

Agilent液相色谱 在配方颗粒中的应用

杨新磊，张艳海、雷启福

液相色谱应用支持团队



拜访过的客户



浙江省食品药品检验研究院

广西昆泽药业

广西万通制药



主要内容

➤ 配方颗粒行业现状

➤ 安捷伦液相色谱方案

- ❑ 重现现有标准
- ❑ 改进现有标准
- ❑ 助力更严谨标准
- ❑ 投资效益最大化

➤ 安捷伦其他解决方案

- ❑ 农残解决方案
- ❑ 真菌毒素测定
- ❑ 重金属检测



配方颗粒行业现状

什么是中药配方颗粒？

⇨ 是由单味中药饮片经水提、浓缩、干燥、制粒而成，在中医临床配方后，供患者冲服使用。中药配方颗粒是对传统中药饮片的补充。



配方颗粒助力新冠肺炎治愈

湖北省中医院“肺炎1号”“强力肺炎1号”医院制剂获批备案

2020年02月24日 21:36 澎湃新闻



检测的水质
供水水质检测
4.0万阅读

原标题：湖北省中医院“肺炎

2月23日，湖北省药品监督管理局研制的防治新冠肺炎的清肺达原颗粒（曾用名“强力肺炎1号”）两个适用，可以在本院区或根据新冠肺炎应用，也可因疫情需要，根据指挥部

聚药堂董事长：积极复工抗疫，期待疫后放开中药配方颗粒

2020-02-1



捐赠中药配方颗粒超9000万元 劲牌累计捐赠1.57亿元战“疫”

2020年02月28日 09:14 新浪网 作者 荆楚网

湖北日报讯（记者张茜）2月27日获悉，劲牌公司生产捐赠价值超9000万元，加上前期已捐赠的6706万元现金，累计捐赠总

1月25日，劲牌开始组织生产并捐赠价值不少于5000万元（配方颗粒。1月26日追加捐赠5000万元现金用于武汉和黄石地区向捐赠现金1706万元，实现现金捐赠省内全覆盖。根据省内疫情万副疫情预防中药配方颗粒增加到400万副，同时捐赠50万副疫

仲景宛西制药为河南多个地市加班生产防疫用配方颗粒150万人份

来源：仲景健康网 发布时间：2020/03/03

228

分享：👍👏👤🔖

66

疫情期间，仲景宛西制药受河南南阳市委委托，按南阳市新型冠状病毒感染的肺炎中医防治专家组公布的预防方案中处方，紧急加工生产抗新冠1、2、3、4、5号配方颗粒药品约1500件、150多万人份。

疫情期间，仲景宛西制药受河南南阳市委委托，按南阳市新型冠状病毒感染的肺炎中医防治专家组公布的预防方案中处方，紧急加工生产抗新冠1、2、3、4、5号配方颗粒药品约1500件、150多万人份。全部用于南阳（包括各县区）、郑州、新乡、开封、洛阳、三门峡等地的医院、防疫指挥部、警察等一线重点防疫人群使用。



国家药典委员会：2019.11第一批标准公示

——标准起草单位

- 广东一方制药有限公司
- 江阴天江药业有限公司
- 四川新绿色药业科技发展有限公司
- 北京康仁堂药业有限公司
- 华润三九医药股份有限公司
- 培力（南宁）药业有限公司
- 神威药业集团有限公司
- 天士力医药集团股份有限公司
- 安徽九洲方圆制药有限公司

<http://www.chp.org.cn/view/ff8080816e444b7f016e49cbaa380986?a=BZZY&from=singlemessage&isappinstalled=0>

The screenshot shows the official website of the National Pharmacopoeia Commission (China Pharmacopoeia Commission). The page title is "关于中药配方颗粒品种试点统一标准的公示" (Public Notice on the Pilot Standard for Traditional Chinese Medicine Formulation Granules). The notice is dated 2019-11-08 14:55:08. The text of the notice describes the process of developing a pilot standard for 160 traditional Chinese medicine granule varieties, involving 14 manufacturers and 1 research institution. It lists the participating companies: Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangyin Tianjiang Pharmaceutical Co., Ltd., Sichuan Xinglvse Pharmaceutical Technology Development Co., Ltd., Beijing Kangrentang Pharmaceutical Co., Ltd., Huarun Sanyou Pharmaceutical Co., Ltd., Peili (Nanning) Pharmaceutical Co., Ltd., Shenwei Pharmaceutical Group Co., Ltd., and Tianshili Pharmaceutical Group Co., Ltd. The notice also provides contact information for Zhang Xue, including phone, email, and address.

国家药典委员会
Chinese Pharmacopoeia Commission

加入收藏 2019-11-10 星期日 21:40:11 English Site

科学先进 ◊ 实用规范 ◊ 公开公正 ◊ 优质高效

首页 新闻动态 工作动态 交流培训 公众服务 关于我们 政策法规 世界药典之窗

当前位置： 首页 > 工作动态 > 标准公示 > 中药 > 关于中药配方颗粒品种试点统一标准的公示

关于中药配方颗粒品种试点统一标准的公示

时间: 2019-11-08 14:55:08

按照国家药品监督管理局统一部署要求，根据国家药品标准工作程序，我委组织相关企业开展中药配方颗粒品种试点统一标准研究，并组织专家开展标准审评工作。截至2019年5月底，受理了14家生产企业和1家研究机构提交的301个品种的研究资料共计437份。通过组织12次专家审评会审评，其中的160个品种形成了试点统一标准的拟公示标准。提供上述品种标准草案及研究资料的单位有：广东一方制药有限公司、江阴天江药业有限公司、四川新绿色药业科技发展有限公司、北京康仁堂药业有限公司、华润三九医药股份有限公司、培力（南宁）药业有限公司、神威药业集团有限公司、天士力医药集团股份有限公司和安徽九洲方圆制药有限公司。

为确保标准的科学性、合理性和适用性，现就上述160个品种的试点统一标准公示征求社会各界意见（详见附件）。公示期为三个月。请相关单位认真研究，鼓励企业参照在国家药品监督管理局网站上公示的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》文件开展从标准汤剂到生产工艺及中药配方颗粒产品的标准研究与复核。若有异议，请及时来函提交反馈意见，并附相关说明、实验数据和联系方式。来函需加盖公章，同时将公函扫描件电子版发送至指定邮箱。公示期满未回复意见即视为对公示标准无异议。

联系人：张雪
电话：010-67079632
电子邮件：zhangxue@chp.org.cn
收文单位：国家药典委员会办公室
地址：北京市东城区法华南里11号楼
邮编：100061

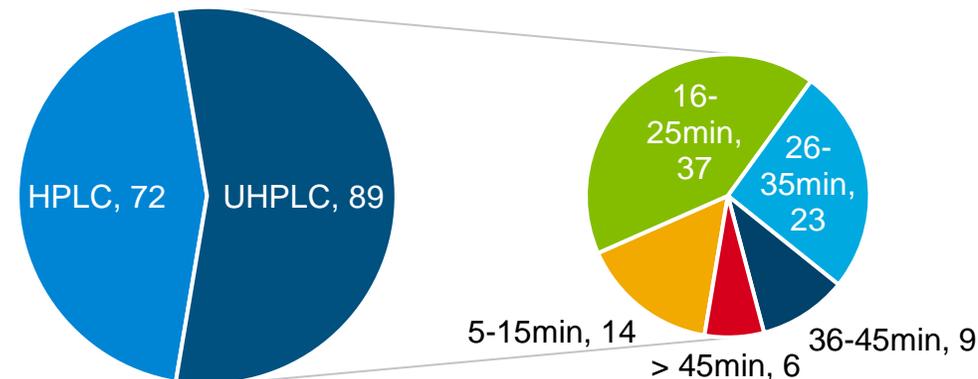
附件：160个中药配方颗粒品种试点统一标准

配方颗粒公示标准情况

——基本情况

- ↪ 涉及总的品种数量：160个；
- ↪ 标准特点：特征图谱；含量测定；
- ↪ 分析方法：液相色谱；
- ↪ 仪器需求：HPLC+UHPLC，二者需要同时配备；
- ↪ 柱温箱需求：可升降温柱温箱，（20-43℃）；
- ↪ 检测器需求：UV+ELSD；MSD（姜厚朴鉴别）
- ↪ 色谱柱需求：特征图谱：指定品牌、规格；
- ↪ 含量测定：有些指定规格，不限品牌；有些未指定；有些同【特征图谱】
- ↪ UHPLC色谱柱特征：柱内径均为2.1mm；所有方法流速最大不超过0.5mL/min，大多数在0.3mL/min左右

方法汇总



安捷伦液相色谱方案

重现现有标准

改进现有标准

助力更严谨标准

投资效益最大化

安捷伦液相色谱方案

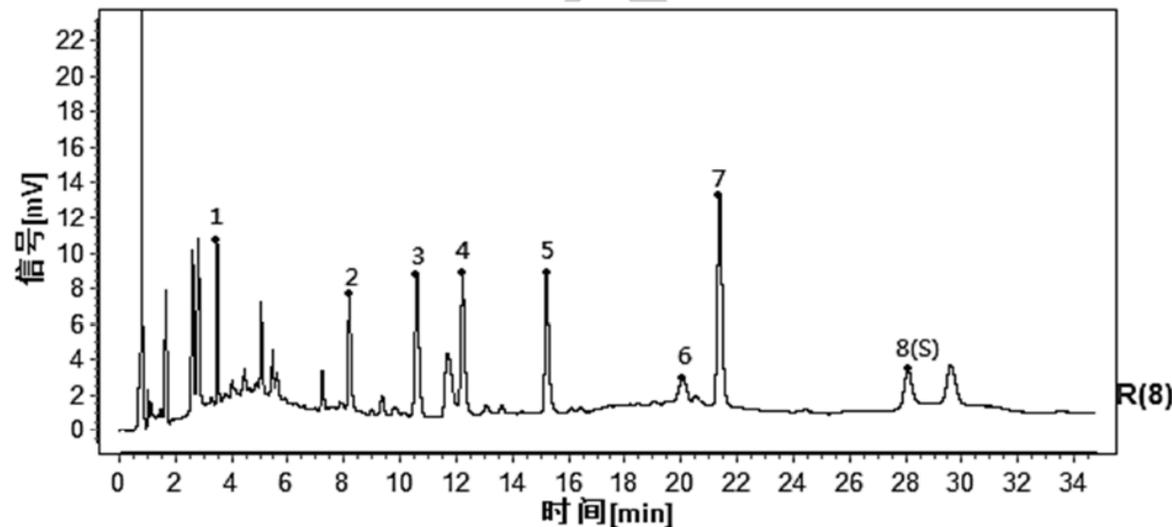
—— 重现现有标准

Agilent1290四元 + Agilent色谱柱：墨旱莲

【特征图谱】 照高效液相色谱法（中国药典 2015 年版 通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为 100mm，内径为 2.1mm，粒径为 1.8 μ m）；以乙腈为流动相 A，以三乙胺磷酸缓冲液（含 0.80%三乙胺，0.53%磷酸）为流动相 B，按下表中的规定进行梯度洗脱；流速为每分钟 0.3ml；柱温为 30 $^{\circ}$ C；检测波长为 330nm。理论板数按蟛蜞菊内酯峰计算应不低于 6000。

时间（分钟）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0~3	11 \rightarrow 16	89 \rightarrow 84
3~9	16	84
9~20	16 \rightarrow 20	84 \rightarrow 80
20~34	20	80
34~40	20 \rightarrow 80	80 \rightarrow 20
40~41	80 \rightarrow 11	20 \rightarrow 89
41~50	11	89



对照特征图谱

峰 1：咖啡酸 峰 2：木犀草苷 峰 3：异绿原酸 B

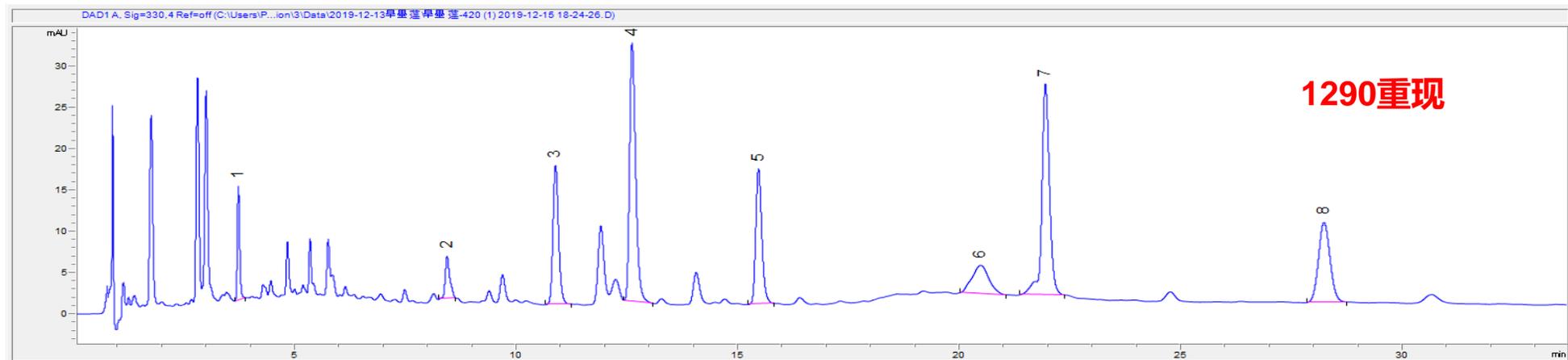
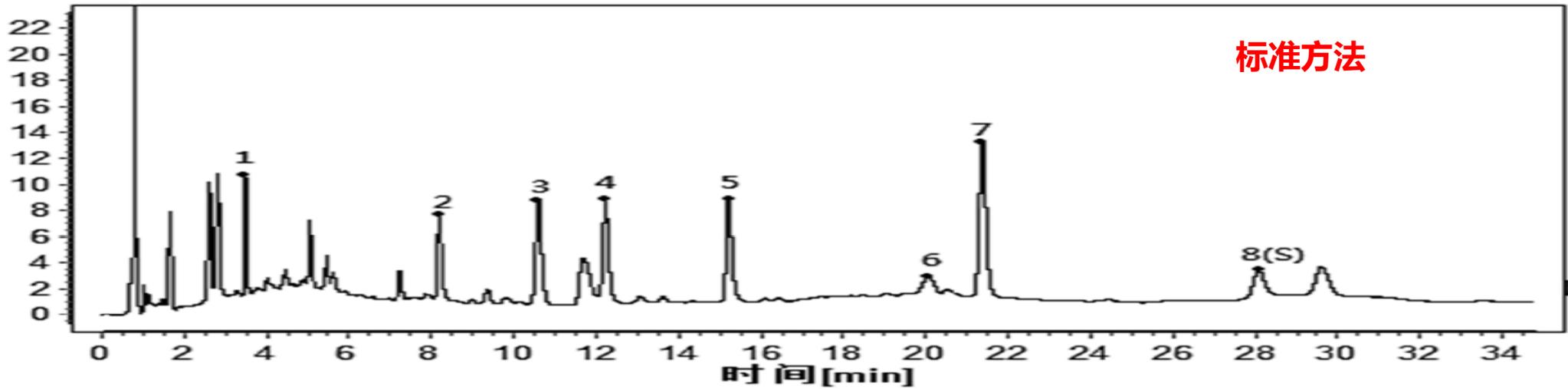
峰 5：4,5-二-O-咖啡酰奎宁酸 峰 8 (S)：蟛蜞菊内酯

