

茵陈配方颗粒 HPLC 特征图谱研究

浦香兰, 张云天(江阴天江药业有限公司, 江苏 江阴 214434)

摘要: 目的 建立茵陈配方颗粒高效液相色谱(HPLC)特征图谱。方法 色谱柱为 Megres5-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 327 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μL。**结果** 由 8 个共有峰构成茵陈配方颗粒的特征图谱, 11 批样品的图谱与对照图谱的相似度为 0.963~0.998, 可以用于茵陈配方颗粒的定性鉴别。**结论** 该法精密性、稳定性、重复性良好, 可为茵陈配方颗粒的鉴别和质量评价提供参考。

关键词: 茵陈配方颗粒; 特征图谱; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)10-1195-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.10.008

HPLC Characteristic Chromatograms of Formula Granule of Artemisiae Scopariae Herba

PU Xianglan, ZHANG Yuntian(Jiangyin Tianjiang Pharmaceutical Co., Ltd, Jiangyin 214434, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the HPLC characteristic chromatogram of Formula Granule of Artemisiae Scopariae Herba. **METHODS** The chromatograms were obtained using Megres5-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile and 0.1% phosphoric acid solution in gradient elution at flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, detection wavelength of 327 nm, column temperature of 30 ℃ and sample volume of 10 μL. **RESULTS** The HPLC characteristic chromatogram of Formula of Artemisiae Scopariae Herba consisted of 8 common peaks. The similarity of 11 batches of samples was within 0.963–0.998. **CONCLUSION** The HPLC method is proved to be accurate, stable and reproducible, and it can provide reference for the identification and quality control of Formula Granule of Artemisiae Scopariae Herba.

KEY WORDS: Formula Granule of Artemisiae Scopariae Herba; characteristic chromatogram; HPLC

茵陈为菊科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *Artemisia capillaries* Thunb. 的干燥地上部分。春季采收的习称“绵茵陈”, 秋季采割的称“花茵陈”。茵陈具有清利湿热、利胆退黄之功效, 用于黄疸尿少、湿温暑湿、湿疮瘙痒等症^[1]。现代研究表明, 茵陈的主要化学成分为香豆素类、黄酮类、色原酮类、香豆酸及挥发油等^[2], 具有利胆、保肝、解热、镇痛、消炎、降血脂、增强免疫、细胞保护、抗肿瘤等多种药理作用^[3-4]。

茵陈配方颗粒由茵陈饮片经提取、浓缩、干燥、制粒等工序制成, 它突破了传统中药饮片需要煎煮的服用模式, 具有免煎易服、易储存、携带方便等优点^[5]。

现行质量控制方法主要是针对茵陈及含有茵陈成分的中成药制定, 对茵陈配方颗粒的研究较少。特征图谱质量控制模式可以综合反映中药中各主要成分及其相对含量, 能提供更加全面的质量评价信息^[6]。美国 FDA 及欧共体在有关草药质量控制中提出, 应建立并申报药材及其制剂的色

谱指纹图谱, 以考察草药产品批次之间质量的一致性^[5]。为了更加全面的控制茵陈配方颗粒的质量, 本实验收集了 11 批茵陈配方颗粒样品, 采用 HPLC 建立了茵陈配方颗粒特征图谱。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪 (Agilent-G1311A 四元泵; Agilent-G1322A 真空脱气器; Agilent-G1314B 可变波长检测器; CHEMSTATION B.04.02 化学工作站, 美国 Agilent 公司); AT-330 型柱温箱(天津奥特赛恩斯科学仪器有限公司); 十万分之一电子天平(瑞士 Mettler 公司); 超声清洗机(无锡超声电子设备厂)。

1.2 试剂

绿原酸对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110753-200413, 含量: 100%); 乙腈为色谱纯(上海振兴化工一厂); 水为重蒸馏水; 其他试剂均为分析纯; 茵陈配方颗粒(江阴天江药业有限公司, 批号: 0904181, 1002065, 1009047, 1101070,

基金项目: 上海市中医药标准化研究项目(ZYSNXD-CC-BZH)

