

Acclaim Mixed-Mode 系列色谱柱应用于 益母草颗粒中 盐酸水苏碱和 益母草碱 含量的测定

Jinsheng Hu

CCS Application Engineer

8-Aug-2022

 The world leader in serving science



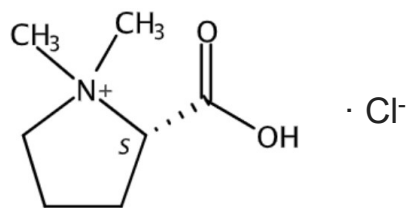
益母草颗粒—盐酸水苏碱、益母草碱

缓冲盐溶液：20mM 甲酸铵(1.26g 甲酸铵溶于 1000mL 超纯水)，用适量甲酸 (约 350 μ L) 调节 pH 至 4.0，即得
稀释液/提取液：乙腈-水-甲酸=500:500:1（为避免氯离子干扰，提取液中未添加盐酸）

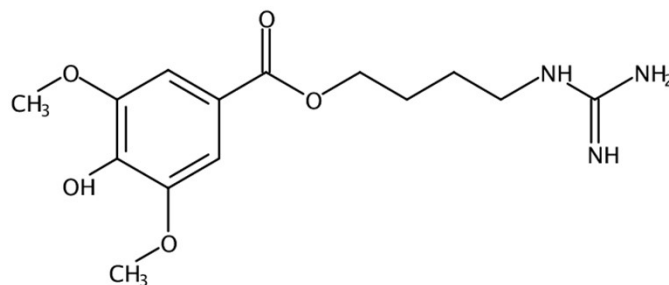
对照品溶液的制备 取盐酸水苏碱对照品、益母草碱对照品适量，精密称定，加稀释液制成每 1ml 各含 0.1mg 的混合溶液，即得。

供试品溶液的制备 取本品细粉 1.0g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入提取液 50ml，密塞，称定重量，超声处理（功率 250W，频率 40kHz）15 分钟，放冷，再称定重量，用提取液补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ l，注入液相色谱仪，测定，即得。



盐酸水苏碱
4136-37-2



益母草碱
24697-74-3

Vanquish™ Core HPLC 液相色谱系统 (盐酸水苏碱)



Vanquish™ Core HPLC

Acclaim Mixed-Mode **WAX-1**, 5 μ m, 4.6 \times 250 mm (P/N: 064985)

- Pump: VC-P21-A

流动相: A: 20 mM 甲酸铵 (甲酸调节 pH 至 4.0) B: 乙腈

流速: 1.0 mL/min

梯度洗脱程序:

Time (min)	A (%)	B (%)
-2	10	90
0	10	90
8	10	90
12	50	50
15	50	50
18	10	90
28	10	90

- Sampler Module: VC-A13-A

进样量: 10 μ L; 样品盘温度: 室温

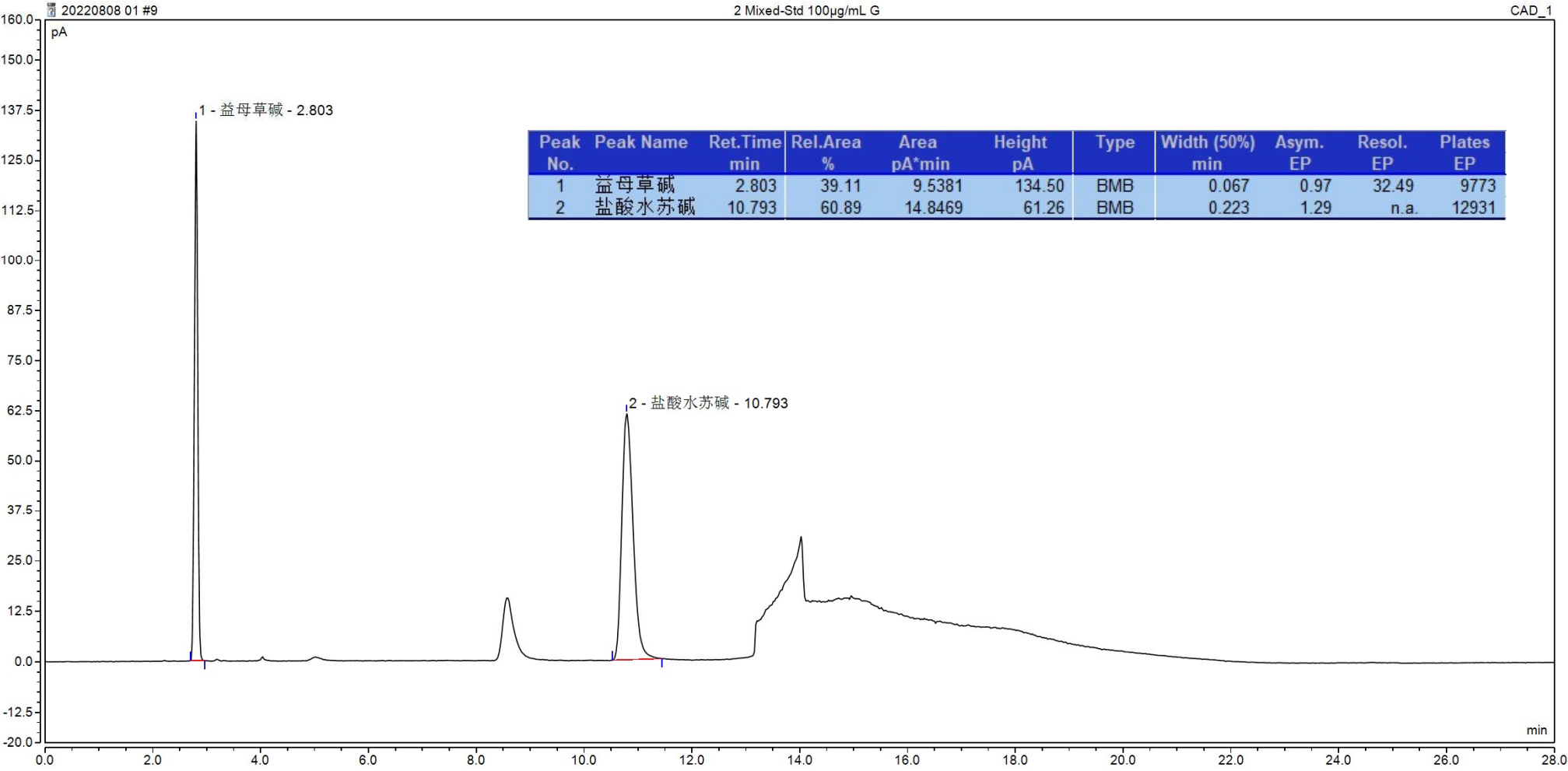
- Column Comp: VC-C10-A

柱温: 30 $^{\circ}$ C;

