

岛津 Nexera LC-40 应用于北柴胡配方颗粒特征图谱的分析

LC-206

摘要： 本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱系统，参考国家药典委员会公示的《北柴胡（柴胡）配方颗粒》质量标准中的分析条件对北柴胡（柴胡）配方颗粒的特征图谱进行了分析。实验结果显示：柴胡皂苷 a 色谱峰的理论塔板数为 76483，符合系统适用性要求；空白溶液在北柴胡特征峰位置无明显色谱峰，不干扰分析测定；北柴胡对照药材参照物溶液连续 6 次进样，各峰保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.11%~0.25% 和 0.18%~0.98% 之间，仪器精密度良好；供试品色谱图与对照药材参照物色谱图中特征峰的保留时间一致，且各特征峰相对保留时间在规定范围内；在 211 nm 下，峰 1 与峰 3 面积的比值小于 0.35，在 250 nm 下，峰 8 面积与峰 8 面积和峰 6 面积之和的比值不大于 0.85，符合《北柴胡（柴胡）配方颗粒》质量标准相关规定。

关键词： Nexera LC-40 北柴胡（柴胡）配方颗粒 特征图谱

北柴胡是一种伞形科柴胡属的植物，中医上以根入药，性微寒、味苦，功能解表退热、疏肝解郁，可用于感冒引起的发热，对流感病毒有一定的抑制作用，还可用于两肘部胀痛，头昏眼花，月经不调等症状。北柴胡是本次战“疫”的关键药味之一，频频出现在中医处方中，湖北省中医院专家研制的“肺炎 1 号”（基础方剂为：柴胡陷胸汤、达原饮等），疫情期间广泛应用于新型冠状病毒感染肺炎疑似、临床诊断病例及确诊病例治疗，在抗“疫”过程中发挥了明显作用。

中药特征图谱是一种多指标的质量控制模式，它可以比较全面的反映所含化学成分的种类和数量，从

而全面、综合地反映和控制中药的质量。目前中药特征图谱的测定方法较多，以色谱法和光谱法为主。其中，高效液相色谱法以其强大的分离能力和快捷的分析速度而成为目前研究中药化学特征图谱的常用方法，并在多版《中国药典》的指纹图谱及特征图谱分析中得到了广泛的应用。

本实验使用 Nexera LC-40 高效液相色谱系统对北柴胡（柴胡）配方颗粒的特征图谱进行分析，该系统稳定性好，重复性高，特征图谱满足《北柴胡（柴胡）配方颗粒》质量标准，能够为北柴胡（柴胡）配方颗粒质量控制提供帮助。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40D XS 液相色谱仪，包括 CBM-40A Lite 系统控制器，DGU-403 脱气机，LC-40D XS 输送泵，SIL-40C XS 自动进样器，CTO-40S 柱温箱，SPD-40 检测器，LabSolutions Ver. 5.98 色谱工作站。

1.2 分析条件

色谱柱：ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱（100 mm × 2.1 mm I.D.，1.7 μm）

流动相：A：水；B：乙腈

流速：0.4 mL/min

柱温：35°C

检测波长：211nm、250nm

进样体积：3 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相起始浓度为 25%，时间程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
8.00	Pumps	Pump B Conc	28.0
15.00	Pumps	Pump B Conc	29.0
20.00	Pumps	Pump B Conc	36.0
28.00	Pumps	Pump B Conc	36.0
31.00	Pumps	Pump B Conc	40.0
37.00	Pumps	Pump B Conc	40.0
37.01	Pumps	Pump B Conc	25.0
43.00	Controller	Stop	25.0

■ 样品前处理

对照品溶液的制备：取柴胡皂苷 a 对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1 mL 含 75 μg 的溶液，即得。

对照药材参照物溶液的制备：取柴胡（北柴胡）对照药材 0.5 g，置锥形瓶中，加水 25 mL，加热回流 30 分钟，滤过，取续滤液 20 mL，蒸干，加 5% 浓氨试液的 50% 乙醇溶液 25 mL，超声（功率 250W，频率 40kHz）30 分钟，取出，放冷，摇匀，滤过，取续滤液，作为对照药材参照物溶液。

供试品溶液的制备：取本品适量，研细，取约 1.0 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入含 5% 浓氨试液的 50% 乙醇溶液 25 mL，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 5% 浓氨试液的 50% 乙醇溶液补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

