

车前草（车前）配方颗粒特征图谱分析及其中大车前苷含量检测

LC-254

摘要：本文参照国家药品标准《YBZ-PFKL-2021023 车前草（车前）配方颗粒》，利用 Nexera LC-40D XR 系统分析了车前草配方颗粒的特征图谱，并对大车前苷的含量进行了测定。使用岛津 Shim-pack Velox SP-C18 色谱柱进行分析，各特征峰相对保留时间均在标准规定的允许范围内；仪器精密度良好，对照药材溶液平行测定 6 次，6 个特征峰保留时间和峰面积的 RSD 值分别不超过 0.32% 和 1.26%；利用岛津 LC-40 自动进样器的“同时注入”功能，很好的解决了测定大车前苷含量时由于溶剂效应而导致的目标峰分叉变形的问题；在药典允许的范围内，通过调整流动相比比例，改善了大车前苷目标峰与干扰峰的分离效果；供试品 1 和 2 的定量分析结果满足标准要求。

关键词：LC-40D XR 车前草配方颗粒 特征图谱 大车前苷 同时注入

中药配方颗粒是以传统中药材为原料，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。

为保证中药配方颗粒与传统中药拥有同样的治疗效果，需要对其品质进行监控。《YBZ-PFKL-2021023 车前草（车前）配方颗粒》中规定了使用超高效液相

色谱分析车前草配方颗粒特征图谱及其中大车前苷含量的方法。

本文参照《YBZ-PFKL-2021023 车前草（车前）配方颗粒》，利用 Nexera LC-40D XR 系统分析了车前草配方颗粒的特征图谱，并对大车前苷的含量进行了测定。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40D XR 高效液相色谱系统，具体配置为：

系统控制器：SCL-40

脱气机：DGU-405

输液泵：LC-40D XR × 2

自动进样器：SIL-40C XR

柱温箱：CTO-40C

检测器：SPD-40

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.98

1.2 分析条件

1.2.1 液相色谱条件 - 特征图谱分析

色谱柱：Shim-pack Velox SP-C18, 100 mm × 2.1 mm I.D., 1.8 μm, 岛津（上海）实验器材有限公司，P/N：227-32001-03

流动相：A-0.05% 磷酸水溶液；B- 乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：30°C

进样体积：1 μL

波长：330 nm

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 12%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
5	Pump	B.Conc	13
15	Pump	B.Conc	17
20	Pump	B.Conc	17
25	Pump	B.Conc	88
29	Pump	B.Conc	88
29.1	Pump	B.Conc	12
35	Controller	Stop	

1.2.2 液相色谱条件 - 大车前苷含量测定

液相条件

色谱柱：Shim-pack Velox SP-C18, 100 mm × 2.1 mm I.D., 1.8 μm, 岛津（上海）实验器材有限公司，
P/N: 227-32001-03

流动相：A-0.1% 甲酸水溶液；B- 乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：25°C

进样体积及方式：10 μL，同时注入

波长：330 nm

洗脱方式：等度洗脱，B 相浓度为 15%

1.3 样品前处理

参照《YBZ-PFKL-2021023 车前草（车前）配方颗粒》，相关样品前处理步骤如下：

1.3.1 参照物溶液的制备 - 特征图谱

取车前草（车前）对照药材 1 g，置具塞锥形瓶中，加 60% 甲醇 50 ml，加热回流一小时，放冷，摇匀，滤过，取续滤液，作为对照药材参照物溶液；另取〔含量测定〕项下对照品溶液，作为对照品参照物溶液。

1.3.2 供试品溶液的制备 - 特征图谱

取本品适量，研细，取约 0.2 g，置具塞锥形瓶中，加 60% 甲醇 50 ml，加热回流 30 分钟，放冷，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

1.3.3 对照品溶液的制备 - 大车前苷含量测定

取大车前苷对照品适量，精密称定，置棕色量瓶中，加 60% 甲醇制成每 1 ml 含 0.1 mg 大车前苷的溶液，即得。

1.3.4 供试品溶液的制备 - 大车前苷含量测定

取本品适量，研细，取约 0.2 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 60% 甲醇 50 ml，称定重量，超声处理（功率 250 W，频率 40 kHz）30 分钟，放冷，再称定重量，用 60% 甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