色谱柱 SB C18, 2.1mm \times 100mm, 1.8 μ m

安捷伦液相色谱方案

——重现现有标准

➡ Agilent1290四元 + Agilent色谱柱：墨旱莲



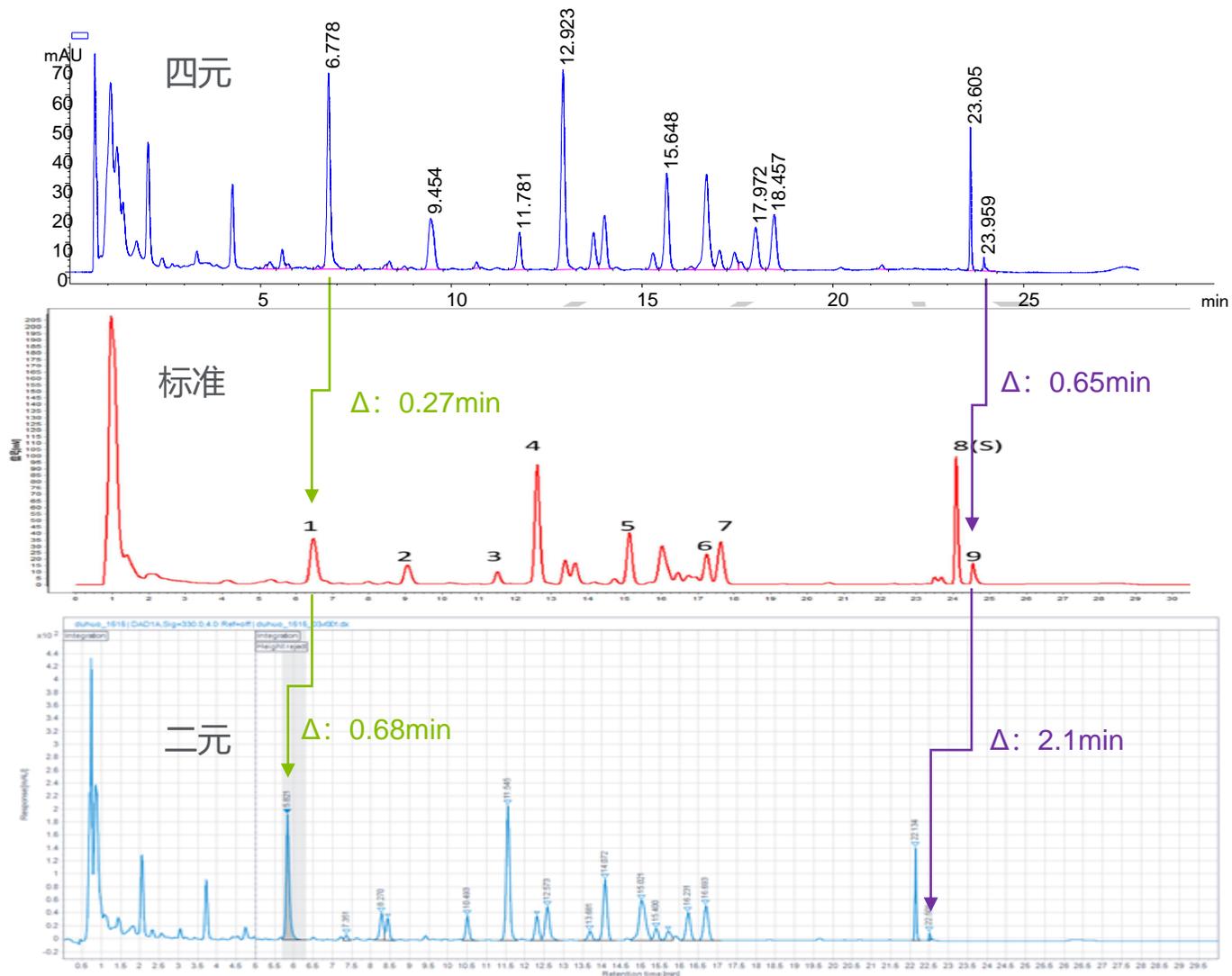
第一批使用安捷伦色谱柱的品种：41个

白鲜皮	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
白芷	SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
板蓝根	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
补骨脂	ZORBAX Eclipse Plus C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
燂桃仁	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
炒莱菔子	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
炒桃仁	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
炒王不留行	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250mm×4.6mm, 5μm
炒栀子	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
车前草 (车前)	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
大青叶	ZORBAX SB-Aq C18, 250mm×4.6mm, 5μm
独活	Extend C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
防己	ZORBAX Eclipse Plus C18, 250mm×4.6mm, 5μm
粉葛	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
麸炒枳壳	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
焦栀子	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
金银花	ZORBAX SB C18, 250mm×4.6mm, 5μm
酒丹参	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
莱菔子	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
龙胆 (龙胆)	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250mm×4.6mm, 5μm
蜜桑白皮	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm

蜜旋覆花 (旋覆花)	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
蜜紫菀	ZORBAX SB-Aq C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
墨旱莲	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
蒲公英 (碱地蒲公英)	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250mm×4.6mm, 5μm
前胡	ZORBAX SB C18, 250mm×4.6mm, 5μm
桑白皮	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
桑枝	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
升麻 (大三叶升麻)	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
烫骨碎补	ZORBAX SB C18, 250mm×4.6mm, 5μm
桃仁 (桃)	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
土茯苓	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
王不留行	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250mm×4.6mm, 5μm
旋覆花 (旋覆花)	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
盐补骨脂	ZORBAX Eclipse Plus C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
泽兰	ZORBAX SB C18, 150mm×2.1mm, 1.8μm
栀子	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
枳壳	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm
炙甘草 (胀果甘草)	ZORBAX SB C18, 150mm×4.6mm, 5μm
紫苏子	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250mm×4.6mm, 5μm
紫菀	ZORBAX SB-Aq C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm

配置：1290二元与1290四元

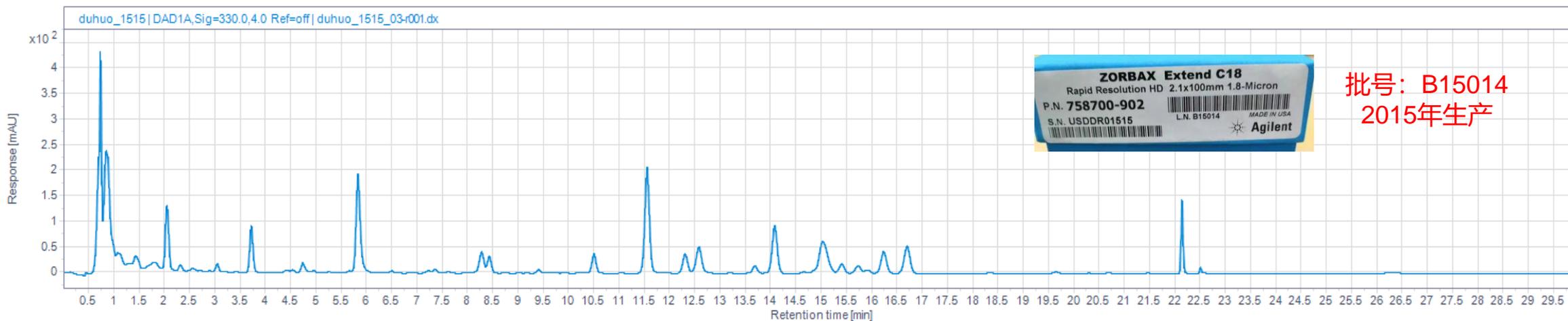
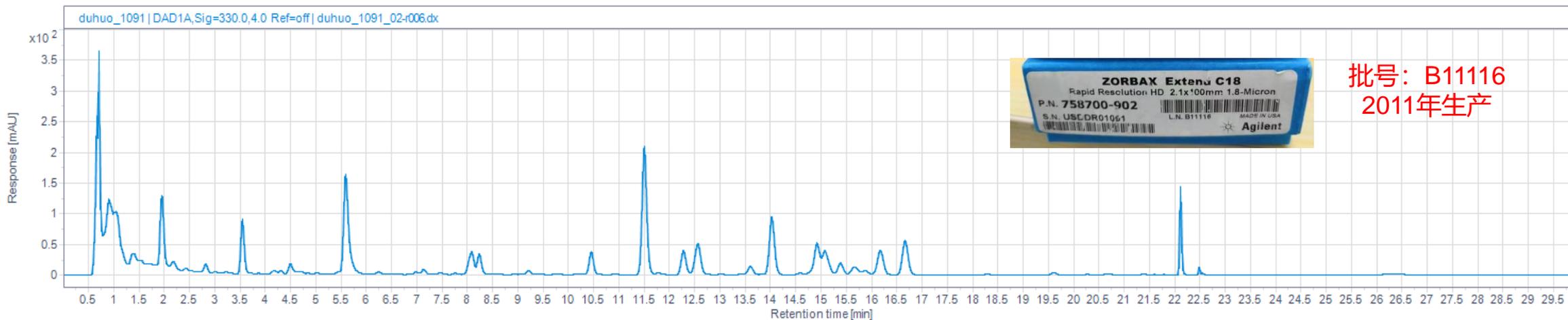
——独活配方颗粒



峰	相对保留时间	1290二元	1290四元-LD	1290四元
1	0.27	0.26	0.29	0.29
2	0.38	0.37	0.40	0.40
3	0.48	0.47	0.50	0.50
4	0.53	0.52	0.55	0.55
5	0.63	0.64	0.66	0.67
6	0.72	0.73	0.76	0.77
7	0.74	0.75	0.78	0.79
8	1	1.00	1.00	1.00
9	1.02	1.02	1.02	1.01

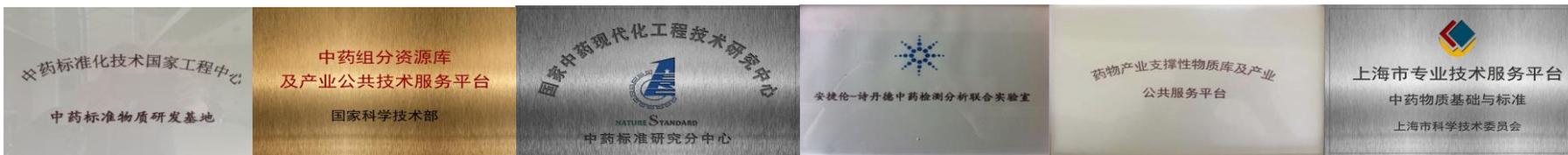
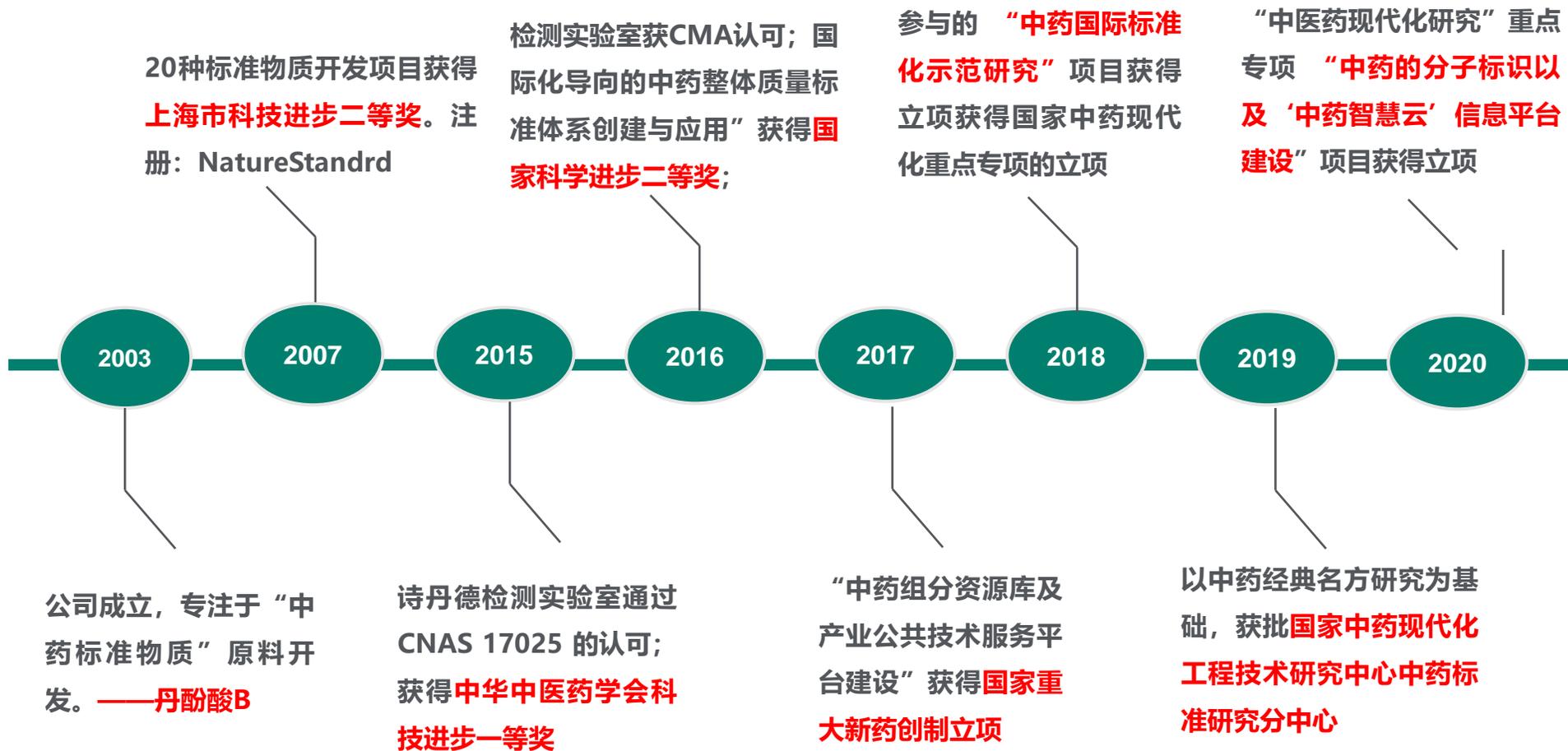
1290二元，不同批次色谱柱

——独活配方颗粒, Zorbax Extend RRHD C18, 2.1*100mm*1.8um



对照品：上海诗丹德

诗丹德发展历程



对照品：上海诗丹德



🏠 主页 > 技术服务 >

经典名方/配方颗粒研究

发布时间：2020-02-25 13:51

一、经典名方古文考证阶段

诗丹德秉持“继承不泥古，发展不离宗”的原则，由专门从事医史、药史专业的技术人员进行考证研究，通过古文考证明确处方组成、药材基原、产地、炮制品、处方剂量、工艺制法、功能主治、用法用量等信息。考证结果由相关专家论证后开展后续实验研究。

二、药材的采收、原料研究、炮制研究阶段

注重原料药材的样品采集，研究用样品的代表性对于经典名方物质基准（配方颗粒标准汤剂）标准限度的制定至关重要，我们坚持收集涵盖道地产区和主产区的药材，每个品种收集不少于3个产地，至少收集15批次以上药材样品，同时调研原料产地基本信息，实现药材溯源。确保供研究用药材符合国家标准，结合药材实际质量水平、资源可供应水平以及工艺控制水平制定关键控制指标高于现行版国家标准的企业内控标准，视具体品种情况开展原料外源性物质研究。目前现行版中国药典和各地方炮制规范工艺过程简单且存在不一致的现象，我们针对每个品种开展详细的炮制工艺研究，确定净制、切制及炮炙等环节关键工艺参数。依法制成的饮片用于后续经典名方物质基准（配方颗粒标准汤剂）研究。

安捷伦液相色谱方案

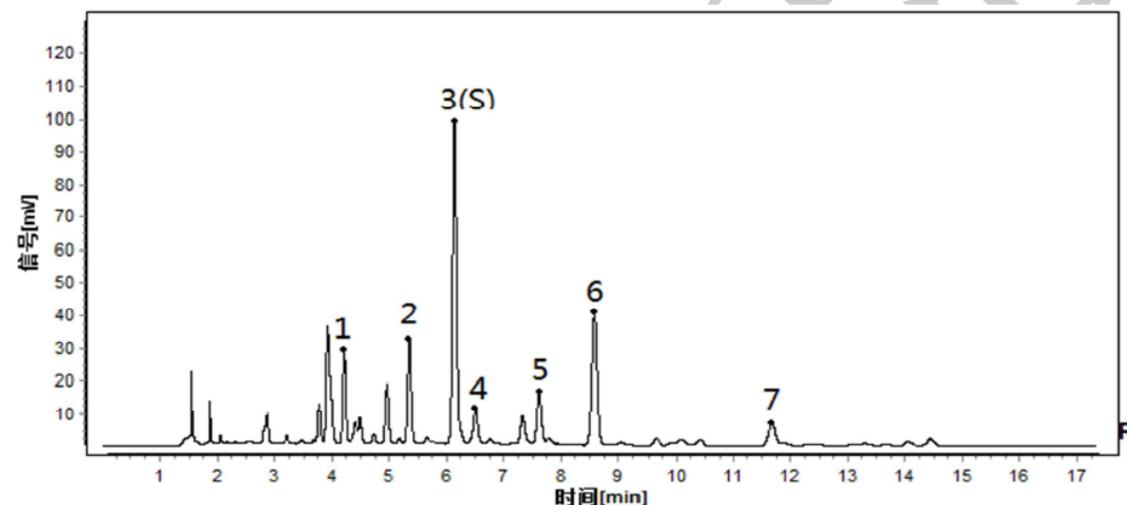
——重现现有标准

➡ Agilent1290四元 + Waters色谱柱：广金钱草

【特征图谱】照高效液相色谱法（中国药典 2015 年版 通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为 150mm，内径为 2.1mm，粒径为 1.6 μ m）；以乙腈为流动相 A，以 0.1%磷酸溶液为流动相 B，按下表中的规定进行梯度洗脱；流速为每分钟 0.2ml；柱温为 30 $^{\circ}$ C；检测波长为 340nm。理论板数按夏佛塔苷峰计算应不低于 10000。

时间（分钟）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0~10	15	85
10~11	15→16	85→84
11~15	16	84



