



## 中药配方颗粒液相色谱解决方案（2021）

- 标准复现 • 标准开发 • 方法转移
- 效率提升 • 技术创新 • 制药合规

# 赛默飞中药配方颗粒液相色谱解决方案总体概况

赛默飞扎根中国，服务中国，始终关注我国中药行业的蓬勃发展。作为科学服务行业的领导者，赛默飞致力于向我们的客户提供优质的产品、创新的应用支持以及周到的售后服务等。关于中药配方颗粒这一细分领域，液相色谱技术为最常用的质量控制手段，建立特征图谱是主要的标准内容，我们的客户与赛默飞液相色谱携手，完成了众多配方颗粒品种的质量标准，多地复核均可证明基于赛默飞液相色谱建立的色谱方法，稳定可靠，重现性强，可直接用于产品生产质控，为中药配方颗粒安全使用奠定了坚实的基础。

赛默飞于2020年3月推出 Vanquish Core 新品液相色谱，一经推出受到广泛欢迎，丰富了赛默飞液相色谱家族，Ultimate3000 系列与 Vanquish 系列液相可以满足中药质量控制研究范畴中应用需求等，基于应用团队的最新成果，现将赛默飞中药配方颗粒解决方案总体方向进行简要描述：

- 1. 满足标准复现需求：**参考现有统一标准公示稿提供的 HPLC、UHPLC 色谱方法，应用团队已复现近 100 个代表性中药配方颗粒品种，各品种的特征图谱中，特征峰个数、相对保留时间结果均与对照特征图谱保持一致，复现结果符合公示稿规定，含量测定结果中，各目标峰分离良好，无干扰，可以满足定量要求。
- 2. 满足标准开发需求：**中药配方颗粒市场潜力巨大，未来种类预计高达 800 种（国家标准及省级标准），UHPLC 技术作为中药分析主流技术将应用于更多中药配方颗粒质量控制，以及现有 HPLC 方法升级成 UHPLC 方法，赛默飞液相色谱平台可提供灵活的配置用于标准开发。
- 3. 满足方法转移需求：**质量标准落地、转移是每个中药企业最为关心的问题，如 Vanquish Core 可以使用方法转移套件，以及连续可调梯度延迟体积等等，满足不同仪器间的方法转移需求。
- 4. 满足效率提升需求：**Vanquish Duo 平台可配置成为双泵双流路，从而实现并联应用，两条流路独立完成分析，通过一次分析时间，可获得两张指纹图谱或者一张指纹图谱加一份含量测定结果，效率提升，事半功倍。
- 5. 满足技术创新需求：**赛默飞独家特色创新性检测器——电雾式检测器（CAD）作为一款通用型检测器，已被收录入 2020 版《中国药典》，原示差检测器或蒸发光散射检测器建立的方法均可在 CAD 检测器实现复现，同时弥补其他通用型检测器的不足，是无紫外吸收成分检测利器；同时支持用户自定义进样程序（UDP），可以实现在线衍生等高级功能。
- 6. 满足制药合规需求：**变色龙软件在制药行业因其可满足合规性需求得以广泛应用，客户可以在该软件实现一站式数据处理，根据产品特性创建个性化报告模板，自动计算相对保留时间，智能判定结果是否符合标准规定，操作简单易行。

# 仪器平台选择：赛默飞中药分析液相色谱



Ultimate 3000SD/RS

Ultimate3000 SD/RS 系统是赛默飞液相色谱最为经典的液相平台，稳定性佳，可提供 620bar (SD) 1034bar (RS) 系统耐压，可配置紫外检测器、二极管阵列检测器、荧光检测器、电雾式检测器等，客户体验良好。拥有多本制药领域应用文集，涵盖化药、中药、生物药及辅料检测等，是科研创新、生产质控的实力保障。



Vanquish Core

Vanquish Core HPLC 系统是一套高度集成的系统，非一体机，结合了分离性能、样品通量、易于使用、可重复性和方法转移效率等优势，满足色谱工作者对于高端 HPLC 的分析需求



