

## 2021 Agilent 制药行业研讨会

### 中药配方颗粒检测中的色谱柱选择

雷启福

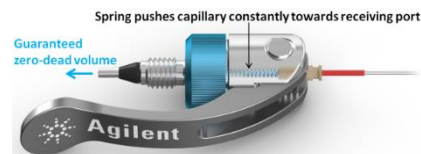
安捷伦科技（中国）有限公司

2021年6月27日



# 中药配方颗粒检测中的色谱柱选择

- 中药配方颗粒色谱柱使用概况
- Agilent色谱柱在标准中的使用
- 标准重现和方法改进
- 新方法建立



# 国家药典委员会：2019.11第一批标准公示



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

# 标准动态：标准第二次公示（8个品种）

当前位置： 首页 > 信息公开 > 标准公示

### 信息公开

- 通知公告
- 标准公示**
- 政策法规
- 工作文件

### 栏目热点

- 关于召开2020年版《中国药典》...
- 关于2020年版《中国药典》实...
- 关于2020年版《中国药典》执...
- 关于2020年版《中国药典》勘...
- 关于征集2021年国家药典委员...

## 标准公示

本版  搜索

关于益心颗粒国家药品标准草案的公示	2020-11-30
关于胃苏泡腾片国家药品标准草案的公示	2020-11-30
关于胰胆舒颗粒国家药品标准草案的公示	2020-11-30
关于喘嗽宁片国家药品标准草案的公示	2020-11-30
关于益气复脉颗粒国家药品标准草案的公示	2020-11-30
关于富马酸替诺福韦二吡呋酯国家药品标准草案的公示	2020-11-27
关于卡培他滨片药典标准修订草案的公示	2020-11-27
关于金银花配方颗粒试点统一标准的公示（第二次）	2020-11-26
关于炙淫羊藿（淫羊藿）配方颗粒试点统一标准的公示（第二次）	2020-11-26
关于黄芪（蒙古黄芪）配方颗粒试点统一标准的公示（第二次）	2020-11-26
关于淫羊藿（淫羊藿）配方颗粒试点统一标准的公示（第二次）	2020-11-26
关于酒女贞子配方颗粒试点统一标准的公示（第二次）	2020-11-26
关于淡竹叶配方颗粒试点统一标准的公示（第二次）	2020-11-26
关于熟地黄配方颗粒试点统一标准的公示（第二次）	2020-11-26
关于生地黄配方颗粒试点统一标准的公示（第二次）	2020-11-26

< < 1 2 3 ... 189 > >

# 标准动态：国家药典委关于中药配方颗粒药品标准制定的通知

## 国家药典委关于中药配方颗粒药品标准制定的通知

国家药典委 中药质量与安全 2/24



各相关单位：

近日，国家药品监督管理局、国家中医药局、国家卫生健康委、国家医保局共同发布了《关于结束中药配方颗粒试点工作的公告》。公告要求，国家药典委结合试点工作经验继续组织审定中药配方颗粒的国家药品标准，各省级药品监督管理部门制定省级中药配方颗粒标准。为做好相关工作，现就有关事项通知如下：

一、国家药典委鼓励企业参与国家药品标准的制修订，发挥企业的主体作用。企业可按照国家药监局发布的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》和我委制定的《中药配方颗粒国家标准申报资料目录及要求》（附件1）开展研究，积极参与中药配方颗粒国家标准的制定工作。完成研究可将相关资料报送我委。

二、前期我委在6家生产企业试点成果的基础上,综合已有研究数据,形成160个中药配方颗粒国家药品标准草案（附件2）,已完成公示,近期将按程序报国家药品监督管理局审批颁布。此外，还有39个中药配方颗粒国家药品标准正在审评过程中（附件3），另有246个中药配方颗粒品种（附件4）已有企业正在开展标准研究。

三、根据公告要求，省级药品监督管理部门制定的中药配方颗粒标准应当符合《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》的规定。各省局应当积极开展省级标准的制定工作，共同引导产业健康发展,更好地满足中医临床需求。

二、前期我委在6家生产企业试点成果的基础上,综合已有研究数据,形成160个中药配方颗粒国家药品标准草案（附件2）,已完成公示,近期将按程序报国家药品监督管理局审批颁布。此外，还有39个中药配方颗粒国家药品标准正在审评过程中（附件3），另有246个中药配方颗粒品种（附件4）已有企业正在开展标准研究。（445）

三、根据公告要求，省级药品监督管理部门制定的中药配方颗粒标准应当符合《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》的规定。各省局应当积极开展省级标准的制定工作，共同引导产业健康发展,更好地满足中医临床需求。



## 国家药典委员会

Chinese Pharmacopoeia Commission

公开公正 ◊ 优质高效  
科学先进 ◊ 实用规范

- 首页
- 组织机构
- 要闻
- 信息公开
- 工作动态
- 专题专栏
- 公众服务
- 世界药典之窗

通知公告 | 标准公示 | 政策法规 | 工作文件

当前位置: 首页 > 信息公开 > 通知公告 > 通知 > 关于执行中药配方颗粒国家药品标准有关事项的通知

### 关于执行中药配方颗粒国家药品标准有关事项的通知

来源: 国家药典委员会 时间: 2021-04-29 14:13:49 

各有关单位:

经国家药品监督管理局批准, 首批160个中药配方颗粒国家药品标准已正式颁布, 将于2021年11月1日正式实施, 现在我委网站予以转发, 并就有关事项通知如下:

- 按照《关于结束中药配方颗粒试点工作的公告》第一条“中药配方颗粒的质量监管纳入中药饮片管理范畴”的要求, 其标准中有关农药残留、重金属及有害元素、真菌毒素及二氧化硫残留等均参照现行版《中国药典》中药饮片的规定执行。
- 标准正文中特征图谱项所附对照图谱, 下方标注的标准研究及复核中用到的色谱柱供标准执行时参考使用。标准正文中亦采用对照药材或对照饮片做随行参照物, 标准执行中应综合研判。

附件: 160个中药配方颗粒国家药品标准

 001. 巴戟天配方颗粒. pd	 002. 白芍配方颗粒. pdf
 003. 白鲜皮配方颗粒. pdf	 004. 白芷(白芷)配方颗粒. pdf
 005. 白芷(杭白芷)配方颗粒. pdf	 006. 百部(对叶百部)配方颗粒. pdf

# 公布的160个配方颗粒标准情况

涉及总的品种数量：160个；

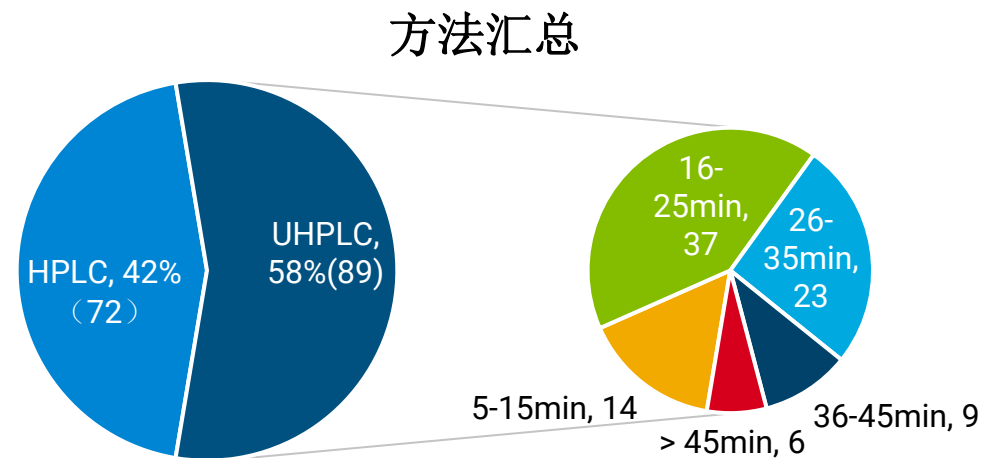
标准特点：特征图谱；含量测定；

色谱柱需求：

- 特征图谱：指定品牌、规格；(UHPLC/HPLC)
- 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/HPLC)
- 例如：女贞子（特征HPLC，含量UHPLC）

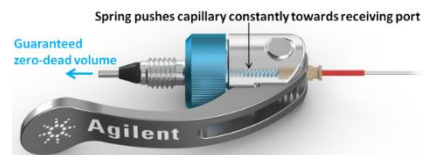
UHPLC色谱柱特征：

- 柱内径均为2.1mm；柱长：100mm或150mm
- 流速最大不超过0.5mL/min，大多数在0.3mL/min左右
- 粒径um：1.6，1.7，1.8，2.0，2.2，2.6



