	0.057	0.490	0.349	0.151	0.216	0.147	0.041	0.043	0.041	0.209	0.223	0.229	0.417	0.103	0.306	1.000	0.581	1.048	0.076
S2	0.068	0.592	0.376	0.141	0.347	0.146	0.042	0.041	0.039	0.228	0.187	0.196	0.343	0.101	0.299	1.000	0.645	0.984	0.058
S3	0.048	0.490	0.320	0.076	0.198	0.138	0.039	0.039	0.038	0.195	0.162	0.170	0.293	0.108	0.253	1.000	0.546	1.121	0.049
S4	0.049	0.394	0.258	0.066	0.201	0.123	0.030	0.030	0.039	0.150	0.160	0.169	0.288	0.137	0.257	1.000	0.512	1.341	0.059
S5	0.057	0.426	0.300	0.073	0.251	0.140	0.033	0.044	0.048	0.181	0.214	0.241	0.449	0.116	0.316	1.000	0.506	1.131	0.085
S6	0.044	0.410	0.265	0.062	0.192	0.137	0.031	0.041	0.044	0.172	0.201	0.231	0.424	0.100	0.309	1.000	0.506	0.985	0.078
S7	0.051	0.501	0.371	0.097	0.267	0.128	0.039	0.049	0.047	0.210	0.213	0.203	0.371	0.112	0.282	1.000	0.583	1.207	0.078
S8	0.047	0.403	0.281	0.129	0.207	0.152	0.031	0.039	0.048	0.168	0.189	0.248	0.440	0.141	0.299	1.000	0.546	1.397	0.079
S9	0.061	0.537	0.436	0.136	0.232	0.127	0.039	0.049	0.056	0.229	0.308	0.277	0.545	0.131	0.354	1.000	0.749	1.380	0.114
S10	0.045	0.373	0.257	0.097	0.213	0.134	0.041	0.041	0.043	0.175	0.216	0.227	0.434	0.091	0.311	1.000	0.470	0.978	0.090
S11	0.057	0.492	0.303	0.116	0.216	0.150	0.043	0.048	0.048	0.192	0.244	0.267	0.440	0.118	0.311	1.000	0.517	1.071	0.071
S12	0.070	0.492	0.334	0.132	0.225	0.132	0.033	0.045	0.037	0.192	0.170	0.207	0.314	0.122	0.267	1.000	0.476	1.107	0.062
S13	0.051	0.389	0.258	0.094	0.206	0.154	0.039	0.043	0.042	0.159	0.201	0.243	0.414	0.111	0.298	1.000	0.474	1.090	0.074
S14	0.053	0.479	0.306	0.099	0.240	0.168	0.047	0.059	0.052	0.210	0.199	0.201	0.351	0.093	0.264	1.000	0.425	0.908	0.066
S15	0.014	0.261	0.178	0.066	0.124	0.091	0.012	0.019	0.034	0.123	0.258	0.175	0.332	0.109	0.242	1.000	0.377	1.333	0.073
S16	0.020	0.279	0.209	0.071	0.123	0.102	0.026	0.020	0.035	0.119	0.213	0.130	0.233	0.129	0.226	1.000	0.386	1.574	0.065
S17	0.023	0.363	0.192	0.054	0.134	0.088	0.016	0.019	0.036	0.112	0.248	0.198	0.373	0.133	0.288	1.000	0.453	1.590	0.091
S18	0.019	0.416	0.209	0.061	0.159	0.093	0.022	0.023	0.039	0.135	0.314	0.212	0.417	0.127	0.293	1.000	0.495	1.664	0.100
S19	0.018	0.368	0.196	0.068	0.172	0.122	0.018	0.028	0.041	0.142	0.243	0.185	0.353	0.142	0.290	1.000	0.515	1.744	0.094
S20	0.115	1.086	0.730	0.285	0.452	0.168	0.122	0.076	0.071	0.499	0.546	0.507	0.992	0.140	0.868	1.000	0.443	1.225	0.190
S21	0.051	0.388	0.264	0.087	0.202	0.106	0.048	0.029	0.037	0.191	0.261	0.211	0.369	0.127	0.345	1.000	0.532	1.303	0.066
S22	0.045	0.404	0.275	0.102	0.246	0.140	0.030	0.032	0.034	0.164	0.235	0.232	0.442	0.111	0.325	1.000	0.615	1.100	0.084

2.5.3 相似度分析 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统,将所得的22批样品指纹图谱数据与生成的对照指纹图谱进行相似度分析,结果22批样品的指纹图谱与对照图谱的相似度依次为0.989、0.986、0.992、0.984、0.996、0.996、0.994、0.991、0.987、0.994、0.993、0.998、0.998、0.987、0.980、0.967、0.968、0.978、0.972、0.908、0.994、0.995,其相似度均在0.90以上,表明该制剂质量稳定,其产品一致性程度较高。

