

# 泽兰配方颗粒 UHPLC 特征图谱测试

裴波

(安徽皖仪科技股份有限公司, 安徽 合肥, 230088)

**摘要:** 供试品经前处理后用 0.22 $\mu$ m 有机滤膜过滤, 以乙腈、磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱, 使用 C18 色谱柱进行分离, 超高效液相色谱 DAD 检测器检测。

**关键词:** 离子色谱法;检测方法;羧甲淀粉钠

## 1 检测方法

供试品经前处理后用 0.22 $\mu$ m 有机滤膜过滤, 以乙腈、磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱, 使用 C18 色谱柱进行分离, 超高效液相色谱 DAD 检测器检测。

## 2 试剂和材料

除非另有说明, 本方法所用试剂均为分析纯, 水为 GB/T 6682 规定的一级水。

### 2.1 试剂材料

2.1.1 乙腈 (CH<sub>3</sub>CN): 色谱纯。

2.1.2 乙醇 (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O)

2.1.3 磷酸: 优级纯。

2.1.4 有机系过滤头: 孔径为 0.22 $\mu$ m。

### 2.2 试剂配制

2.2.1 磷酸溶液 (0.05%): 量取 0.50mL 磷酸, 加水定容至 1000mL, 混匀。过 0.22 $\mu$ m 滤膜备用。

2.2.2 稀乙醇: 量取 529mL 无水乙醇, 加水定容至 1000mL, 摇匀, 备用。

### 2.3 参照物及供试品

2.3.1 迷迭香酸对照品: 购于诗丹德。

2.3.2 咖啡酸对照品: 购于诗丹德。

2.3.3 泽兰配方颗粒: 购自北京康仁堂药业有限公司, 批号 20032491。

### 2.4 参照物及供试品制备

2.4.1 参照物溶液的制备: 分别取迷迭香酸、咖啡酸对照品适量, 精密称定, 加稀乙醇制成每 1ml 各含 20 $\mu$ g 的混合溶液, 作为对照品参照物溶液。0.22 $\mu$ m 滤头滤过, 取续滤液,

即得。

2.4.2 供试品溶液的制备：取本品适量，研细，取约 0.1g，置具塞锥形瓶中，加稀乙醇 20ml，超声处理（功率 250W，频率 40kHz）30 分钟，放冷，摇匀，摇匀，0.22 $\mu$ m 滤头滤过，取续滤液，即得。