# 中药及配方颗粒色谱分析方法建立

- 中药配方颗粒色谱柱使用概况
- Agilent色谱柱在标准中的使用
- 标准重现和方法改进
- 新方法建立



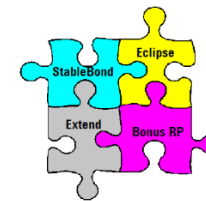


# 160个配方颗粒标准中使用安捷伦色谱柱的品种：41个

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

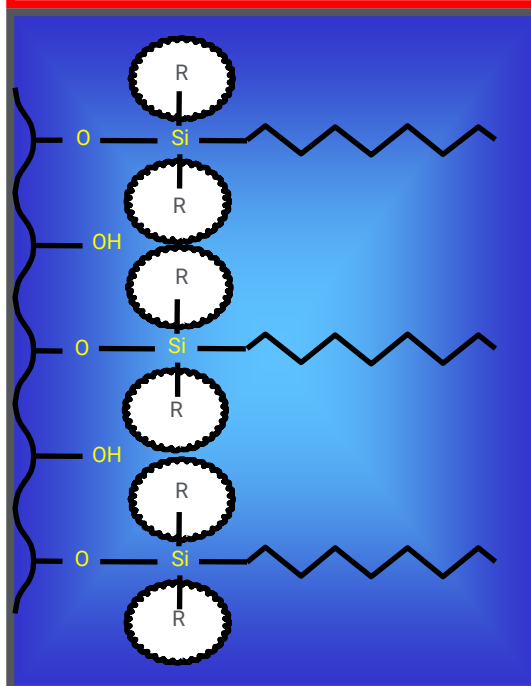
# ZORBAX系列



## StableBond, pH 1-8

1. 使用空间位阻大的硅烷
2. 未-封端

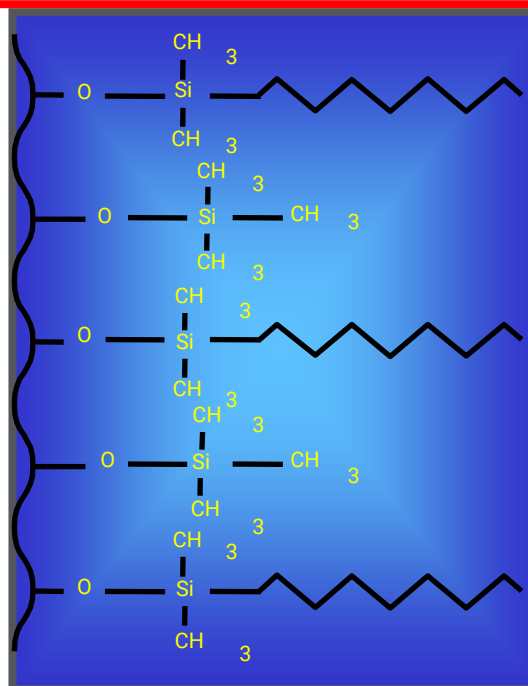
低pH下, 分析酸性, 碱性和中性组分, 峰形优异, 柱寿命长



## Eclipse Plus/XDB, pH 2-9

1. 致密键合的二甲基烷基硅烷
2. 专利技术双-封端

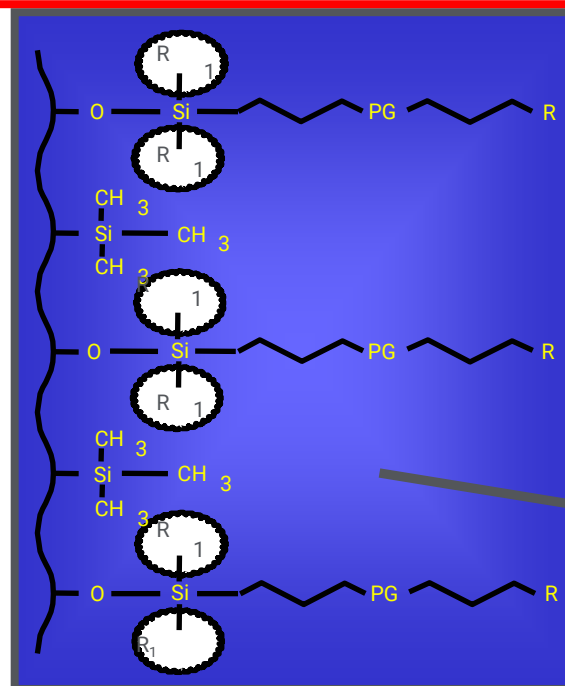
中等pH下, 分析酸性, 碱性和中性组分, 尤其碱性组分峰形优异, 柱寿命长



## Bonus-RP, pH 2-9

1. 极性烷基固定相
2. 使用空间位阻大的硅烷
3. 三封端

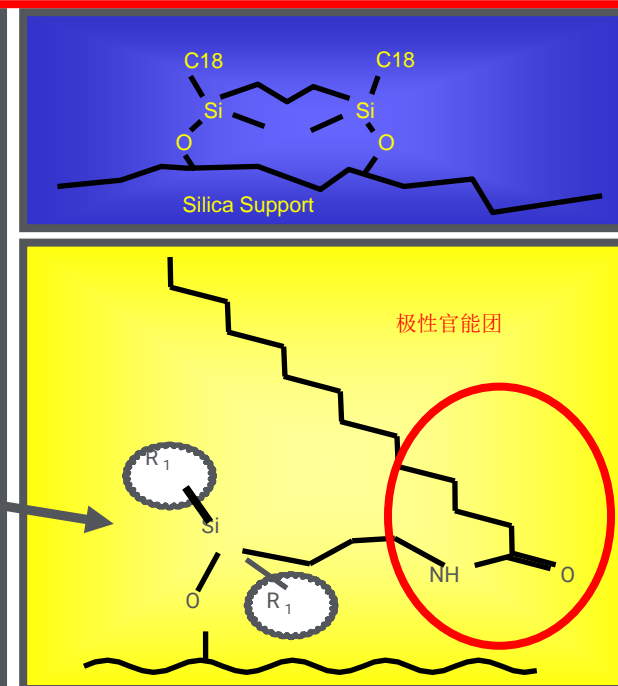
中等pH下, 分析酸性, 碱性和中性组分, 可用于100%全水相, 尤其极性组分峰形优异, 柱寿命长



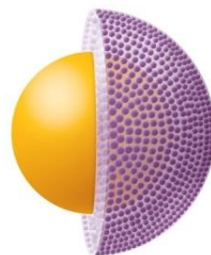
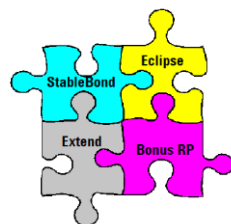
## Extend-C18, pH 2-11.5

1. 独特的双齿键合结构
2. 双封端

中~高pH下, 分析酸性, 碱性和中性组分, 尤其碱性组分峰形优异, 柱寿命长



# 特征图谱方法尽可能选择UHPLC色谱柱



ZORBAX 5um  
(HPLC)

ZORBAX  
3.5um  
(HPLC)

ZORBAX  
1.8um  
(UHPLC)



# InfinityLab Poroshell UHPLC色谱柱满足多种分离需求

## 19种固定相,3种粒径, 多种工具的组合

常规通用色谱柱	低pH流动相	高pH流动相	不同选择性	较强极性组分	强极性化合物分析	手性拆分
Poroshell 120 <b>EC-C18</b> 1.9, 2.7, 4 μm ▲	Poroshell 120 <b>SB-C18</b> 1.9, 2.7, 4 μm ▲	Poroshell <b>HPH-C18</b> 1.9, 2.7 μm, 4 μm ▲	Poroshell 120 <b>Bonus-RP</b> 2.7 μm	Poroshell 120 <b>SB-Aq</b> 1.9, 2.7, 4 μm	Poroshell 120 <b>HILIC</b> 1.9, 2.7 μm, 4 μm	Poroshell-CF 2.7 μm
Poroshell 120 <b>EC-C8</b> 1.9, 2.7, 4 μm	Poroshell 120 <b>SB-C8</b> 2.7 μm	Poroshell <b>HPH-C8</b> 2.7 μm, 4 μm	Poroshell 120 <b>PFP</b> 1.9, 2.7 μm, 4 μm	Poroshell 120 <b>EC-CN</b> 2.7 μm	Poroshell 120 <b>HILIC-Z</b> 1.9, 2.7, 4 μm	Poroshell-CD 2.7 μm
			Poroshell 120 Phenyl-Hexyl 1.9, 2.7 μm, 4 μm		Poroshell 120 <b>HILIC-OH5</b> 2.7 μm	Poroshell-T 2.7 μm
					Amide HILIC (AdvanceBio Glycan Map)	Poroshell-V 2.7 μm

← Poroshell CS-C18 2.7 μm → ▲



# Zorbax SB-C18色谱柱在配方颗粒中的应用-公示稿(17)

品种名称	检测成分	梯度类型	检测条件	色谱柱类型	键合相类型
白芷	白芷对照药材； 欧前胡素、异欧前胡素	二元梯度	300nm	SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶
车前草（车前）	车前草对照药材； 大车前苷	二元梯度	330nm	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶
大青叶	大青叶对照药材； 尿苷、次黄嘌呤、腺苷、鸟苷	二元梯度	260nm	ZORBAX SB-Aq C18, 250mm×4.6mm, 5μm	十八烷基硅烷键合硅胶
麸炒枳壳	枳壳对照药材； 柚皮苷、新橙皮苷	二元梯度	283nm	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶
金银花	金银花对照药材； 绿原酸、木犀草苷、芦丁	二元梯度	350nm	ZORBAX SB C18, 250mm×4.6mm, 5μm	十八烷基硅烷键合硅胶
蜜旋覆花（旋覆花）	旋覆花对照药材； 绿原酸、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	二元梯度	327nm	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶
蜜紫菀	紫菀对照药材； 绿原酸、1,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	二元梯度	327nm	ZORBAX SB-Aq C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶
墨旱莲	墨旱莲对照药材； 蟛蜞菊内酯对照品、4,5-二-O-咖啡酰基奎宁酸	二元梯度	330nm	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶
前胡	前胡对照药材； 白花前胡甲素	二元梯度	321nm	ZORBAX SB C18, 250mm×4.6mm, 5μm	十八烷基硅烷键合硅胶
升麻（大三叶升麻）	升麻对照药材； 咖啡酸、异阿魏酸、阿魏酸	二元梯度	320nm	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶
烫骨碎补	烫骨碎补对照饮片； 原儿茶酸、柚皮苷	二元梯度	260nm	ZORBAX SB C18, 250mm×4.6mm, 5μm	十八烷基硅烷键合硅胶
土茯苓	土茯苓对照药材； 落新妇苷、黄杞苷	二元梯度	291nm	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶
旋覆花（旋覆花）	旋覆花对照药材； 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	二元梯度	230nm	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶
泽兰	泽兰对照药材； 迷迭香酸、咖啡酸	二元梯度	330nm	ZORBAX SB C18, 150mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶
枳壳	枳壳对照药材； 柚皮苷、新橙皮苷	二元梯度	283nm	ZORBAX SB C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶
炙甘草（胀果甘草）	甘草对照药材； 甘草苷、甘草酸铵	二元梯度	265nm	ZORBAX SB C18, 150mm×4.6mm, 5μm	十八烷基硅烷键合硅胶
紫菀	紫菀对照药材； 绿原酸、1,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	二元梯度	327nm	ZORBAX SB-Aq C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶

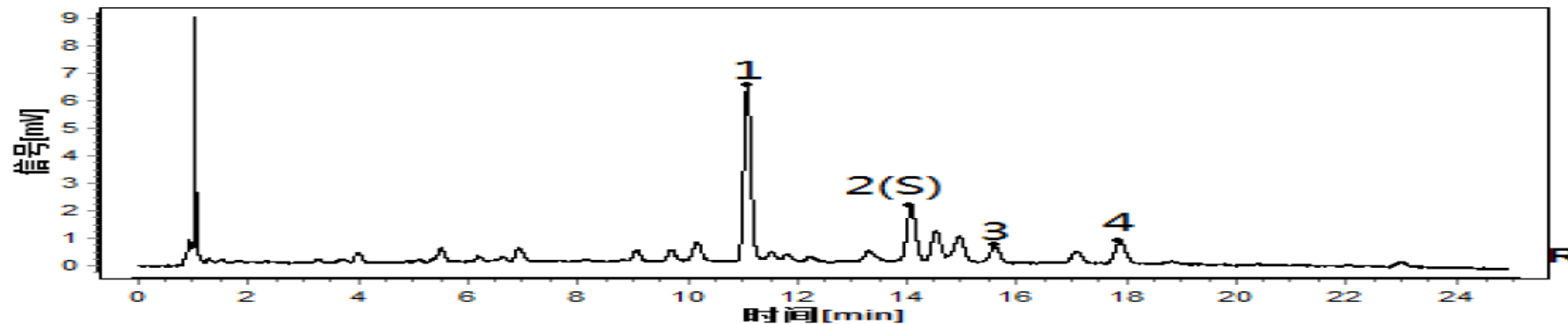
# Zorbax XDB/Plus-C18色谱柱在配方颗粒中的应用-公示稿(8)

品种名称	检测成分	梯度类型	检测条件	色谱柱类型	键合相类型
炒王不留行	王不留行对照药材； 王不留行黄酮苷	二元梯度	270nm	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250mm×4.6mm, 5μm	十八烷基硅烷键合硅胶
龙胆（龙胆）	龙胆对照药材； 马钱苷酸、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷	二元梯度	240nm	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250mm×4.6mm, 5μm	十八烷基硅烷键合硅胶
蒲公英（碱地蒲公英）	蒲公英对照药材； 咖啡酸、单咖啡酰酒石酸、菊苣酸	二元梯度	323nm	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250mm×4.6mm, 5μm	十八烷基硅烷键合硅胶
王不留行	王不留行对照药材； 王不留行黄酮苷	二元梯度	270nm	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250mm×4.6mm, 5μm	十八烷基硅烷键合硅胶
紫苏子	紫苏子对照药材； 迷迭香酸	二元梯度	284nm	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250mm×4.6mm, 5μm	十八烷基硅烷键合硅胶
补骨脂	补骨脂素	二元梯度	246nm	ZORBAX Eclipse Plus C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶
防己	防己对照药材； 防己诺林碱	二元梯度	282nm	ZORBAX Eclipse Plus C18, 250mm×4.6mm, 5μm	十八烷基硅烷键合硅胶
盐补骨脂	补骨脂素	二元梯度	246nm	ZORBAX Eclipse Plus C18, 100mm×2.1mm, 1.8μm	十八烷基硅烷键合硅胶

