

高效液相色谱法测定肿节风浸膏特征图谱

No.LC-051

摘要：2010版药典新增了采用指纹图谱和特征图谱技术对中药质量进行控制，中药特征指纹图谱具有整体性和宏观性的特点，符合中药的特点，有利于提高中药质量控制水平。本文采用液相色谱法对肿节风浸膏特征图谱进行测定，可满足药典对该药物分析的要求。

关键词：液相色谱法 中药 肿节风浸膏 特征图谱

肿节风浸膏为金粟兰科植物草珊瑚 *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai 的干燥全株经加工制成的浸膏，具有消肿散结，清热解毒等功效，用于阑尾炎、肺炎、蜂窝组织炎、肿瘤治疗等。

中药材具有组分复杂，多作用靶点，药效物质不完全明确等特点，测定中药或中成药的特征指纹图谱，对于有效控制中药材或中成药质量具有重要意义。

2010新版药典新增了色谱指纹图谱和特征图谱技术对多个品种的中药质量进行控制，如复方丹参滴丸、天舒胶囊等中药制剂，三七三醇皂苷、三七总皂苷等植物油脂和提取物中引入了指纹图谱；另外，考虑到对于有多家生产企业、药材多来源、处方组成又复杂的品种，采用指纹图谱技术难度比较大，因此也推行了特征图谱控制技术，人参茎叶总皂苷、人参总皂苷、山楂叶提取物、连翘提取物、肿节风浸膏、茵陈提取物、满山红油等品种引入了特征图谱。

药典中肿节风浸膏品种特征图谱项下，规定了供试品的特征图谱中应出现的特征峰的数目及相对保留时间，各特征峰的相对保留时间测定值应在规定值的 $\pm 5\%$ 范围之内。

以下采用液相色谱法对肿节风浸膏特征图谱进行测定。

■ 实验部分

1、仪器与试剂

Prominence LC-20A系统，包括输液泵LC-20AT $\times 2$ 、柱温箱CTO-20A，自动进样器SIL-20AC，二极管阵列检测器SPD-M20A，控制器CBM-20A，LCsolution软件

2、参照溶液的配制及样品前处理

参照溶液配制：取适量绿原酸、异嗪皮啶和迷迭香酸标准品，加入60%甲醇，配制成混合标准溶液。

样品前处理：取本品粉末（过三号筛）约0.1g，精密称定，置具塞锥形瓶中，加入60%甲醇10mL，称定重量，超声处理（功率250W，频率40kHz）30min，取出，放冷，再称定重量，60%甲醇补足减失的重量，摇匀，0.45 μm 滤膜过滤，进样HPLC检测。

3、分析条件

流动相A: 水 (含0.1%甲酸)

流动相B: 乙腈 (含0.1%甲酸)

流速: 1 mL/min

进样体积: 20 μ L

色谱柱: Kromasil C18 4.6 \times 250 mm, 5 μ m

柱温: 30 $^{\circ}$ C

检测波长: 330 nm

梯度洗脱:

时间 (min)	流动相 B (%)
0.01	8
5.00	8
60.00	35
70.00	60
72.00	60
80.00	100
80.01	8
90.00	8
90.01	stop