1.4 结果判定要求

参照《YBZ-PFKL-2021023 车前草（车前）配方颗粒》，特征图谱分析和大车前苷含量测定要求如下

1.4.1 特征图谱

(1) 理论塔板数按照大车前苷峰计算不低于 3000；

(2) 色谱图中应呈现 6 个特征峰，大车前苷对应的峰为 S 峰，各特征峰与 S 峰的相对保留时间规定值分别为 0.39（峰 1）、0.41（峰 2）、0.70（峰 3）、1.07（峰 5）和 1.31（峰 6），实测值与规定值偏差不大于 10%

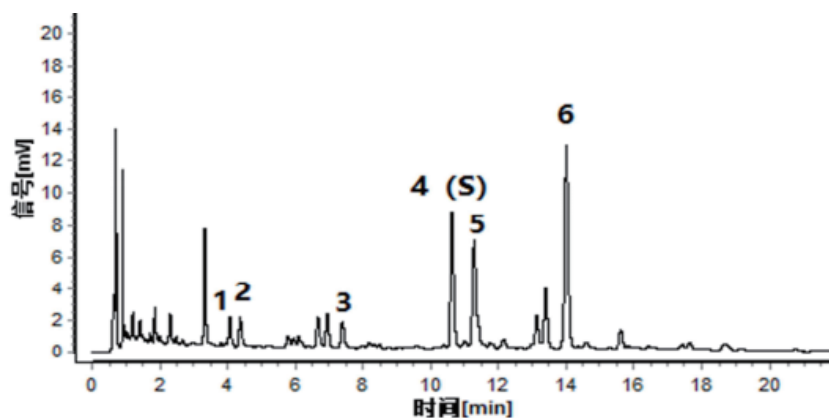


图 1 特征图谱

1.4.2 大车前苷含量测定

- (1) 理论塔板数按照大车前苷峰计算不低于 3000;
- (2) 每 1 g 配方颗粒中含大车前苷应为 1.8~10.5 mg

■ 结果与讨论

2.1 特征图谱分析

2.1.1 S 峰确定

以大车前苷对照品溶液进样分析确定 S 峰的保留时间为 10.877 min.

