

# UFLC测定板蓝根颗粒水溶性成分含量

LC-057

**摘要：**UFLC测定板蓝根颗粒中的水溶性成分含量，包括胞苷、尿苷、腺嘌呤、鸟苷、腺苷、表告依春，线性相关系数R大于0.999，保留时间和峰面积重现性良好，回收率80%~102%。

**关键词：**板蓝根颗粒 水溶性成分

板蓝根在我国传统医学史上应用历史悠久，当今板蓝根制剂用量非常大，堪称中成药之最。板蓝根性寒味苦，有清热解毒、凉血消肿之功效，临床广泛用于抑菌、抗病毒、抗血小板聚集、增强机体免疫功能等方面，近年又发现有抗内毒素作用。

自中国药典收录板蓝根颗粒和板蓝根药材以来，现仅对板蓝根颗粒中的亮氨酸和精氨酸有薄层鉴别，缺少含量测定项；仅对板蓝根药材的表告依春的含量测定，缺少更全面的有效成分质量控制。板蓝根中的主要成分包括：靛蓝、靛玉红、喹唑酮酸、棕榈酸、苯甲酸、水杨酸、2-氨基苯甲酸、丁香酸、脯氨酸、精氨酸、腺苷、尿苷、尿嘌呤、尿嘌呤和次黄嘌呤等，其中核苷类成分在板蓝根中含量较高，具有干扰病毒核酸合成功能，常常是中药抗病毒活性成分，因此目前对板蓝根药材的研究和质量控制主要集中在核苷类成分。

本文采用超快速液相UFLC对板蓝根颗粒中水溶性核苷等成分进行研究，同时对胞苷、尿苷、腺嘌呤、鸟苷、腺苷、表告依春等六种成分含量进行测定。另外，由于中成药成分复杂，分析时间长，采用超快速液相色谱分析能有效的提高分析效率，缩短分析时间。

## 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

仪器配置：LC-20ADXR(输液泵)，DGU-20A3(在线脱气机)，SIL-20ACXR(自动进样器)，CTO-20AC(柱温)，SPD-M20A(二极管阵列检测器)，CBM-20A(系统控制器)，LCsolution(色谱工作站)；胞苷、尿苷、腺嘌呤、鸟苷、腺苷、表告依春，纯度≥98%；乙腈，HPLC级，Merck公司；纯水，Millipore纯水机制得。

### 1.2 标准品溶液的配制及样品前处理

#### 1.2.1 标准溶液配制

精确称取一定量的胞苷、尿苷、腺嘌呤、鸟苷、腺苷、表告依春标准品经水溶解，定容，分别配制500 μg/mL左右的标准溶液储备液。

#### 1.2.2 前处理步骤

称取1 g板蓝根颗粒，精密称定，加入20 mL水，超声20 min，0.22 μm滤膜过滤，进样UFLC检测。

### 1.3 液相条件

流动相A：水

流动相B：80 %乙腈水溶液

流速：0.3 mL/min

进样体积：2 μL

色谱柱：Shim-pack XR-ODSIII 2.0 mm I.D.×150 mm L., 2.2 μm

柱温：30°C

检测波长：254 nm

梯度洗脱条件:

Time(min)	B Conc.(%)
0.01	2.5
2.12	2.5
7.57	17.5
9.39	37.5
11.21	100
13.33	100
13.43	2.5
18.79	stop

## 结果与讨论

### 2.1 色谱图和线性结果

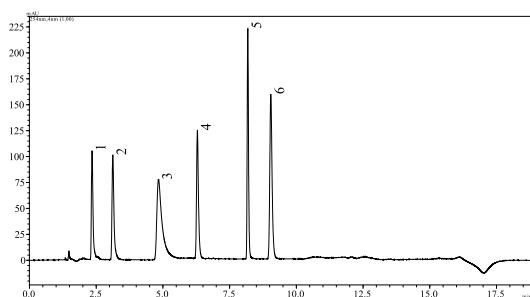


图1 标样色谱图(1.胞苷 2.尿苷 3.腺嘌呤 4.鸟苷  
5.腺苷 6.表告依春)