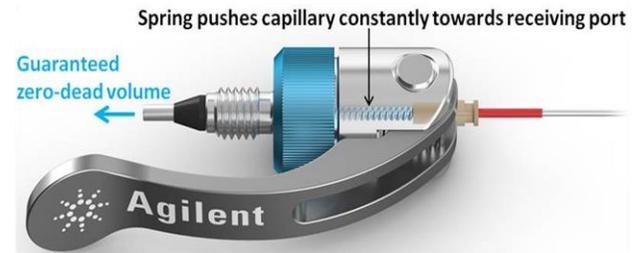
对照特征图谱

峰 3 (S)：夏佛塔苷 峰 4：异荭草苷 峰 6：异夏佛塔苷 峰 7：异牡荆苷

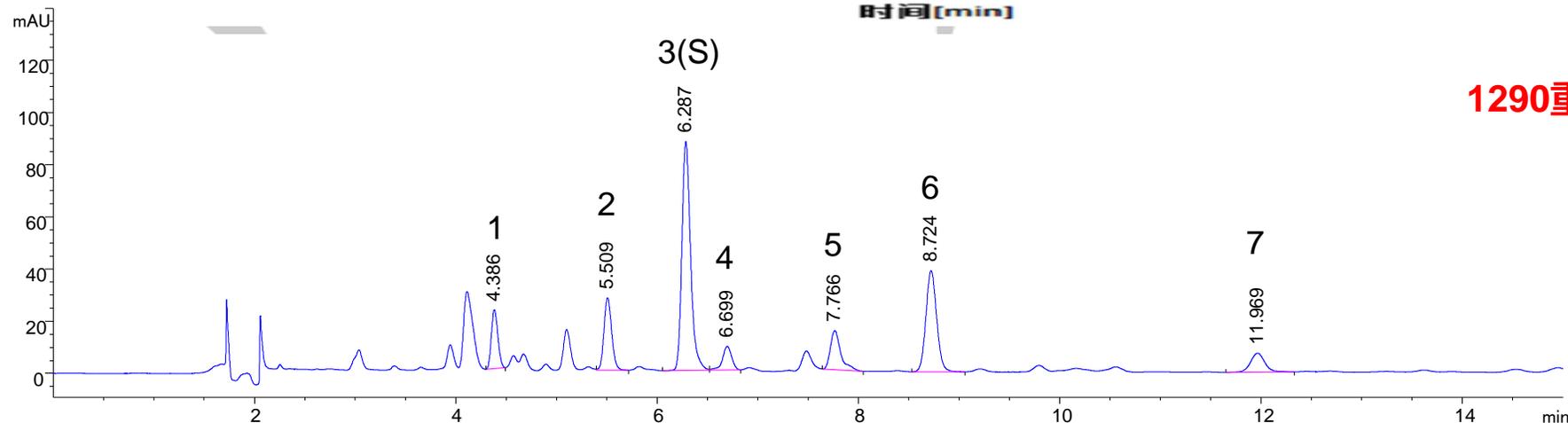
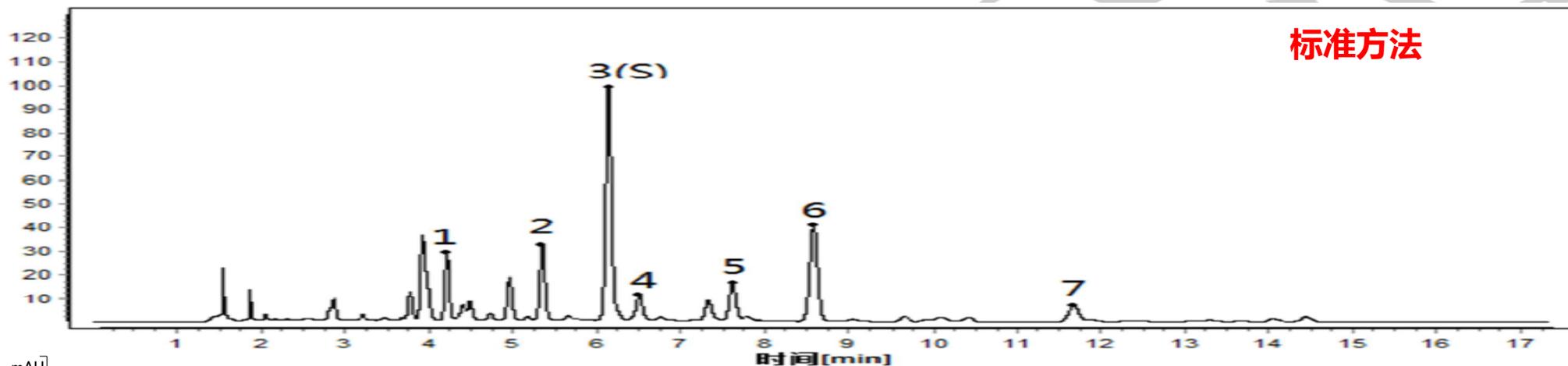
色谱柱 CORTECS T3 C18, 2.1mm \times 100mm, 1.6 μ m

安捷伦液相色谱方案

—— 重现现有标准



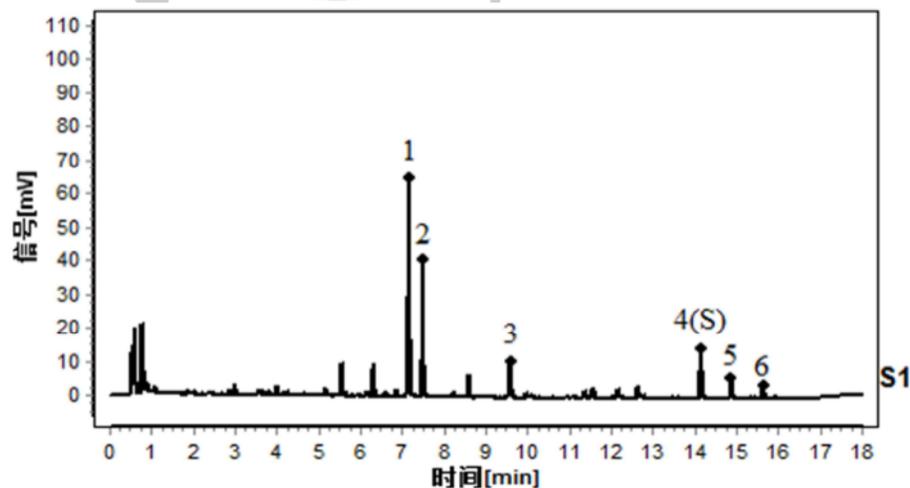
➔ Agilent1290四元 + Waters色谱柱: 广金钱草



安捷伦液相色谱方案

——智能化报告，快速得到分析结果：白芷

供试品色谱中应呈现 6 个特征峰，并应与对照药材参照物色谱中的 6 个特征峰保留时间相对应，其中 2 个峰应分别与相应对照品参照物峰的保留时间相对应。与欧前胡素参照物峰相对应的峰为 S 峰，计算峰 1、2、3、5 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；规定值为：0.49（峰 1）、0.52（峰 2）、0.67（峰 3）、1.05（峰 5）；计算峰 1、3、5 与 S 峰的相对峰面积，其相对峰面积应在规定的范围内，规定范围为：不低于 0.713（峰 1）、不低于 0.338（峰 3）、不低于 0.220（峰 5）。



对照特征图谱

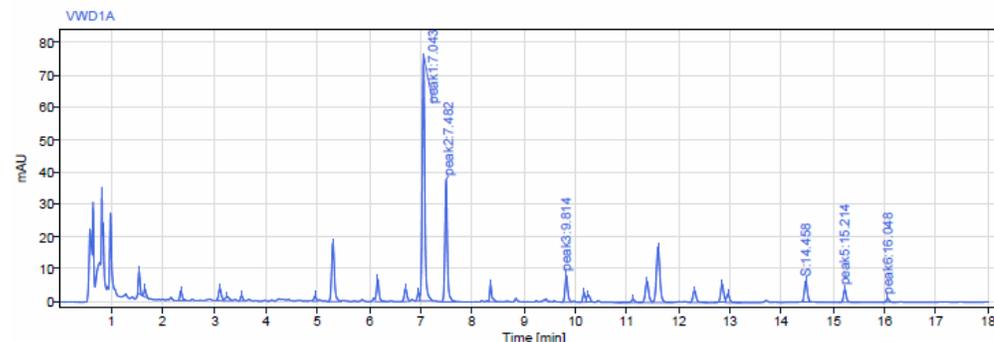
峰 1：水合氧化前胡素 峰 2：白当归素 峰 3：佛手苷内酯 峰 4 (S)：欧前胡素
峰 5：珊瑚菜素 峰 6：异欧前胡素



Single Injection Report



Data file: Baizhi-Tianjiang_VWD_F0.35 2020-03-20 16-39-01_010_001.D
 Path: /LC/Results/白芷/BaiZhi.rslt Result Version: 2020-0512-0743-46300
 Sample name: Baizhi-Tianjiang_VWD_F0.35 Operator: SYSTEM
 Instrument: Inj. volume: 2020-03-20 16:39:36+08:00
 Acq. method: baizhi_0p35ml-vwd.M Location: -29999
 Processing method: *BaiZhi.pmx Type: Sample
 Manually modified: None Sample amount:



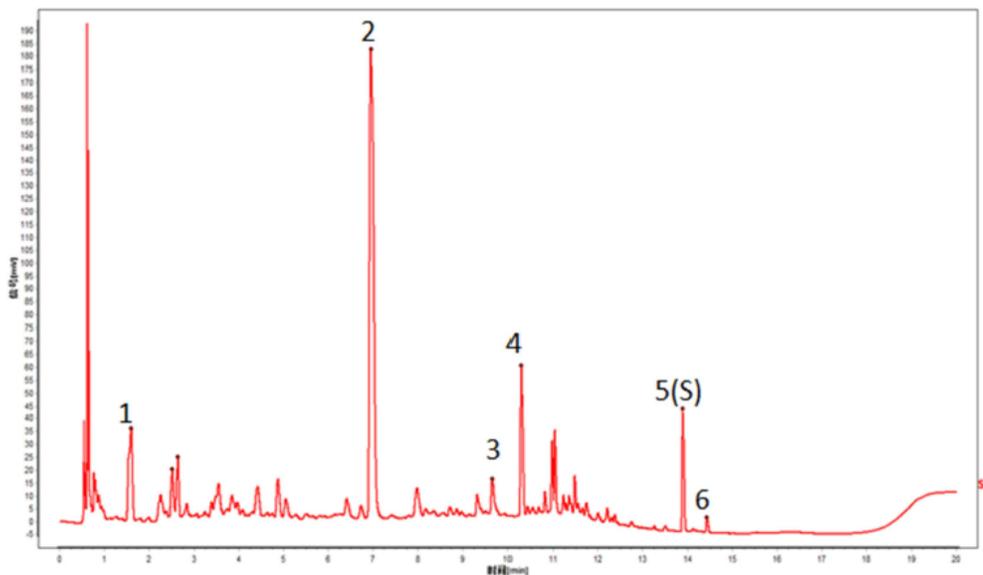
Signal: VWD1A

Name	RT [min]	RefName	Area	RRT	RRT Limit	RRT LimitRangeP	RRT LimitRange	RRT Result	RPA	RPA LimitRange	RPA Result
peak1	7.04	S	254.72	0.487	0.49	10.00	0.441~0.539	PASS	9.05	0.713~	PASS
peak2	7.48	S	125.17	0.517	0.52	10.00	0.468~0.572	PASS	4.45	~	
peak3	9.81	S	29.72	0.679	0.67	10.00	0.603~0.737	PASS	1.06	0.338~	PASS
S	14.46	S	28.14	1.000					1.00		
peak5	15.21	S	15.70	1.052	1.05	10.00	0.945~1.155	PASS	0.56	0.22~	PASS
peak6	16.05	S	4.46	1.110					0.16		

安捷伦液相色谱方案

——利用安捷伦色谱柱代替W色谱柱 (首乌藤: BEH Shield RP C18, 2.1*100mm*1.7um)

供试品色谱中应呈现 6 个特征峰, 并与对照药材参照物色谱中的 6 个特征峰保留时间相对应, 其中 2 个峰应分别与相应对照品参照物峰的保留时间相一致。与 大黄素 参照物峰相应的峰为 S 峰, 计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间, 其相对保留时间应在规定值的±10%之内。规定值为: 0.11 (峰 1)、0.51 (峰 2)、0.71 (峰 3)、0.75 (峰 4)、1.000 (峰 5 S)、1.04 (峰 6)。

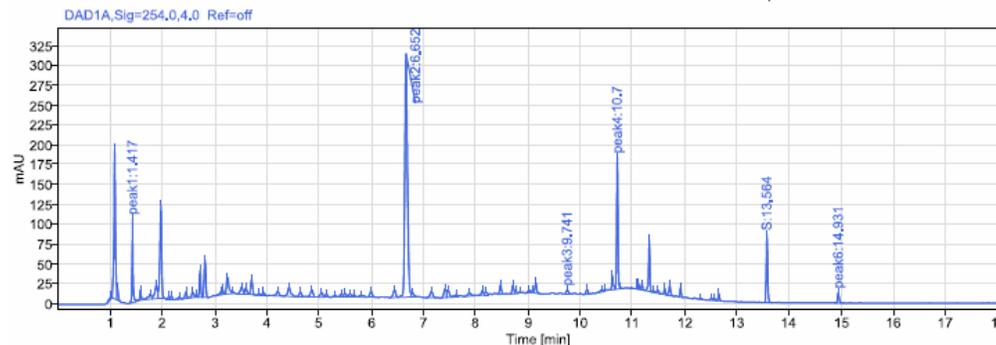


对照特征图谱

峰 2: 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷 峰 5 (S): 大黄素

Data file: ShouwutengP120-SB-C18-46ID-100mm-06-Shouwu.amx-r003.dx
 Path: C:\CDSP\Projects\JL20044\Results \1290 MSD-2020-06-20 17-59-33+08-00.rslit
 Result Version: 2020-0622-0542-42504
 Sample name: Shouwuteng
 Operator: SYSTEM
 Instrument: 1290 MSD
 Injection date: 2020-06-21 01:11:51+08:00
 Inj. volume: 6,0
 Location: D1F-A9
 Acq. method: P120-SB-C18-46ID-100mm-06-Shouwu.amx
 Type: Sample
 Processing method: LC-02-SHouwuteng-P120-SB-C18.pmx
 Sample amount: 0.00
 Manually modified: None

Poroshell 120 SB-C18, 2.1*100mm*2.7um



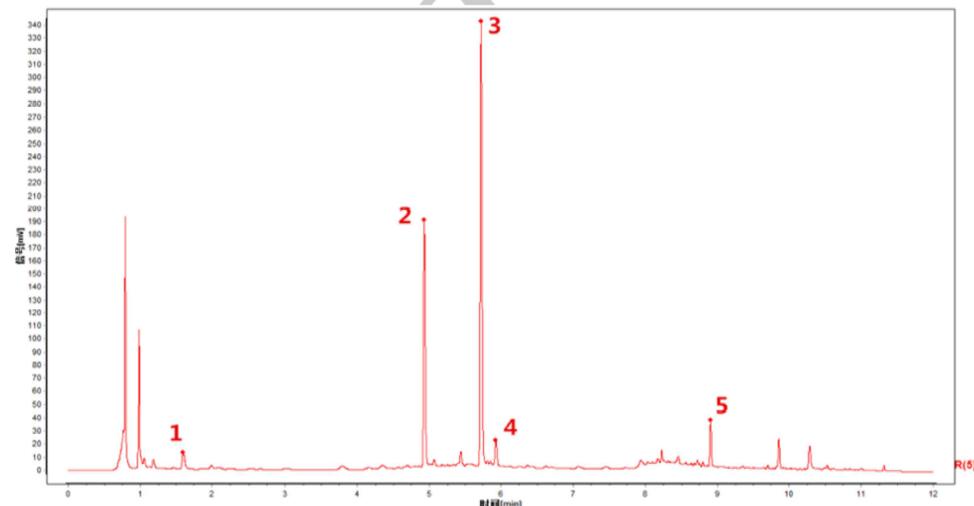
Signal: DAD1A,Sig=254.0,4.0 Ref=off

Name	RT [min]	RefName	Area	RRT	RRT Limit	RRT LimitRangeP	RRT LimitRange	RRT Result	RPA	RPA LimitRange	RPA Result
peak1	1.417	S	116.675	0.104	0.110	10.00	0.099~0.121	PASS	0.724	~	
peak2	6.652	S	1071.054	0.490	0.510	10.00	0.459~0.561	PASS	6.647	~	
peak3	9.741	S	15.380	0.718	0.710	10.00	0.639~0.781	PASS	0.095	~	
peak4	10.700	S	271.842	0.789	0.750	10.00	0.675~0.825	PASS	1.687	~	
S	13.564	S	161.138	1.000					1.000		
peak6	14.931	S	26.487	1.101	1.040	10.00	0.936~1.144	PASS	0.164	~	