# 常规通用的TC-C18柱在配方颗粒中的应用(16)

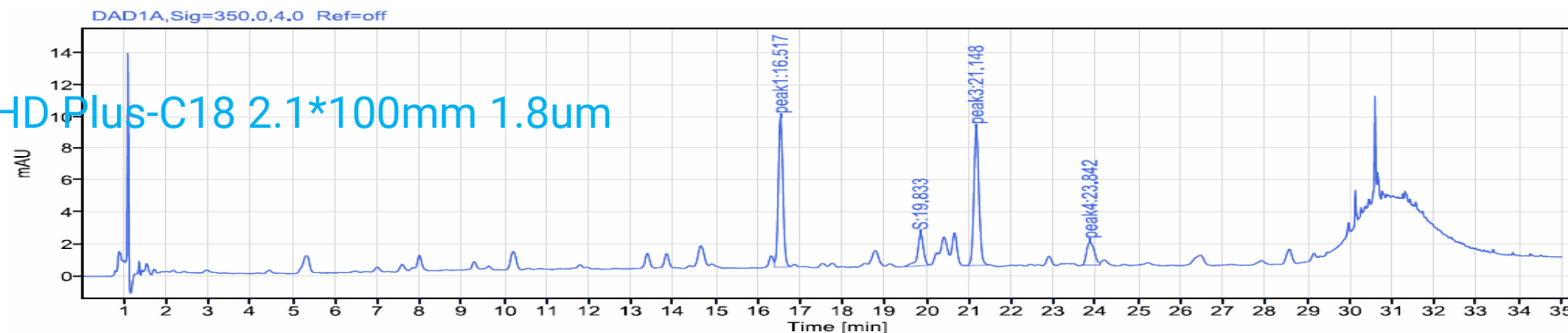
品种名称	检测成分	梯度类型	检测条件	色谱柱类型
白鲜皮	白鲜皮对照药材； 栲酮品、黄柏酮、白鲜碱、柠檬苦素	二元梯度	230nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
板蓝根	板蓝根对照药材； 鸟苷	二元梯度	245nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
燂桃仁	燂桃仁对照饮片； 苦杏仁苷	二元梯度	214nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
炒莱菔子	莱菔子对照药材； 芥子碱以芥子碱硫氰酸盐	二元梯度	225nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
炒桃仁	炒桃仁对照饮片； 苦杏仁苷	二元梯度	214nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
炒栀子	栀子对照药材； 栀子苷	二元梯度	238nm; 440nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
川射干	川射干对照药材； 射干苷	二元梯度	265nm	5 TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
粉葛	粉葛对照药材； 大豆苷	二元梯度	250nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
焦栀子	栀子饮片； 栀子苷	二元梯度	238nm; 440nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
酒丹参	丹参对照药材； 丹酚酸B	二元梯度	286nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
莱菔子	莱菔子对照药材； 芥子碱以芥子碱硫氰酸盐	二元梯度	225nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
蜜桑白皮	桑白皮饮片； 取桑皮苷 A、桑黄酮 G	二元梯度	280nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
桑白皮	桑白皮饮片； 取桑皮苷 A、桑黄酮 G	二元梯度	280nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
桑枝	桑枝对照药材； 桑皮苷 A	二元梯度	320nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
桃仁(桃)	桃仁对照药材； 苦杏仁苷	二元梯度	214nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm
栀子	栀子对照药材； 栀子苷	二元梯度	238nm; 440nm	TC C18, 250mm×4.6mm, 5μm

# 淡竹叶-特征图谱色谱柱: Plus-C18替代 BEH-C18



对照特征图谱  
峰 2 (S): 异荛草苷; 峰 3: 日当药黄素  
色谱柱: BEH C18, 2.1mm×100mm, 1.7μm

Zorbax RRHD Plus-C18 2.1\*100mm 1.8um



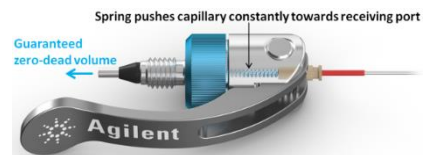
Signal: DAD1A,Sig=350.0,4.0 Ref=off

Name	RT [min]	RefName	Area	RRT	RRT Limit	RRT LimitRangeP	RRT LimitRange	RRT Result	RPA	RPA LimitRange	RPA Result
peak1	16.517	S	70.391	0.833	0.790	10.00	0.711~0.869	PASS	3.634	~	
S	19.833	S	19.372	1.000					1.000		
peak3	21.148	S	72.823	1.066	1.100	10.00	0.99~1.21	PASS	3.759	~	
peak4	23.842	S	18.786	1.202	1.270	10.00	1.143~1.397	PASS	0.970	~	



# 中药及配方颗粒色谱分析方法建立

- 中药配方颗粒色谱柱使用概况
- Agilent色谱柱在标准中的使用
- 标准重现和方法改进
- 新方法建立



# 公示稿中特征图谱典型的信息

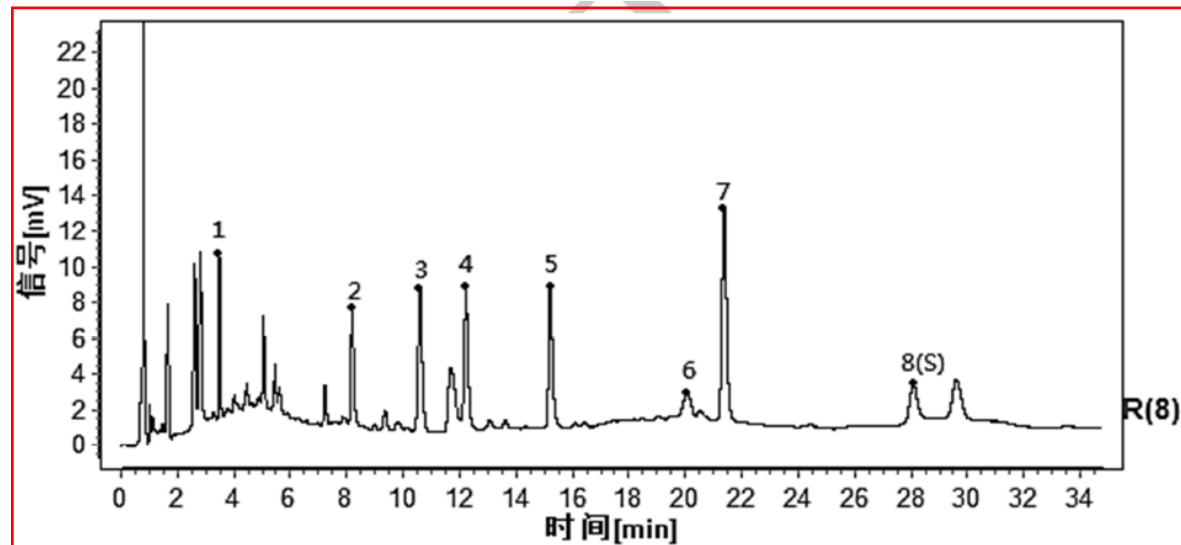
## 配方颗粒公示稿：墨旱莲

【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 $\mu$ 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。理论板数按鞣花酸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→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

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。与鞣花酸内酯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 $\pm$ 10%范围之内，规定值为：0.13（峰 1）、0.28（峰 2）、0.37（峰 3）、0.43（峰 4）、0.73（峰 6）、0.79（峰 7）；计算峰 2 与 S 峰的相对峰面积，其相对峰面积应在规定范围内，规定范围为：不低于 0.26（峰 2）。



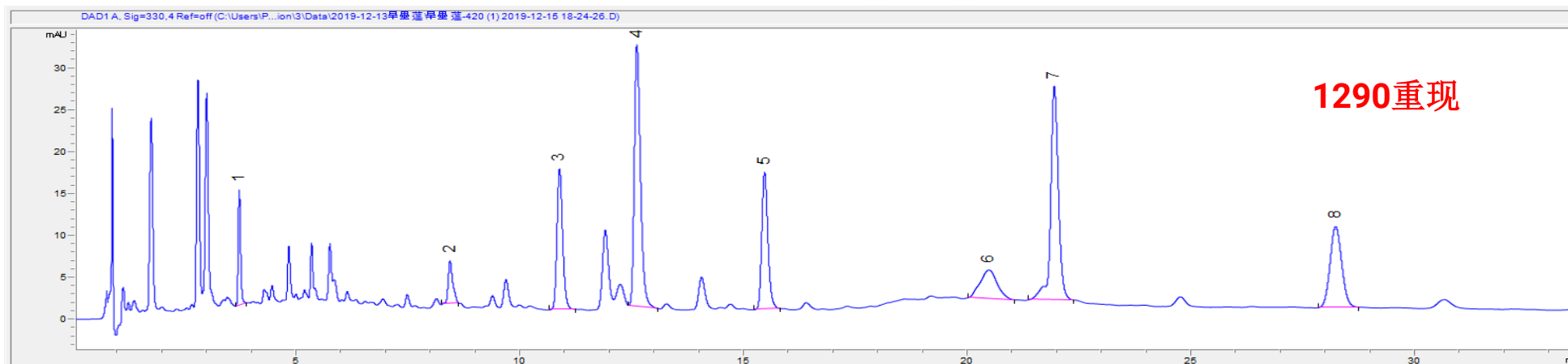
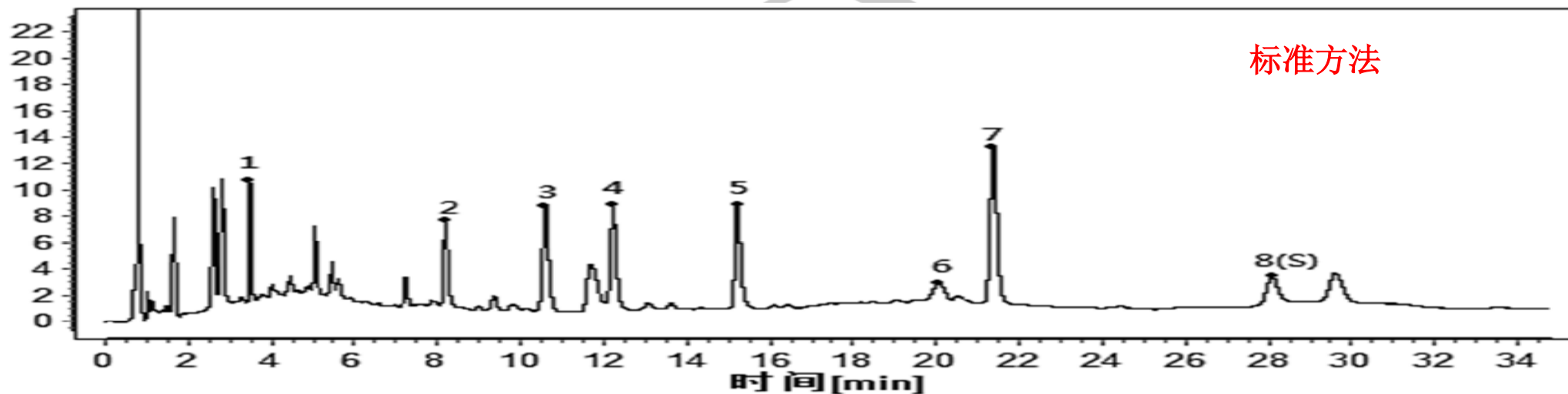
对照特征图谱