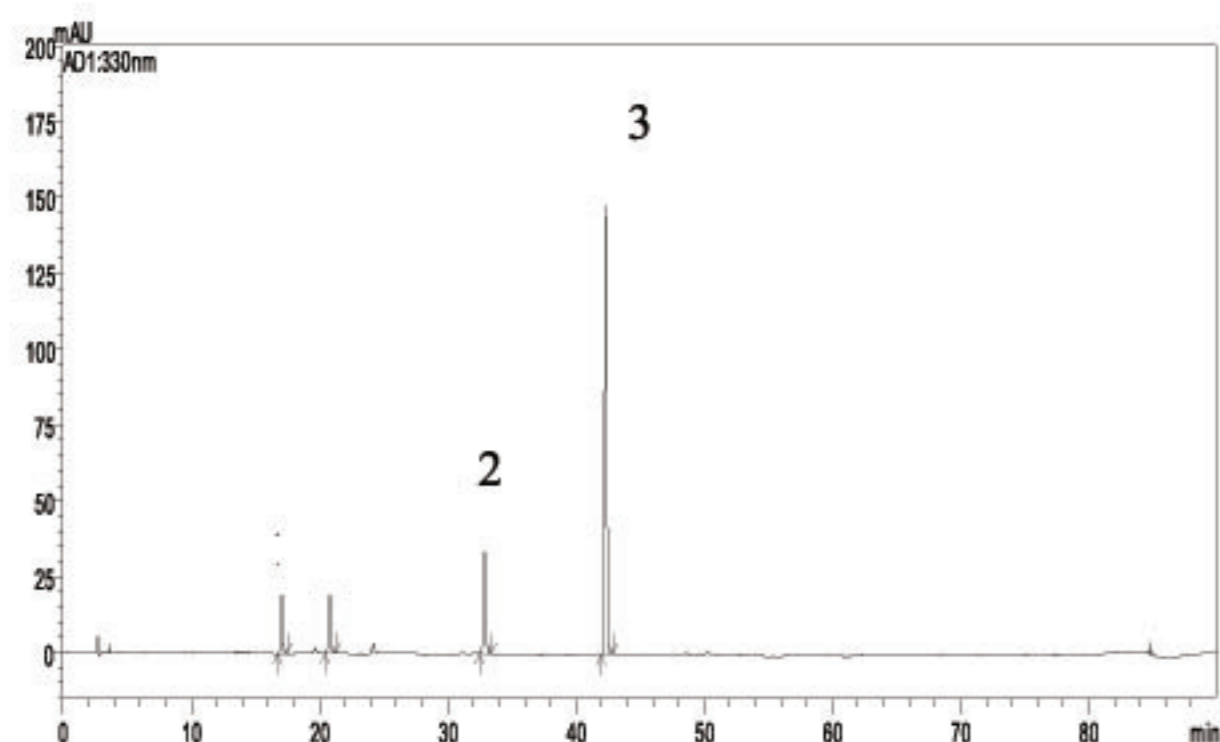
4、测定方法

按上述分析条件, 进样参照品溶液和供试品溶液HPLC测定。根据药典要求, 供试品特征图谱中应呈现6个特征峰, 其中3个峰应分别与相应的参照物峰保留时间一致, 即与绿原酸、异嗪皮啶、迷迭香酸参照物峰保留时间一致。与异嗪皮啶参照峰相应的峰为参比峰 (S峰), 计算各特征峰与S峰的相对保留时间, 其相对保留时间应在规定值的 $\pm 5\%$ 之内。

药典中规定的相对保留时间值为: 0.35 (峰1)、0.53 (峰2)、0.58 (峰3)、1.00 (峰4)、1.31 (峰5)、1.52 (峰6)。

结果与讨论

1、参照品溶液色谱图



峰号	化合物	保留时间(min)
1	绿原酸	17.05
2	异嗪皮啶	32.87
3	迷迭香酸	42.31

图1 参照溶液色谱图
(1-绿原酸; 2-异嗪皮啶; 3-迷迭香酸)

2、样品色谱图

按上述样品预处理方法对2个批次的样品进行预处理, 连续进样该2个批次样品HPLC分析, 按药典规定的测定方法进行考察。该2个批次样品均出现6个特征峰, 其中3个峰的保留时间与参照物峰保留时间一致, 各特征峰的相对保留时间在规定值 $\pm 5\%$ 之内, 符合药典要求, 分析结果如下图和下表。

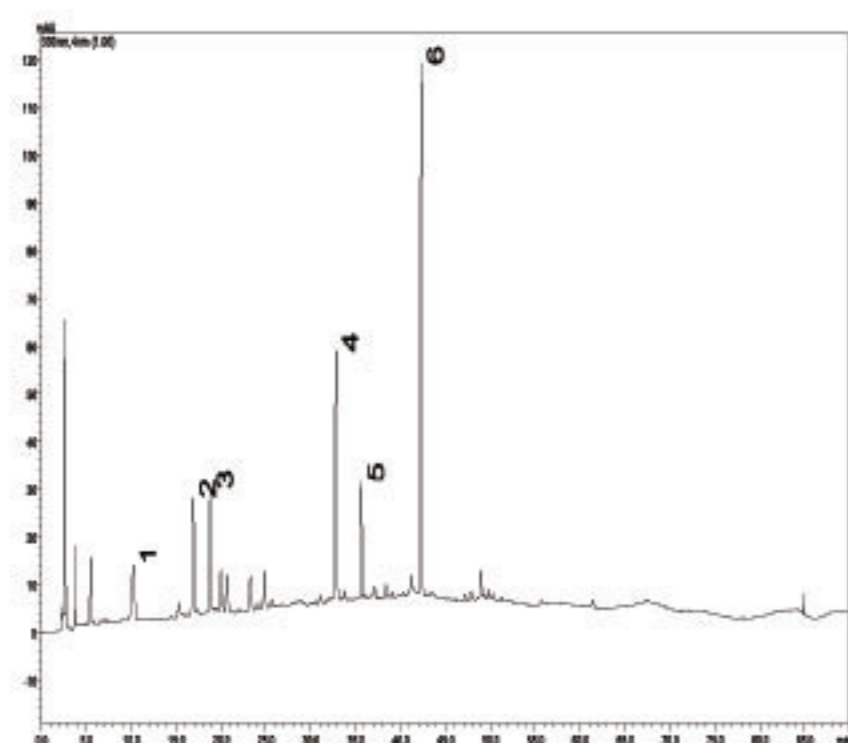


图2 批次1样品色谱图

表1 批次1样品分析结果

峰号	保留时间(min)	相对保留 时间规定值	批次 1	
			相对保留时间	偏差%
1	10.27	0.35	0.33	5
2	16.92	0.53	0.52	1.9
3	18.80	0.58	0.57	1.7
4	32.79	1.00 (S)	1.00	0
5	35.65	1.31	1.29	1.5
6	42.29	1.52	1.49	2.0

