

杜仲配方颗粒 UHPLC 特征图谱测试

高绪来

(安徽皖仪科技股份有限公司, 安徽 合肥 230088)

摘要: 供试品经前处理后用 0.22 μ m 有机滤膜过滤, 以甲醇、水为流动相, 梯度洗脱, 使用 C18 色谱柱进行分离, 超高效液相色谱 DAD 检测器检测。

关键词: 杜仲; UHPLC

1 试剂和材料

除非另有说明, 本方法所用试剂均为分析纯, 水为 GB/T 6682 规定的一级水。

1.1 试剂材料

1.1.1 乙腈 (CH₃CN): 色谱纯。

1.1.2 甲醇 (CH₃OH): 色谱纯。

1.1.3 甲酸。

1.1.4 有机系过滤头: 孔径为 0.22 μ m。

1.2 试剂配制

1.2.1 甲醇溶液 (70%): 量取 70mL 甲醇, 加水定容至 100mL, 混匀。

1.2.2 甲酸溶液 (0.2%): 量取 2mL 甲酸, 用水稀释并定容至 1000mL。

1.3 参照物及供试品

1.3.1 京尼平苷酸对照品: 购于诗丹德。

1.3.2 松脂醇二葡萄糖苷对照品: 购于诗丹德。

1.3.3 生杜仲配方颗粒: 购自北京康仁堂药业有限公司, 批号 20028362。

1.4 参照物及供试品制备

1.4.1 参照物溶液的制备: 分别称取京尼平苷酸 10mg, 松脂醇二葡萄糖苷 10mg 于两个 25mL 容量瓶中, 用甲醇稀释并定容至刻度, 摇匀。分别取上述溶液 2.5mL 于 10mL 容量瓶中, 甲醇溶液稀释并定容至刻度, 摇匀, 0.22 μ m 滤头滤过, 取续滤液, 即得。

1.4.2 供试品溶液的制备: 取本品 0.5106g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加 70%甲醇 25ml, 超声处理 (功率 250W, 频率 40kHz) 30 分钟, 放冷, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2 仪器设备