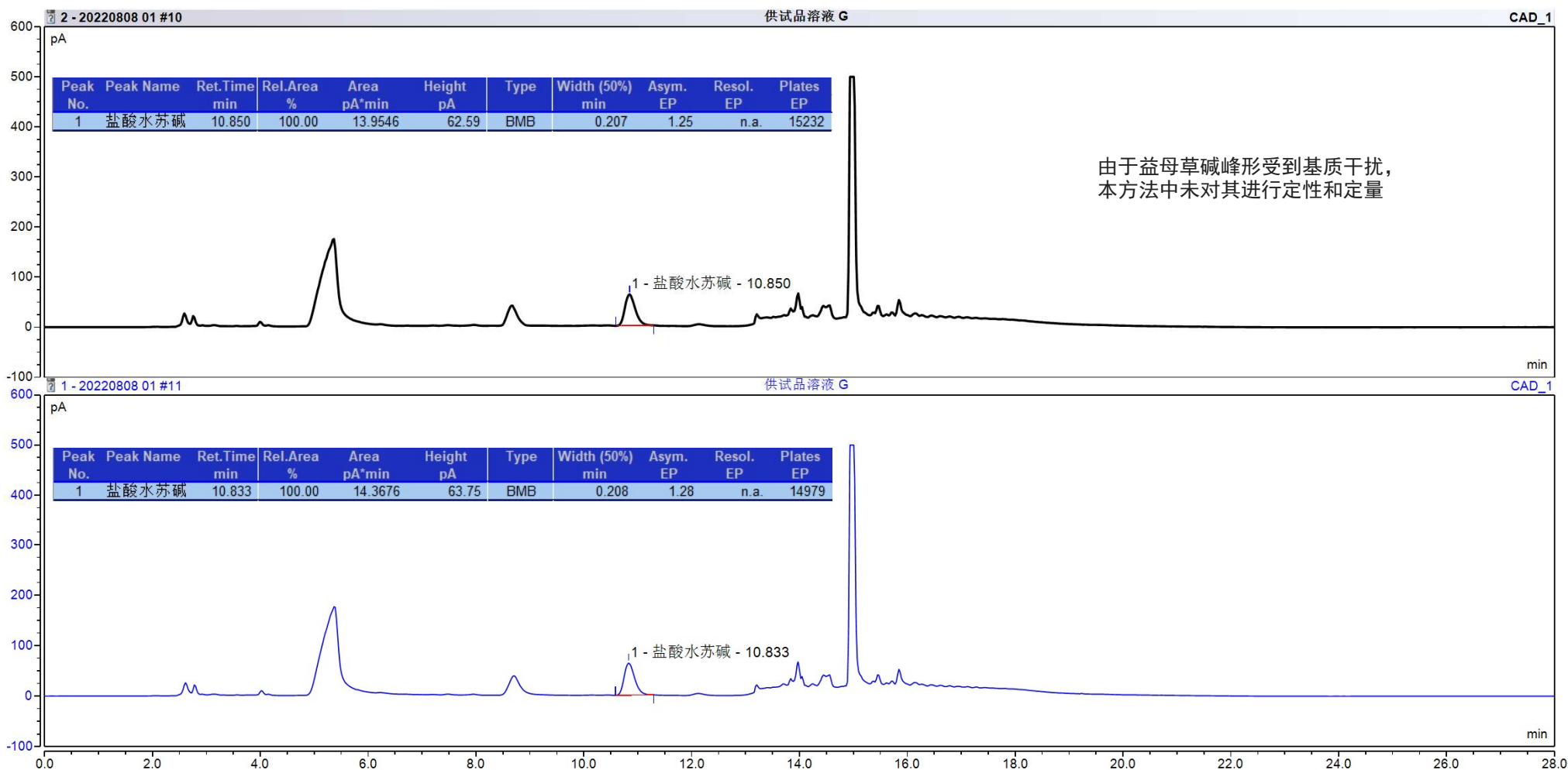
- CAD: VH-D20-A

采集频率: 5 Hz; 过滤常数: 3.6 s; 蒸发温度: 50 $^{\circ}$ C

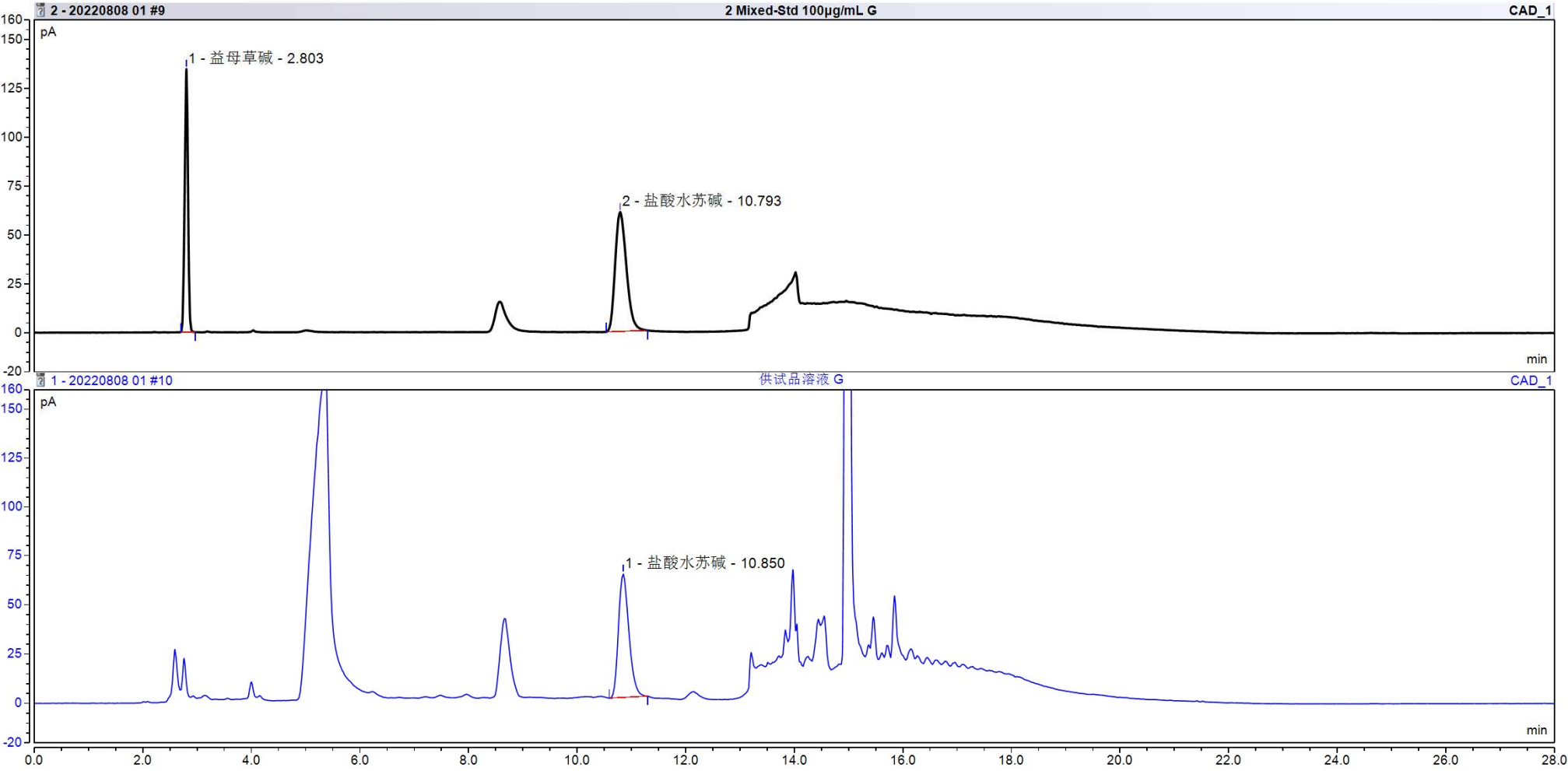
益母草碱、盐酸水苏碱 对照品溶液谱图 (0.1 mg/mL)



