

高效液相色谱法测定大青叶配方颗粒特征图谱

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大青叶配方颗粒的特征图谱。色谱条件: C_{18} 4.6×250mm, 5 μ m, 流速为 1.0mL/min, 柱温为 30°C, 进样量为 10 μ L, 检测波长为 260nm。实验结果: 紫丁香苷峰的理论塔板数为 226580, 满足《大青叶配方颗粒》中规定的不低于 5000 的要求; 供试品溶液的特征峰个数与《大青叶配方颗粒》中规定的特征峰个数一致, 其中 4 个峰分别与相应的对照品参照物峰保留时间相对应, 且其余峰的相对保留时间均在规定值的±10%范围之内。因此, Wooking K2025 高效液相色谱仪可用于大青叶配方颗粒特征图谱的测定。

关键词: 大青叶; 高效液相色谱

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、统一质量标准的新配药用。

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。

大青叶配方颗粒为十字花科植物菘蓝的干燥叶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, 为浅棕色至棕褐色的颗粒, 气微, 味微苦, 具有清热解毒, 凉血消斑的功效。大青叶配方颗粒试样经水超声提取后, 采用梯度洗脱, 用紫外检测器检测。大青叶配方颗粒应呈现 11 个特征峰。

1 试剂与材料

水: 符合 GB/T6682 的一级水;

甲醇: 色谱级;

磷酸: 色谱级;

鸟苷对照品: 纯度为 98.86%;

腺苷对照品：纯度≥98%；

尿苷对照品：纯度≥98%；

紫丁香苷对照品：纯度为 98.54%；

0.22μm 有机相滤膜；

0.1%磷酸溶液：取磷酸 1mL，加水定容至 1L；

对照品参照物溶液 1：取尿苷对照品、腺苷对照品和鸟苷对照品适量，精密称定，分别加水制成每 1mL 含尿苷、腺苷和鸟苷各 60μg 的溶液，作为对照品参照物溶液 1；

对照品参照物溶液 2：取紫丁香苷对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1mL 含 60μg 的溶液，作为对照品参照物溶液 2。

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，1000mL，棕色带刻度；

具塞锥形瓶：25mL，棕色。

3 测定步骤

3.1 供试品溶液的制备

取本品适量，研细，取 1.0g，精密称定，置具塞锥形瓶中，加水 25mL，超声处理（功率 600W，频率 40kHz）20min，放冷，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 A：甲醇，流动相 B：0.1%磷酸溶液，按下表进行梯度洗脱：

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	0	100
20	3	97
40	20	80
80	45	55
100	70	30