安捷伦液相色谱方案

——利用安捷伦色谱柱代替W色谱柱 (知母: BEH C18, 2.1*100mm*1.7um)

供试品色谱中应呈现 5 个特征峰, 应与对照药材参照物色谱中的 5 个特征峰保留时间相对应, 与芒果苷参照物峰相对应的峰为 S 峰, 计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间, 其相对保留时间应在规定值的±10%范围之内。规定值为: 0.28 (峰 1)、0.87 (峰 2)、1.04 (峰 4)、1.51 (峰 5)。



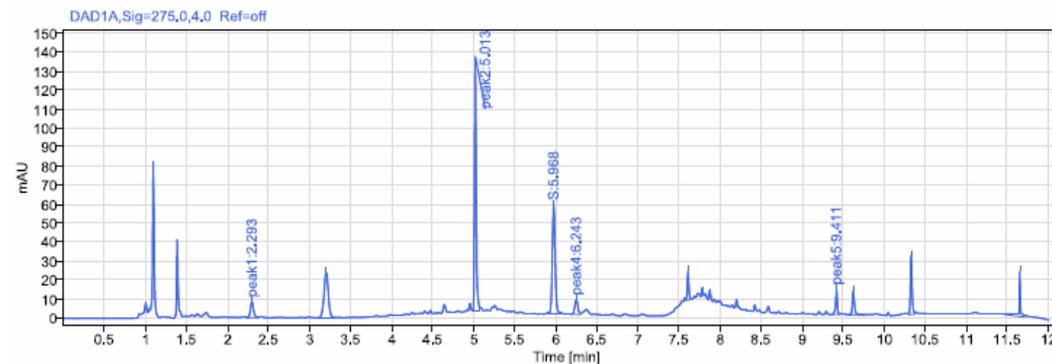
对照特征图谱

峰 2: 新芒果苷; 峰 3 (S): 芒果苷; 峰 4: 异芒果苷

色谱柱 BEH C18, 2.1mm×100mm, 1.7μm



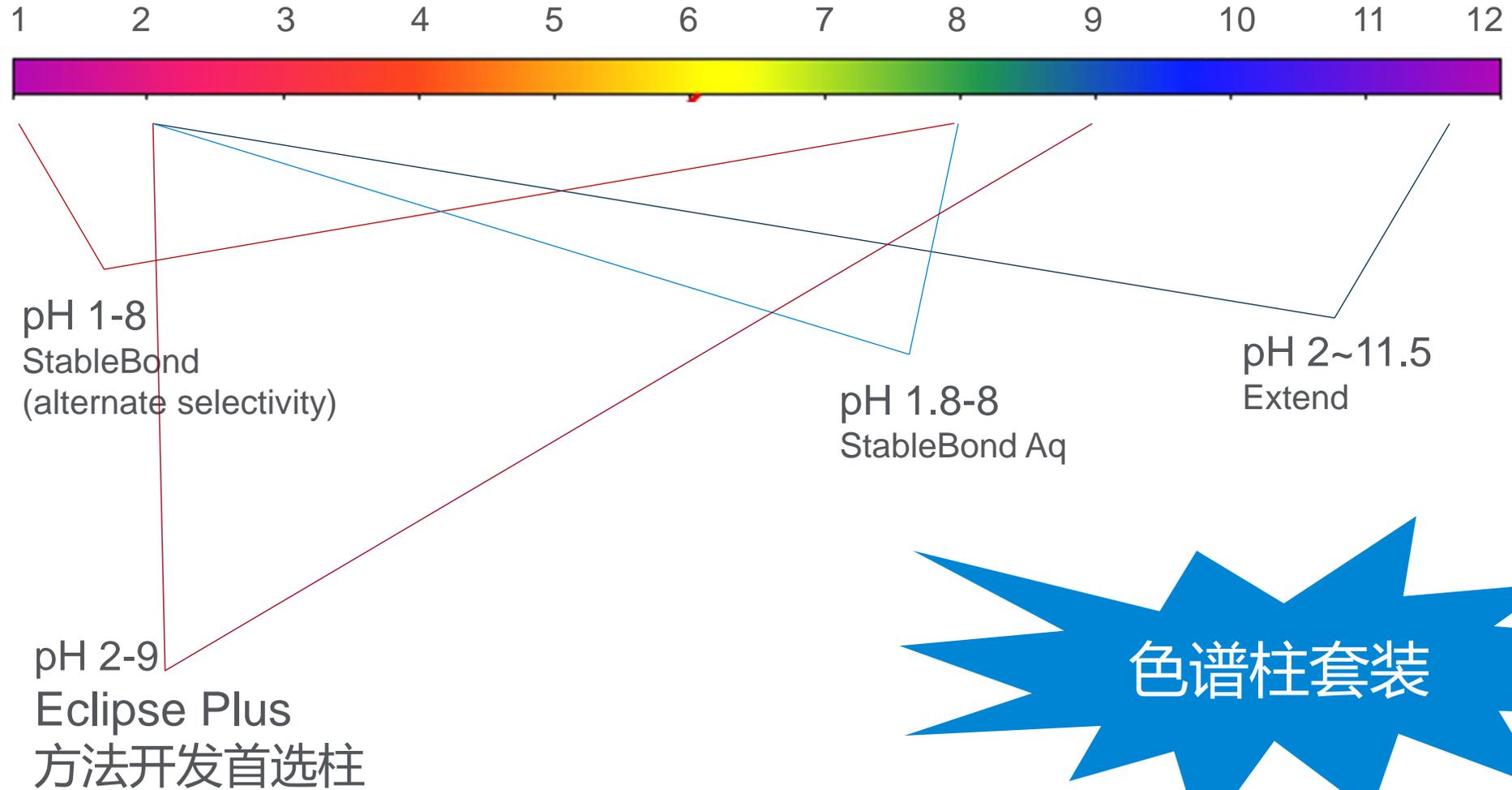
Data file: ZhimuP120-SB-C18-46ID-100mm-06.amx-r003.dx
 Path: C:\CDSProjects\JL20044\Results \1290 MSD-2020-06-20 17-59-33+08-00.rslt Result Version: 2020-0622-0500-46006
 Sample name: Zhimu Operator: SYSTEM
 Instrument: 1290 MSD Injection date: 2020-06-20 21:30:14+08:00
 Inj. volume: 6.0 Location: D1F-A8
 Acq. method: P120-SB-C18-46ID-100mm-06.amx Type: Sample
 Processing method: *LC-01-P120-SB-C18.pmx Sample amount: 0.00
 Manually modified: None



Signal: DAD1A,Sig=275,0,4,0 Ref=off

Name	RT [min]	RefName	Area	RRT	RRT Limit	RRT LimitRangeP	RRT LimitRange	RRT Result	RPA	RPA LimitRange	RPA Result
peak1	2,293	S	22,265	0,384	0,280	10,00	0,252~0,308	FAIL	0,156	~	
peak2	5,013	S	185,477	0,840	0,870	10,00	0,783~0,957	PASS	1,302	~	
S	5,968	S	142,406	1,000					1,000		
peak4	6,243	S	20,400	1,046	1,040	10,00	0,936~1,144	PASS	0,143	~	
peak5	9,411	S	18,356	1,577	1,510	10,00	1,359~1,661	PASS	0,129	~	

安捷伦液相色谱方案



色谱柱套装

安捷伦液相色谱方案

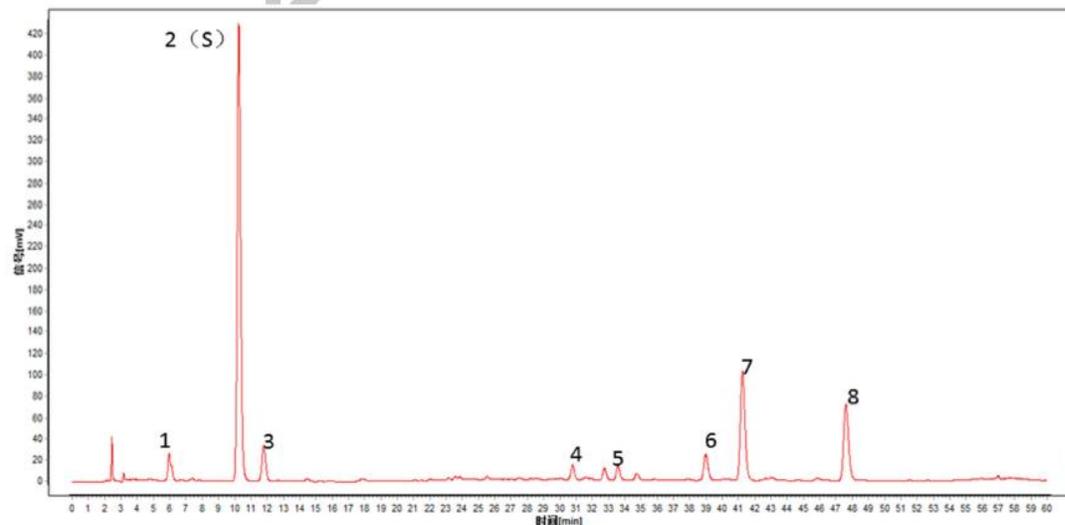
从HPLC到UHPLC

——改进现有标准(金银花):

【特征图谱】 照高效液相色谱法（中国药典 2015 年版通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为 250mm，内径为 4.6mm，粒径为 5 μ m）；以乙腈为流动相 A，0.4%磷酸溶液为流动相 B，按下表中的规定进行梯度洗脱；流速为每分钟 1.0ml；柱温为 35 $^{\circ}$ C；检测波长为 350nm。理论板数按木犀草苷峰计算应不低于 2000。

时间(分钟)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0~15	10	90
15~20	10 \rightarrow 15	90 \rightarrow 85
20~50	15 \rightarrow 20	85 \rightarrow 80
50~55	20 \rightarrow 30	80 \rightarrow 70
55~60	30 \rightarrow 10	70 \rightarrow 90



对照特征图谱

峰 2 (S): 绿原酸; 峰 4: 芦丁; 峰 5: 木犀草苷

色谱柱 ZORBAX SB-C18, 4.6mm \times 250mm, 5 μ m

供试品色谱中应呈现 8 个特征峰，并与对照药材参照物色谱中的 8 个特征峰相对应，其中 2、4、5 号峰的保留时间应分别与相应的对照品参照物峰的保留时间相同。与绿原酸参照物峰相应的峰为 S 峰，计算各特征峰与 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，规定值为：0.58（峰 1）、1.15（峰 3）、3.80（峰 6）、4.02（峰 7）、4.64（峰 8）。

安捷伦液相色谱方案

——改进现有标准(金银花)

⇨ 根据《中国药典》2020版四部，0512 液相色谱法通则

填充剂粒径 (dp), 柱长(L)	改变色谱柱填充剂粒径和柱长后, L/dp 值(或 N 值)应在原有数值的-25%~+50%范围内。	
流速	如果改变色谱柱内径及填充剂粒径, 可按下式计算流速, $F_2 = F_1 \times [(dc_2^2 \times dp_1) / (dc_1^2 \times dp_2)]$, 在此基础上根据实际使用时系统压力和保留时间调整。	
	等度洗脱流速最大可在 $\pm 50\%$ 的范围内调整。	除按上述公式调整外, 不扩大调整范围。
进样体积	调整以满足系统适用性要求, 如果色谱柱尺寸有改变, 按下式计算进样体积, $V_{inj2} = V_{inj1} \times (L_2 \times dc_2^2) / (L_1 \times dc_1^2)$, 并根据灵敏度的需求进行调整。	
梯度洗脱程序 (等度洗脱不适用)	$t_{G2} = t_{G1} \times (F_1 / F_2) \times [(L_2 \times dc_2^2) / (L_1 \times dc_1^2)]$, 保持不同规格色谱柱的洗脱体积倍数相同, 从而保证梯度变化相同, 并需要考虑不同仪器系统体积的差异。	

原方法色谱柱: 250mm×4.6mm, 5 um, $L1/dp1=50$

新方法色谱柱: 100mm×2.1mm, 1.8um, $L2/dp2=55$

原方法流速: 250mm×4.6mm, 5 um, 1mL/min

新方法流速: 100mm×2.1mm, 1.8um,

$$F_2 = 1 \times [(2.1^2 \times 50) / (4.6^2 \times 1.8)] = 0.58$$

原进样体积: 250mm×4.6mm, 5 um, 10uL

新进样体积: 100mm×2.1mm, 1.8um,

$$V_2 = 10 \times [(2.1^2 \times 100) / (4.6^2 \times 250)] = 0.83$$

原色谱柱流速: 250mm×4.6mm, 5 um, 1mL/min

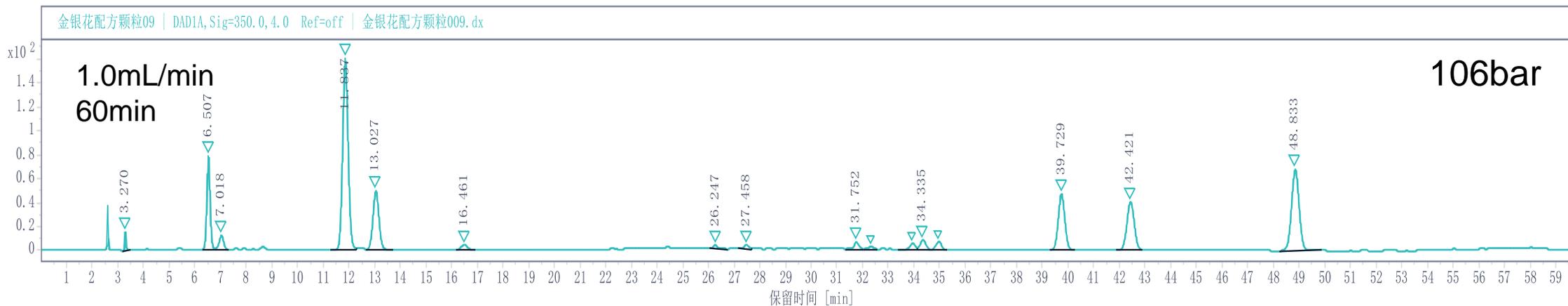
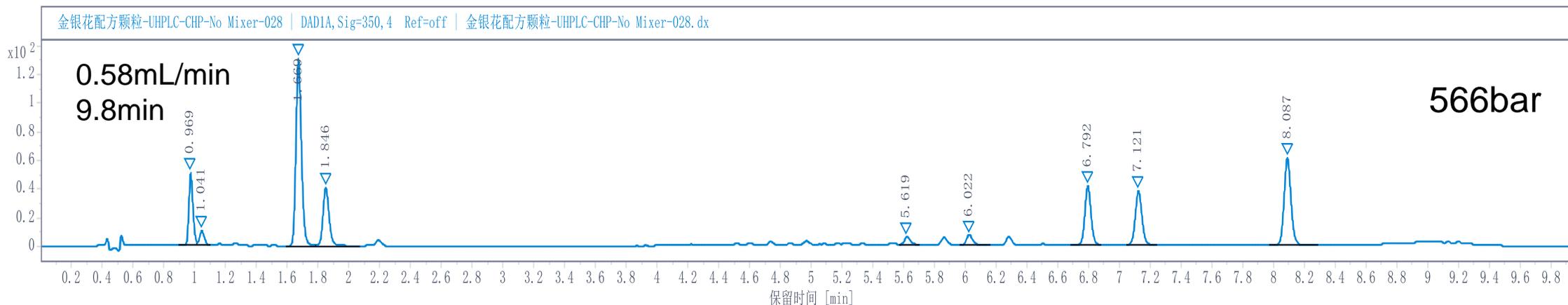
新色谱柱流速: 100mm×2.1mm, 1.8um, 0.58mL/min

新梯度变化率: $t_{G2} = t_{G1} \times 1 / 0.58 \times [(2.1^2 \times 100) / (4.6^2 \times 250)] = t_{G1} \times 0.14$

安捷伦液相色谱方案

——改进现有标准(金银花)

➔ HPLC vs UHPLC



安捷伦液相色谱方案

——改进现有标准(前胡):

