

高效液相色谱法测定丹参配方颗粒特征图谱

张佳佳, 王惠玉

(海能未来技术集团股份有限公司, 山东 济南 250104)

摘要: 本文使用悟空 K2025 高效液相色谱仪测定丹参配方颗粒的特征图谱。色谱条件: 色谱柱为 C₁₈ 色谱柱 (4.6×250mm, 5μm), 流速为 1.0mL/min, 柱温为 25°C, 进样量为 10μL, 检测波长为 286nm。实验结果: 丹酚酸 B 的理论塔板数为 96048, 满足《丹参配方颗粒》中丹酚酸 B 峰理论塔板数应不低于 6000 的要求; 供试品溶液的特征峰个数与《丹参配方颗粒》中规定的特征峰个数一致, 且呈现 8 个与对照药材图谱相对应的特征峰。因此, Wooking K2025 高效液相色谱仪可以满足丹参配方颗粒特征图谱测定的需求。

关键词: 丹参;颗粒;图谱

中药配方颗粒是由单味中药饮片按传统标准炮制后经提取浓缩制成的、供中医临床配方用的颗粒。中药配方颗粒是以传统中药饮片为原料, 经过提取、分离、浓缩、干燥、制粒、包装等生产工艺, 加工制成的一种统一规格、统一剂量、统一质量标准的新型配方用药。

中药配方颗粒的有效成分、性味、归经、主治、功效和传统中药饮片完全一致, 保持了传统中药饮片的全部特征, 既能保证中医传统的君、臣、佐、使和辨证论治、灵活加减的特点, 优于中成药, 又免去了病人传统煎煮的麻烦, 同时还可灵活地单味颗粒冲服, 卫生有效。

2021 年 1 月 26 日, 国家药监局发布《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》, 先后有两批共计 196 种中药配方颗粒标准出炉。

丹参配方颗粒为唇形科植物丹参的干燥根和根茎经炮制并按标准汤剂的主要质量指标加工制成的配方颗粒, 为黄棕色至棕色的颗粒; 气微, 味微苦、涩; 具有活血祛瘀, 通经止痛, 清心除烦, 凉血消痈之功效, 用于胸痹心痛, 脘腹胁痛, 症瘕积聚, 热痹疼痛, 心烦不眠, 月经不调, 痛经经闭, 疮疡肿痛。

1 试剂与材料

水: 符合 GB/T6682 的一级水;

甲醇: 色谱纯;

乙腈: 色谱纯;

磷酸: 色谱纯;

丹酚酸 B 对照品：纯度为 98.60%；

丹参对照药材；

市售丹参配方颗粒；

0.22 μ m 微孔有机滤膜。

2 仪器与设备

高效液相色谱仪：K2025 P2 二元高压输液泵、K2025 AS 自动进样器、K2025 CO 柱温箱、K2025 UVD 紫外-可见光检测器、Wookinglab 色谱工作站；

分析天平：精确到 0.0001g；

涡旋振荡器；

超声波清洗机；

容量瓶：10mL，棕色带刻度；

具塞锥形瓶：100mL，棕色。

3 测定步骤

3.1 溶液的制备

对照品溶液的制备：取丹酚酸 B 对照品适量，精密称定，加甲醇-水（8:2）混合溶液制成每 1mL 含 0.10mg 的溶液，即得。

对照药材参照物溶液的制备：取丹参对照药材约 0.5g，精密称定，加入甲醇-水（8:2）混合溶液 20mL，加热回流提取 30min，将滤液旋干，向残渣中加入甲醇 10mL，超声使残渣完全溶解，滤过，作为对照药材参照物溶液；

供试品溶液的制备：取本品适量，研细，取约 0.2g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇-水（8:2）混合溶液 50mL，密塞，称定重量，超声处理（功率 140W，频率 42kHz）30min，取出，放冷，再称定重量，用甲醇-水（8:2）混合溶液补足减失的重量，摇匀，滤过；精密量取续滤液 5mL 至 10mL 容量瓶中，加甲醇-水（8:2）混合溶液稀释至刻度，摇匀，滤过，作为供试品溶液。

