

高效液相色谱法测定小儿清炎合剂中荭草苷的含量

金浩鑫¹, 魏惠珍¹, 简 晖¹, 罗佑吾², 吕 尚¹, 邓杰华³, 饶 毅¹(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006; 2. 江西儿童医院, 江西 南昌 330006; 3. 江西中医学院, 江西 南昌 330006)

摘要: 目的 建立小儿清炎合剂中荭草苷的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法, Hypersil ODS C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.1%磷酸水溶液(11:89)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 349 nm, 柱温 25 ℃。结果 荭草苷线性范围 0.1025~1.025 μg, $r=0.9999$; 平均加样回收率为 98.12 %, RSD 为 1.96 %。结论 该方法准确、稳定, 重现性好, 可用于小儿清炎合剂的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 小儿清炎合剂; 荭草苷; 含量测定

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2013)04-0398-03

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.04.019

Determination of Orientin in *Xiaoer Qingyan* Mixture by HPLC

JIN Haoxin, WEI Huizhen, JIAN Hui, LUO Youwu, LV Shang, DENG Jiehua, RAO Yi(1. The National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation of Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006 Jiangxi, China; 2. Jiangxi Children's Hospital, Nanchang 330006 Jiangxi, China; 3. Jiangxi Collge of Chinese Traditional Medicine, Nanchang 330006 Jiangxi, China)

Abstract: **Objective** To establish a method for the determination of orientin in *Xiaoer Qingyan* mixture. **Methods** The determination was carried out by using HPLC method on Hypersil ODS C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column. The mobile phase was a mixture of acetonitrile -0.1 % phosphoric acid(11:89), flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, detection wavelength was set at 349 nm and column temperature was 25 ℃. **Results** The linear range of orientin was 0.1025~1.025 μg ($r=0.9999$), and the average recovery was 98.12 %, RSD=1.96 %. **Conclusion** This method is accurate, stable and with good reproducibility, and can be used for the quality control of the *Xiaoer Qingyan* mixture.

Keyword: HPLC; *Xiaoer Qingyan* mixture; Orientin; Content determination

小儿清炎合剂为江西省儿童医院经 30 年临床应用凝练而成的医院制剂, 具有清热解毒、抗菌、抗病毒等作用, 常用于治疗小儿细菌性或病毒性感染^[1]。该制剂由乌蕨、白花蛇舌草等药材提取制成, 其中, 乌蕨为君药, 含有黄酮类(荭草苷、牡荆素^[2])、酚酸类(原儿茶酸、原儿茶醛^[3])等化学成分。现代药理研究^[4-6]表明, 乌蕨具有抗炎和抗菌的作用, 其主要有效成分是黄酮类化合物。目前, 该制剂收录于《江西省食品药品监督管理局医疗机构制剂的试行标

准》中, 但尚无含量测定部分。本文将建立小儿清炎合剂中荭草苷的含量测定方法, 为该制剂质量标准的制订提供依据。

1 仪器与试药

LC-10A 系列高效液相色谱仪及 Class-vp 色谱数据工作站, 日本岛津公司; AB104-N 电子分析天平, 梅特勒中国公司; AUW-220D 电子分析天平, 日本岛津公司。乙醇(分析纯), 乙腈(色谱纯), 山东

收稿日期: 2013-02-27

作者简介: 金浩鑫, 男, 助理工程师, 研究方向: 中药质量控制的研究。Email: jinhaoxin99@126.com。通讯作者: 饶毅, 博士, 教授, 研究方向: 中药质量控制研究。Email: raoyi99@126.com。

基金项目: 十一五重大新药创制专项项目(2010ZX09102-214); 江西省自然科学基金项目(2010GQY0045)。

禹王实业有限公司。小儿清炎合剂，江西省儿童医院，批号：20110601，20110602，20110603；荭草苷对照品，中国药品生物制品检定研究院，批号：111777-200801。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验 色谱柱：依利特 Hypersiol ODS C₁₈ 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相：乙腈-0.1 %磷酸水溶液（11：89）；流速：1 mL·min⁻¹；检测波长 349 nm。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取荭草苷对照品适量，加乙醇溶解并稀释制成每 1 mL 含 0.02 mg 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 精密量取小儿清炎合剂 10 mL，置于装有聚酰胺柱中（60~90 目，内径 1.7 cm，3 g），分别用水、20 %乙醇 25 mL 洗脱，弃去，再用 60 %乙醇洗脱，收集 50 mL，作为供试品溶液。