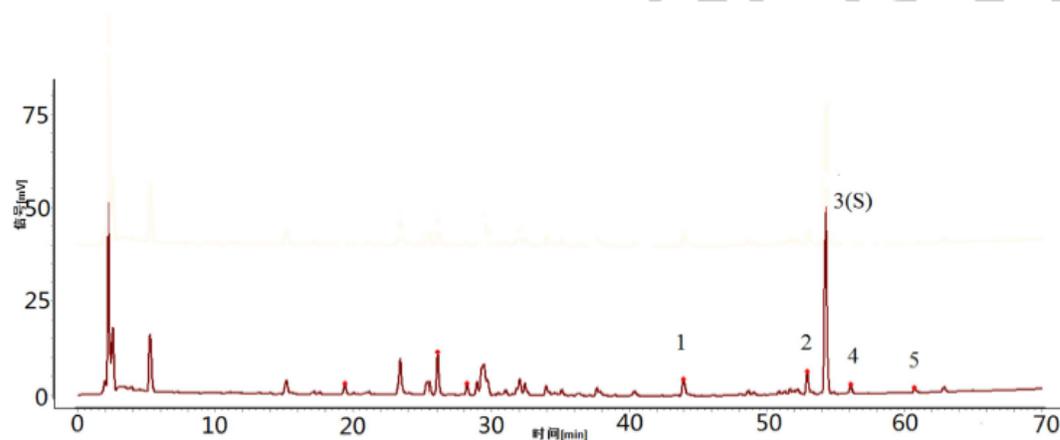
【特征图谱】 照高效液相色谱法（中国药典 2015 年版 通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为 250mm，内径为 4.6mm，粒径为 5 μ m）；以甲醇为流动相 A，以水为流动相 B，按下表中的规定进行梯度洗脱；柱温为 30 $^{\circ}$ C；检测波长为 321nm。理论板数按白花前胡甲素峰计算应不低于 3000。

时间(分钟)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0~20	15→45	85→55
20~65	45→95	55→5
65~70	95	5

测定法 分别精密吸取参照物溶液与供试品溶液各 10 μ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

供试品色谱中应呈现 5 个特征峰，并与对照药材参照物色谱中的 5 个特征峰保留时间相对应，与白花前胡甲素参照物相对应的峰为 S 峰。计算各特征峰与 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，规定值为：0.810（峰 1）、0.976（峰 2）、1.034（峰 4）、1.119（峰 5）。



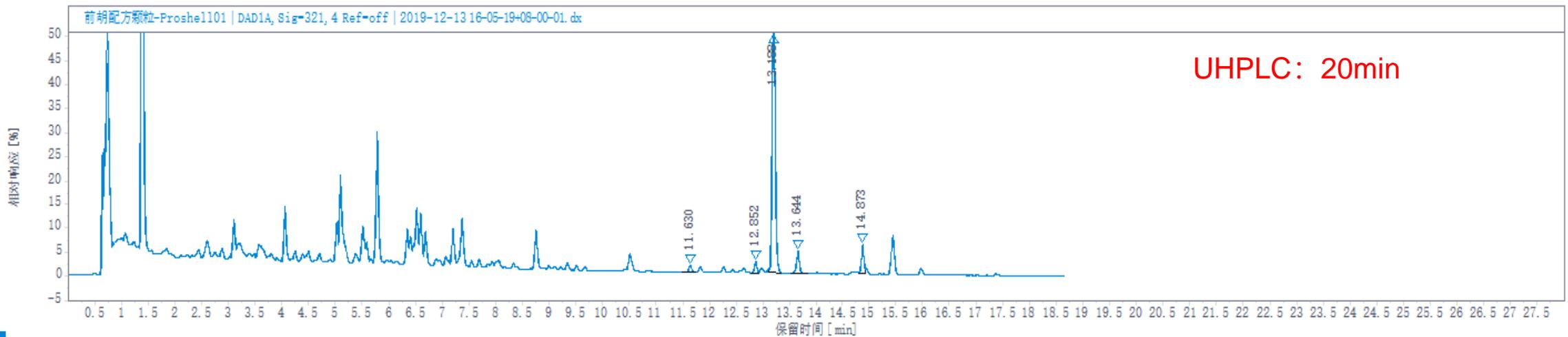
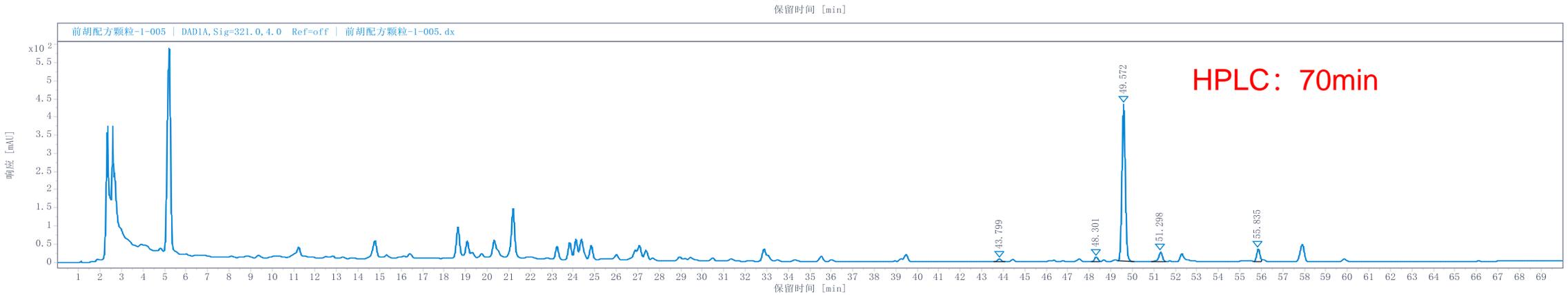
对照特征图谱

峰 3(S): 白花前胡甲素 峰 5: 白花前胡乙素
色谱柱 ZORBAX SB C18, 4.6mm \times 250mm, 5 μ m

安捷伦液相色谱方案

——改进现有标准(前胡)

➡ HPLC vs UHPLC



安捷伦液相色谱方案

——改进现有标准：2020ChP方法转换软件助力

Agilent | Trusted Answers

2020版《中国药典》UHPLC方法转换工具

Agilent 1290 Infinity II LC

初始方法

系统信息
Agilent 1100/1200 系列 LC

色谱柱信息
柱内径 (mm) 4.6 ▼ 1.0 - 9.4
柱长 (mm) 250 ▼ 50 - 300
填料颗粒 (μm) 5.0 ▼ 3.0 - 10.0
L/dp 50
N 21739

方法信息
流速 (ml/min) 1.0
进样量 (μl) 20
理论压力 (bar) 79
流动相: 水/乙腈 ▼
柱温 (°C) 40
最高溶剂粘度 (cP) 0.73

	时间 (min)	%B
梯	0.00	25.0
	5.00	25.0
	20.00	65.0
度	50.00	65.0
	55.00	25.0
	60.00	25.0

提示

使用说明

下拉选择 ▼
滚动输入 ⌵

转换方法

系统信息
Agilent 1290 Infinity II LC

色谱柱信息
柱内径 (mm) 2.1 ▼ 1.0 - 4.6
柱长 (mm) 100 ▼ 15 - 150
填料颗粒 (μm) 1.8 ▼ 1.0 - 4.0
L/dp 56
N: 全多孔 24154 16304-32608

方法信息
流速 (ml/min) 0.6
进样量 (μl) 1.7
理论压力 (bar) 678
检测器峰宽 (0.5 sec)

	时间 (min)	%B
梯	0.00	25.0
	0.72	25.0
	2.88	65.0
度	7.20	65.0
	7.92	25.0
	8.64	25.0

速度提升倍数
6.9

节约溶剂量
92%

自动给出
L/dp值及柱效

输入现有HPLC方法

自动提醒
是否满足要求

选择色谱柱规格

自动给出:
1) 方法参数
2) 预估压力
3) 速度提升
4) 溶剂节省量

耕耘多年、硕果累累

——UHPLC方法转换大师班，手把手教学

近200场，超2000人参加

1200 Infinity Series

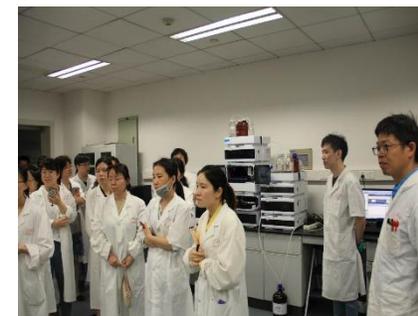
UHPLC原理及应用

Agilent 1200 Infinity LC Master Class

LC应用支持团队
Agilent Technologies

Agilent Technologies

masterclass



中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求

←

为规范中药配方颗粒的标准研究，体现中药配方颗粒质量控制的特点，制定本技术要求。←

中药配方颗粒的国家药品标准与省级药品监督管理部门制定的标准均应当符合本技术要求的规定，国家药监局另有规定的，从其规定。←

一、基本要求

中药配方颗粒是由单味中药饮片经水加热提取、分离、浓缩、干燥、制粒而成的颗粒，在中医药理论指导下，按照中医临床处方调配后，供患者冲服使用。←

(一) 具备汤剂的基本属性

中药配方颗粒的制备，除成型工艺外，其余应与传统汤剂基本一致，即以水为溶媒加热提取，采用以物理方法进行固液分离、浓缩、干燥、颗粒成型等工艺生产。←



由于中药配方颗粒的品种多、批次多、检验数据量大，在选择测定方法时，可考虑采用超高效液相色谱方法。高效液相色谱方法与超高效液相色谱方法转换应进行必要的方法学验证。包括分离度、峰纯度和重现性。如果转换前后待测成份色谱峰顺序及个数不一致、检测结果明显不一致，或涉及不合格情况，应放弃方法转换。选择超高效液相色谱方法时，标准正文项下可规定色

安捷伦液相色谱方案

——改进现有标准(墨旱莲)

⇒ UHPLC方法再加速

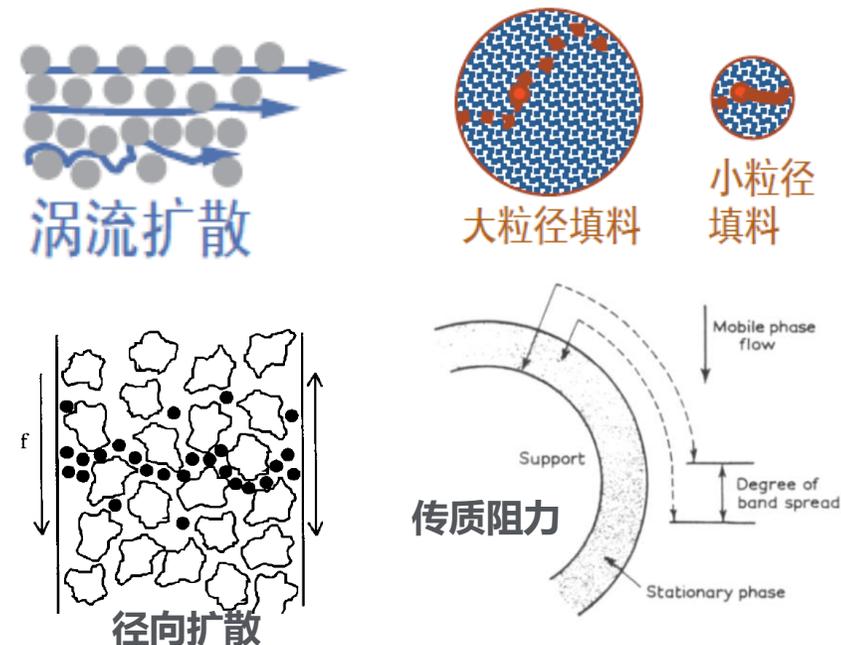
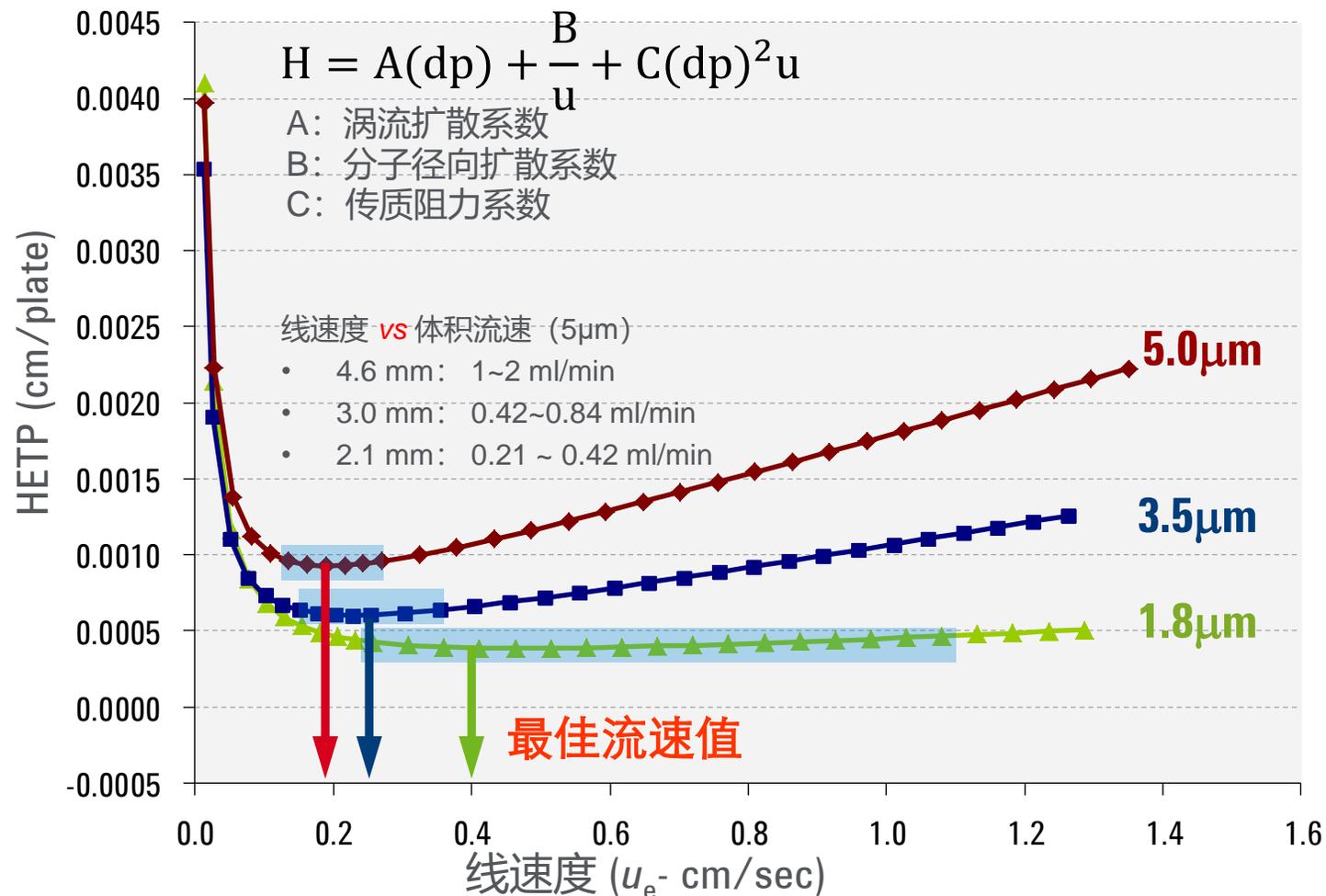
以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为100mm，内径为2.1mm，粒径为1.8 μ m）；以乙腈为流动相A，以三乙胺磷酸缓冲液（含0.80%三乙胺，0.53%磷酸）为流动相B，按下表中的规定进行梯度洗脱；流速为每分钟0.3ml；柱温为30 $^{\circ}$ C；检测波长为330nm。理论板数按蟛蜞菊内酯峰计算应不低于6000。（色谱柱为SB-C18RRHD 100mm*2.1mm, 1.8 μ m）

时间 (分钟)	流动相A (%)	流动相B (%)
0 ~ 3	11→16	89→84
3 ~ 9	16	84
9 ~ 20	16→20	84→80
20 ~ 34	20	80
34 ~ 40	20→80	80→20
40 ~ 41	80→11	20→89
41 ~ 50	11	89

安捷伦液相色谱方案

——改进现有标准(墨旱莲)

UHPLC方法再加速



- ❑ 颗粒度越小，塔板高度（HETP）越低、柱效越高并且分离度越好
- ❑ 小颗粒需要更高的线速度获得所需的高柱效
- ❑ 提高流速时柱效不会明显降低；提高分离速度同时改善分离度

安捷伦液相色谱方案

——改进现有标准(墨旱莲)