3.2 色谱条件

a) 色谱柱：C₁₈ 4.6 \times 250mm，5 μ m 或者相当的色谱柱；

b) 以乙腈为流动相 A，以 0.05%磷酸溶液为流动相 B，按下表进行梯度洗脱：

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	10	90

15	20	80
40	25	75
50	30	70

- c) 柱温: 25°C;
- d) 进样量: 10 μ L;
- e) 流速: 1.0mL/min;
- f) 波长: 286nm。

4 实验结果

依据色谱条件(4.2), 分别将对照品溶液、对照药材参照物溶液与供试品溶液注入液相色谱仪进行测定。对照品溶液的色谱图如图1所示, 色谱图积分结果见表1。

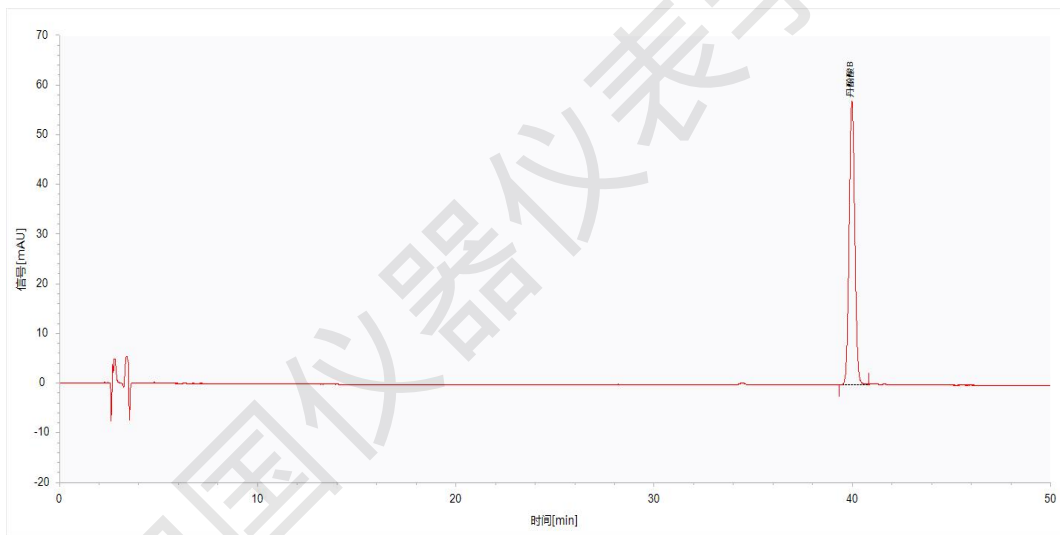


图1 对照品溶液的色谱图

表1 对照品溶液色谱图积分结果表

目标物	保留时间 (min)	峰面积 (mAU.s)	峰高 (mAU)	理论塔板 数	分离度	对称/拖尾因子
丹酚酸 B	40.000	1122.710	57.078	96048	-	1.04