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）：鞣花酸内酯

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

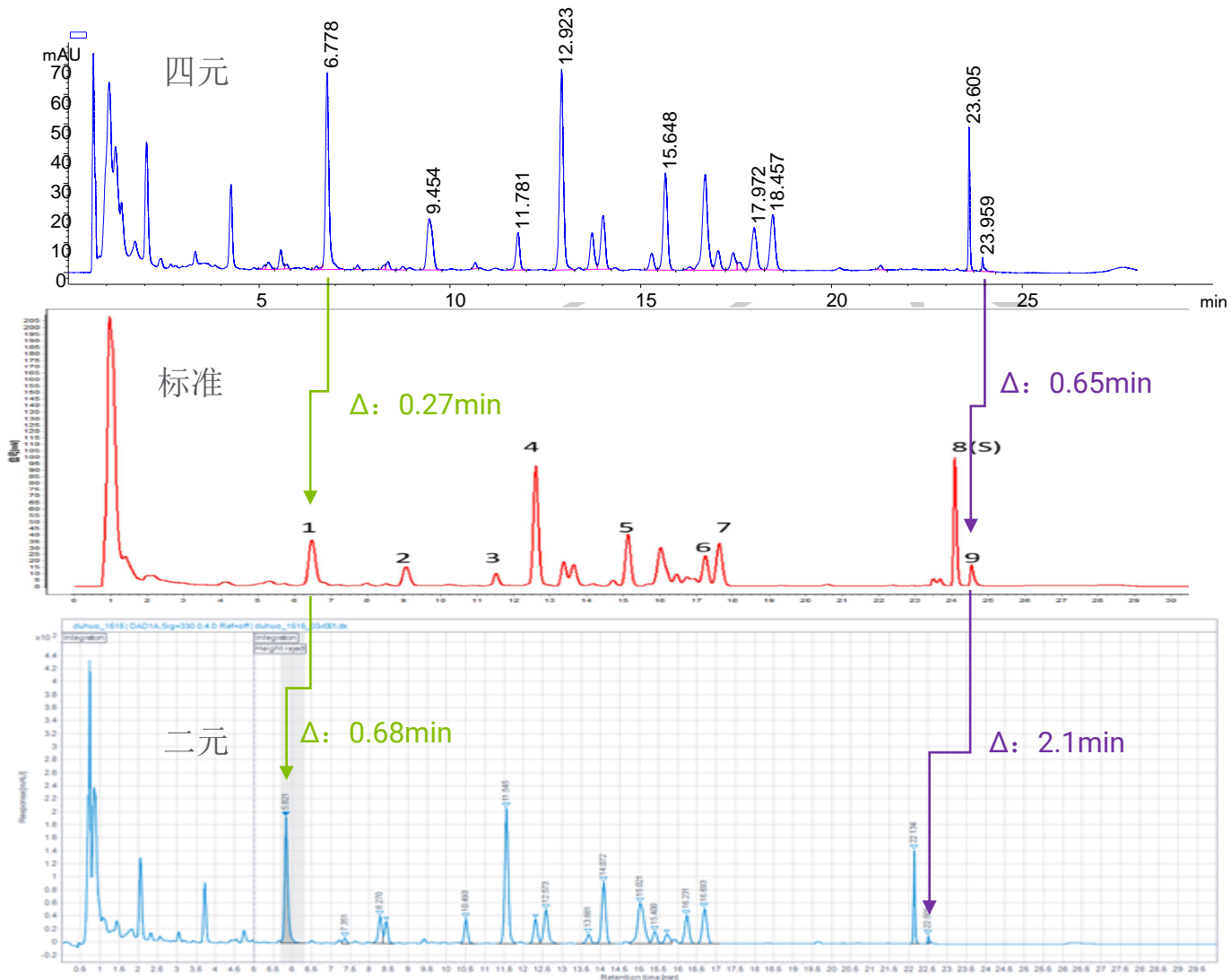
# 标准重现：墨旱莲

➡ Agilent1290四元 + Agilent色谱柱：Zorbax RRHD SB-C18 2.1\*100mm 1.8um



# 标准重现：独活配方颗粒

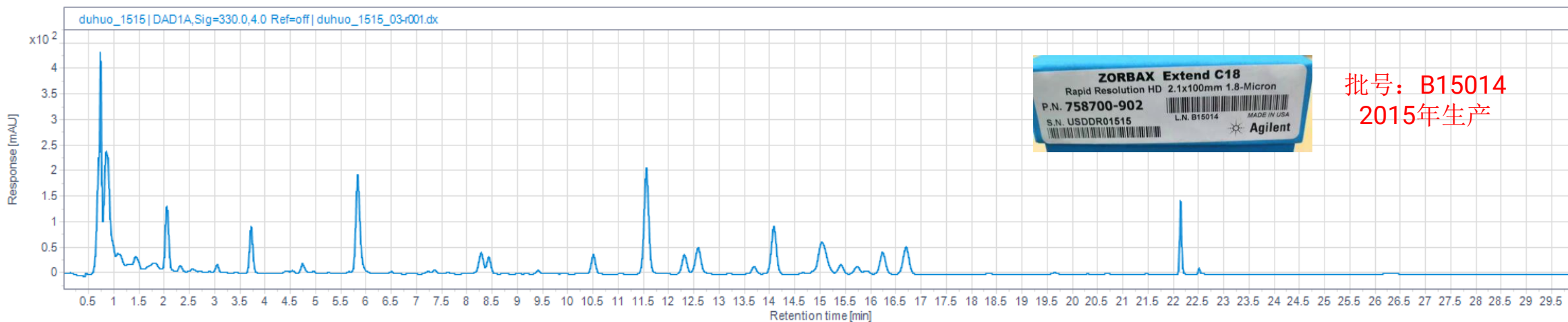
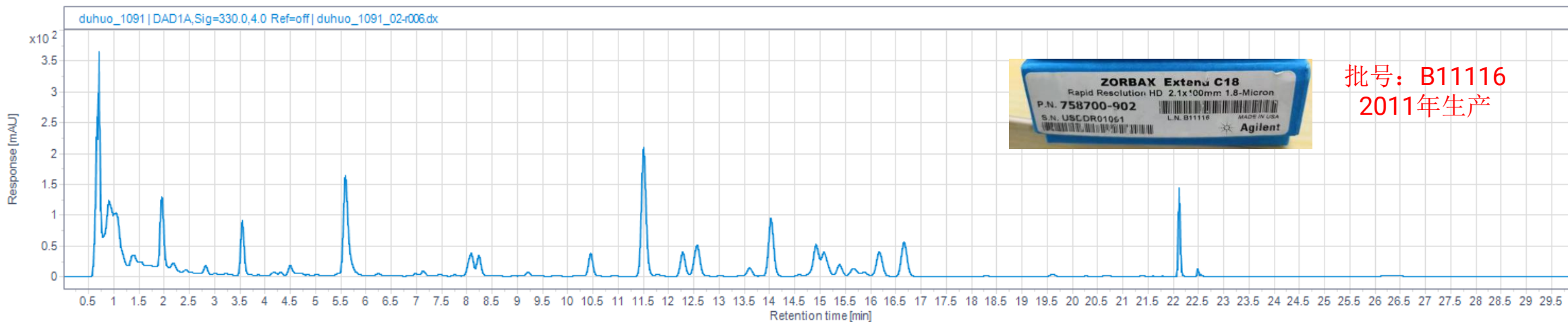
色谱柱：Zorbax RRHD Extend-C18 2.1\*100mm 1.8um



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

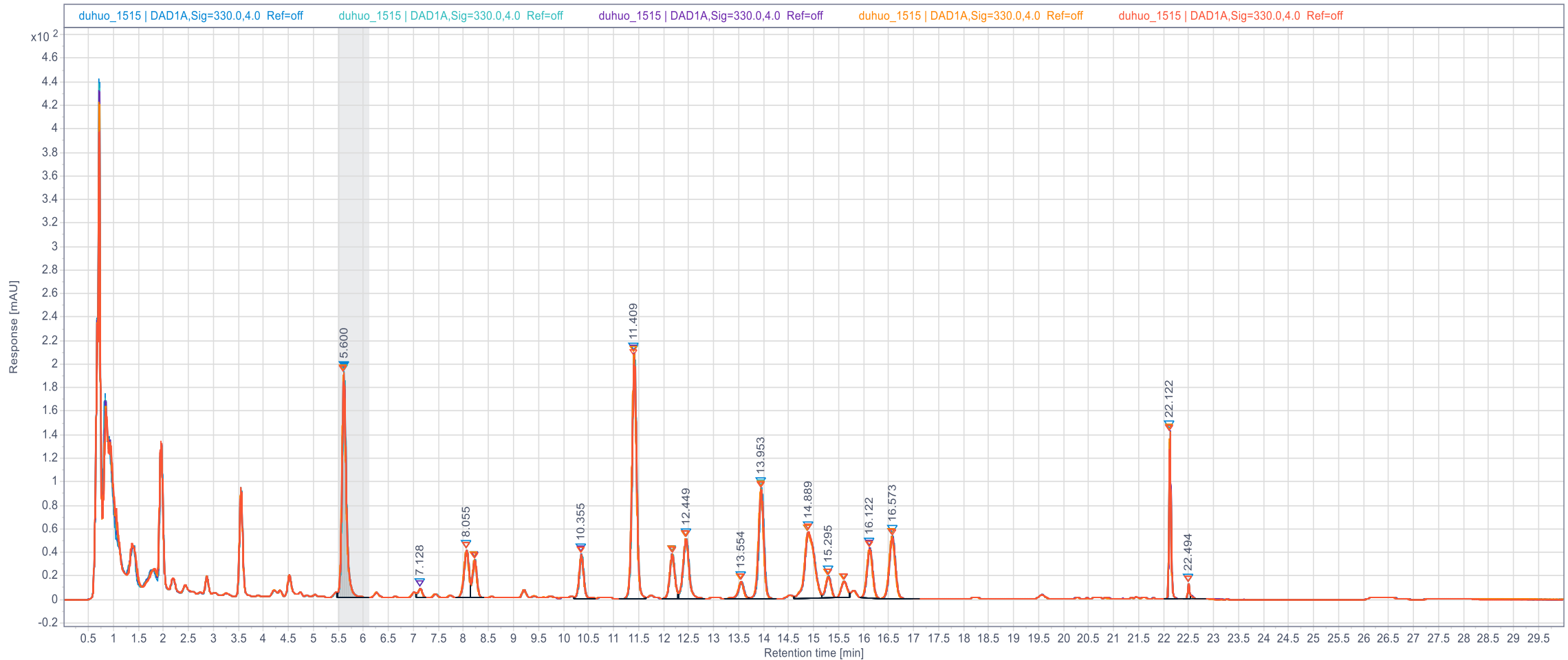
# 不同批次色谱柱重现2011年vs2015年

——独活配方颗粒, Zorbax Extend RRHD C18, 2.1\*100mm\*1.8um, 仪器1290二元泵



# 安捷伦液相色谱方案

—— 重复性：独活



# 王不留行-含量测定方法

**【含量测定】** 照高效液相色谱法(中国药典 2015 年版四部通则 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 $\mu$ m); 以甲醇为流动相 A, 以 0.3%磷酸溶液为流动相 B, 按下表中的规定进行梯度洗脱; 检测波长为 280nm。理论板数按王不留行黄酮苷峰计算应不低于 3000。

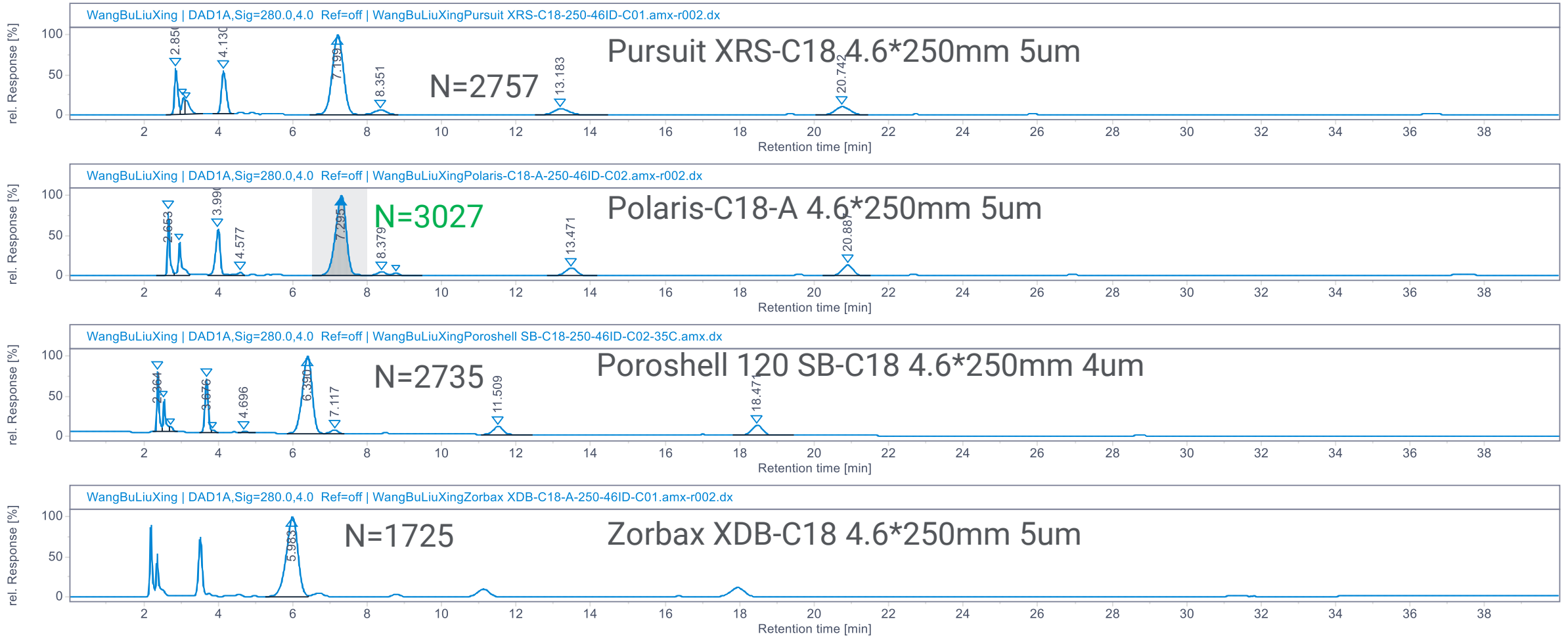
时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0~10	35	65
10~20	35→40	65→60
20~35	40→50	60→50