2.1 皖仪超液相色谱仪：配 DAD3600 检测器。

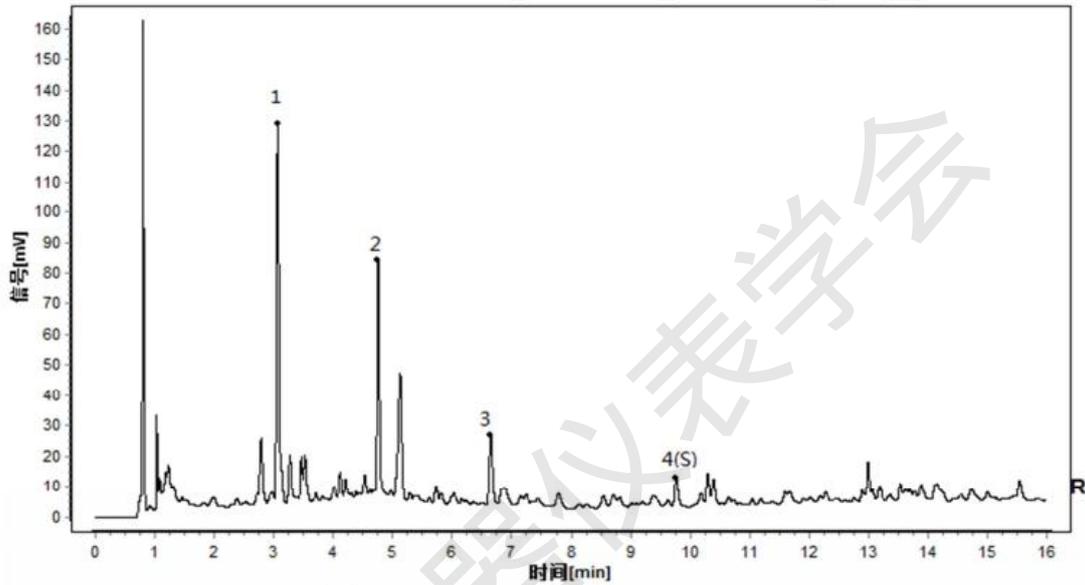
2.2 电子天平：感量为 0.1 mg。

2.3 超声波清洗器。

2.4 涡旋振荡器

2.5 溶剂过滤器：滤膜孔径约为 0.22 μ m

3 药典标准谱图



峰 1：京尼平苷酸；峰 2：绿原酸；峰 4 (S)：松脂醇二葡萄糖苷。

4 实验过程记录及结果分析

4.1 仪器条件

色谱柱：Acquity BEH C18(2.1*100mm, 1.7 μ m)。

流动相：甲醇为流动相 A，水为流动相 B，进行梯度洗脱。

时间	A (%)	B (%)
0~3	3→10	97→90
3~6	10	90
6~15	10→20	90→80
15~17	20→55	80→45
17.1~20	3	97

