

高效液相色谱法测定磷酸川芎嗪有关物质

刘天妹, 张佳佳, 王惠玉

(海能未来技术集团股份有限公司, 山东 济南 250104)

摘要: 本文使用悟空 K2025 高效液相色谱仪测定磷酸川芎嗪的有关物质。色谱条件: C₁₈ 色谱柱 (4.6×250mm, 5μm), 流速为 1.0mL/min, 柱温为 25°C, 进样量为 20μL, 检测波长为 295nm。实验结果: 川芎嗪峰的理论塔板数为 14660; 川芎嗪峰和杂质 I (邻苯二甲酸二甲酯) 的分离度为 14.85; 对照溶液连续进样 7 针重复性测试中, 川芎嗪保留时间的 RSD 为 0.069%, 峰面积的 RSD 为 0.301%; 灵敏度溶液的信噪比 S/N 为 232.0, 均满足《中国药典 (2020 年版)》的要求。

关键词: 磷酸川芎嗪; 高效液相色谱

磷酸川芎嗪为 2,3,5,6-四甲基吡嗪磷酸盐一水合物; 为白色或类白色结晶或结晶性粉末; 微臭; 在水或乙醇中溶解, 在三氯甲烷中不溶; 由中国药典 2020 年版二部所收录, 为血管扩张药。

1 试剂与材料

水: 符合 GB/T6682 的一级水;

甲醇: 色谱纯;

磷酸川芎嗪;

杂质 I: 邻苯二甲酸二甲酯。

2 仪器与设备

高效液相色谱仪: K2025 P2 二元高压输液泵、K2025 AS 自动进样器、K2025 CO 柱温箱、K2025 UVD 紫外-可见光检测器、Wookinglab 色谱工作站;

分析天平: 精确到 0.0001g;

涡旋振荡器;

容量瓶: 100mL、200mL, 棕色带刻度。

3 测定步骤

3.1 溶液配制

系统适用性溶液：分别称取磷酸川芎嗪2mg与杂质I对照品12mg，置于同一100mL容量瓶中，加甲醇2mL溶解，用水稀释至刻度，摇匀；

供试品溶液：取本品，加水溶解并稀释制成每1mL中约含0.5 mg的溶液；

对照溶液：精密量取供试品溶液1mL，置于200mL容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀；

灵敏度溶液：供试品溶液用水稀释2000倍。

3.2 色谱条件

- (1) 色谱柱：C₁₈ 色谱柱，4.6×250mm，5μm 或者相当的色谱柱；
- (2) 流动相：甲醇-水（45:55）；
- (3) 流速：1.0mL/min；
- (4) 柱温：25℃；
- (5) 检测器：紫外检测器，检测波长为 295nm；
- (6) 进样量：20μL，记录色谱图至主成分峰保留时间的 3 倍。