### 3 讨论

小儿消积止咳口服液作为儿科用药,为提高儿童用药的依从性,于制剂中加入了 $\beta$ -环糊精、蔗糖等矫味剂。因此,在样品溶液处理上,为减少此类

矫味剂所致的分析干扰,本实验根据醇沉原理,采用以甲醇稀释后直接微孔滤膜滤过制备供试品溶液。结果按此法处理的样品图谱中检测的成分较多,各色谱峰间比例适中,基线平稳,样品未经复杂的前处理较多地保留了其中的化学成分。

根据制剂组成,结合相关文献<sup>[7-10]</sup>,本实验比较了203、254、285、330 nm波长处的样品图谱,结果在203 nm波长下的图谱中色谱峰相对较多,能较全面表达制剂中所含的全部化学成分,且各色谱峰间分离效果较好,基线较平稳,故确定203 nm为检测波长。本实验还分别考察了乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸水溶液、乙腈-0.1%冰乙酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液、甲醇-水、甲醇-0.1%甲酸水溶液、甲醇-0.1%冰乙酸水溶液、甲醇-0.1%磷酸水溶液共

8组流动相系统,结果以乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相系统所得色谱图中出峰较多,各主要色谱峰峰形尖锐且峰间分离度良好,基线平稳,因此采用乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相系统。

本研究针对现有小儿消积止咳口服液质量控制之不足,建立了该制剂的HPLC指纹图谱,确认了19个共有峰;通过与所生成的对照指纹图谱对比共有峰的有无、多少,可进一步对小儿消积止咳口服液的生产过程进行全面质量评价,以实现产品质量的稳定、安全、有效,更好地发挥其临床应用价值。

### 参考文献

- [1] 丁樱,刘宏宣,高希章,等.小儿消积止咳口服液的临床研究[J].中国医药学报,1996,11(5):8-10.
- [2] 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,2015.
- [3] 李强,杜思邈,张忠亮,等.中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望[J].中草药,2013,44(22):3095-3104.
- [4] 陈林伟,秦昆明,徐雪松,等.中药指纹图谱数据库的研究现状及展望[J].中草药,2014,45(21):3041-3047.
- [5] 肖娟,蔡萍,万丹,等.不同粉体二妙丸HPLC指纹图谱对比研究[J].中国现代中药,2015,17(12):1331-1335.
- [6] 程巧驾,唐登峰,马临科,等.基于指纹图谱及多指标成分定量的健儿消食口服液质量评价[J].药物分析杂志,2016,36(1):148-154.
- [7] 崔誉文,杨黎彬,杨静,等.黄翘HPLC指纹图谱研究[J].西北药学杂志,2014,29(5):446-449.
- [8] LIU Wen-Yuan, ZHOU Chen, YAN CuiMin, et al. Characterization and simultaneous quantification of multiple constituents in Aurantii Fructus Immaturus extracts by HPLC-DAD-ESI-MS/MS[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2012, 10(6):456-463.
- [9] 冯素香,王淑美,梁生旺,等.降浊通脉有效部位指纹图谱的研究[J].中国现代应用药学,2010,27(11):989-992.
- [10] 姜新刚,贾继明,李叶双.津力达颗粒UPLC指纹图谱[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(1):126-129.

(收稿日期 2016-06-02)

(上接第852页)

- [7] 冯小峰,林昌虎,王晓,等.不同干燥方法对山银花促褐变酶活性和活性成分的影响[J].食品工业科技,2014,35(3):76-80.
- [8] 李世传,熊建华,罗秋水,等.不同干燥方法对金银花叶成分和抑菌效果的影响[J].中国食品学报,2012,12(12):78-83.
- [9] 李会伟,刘培,钱大玮,等.不同干燥方法及其影响因子对玄参药材初加工过程品质形成的影响[J].中国中药杂志,2015,40(22):4417-4423.
- [10] 李硕.麝香的生药学质量评价[D].长春:吉林农业大学,2011.
- [11] 熊卫军,吕维新,李三忠.麝香干燥处理方法的探讨[J].中国中药杂志,1991,26(7):441-442.
- [12] 次仁旺姆.不同干燥方法对麝香中麝香酮含量的影响[J].中国民族民间医药,2016,25(9):11-12.
- [13] 吴芬宏.林麝麝香气相色谱指纹图谱研究及麝香质量鉴别[D].成都:四川大学,2006.

(收稿日期 2016-08-22)