流速：0.3mL/min。

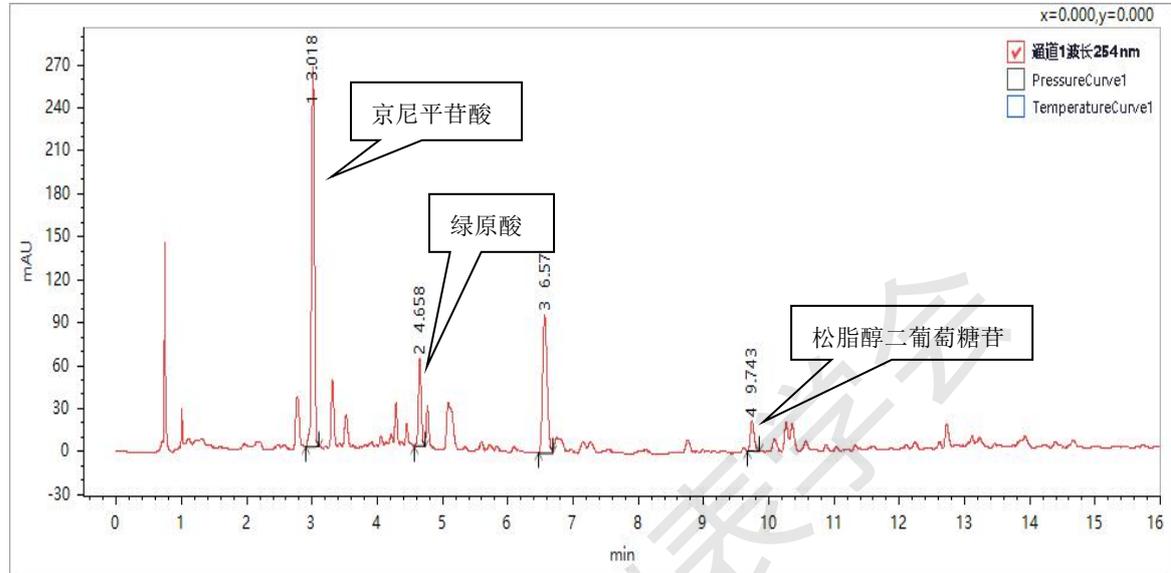
波长：254nm。

柱温：40°C。

进样量：1 μ L。

4.2 实验结果及分析

4.2.1 按照药典仪器方法进样，供试品谱图如下：



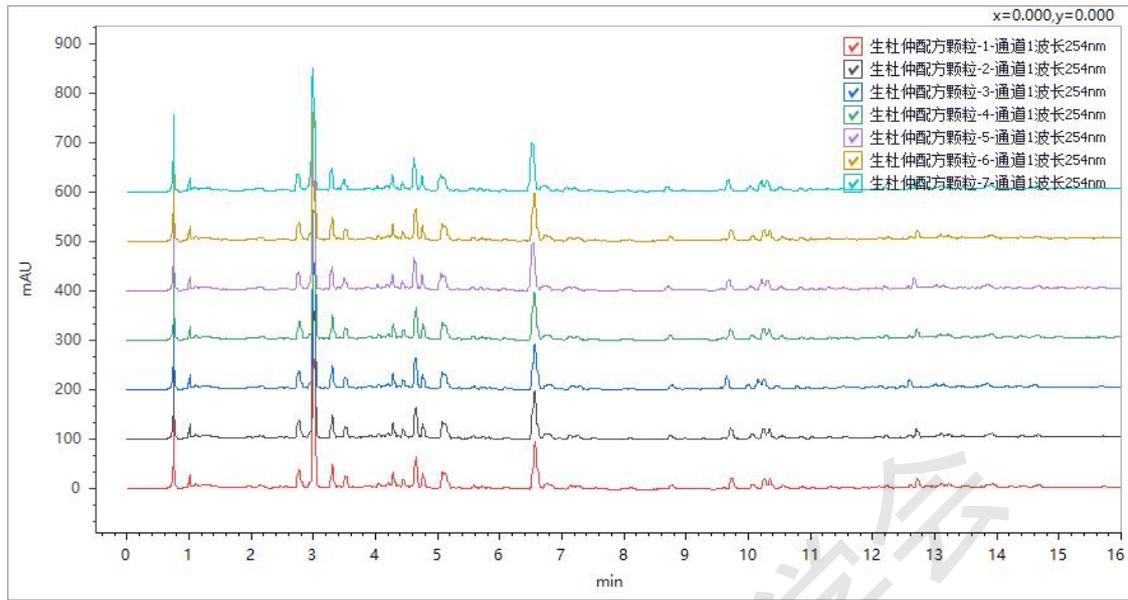
分析：按照要点要求，以峰4松脂醇二葡萄糖苷为S峰，计算峰2、3与S峰的相对保留时间，其相对保留时间应在规定值的 $\pm 8\%$ 范围之内；计算峰1、2与S峰的相对峰面积，相对峰面积应在规定范围内：2.1-26（峰1），1.8-8.0（峰2）。结果如下：

峰序号	保留时间	相对保留时间	标准规定值	偏差(%)
1	3.018	0.31	/	/
2	4.658	0.48	0.49	-2.0
3	6.576	0.67	0.69	-2.9
4 (S)	9.743	1.00	/	/

峰序号	峰面积	相对峰面积	标准规定值
1	844.294	10.00	2.1-26
2	184.349	2.18	1.8-8.0
3	470.331	5.57	/
4 (S)	84.445	1.00	/

4.2.2 重复性实验：取供试品溶液，连续检测7次，获得特征图谱，计算峰面积及保留时间

RSD 值。重叠谱图如下：



峰面积重复性：

峰序号	峰面积							平均值	SD	RSD (%)
	杜仲 1	杜仲 2	杜仲 3	杜仲 4	杜仲 5	杜仲 6	杜仲 7			
1	844.294	851.012	845.917	838.334	840.172	844.851	845.415	844.285	4.12	0.49
2	184.349	190.562	185.799	184.883	188.519	186.696	186.343	186.736	2.16	1.16
3	470.331	469.274	463.007	467.724	460.431	462.732	462.472	465.139	3.88	0.83
4	84.445	84.804	85.963	84.613	85.596	86.194	86.458	85.439	0.81	0.95

保留时间重复性：

峰序号	保留时间							平均值	SD	RSD (%)
	杜仲 1	杜仲 2	杜仲 3	杜仲 4	杜仲 5	杜仲 6	杜仲 7			
1	3.018	3.018	3.016	3.023	3.009	2.999	3.003	平均值	SD	
2	4.658	4.656	4.654	4.658	4.636	4.636	4.631	3.012	0.0088	0.29
3	6.576	6.566	6.571	6.564	6.539	6.806	6.529	4.647	0.0120	0.26
4	9.743	9.728	9.661	9.724	9.698	9.669	9.688	6.593	0.0955	1.45

参考文献：

[1] 药典公示稿《杜仲配方颗粒》。