3.3 系统适用性要求

系统适用性溶液色谱图中，理论塔板数按川芎嗪峰计算不低于 2000，川芎嗪峰与杂质I峰的分度应大于 4.0。

4 实验结果

按照上述色谱条件（5.2）进行采集，系统适用性溶液的色谱图如图 1 所示，积分结果如表 1 所示。

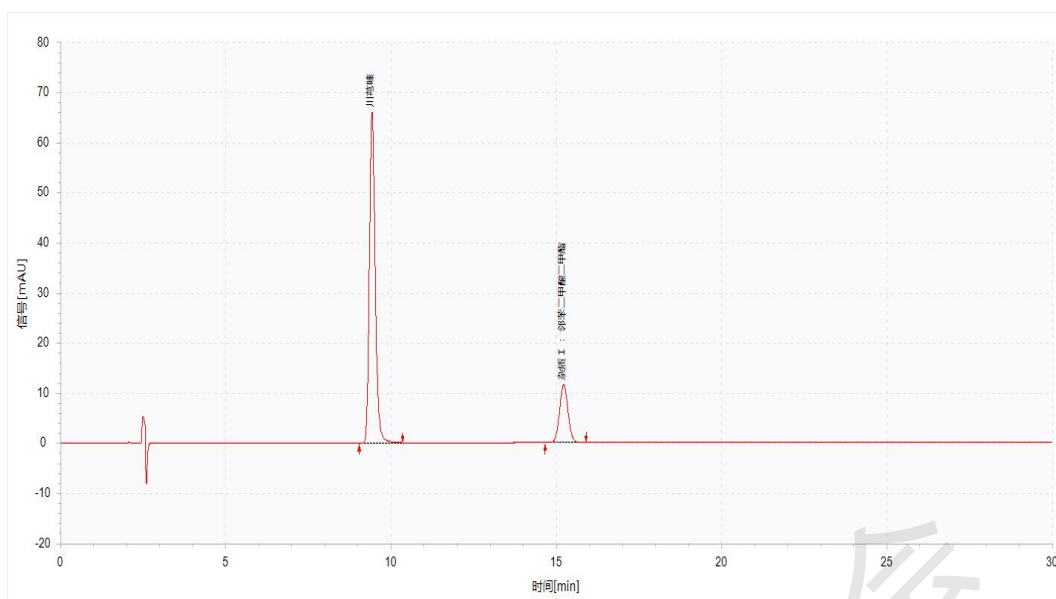


图 1 系统适用性溶液的色谱图

目标物	保留时间 (min)	峰面积 (mAU.s)	峰高 (mAU)	理论塔 板数	分离度	对称/拖 尾因子
川芎嗪	9.433	810.731	66.048	14660	-	1.23
杂质I: 邻苯二甲酸二甲酯	15.233	205.993	11.550	16843	14.85	1.05

表 1 系统适用性溶液色谱图积分结果

由表 1 中数据可知，川芎嗪峰的理论塔板数为 14660，满足《中国药典（2020 年版）》中规定的理论塔板数按川芎嗪峰计算不低于 2000 的要求；川芎嗪峰和杂质 I（邻苯二甲酸二甲酯）的分离度为 14.85，满足《中国药典（2020 年版）》中川芎嗪峰和杂质 I 分离度应大于 4.0 的要求。

