

LC-40 双进样液相色谱仪测定四季青配方颗粒指标成分含量

LC-424

摘要： 本文使用岛津双进样液相色谱仪建立了四季青配方颗粒中 2 种指标成分的含量测定方法。该方法可同时使用 ELSD 检测器和 PDA 检测器，分别测定长梗冬青苷和原儿茶酸含量。长梗冬青苷在 5-500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内，其相关系数为 0.9996；原儿茶酸 1-400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内，其相关系数为 0.9990，两种物质线性相关性良好。稳定性考察中，2 种指标成分的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07~0.10% 和 0.24~2.00% 之间，表明仪器精密度良好。双进样液相色谱仪具有双流路可分别连接 PDA 与 ELSD 检测器，进而同时分析两种不同类型的化合物，从而实现四季青配方颗粒中长梗冬青苷和原儿茶酸两种指标成分的同时分析。

关键词： 双进样液相色谱仪 四季青配方颗粒 长梗冬青苷 原儿茶酸

技术特点：

- ❖ 该系统具有双进样口，双流路，可同时使用两种检测器分析不同物质
- ❖ 可高效应对四季青配方颗粒中两种指标性成分的同时检测

四季青为冬青科植物，具有清热解暑，消肿祛瘀的功效，可用于肺热咳嗽，咽喉肿痛，痢疾，胁痛，热淋；外治烧烫伤，皮肤溃疡。中药配方颗粒是中药汤剂的现代化产品，制备成中药配方颗粒相比传统中药饮片，可以免去临用前煎煮的麻烦，大大节省时间精力。

《中国药典》2020 年版 I 部四季青的含量测定项下，采用 HPLC-ELSD 检测长梗冬青苷。除此之外，四季青中的原儿茶酸可起到抑菌、抗病毒的作用，是

四季青中另一种指标成分。四季青中原儿茶酸的测定可采用 HPLC-PDA 法。

然而，对于四季青中的两种指标性成分的检测，需要使用两台液相色谱仪分别搭配两个检测器，方法较为费时。岛津 LC-40 双进样液相色谱仪，可在一套系统上搭配两个检测器，同时完成四季青中原儿茶酸和长梗冬青苷两类指标性成分的检测。方法省时省力，可高效应对四季青配方颗粒的指标测试。

实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津双进样液相色谱仪，具体配置为：

输 液 泵：	LC-40B XR、LC-40D XR (LPGE)	系统控制器：	CBM-40A
脱 气 机：	DGU-405×2	检 测 器：	SPD-M40、ELSD-LT III
自动进样器：	SIL-40C XR	色 谱 工 作 站：	LabSolutions Ver. 5.97
柱 温 箱：	CTO-40C		

1.2 分析条件

流路 1（用于测定长梗冬青苷）

色 谱 柱： Shim-pack GIST C18 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm),
(P/N:227-30017-08, 岛津(上海)实验器材有限公司)

流 相： A -10% 异丙醇水溶液； B -10% 异丙醇甲醇溶液

流 速： 1.0 mL/min

柱 温： 50°C

进 样 体 积： 10 μL

洗 脱 方 式： 梯度洗脱，见表 1。

ELSD 条件

增益 : Wide
过滤器 : 3 s

漂移管温度 : 40°C

表 1 流路 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	A(%)	B(%)
0	70	30
10	65	35
12	57	43
30	57	43
40	43	57
41	70	30
47	70	30

流路 2 (用于测定原儿茶酸)

色谱柱 : Shim-pack GIST C18 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm),
(P/N:227-30017-08, 岛津(上海)实验器材有限公司)

流动相 : A -0.1% 磷酸水溶液; B - 乙腈

流速 : 1.0 mL/min

柱温 : 50°C

波长 : 254 nm

进样体积 : 10 μL

洗脱方式 : 梯度洗脱, 见表 2。

表 2 流路 2 梯度洗脱时间程序

Time(min)	A(%)	B(%)
0	93	7
15	93	7
16	10	90
26	10	90
27	93	7
47	93	7

1.4 标准溶液配置

长梗冬青苷对照品溶液: 取长梗冬青苷对照品适量, 精密称定, 加 80% 甲醇制成每 1 mL 含 1.0 mg 的溶液, 即得。

原儿茶酸对照品溶液: 取原儿茶酸对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 1.0 mg 的溶液, 即得。

1.5 样品前处理方法

长梗冬青苷供试品溶液: 取本品约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇溶液 50 mL, 密塞, 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 80% 甲醇溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

原儿茶酸供试品溶液: 取本品约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇溶液 20 mL, 密塞, 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, 用甲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

