

Vanquish Flex结合电雾式检测器（CAD）在青箱子 and 千年健中药配方颗粒标准中的应用

崔宇、刘晓达、郑喆、金燕

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

关键词

Vanquish Flex, CAD检测器, 中药配方颗粒标准

摘要

本文通过赛默飞Vanquish Flex超高效液相色谱仪结合质量通用型检测器-电雾式检测器（CAD），完成了青箱子和千年健中药配方颗粒标准的特征图谱建立与指标成分含量测定，特征图谱中各特征峰的相对保留时间均在规定的范围内，含量测定中理论塔板数也满足标准的规定值，故依据CAD检测器建立的中药配方颗粒标准方法可完全满足青箱子和千年健的质控需求。

1. 引言

中药配方颗粒经过长期的政策引导与扶持，以及相关标准的陆续发布和实施，全国的中药配方颗粒标准体系逐步形成，通过量质传递与特征图谱控制等研究，实现中药配方颗粒专属性与整体性质量控制。国家药监局已批准颁布了246个中药配方颗粒国家药品标准，2022年第二期又公示了19个中药配方颗粒国家标准。从企标到省标及国标，高效液相色谱法仍然为最主要的质控手段，而且标准呈现逐步提升的趋势，要求我们有更加有力的检测手段，以满足标准要求，为中药配方颗粒各品种的质控把好关。

皂苷类、糖类等作为中药配方颗粒品种中常见的成分，由于其紫外吸收较弱，紫外检测器无法满足其测定需求。电雾式检测器（CAD）已为欧美药典和2020版中国药典收录，在中药配方颗粒标准中更加受到客户的认可，从省标到国标的方法中，千年健^[1]和青箱子^[2]等品种都使用了CAD检测器作为标准的质控手段。CAD的高灵敏度非常适合中药配方颗粒品种中低含量的皂苷类和糖类成分的测定，且检测器的重现性较好，对于分辨配方颗粒不同批次间的差异，具有更加准确的优势。而其他通用型检测器，如示差检测器受环境条件影响大，无法兼容梯度洗脱，灵敏度低，很难满足配方颗粒中复杂成分的分离和灵敏度需求；而蒸发光散射检测器的低灵敏度和相对较差的重现性，对于测定中药配方颗粒中此类成分也不具有优势^[3]。

本文使用CAD检测器建立的UHPLC方法，可完全满足青箱子和千年健中药配方颗粒标准的要求，方法快速高效，灵敏度高，准确性好，可作为配方颗粒质控的可靠手段。

2. 实验部分

2.1 仪器

Thermo Fisher Vanquish Flex超高效液相色谱仪

泵：Vanquish Quaternary Pump（VF-P20-A）（350 μ L混合器），自动进样器：Vanquish Sampler FT（VF-A10-A-02）（配溶剂效应环，P/N：6036.2200），柱温箱：Column Compartment H（VH-C10-A-03），检测器：Vanquish Charged Aerosol Detector H（VH-D20-A），色谱软件：变色龙Chromeleon 7.3。

2.2 试剂与标准品

2.2.1 试剂：乙腈（色谱级，Fisher Chemical），甲酸（质谱级，Fisher Chemical），甲酸铵（质谱级，Fisher Chemical），去离子水（Thermo纯水机）。

2.2.2 标准溶液及样品：青箱子对照药材、青箱苷H对照品、青箱苷I对照品、青箱子供试品、蔗糖对照品、千年健供试品，以上均来自客户企业。

2.3 标准品溶液制备

2.3.1 青箱子：青箱苷H用50%甲醇配制为0.1mg/mL参照液；青箱苷I用甲醇配制为0.1mg/mL参照液。

2.3.2 千年健：蔗糖用50%甲醇配制为0.2mg/mL参照液。

2.4 样品前处理

2.4.1 青箱子对照药材：准确称取青箱子对照药材0.5090g，置具塞锥形瓶中，加50%甲醇15mL，超声30min，摇匀，过滤至进样小瓶中。

青箱子供试品：准确称取供试品0.4024g，置具塞锥形瓶中，加70%甲醇25mL，称重，超声30min，放冷再次称重，用70%甲醇补足减失重量，摇匀，过滤至进样小瓶中。