Vanquish Flex

Vanquish Flex UHPLC 系统，同样可提供二元泵、双三元泵、四元泵。流速 5mL/min 时仍旧可在 1000bar 下运行，可以更好的实现高效高速样品分析。标配双模式温控柱温箱，可以实现分离方法开发，也可以实现模拟其他品牌液相色谱图的功能。

Vanquish Core 与 Flex 系统均提供二元泵、双三元泵、四元泵及自动进样器、多种检测器配置组合，采用行业领先的第四代 SmartFlow™ 泵技术，通过适应性热效应补偿、主动温度控制、样品预压缩、手紧式单向阀设计和自动化的泵加注、气流冷却技术、LightPipe™ 技术、先进的色谱柱技术和软件方面的一系列创新，带来技术指标上的全面提升。在 Vanquish 系统的研发中，计有三十余项新发明，已有二十项专利获批。Vanquish Duo 平台基于赛默飞独特的双梯度（三元）液相泵（Dual pump），配合在线阀切换技术，满足在线固相萃取、二维分析等高级应用，是中药标准开发平台的最佳选择。



Corona Veo CAD 系列



Vanquish CAD 系列

Corona Veo 电雾式检测器可整合到任何制造商提供的任何液相色谱系统上，不论是 HPLC 还是 UHPLC。其结构坚固、可以堆叠，因此可放置在系统内任何位置。在中药分析中应用不断铺开，例如皂苷类、生物碱类、糖类成分均可实现良好响应，满足定性定量要求，用户发表 SCI 等文章数量逐年递增。

## 色谱柱选择：赛默飞中药分析 推荐色谱柱

作为 HPLC 色谱柱技术（包括硅胶、聚合物和多孔石墨碳制造、键合相生产和色谱柱装填）40 年的领导者，您完全可以信赖 Thermo Scientific HPLC 产品。我们能为中药配方颗粒应用分析提供常规 HPLC、快速 HPLC、和 UHPLC 应用最新、最全面的创新色谱柱系列。

- **Acclaim 色谱柱：** 优异的选择性，解决复杂样品分离问题

Acclaim 色谱柱基于高纯、多孔硅胶颗粒，具备先进的创新型色谱柱键合技术。

提供互补选择性、较高柱效和对称峰形。可用于分离各种分析物，从较小的中性和极性分子至复杂的混合物，是中药配方颗粒分析的理想选择。

- **Hypersil GOLD 色谱柱：** 所有分析物类型都具有出色峰形

针对分离，Hypersil GOLD 柱是新方法开发、出色峰形和提高灵敏度的理想选择。可为色谱工作者提供反相、离子交换、HILIC 或正相色谱的出色峰形。

- **Accucore 色谱柱：** 优异的核壳技术——效率和选择性的完美结合

卓越的表面多孔增强核技术，可实现高速、极高分离度分离，而反压则比常见 UHPLC 色谱柱大大降低。适合于 HPLC 与 UHPLC 快速高效分析。

以上 3 个系列均可提供 Vanquish 型号色谱柱，可耐受 1500bar 高压，和 Vanquish UHPLC 系统可进行强效分离，更快速、更有效地解决您的分析问题。

## 中药配方颗粒标准研发关键点 分析

中药配方颗粒统一标准主要包括两大块色谱相关的内容：首先是【特征图谱】，配方颗粒作为供试品溶液，其特征图谱应与对照药材或者对照品参照物溶液色谱图具有一定的相关性，相关指标有：特征峰的个数、特征峰的保留时间、特征峰与参照峰的相对保留时间及相对峰面积，甚至有个别品种还需要进行指纹图谱相似度评价。此外，紫外吸收特征成分常用 UV 法进行检测，偶见多波长切换的方法，而无紫外吸收的成分（如：麸炒薏苡仁中的甘油三油酸酯）使用蒸发光散射检测器进行测定，往往需要高浓度的对照品或者供试品溶液（如：1.0mg/ml 的薏苡仁油对照品溶液），如何选择合适的通用型检测器实现高灵敏度的检测，应该引起中药研究者的思考；其次是【含量测定】，含量测定的色谱方法与特征图谱的色谱方法可能相同，也可能稍有简化，定量指标也从 1 个到多个不等，其选取不仅与含量多少有关，可能更多的考量在于该指标的生物活性是否是该产品非常重要的药效物质基础，这一点与中药研究热点应不谋而合。