⇒ UHPLC方法再加速

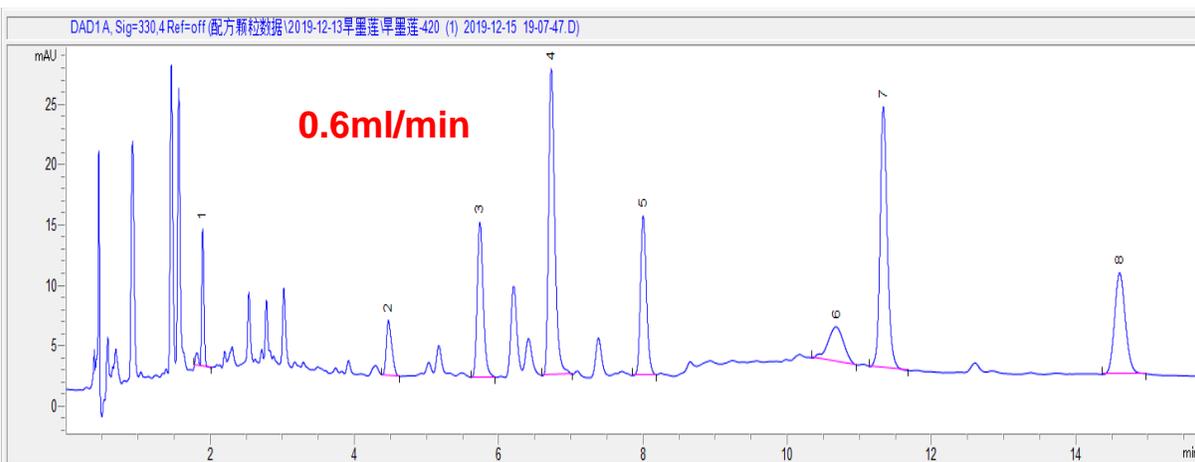
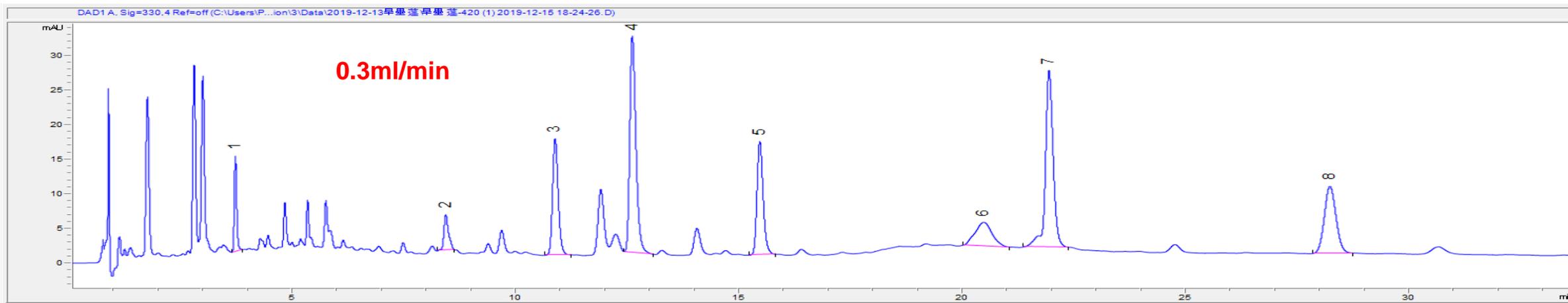
以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为100mm，内径为2.1mm，粒径为1.8 μ m）；以乙腈为流动相A，以三乙胺磷酸缓冲液（含0.80%三乙胺，0.53%磷酸）为流动相B，按下表中的规定进行梯度洗脱；流速为每分钟0.6ml；柱温为30 $^{\circ}$ C；检测波长为330nm。理论板数按蟛蜞菊内酯峰计算应不低于6000。（色谱柱为SB-C18RRHD 100mm*2.1mm, 1.8 μ m）

时间 (分钟)	流动相A (%)	流动相B (%)
1.5	11→16	89→84
1.5 ~ 4.5	16	84
4.5 ~ 10	16→20	84→80
10 ~ 17	20	80
17 ~ 20	20→80	80→20
20 ~ 20.5	80→11	20→89
20.5 ~ 25	11	89

安捷伦液相色谱方案

——改进现有标准(墨旱莲)

⇒ UHPLC方法再加速



分析时间：50min缩短为25min

安捷伦液相色谱方案

——改进现有标准(墨旱莲)

⇒ UHPLC方法再加速

各峰保留时间质控数据 (合格)

Column1	峰1-保留时间	峰2-保留时间	峰3-保留时间	峰4-保留时间	峰5-保留时间	峰6-保留时间	峰7-保留时间	峰8(S)-保留时间
第一针	1.848	4.414	5.666	6.657	7.956	10.654	11.312	14.591
第二针	1.853	4.427	5.682	6.669	7.966	10.652	11.317	14.595
第三针	1.893	4.469	5.739	6.728	8.004	10.679	11.335	14.613
平均值	1.865	4.437	5.696	6.685	7.975	10.662	11.321	14.600
RRT	0.128	0.304	0.390	0.458	0.546	0.730	0.775	1.000
标准RRT	0.13	0.28	0.37	0.43	N.A.	0.73	0.79	1.000
偏差% (要求10%内)	1.75	8.53	5.44	6.48	N.A.	0.04	1.84	0.00

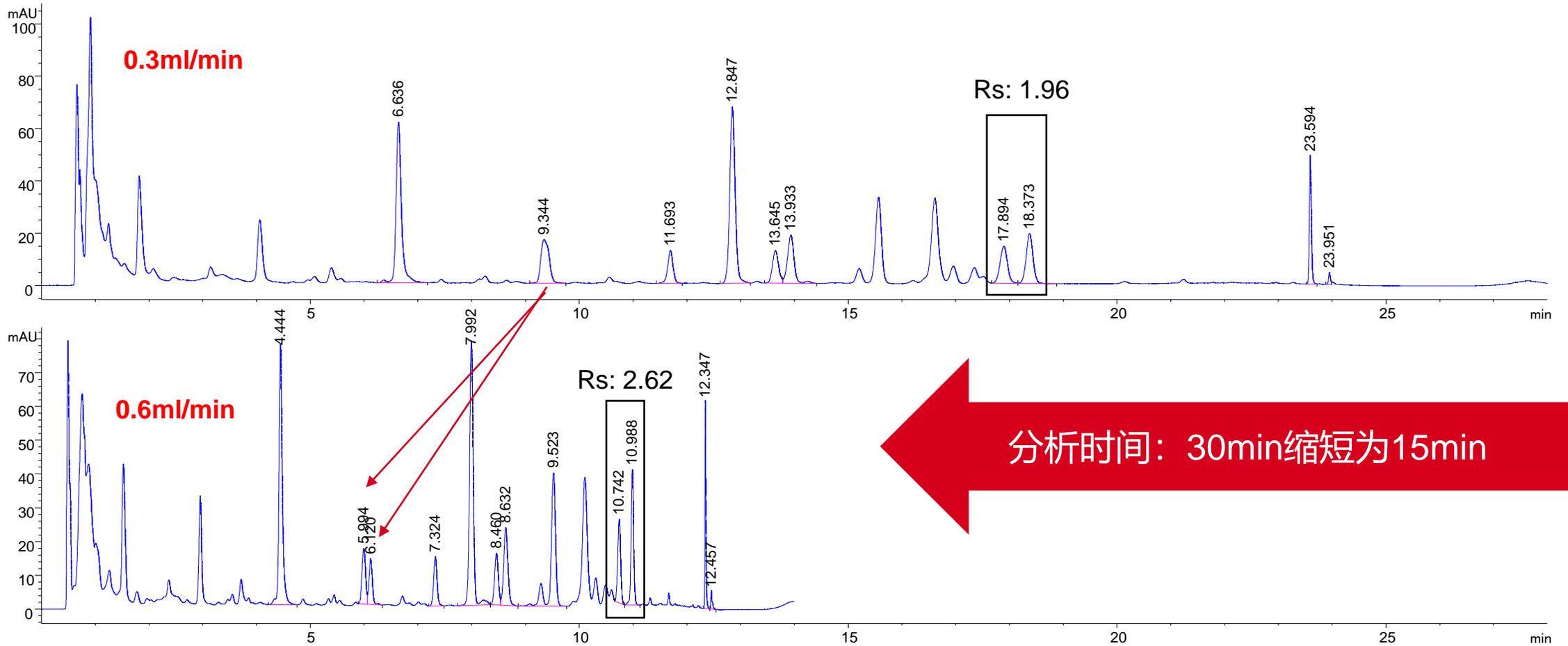
各峰峰面积质控数据 (合格)

Column1	峰1-峰面积	峰2-峰面积	峰3-峰面积	峰4-峰面积	峰5-峰面积	峰6-峰面积	峰7-峰面积	峰8(S)-峰面积
第一针	27.3	23.9	73.8	152.3	75.7	44.7	150.8	87.6
第二针	23.7	23.8	73.1	152	74.6	44.5	150.2	86.7
第三针	23.1	23.5	72.3	150.5	74.8	35.9	148.5	86.8
平均值	24.7	23.7	73.1	151.6	75.0	41.7	149.8	87.0
R-Area		0.273						
标准R-Area (不低于)		0.26						

安捷伦液相色谱方案

——改进现有标准(独活)

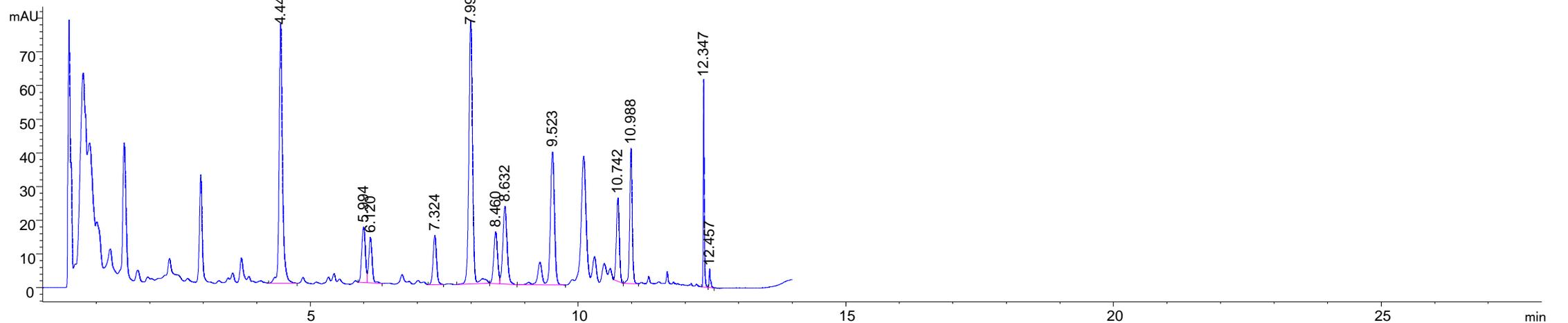
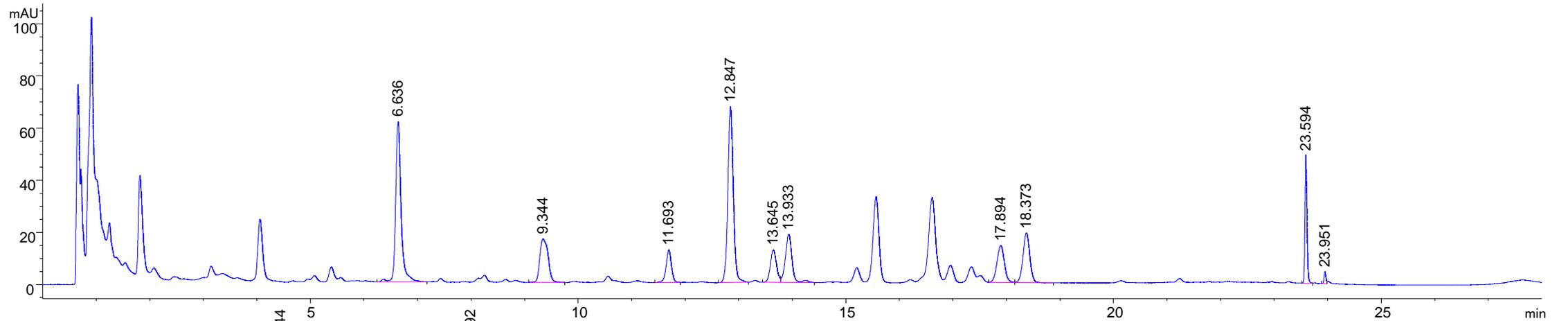
⇒ UHPLC方法再加速



安捷伦液相色谱方案

——改进现有标准(独活)

⇒ UHPLC方法再加速



安捷伦液相色谱方案

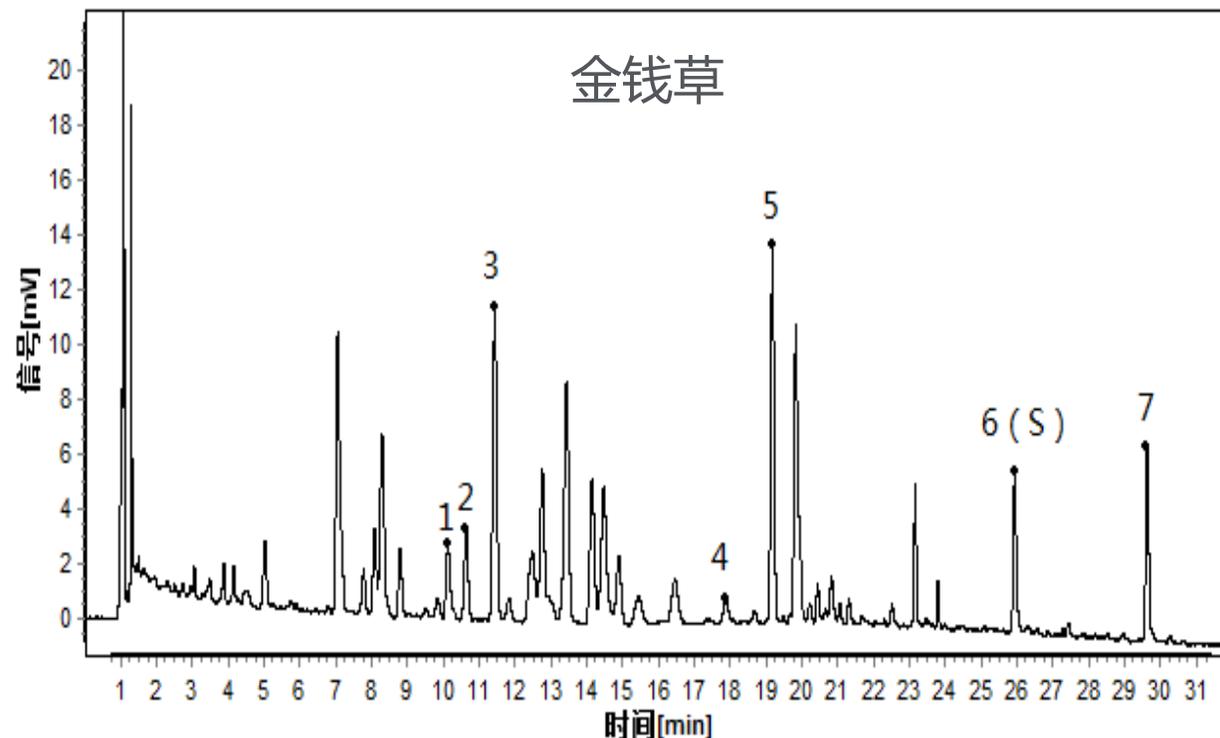
——助力更严谨标准

⇨ DAD光谱功能

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为100mm，内径为2.1mm，粒径为1.6 μ m），以乙腈为流动相A，以0.2%磷酸溶液为流动相B，按下表中的规定进行梯度洗脱；流速为每分钟0.20ml；柱温为30 $^{\circ}$ C；检测波长为364nm。理论板数按槲皮素峰计算应不低于10000。

时间 (分钟)	流动相A (%)	流动相B (%)
0 ~ 15	12 \rightarrow 15	88 \rightarrow 85
15 ~ 30	15 \rightarrow 35	85 \rightarrow 65
30.1~35	12	88