- c) 柱温: 30°C;
- d) 进样量: 10 μ L;
- e) 流速: 1.0mL/min;
- f) 波长: 260nm。

4 实验结果

依据色谱条件, 分别将参照物溶液与供试品溶液注入液相色谱仪进行测定, 参照物溶液的色谱图如图 1 和图 2 所示, 色谱图积分结果见表 1。

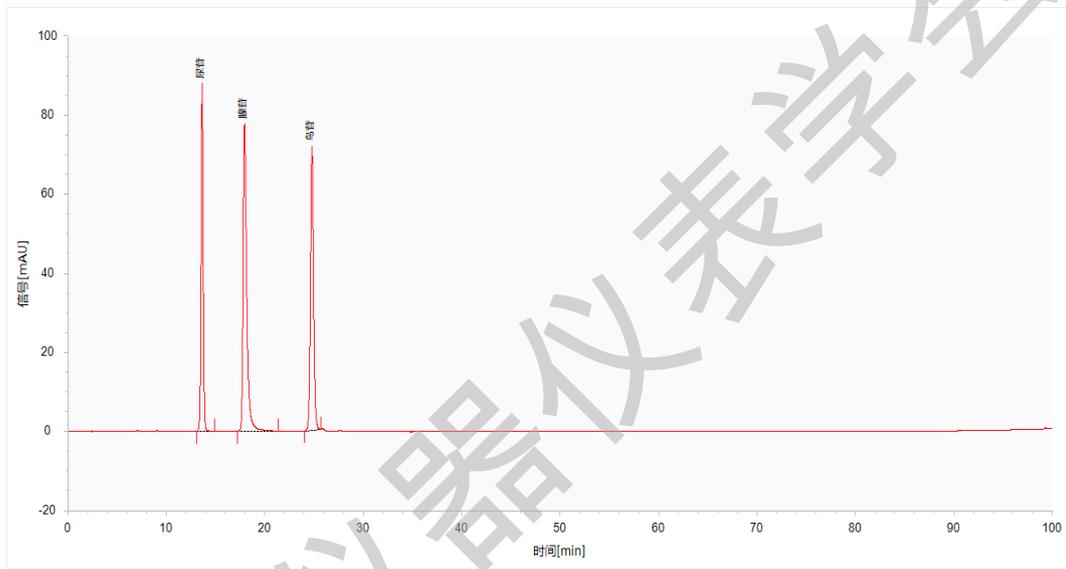


图 1 参照物溶液 1 的色谱图

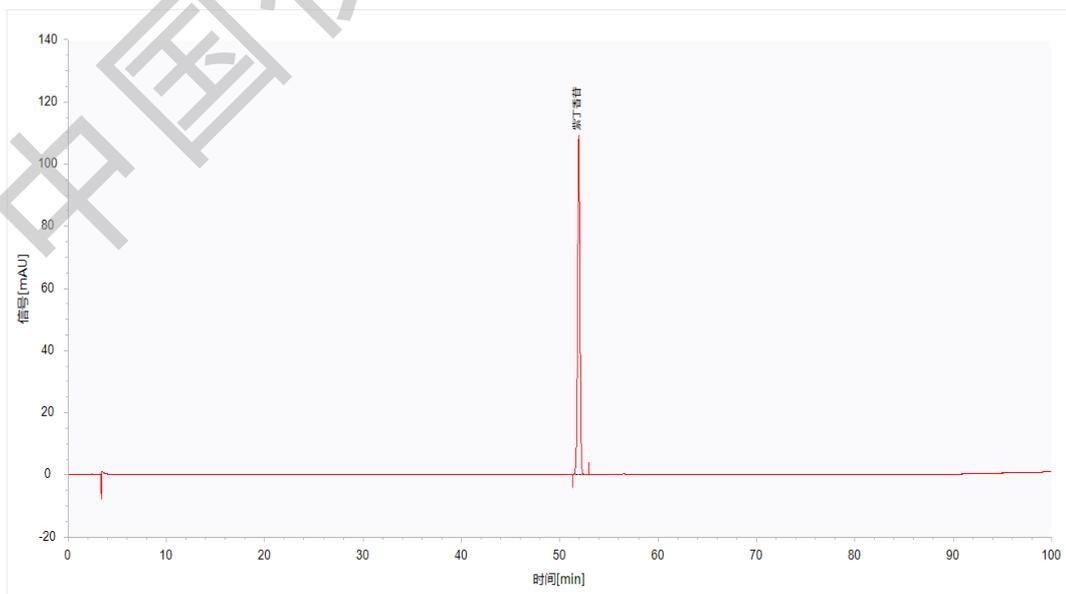


图 2 参照物溶液 2 的色谱图

表 1 参照物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
尿苷	13.683	1325.626	88.005	20010	-	1.04
腺苷	17.983	1978.065	77.867	14068	8.66	1.57
鸟苷	24.833	1589.416	71.842	30912	11.70	1.09
紫丁香苷	51.983	1822.787	109.000	226580	-	0.96