**对照品溶液的制备** 取王不留行黄酮苷对照品适量, 精密称定, 加 70%甲醇制成每 1ml 含 0.1mg 的溶液, 即得。

**供试品溶液的制备** 取本品适量, 研细, 取约 1.0g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70%甲醇 50ml, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 600W, 频率 40kHz) 30 分钟,

- SST要求: 黄酮苷N $\geq$ 3000.
- 流动相有机相-起始: 35%甲醇
- 提取溶剂: 70%甲醇
- 特征图谱方法色谱柱: Zorbax XDB-C18 4.6\*250mm 5 $\mu$ m
- 含量测定色谱柱选择: Polaris-C18-A 4.6\*250mm 5 $\mu$ m

# 王不留行：含量测定-色谱柱筛选





# 炙甘草： 色谱柱替代

## 1290 Q Infinity II UHPLC Conditions

Column	Cortecs UPLC C18, 2.1*100mm*1.6µm; Zorbax Eclipse plus-C18, 2.1*100mm*1.8µm
Column temp	35°C,
Injection volume	1µL
Aqueous phase (A)	0.05%Formic acid
Organic phase (B)	Acetonitrile
Flow rate	0.4 mL/min
UV	237 nm, Reference: OFF; Scan range : 190~400 nm

## Gradient program

Time(min)	A%	B%	Curve
0	81	19	线性梯度
1.7	78	22	
3.8	70	30	
6.6	66	34	
7.6	81	19	
Post time	81	19	1.0min

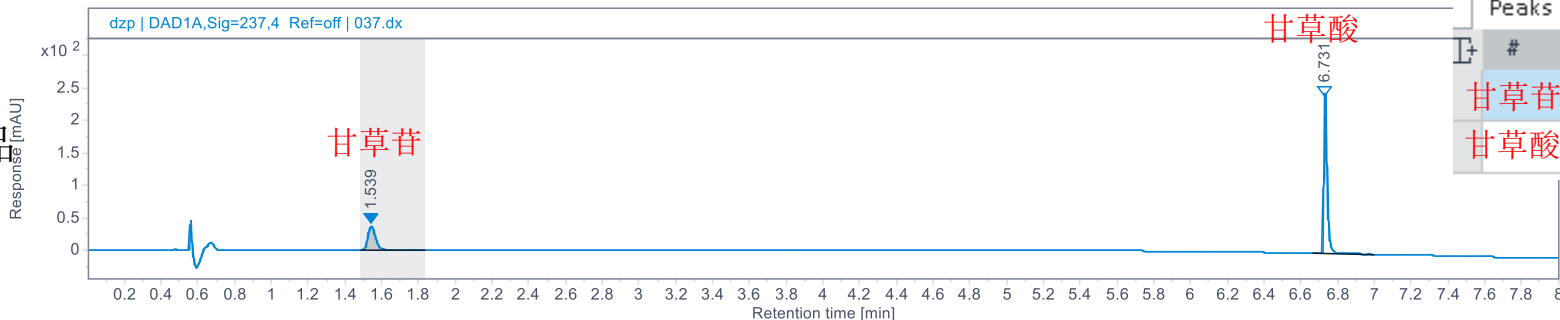
# 炙甘草：采用Agilent Plus C18色谱柱-对照品和样品叠加谱图

Zorbax Eclipse plus-C18, 2.1\*100mm\*1.8μm

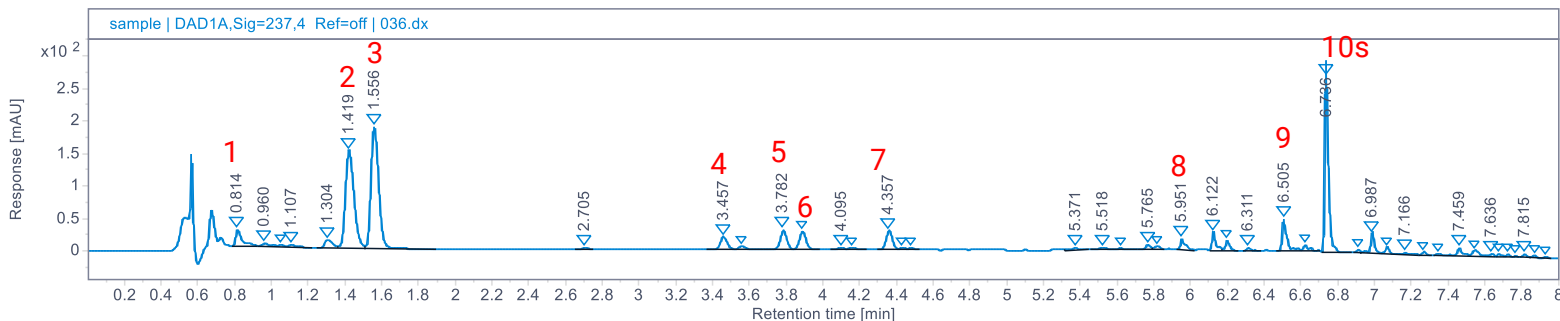
## Injection Results

Peaks		Summary				
#	RT (min)	Area	Area%	Resol. USP	Plates USP	
甘草昔 1	1.539	104.425	25.850		6870	
甘草酸 2	6.731	299.544	74.150	100.5	859094	

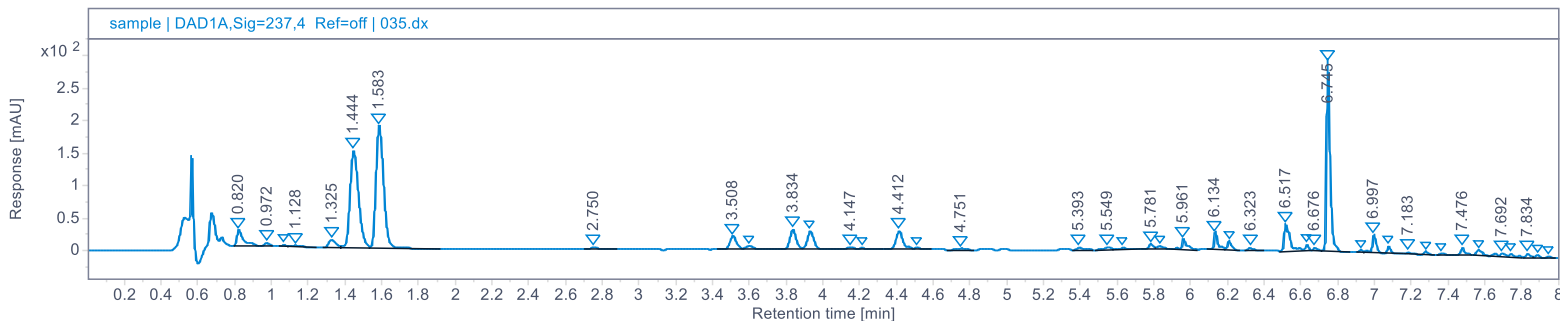
对照品



样品



样品



理论板数满足标准要求

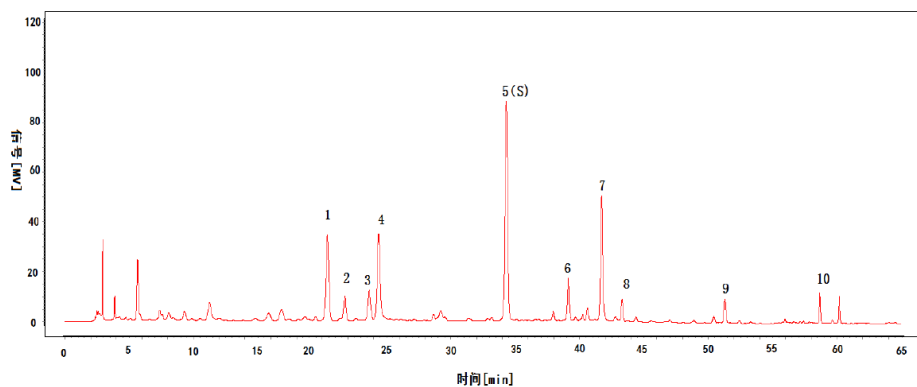
	RT (min)	计算值	参考值
1	0.814	0.52	0.51
2	1.419	0.91	0.92
3 (s)	1.556	1.00	
4	3.457	2.22	2.15
5	3.782	2.43	2.36
6	3.887	2.50	2.49
7	4.357	2.80	2.71
8	5.951	0.88	0.88
9	6.505	0.97	0.96
10 (s)	6.736	1.00	

# 川芎配方颗粒方法改进:从HPLC到UHPLC

【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 $\mu$ 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；柱温为 30 $^{\circ}$ C；检测波长为 300nm。理论板数按阿魏酸峰计算应不低于 4000。

时间 (分钟)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0~5	8	92
5~25	8→20	92→80
25~45	20→40	80→60
45~50	40→80	60→20
50~65	80	20

