

冬瓜皮配方颗粒特征图谱分析及含量测定

LC-322

摘要： 本文使用岛津 LC-40 系列超高效液相色谱仪建立了冬瓜皮配方颗粒的特征图谱及含量测定的分析方法。冬瓜皮配方颗粒特征图谱分析结果表明，色谱方法系统适用性和专属性良好。含量测定结果表明，目标化合物异牡荆素 -2-O- 鼠李糖苷在 2.36~75.6 $\mu\text{g/mL}$ 范围内，相关系数为 1.00；供试品溶液重复性保留时间 RSD% 为 0.82%，峰面积 RSD% 为 1.19%；方法回收率为 100.97%。该方法准确可靠，可用于实际样品的检测。

关键词： 冬瓜皮配方颗粒 特征图谱 含量测定 质量控制

冬瓜皮为葫芦科植物，其具有利尿消肿的功效。可用于水肿胀满，小便不利，暑热口渴，小便短赤。中药配方颗粒是中药汤剂的现代化产品，将其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，中药配方颗粒这一新兴中药服药方式的质量标准进行全国规范统一，对中药市场的长远发展具有深远意义。

目前，国家药品监督管理局及大部分省市自治区已发布中药配方颗粒药品标准，在已发布的标准中，

几乎所有品种都采用高效液相色谱法或超高效液相色谱法作为特征图谱、指纹图谱及含量测定的分析方法，其具有良好的分离能力和快捷的分析速度。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、综合地反映和控制中药的质量。

本实验使用岛津 LC-40 系列超高效液相色谱仪建立了冬瓜皮配方颗粒中的异牡荆素 -2-O- 鼠李糖苷含量测定方法，对冬瓜皮配方颗粒特征图谱进行系统研究。该项目已报国家级标准。

■ 实验部分

1.1 仪器

冬瓜皮配方颗粒特征图谱分析及含量测定使用岛津 LC-40 X3 系列超高效液相色谱仪，配置信息如下：

系统控制器：CBM-40

自动进样器：SIL-40C X3

柱温箱：CTO-40S

输液泵：LC-40B X3

检测器：SPD-M40

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.109

■ 样品前处理

2.1 特征图谱分析样品前处理

参照物溶液制备：取冬瓜皮对照药材粉末约 2 g，置具塞锥形瓶中，加水 40 mL，加热回流 45 分钟，滤过，滤液蒸干，放冷，残渣精密加入 80% 甲醇 40 mL，密塞，超声处理（功率 250 W，频率 40 kHz）30 分钟，放冷，摇匀，滤过，取续滤液，作为对照药材参照物溶液。取异牡荆素 -2-O- 鼠李糖苷对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1 mL 各含 20 μg 的溶液，作为对照品参照物溶液。

供试品溶液的制备：取本品约 0.4 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 80% 甲醇 40 mL，密塞，超声处理（功率 350 W，频率 40 kHz）45 分钟，放冷，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.2 含量测定样品前处理

对照品溶液的制备：取异牡荆素 -2-O- 鼠李糖苷对照品适量，精密称定，加 80% 甲醇制成每 1 mL 含 20 μg 的溶液，即得。

供试品溶液的制备：取本品约 0.4 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 80% 甲醇溶液 40 mL，密塞，称定重量，超声处理（功率 350 W，频率 40 kHz）45 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。

■ 结果与讨论

3.1 冬瓜皮配方颗粒特征图谱分析结果

3.1.1 系统适用性

取 2.1 中的供试品溶液和对照品溶液，按表 1~2 分析条件进行分析，验证冬瓜皮饮片标准汤剂的色谱条件和系统适用性是否适用于冬瓜皮配方颗粒，并考察冬瓜皮配方颗粒阴性样品是否会造成干扰，色谱图如图 1~2 所示，结果见表 3。结果表明，空白对照对特征图谱无干扰，色谱方法系统适用性和专属性良好，可以作为冬瓜皮配方颗粒特征图谱的检测方法（本方法规定理论板数按异牡荆素 -2-O- 鼠李糖苷峰计算应不低于 3000）。

表 1 冬瓜皮配方颗粒特征图谱分析条件

色谱柱	ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)
流动相	A相-0.1%甲酸水溶液；B相-甲醇
流速	0.3 mL/min
柱温	30°C
检测波长	PDA (280 nm)
进样体积	3 μL
洗脱方式	梯度洗脱，B相起始浓度为5%，时间程序见表2