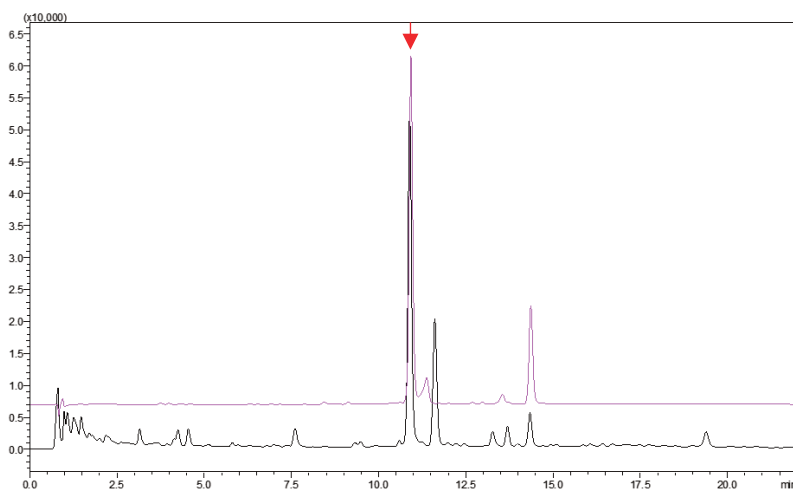


图 2 大车前苷对照品溶液（粉色）和对照药材溶液（黑色）色谱图

2.1.2 特征峰确定

分析对照药材溶液色谱图，以 S 峰保留时间和其他特征峰相对保留时间及允许偏差范围，并与标准中特征谱图对比，确认其他特征峰。

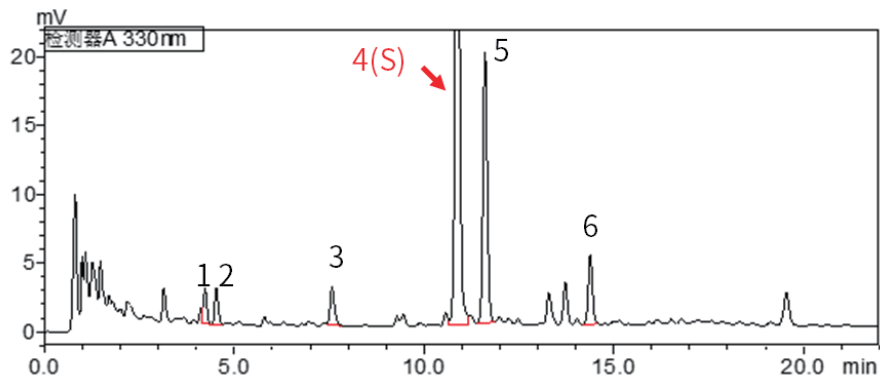


图3 对照药材溶液色谱图特征峰确定

结果如表 2 所示：其他特征峰相对保留时间均在标准要求的允差范围内，S 峰理论塔板数为 44787，远大于标准中 3000 的要求。

表 2 特征峰确定

特征峰 No.	保留时间	相对保留时间	相对保留时间允许范围	理论塔板数 (USP)
1	4.226	0.389	0.351-0.429	6436
2	4.523	0.416	0.369-0.451	9775
3	7.574	0.696	0.630-0.770	18135
4(S)	10.877	1.000	-	44787
5	11.609	1.067	0.963-1.177	45417
6	14.386	1.323	1.179-1.441	74502

2.1.3 重复性考察

对照药材溶液连续进样 6 次，考察重复性，色谱图如图 4 所示。

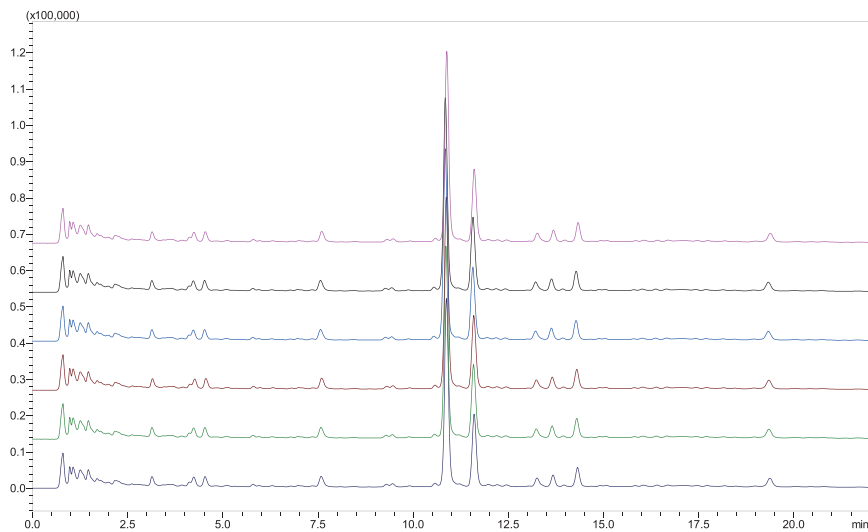


图 4 对照药材溶液色谱图重复性

6 个特征峰保留时间和峰面积的 RSD 结果如表 3 所示，其值分别不超过 0.32% 和 1.26%。

表 3 保留时间和峰面积重复性

特征峰 No.	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)
1	0.32	1.26
2	0.29	0.68
3	0.19	0.64
4(S)	0.15	0.61
5	0.13	0.57
6	0.15	0.53

2.1.4 样品分析

样品 1 和 2 的特征图谱如图 5 和图 6 所示。

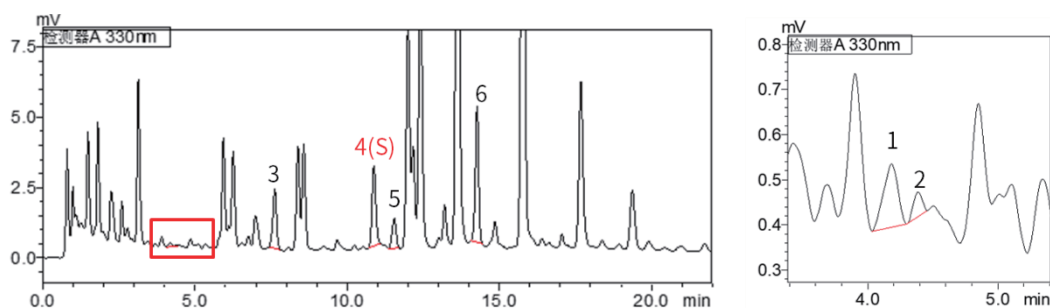


图 5 样品 1 色谱图 (左) 和局部放大图 (右, 3.4-5.4 min)