■ 结果与讨论

3.1 特征图谱

按照 1.2 中色谱分析条件，对空白溶剂、对照品参照物溶液、对照药材参照物溶液和供试品溶液分别上机分析，空白溶剂色谱图如图 1，目标物出峰处无干扰。柴胡皂苷 a 对照品参照物溶液色谱图见图 2，北柴胡对照药材参照物溶液色谱图和供试品溶液色谱图如图 3、4 所示。

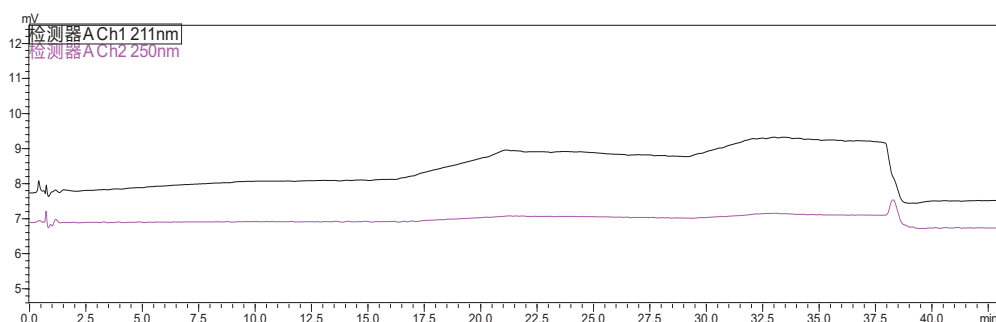


图 1 空白溶剂色谱图