成分复杂，水溶性成分众多，提取溶媒多于流动相存在极性差异等，对于液相色谱方法开发具有一定挑战，同时对于建立的统一标准，如何转移至实验室用于实际工作，复现中需要关注的实验要点，赛默飞液相应团队整理如下，以助力客户在应用中顺利完成：

### 1. 色谱柱的选择

基于应用团队对中药配方颗粒近 100 种的复现结果，考虑到色谱柱的通用性和用户使用的方便程度，特做如下推荐，在研发、质控过程中可以考虑选用：



仪器类型	规格	货号	特色	典型应用品种 (特征图谱)	典型应用品种 (含量测定)
HPLC	Acclaim C18, 5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250mm	059149	保留强, 分离能力高, 稳定性高	白芍、燀苦杏仁、栀子、 枇杷叶、鱼腥草、黄 柏、荷叶、川芎、佛手、 王不留行、秦艽、酒 女贞子、丹参、白鲜 皮、炒牛蒡子、麸炒 薏苡仁、黄芪、燀桃仁、 肿节风、侧柏叶	栀子、蜜枇杷 叶、荷叶、桑 叶、醋延胡索 等
	Hypersil Gold C18, 5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250mm	25005-254630	通用型 C18 色谱柱, 低 碳载量, 分析速度快, 分析碱性化合物有非常 对称的峰型。	前胡、桑叶、蒲公英、 防己	蒲公英等
	Hypersil Gold aQ, 5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250mm	25305-254630	耐受 100% 水色谱柱, 适合极性较大的物质在 高水相条件下分析。	桑寄生	桑寄生
UHPLC	Acclaim C18, 2.2 $\mu$ m, 2.1 $\times$ 100mm	068982	高重现性, 高保留, 高 载样量	山楂、天麻、旋覆花、 甘草、生姜、陈皮、 焦山楂、盐车前子、 茵陈、黄芩、射干	炒牛蒡子、生 地黄、天麻等
	Hypersil Gold aQ, 1.9 $\mu$ m, 2.1 $\times$ 100mm	25302-102130	峰形佳, 高柱效, 耐受 纯水相	生地黄、麸炒枳壳	麸炒枳壳等
	Hypersil Gold Vanquish C18, 1.9 $\mu$ m, 2.1 $\times$ 100mm	25002-102130-V	峰形佳, 高柱效, 耐高压, 灵敏度高	姜厚朴、白芷、升麻	升麻、干姜等
	Accucore C18, 2.6 $\mu$ m, 2.1 $\times$ 100mm	17126-102130	核壳柱, 柱效高, 背压低, 分析速度快	地肤子	鱼腥草、黄柏 等
	Accucore Vanquish C18+, 1.5 $\mu$ m, 2.1 $\times$ 100mm	27101-102130	核壳柱, 高柱效, 耐压高, 分析速度快	当归、薄荷	薄荷



## 2. UHPLC 方法开发

中药配方颗粒标准研发的单位可以将已有 HPLC 方法利用变色龙软件中自带的“Speed up”功能转换成为 UHPLC 方法，实现超快速液相方法的转换，该功能转换的结果符合 2020 版《中国药典》四部 0512 通则的相关规定，请大家放心使用，亦可使用赛默飞网页版方法转换工具 (<https://apps.lab.thermofisher.com/lc-method-transfer-calculator>)。

## 3. 电雾式检测器的使用

电雾式检测器 (CAD) 作为一款通用型检测器，参数设置少，操作简单，维护较易。如有示差检测器或者蒸发光散射检测器的色谱方法，可以直接转移至 CAD 检测器进行复现尝试。需要注意的是：①该检测器同其他通用型检测器，流动相体系不可使用不挥发性酸或者盐；②该检测器灵敏度高，原方法中高浓度样品建议稀释 10-50 倍后进样，避免检测器过载；③流动相条件允许的情况下，该检测器可以直接与紫外检测器串联使用，色谱信息可以互相补充，互相提示，对于反映中药产品真实质量很有帮助。可用于：麸炒薏苡仁配方颗粒、地肤子配方颗粒、黄芪配方颗粒等。

