

高效液相色谱法测定栀子配方颗粒的特征图谱

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栀子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 25°C, 进样量为 10μL, 检测波长为 0~23min: 238nm, 23~40min: 440nm。实验结果表明: 栀子苷的理论塔板数为 65169, 满足《栀子配方颗粒》中规定的不低于 3000 的要求; 供试品溶液的特征峰个数与《栀子配方颗粒》中规定的特征峰个数一致, 且相对保留时间均在规定值的±8%范围之内。因此, Wooking K2025 高效液相色谱仪可用于栀子配方颗粒特征图谱的测定。

关键词: 栀子; 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。

栀子配方颗粒为茜草科植物栀子的干燥成熟果实经炮制并按标准汤剂的主要质量标准指标加工制成的配方颗粒, 本品为浅黄色至棕黄色的颗粒, 气味, 味微酸而苦。具有泻火除烦、清热利湿、凉血解毒、消肿止痛等功效。栀子配方颗粒试样经 50%乙醇溶液超声提取后, 采用梯度洗脱, 用紫外检测器检测。栀子配方颗粒应呈现 6 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;

磷酸: 色谱级;

栀子苷: 99.81%;

0.4%磷酸溶液：取 4mL 磷酸溶液溶于 1000mL 水中，混合均匀，待用；

50%乙醇溶液：取 50mL 乙醇加入 50mL 水，混合均匀，待用；

参照物溶液：取栀子苷对照品适量，置棕色容量瓶中，加甲醇制成每 1mL 含 30 μ g 的混合溶液；

0.22 μ m 有机微孔滤膜。

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：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 0.1g，置具塞锥形瓶中，加入 50%乙醇 50mL，密塞，称定重量，超声处理（功率 250W，频率 50kHz）20min，取出，放冷，再称定重量，用 50%乙醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

3.2 色谱条件

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

b) 以乙腈为流动相 A，以 0.4%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	8	92
10	16	85
15	20	80
20	25	75
40	30	70

c) 柱温：25 $^{\circ}$ C；

d) 进样量：10 μ L；

e) 流速: 1.0mL/min;

f) 波长: 按照下表波长变化进行设置:

时间 (min)	波长 (nm)
0	238
23	238
23.1	440
40	440

4 实验结果

依据色谱条件 (4.2), 分别对照品溶液和供试品溶液注入液相色谱仪, 测定, 即得。

参照物溶液的色谱图如图 1 所示, 色谱图积分结果见表 1。

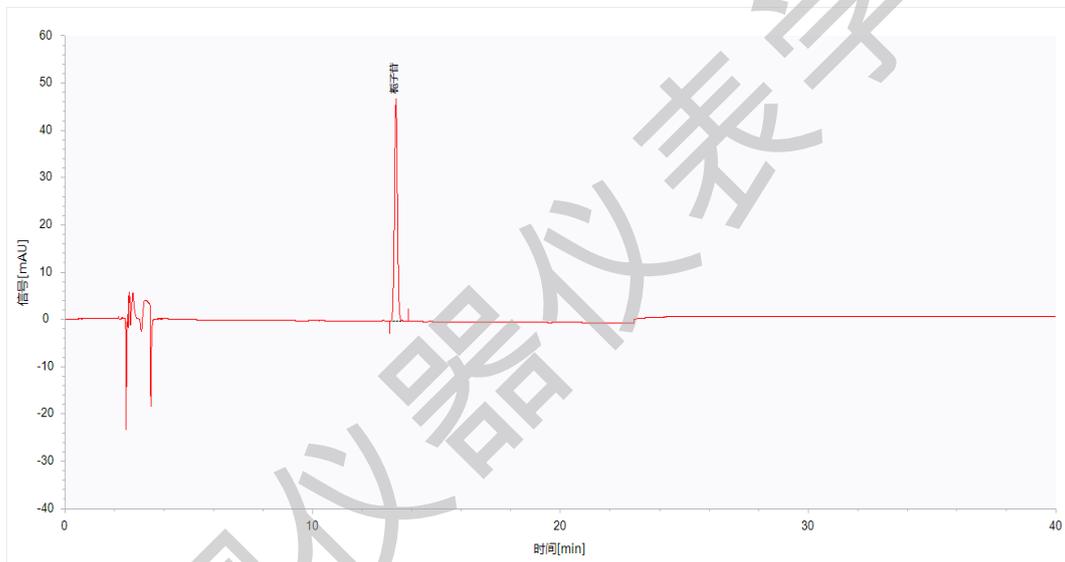


图 1 参照物溶液的色谱图

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
栀子苷	13.392	379.515	47.095	65169	-	1.00