2.4.2千年健供试品：准确称取供试品0.1013g，置具塞锥形瓶中，加水25mL，称重，超声15min，放冷再次称重，用水补足减失重量，摇匀，过滤至进样小瓶中。

2.5 色谱条件

2.5.1青箱子（特征图谱&含量测定）

色谱柱1: Hypersil Gold aQ 2.1 mm×150 mm, 1.9 μm (PN: 25302-152130)

色谱柱2: Acclaim C18 2.1 mm×150 mm, 2.2 μm (PN: 071399)

流动相: A: 乙腈; B: 0.1%甲酸水溶液,

流速: 0.3 mL/min, 梯度程序见表1:

表1 梯度洗脱程序

Time, min	A, %	B, %
-9	28	72
0	28	72
2	30	70
12	30	70
18	50	50
27	50	50

进样量: 3 μL

柱温: 25℃ (配被动预热, 加热模式: Still Air)

CAD检测器: 雾化温度35℃, 采集频率: 5Hz, 过滤常数: 3.6s

2.5.2千年健（含量测定）

色谱柱: Poroshell 120 HILIC-Z 2.1×100mm, 2.7μm (PN:675775-924)

流动相: A: 乙腈; B: 5mM甲酸铵水溶液, A: B=89:11, 等度洗脱

流速: 0.5 mL/min

进样量: 1μL

柱温: 20℃ (配被动预热, 加热模式: Still Air)

CAD检测器: 雾化温度50℃, 采集频率: 10Hz, 过滤常数: 5s

3. 实验结果与讨论

3.1 青箱子配方颗粒

3.1.1 青箱子对照药材(色谱柱1)

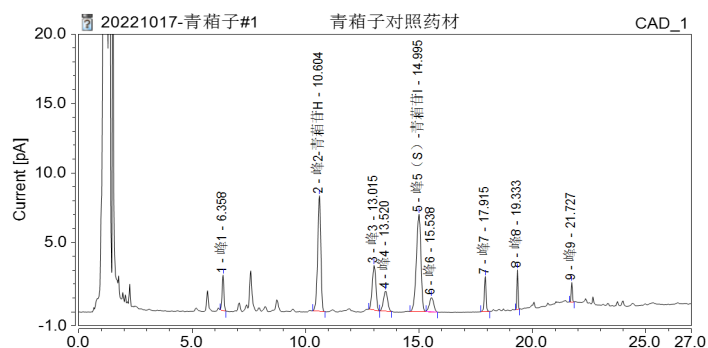


图1. 青箱子对照特征图谱

对照药材中呈现9个特征峰, 其中峰2、峰5 (S峰) 分别与青箱苷H和青箱苷I对照品参照物峰的保留时间相对应。

3.1.2 青箱苷H和青箱苷I对照品 (色谱柱1)

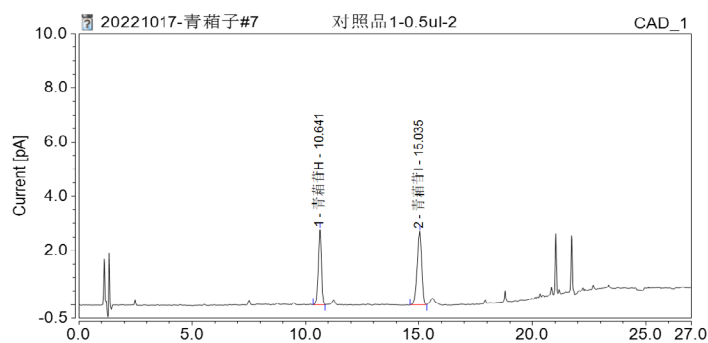


图2. 青箱苷H&I对照品色谱图

青箱苷I的理论塔板数为27992, 远远满足标准中大于3000的要求。

3.1.3 供试品测定结果 (色谱柱1)