供试品溶液的色谱图如图 2 所示。

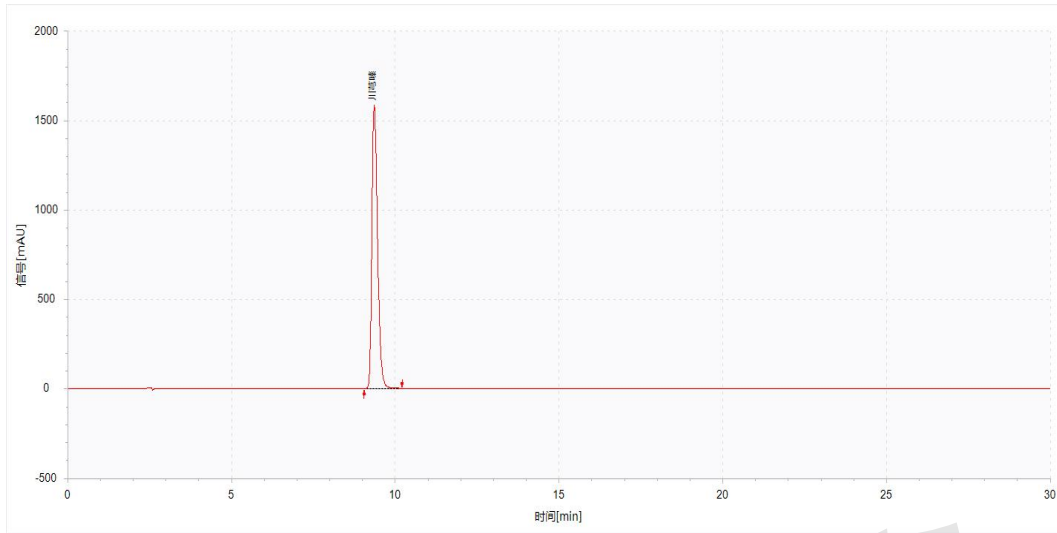


图2 供试品溶液的色谱图

对照溶液的色谱图如图3所示。

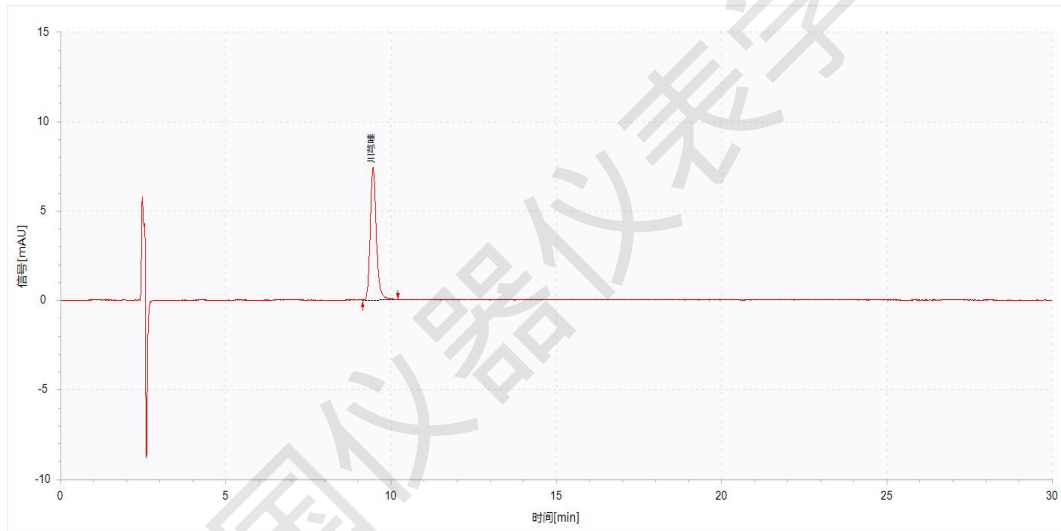


图3 对照溶液的色谱图

将对照溶液连续进样7针，叠加的色谱图如图4所示，结果见表2。

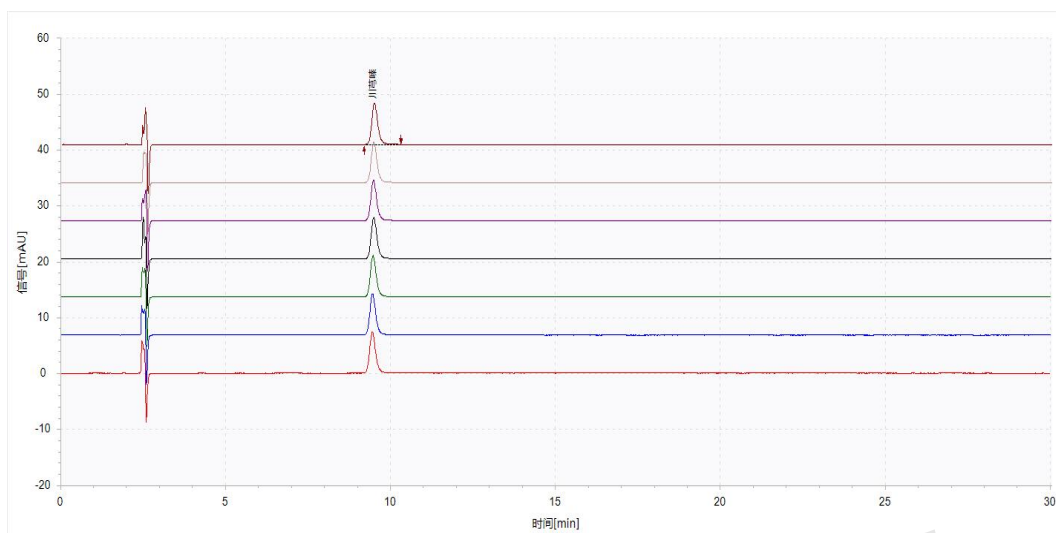


图 4 对照溶液连续进样 7 针叠加的色谱图

目标物	1	2	3	4	5	6	7	平均值	RSD%	
川芎嗪	保留时间	9.467	9.458	9.467	9.475	9.458	9.458	9.467	9.464	0.069
	峰面积	94.810	94.591	94.407	94.177	94.372	94.229	94.923	94.501	0.301

表 2 对照溶液连续进样 7 针重复性数据统计

由表 2 中数据可知，对照溶液连续进样 7 针重复性测试，川芎嗪保留时间的 RSD 为 0.069%，峰面积的 RSD 为 0.301%，具有良好的定性定量重复性。