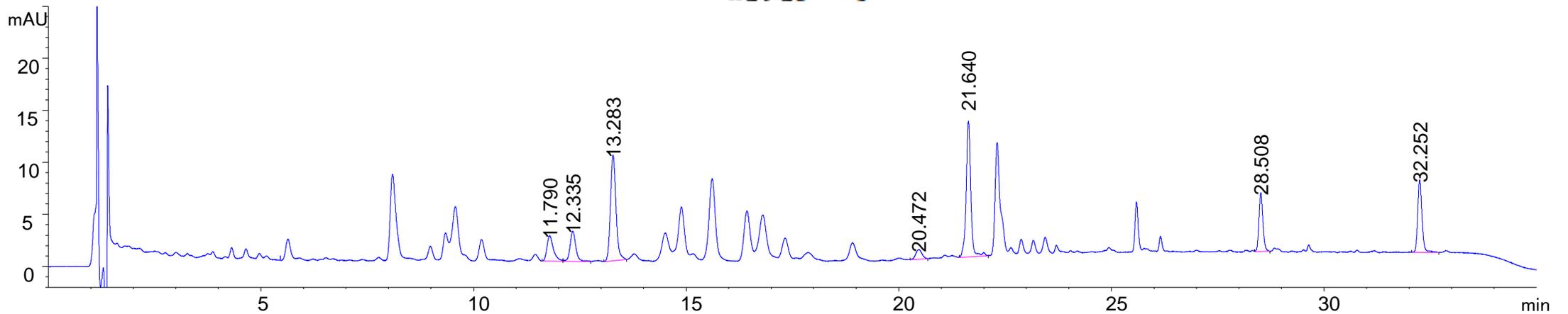
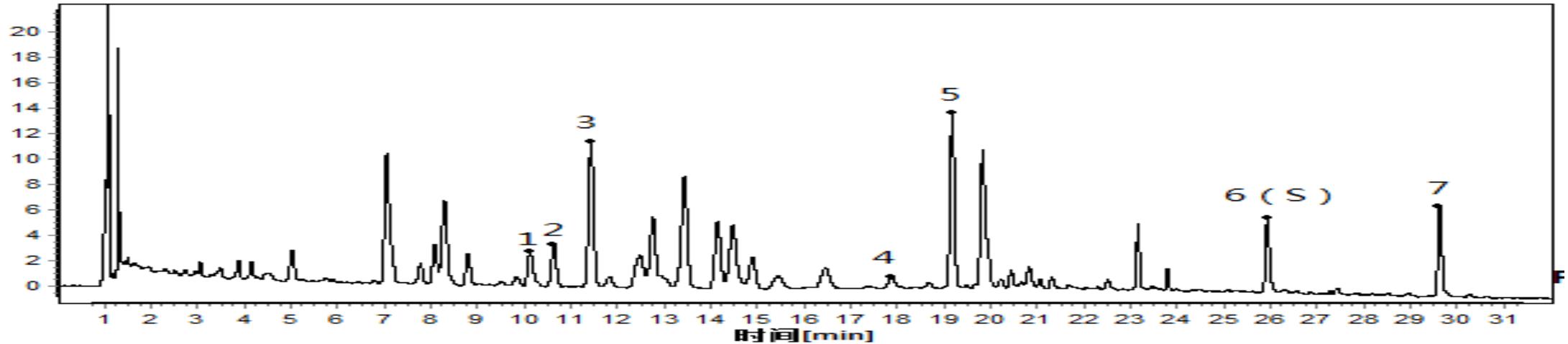
峰号	相对保留时间范围	相对峰面积范围
1	0.41 \pm 10%	0.116~1.524
2	0.43 \pm 10%	0.480~6.430
3(山柰酚-3-(2,6-二吡喃鼠李糖基吡喃葡萄糖苷))	0.46 \pm 10%	0.962~8.558
4	0.71 \pm 10%	0.112~3.129
5 (山柰酚-3-O-芸香糖苷)	0.75 \pm 10%	1.148~8.099
6 (槲皮素)	与相应参照物峰保留时间相同	1.000
7 (山柰素)	与相应参照物峰保留时间相同	0.642~1.915



安捷伦液相色谱方案

—助力更严谨标准

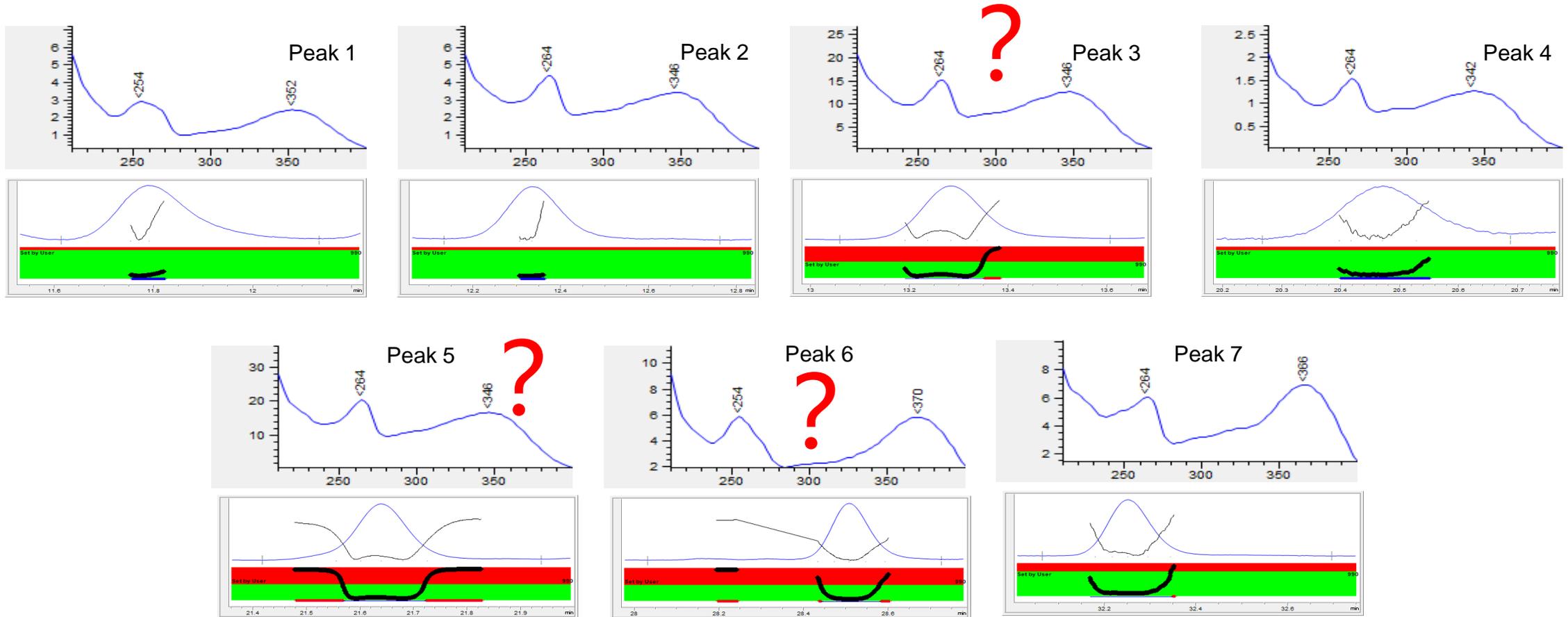
⇒ DAD光谱功能



安捷伦液相色谱方案

——助力更严谨标准

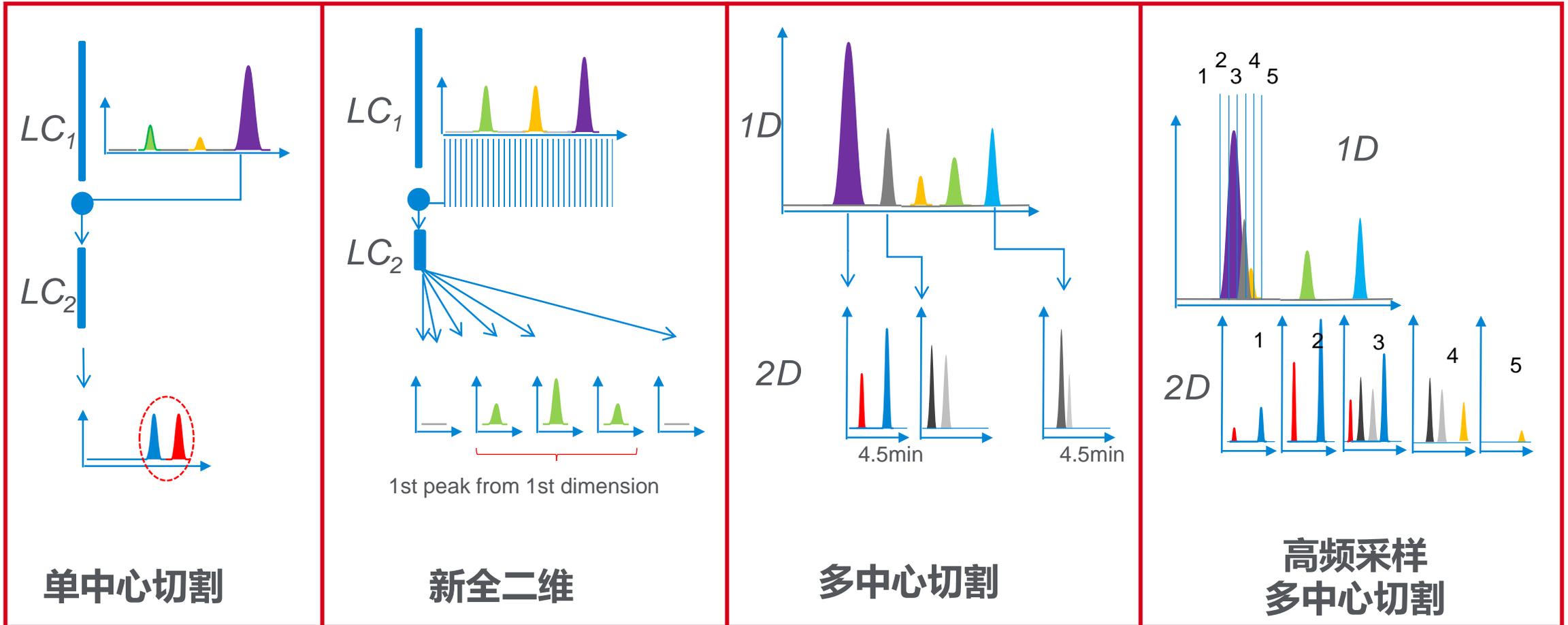
⇒ DAD光谱功能



安捷伦液相色谱方案

——助力更严谨标准

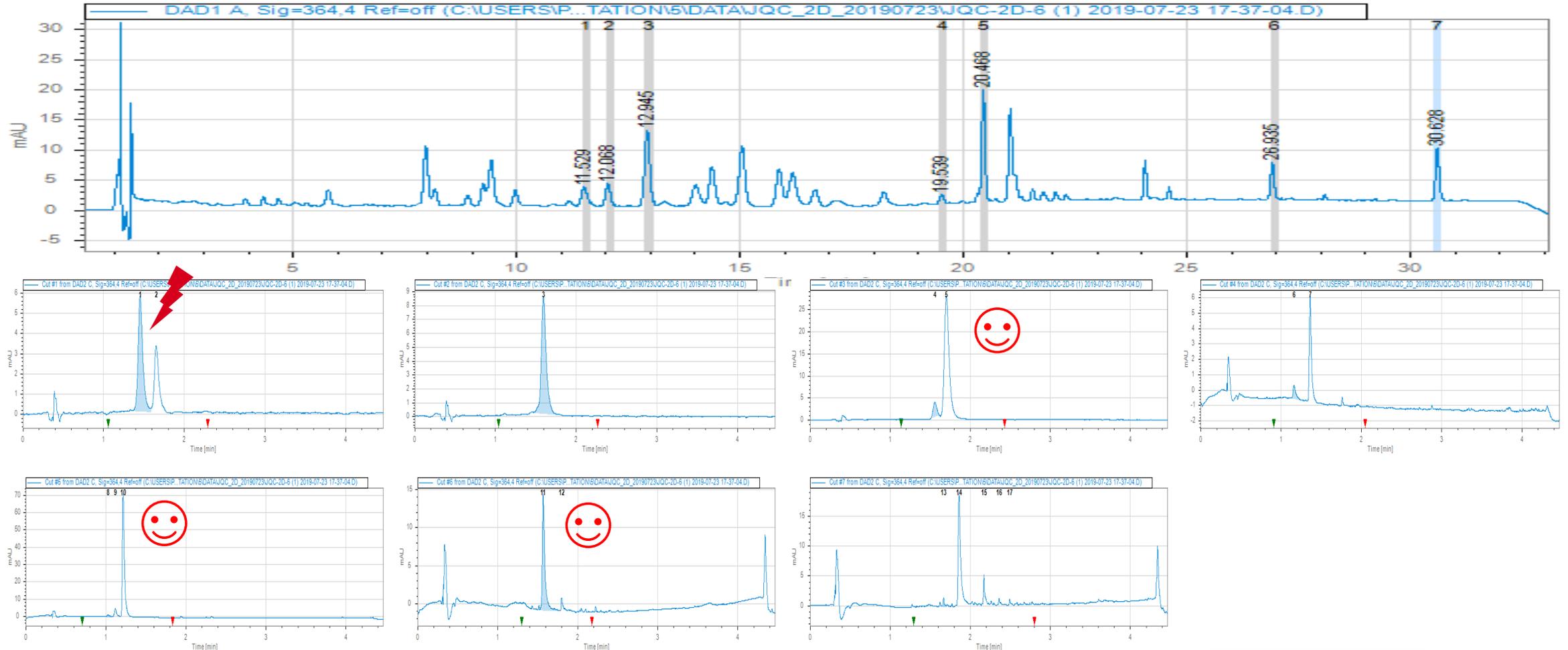
⇒ 2DLC让峰更清晰



安捷伦液相色谱方案

——助力更严谨标准

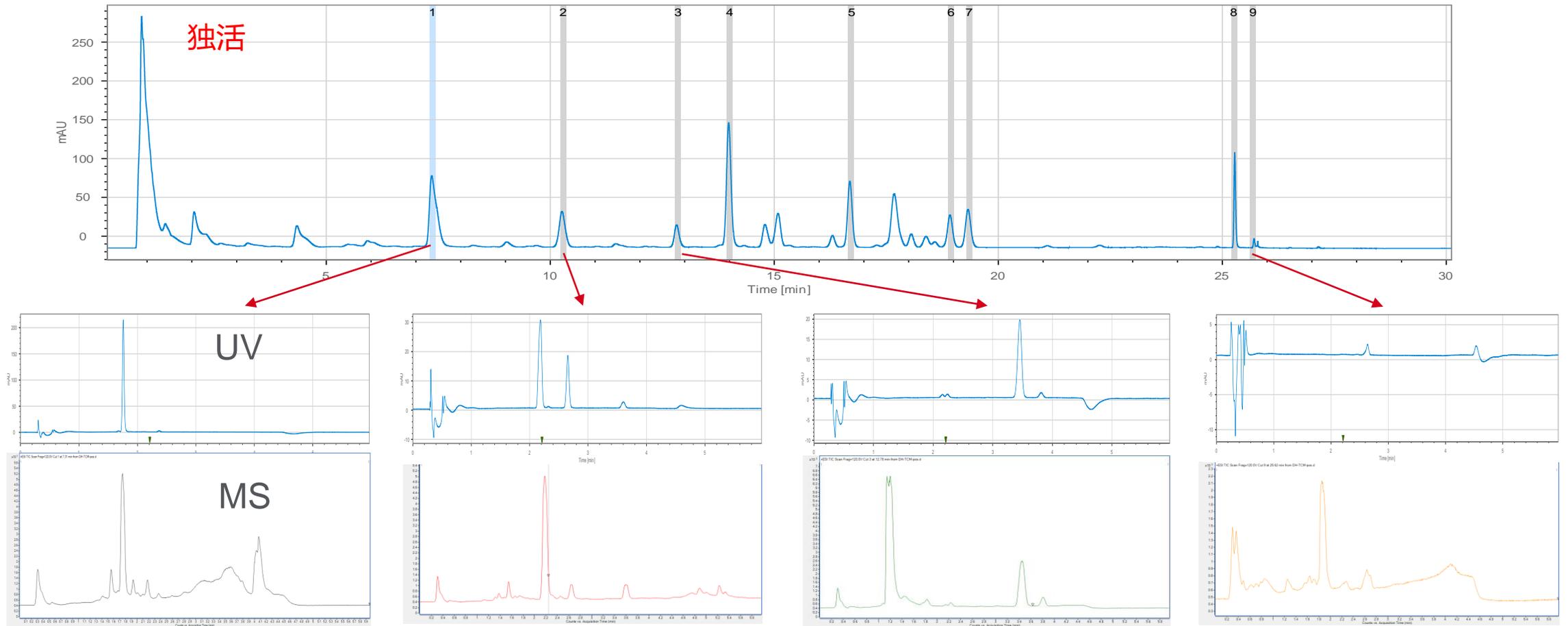
➡ 2DLC让峰更清晰



安捷伦液相色谱方案

——助力更严谨标准

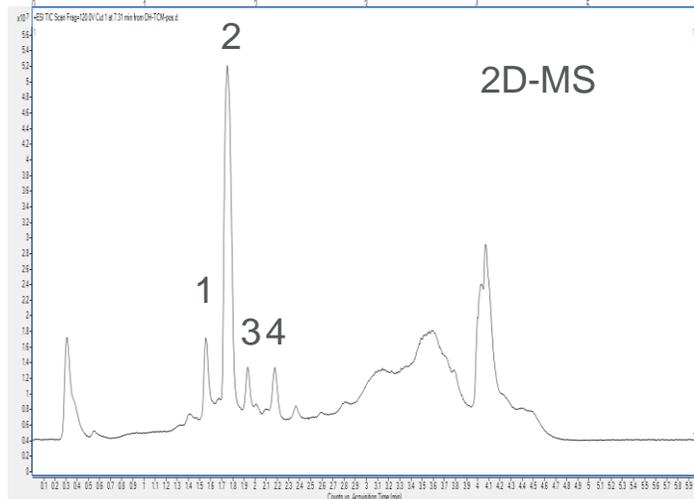
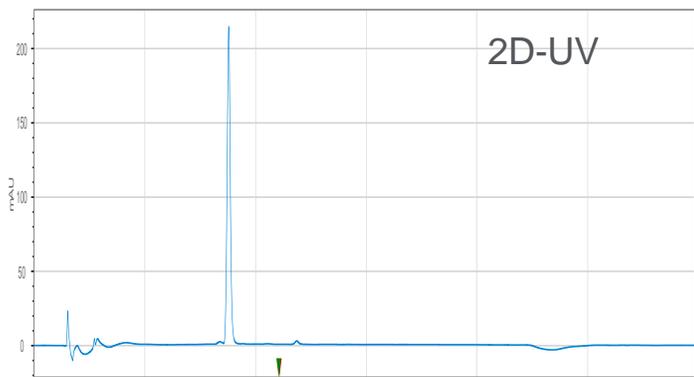
➡ 先分离，再通过中药高分辨数据库（PCDL）助力特征峰指认



