

穿心莲中内酯类物质的测定高效液相色谱法

王惠玉, 张佳佳

(海能未来技术集团股份有限公司, 山东 250104)

摘要: 本文使用悟空 K2025 高效液相色谱仪测定穿心莲中内酯类物质(穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯)的含量。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 35°C, 进样量为 10μL, 检测波长为 205nm。实验结果: 穿心莲内酯对照品的定性重复性小于 0.2%, 定量重复性小于 0.5%; 供试品中四种内酯类物质的定性重复性小于 0.2%, 定量重复性小于 1%, 满足《中国药典(2020年版)》的要求。

关键词: 穿心莲; 内酯类

穿心莲为一年生草本植物, 在我国福建、广东、海南、广西、云南常见栽培, 江苏、陕西亦有引种。穿心莲主要的药用价值有解热、抗炎、保肝利胆、抗肿瘤等, 其主要功能成分为二萜内酯化合物, 如去氧穿心莲内酯、穿心莲内酯、新穿心莲内酯等, 因此, 穿心莲中内酯类物质的含量测定对企业的产品质量监控具有重要意义。

适用于穿心莲中内酯类物质(穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯)的含量测定。

穿心莲药材经 40%甲醇溶液超声提取后, 采用高效液相色谱法进行测定, 使用一测多评的方式进行定量。

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;

40%甲醇水溶液: 准确量取 40mL 甲醇, 用水定容至 100mL, 混匀后备用;

穿心莲内酯对照品: 纯度为 99.55%;

穿心莲内酯对照品溶液: 称取穿心莲内酯对照品(3.5) 3mg 于 10mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度线, 制成每 1mL 含 0.3mg 的溶液。

微孔滤膜: 0.22μm, 有机相。

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；

具塞锥形瓶：50mL；

容量瓶：10mL，棕色带刻度。

3 测定步骤

3.1 样品处理

取本品粉末（过四号筛）约0.5g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入40%甲醇水溶液（3.4）25mL，密塞，称定重量，超声处理（功率250W，频率40kHz）30分钟，放冷，再称定重量，用40% 甲醇水溶液（3.4）补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

3.2 色谱条件

a) 色谱柱：C₁₈ 4.6×250mm，5μm 或者相当的色谱柱；

b) 流动相：流动相 A 为乙腈，流动相 B 为水，按照下表进行梯度洗脱；

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	20	80
15	25	75
30	28	72
60	40	60
65	85	15

c) 柱温：35°C；

d) 进样量：10μL；

e) 流速：1.0mL/min；

f) 波长：205nm。

4 结果

4.1 对照品重复性测试

按照上述色谱条件（5.2）进行采集，穿心莲内酯对照品溶液（浓度为 300μg/mL）的色谱图如图 1 所示，积分结果如表 1 所示。

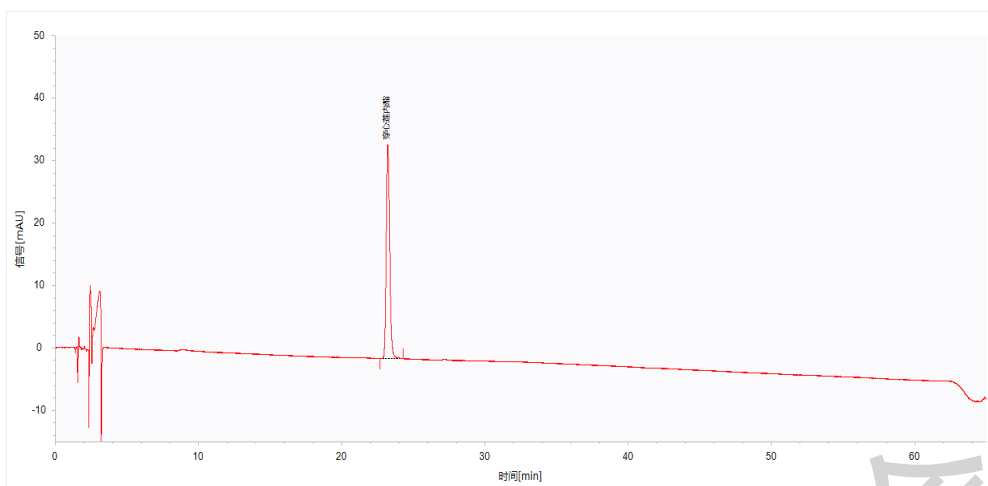


图 1 穿心莲内酯对照品溶液的色谱图

表 1 穿心莲内酯对照品溶液色谱图积分结果

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
穿心莲内酯	23.253	576.701	34.363	46325	-	1.14