作者简介: 浦香兰, 女, 工程师 Tel: (0510)86408091 E-mail: puxl@tianjiang.com

1104052, 1108069, 1110021, 1207029, 1208142, 1306025, 1307024, 规格: 2 g·袋⁻¹), 分别编号为 S1~S11。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Megres 5-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 以乙腈为流动相 A, 以 0.1%磷酸水溶液为流动相 B, 梯度洗脱: 0~10 min, A 5%→10%, 10~45 min, A 10%→25%, 45~60 min, A 25%→45%; 进样量: 10 μL; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 327 nm; 柱温: 30 °C。在此色谱条件下, 按绿原酸峰计算理论板数≥50 000, 与其他色谱峰的分离度>1.5。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取绿原酸对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品适量, 研细, 取约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50%甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz)30 min, 放冷, 再称定重量, 用 50%甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 仪器精密度试验 取样品 S2(批号: 1002065), 精密称定, 按“2.2.2”项下方法制备成供试品溶液, 连续进样 6 次, 记录液相色谱图。结果表明, 各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积无明显变化, 其 RSD 均<3%, 符合特征图谱要求, 精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取样品 S2(批号: 1002065), 精密称定 6 份, 分别按“2.2.2”项下方法制备成供试品溶液, 记录液相色谱图。结果表明, 各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积无明显变化, 其 RSD 均<3%, 符合特征图谱要求, 重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 取样品 S2(批号: 1002065), 精密称定, 按“2.2.2”项下方法制备成供试品溶液, 分别于样品制备后 0, 2, 4, 8, 16, 24 h 测定特征图谱。结果表明, 各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积无明显变化, 其 RSD 分别为均<3%, 符合特征图谱要求, 稳定性良好。

2.4 特征图谱的建立

2.4.1 特征峰的确定 按“2.1”项下色谱条件对

11 批茵陈配方颗粒进行测定, 比较记录的色谱图。结果发现, 色谱峰 1~8 为 11 批样品的共有峰, 其中 3 号峰为绿原酸, 为对照峰(即 S 峰), 选择其中相对保留时间和相对峰面积 RSD 较为稳定的共有峰, 作为构成茵陈配方颗粒特征图谱的特征峰, 见图 1。11 批茵陈配方颗粒样品的特征图谱见图 2。11 批样品指纹图谱中谱峰群基本一致。

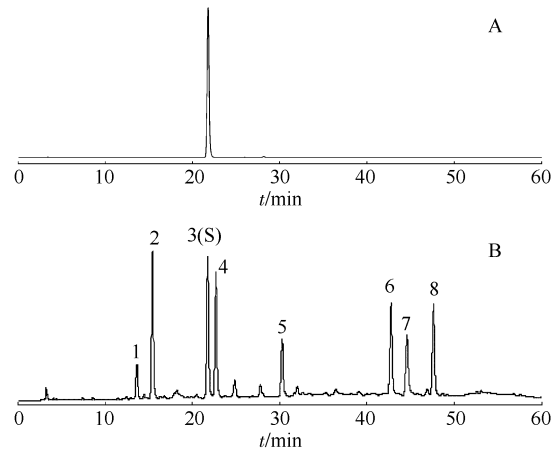


图 1 绿原酸(A)和茵陈配方颗粒中的共有峰(B)

Fig.1 Chlorogenic acid(A) and the common peaks of characteristic chromatograms of Formula Granule of Artemisiae Scopariae Herba(B)

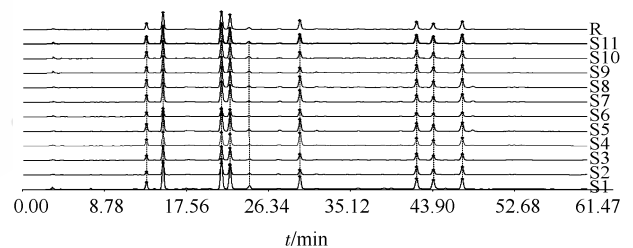


图 2 11 批茵陈配方颗粒的特征图谱

Fig.2 Characteristic chromatograms of 11 batches of Formula Granule of Artemisiae Scopariae Herba

2.4.2 特征图谱相似度评价 将所得到的色谱数据导入国家药典委员会推荐的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A 版)”, 设定参照图谱, 采用多点校正将谱峰自动匹配, 然后生成对照图谱, 进行相似度评价, 见表 1。11 批样品的相似度为 0.963~0.998, 说明该 11 批茵陈配方颗粒的差别很小。

