

高效液相色谱法测定黄连配方颗粒特征图谱

张佳佳, 王惠玉

(海能未来技术集团股份有限公司, 山东 250104)

摘要: 本文使用悟空 K2025 高效液相色谱仪测定黄连配方颗粒的特征图谱。色谱条件: C₁₈ 4.6×250mm, 5μm, 流速为 1.0mL/min, 柱温为 30°C, 进样量为 20μL, 检测波长为 345nm。实验结果: 盐酸小檗碱的理论塔板数为 170393, 满足《黄连(黄连)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《黄连(黄连)配方颗粒》中规定的特征峰个数一致, 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黄连配方颗粒特征图谱的测定。

关键词: 黄连; 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。

黄连配方颗粒为毛茛科植物黄连的干燥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, 为黄棕色至深棕色的颗粒; 气微, 味极苦, 主要用于湿热内蕴、肠胃湿热、呕吐、泻痢等症的治疗。

黄连配方颗粒试样经甲醇-盐酸(100:1)溶液超声提取后, 采用梯度洗脱, 用紫外检测器检测。黄连配方颗粒应呈现 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;

乙腈: 色谱级;

氨水: 色谱级;

乙酸铵：优级纯；

十二烷基硫酸钠：优级纯；

盐酸：分析纯；

木兰花碱：98.65%

盐酸药根碱：98.6%；

盐酸小檗碱：98.38%；

0.22 μm 有机相滤膜；

流动相（25mmol/L 乙酸铵和 8mmol/L 十二烷基硫酸钠溶液）：称取 1.927g 乙酸铵和 2.307g 十二烷基硫酸钠，加水溶解后，定容至 1L，用氨水调 pH 值至 9.3；

对照品参照溶液：取木兰花碱对照品、盐酸药根碱对照品、盐酸小檗碱对照品适量，精密称定，分别加甲醇制成每 1mL 含木兰花碱 50 μg ，盐酸药根碱 50 μg 、盐酸小檗碱 90 μg 的溶液。

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：50mL，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 0.2g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇-盐酸（100:1）的混合溶液 50mL，密塞，称定重量，超声处理（功率 250W，频率 40kHz）30min，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 1mL，置 10mL 容量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，即得。

3.2 色谱条件

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

b) 流动相 A：乙腈，流动相 B：见 2.12，按下表进行梯度洗脱：

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	10	90
15	25	75
25	30	70
45	50	50
75	50	50

- c) 柱温: 30°C;
d) 进样量: 20 μ L;
e) 流速: 1.0mL/min;
f) 波长: 345nm。

4 实验结果

依据色谱条件 (4.2), 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 所示, 色谱图积分结果见表 1。

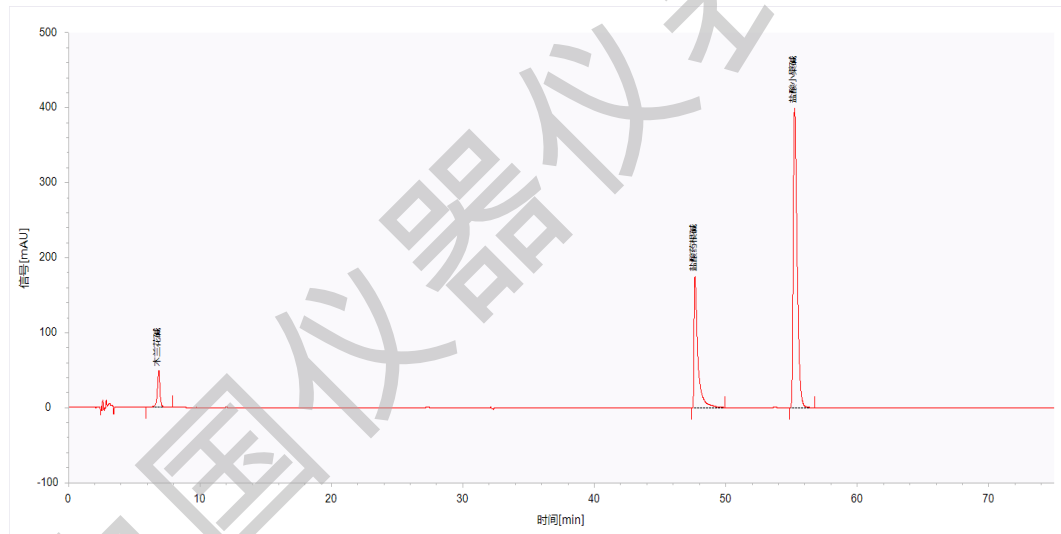


图 1 参照物溶液的色谱图

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
木兰花碱	6.900	689.958	49.220	7271	-	0.92
盐酸药根碱	47.692	3567.780	174.886	192096	107.52	3.21
盐酸小檗碱	55.267	8309.335	399.362	170393	15.61	1.66