表 2 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
5.00	泵	B Conc	5
35.00	泵	B Conc	28
60.00	泵	B Conc	28
65.00	泵	B Conc	60
68.00	泵	B Conc	60
70.00	泵	B Conc	5
80.00	泵	B Conc	5
80.00	控制器	Stop	

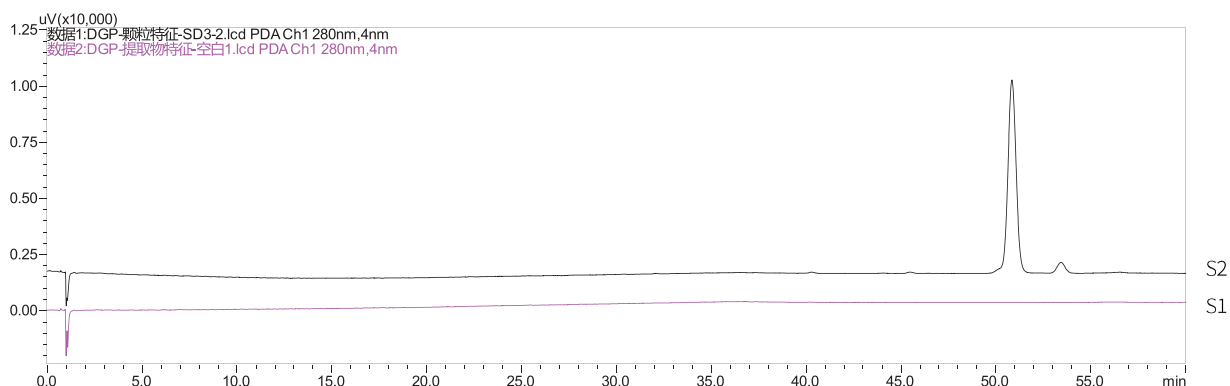


图 1 专属性试验色谱图

(S1: 空白对照图谱; S2: 异牡荆素 -2-O- 鼠李糖苷对照品溶液图谱)

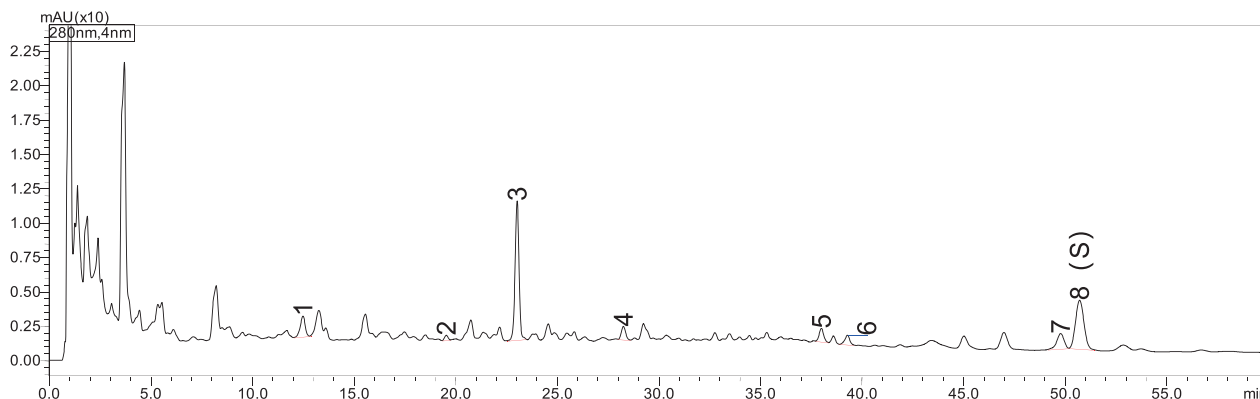


图 2 供试品溶液色谱图
(峰 8 (S) : 异牡荆素 -2-O- 鼠李糖苷)

表 3 系统适用性参数

类型	特征峰 No.	保留时间 (min)	峰面积	高度	拖尾因子	分离度	理论板数
对照品溶液	异牡荆素-2-O-鼠李糖苷	50.879	225960	7751	1.058	/	68068
供试品溶液	1	12.511	32414	1668	0.858	1.439	10869
	2	19.568	4217	363	0.959	2.942	57688
	3	23.050	138143	10151	0.968	2.289	65647
	4	28.279	13851	958	1.115	2.437	82072
	5	38.026	15914	1011	1.087	0.883	127027
	6	39.310	11623	695	0.948	1.758	127891
	7	49.804	24102	1058	0.956	4.460	103194
	8 (s)	50.739	102462	3564	1.093	1.347	69842