由表 1 中可知，穿心莲内酯的理论塔板数为 46325，满足《中国药典（2020 年版）》中穿心莲内酯峰的理论塔板数不低于 8000 的要求。

将穿心莲内酯对照品溶液连续进样 7 针，叠加的色谱图如图 2 所示，结果见表 2。

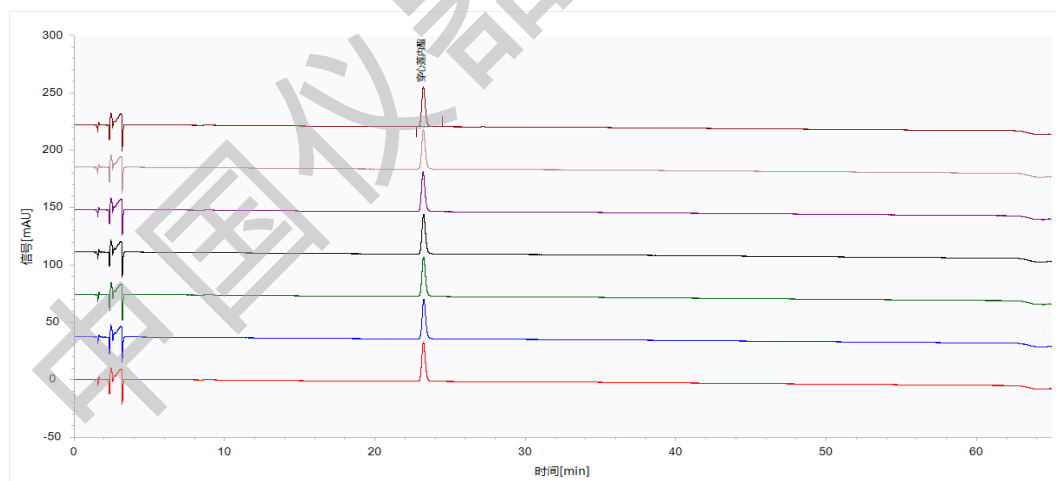


图 2 穿心莲内酯对照品溶液连续进样 7 针叠加的色谱图

表 2 穿心莲内酯对照品溶液连续进样 7 针重复性数据统计

目标物		1	2	3	4	5	6	7	平均值	RSD
穿心莲 内酯	保留时间	23.253	23.278	23.262	23.263	23.228	23.248	23.248	23.254	0.067
	峰面积	576.701	579.493	578.887	579.857	581.037	580.351	578.637	579.280	0.242

由表 2 可知，穿心莲内酯对照品溶液连续进样 7 针，穿心莲内酯保留时间的 RSD 为 0.067%，峰面积的 RSD 为 0.242%。

4.2 供试品重复性测试

穿心莲试样按照 5.1 的流程进行处理，并按照 5.2 的色谱条件进行采集，穿心莲供试品溶液的谱图如图 3 所示，积分结果见表 3，四种内酯类物质的相对保留时间见表 4。