### 3 仪器设备

3.1 皖仪超液相色谱仪：配 DAD3600 检测器。

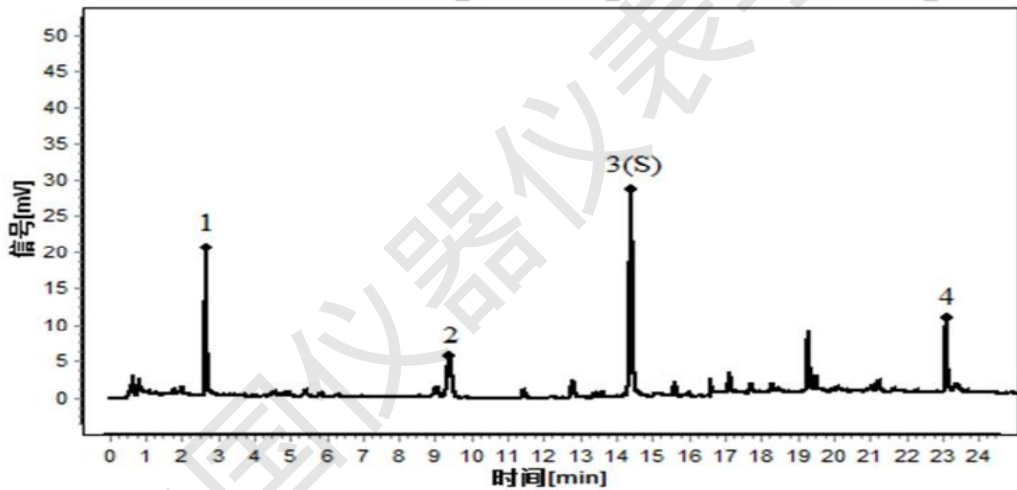
3.2 电子天平：感量为 0.1 mg。

3.3 超声波清洗器。

3.4 涡旋振荡器

3.5 溶剂过滤器：滤膜孔径约为 0.22 $\mu$ m

### 4 药典标准谱图



峰 1：咖啡酸；峰 3（S）：迷迭香酸

### 5 实验过程记录及结果分析

#### 5.1 仪器条件

色谱柱：Agilent SB C18(2.1\*100, 1.8 $\mu$ m)。

流动相：乙腈为流动相 A，0.05%磷酸溶液为流动相 B，进行梯度洗脱。

时间	A (%)	B (%)
0~3	10→13	90→87
3~9	13	87
9~10	13→15	87→85
10~15	15→20	85→80
15~24	20→30	80→70
24~26	30→90	70→10
26.1~30	10	90

流速：0.4mL/min。

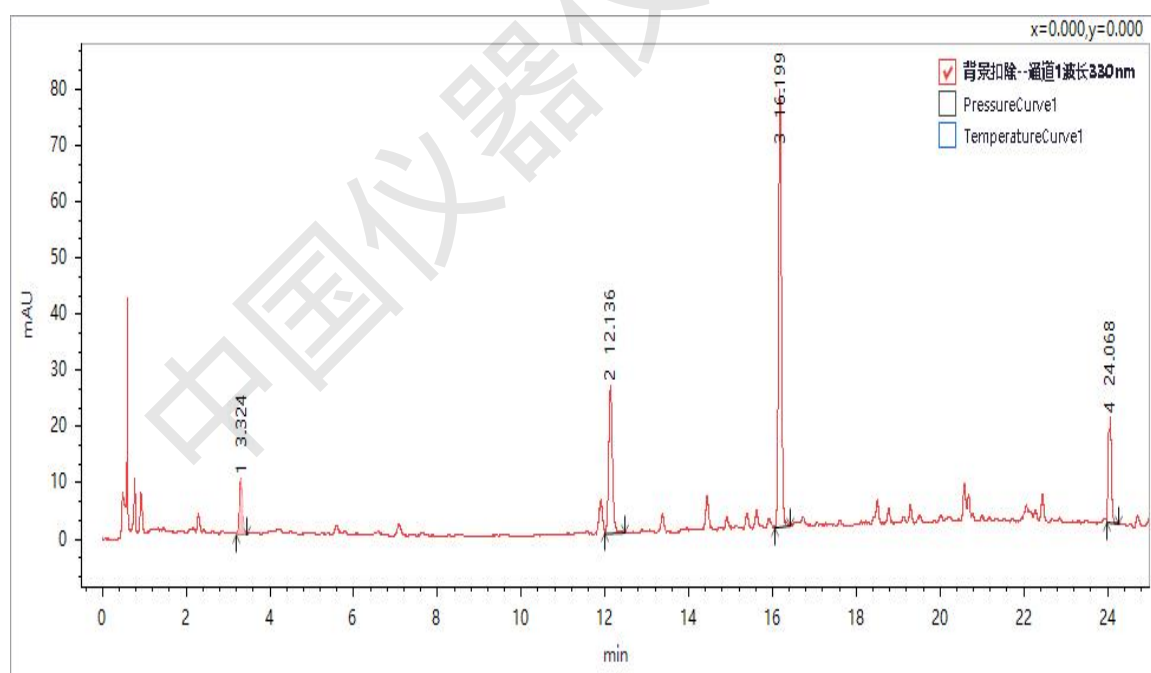
波长：330nm。

柱温：40°C。

进样量：1 $\mu$ L。

## 5.2 实验结果及分析

5.2.1 按照药典仪器方法进样，供试品谱图如下：



分析：在该色谱条件下，以峰3迷迭香酸为S峰，计算峰2、4与S峰的相对保留时间，其相对保留时间应在规定值的 $\pm 10\%$ 范围之内；计算峰2、4与S峰的相对峰面积。结果如下