3.1.2 精密度

取 2.1 制得的供试品溶液，按 3.1.1 中的分析条件，重复进样 6 次，测定 8 个特征峰的保留时间和峰面积并进行分析，结果见表 4。结果表明，各特征峰与参照物 S 峰 (8 号峰) 的相对保留时间 RSD% 为 0.01~0.34%，各特征峰与参照物 S 峰 (8 号峰) 的相对峰面积的 RSD% 为 1.59~8.04%，仪器精密度良好。

表 4 精密度试验结果 (n=6)

特征峰 No.	保留时间 (min)	相对保留时间	相对保留时间 RSD%(n=6)	峰面积	相对峰面积	相对峰面积 RSD%(n=6)
1	12.507	0.247	0.34	29890	0.288	8.04
2	19.549	0.387	0.29	4276	0.041	3.60
3	23.028	0.456	0.27	138544	1.334	1.59
4	28.245	0.559	0.22	13692	0.132	2.11
5	37.950	0.751	0.13	16388	0.158	5.92
6	39.220	0.776	0.11	11577	0.111	1.66
7	49.616	0.982	0.01	25249	0.243	2.86
8(s)	50.547	1.000	0.00	103876	1.000	0.00

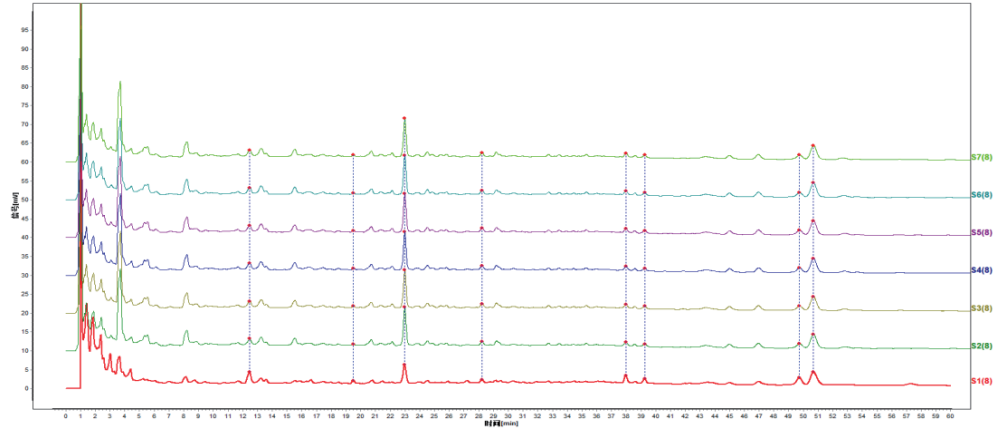


图3 精密度试验色谱图（中药色谱指纹图谱相似度评价系统）
（R：冬瓜皮饮片标准汤剂对照图谱；S2~S7：冬瓜皮配方颗粒供试品溶液图谱）

3.1.3 样品测定

取3批冬瓜皮配方颗粒样品，按2.1分别制得供试品溶液，按3.1.1中的分析条件进行测定。结果表明，3批冬瓜皮配方颗粒样品的各特征峰规定的相对保留时间均在规定的允差范围（±10%）以内。

表5 3批四季青配方颗粒样品相对保留时间结果

特征峰 No.	样品 1	样品 2	样品 3	相对保留时间允差范围（±10%）
1	0.251	0.254	0.255	0.228-0.278
2	0.387	0.389	0.392	0.350-0.428
3	0.454	0.457	0.459	0.411-0.502
4	0.578	0.582	0.585	0.524-0.640
5	0.743	0.746	0.748	0.671-0.820
6	0.768	0.771	0.773	0.693-0.847
7	0.980	0.980	0.979	0.882-1.078
8 (s)	/	/	/	/