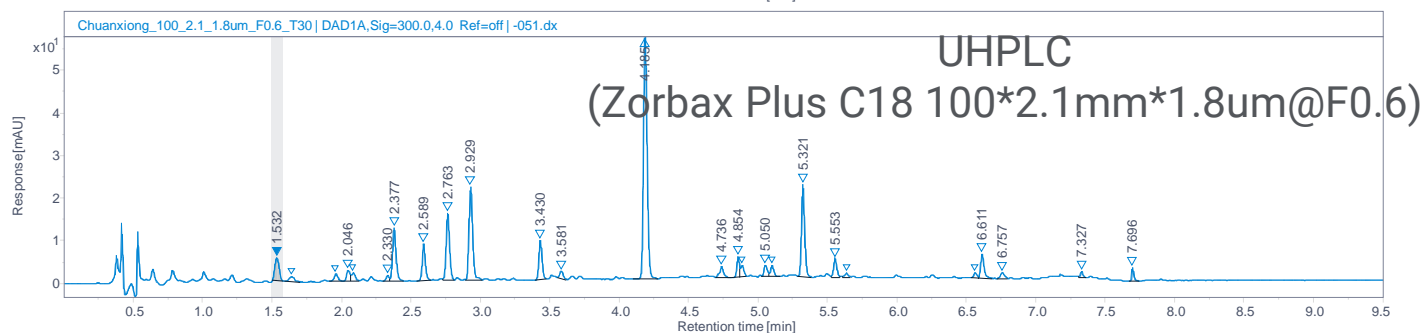
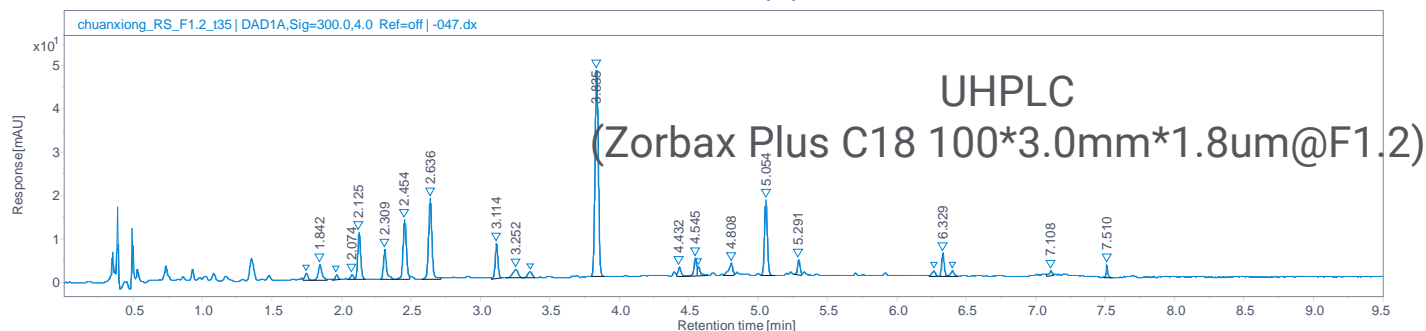
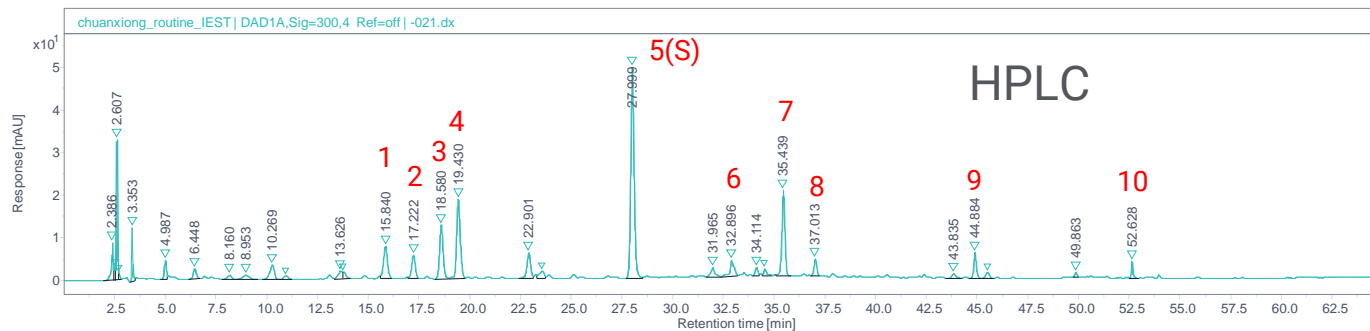


对照特征图谱

峰 1: 绿原酸 峰 2: 隐绿原酸 峰 3: 咖啡酸 峰 5 (S): 阿魏酸

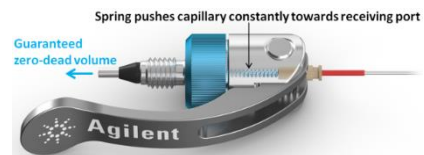
峰 7: 洋川芎内酯 I 峰 10: 洋川芎内酯 A

色谱柱 Luna C18, 4.6mm $\times$ 250mm, 5 $\mu$ m



# 中药及配方颗粒色谱分析方法建立

- 中药配方颗粒色谱柱使用概况
- Agilent色谱柱在标准中的使用
- 标准重现和方法改进
- 新方法建立



# 中药的化学成分

## 中药中目标成分分析

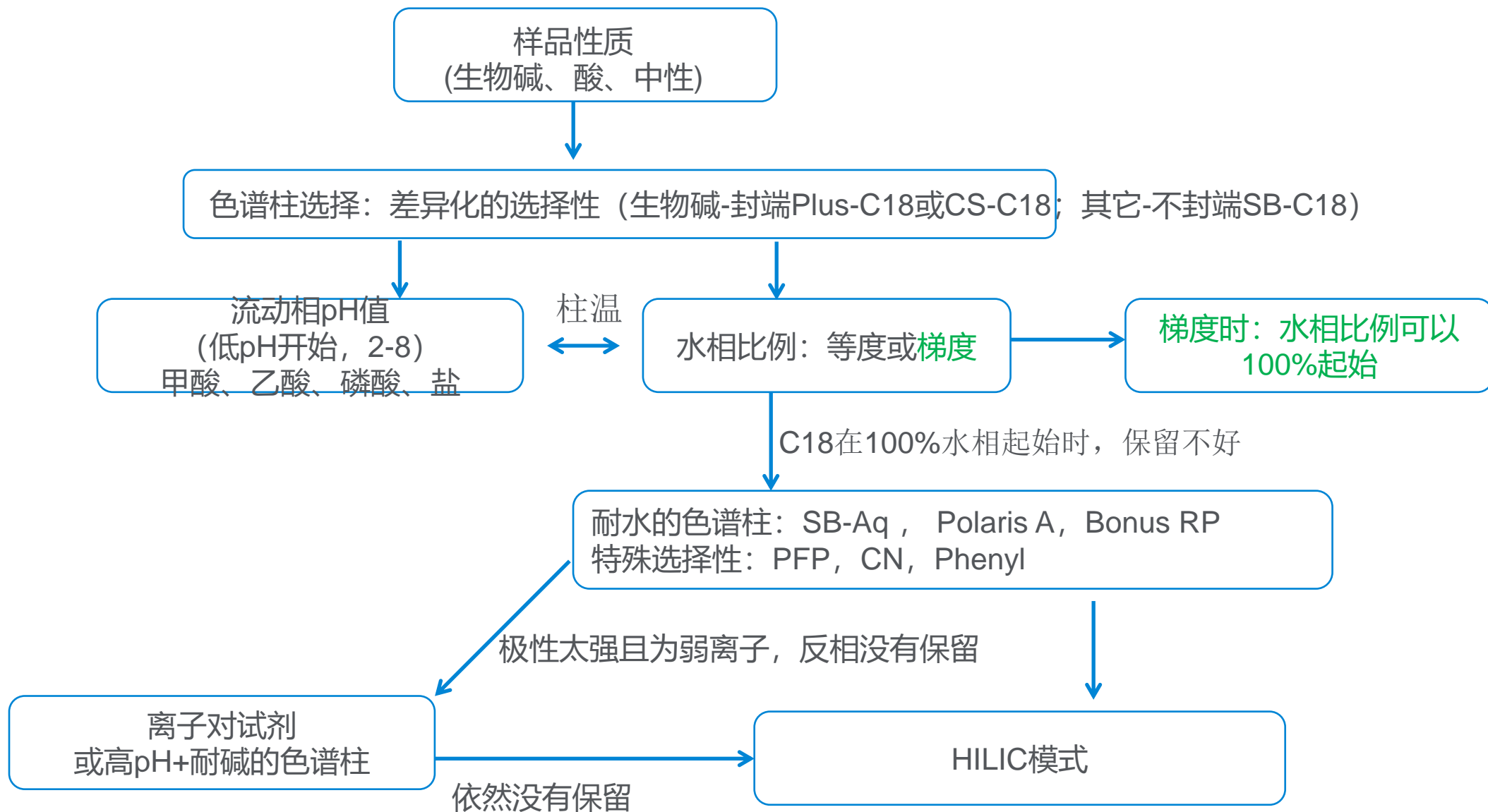
- 皂苷
- 氰苷、芬苷
- 蒽醌苷 黄酮苷 香豆素苷
- 环烯醚萜苷
- 木质素
- 生物碱
- 挥发油
- 有机酸
- 蛋白质
- 维生素（水溶性）
- 氨基酸 糖
- ...

## 组分极性：

- 弱极性
- 中极性
- 极性（RPLC）
- 强极性（HILIC、氨基柱）
  
- 未知物

色谱柱、方法如何选择？

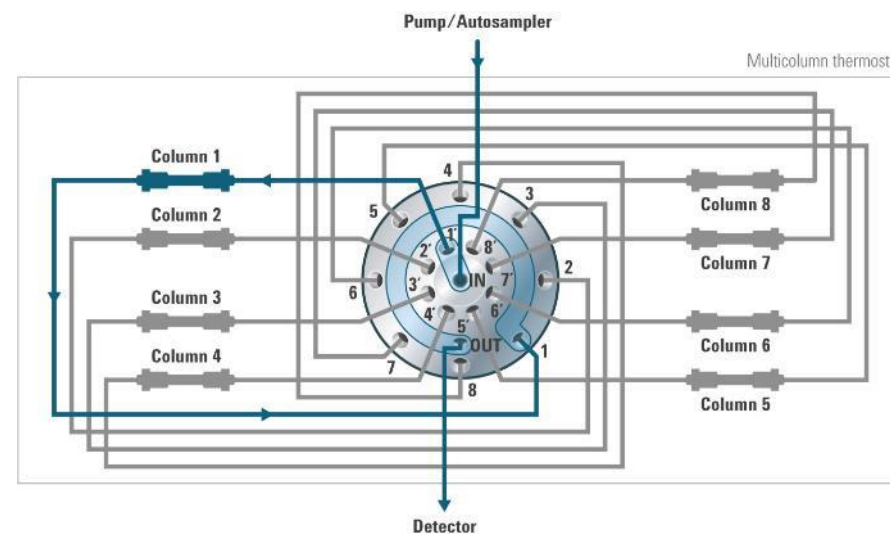
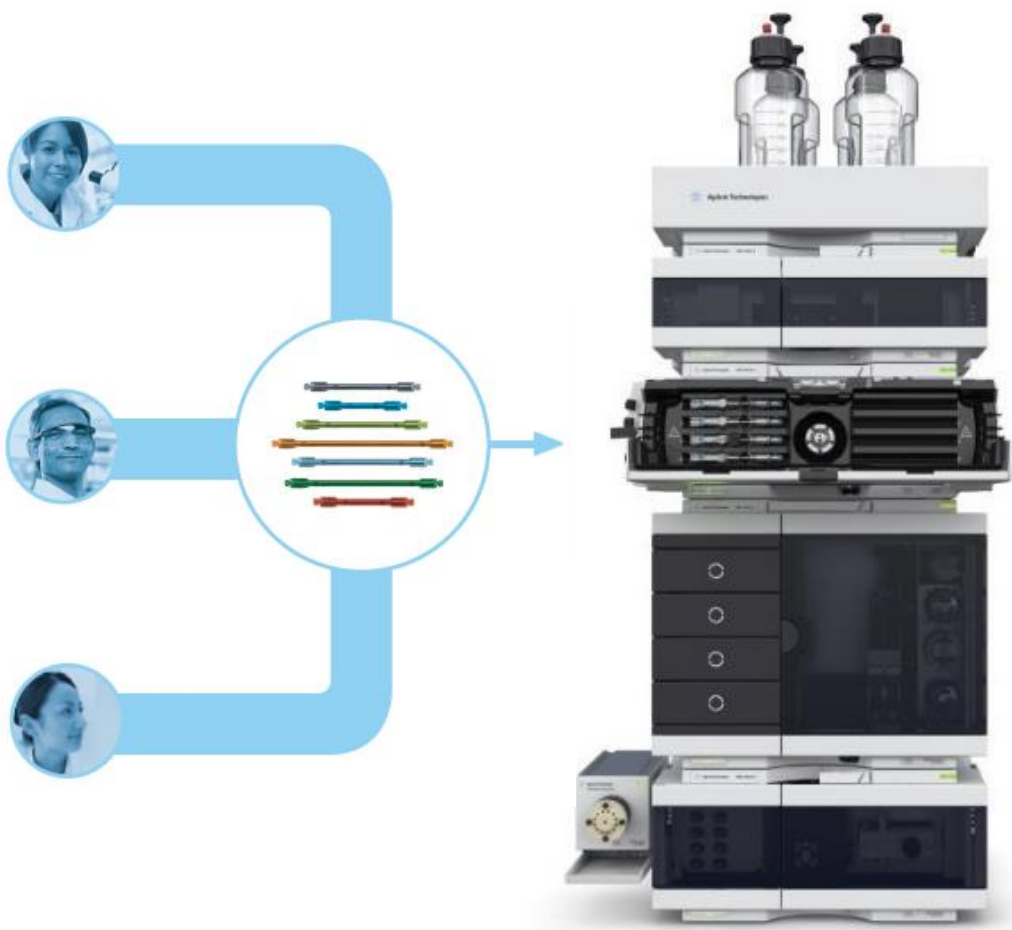
# 新的配方颗粒方法建立-色谱柱选择