由表 1 中数据可知, 栀子苷的理论塔板数为 65169, 满足《栀子配方颗粒》中规定的不低于 3000 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。

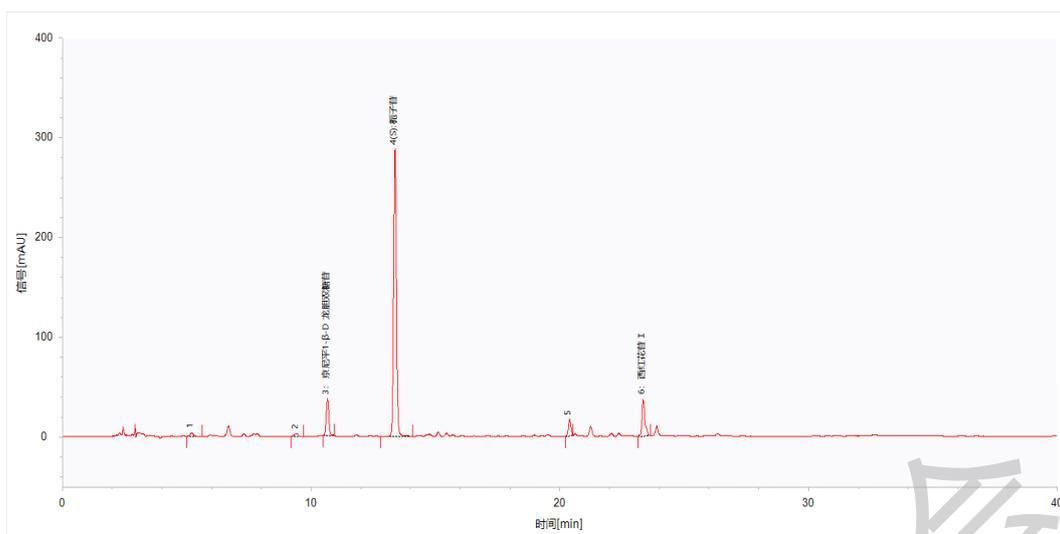


图 2 供试品溶液的色谱图

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	5.217	29.093	3.476	11415	-	1.05
2	9.442	33.769	3.068	14941	16.76	0.81
3: 京尼平 1-β-D 龙胆双糖苷	10.675	275.844	36.802	46386	4.86	0.97
4(S): 栀子苷	13.392	2275.562	288.377	69874	13.56	1.03
5	20.408	109.93	16.366	204555	36.64	1.08
6: 西红花苷I	23.367	303.291	36.960	243737	16.00	1.41

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 (%)
1	5.217	0.390	0.409	-4.65
2	9.442	0.705	0.704	0.14
3: 京尼平 1-β-D 龙胆双糖苷	10.675	0.797	0.806	-1.12
4(S): 栀子苷	13.392	1.000	-	-
5	20.408	1.524	1.455	4.74
6: 西红花苷I	23.367	1.745	1.709	2.11

由表 2 和表 3 中数据可知，栀子配方颗粒供试品溶液的特征峰个数为 6 个，与《栀子配方颗粒》中规定的特征峰个数一致；峰 1、峰 2、峰 3、峰 5、峰 6 与 S 峰的相对保留时间分别为 0.390、0.705、0.797、1.524 和 1.745，均在规定值的±8%范围之内。

5 结论

本文使用 Wooking K2025 高效液相色谱仪测定栀子配方颗粒的特征图谱。实验结果表

明：梔子苷的理论塔板数为 65169，满足《梔子配方颗粒》中规定的不低于 3000 的要求；供试品溶液的特征峰个数与《梔子配方颗粒》中规定的特征峰个数一致，且相对保留时间均在规定值的 $\pm 8\%$ 范围之内。因此，Wooking K2025 高效液相色谱仪可用于梔子配方颗粒特征图谱的测定。

中国仪器仪表学会