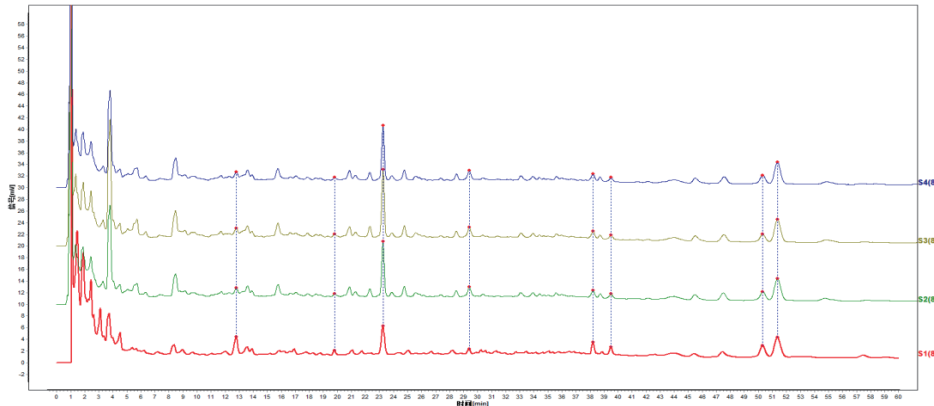


图4 3批冬瓜皮配方颗粒样品色谱图（中药色谱指纹图谱相似度评价系统）
（S1：冬瓜皮饮片标准汤剂对照特征图谱；S2-S4：3批冬瓜皮配方颗粒特征图谱）

3.2 冬瓜皮配方颗粒含量测定

3.2.1 系统适用性

取 2.2 中的对照品溶液和供试品溶液，按表 6 分析条件进行分析，色谱图见图 6~7，系统适用性结果见表 7。结果表明，对照品溶液和供试品溶液色谱图基线平稳，供试品溶液中异牡荆素 -2-O- 鼠李糖苷峰理论板数为 13670，对照品目标峰峰面积，峰形，分离度，拖尾因子，理论塔板数合适，且对照品溶液目标峰位置无干扰，可以作为冬瓜皮配方颗粒含量测定的分析条件（本方法规定：若验证结果基线平稳，理论板数达到要求，对照品色谱峰峰面积、峰形、分离度、拖尾因子合适且对照品色谱峰位置无干扰，则可确定该色谱条件并进行后续研究）。

表 6 冬瓜皮配方颗粒含量测定分析条件

色谱柱	ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)
流动相	A相-0.1%甲酸水溶液；B相-乙腈
流速	0.4 mL/min
柱温	30℃
进样体积	3 μL
检测波长	PDA (338 nm)
洗脱方式	等度洗脱，A相浓度88%；B相浓度12%

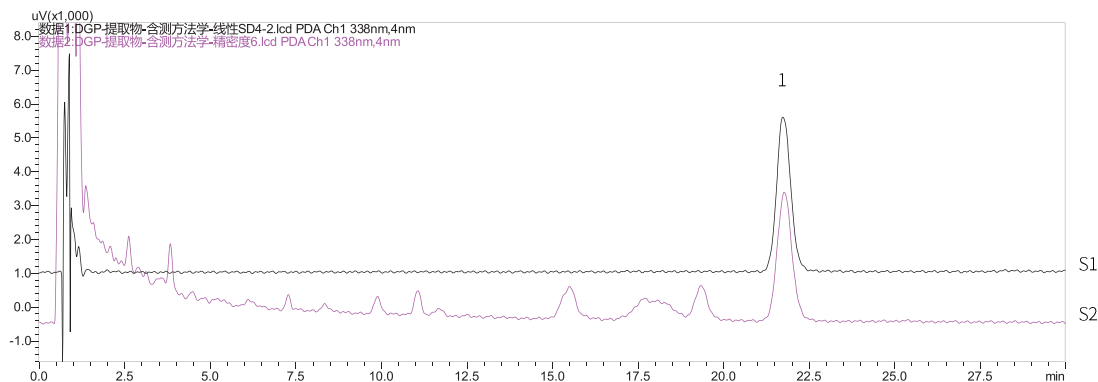


图 5 9.450 μg/mL 对照品溶液色谱图（峰 1：异牡荆素 -2-O- 鼠李糖苷）
（S1：空白对照图谱；S2：异牡荆素 -2-O- 鼠李糖苷对照品溶液图谱）

表 7 色谱峰系统适用性参数

化合物名称	化合物名称	保留时间	峰面积	分离度	拖尾因子	理论板数
对照品	异牡荆素-2-O-鼠李糖苷	24.568	138256	/	1.052	15481
供试品		24.614	126891	3.943	0.961	13670