由表1中数据可知, 丹酚酸 B 的理论塔板数为 96048, 满足《丹参配方颗粒》中丹酚酸 B 峰理论塔板数应不低于 6000 的要求。

对照药材参照物溶液的色谱图如图2所示, 色谱图积分结果见表2。

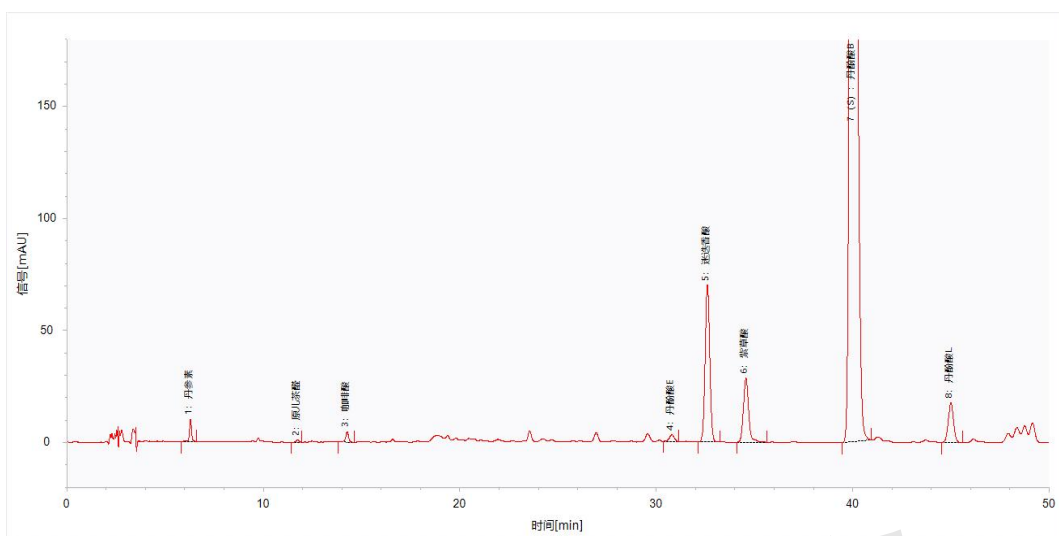


图 2 对照药材参照物溶液的色谱图

表 2 对照药材参照物溶液色谱图积分结果表

目标物	保留时间 (min)	峰面积 (mAU.s)	峰高 (mAU)	理论塔板数	分离度	对称/拖尾因子
1: 丹参素	6.317	80.413	10.060	18179	-	1.07
2: 原儿茶醛	11.775	9.221	0.963	36841	25.23	0.95
3: 咖啡酸	14.283	50.631	4.673	47567	9.89	0.77
4: 丹酚酸 E	30.825	54.251	3.063	72417	45.95	0.81
5: 迷迭香酸	32.625	1162.036	70.063	88793	4.02	1.03
6: 紫草酸	34.583	530.930	28.806	89068	4.35	1.13
7 (S): 丹酚酸 B	40.017	14762.620	701.859	83714	10.69	1.27
8: 丹酚酸 L	45.017	328.827	17.650	132943	9.55	1.01

供试品溶液的色谱图如图 3 所示，积分结果见表 3。

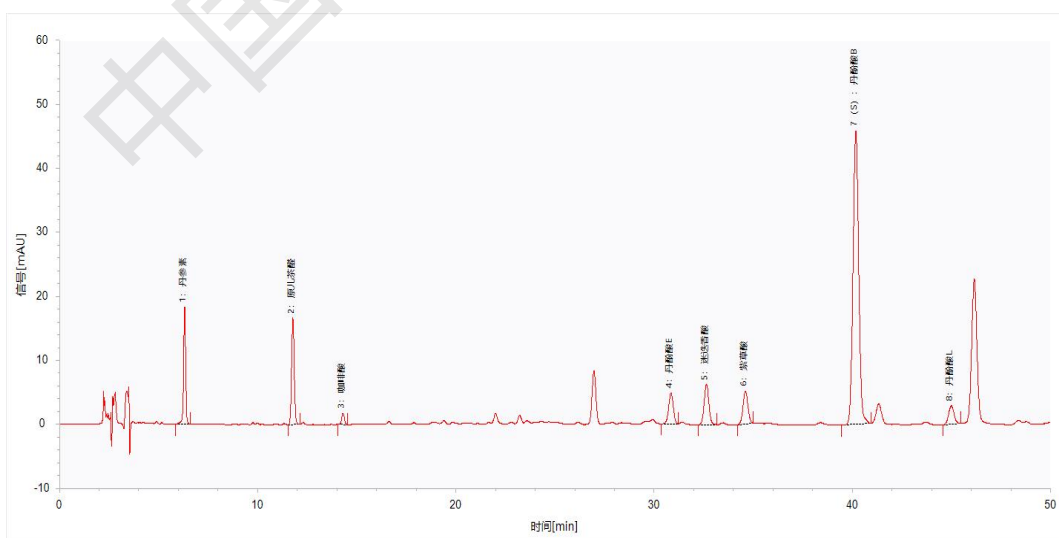


图 3 供试品溶液的色谱图

表 3 供试品溶液色谱图积分结果表

目标物	保留时间 (min)	峰面积 (mAU.s)	峰高 (mAU)	理论塔板 数	分离 度	对称/拖尾因子
1: 丹参素	6.333	134.190	18.296	18888	-	1.00
2: 原儿茶醛	11.800	155.543	16.683	37180	25.48	1.03
3: 咖啡酸	14.325	16.863	1.793	53769	10.27	1.00
4: 丹酚酸 E	30.867	79.415	4.834	80432	48.49	1.00
5: 迷迭香酸	32.658	105.512	6.333	88491	4.10	1.04
6: 紫草酸	34.625	87.786	5.133	92541	4.40	1.09
7 (S): 丹酚酸 B	40.192	912.011	45.841	95753	11.42	1.06
8: 丹酚酸 L	45.008	53.125	2.862	133229	9.51	1.25

由图 2、图 3 和表 2、表 3 可知，供试品溶液特征图谱中呈现了 8 个特征峰；供试品溶液中的特征峰与对照药材参照物溶液中的特征峰相对应，满足《丹参配方颗粒》中对特征峰的要求。

5 结论

本文使用 Wooking K2025 高效液相色谱仪测定丹参配方颗粒的特征图谱。实验结果：丹酚酸 B 的理论塔板数为 96048，满足《丹参配方颗粒》中丹酚酸 B 峰理论塔板数应不低于 6000 的要求；供试品溶液的特征峰个数与《丹参配方颗粒》中规定的特征峰个数一致，且呈现 8 个与对照药材图谱相对应的特征峰。因此，Wooking K2025 高效液相色谱仪可以满足丹参配方颗粒特征图谱测定的需求。