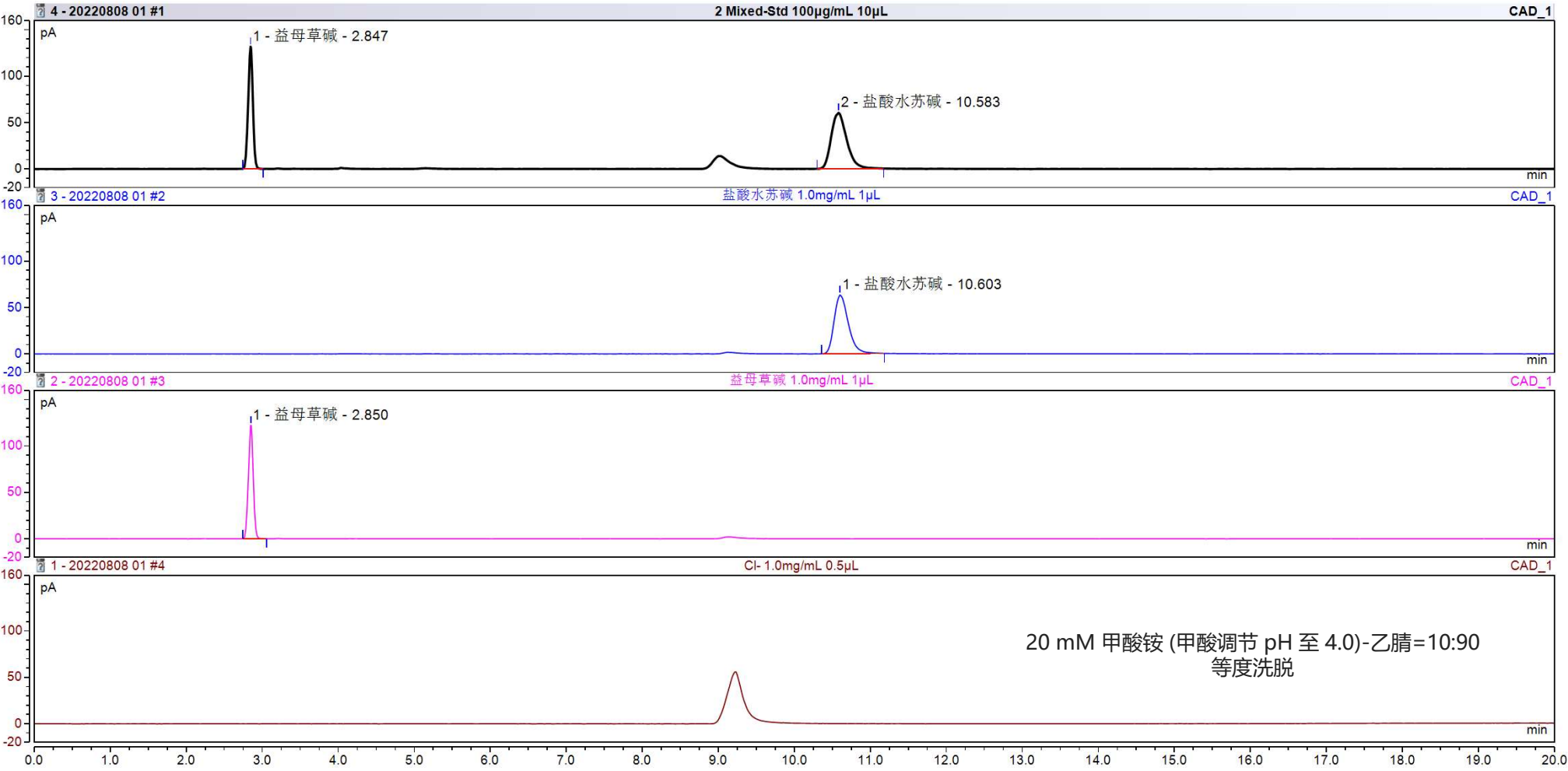
供试品溶液 1 和供试品溶液 2 叠加谱图



对照品、供试品溶液 叠加谱图

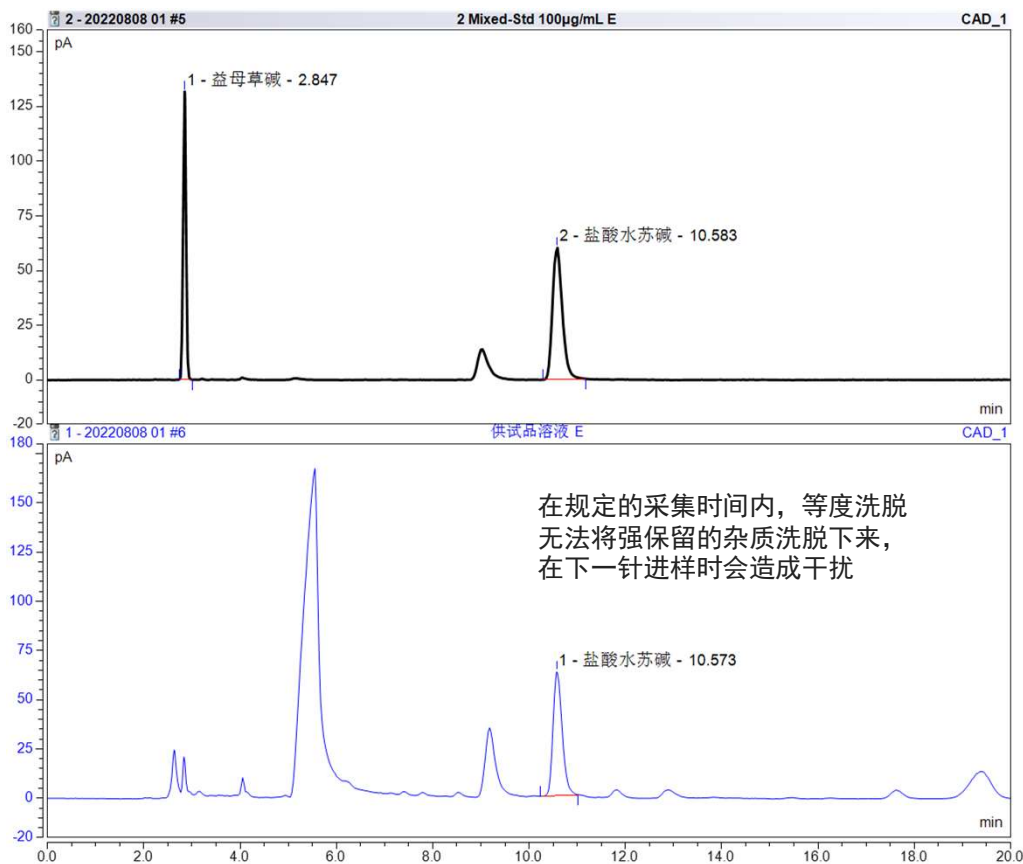


盐酸水苏碱、益母草碱、氯离子对照品溶液 单标定位