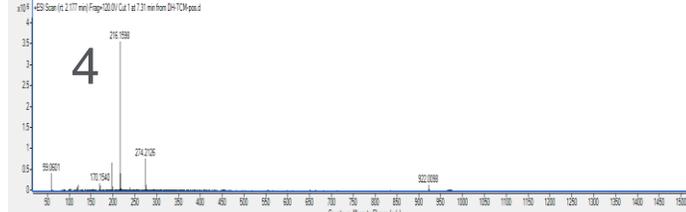
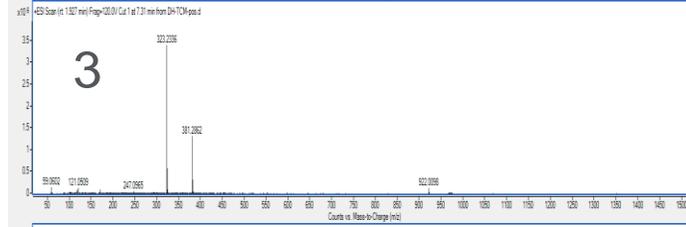
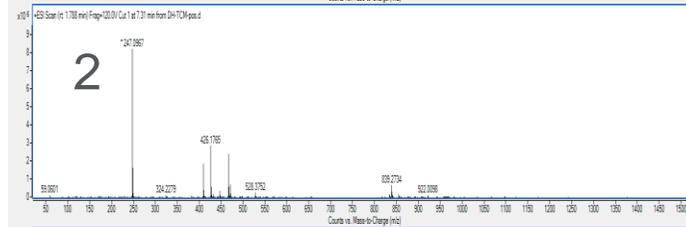
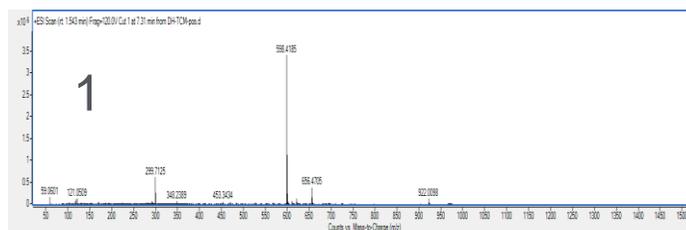
2D分离后质谱鉴定

——助力更严谨标准

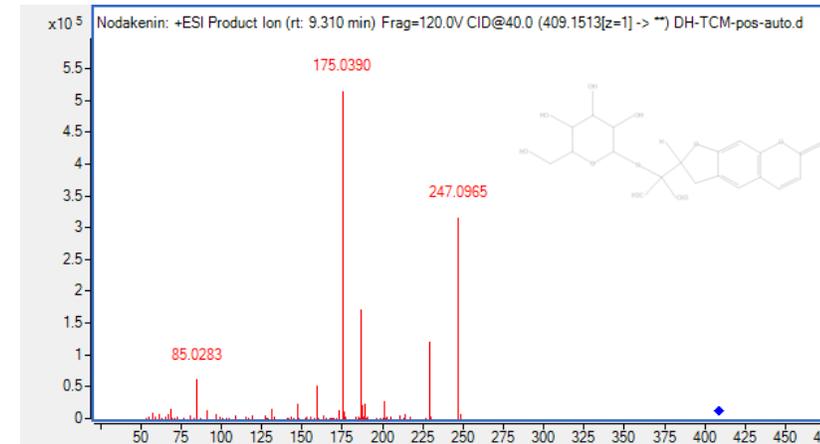
特征峰1



1级质谱图



2级质谱图



LibSearch	Nodakenin	C20H24O9	(M+H) ⁺	67.68	
CE	Name	Forward Score	Flags	Species	Library
40	Nodakenin	60.14		(M+H) ⁺	D:\MassHunter\PCDL\TCM library-V1-987.cdb

67.68		紫花前胡苷/香豆素/土当归/紫花前胡	Angelica decursiva		
Notes		Num Peaks	m/z (prec.)	Reverse Score	Score (Lib)
紫花前胡苷/香豆素/土当归/紫花前胡		92	409.1493	67.68	67.68

安捷伦液相色谱方案

——投资效益最大化

⇒ 充分利用仪器



方法 1

方法 2

方法 3

方法 4

↓
长色谱柱
较高极性

↓
短色谱柱
低极性

↓
短色谱柱
高极性, 高pH

↓
长色谱柱
不同极性

不同方法, 不同分离需求! N台仪器?

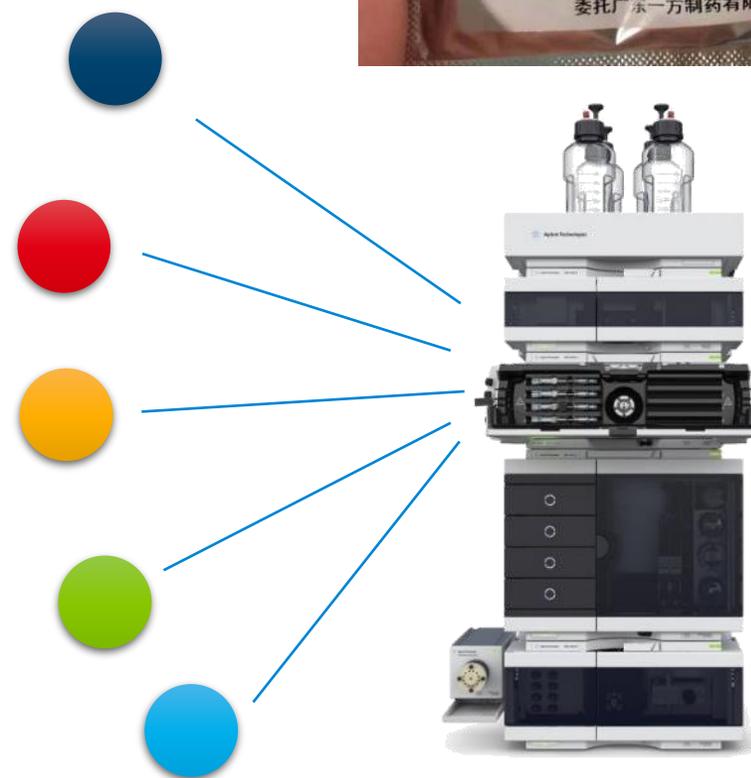
安捷伦液相色谱方案

——投资效益最大化

➡ 充分利用仪器

项目	色谱柱	流动相A	流动相B
金钱草	CORTECS T3 C18, 2.1×100mm, 1.6μm	0.1%磷酸溶液	乙腈
广金钱草	CORTECS T3 C18, 2.1×150mm, 1.6μm	0.1%磷酸溶液	乙腈
金银花	Zorbax RRHD SB C18, 2.1×100mm, 1.8μm	0.1%磷酸溶液	乙腈
大青叶	Zorbax SB C18, 4.6×250mm, 5μm	磷酸缓冲盐	乙腈
前胡	Zorbax SB C18, 4.6×250mm, 5μm	水	甲醇

6个方法, 3根常规柱, 3根UHPLC柱, 7种流动相



安捷伦液相色谱方案

——投资效益最大化

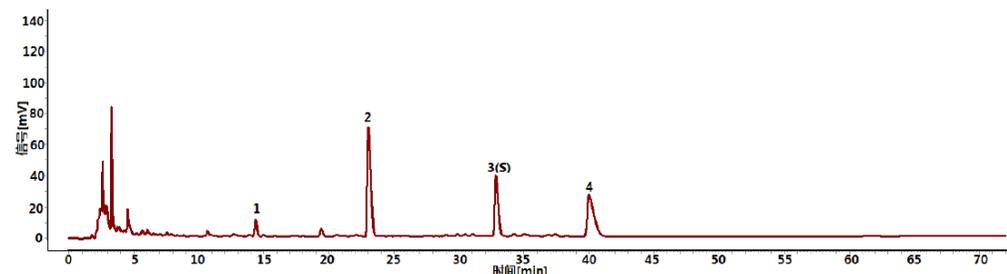
让UHPLC也能真正做HPLC方法

【特征图谱】 照高效液相色谱法（中国药典 2020 年版通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为 250mm，内径为 4.6mm，粒径为 5μm）；以乙腈为流动相 A，以 0.2%磷酸溶液（含 0.4%三乙胺）为流动相 B，按下表中的规定进行梯度洗脱；柱温为 25℃；检测波长为 282nm。理论板数按防己诺林碱峰计算应不低于 4000。

时间（分钟）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0~30	10→20	90→80
30~70	20	80

其中 2 个峰应分别与相应的对照品参照物峰相对应，与防己诺林碱参照物峰相对应的峰为 S 峰，峰 1、峰 2 与 S 峰的相对保留时间，其相对保留时间应在规定值的±10%范围之内。规定值为：0.4（峰 1）、0.695（峰 2）。

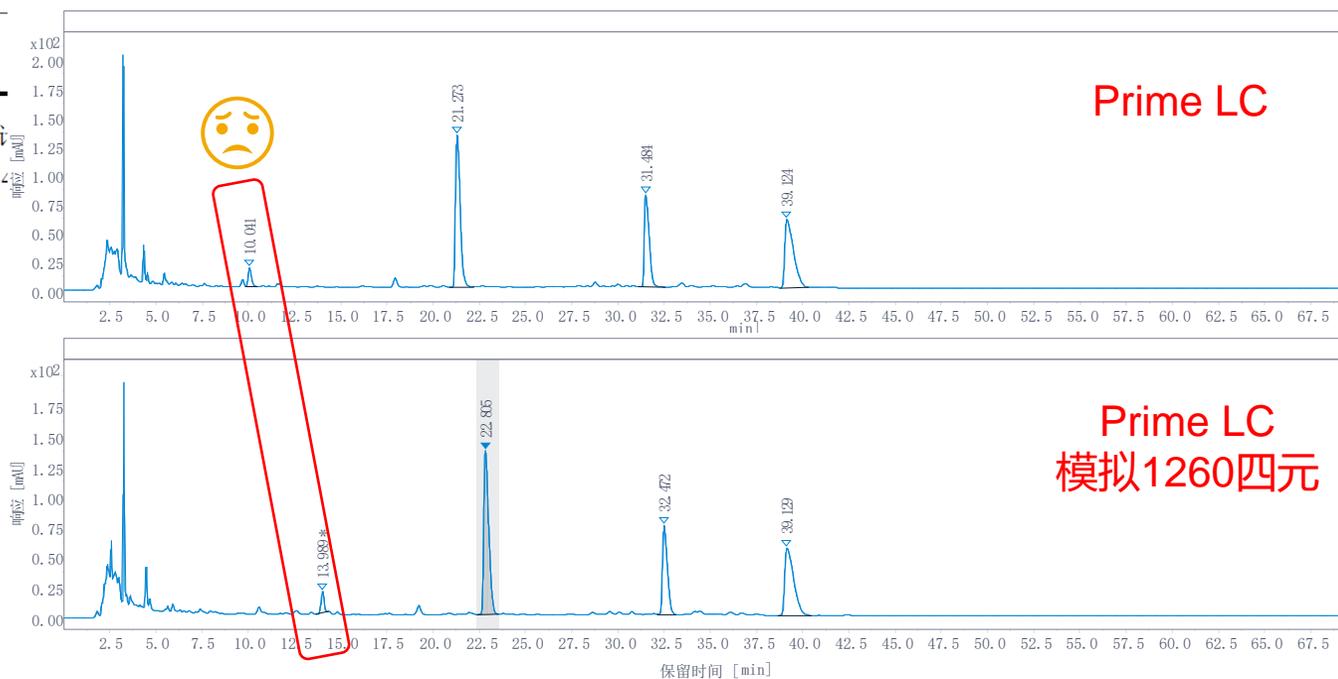


对照特征图谱

峰 3 (S): 防己诺林碱; 峰 4: 粉防己碱

色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6mm×250mm, 5μm

峰	相对保留时间要求	1260Prime		1260Prime LC模拟1260四元	
		相对保留时间	偏差	相对保留时间	偏差
1	0.432 ± 10%	0.319	- 26%	0.431	0
2	0.695 ± 10%	0.676	- 3%	0.702	+ 1%
3 (特征峰)	1	1	---	1	---



安捷伦液相色谱方案

——投资效益最大化

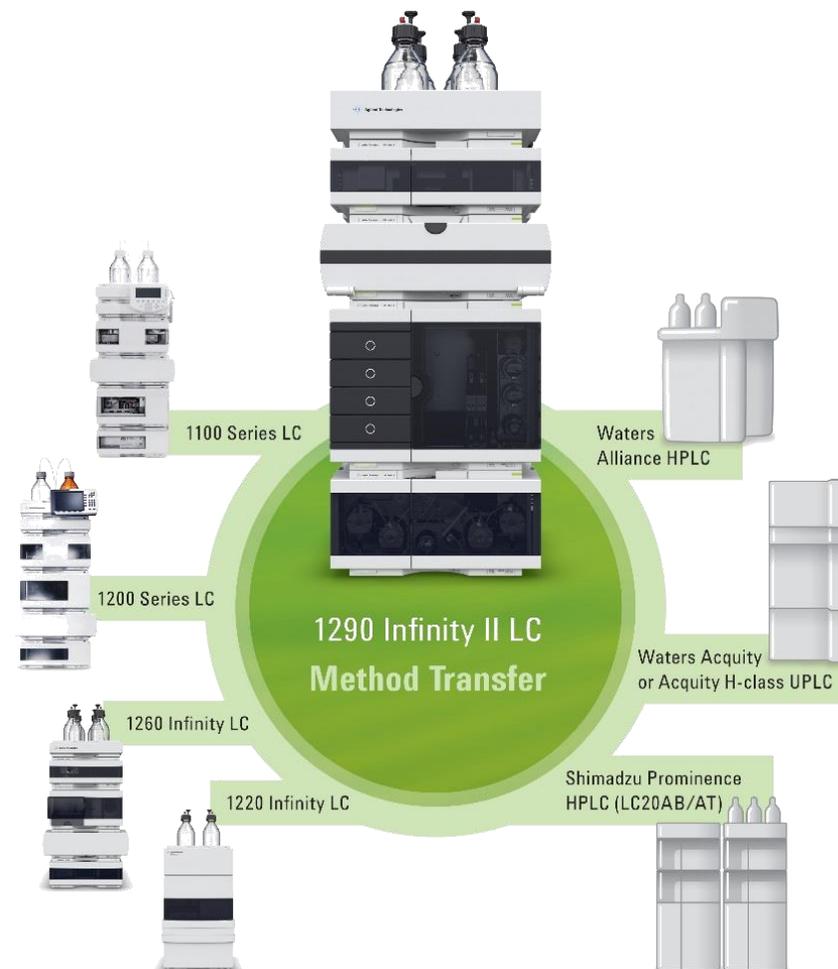
➤ 充分利用仪器

ISET: 智能模拟技术

真正意义上的一机两用

让方法转移风险最低化

同时提高人机工作效率



主要内容

⇒ 配方颗粒行业现状

⇒ 安捷伦液相色谱方案

- 重现现有标准
- 改进现有标准
- 助力更严谨标准
- 投资效益最大化

⇒ 安捷伦其他解决方案

- 农残解决方案
- 真菌毒素测定
- 重金属检测

⇒ 标准重现注意事项

- 参考标准选柱子，根据柱子选仪器
- A-line接头，万能不挑柱子
- 智能化报告，节省时间、降低错误
- 可以尝试替代W色谱柱
- 将HPLC转成UHPLC，提高效率
- 2020ChP转换软件，自动高效
- 让UHPLC更加快速，充分发挥性能
- DAD光谱确认峰纯度，拒绝结果偏差
- 2DLC强化分离，拒绝共流出
- ISET，让一机真正两用，效益最大化
- 多方法系统，充分利用仪器不浪费
- 关注细节、事半功倍

谢 谢