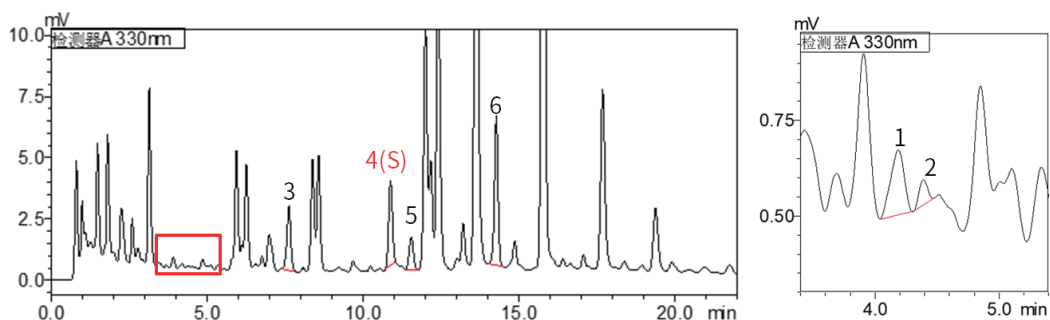


图 6 样品 2 色谱图 (左) 和局部放大图 (右, 3.4-5.4 min)

样品 1 和 2 各特征峰的相对保留时间如表 4 所示, 两份样品中各特征峰相对保留时间均在标准要求的允差范围内。

表 4 相对保留时间

特征峰 No.	样品 1	样品 2	相对保留时间 允许范围
1	0.385	0.385	0.351-0.429
2	0.403	0.404	0.369-0.451
3	0.700	0.700	0.630-0.770
4	1.000	1.000	-
5	1.062	1.062	0.963-1.177
6	1.312	1.312	1.179-1.441

2.2 大车前苷定量检测

2.2.1 溶剂效应及“同时注入”功能的使用

对照品及供试品溶液所用溶剂均为 60% 甲醇水溶液，标准中规定的流动相为 17% 乙腈水溶液，在进样体积为 10 μL 时，目标组分峰会受到溶剂效应影响而出现色谱峰峰顶分叉现象。