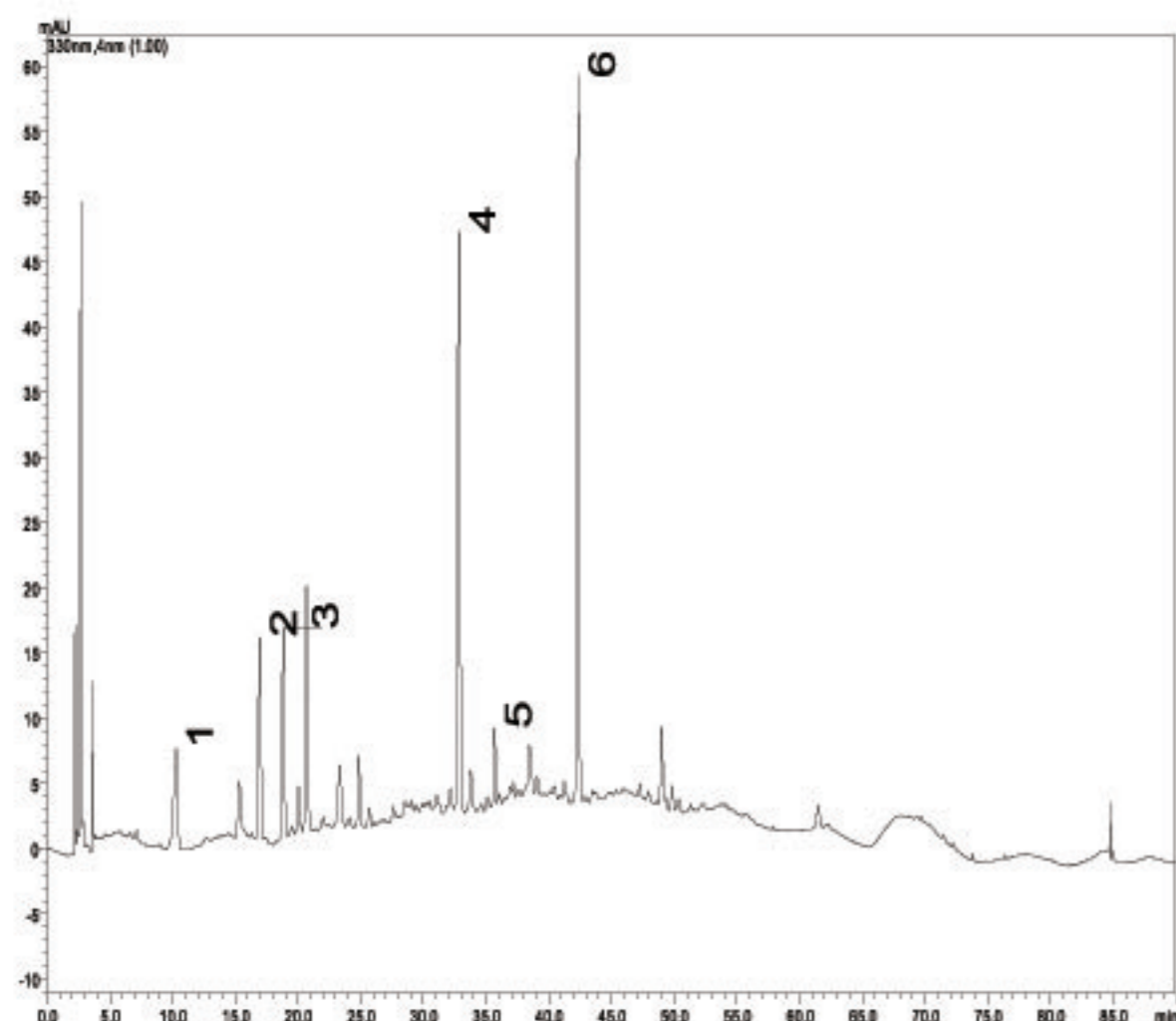


图3 批次2样品色谱图

表2 批次2样品分析结果

峰号	保留时间(min)	相对保留 时间规定值	批次 2	
			相对保留时间	偏差%
1	10.30	0.35	0.33	5
2	16.95	0.53	0.52	1.9
3	18.82	0.58	0.57	1.7
4	32.82	1.00(S)	1.00	0
5	35.67	1.31	1.29	1.5
6	42.32	1.52	1.49	2.0

结论

本文采用液相色谱测定肿节风浸膏特征指纹谱图方法，对2个批次的样品进行了分析，该方法可满足药典要求。