峰序号	保留时间	相对保留时间	标准规定值	偏差(%)
1	3.324	0.14	/	/
2	12.136	0.75	0.6	25.0
3 (S)	16.199	1.00	/	/
4	24.068	1.49	1.66	-10.2

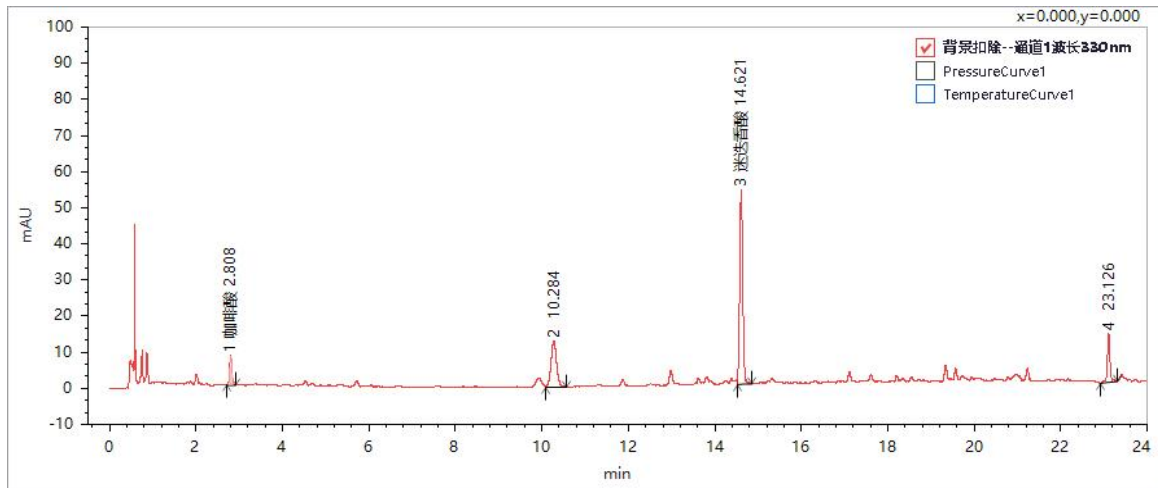
峰序号	峰面积	相对峰面积	标准规定值	偏差(%)
1	42.698	0.11	/	/
2	163.83	0.43	≥0.22	/
3 (S)	382.715	1.00	/	/
4	71.563	0.19	≥0.09	/

其中相对保留时间与药典要求值偏差较大。查找原因发现仪器方法中流速设置错误

序号		线性类型	流速(mL/min)	%A	%B
1	0.00	线性	0.4000	10.0	90.0
2	3.00	线性	0.3000	13.0	87.0
3	9.00	线性	0.3000	13.0	87.0
4	10.00	线性	0.3000	15.0	85.0
5	15.00	线性	0.3000	20.0	80.0
6	24.00	线性	0.3000	30.0	70.0
7	26.00	线性	0.3000	90.0	10.0
8	26.10	线性	0.3000	10.0	90.0
9	30.00	线性	0.3000	10.0	90.0

5.2.2 更改洗脱程序，条件及谱图如下：

序号		线性类型	流速(mL/min)	%A	%B
1	0.00	线性	0.4000	10.0	90.0
2	3.00	线性	0.4000	13.0	87.0
3	9.00	线性	0.4000	13.0	87.0
4	10.00	线性	0.4000	15.0	85.0
5	15.00	线性	0.4000	20.0	80.0
6	24.00	线性	0.4000	30.0	70.0
7	26.00	线性	0.4000	90.0	10.0
8	26.10	线性	0.4000	10.0	90.0
9	30.00	线性	0.4000	10.0	90.0