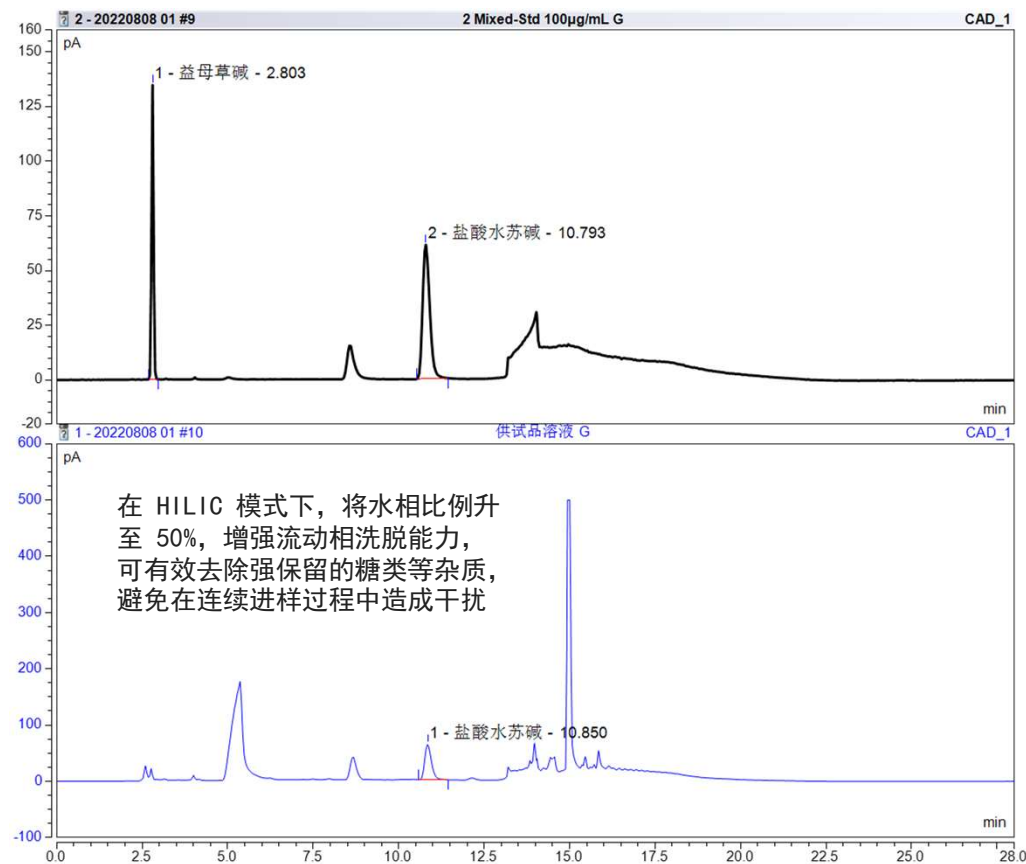
洗脱程序优化：等度洗脱 vs 梯度洗脱

等度洗脱



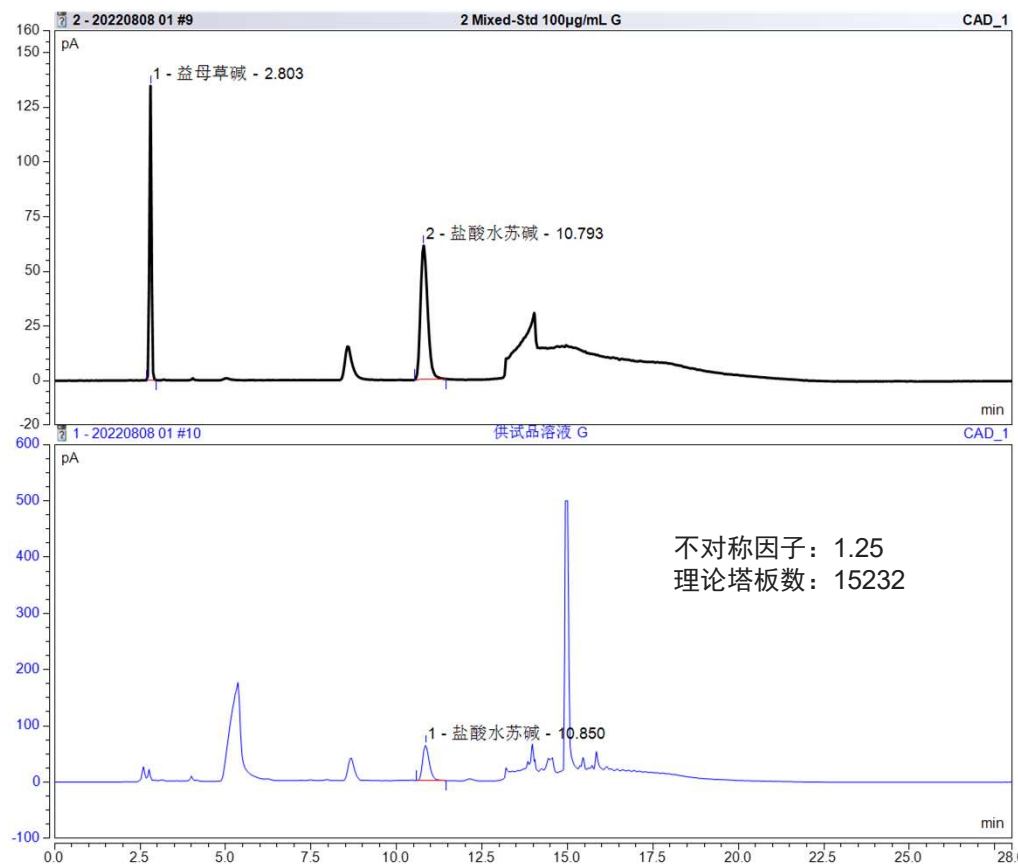
在本方法中，供试品溶液益母草碱出峰较早，峰形容易受到相邻杂质峰干扰，因此益母草碱改用 ([other method]) 方法进行定性和定量