## 4. 梯度洗脱平衡色谱柱

梯度洗脱目前常用于中药复杂体系的分离分析，尤其在超快速液相方法中，短短几分钟内，梯度变换幅度很大，且方法后期并没有注明有恢复初始流动相比例的阶段，就很容易误导个别用户连续进样，使得色谱柱在进样下一针的时候，其内部有机相比例还未平衡，导致色谱峰出峰错乱、堆叠、相对保留时间不符合规定值等异常问题，建议客户在变色龙软件编辑方法时注意在原方法前后增设约 10 分钟（平衡至少 5~10 个柱体积），变色龙软件支持预平衡时间的设置，即预平衡后自动开始进样分析，该法不会变动原色谱方法。

## 5. 强溶剂效应

比如，中药配方颗粒参照物 (对照品 / 对照药材) 溶液的制备，多采用一定比例的甲醇 - 水或乙醇 - 水作为提取溶剂，而色谱方法里设置的流动相起始梯度可能为高比例水相，在

色谱柱分离过程中，由于提取溶剂的洗脱强度高于瞬时流动相的洗脱强度，就容易产生峰拖尾、峰裂分等峰异常现象，甚至可能影响合理积分。建议客户可以采用以下实验小技巧来避免强溶剂效应的产生：①可以减小进样体积，如原 10 $\mu$ l 改为 5 $\mu$ l；②采购赛默飞液相配件 (Strong Solvent Loop, PN: 6036.2200) 装在自动进样器与色谱柱之间；③采用用户自定义进样程序 (UDP) 可自定义编程在线稀释等功能，实例：赤芍配方颗粒 (详情请参见 Application Note 《全新高效液相色谱系统 Vanquish Core 并联分析赤芍配方颗粒特征图谱与含量测定》)；④在自动进样器与色谱柱间使用一段较长的 viper 管路等。

## 6. 梯度延迟体积差异

因统一标准起草单位使用仪器未知，在方法复现过程中可能会由于仪器间延迟体积的差异导致色谱图出现整体提前或者整体靠后的现象，建议：①客户在选配仪器时可以订购不同体积的静态混合器测试使用，在复杂流动相体系的方法开发中可以适当调整混合器的体积，不仅可以满足优异的混合精度，还能够复现标准谱图，最常用到的静态混合器体积有：150 $\mu$ l 或者 350 $\mu$ l；②另外，Vanquish Core 液相色谱系统自带可调延迟体积 (0-230 $\mu$ l)，加配方法转移套件，最大可增至 430 $\mu$ l，可以满足客户在不同仪器间方法转移的需求，可向应用团队索取最新相关应用技术报告。

## 7. 含量测定方法建议

在现有中药配方颗粒国家 / 省级标准中，含量测定的方法多采用等度洗脱的方法，然而并未注明全程洗脱时间，可能会出现目标峰出峰较早，但其他非重点关注成分峰仍在色谱图中不断洗脱出来，建议客户在此类情况中不要急于结束洗脱，为了避免上一针样品中残留成分的干扰，样品采集时间需大于主成分保留时间 6 倍以上，确保上一针样品成分全部洗脱后，方可进行下一针样品的分析。