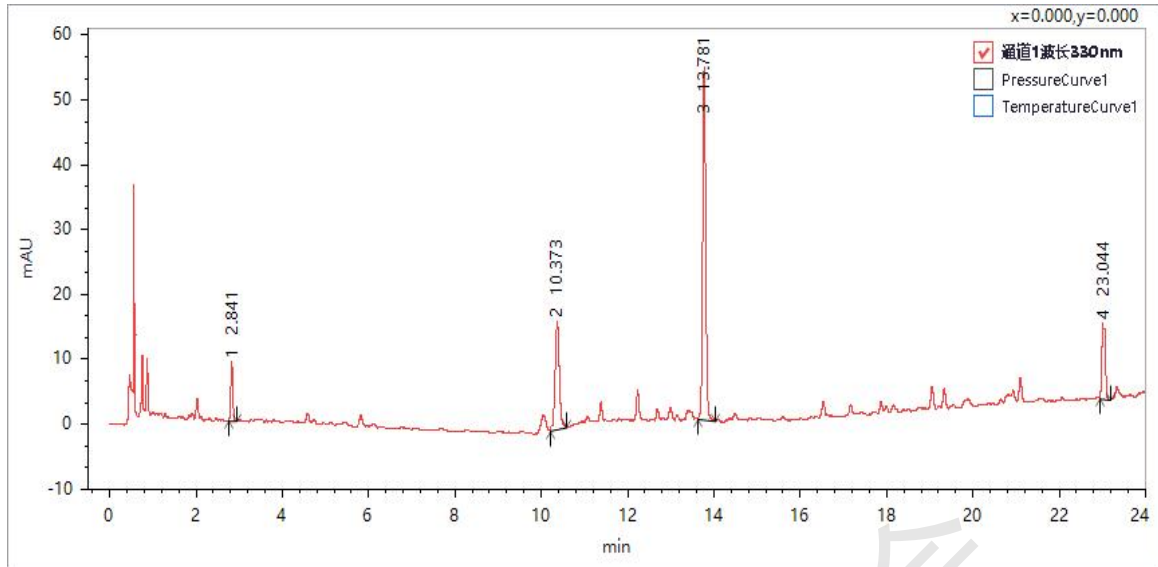
分析：此条件下，峰 2 的相对保留时间不满足药典要求，方法需优化。

峰序号	保留时间	相对保留时间	标准规定值	偏差(%)
1	2.808	0.19	/	/
2	10.284	0.70	0.6	16.7
3 (S)	14.621	1.00	/	/
4	23.126	1.58	1.66	-4.8

5.2.3 可考虑增加前期有机相比例，缩短峰 2 保留时间，方法如下

序号	时间	线性类型	流速(mL/min)	%A	%B
1	0.00	线性	0.4000	10.0	90.0
2	3.00	线性	0.4000	13.0	87.0
3	9.00	线性	0.4000	13.0	87.0
4	10.00	线性	0.4000	17.0	83.0
5	15.00	线性	0.4000	20.0	80.0
6	24.00	线性	0.4000	30.0	70.0
7	26.00	线性	0.4000	90.0	10.0
8	26.10	线性	0.4000	10.0	90.0
9	30.00	线性	0.4000	10.0	90.0