梯度洗脱

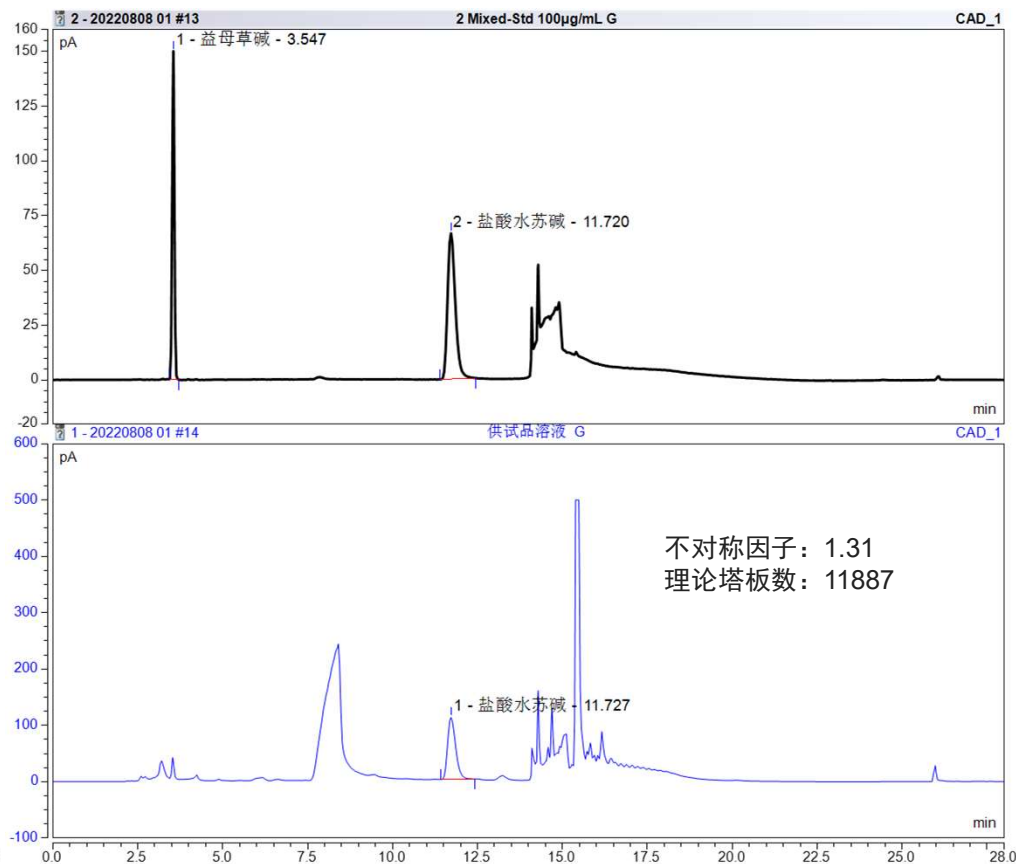


缓冲盐浓度优化：20mM vs 50mM

20mM 甲酸铵(pH=4.0)



50mM 甲酸铵(pH=4.0)



在 HILIC 模式下，缓冲盐浓度浓度增大，保留增强，但理论塔板数下降，拖尾因子变大，因此缓冲盐浓度选择 20mM

Vanquish™ Core HPLC 液相色谱系统 (益母草碱)