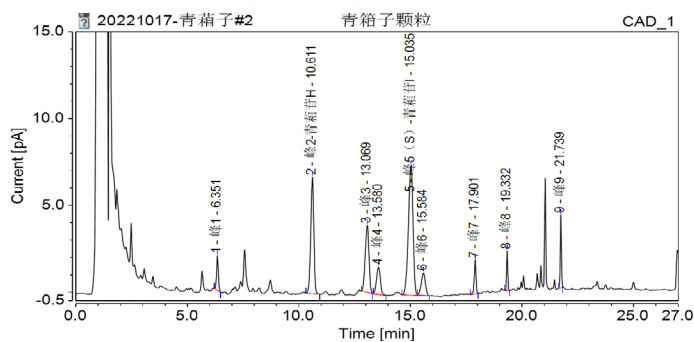


图3. 青箱子供试品色谱图

供试品色谱图中呈现9个特征峰, 并与对照药材参照物色谱中的9个特征峰的保留时间相对应。

表2. 各特征峰与S峰相对保留时间结果

峰编号	规定值	实测值	判定
1	0.369-0.451	0.422	Pass
3	0.783-0.957	0.869	Pass
4	0.819-1.001	0.903	Pass
6	0.936-1.144	1.037	Pass
7	1.08-1.32	1.191	Pass
8	1.152-1.408	1.286	Pass
9	1.305-1.595	1.446	Pass

以青葙苷I对照品参照物峰相对应的峰为S峰，计算其余各特征峰与S峰的相对保留时间，由表2结果可得，其相对保留时间均在规

3.1.4 青葙苷H和青葙苷I对照品 (色谱柱2)

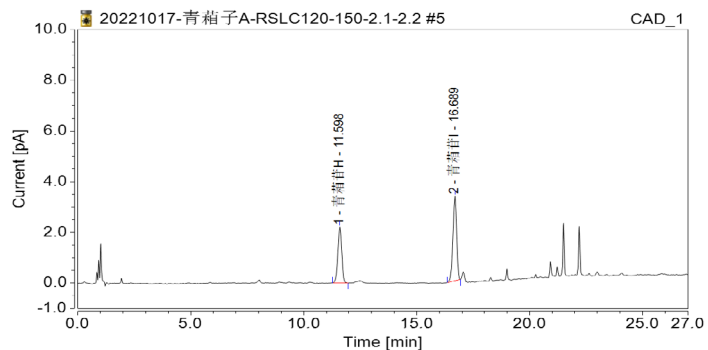


图4. 青葙苷H&I对照品色谱图

青葙苷I的理论塔板数为50631，远远满足标准中大于3000的要求。

3.1.5 供试品测定结果 (色谱柱2)

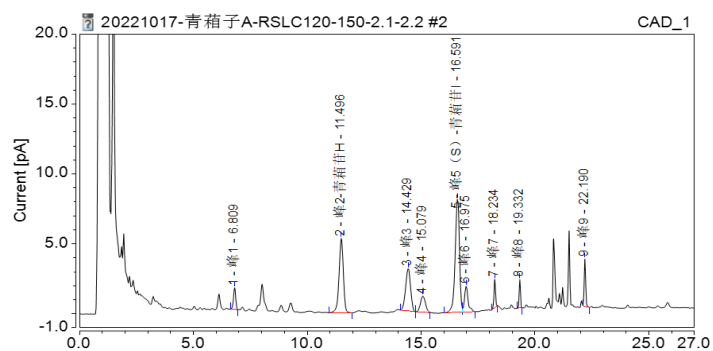


图5. 青葙子供试品色谱图

供试品色谱图中呈现9个特征峰，与标准方法中一致。

表3. 各特征峰与S峰相对保留时间结果

峰编号	规定值	实测值	判定
1	0.369-0.451	0.410	Pass
3	0.783-0.957	0.870	Pass
4	0.819-1.001	0.909	Pass
6	0.936-1.144	1.023	Pass
7	1.08-1.32	1.099	Pass
8	1.152-1.408	1.165	Pass
9	1.305-1.595	1.337	Pass