将 10min A 相比例从 15 调至 17，结果及图谱如下：

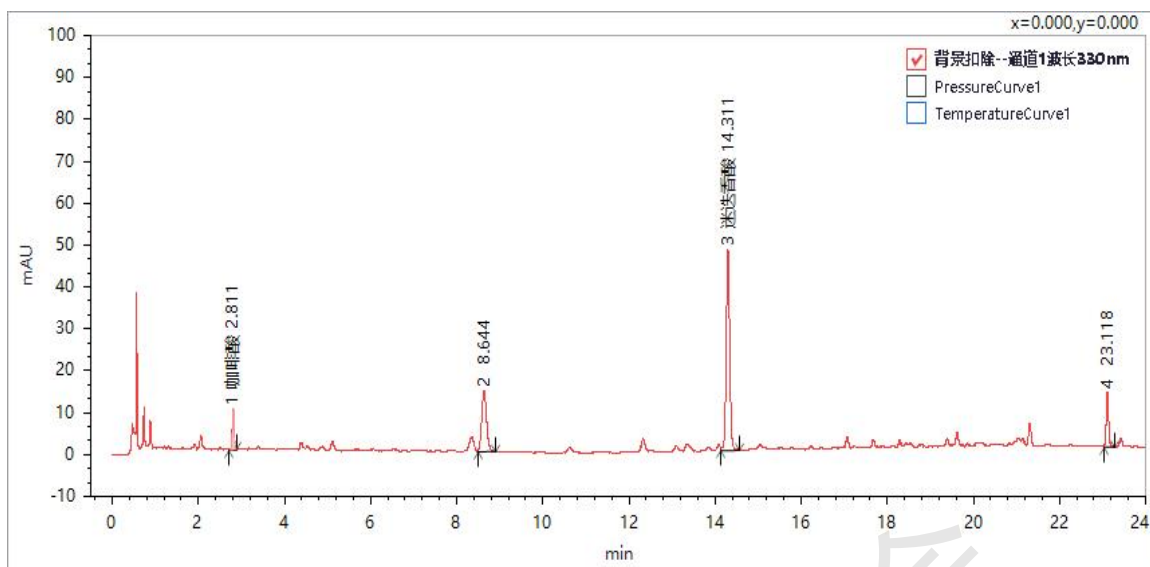


峰序号	保留时间	相对保留时间	标准规定值	偏差(%)
1	2.841	0.21	/	/
2	10.373	0.75	0.6	25.0
3 (S)	13.781	1.00	/	/
4	23.044	1.67	1.66	0.6

此梯度条件下，对峰 1 与峰 2 保留时间影响较小，峰 3 保留时间提前。计算相对保留时间超出要求。

5.2.4 将原药典方法 3-9min A 相比例从 13 调至 14，结果及图谱如下：

序号	线性类型	流速(mL/min)	%A	%B
1	0.00 线性	0.4000	10.0	90.0
2	3.00 线性	0.4000	14.0	86.0
3	9.00 线性	0.4000	14.0	86.0
4	10.00 线性	0.4000	15.0	85.0
5	15.00 线性	0.4000	20.0	80.0
6	24.00 线性	0.4000	30.0	70.0
7	26.00 线性	0.4000	90.0	10.0
8	26.10 线性	0.4000	10.0	90.0
9	30.00 线性	0.4000	10.0	90.0



序号	化合物名	保留时间	峰面积	理论塔板数
1	咖啡酸	2.81	31.602	18000.0
2		8.64	114.121	27648.0
3	迷迭香酸	14.31	276.254	<b>148652.0</b>
4		23.12	49.664	902364.0

药典要求理论塔板数以迷迭香酸计，不小于 4000。

以峰 3 迷迭香酸为 S 峰，计算峰 2、4 与 S 峰的相对保留时间，其相对保留时间应在规定值的 $\pm 10\%$ 范围之内；计算峰 2、4 与 S 峰的相对峰面积。

峰序号	保留时间	相对保留时间	标准规定值	偏差(%)
1	2.811	0.20	/	/
2	8.644	0.60	0.6	0.0
3 (S)	14.311	1.00	/	/
4	23.118	1.62	1.66	-2.4