3.2.2 线性

按 2.2 中的对照品溶液制备方式，分别制成浓度为 2.36~75.6 μg/mL 的标准工作溶液，按照 3.2.1 中的分析条件进行测定。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，进行线性回归分析。结果表明，异牡荆素 -2-O- 鼠李糖苷线性良好，线性相关系数 $r=0.9999$ ，具体结果见表 8。

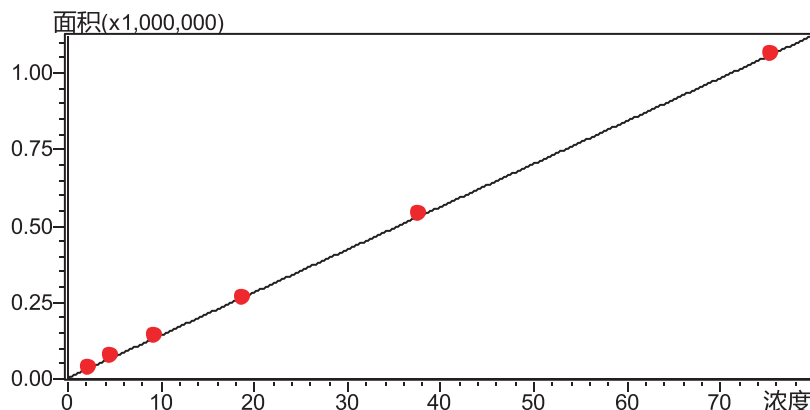


图7 异牡荆素-2-O-鼠李糖苷校准曲线

表8 异牡荆素-2-O-鼠李糖苷标准曲线结果

化合物名称	线性范围 (µg/mL)	回归方程	相关系数 (r)	准确度 (%)	检测限 LOD (µg/mL)	定量限 LOQ (µg/mL)
异牡荆素-2-O-鼠李糖苷	2.36~75.6	$Y = 14027.0X + 2575.90$	0.9999	98.4-102.6	0.254	1.225

3.2.3 精密度

取供试品溶液，按照 3.2.1 分析条件连续进样 6 次，考察仪器精密度。结果如表 9，异牡荆素-2-O-鼠李糖苷保留时间 RSD% 为 1.42%，峰面积 RSD% 为 1.87%，仪器精密度良好。

表9 精密度试验结果 (n=6)

化合物名称	保留时间 (min)	峰面积 (mV)
异牡荆素-2-O-鼠李糖苷	21.971	119052
	21.168	116624
	21.257	122070
	21.767	121178
	21.533	121057
	21.648	117361
RSD%	1.42	1.87

3.2.4 样品测定

取 3 批异牡荆素-2-O-鼠李糖苷配方颗粒样品，按 2.2 制得供试品溶液，按 3.2.1 中的分析条件进行测定，含量测定结果见表 10。3 批异牡荆素-2-O-鼠李糖苷配方颗粒样品含量为 2.85~3.06%，RSD% 为 3.60%。

表10 供试品溶液测试结果 (n=2)

化合物名称	样品 1		样品 2		样品 3	
	含量 (%)	RSD (%)	含量 (%)	RSD (%)	含量 (%)	RSD (%)
异牡荆素-2-O-鼠李糖苷	0.0775	0.74	0.0783	1.90	0.0790	1.92
	0.0774		0.0804		0.0790	

3.2.5 方法回收率

取同一批号、同一浓度的9份样品,分别精密加入对照品溶液,配制成低、中、高浓度的加样回收率溶液,按2.2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11。异牡荆素-2-O-鼠李糖苷回收率为100.97%,表明方法准确性良好。

表 11 回收率测定结果 (n=3)

化合物名称	低浓度	中浓度	高浓度
异牡荆素-2-O-鼠李糖苷	102.51	99.00	101.14

■ 结论

本文使用岛津 LC-40 系列超高效液相色谱仪建立了冬瓜皮配方颗粒的特征图谱及其含量测定的分析方法。实验结果表明,冬瓜皮配方颗粒特征图谱及含量测定的系统适用性和专属性良好,线性、精密度、回收率结果良好,该方法为制药药检相关行业对药品质量控制和分析的检验检测工作提供了参考。

岛津应用云