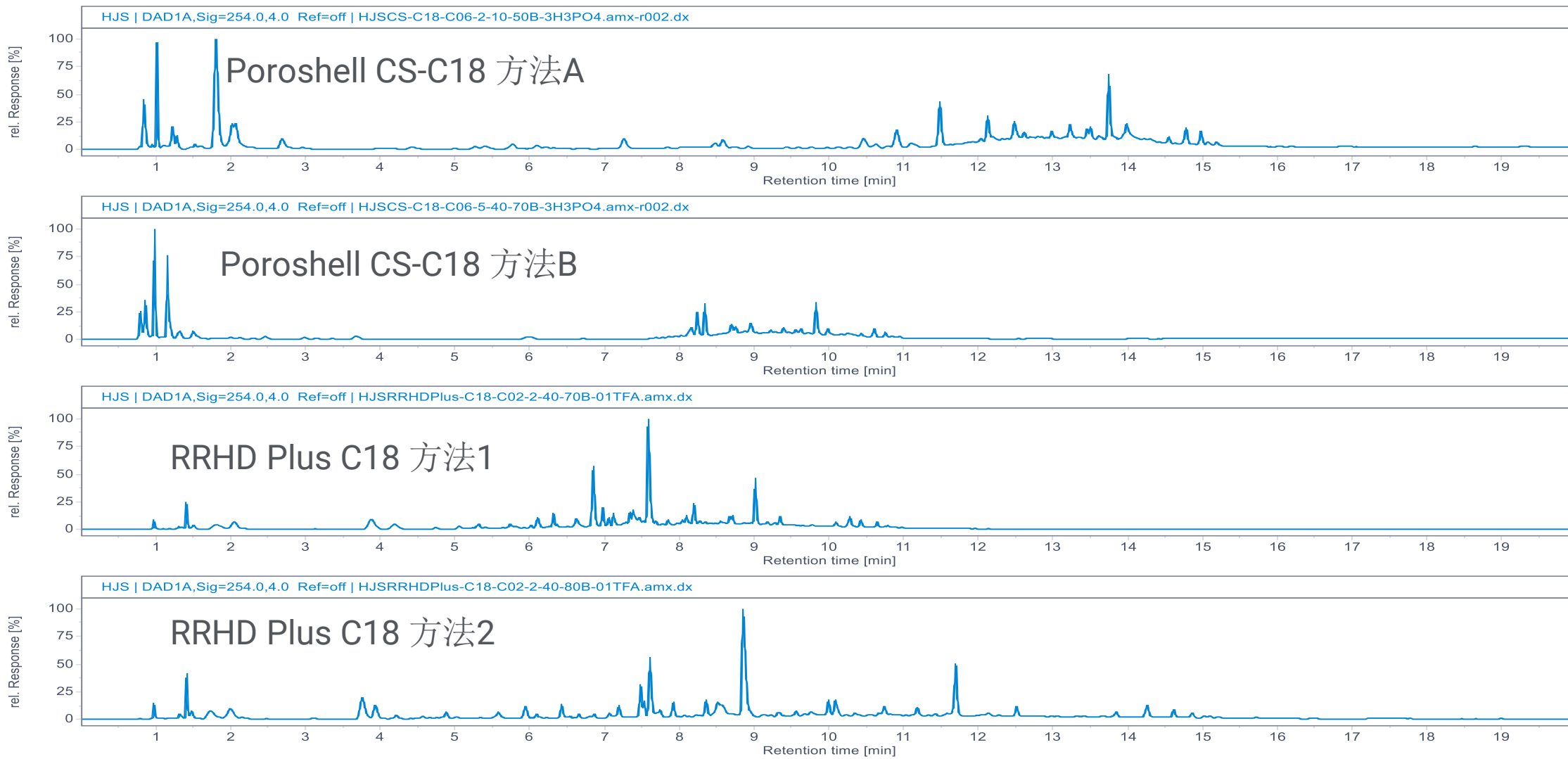
# Agilent 1290/1260/Prime方法开发系统

多个方法，多种溶剂，多根色谱柱

一根柱温箱中多至8根色谱柱！



# 方法初筛：不同方法和色谱柱的组合-RPLC





# HPLC中常用的缓冲溶液

缓冲盐的选择:

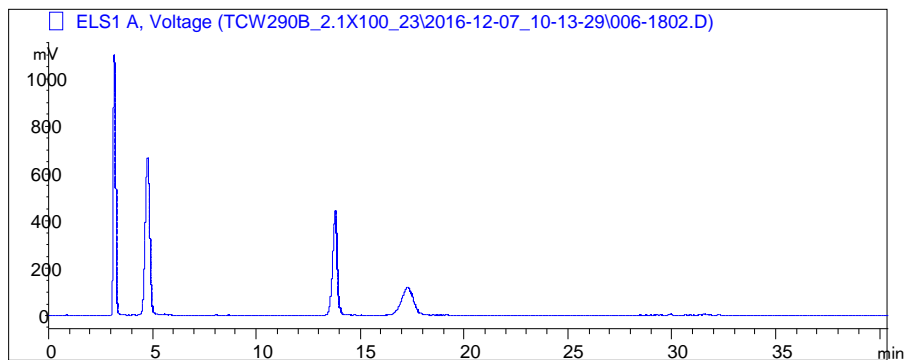
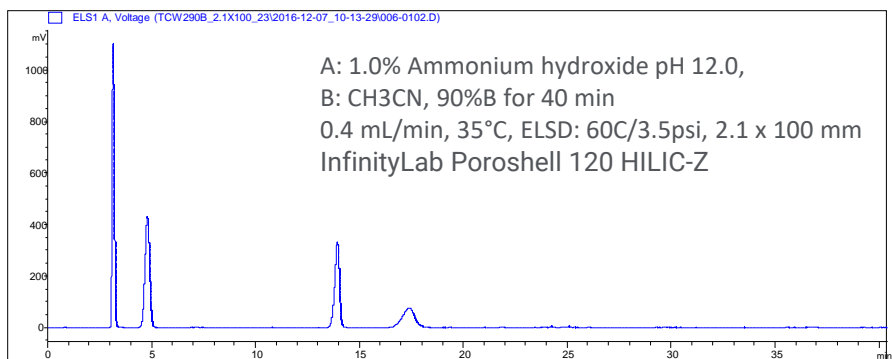
- pH (pKa) 和缓冲容量
- 紫外吸收 (使用紫外检测器时)
- 挥发性 (使用MSD或ELSD时)
- 离子对的性质
- 稳定性和仪器兼容性
  - 优先: 有机酸及其盐(甲酸、乙酸、三氟乙酸)
  - 其次: 磷酸及其盐
  - 最后: TEA与上述酸性添加剂的组合

	v/v	25 °C 下 pK <sub>a</sub>	最大 pH 范围	UV 截止波长 (nm)
三氟醋酸(TFA)	0.1%	0.3		210
	0.05%	0.3		210
	0.01%	0.3		210
磷酸盐, pK <sub>1</sub>		2.1	1.1 – 3.1	< 200
磷酸盐, pK <sub>2</sub>		7.2	5.2 – 8.2	< 200
磷酸盐, pK <sub>3</sub>		12.3	11.3 – 13.3	< 200
柠檬酸盐, pK <sub>1</sub>		3.1	2.1 – 4.1	230
柠檬酸盐, pK <sub>2</sub>		4.7	3.7 – 5.7	230
柠檬酸盐, pK <sub>3</sub>		6.4	5.4 – 7.4	230
碳酸盐, pK <sub>1</sub>		6.1	5.1 – 7.1	< 200
碳酸盐, pK <sub>2</sub>		10.3	9.3 – 11.3	< 200
甲酸盐		3.8	2.8 – 4.8	210 (10 mM)
醋酸 (HAC)	1.0%	4.8	3.8 – 5.8	210
醋酸盐		4.8	3.8 – 5.8	210 (10 mM)
氨水		9.2	8.2 – 10.2	200 (10 mM)
硼酸盐		9.2	8.2 – 10.2	n/a
三乙胺 (TEA)		10.8	9.8 – 11.8	< 200
TRIS-HCl		8.3	7.3 – 9.3	205 (120 mM)

阴影部分表示 LC/MS 应用中常用的缓冲液。

# 强极性成分-HILIC模式

## HILIC模式: Poroshell HILIC-Z柱



## 配体交换模式: Hi-Plex Ca柱或钠柱

Column: Hi-Plex Ca, 300 x 7.7 mm ID  
Eluent: Water  
Flow Rate: 0.6 mL/min  
Temp: 85 °C  
Detector: Varian ELSD

- KEY
1. Stachyose
  2. Raffinose
  3. Sucrose
  4. Glucose
  5. Galactose
  6. Fructose
  7. Mannitol
  8. Sorbitol

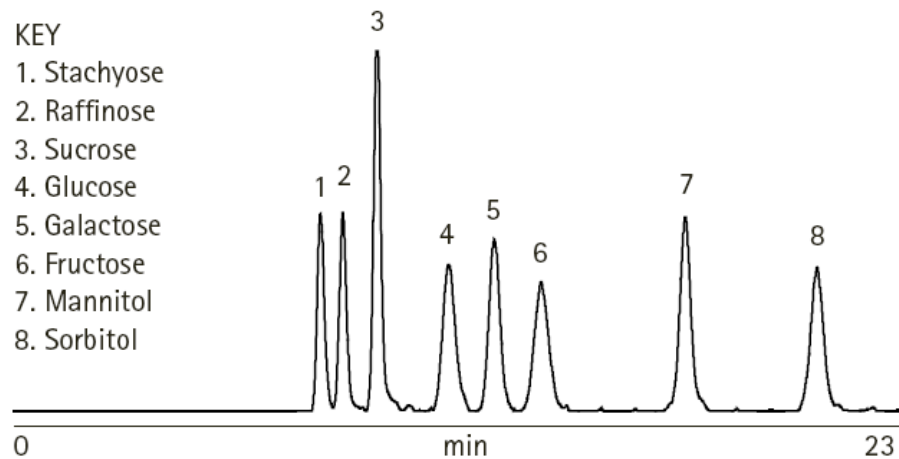
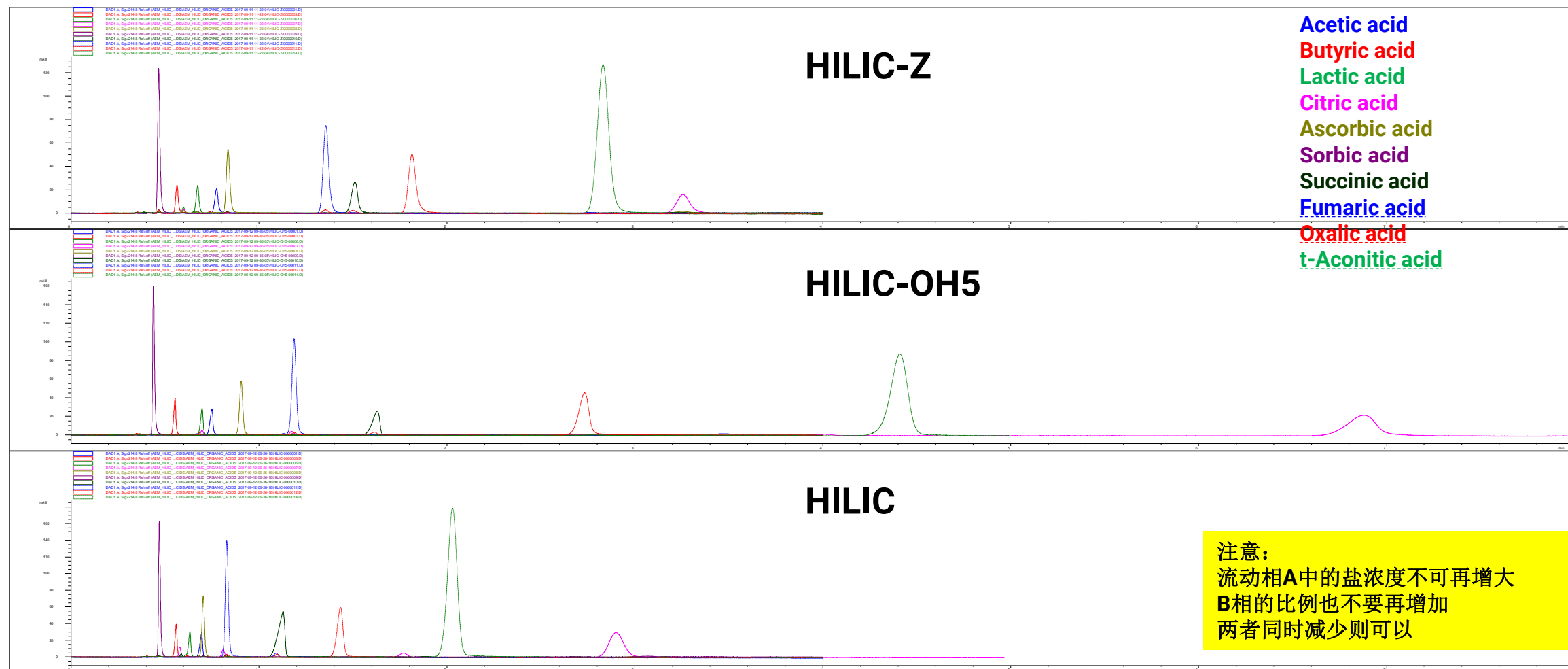


Figure 2: Separation of reference carbohydrates and sugar alcohols using Hi-Plex Ca.