3 讨论

3.1 提取条件的优化

供试品溶液制备过程中, 比较了超声提取、水浴回流提取、振摇提取等不同的提取方式, 发现差异不大, 考虑到操作的简便性, 因此采用超

表 1 11 批茵陈配方颗粒特征图谱相似度评价结果

Tab. 1 Similarity of 11 batches of Formula Granule of Artemisiae Scopariae Herba

编号	批号	相似度/%
S1	0904181	0.991
S2	1002065	0.985
S3	1009047	0.998
S4	1101070	0.963
S5	1104052	0.991
S6	1108069	0.975
S7	1110021	0.988
S8	1207029	0.989
S9	1208142	0.998
S10	1306025	0.998
S11	1307024	0.995

声提取的方式；同时考察了不同溶剂(甲醇、70%甲醇、50%甲醇、70%乙醇和稀乙醇)和提取时间(10, 20, 30, 40 min)，结果表明以 50%甲醇超声处理 30 min 能较完全的将大多数成分提取出来。

3.2 检测波长的选择

采用二极管阵列检测器对绿原酸对照品的甲醇溶液进行扫描，发现绿原酸在 300, 330 nm 附近有较强的吸收。采用 DAD 检测器记录茵陈配方颗粒样品溶液在 190~400 nm 的 3D 吸收图，发现检测波长为 327 nm 左右时能检测到最多的色谱峰，而且分离度良好，因此选择 327 nm 作为检测波长。

3.3 色谱系统的优化

在流动相系统选择中，筛选了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%磷酸、乙腈-0.1%磷酸、甲醇-0.1%甲酸、乙腈-0.1%甲酸等不同组成的流动相，最终确定以乙腈-0.1%磷酸进行梯度洗脱，所得基线平稳，色谱峰峰型对称且分离度高。

3.4 色谱柱的选择

比较了 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈(100 mm×4.6 mm, 3.5 μm)、Lichrospher-C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm)及 Megres5-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)的分离效果，结果后者分离效果理想。

本实验所用茵陈配方颗粒样品均为江阴天江药业有限公司生产，其原料药为菊科植物茵陈蒿 *Artemisia capillaries* Thunb. 春季采收的干燥地上部分(绵茵陈)。从所得特征图谱的分析结果来看，各批样品的相似度较高，均一性较好。各共有峰的相对保留时间比较稳定，具有专属性。本实验为今后茵陈配方颗粒生产过程的质量控制提供了检测依据。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 223-224.
- [2] SUN Y N, FEN. Research progress of *Artemisia capillaris* on chemical constituents and pharmacological effect [J]. China Mod Doc(中国现代医生), 2011, 49(21): 12-14.
- [3] XIE T, LIANG J Y, LIU J. Research progress of *Artemisia scoparia* and *Artemisia capillaris* on chemical constituents and pharmacological effect [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2004, 16(1): 8-13.
- [4] DOU Z H, LUO L, HOU J Y, et al. Studies on liver protection of Yinchenhao decoction by seropharmacological method [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(10): 868-871.
- [5] GAO Y, ZHANG Y T, XU Y L, et al. Study on HPLC fingerprint analysis of Roasted Malt Formula Granules [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2013, 19(20): 115-118.
- [6] ZHANG Y T, GAO Y, XU Y L. HPLC characteristic chromatograms of Formula Granule of Coptidis Rhizoma [J]. Eval Anal Drug Use Hosp China(中国医院用药评价与分析), 2013, 13(1): 49-51.

收稿日期: 2013-12-16

文旦柚柚皮中柚皮苷的富集及其活性研究

林国荣(莆田学院环境与生物工程学院, 福建 莆田 351100)

摘要: 目的 采用热水浸提柚皮中柚皮苷, 并使用大孔吸附树脂对其进一步富集, 并考察其活性。方法 以柚皮苷的吸附率和解吸率为考察指标, 筛选不同大孔吸附树脂对柚皮苷的吸附性能和洗脱能力, 并初步考察柚皮苷抗氧化作用和镇静作用。结果 大孔树脂 HPD450 有较好的吸附效果, 工艺条件: 上样流速为 2 BV·h⁻¹, 样液浓度为 2.36 mg·mL⁻¹; 解吸最适工艺条件: 洗脱剂乙醇浓度为 50%, 用量为 4 BV, 流速为 3 BV·h⁻¹。浓度为 3.75 mg·mL⁻¹ 的柚皮苷具有较好的抗

基金项目: 福建省高校服务海西建设重点项目(2008HX01)

作者简介: 林国荣, 男, 硕士, 副教授 Tel: (0594)2696445

E-mail: ptlgrclub@163.com