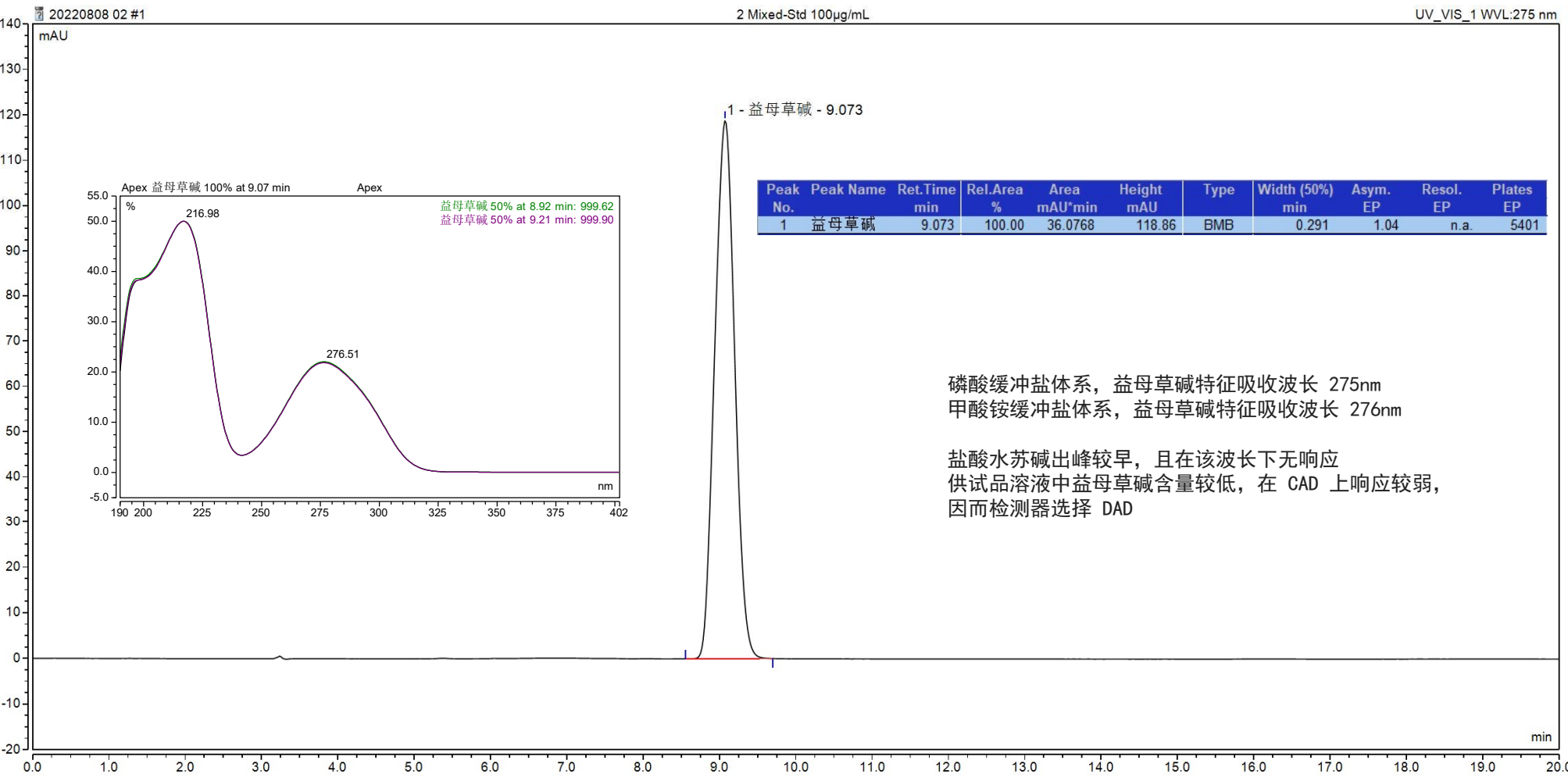


Vanquish™ Core HPLC

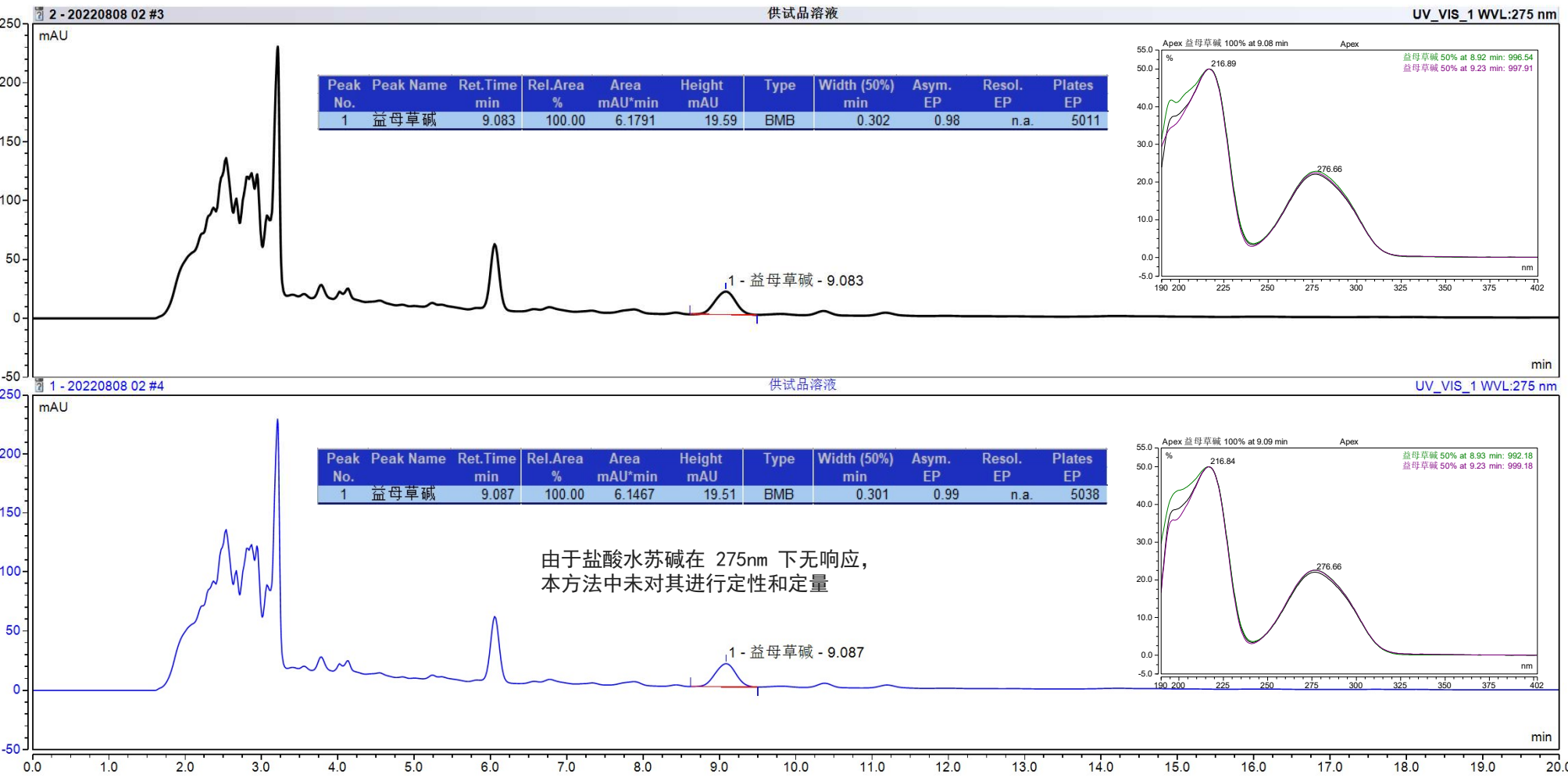
Acclaim Mixed-Mode **WCX-1**, 5 μ m, 4.6 \times 250 mm (P/N: 068352)

- Pump: VC-P21-A
流动相: A: 20 mM 甲酸铵 (甲酸调节 pH 至 4.0) B: 乙腈
流速: 1.0 mL/min
洗脱程序: A:B=75:25, 等度洗脱
采集时间: 20 min
- Sampler Module: VC-A13-A
进样量: 10 μ L; 样品盘温度: 室温
- Column Comp: VC-C10-A
柱温: 30 $^{\circ}$ C;
- UV: VC-D11-A
检测波长: 275 nm; 采集频率: 5 Hz
光谱采集: 190-400 nm