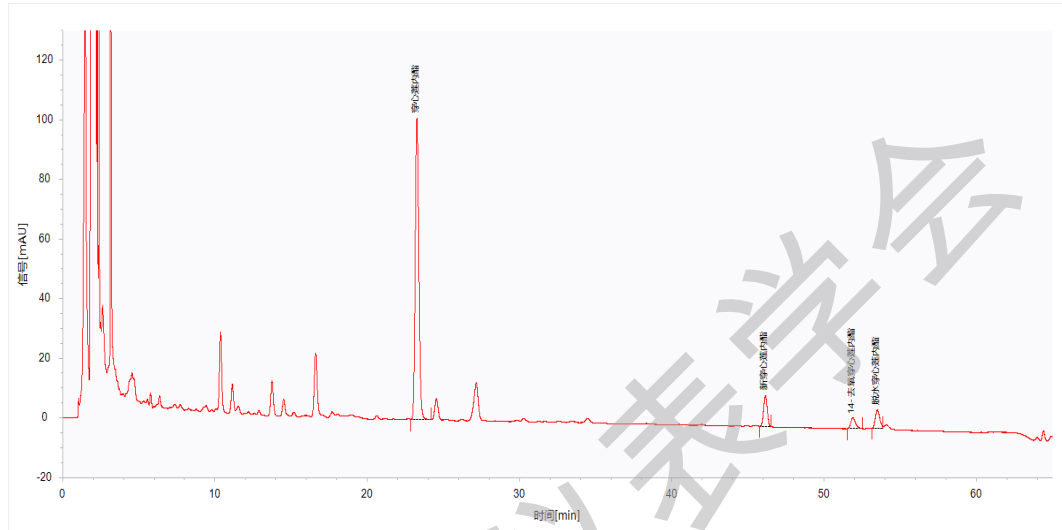


图 3 供试品溶液的色谱图

表 3 供试品溶液的积分结果

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
穿心莲内酯	23.290	1651.976	101.027	47595	-	1.11
新穿心莲内酯	46.170	173.089	10.425	173532	52.59	1.02
14-去氧穿心莲	51.922	81.630	3.728	135955	11.43	1.29
脱水穿心莲内酯	53.520	122.132	6.049	157844	2.90	0.98

由表 3 可知，供试品溶液中穿心莲内酯的理论塔板数为 47595，满足《中国药典（2020 年版）》中穿心莲内酯峰的理论塔板数不低于 8000 的要求；四种内酯类物质的分离度均大于 1.5，满足《中国药典（2020 年版）》的分离度要求。

表 4 四种内酯物质的相对保留时间

目标物	保留时间	相对保留	相对保留	偏差
穿心莲内酯 (S)	23.290	-	-	-
新穿心莲内酯	46.170	1.98	1.95	1.54
14-去氧穿心莲内酯	51.922	2.23	2.18	2.29
脱水穿心莲内酯	53.520	2.30	2.25	2.22

以穿心莲内酯峰作为 S 峰，计算新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的相对保留时间。由表 4 可知，新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的相对保留时间均在《中国药典（2020 年版）》相对保留时间规定值的±5%范围内。