以青葙苷I对照品参照物峰相对应的峰为S峰，计算其余各特征峰与S峰的相对保留时间，由表3结果可得，其相对保留时间均在规

3.1.6 含量测定结果与方法优化

按照2.5.1色谱条件进行含量测定，由于青葙苷I对照品制备溶液为甲醇，而初始流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液(28:72)，两者溶剂体系极性差异较大，易产生溶剂效应造成青葙苷I色谱峰前沿，造成青葙苷I与相邻成分的分度度变差，且影响积分峰面积，可能导致含量测定结果的不准确，如图6所示。

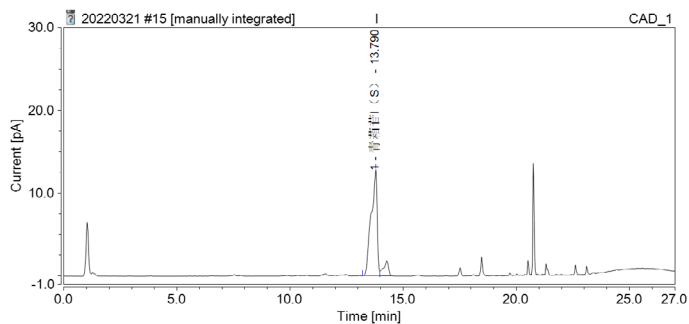


图6. 标准方法中青葙苷I溶剂效应

消除溶剂效应常用方法包括改变样品溶剂使其与流动相一致、减小进样量或自定义进样方式。但对于标准方法中存在方法无法更改的要求，而赛默飞液相推出的溶剂效应环(PN:6036.2200)可在不改变任何方法的基础上消除溶剂效应，只需要将其连接在自动进样器和色谱柱之间即可，操作简便，如图7所示。

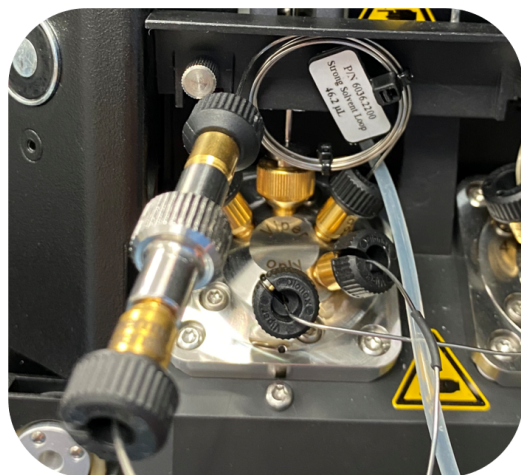


图7. 溶剂效应环 (PN:6036.2200)

连接溶剂效应环后，实验结果如图8所示，青葙苷峰形对称，且其与相邻成分峰的分度度得到较大改善，有利于获得更加准确的含量测定结果。

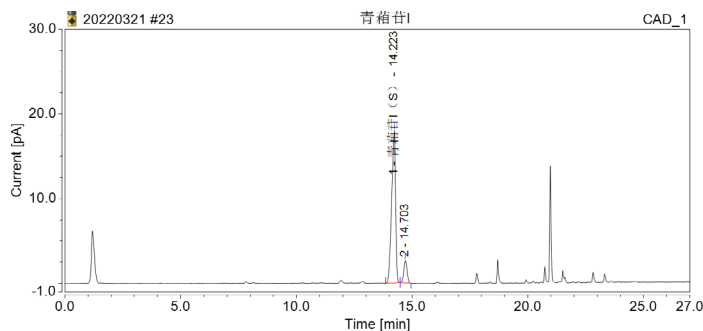


图8 连接溶剂效应环消除溶剂效应

含量测定结果：分别精密吸取青葙苷H和青葙苷I对照品溶液0.5μL、4μL，供试品溶液3μL，注入液相色谱仪，测定，用外标两点法计算所得，每1g青葙子供试品中含青葙苷I和青葙苷H的总量为6.7mg(色谱柱1)、6.6mg(色谱柱2)，满足其规定的3.0-8.5mg的要求。