2.1 标准溶液色谱图

长梗冬青苷标准溶液 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的色谱图如图 1 所示, 原儿茶酸标准溶液 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的色谱图如图 2 所示。

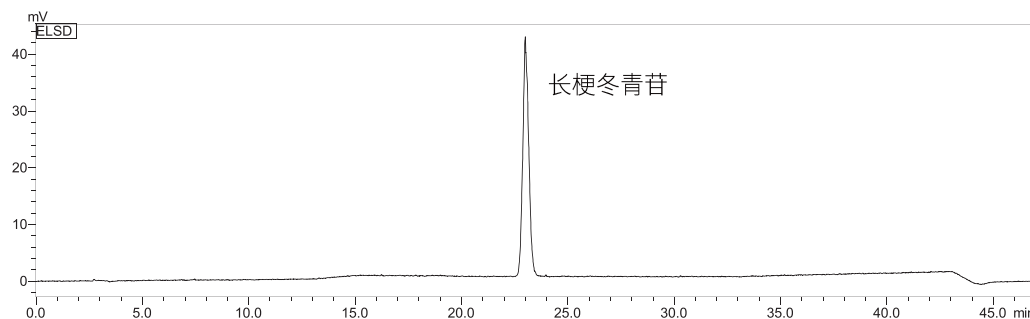


图 1 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 长梗冬青苷标准品溶液色谱图 (流路 1)

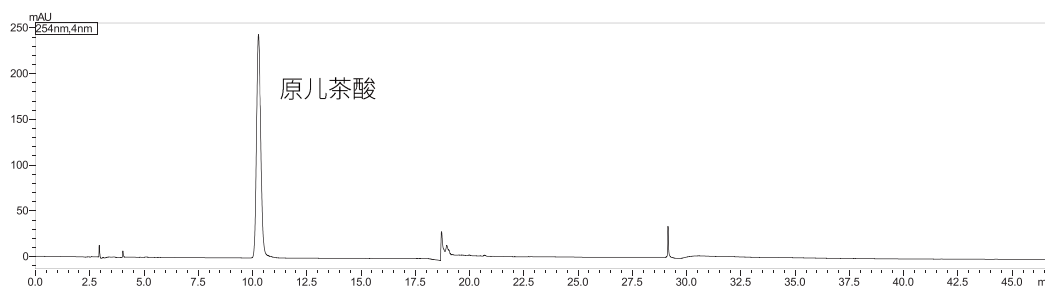


图 2 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 原儿茶酸标准品溶液色谱图 (流路 2)

2.2 线性范围

按 1.3 中的对照品溶液制备方式, 分别用 80% 甲醇和甲醇配制成浓度为 5~500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的长梗冬青苷和浓度为 1~400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的原儿茶酸标准工作溶液, 按照 1.2 中的分析条件进行测定。结果表明, 长梗冬青苷和原儿茶酸线性良好, 线性相关系数均大于 0.999, 具体结果见表 3。

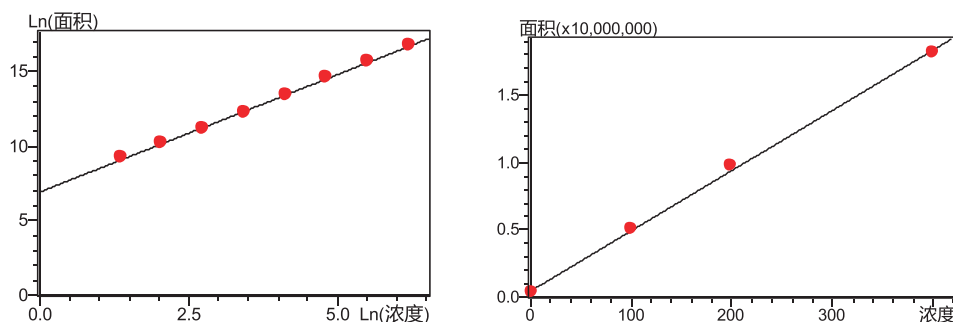


图 3 长梗冬青苷和原儿茶酸校准曲线

表3 标准曲线结果

序号	化合物名称	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 (r)	检测限 LOD ($\mu\text{g/mL}$)	定量限 LOQ ($\mu\text{g/mL}$)
1	长梗冬青苷	5~500	0.9996	2	5
2	原儿茶酸	1~400	0.9990	0.1	0.4

2.3 精密度实验

取供试品溶液，按照 1.2 分析条件连续进样 6 次，考察仪器精密度。结果如表 4，长梗冬青苷保留时间 RSD 为 0.07%，峰面积 RSD 为 2.00%，原儿茶酸保留时间 RSD 为 0.10%，峰面积 RSD 为 0.24%，表明仪器精密度良好。