由表 1 中数据可知, 盐酸小檗碱的理论塔板数为 170393, 满足《黄连 (黄连) 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 2 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。

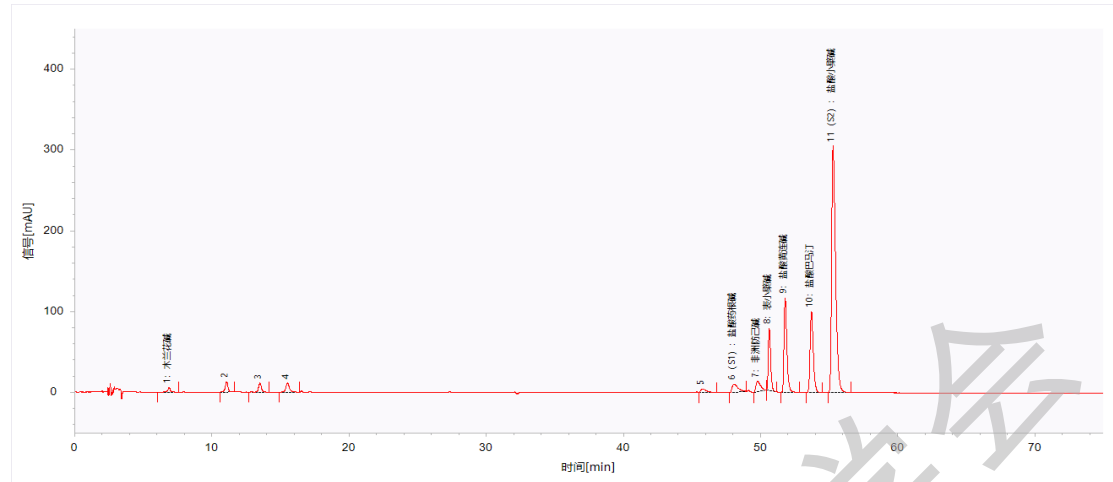


图 2 供试品溶液的色谱图

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: 木兰花碱	6.925	73.917	5.814	10014	-	0.97
2	11.117	176.025	12.600	17352	13.65	0.95
3	13.550	155.929	10.958	22436	6.96	1.04
4	15.558	201.606	11.334	21209	5.09	1.02
5	45.817	122.292	4.417	73956	54.97	1.99
6 (S1): 盐酸药根碱	48.092	299.321	10.000	56316	3.07	2.87
7: 非洲防己碱	49.817	300.597	12.731	90687	2.34	1.99
8: 表小檗碱	50.667	923.455	77.256	438657	1.76	1.28
9: 盐酸黄连碱	51.825	1676.526	116.701	332172	3.48	1.45
10: 盐酸巴马汀	53.742	1630.942	100.479	268276	4.95	1.31
11 (S2): 盐酸小檗碱	55.317	6107.467	305.501	186338	3.40	1.60

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 (%)
5	45.817	0.95	0.94	1.06
6 (S1): 盐酸药根碱	48.092	-	-	-
7: 非洲防己碱	49.817	0.90	0.91	-1.10
8: 表小檗碱	50.667	0.92	0.93	-1.08
9: 盐酸黄连碱	51.825	0.94	0.94	0.00
10: 盐酸巴马汀	53.742	0.97	0.98	-1.02
11 (S2): 盐酸小檗碱	55.317	-	-	-

由表 2 和表 3 中数据可知，黄连配方颗粒供试品溶液的特征峰个数为 11 个，与《黄连（黄连）配方颗粒》中规定的特征峰个数一致；峰 5 与盐酸药根碱（S1 峰）的相对保留时间为 0.95，峰 7、峰 8、峰 9、峰 10 与盐酸小檗碱（S2 峰）的相对保留时间分别为 0.90、0.92、0.94 和 0.97，均在规定值的 $\pm 10\%$ 范围之内。

5 结论

本文使用 Wooking K2025 高效液相色谱仪测定黄连配方颗粒的特征图谱。实验结果：盐酸小檗碱的理论塔板数为 170393，满足《黄连（黄连）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《黄连（黄连）配方颗粒》中规定的特征峰个数一致，且相对保留时间均在规定值的 $\pm 10\%$ 范围之内。因此，Wooking K2025 高效液相色谱仪可用于黄连配方颗粒特征图谱的测定。