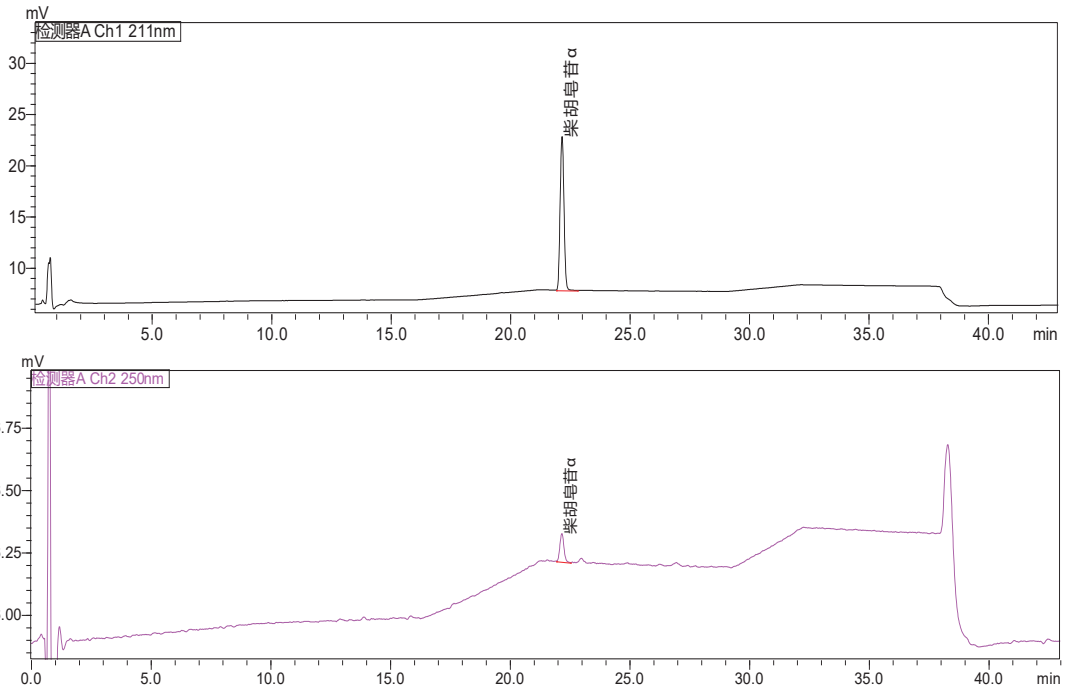


图 2 对照品参照物溶液色谱图

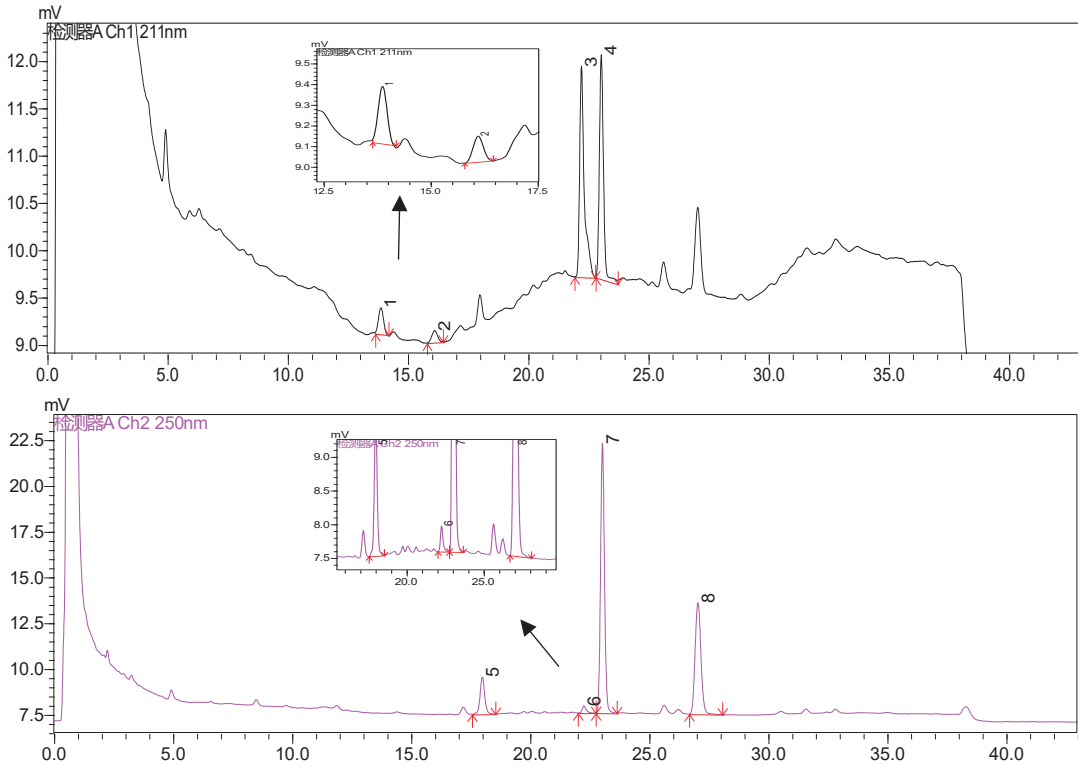


图 3 对照药材参照物溶液色谱图

注：峰 1：柴胡皂苷 c 峰 2：柴胡皂苷 f 峰 3：柴胡皂苷 a 峰 4：柴胡皂苷 b₂
 峰 6：柴胡皂苷 a 峰 7：柴胡皂苷 b₂ 峰 8：柴胡皂苷 b₁