将胞苷、尿苷、腺嘌呤、鸟苷、腺苷、表告依春储备液稀释配制成一定浓度系列的混合标准溶液，按上述色谱方法进行测定，外标法制作标准曲线，标准曲线方程见下表1，标准曲线谱图见下图2~7。

表1 线性结果

组分	线性范围 (mg/L)	Y=AX+B	R
胞苷	2.63~78.9	Y=5779X-10795	0.9996
尿苷	2.46~73.8	Y=7123X-9793	0.9997
腺嘌呤	2.22~66.7	Y=8537X-28564	0.9986
尿苷	2.44~73.2	Y=8537X-14209	0.9995
腺苷	2.46~73.8	Y=10661X-16281	0.9998
表告依春	3.75~112.5	Y=8556X-18293	0.9999

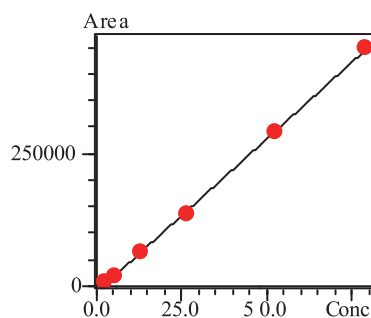


图2 胞苷标准曲线

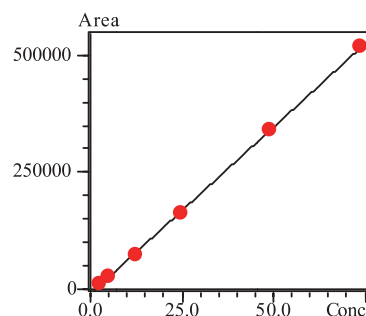


图3 尿苷标准曲线

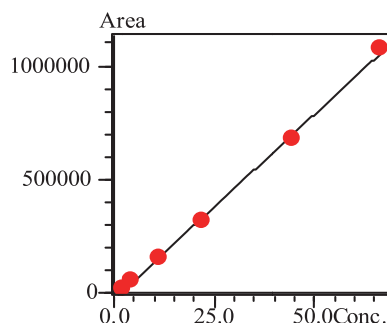


图4 腺嘌呤标准曲线

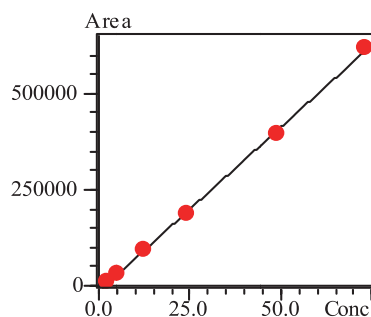


图5 尿苷标准曲线

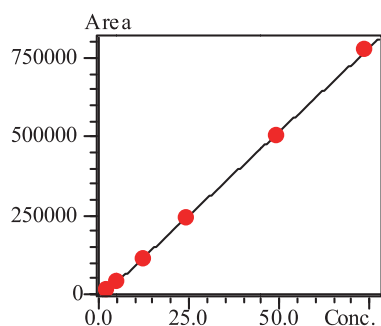


图6 腺苷标准曲线

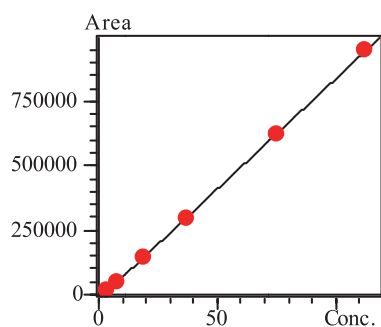


图7 表告依春标准曲线

## 2.2 重现性结果

连续进样混合标准品溶液5次，胞苷、尿苷、腺嘌呤、鸟苷、腺苷、表告依春浓度分别为13.2、12.3、11.1、12.2、12.3、18.7 mg/L，考察化合物的保留时间和峰面积重现性，结果见表2。

表2 重现性结果(n = 5)