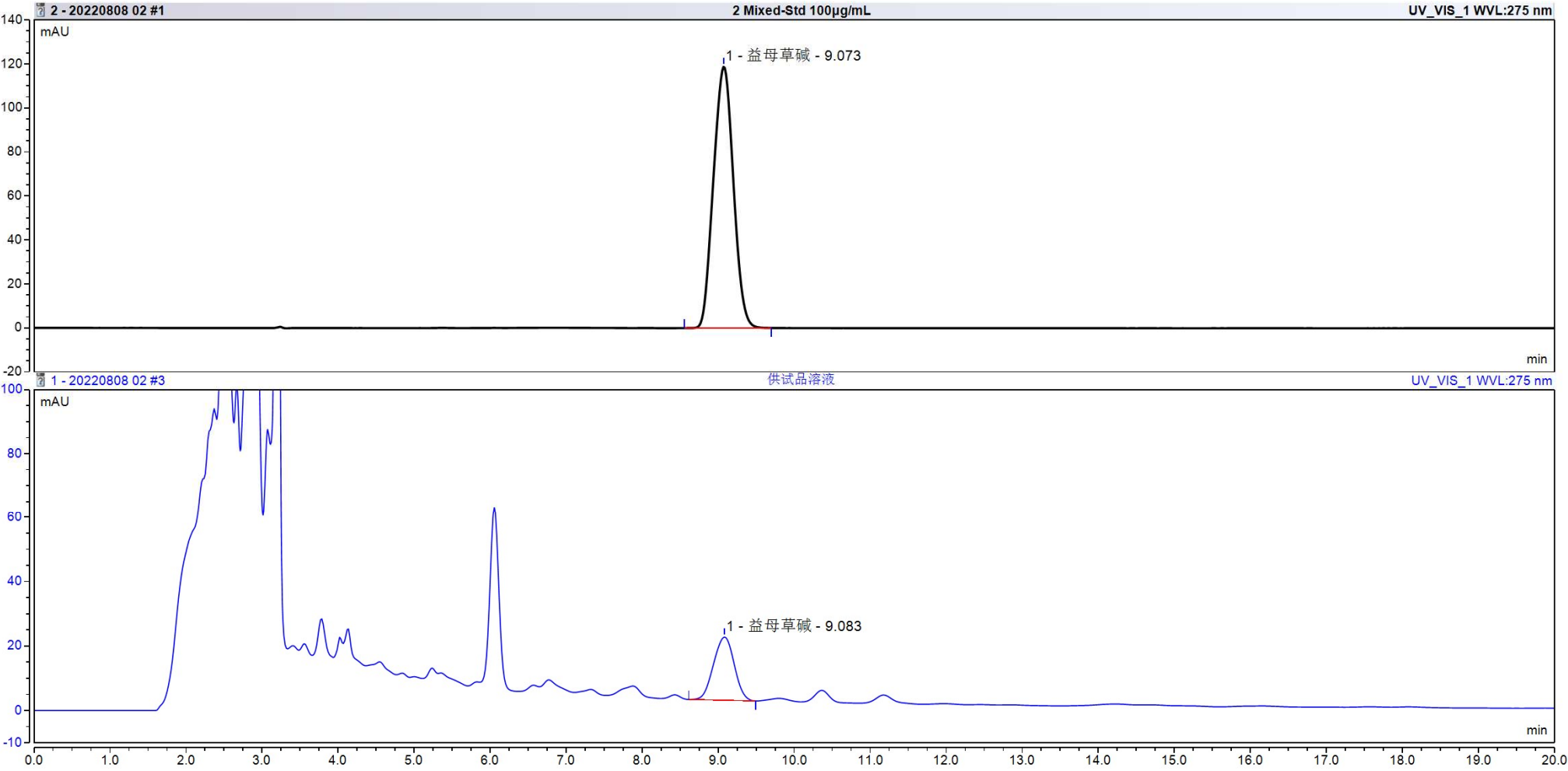
益母草碱 对照品溶液谱图 (0.1 mg/mL)