由表 1 中数据可知，紫丁香苷峰的理论塔板数为 226580，满足《大青叶配方颗粒》中规定的不低于 5000 的要求。

供试品溶液的色谱图如图 3 所示，色谱图积分结果见表 2，特征峰相对保留时间结果见表 3。

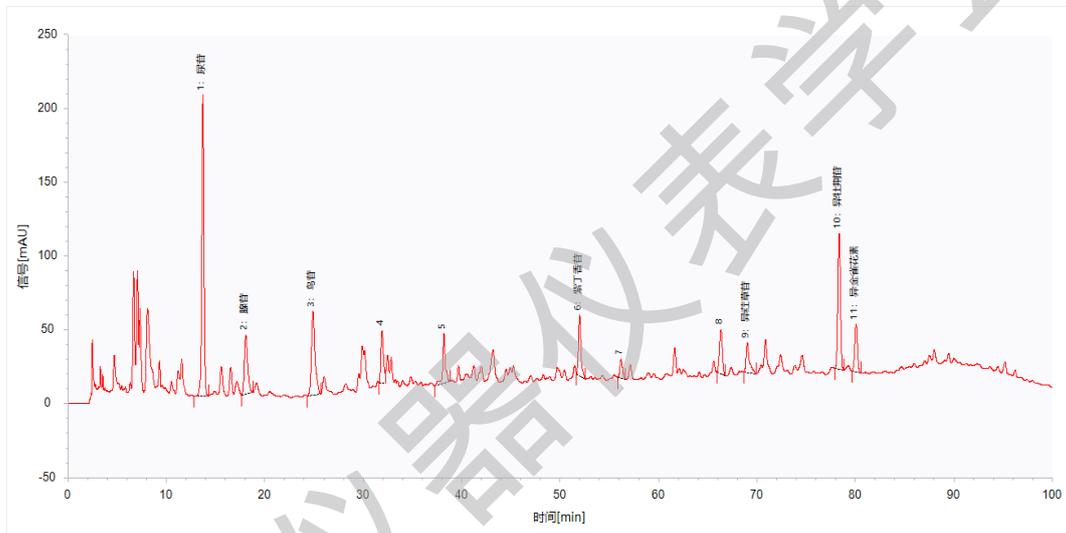


图 3 供试品溶液的色谱图

表 2 供试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
1: 尿苷	13.758	3140.146	203.821	19981	-	0.98
2: 腺苷	18.108	938.206	40.028	14160	8.72	1.48
3: 鸟苷	24.933	1452.136	56.695	26634	11.19	1.39
4	31.950	662.504	35.505	64873	12.61	1.22
5	38.242	625.214	33.416	166222	14.35	1.57
6 (S): 紫丁香苷	52.033	720.704	41.351	242837	34.59	1.18
7	56.233	235.898	12.782	209504	9.19	1.03
8	66.383	621.233	30.348	236654	19.58	0.88
9: 异葎草苷	69.067	486.083	20.501	305205	5.13	1.78
10: 异牡荆苷	78.400	1677.888	91.957	417521	18.95	1.00
11: 异金雀花素	80.108	615.450	32.211	407043	3.46	0.97

表 3 特征峰相对保留时间结果表

目标物	保留时间 (min)	相对保留时 间测定值	相对保留时 间规定值	偏差 (%)
4	31.950	0.614	0.567	8.30
5	38.242	0.735	0.686	7.14
6 (S) : 紫丁香苷	52.033	-	-	-
7	56.233	1.081	1.159	-6.75
8	66.383	1.276	1.308	-2.46
9: 异荭草苷	69.067	1.327	1.352	-1.82
10: 异牡荆苷	78.400	1.507	1.465	2.85
11: 异金雀花素	80.108	1.540	1.511	1.89

由表 2 和表 3 中数据可知，大青叶配方颗粒供试品溶液的特征峰个数为 11 个，与《大青叶配方颗粒》中规定的特征峰个数一致；峰 1~3，峰 6 的保留时间与参照物溶液的保留时间相对应，峰 4、峰 5、峰 7、峰 8、峰 9、峰 10 和峰 11 与紫丁香苷（S 峰）的相对保留时间分别为 0.614、0.735、1.081、1.276、1.327、1.507 和 1.540，均在规定值的±10%范围之内。

5 结论

本文使用 Wooking K2025 高效液相色谱仪测定大青叶配方颗粒的特征图谱。实验结果：紫丁香苷峰的理论塔板数为 226580，满足《大青叶配方颗粒》中规定的不低于 5000 的要求；供试品溶液的特征峰个数与《大青叶配方颗粒》中规定的特征峰个数一致，其中 4 个峰分别与相对应的对照品参照物保留时间相对应，且相对保留时间均在规定值的±10%范围之内。因此，Wooking K2025 高效液相色谱仪可用于大青叶配方颗粒特征图谱的测定。

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