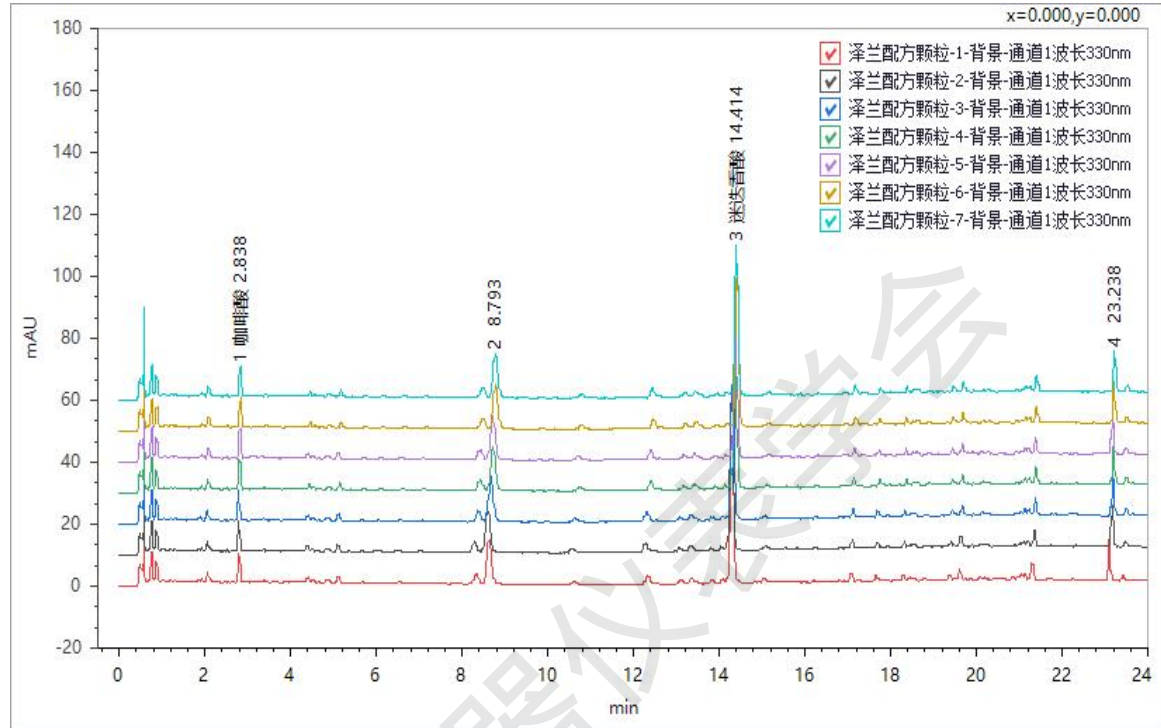
  

峰序号	峰面积	相对峰面积	标准规定值	偏差(%)
1	31.602	0.11	/	/
2	114.121	0.41	$\geq 0.22$	/
3 (S)	276.254	1.00	/	/
4	49.664	0.18	$\geq 0.09$	/

此条件下，相对保留时间及相对峰面积均满足标准要求。

5.2.5 重复性实验：取供试品溶液，连续检测 7 次，获得特征图谱，计算峰面积及保留时间 RSD 值。重叠谱图如下：

供试品重叠图



峰面积重复性：

峰序号	峰面积							平均值	SD	RSD (%)
	泽兰 1	泽兰 2	泽兰 3	泽兰 4	泽兰 5	泽兰 6	泽兰 7			
1	31.602	31.591	31.562	31.452	30.888	31.576	31.418	31.441	0.25	0.80
2	114.121	113.886	116.276	117.235	116.615	115.96	114.664	115.537	1.31	1.13
3	276.254	279.263	277.008	274.072	278.907	279.672	280.741	277.988	2.32	0.83
4	49.664	50.916	50.567	50.473	49.441	50.962	51.37	50.485	0.70	1.39

保留时间重复性：

峰序号	保留时间							平均值	SD	RSD (%)
	泽兰 1	泽兰 2	泽兰 3	泽兰 4	泽兰 5	泽兰 6	泽兰 7			
1	2.811	2.803	2.799	2.823	2.829	2.844	2.838	2.821	0.017	0.60
2	8.644	8.608	8.688	8.738	8.731	8.796	8.793	8.714	0.071	0.81



3	14.311	14.298	14.324	14.381	14.389	14.428	14.414	14.364	0.052	0.36
4	23.118	23.188	23.203	23.216	23.194	23.224	23.238	23.197	0.039	0.17

中国仪器仪表学会