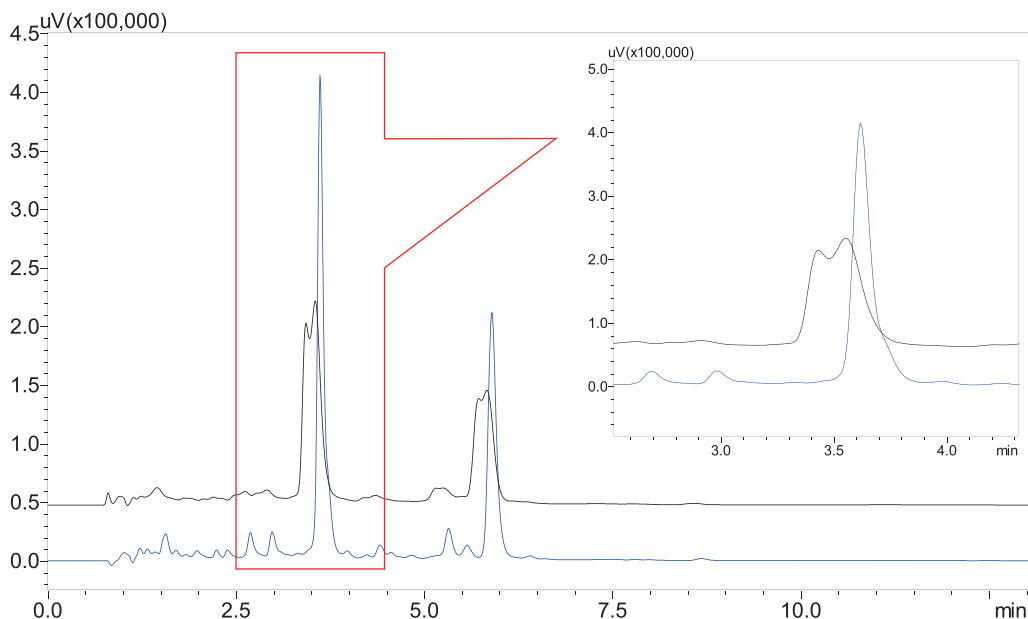


图 7 大车前苷对照品色谱图（黑色 - 标准进样模式，蓝色 - “同时注入”进样模式）

岛津 Nexera LC-40 系列自动进样器具有“同时注入”功能，在软件上简单设置即可使用该功能。使用“同时注入”功能后，溶剂效应消除，峰形正常。



图 8 工作站实时分析窗口“自动进样器”项下的“同时注入”功能设置

2.2.2 梯度方法的优化

标准中推荐的流动相条件为 17% 乙腈水溶液，在该洗脱条件下，由图 9 可知，供试品中目标峰与其他色谱峰未基线分离。

按照 2020 年版《中国药典》四部通则“0512 高效液相色谱法”规定，等度洗脱时，“最小比例的流动相组分可在相对值 $\pm 30\%$ 或者绝对值 $\pm 2\%$ 的范围内调整”，将有机相比例调整为 15% 后，分离效果可以满足要求。

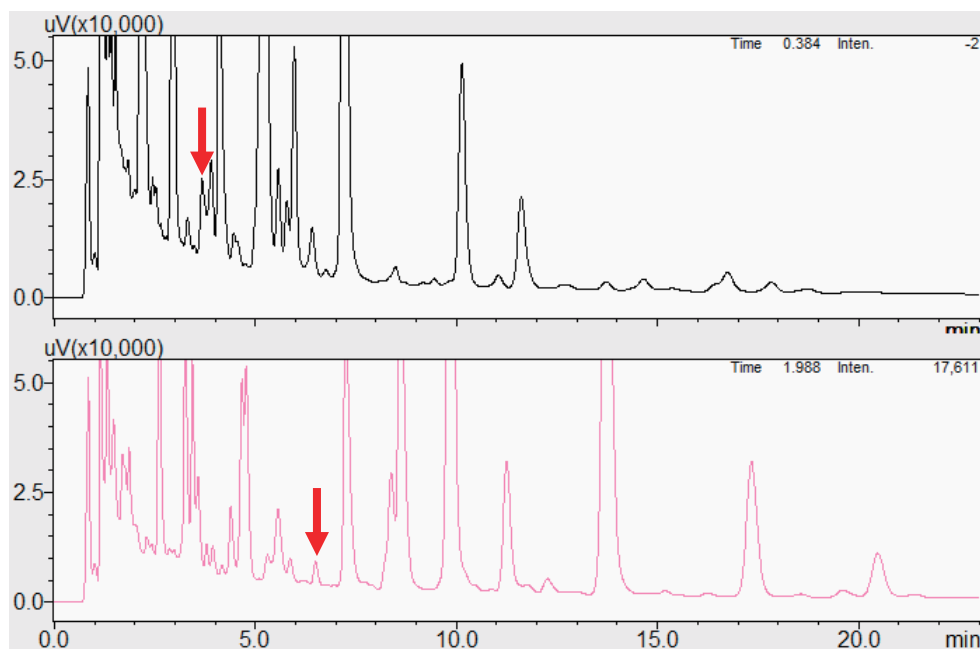


图9 供试品色谱图 (黑色 -17% 乙腈, 粉色 -15% 乙腈)

2.2.3 供试品含量测定

按照标准要求, 对供试品处理后进样检测, 所得定量结果如表 5 所示。

表 5 供试品含量

样品名称	检测结果 (mg/L)	称样量 (g)	定容体积 (mL)	含量 (mg/g)
供试品 1	11.501	0.203	50	2.832
供试品 2	9.069	0.199	50	2.267

注: 要求含量为 1.8~10.5mg/g.

■ 结论

本文参照《YBZ-PFKL-2021023 车前草 (车前) 配方颗粒》, 利用 Nexera LC-40D XR 系统分析了车前草配方颗粒的特征图谱, 并对大车前苷的含量进行了测定。使用岛津 Shim-pack Velox SP-C18 色谱柱进行分析, 特征峰相对保留时间满足标准要求, 方法重复性良好, 适合车前草 (车前) 配方颗粒的分析。

岛津应用云