将穿心莲供试品溶液连续进样 7 针，叠加的色谱图如图 4 所示，重复性结果见表 5。

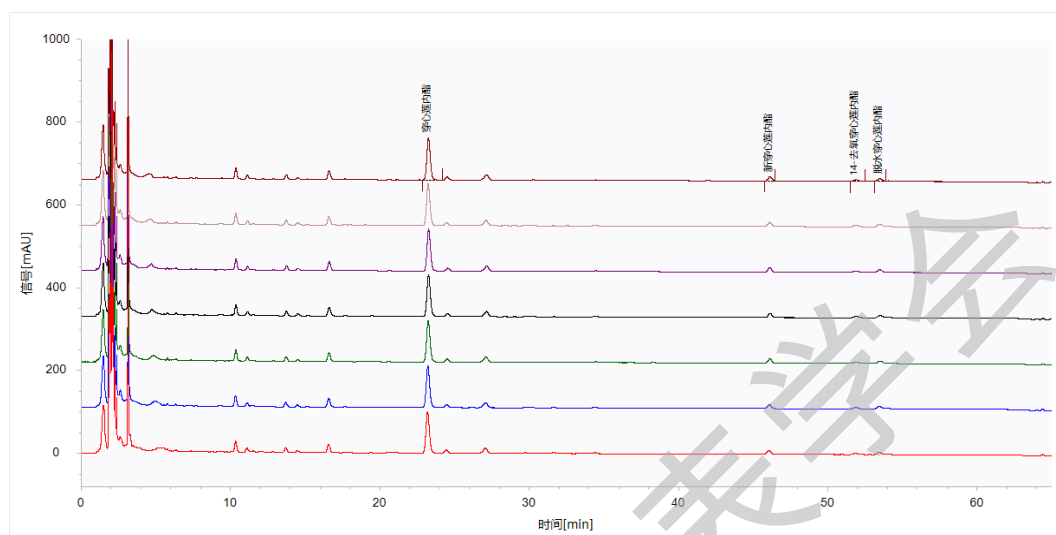


图 4 供试品溶液连续进样 7 针叠加的色谱图

表 5 供试品溶液连续进样 7 针重复性数据统计

目标物		1	2	3	4	5	6	7	平均值	RSD%
穿心莲内酯	保留时间	23.230	23.248	23.275	23.295	23.305	23.270	23.290	23.273	0.115
	峰面积	1633.191	1635.918	1643.447	1646.998	1649.324	1649.998	1651.976	1644.407	0.443
新穿心莲内酯	保留时间	46.077	46.115	46.148	46.158	46.145	46.140	46.170	46.136	0.067
	峰面积	171.161	171.561	172.991	172.023	174.123	175.258	173.089	172.887	0.841
14-去氧穿心莲内酯	保留时间	51.868	51.875	51.923	51.925	51.900	51.898	51.922	51.902	0.045
	峰面积	80.293	81.565	81.104	81.717	82.081	81.548	81.630	81.420	0.705
脱水穿心莲内酯	保留时间	53.460	53.480	53.525	53.530	53.513	53.513	53.520	53.506	0.048
	峰面积	119.476	119.981	120.912	121.273	120.545	120.690	122.132	120.716	0.714

由表 5 可知，穿心莲供试品溶液连续进样 7 针，四种内酯类物质保留时间的 RSD 均小于 0.2%，峰面积的 RSD 均小于 1%。

4.3 样品中内酯类物质的含量测定

购买穿心莲作为样品，按照 5.1 的流程对样品进行处理，并对样品中四种内酯类物质利用一测多评的方法进行含量测定。按照公式（1）进行计算，样品的色谱图及样品加标的色谱图如图 6 及图 7 所示。

$$\omega = \frac{k \times C \times V \times 100}{m \times 10^6} \text{----公式 (1)}$$

式中： ω ---为样品中穿心莲内酯（或新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯）的含量，单位为%；

C ---为通过校准曲线计算的样品中穿心莲内酯浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ---为样品的定容体积，单位为毫升（ mL ）；

m ---为样品质量，单位为克（ g ）；

k ---一测多评的校正因子，穿心莲内酯为 1.00，新穿心莲内酯为 1.12，14-去氧穿心莲内酯为 0.79、脱水穿心莲内酯为 0.63。

经计算，此样品中含穿心莲内酯为 4.26%，新穿心莲内酯为 0.501%，14-去氧穿心莲内酯为 0.167%，脱水穿心莲内酯为 0.197%。

5 结论

通过对穿心莲中四种内酯类物质的理论塔板数、重复性、相对保留时间以及含量的测定，实验结果表明：用 K2025 测定穿心莲内酯对照品以及穿心莲供试品中穿心莲内酯峰的理论塔板数均大于 40000，满足《中国药典（2020 版）》中穿心莲内酯峰理论塔板数不低于 8000 的要求；重复性测试中，对照品及供试品连续进样 7 针，四种内酯物质保留时间的 RSD 均小于 0.2%，峰面积的 RSD 均小于 1%，对照品及供试品的定性定量均有良好的重复性；四种内酯物质的相对保留时间满足《中国药典（2020 版）》中对内酯物质相对保留时间偏差的要求。因此，Wooking K2025 高效液相色谱仪可以满足穿心莲中内酯物质含量测定的需求。

附：

相关产品信息

名称	设备型号	仪器配置
悟空 HPLC	K2025	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