将供试品溶液稀释 2000 倍进行灵敏度测试，如图 5 所示，灵敏度计算结果见表 3。

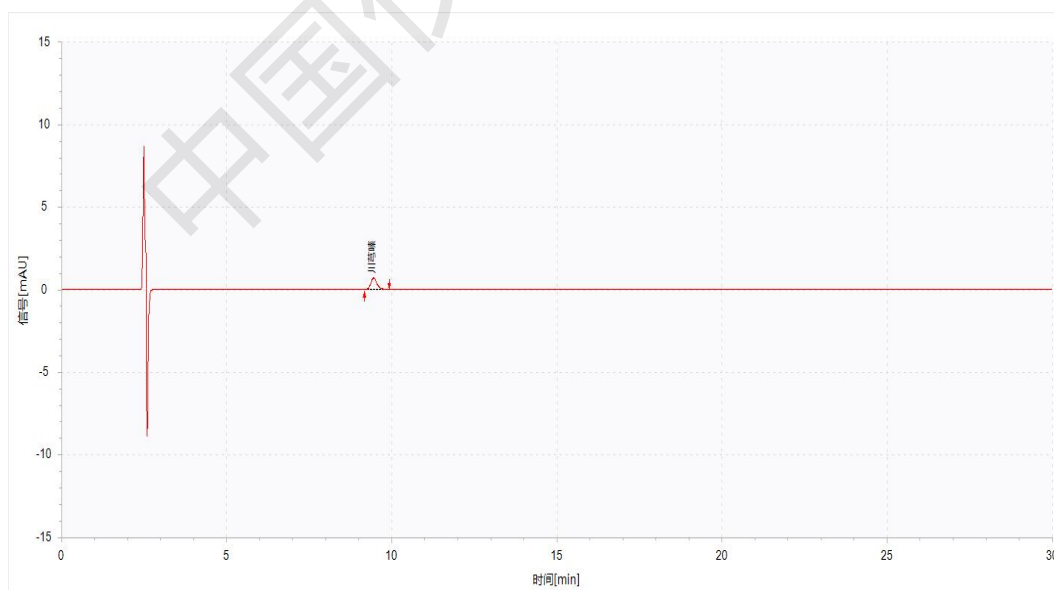


图 5 仪器灵敏度的色谱图

目标物	峰高 (mAU)	噪声 (mAU)	S/N
川芎嗪	0.696	0.003	232.0

表 3 川芎嗪灵敏度计算结果

通过计算，灵敏度溶液的信噪比 S/N 为 232.0，满足《中国药典（2020 年版）》中规定的定量检测时，信噪比应不小于 10 的要求。

5 结论

通过对系统适用性溶液、供试品溶液、对照溶液和灵敏度溶液进行测定，实验结果：川芎嗪峰的理论塔板数为 14660，满足《中国药典（2020 年版）》中规定的理论塔板数按川芎嗪峰计算不低于 2000 的要求；川芎嗪峰和杂质 I（邻苯二甲酸二甲酯）的分离度为 14.85，满足《中国药典（2020 年版）》中川芎嗪峰和杂质 I 分离度应大于 4.0 的要求；对照溶液连续进样 7 针重复性测试中，川芎嗪保留时间的 RSD 为 0.069%，峰面积的 RSD 为 0.301%，具有良好的定性定量重复性；灵敏度溶液的信噪比 S/N 为 232.0，满足中国药典（2020 年版）中规定的定量检测时，信噪比应不小于 10 的要求。因此，Wooking K2025 高效液相色谱仪对磷酸川芎嗪有关物质的测定，在理论塔板数、分离度、重复性以及灵敏度等方面均满足《中国药典（2020 年版）》的要求。

附 1:

仪器配置清单

序号	单元
K2025 二元高压梯度系统	
A)	<i>Pump Unit</i> 泵单元
1	62MPa 二元高压输液泵（内置溶剂托盘）
2	流动相瓶（肖特瓶，1L）
3	脱气机
4	四通道溶剂切换阀
5	自动在线清洗系统
B)	<i>Sample Injector</i> 进样器
1	自动进样器

2	样品瓶（2mL，含瓶盖）
3	脱气组件
4	100 μ L 定量环
C)	<u>Column Oven 柱温箱</u>
1	色谱柱恒温箱（室温以下 10°C 至 85°C）
2	色谱柱：Kromasil 100-5-C ₁₈ 4.6×250mm，5 μ m
D)	<u>Detector 检测器</u>
1	紫外-可见光检测器
E)	<u>Workstation 工作站</u>
1	Wookinglab（中文版）

附 2：悟空 Wooking K2025 高效液相色谱仪（可靠、精准、友好、合规）