表4 精密度试验结果 (n=6)

序号	化合物名称	RSD (%)	
		保留时间 (min)	峰面积
1	长梗冬青苷	0.07	2.00
2	原儿茶酸	0.10	0.24

2.4 样品测定

取 3 批四季青配方颗粒样品，按 1.4 制得供试品溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，含量测定结果见表 5。3 批四季青配方颗粒样品长梗冬青苷含量为 1.14~1.46%，原儿茶酸含量为 2.16~2.40%。

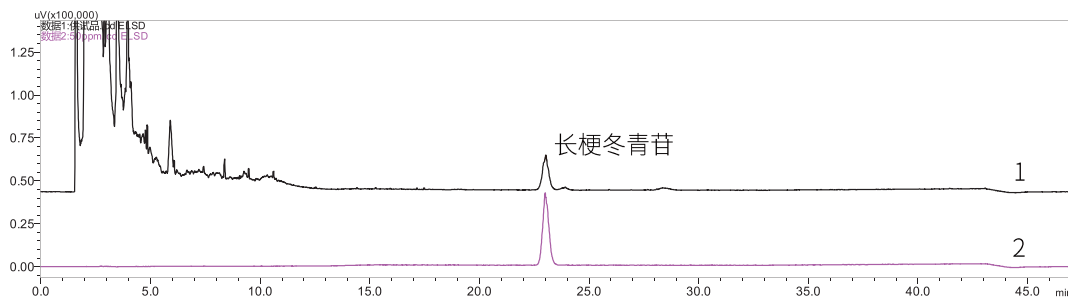


图4 长梗冬青苷色谱图 (流路 1: 1、四季青供试品溶液; 2、长梗冬青苷 50 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液)

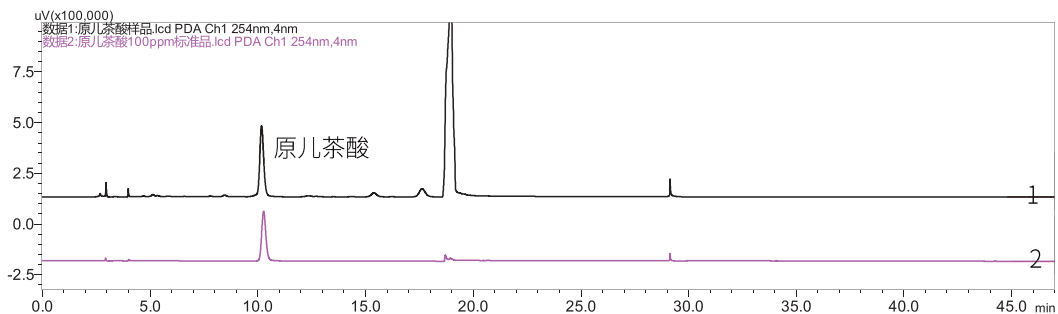


图5 原儿茶酸色谱图 (流路 2: 1、四季青供试品溶液; 2、原儿茶酸 100 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液)

表 5 供试品溶液测试结果

序号	化合物名称	样品 1	样品 2	样品 3
		含量 (%)	含量 (%)	含量 (%)
1	长梗冬青苷	1.14	1.46	1.25
		1.17	1.44	1.27
2	原儿茶酸	2.40	2.28	2.16
		2.38	2.28	2.16

2.5 加标回收测试

取同一批号、同一浓度的 9 份样品，分别精密加入混合对照品溶液，配制成相当于供试品 50% 含量、100% 含量、200% 含量的加样回收溶液，按 1.4 中供试品溶液的制备进行样品前处理，使用随行样品含量计算回收率，回收率测定结果见表 6。长梗冬青苷回收率为 101.8~108.1%，原儿茶酸回收率为 103.7~106.2%。

表 6 回收率测定结果 (n=3)

序号	化合物名称	50% 含量		100% 含量		200% 含量	
		回收率, %	RSD, %	回收率, %	RSD, %	回收率, %	RSD, %
1	长梗冬青苷	108.1	2.13	104.7	2.73	101.8	3.03
2	原儿茶酸	103.7	0.53	104.1	0.21	106.2	0.27

■ 结论

本文使用岛津双进样液相色谱仪建立了四季青配方颗粒 2 种指标成分的含量测定方法，该方法可同时利用 ELSD 测定长梗冬青苷和 PDA 检测器测定原儿茶酸含量。考察了线性、重复性、加标回收率，可以有效对四季青中药配方颗粒中长梗冬青苷和原儿茶酸两种指标性成分的同时检测。

岛津应用云