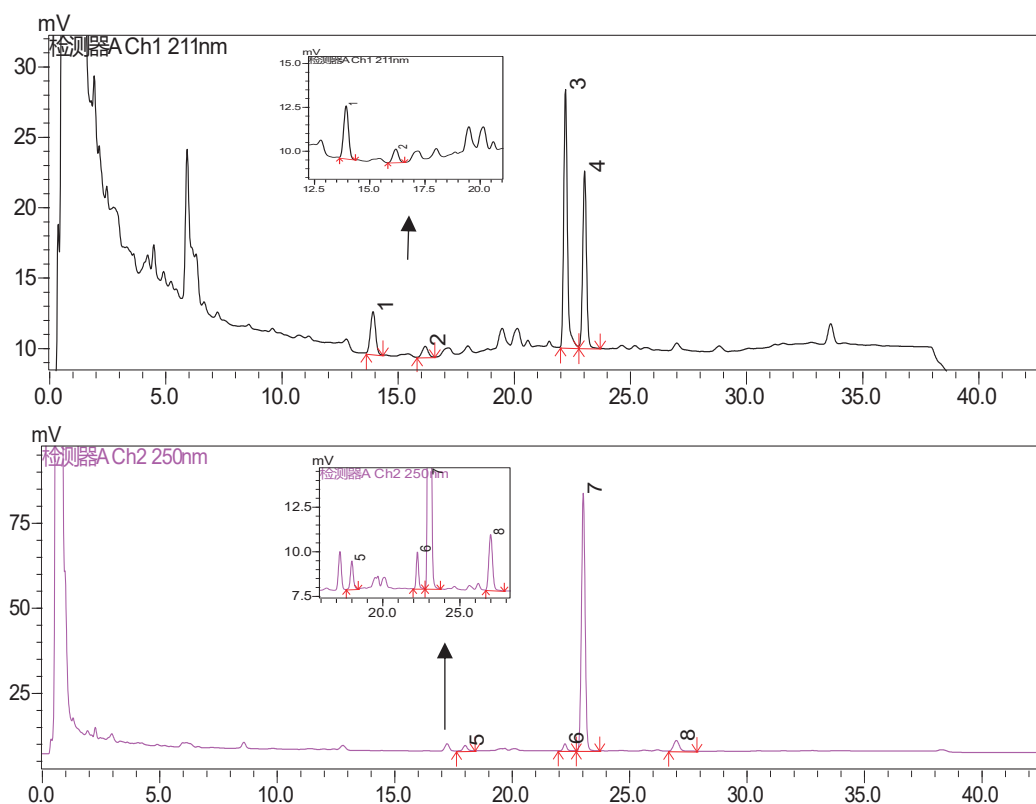


图4 供试品溶液色谱图

注：峰1：柴胡皂苷c 峰2：柴胡皂苷f 峰3：柴胡皂苷a 峰4：柴胡皂苷b₂
 峰6：柴胡皂苷a 峰7：柴胡皂苷b₂ 峰8：柴胡皂苷b₁

3.2 系统适用性考察结果

以柴胡皂苷a作为对照品参照物，其理论塔板数为76483，公示稿质量标准系统适用性项下规定柴胡皂苷a的理论塔板数不得低于10000，本实验结果满足质量标准规定。

3.3 供试品和对照药材参照物特征图谱对比结果

按照国家药典委员会公示的《北柴胡（柴胡）配方颗粒》质量标准相关规定，在211 nm下，供试品特征图谱应呈现4个特征峰，并应与对照药材参照物色谱中的4个特征峰保留时间相对应，以柴胡皂苷a参照物峰相应的峰为S峰，计算各特征峰与S峰的相对保留时间，峰1和峰2的相对保留时间应在规定值的±10%范围之内，峰4的相对保留时间应在规定值的±8%范围之内，规定值为：0.61（峰1）、0.69（峰2）、1.04（峰4）；且峰1与峰3面积的比值应小于0.35；在250 nm下，供试品色谱中应呈现4个特征峰，并应与对照药材参照物色谱中的4个特征峰保留时间相对应，以柴胡皂苷a参照物峰相应的峰为S峰，计算各特征峰与S峰的相对保留时间，峰5的相对保留时间应在规定值的±10%范围之内，峰7和峰8的相对保留时间应在规定值的±8%范围之内，规定值为：0.78（峰5）、1.04（峰7）、1.20（峰8）。峰8面积与峰8及峰6峰面积之和的比值应不大于0.85。实际测定结果见表2，满足以上要求。

表 1 梯度洗脱时间程序

特征峰名称	采集波长	供试品特征峰保留时间 (min)	供试品特征峰与 S 峰相对保留时间	相对保留时间偏差 (%)	对照药材参照物特征峰保留时间 (min)	相对峰面积比值
峰 1 (柴胡皂苷 c)	211nm	13.948	0.63	2.86	13.844	$S_{\text{峰}1}/S_{\text{峰}3}=0.23$
峰 2 (柴胡皂苷 f)		16.198	0.73	5.60	16.142	
峰 3 (柴胡皂苷 a)		22.230	1.00	0.00	22.198	
峰 4 (柴胡皂苷 b ₂)		23.056	1.04	0.27	23.008	
峰 5	250nm	18.027	0.81	3.76	18.007	$S_{\text{峰}8}/(S_{\text{峰}8}+S_{\text{峰}6})=0.71$
峰 6 (柴胡皂苷 a)		22.274	1.00	0.00	22.243	
峰 7 (柴胡皂苷 b ₂)		23.055	1.04	0.47	23.007	
峰 8 (柴胡皂苷 b ₁)		27.016	1.22	1.07	27.004	

3.4 精密度实验

将北柴胡对照药材参照物溶液连续进样 6 次，考察仪器精密度。北柴胡对照药材参照物溶液特征峰的保留时间和峰面积 RSD 值分别在 0.11%~0.25% 和 0.18%~0.98% 之间，仪器精密度良好，详见图 5 和表 3。