组分	保留时间		峰面积	
	平均值 (min)	RSD%	平均值	RSD%
胞苷	2.32	0.65	56692	0.68
尿苷	3.11	0.67	69982	0.49
腺嘌呤	4.85	0.21	130248	1.08
鸟苷	6.30	0.10	80656	1.13
腺苷	8.18	0.035	102009	0.21
表告依春	9.05	0.0034	127274	0.22

## 2.3 样品分析

由用户提供的两个不同批次的板蓝根颗粒样品，各平行取样两份，按照1.2所述方法进行预处理，进样LC测定，每份样品重复进样两次。样品色谱图见图8，分析结果见表3。

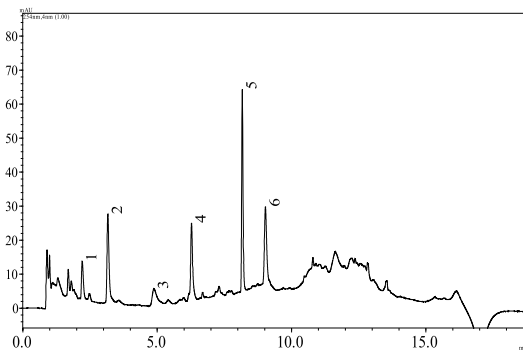

 图8 样品色谱图(1.胞苷 2.尿苷 3.腺嘌呤  
4.鸟苷 5.腺苷 6.表告依春)

表3 样品分析结果

组分	No.	回收率(%)	
		加标量	
		0.02%	0.01%
胞苷	1	96.51	83.56
	2	83.93	83.98
	均值	90.22	83.77
尿苷	1	93.04	83.97
	2	90.76	102.53
	均值	91.90	93.25
腺嘌呤	1	88.32	91.45
	2	87.50	87.75
	均值	87.91	89.60
鸟苷	1	97.93	100.91
	2	96.79	92.51
	均值	97.36	96.71
腺苷	1	95.59	80.76
	2	94.39	80.44
	均值	94.99	80.60
表告依春	1	100.54	89.19
	2	99.32	87.51
	均值	99.93	88.3

## 2.4 回收率结果

取板蓝根样品，加标0.02%、0.01%，考察方法回收率。样品加标后色谱图见图9，回收率结果见表4。

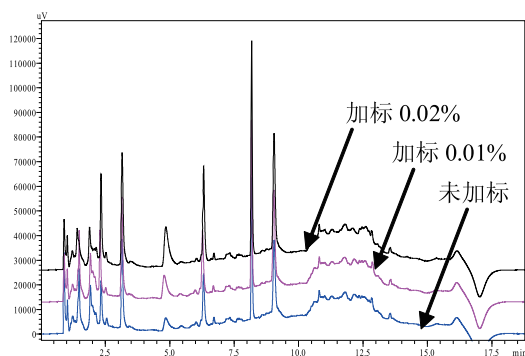


图9 样品加标后色谱图

## 结论

本文UFLC同时测定板蓝根颗粒中六种成分含量，胞苷、尿苷、腺嘌呤、鸟苷、腺苷和表告依春的线性范围分别为2.63~78.9 mg/L、2.46~73.8 mg/L、2.22~66.7 mg/L、2.44~73.2 mg/L、2.46~73.8 mg/L、3.75~112.5 mg/L，线性相关系数R大于0.999，保留时间和峰面积重现性良好，回收率80%~102%。

表4 回收率结果

组分	No.	回收率(%)	
		加标量	
		0.02%	0.01%
胞苷	1	96.51	83.56
	2	83.93	83.98
	均值	90.22	83.77
尿苷	1	93.04	83.97
	2	90.76	102.53
	均值	91.90	93.25
腺嘌呤	1	88.32	91.45
	2	87.50	87.75
	均值	87.91	89.60
鸟苷	1	97.93	100.91
	2	96.79	92.51
	均值	97.36	96.71
腺苷	1	95.59	80.76
	2	94.39	80.44
	均值	94.99	80.60
表告依春	1	100.54	89.19
	2	99.32	87.51
	均值	99.93	88.3