## 8. 其他：特征峰丢失

该问题的出现往往与前处理是否完整、提取溶剂是否合适、色谱柱保留等问题有关，可以具体问题具体分析再排查。



# 中药配方颗粒应用实例 - 白芍配方颗粒

## (一) 品种介绍:

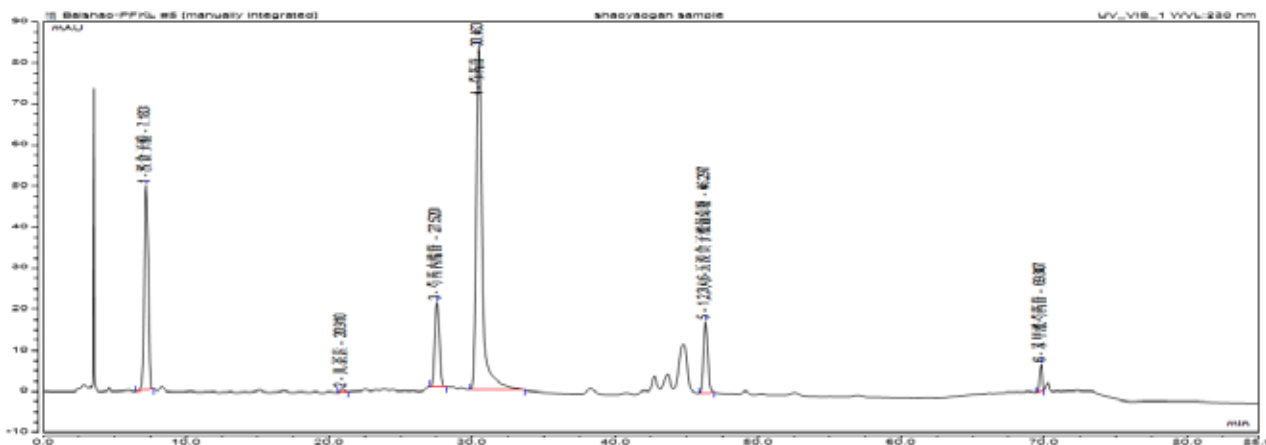
本品为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根经炮制并按标准汤剂的主要质量指标加工制成的配方颗粒。

## (二) 特征图谱研究:

### ① 色谱条件:

仪器型号 与配置	Vanquish 系列 泵: Quaternary Pump C 自动进样器: Split Sampler CT 柱温箱: Column Compartment C ( Still air 被动预热) 检测器: Diode Array Detector CG ( 流通池 :13 $\mu$ L )																																
分析柱	Acclaim C18 4.6mmx250mm, 5 $\mu$ m 或公示稿推荐色谱柱及相同效能柱																																
检测器	DAD: 230nm																																
流动相及比例	A: 乙腈; B: 0.10% 磷酸 <table border="1"><thead><tr><th>Time/min</th><th>Flow rate/mL/min</th><th>A/%</th><th>B/%</th></tr></thead><tbody><tr><td>0-25</td><td>1</td><td>5-15</td><td>95-85</td></tr><tr><td>25-37</td><td>1</td><td>15</td><td>85</td></tr><tr><td>37-38</td><td>1</td><td>15-20</td><td>85-80</td></tr><tr><td>38-58</td><td>1</td><td>20</td><td>80</td></tr><tr><td>58-70</td><td>1</td><td>20-50</td><td>80-50</td></tr><tr><td>70-71</td><td>1</td><td>50-5</td><td>50-95</td></tr><tr><td>71-85</td><td>1</td><td>5</td><td>95</td></tr></tbody></table>	Time/min	Flow rate/mL/min	A/%	B/%	0-25	1	5-15	95-85	25-37	1	15	85	37-38	1	15-20	85-80	38-58	1	20	80	58-70	1	20-50	80-50	70-71	1	50-5	50-95	71-85	1	5	95
Time/min	Flow rate/mL/min	A/%	B/%																														
0-25	1	5-15	95-85																														
25-37	1	15	85																														
37-38	1	15-20	85-80																														
38-58	1	20	80																														
58-70	1	20-50	80-50																														
70-71	1	50-5	50-95																														
71-85	1	5	95																														
柱温	30 $^{\circ}$ C																																
样品前处理	同公示稿																																

### ② 配方颗粒特征色谱图结果:



峰 1: 没食子酸 峰 2: 儿茶素 峰 3: 芍药内酯苷 峰 4 (S): 芍药苷  
峰 5: 1, 2, 3, 4, 6- 五没食子酰葡萄糖 峰 6: 苯甲酰芍药苷

③ 相对保留时间:

峰编号	规定值	实测值
3	0.90±10%	0.90
5	1.59±10%	1.52
6	2.21±10%	2.29

④ 相对峰面积:

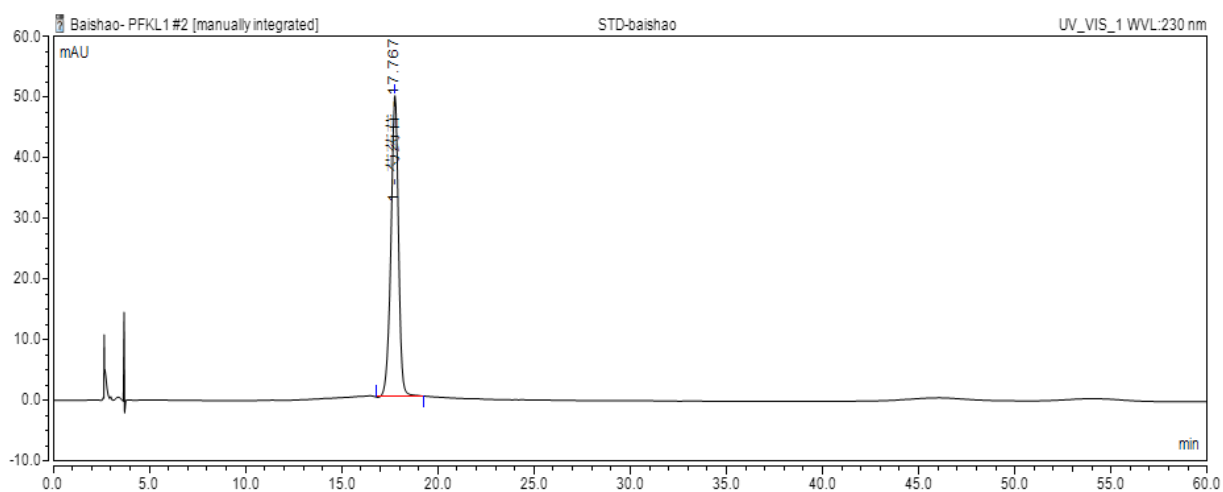
峰编号	规定值	实测值
3	不低于 0.089	0.183
6	不低于 0.020	0.023

(三) 配方颗粒含量测定方法研究

① 色谱条件:

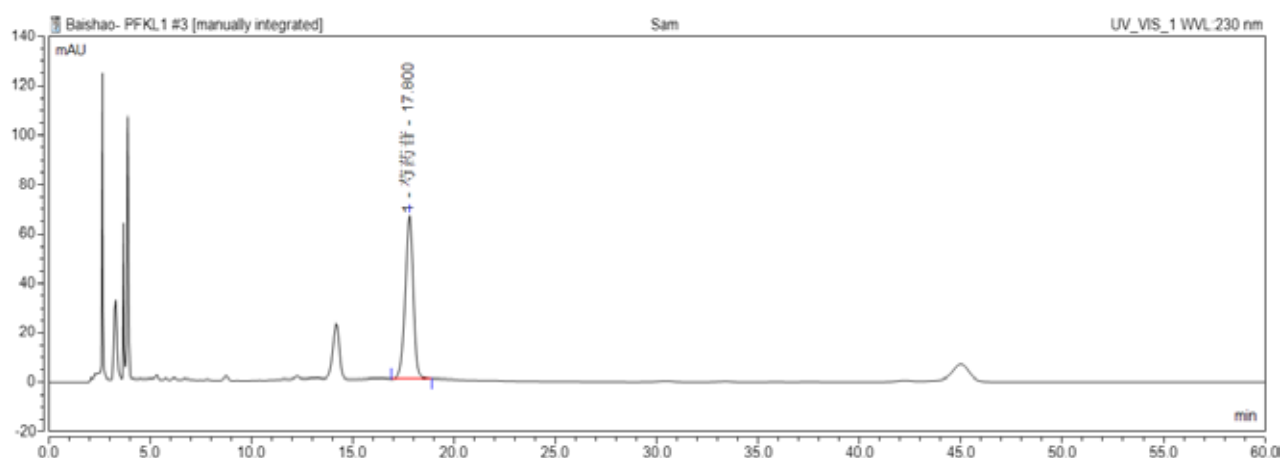
仪器型号 与配置	Vanquish 系列 泵: Quaternary Pump C 自动进样器: Split Sampler CT 柱温箱: Column Compartment C ( Still air 被动预热) 检测器: Diode Array Detector CG ( 流通池: 13 $\mu$ L )
分析柱	Acclaim C18 4.6mmx250mm, 5 $\mu$ m 或公示稿推荐色谱柱及相同效能柱
检测器	DAD: 230nm
流动相及比例	乙腈 -0.1% 的磷酸溶液 (16:84)
柱温	25 $^{\circ}$ C
样品前处理	同公示稿