2.4 阴性样品溶液 精密量取缺乌蕨药材的阴性制剂 10 mL，按照供试品溶液的制备方法制得阴性样品溶液。

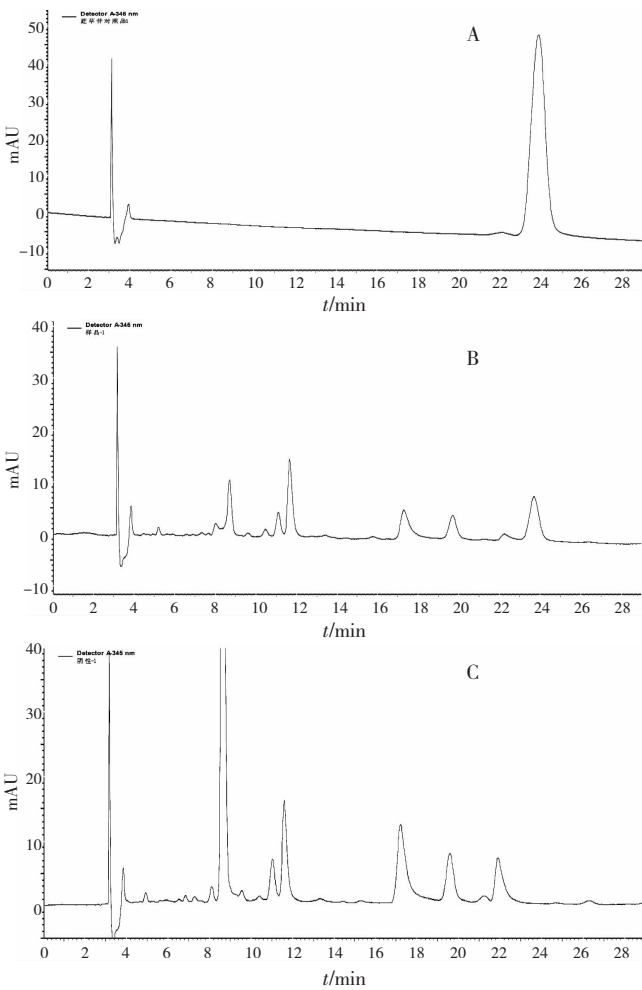
2.5 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各 10 μL，在选定的色谱条件下进样分析，荭草苷的峰形良好，阴性样品无干扰，色谱图见图 1。

2.6 线性关系考察 精密量取 0.205 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液 0.5，1.0，2.0，3.0，4.0，5.0 mL 置 10 mL 量瓶中，加乙醇稀释至刻度，分别取不同浓度的荭草苷对照品溶液，按上述色谱条件进行分析，以进样量 $X(\mu\text{g})$ 为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标，进行线性回归，得线性回归方程为 $Y = 2504389X - 45777$ ， $r = 0.9999$ ，荭草苷在 0.1025~1.025 μg 范围内进样量（μg）与峰面积呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验 取荭草苷对照品溶液，按上述色谱条件连续进样 6 次，记录峰面积，结果荭草苷 RSD 为 0.84 %，说明仪器的精密度良好。

2.8 重现性试验 精密量取小儿清炎合剂 10 mL，各 6 份，按供试品溶液制备方法制备，按上述色谱条件进行分析，结果样品中荭草苷平均含量和 RSD 分别为 123.3 μg·mL⁻¹ 和 1.91 %，说明该方法具有较好的重现性。

2.9 稳定性试验 取供试品溶液分别在 0，3，6，12，24 h 按上述色谱条件进行分析，结果荭草苷 RSD 为 1.16 %，表明荭草苷在供试品溶液中 24 h 内基本稳定。



A. 荭草苷对照品；B. 供试品；C. 阴性样品
图 1 供试品、荭草苷对照品、阴性样品色谱图
Figure 1 HPLC chromatograms of Orientin reference substances (A), sample(B), negative sample(C)

2.10 加样回收率试验 精密量取小儿清炎合剂 5 mL（6 份），加入 0.205 mg·mL⁻¹ 的荭草苷对照品 3.0 mL，照供试品溶液制备方法制备，按上述色谱条件进行分析，结果荭草苷的平均回收率为 98.12 %，RSD 为 1.27 %，结果见表 1。

表1 荭草苷加样回收率试验结果

Table 1 The results of recovery test for Orientin						
编号	取样量/μg	样品量/μg	加入量/μg	测得量/μg	回收率/%	平均回收率/% RSD/%
1	605.4	616.5	615	1221.9	98.44	98.12 1.27
2	613.6	616.5	615	1230.1	99.77	
3	598.3	616.5	615	1214.8	97.28	
4	609.6	616.5	615	1226.1	99.12	
5	598.8	616.5	615	1215.3	97.37	
6	595.2	616.5	615	1211.7	96.78	

2.11 样品测定 见表 2。分别称取 3 个批号的小儿清炎合剂，制备供试品溶液，依法测定荭草苷的