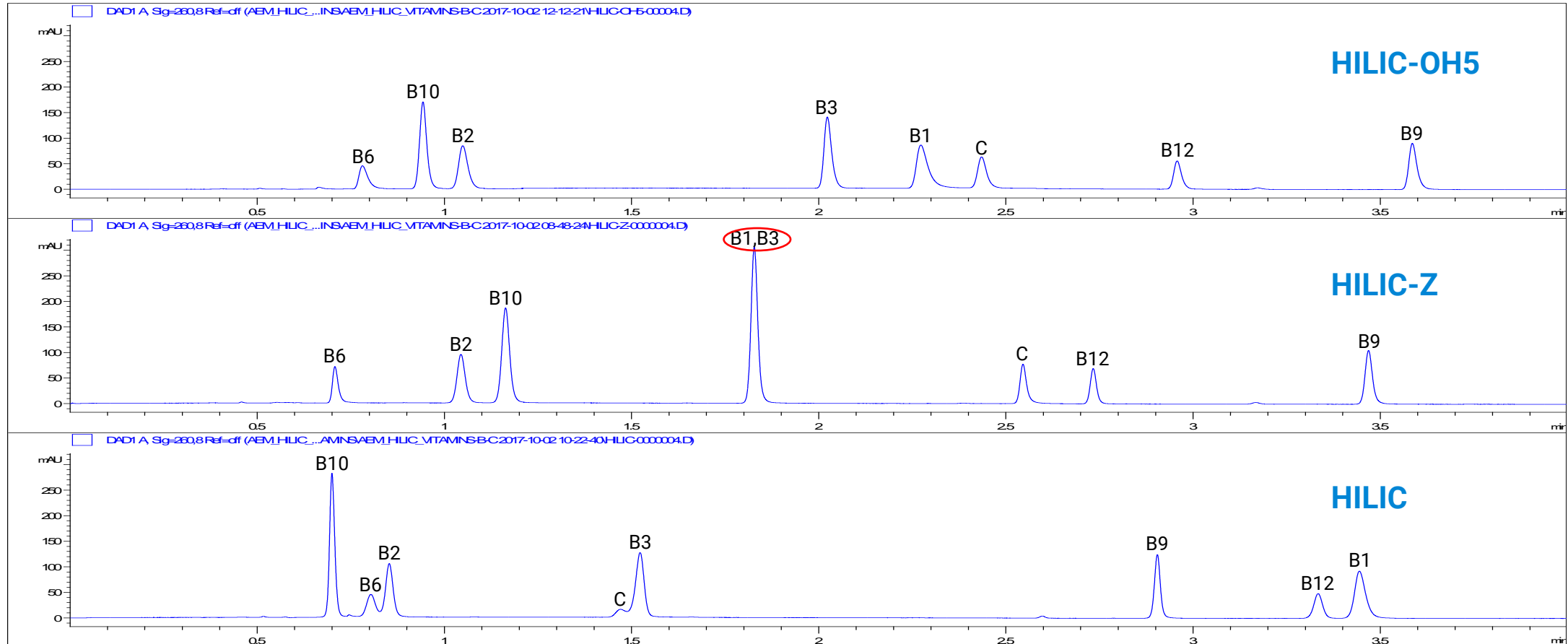
# 有机酸-HILIC模式



Columns used were 2.1 x 100 mm, 2.7  $\mu\text{m}$ ; A: 30 mM Sodium Phosphate + 0.075% Phosphoric Acid (pH ~6.7), B: Acetonitrile, 70% B isocratic, 0.5 mL/min, 30 C, 0.1  $\mu\text{L}$  injection of individual standards (6-14 mg/mL each), DAD 214 nm, 80Hz

# 水溶性维生素-HILIC模式

InfinityLab Poroshell 120 column 2.1 x 100 mm 2.7  $\mu$ m



A: 100 mM Ammonium Acetate + 0.5% Acetic Acid (pH ~4.6) in H<sub>2</sub>O, B: CH<sub>3</sub>CN  
0.5 mL/min, 87% B for 1 min, 87-50% B in 4 min, 3 min re-equilibration  
1  $\mu$ L injection, 40  $^{\circ}$ C, UV detection at 260 nm, 80 Hz

# 配方颗粒色谱柱选择

标准方法：快速、稳定、易于重现

已有标准（国标、省标）：

- Agilent色谱柱：按指定尺寸的货号
- 替代：按照尺寸
  - **UHPLC色谱柱：**
    - 优先：Zorbax Plus-C18
    - 其次：Zorbax SB-C18
    - 表面多孔型：Poroshell EC-C18(1.9um,2.7um)
    - 其它：SB-AQ/Extend等
  - **HPLC色谱柱：**
    - 优先：Zorbax XDB-C18 4.6\*250mm 5um
    - 其次：TC-C18或TC-C18（2）（常规通用、价格优势）
    - 再次：Zorbax SB-C18
    - 特殊：Polaris C18-A等

新标准建立

- **UHPLC系统（1290）：**
  - 优先：Zorbax Plus-C18 2.1\*100/150mm 1.8um
  - 其次：Zorbax SB-C18 2.1\*100/150mm 1.8um
  - 表面多孔型：Poroshell EC-C18
  - 其它：SB-AQ/Extend等
- **HPLC仪器系统（1260）**
- **常规方法-较快速：**
  - 优先：Zorbax Plus-C18 4.6\*150 3.5um
  - 其次：Zorbax SB-C18 4.6\*150 3.5um
- **更快速或更高效：**
  - 优先：Poroshell EC-C18 4.6\*150 2.7um
  - 其次：Poroshell SB-C18 4.6\*150 2.7um
  - 选择性问题考虑：CS/HPH-C18等，容易分离的100mm
- **常规传统方法-时间长：**
  - 优先（分离度）：Poroshell EC-C18 4.6\*250 4um
  - 优先（通用）：Zorbax Plus-C18 4.6\*250 5um
  - 优先（价格）：TC-C18 4.6\*250 5um

# 色谱柱推荐表

Highlight 优先

系统	名称	规格	PN	中药成分分析推荐	新方法建立	备注
UHPLC	ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18	2.1 × 100 mm, 1.8 μm	959758-902	皂苷、生物碱、黄酮	方法开发系统（6柱）	公示标准中UHPLC最通用
	ZORBAX RRHD SB-C18	2.1 × 100 mm, 1.8 μm	858700-902	皂苷、黄酮、香豆素苷、环烯醚萜苷		公示标准中UHPLC最通用
	ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18	2.1 × 150 mm, 1.8 μm	959759-902	皂苷、生物碱、黄酮		
	ZORBAX RRHD SB-C18	2.1 × 150 mm, 1.8 μm	859700-902	皂苷、黄酮、香豆素苷、环烯醚萜苷、有机酸		
	ZORBAX RRHD Extend-C18	2.1 × 100 mm, 1.8 μm	758700-902	生物碱、酮、环烯醚萜		
	ZORBAX RRHT Bonus RP	2.1 × 100 mm, 1.8 μm	858768-901	木质素、生物碱		
	ZORBAX RRHD SB-Aq	2.1 × 100 mm, 1.8 μm	858700-914	有机酸、核苷酸		
	Poroshell CS-C18	2.1 × 100 mm, 2.7 μm	695775-942	生物碱		
	Poroshell 120 EC-C18	2.1 × 100 mm, 2.7 μm	695775-902	皂苷、生物碱、黄酮	表面多孔/特殊需求	公示标准中UHPLC最通用-替代
	Poroshell 120 HPH-C18	2.1 × 100 mm, 2.7 μm	695775-702	生物碱、酮、环烯醚萜		
	Poroshell 120 SB-C18	2.1 × 100 mm, 2.7 μm	685775-902	皂苷、黄酮、香豆素苷、环烯醚萜苷		
	Poroshell 120 HILIC-Z	3.0 × 100 mm, 2.7 μm	685975-324	有机酸、糖、核苷酸		
	Poroshell 120 Phenyl-Hexyl	2.1 × 100 mm, 2.7 μm	695775-912	极性成分、核苷酸		
	HPLC	ZORBAX XDB-C18	4.6 × 150 mm, 3.5 μm	963967-902	皂苷、生物碱、黄酮	HPLC方法
ZORBAX SB-C18		4.6 × 150 mm, 3.5 μm	863953-902	皂苷、黄酮、香豆素苷、环烯醚萜苷	公示标准中HPLC最通用-250mm	
ZORBAX Eclipse Plus C18		4.6 × 150 mm, 3.5 μm	959963-902	皂苷、生物碱、黄酮		
ZORBAX Extend-C18		4.6 × 150 mm, 3.5 μm	763953-902	生物碱、酮、环烯醚萜		
ZORBAX SB-Aq		4.6 × 150 mm, 3.5 μm	863953-914	有机酸、核苷酸		
TC-C18		4.6 × 250 mm, 5.0 μm	518925-902	通用	公示标准中HPLC最通用-250mm	
TC-C18(2)		4.6 × 250 mm, 5.0 μm	588925-902	通用		
Poroshell 120 EC-C18		4.6 × 150 mm, 2.7 μm	693975-902	皂苷、生物碱、黄酮	必要时选择100mm	
Poroshell 120 SB-C18		4.6 × 150 mm, 2.7 μm	683975-902	皂苷、黄酮、香豆素苷、环烯醚萜苷、有机酸	必要时选择100mm	
Poroshell CS-C18		4.6 × 150 mm, 2.7 μm	693975-942	生物碱		
Poroshell 120 HPH-C18		4.6 × 150 mm, 2.7 μm	693975-702	生物碱、酮、环烯醚萜	必要时选择100mm	
Poroshell 120 HILIC-Z		4.6 × 100 mm, 2.7 μm	685975-924	有机酸、糖、核苷酸		

# Thank You!

## 更多方式获取安捷伦最新资讯

关注售前官方微信号  
**安捷伦视界**  
最新方案助您一臂之力  
丰富互动，精彩纷呈



访问**中国市场热点页面**  
获取行业洞见, 聚焦中国方案  
[www.agilent.com/chem/china-topic](http://www.agilent.com/chem/china-topic)



安捷伦热线  
800-820-3278-4  
400-820-3278-4  
(在线技术支持\货号查询\  
产品购买)

雷启福  
Qi-fu.lei@agilent.com