故对于青葙子配方颗粒，无论是Hypersil Gold aQ 色谱柱或者Acclaim C18色谱柱，结合CAD检测器均可完全满足标准中其特征图谱与含量测定的需求。

3.2 千年健配方颗粒

3.2.1 蔗糖对照品

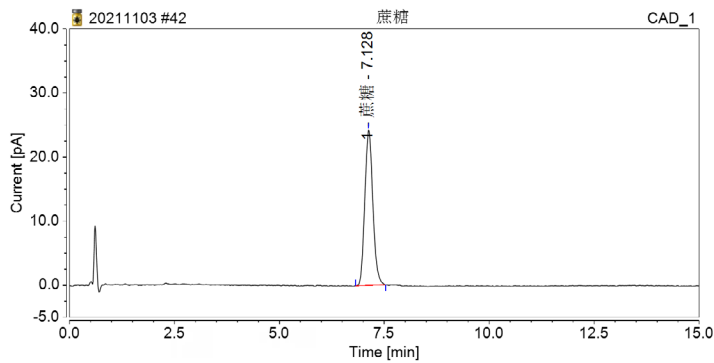


图9 蔗糖对照品色谱图

蔗糖的理论塔板数为6763，满足标准中大于3000的要求。

3.2.2 供试品测定结果

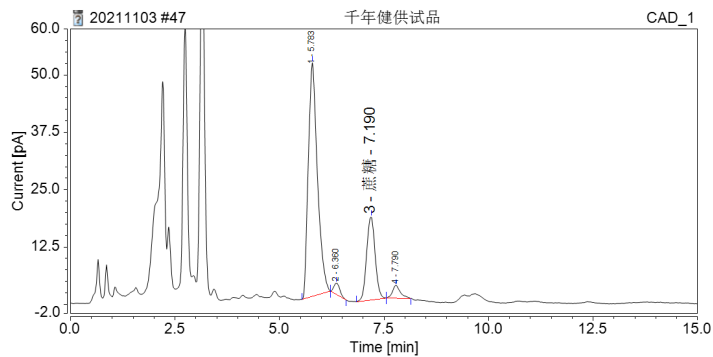


图10. 千年健供试品色谱图

由供试品测定结果图10可得，供试品中蔗糖和其他峰的分度良好，均大于1.5。分别精密吸取蔗糖对照品溶液0.2 μ L、1 μ L和供试品溶液1 μ L，注入液相色谱仪，测定，用外标两点法对数方程计算，每1g千年健供试品中蔗糖含量为34.0mg，满足其规定的4.0-50.0mg的要求。

结论

本文基于Vanquish Flex超高效液相色谱仪结合CAD检测器所建立的标准方法，可完全满足青箱子配方颗粒标准中特征图谱和含量测定的要求，符合江苏省药监局有关千年健配方颗粒标准中含量测定的要求。CAD检测器的高灵敏度和优异的重现性对于测定皂苷类、糖类成分等弱紫外吸收化合物具有独特优势，今后可作为中药配方颗粒更多品种质控的有利方式。

参考文献

- [1] 千年健中药配方颗粒省级标准，江苏省药品监督管理局。
- [2] 青箱子中药配方颗粒国家标准，国家药典委员会。
- [3] 表明昊, 魏蔼玲, 刘红梅, 等. 电雾式检测器在中药分析中的应用[J]. 中成药, 2021, 43(7):6.



赛默飞
官方微信

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

Thermo Fisher
SCIENTIFIC