供试品溶液 1 和供试品溶液 2 叠加谱图

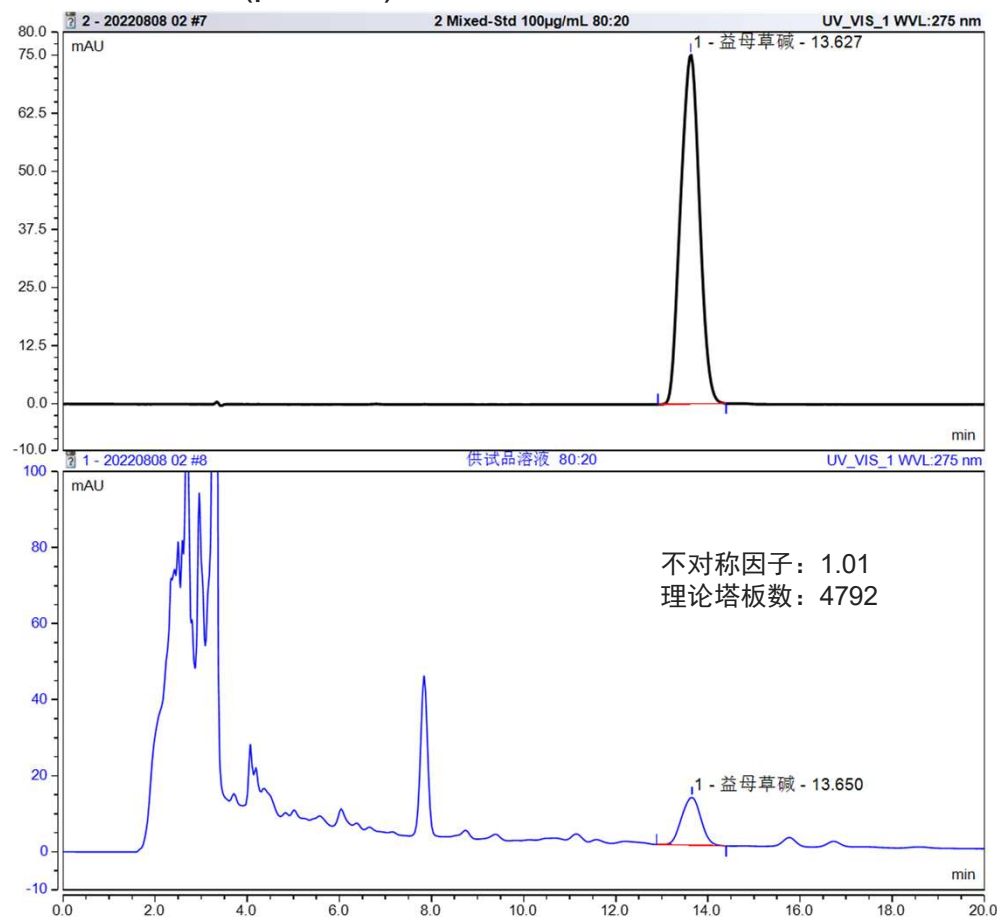


对照品、供试品溶液叠加谱图

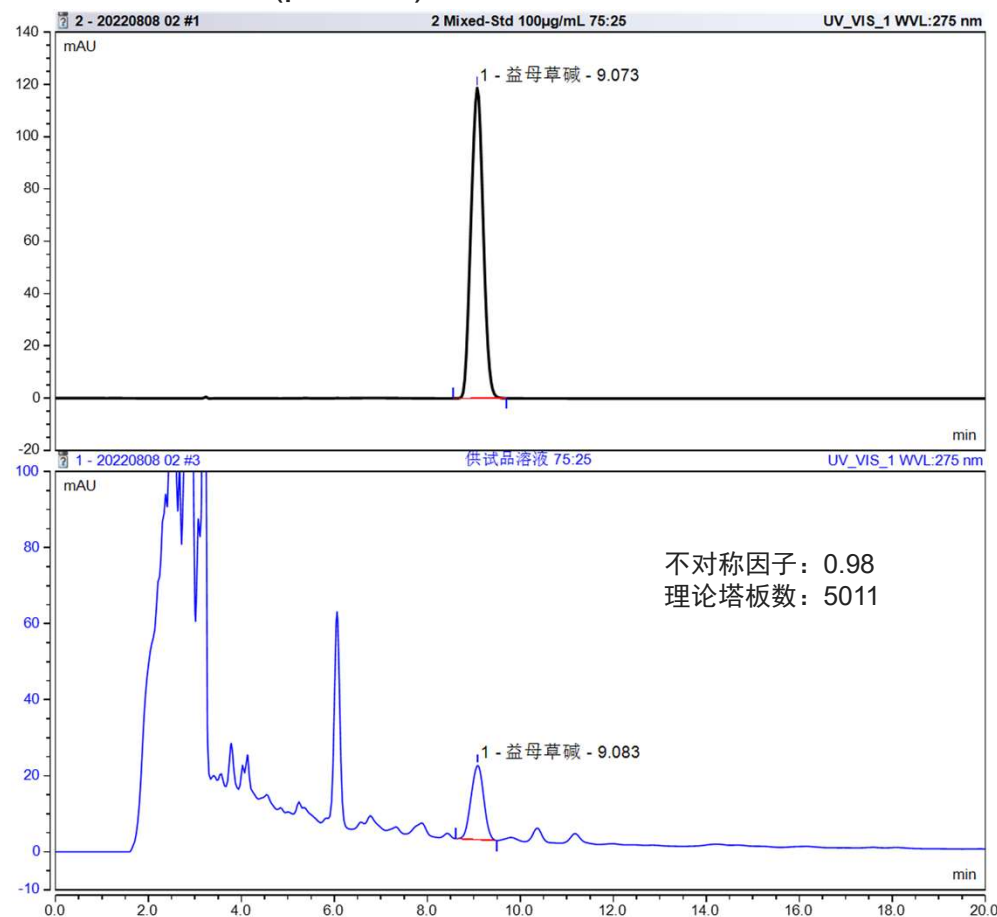


有机相比比例优化：20%乙腈 vs 25%乙腈

20mM 甲酸铵(pH=4.0)-乙腈=80:20



20mM 甲酸铵(pH=4.0)-乙腈=75:25

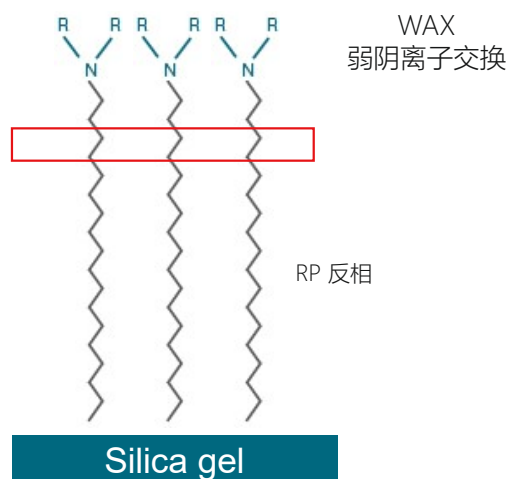


在 80:20 的流动相条件下, 益母草碱出峰稍晚, 但其峰展宽严重, 半峰宽较大, 峰高较小, 灵敏度不足, 因而流动相比比例选择 75:25

Acclaim Mixed-Mode 系列色谱柱 (Bi-modal)

Acclaim Mixed-Mode **WAX-1**

疏水烷基链, 端基叔胺
RP+WAX

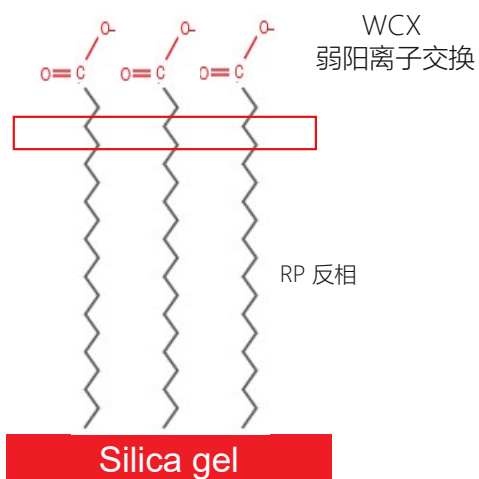


USP L78

单元/多元有机酸

Acclaim Mixed-Mode **WCX-1**

疏水烷基链, 端基羧基
RP+WCX

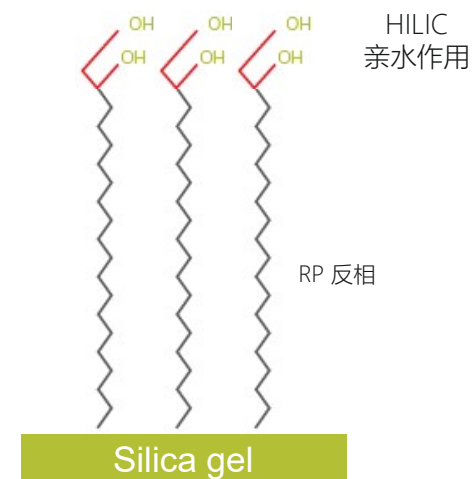


USP L85

有机胺类化合物

Acclaim Mixed-Mode **HILIC-1**

疏水烷基链, 端基二醇基
RP+HILIC



极性化合物