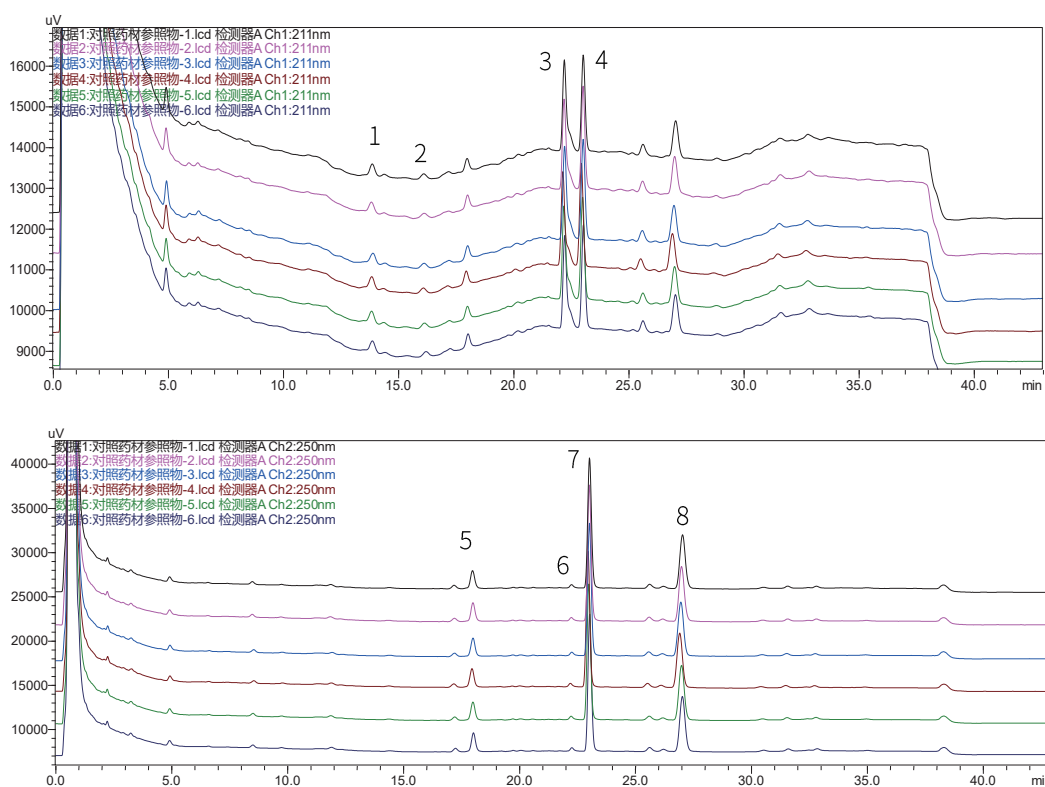


图 5 北柴胡对照药材参照物溶液精密度测试色谱图 (n=6)

表 3 北柴胡对照药材参照物溶液精密度测试结果 (n=6)

特征峰名称	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
峰 1 (柴胡皂苷 c)	0.19	0.79
峰 2 (柴胡皂苷 f)	0.25	0.86
峰 3 (柴胡皂苷 a)	0.13	0.80
峰 4 (柴胡皂苷 b ₂)	0.15	0.98
峰 5	0.12	0.87
峰 6 (柴胡皂苷 a)	0.11	0.97
峰 7 (柴胡皂苷 b ₂)	0.12	0.18
峰 8 (柴胡皂苷 b ₁)	0.17	0.28

■ 结论

本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱系统,对北柴胡(柴胡)配方颗粒的特征图谱进行了分析。结果表明,柴胡皂苷 a 色谱峰的理论塔板数为 76483,符合系统适用性要求;空白溶液在北柴胡特征峰位置无明显色谱峰,不干扰分析测定;北柴胡对照药材参照物溶液连续 6 次进样,各峰保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.11%~0.25% 和 0.18%~0.98% 之间,仪器精密度良好;供试品色谱图与对照药材参照物色谱图中特征峰的保留时间一致,且各特征峰相对保留时间在规定范围内;在 211 nm 下,峰 1 与峰 3 面积的比值小于 0.35,在 250 nm 下,峰 8 面积与峰 8 及峰 6 面积之和比值不大于 0.85,符合《北柴胡(柴胡)配方颗粒》质量标准相关规定。

岛津应用云