② 芍药苷对照品色谱图结果:





③ 配方颗粒含量测定（芍药苷）色谱图结果：

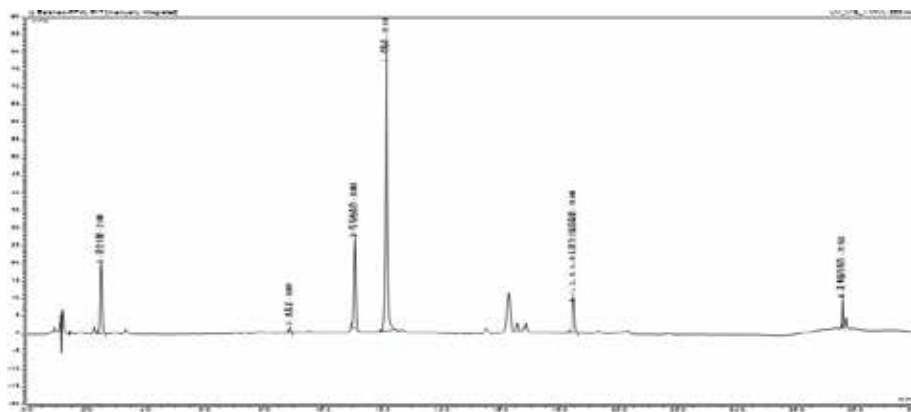


(四) 特征图谱 UHPLC 方法开发研究：

① 色谱条件：

仪器型号 与配置	Vanquish 系列 泵：Quaternary Pump F 自动进样器：Split Sampler FT 柱温箱：Column Compartment H ( Still air 被动预热) 检测器：Diode Array Detector FG ( 流通池：2.5 $\mu$ L )			
分析柱	Acclaim RSLC 120 C18 150mmx2.1mm, 2.2 $\mu$ m			
检测器	DAD: 230nm			
流动相及比例	A: 乙腈; B: 0.10% 磷酸			
	<b>Time/min</b>	<b>Flow rate/mL/min</b>	<b>A/%</b>	<b>B/%</b>
	0-8	0.4	5-15	95-85
	8-11	0.4	15	85
	11-14	0.4	15-20	85-80
	14-22	0.4	20	80
	22-25	0.4	20-50	80-50
	25-26	0.4	50-5	50-95
	26-30	0.4	5	95
柱温	30 $^{\circ}$ C			
样品前处理	同公示稿			

② 配方颗粒特征色谱图结果:



峰 1: 没食子酸 峰 2: 儿茶素 峰 3: 芍药内酯苷 峰 4 (S): 芍药苷  
峰 5: 1, 2, 3, 4, 6- 五没食子酰葡萄糖 峰 6: 苯甲酰芍药苷

③ 相对保留时间:

峰编号	规定值	实测值
3	0.90±10%	0.89
5	1.59±10%	1.48
6	2.21±10%	2.21

④ 相对峰面积:

峰编号	规定值	实测值
3	不低于 0.089	0.24
6	不低于 0.020	0.036



## 部分中药配方颗粒应用实例名录

HPLC 篇				
白芍	鱼腥草	燂桃仁	梔子	蜜枇杷叶
肿节风	燂苦杏仁	黄柏	金银花	荷叶
桑叶	醋延胡索	赤芍	板蓝根	佛手
干姜	王不留行	秦艽	酒女贞子	菟丝子
丹参	白鲜皮	桑寄生	炒莱菔子	炒牛蒡子
天花粉	麸炒薏苡仁	黄芪	川芎	侧柏叶
防己	蒲公英	前胡		
UHPLC 篇				
甘草	肉桂	陈皮	焦山楂	生地黄
山楂	姜厚朴	北柴胡	天麻	淫羊藿
泽泻	炙甘草	旋覆花	续断	防风
钩藤	大黄	麸炒苍术	薄荷	淡竹叶
酒大黄	生姜	牛膝	当归	蜜百部
鸡血藤	蜜紫菀	百合	白芷	大枣
地肤子	麸炒枳壳	盐车前子	升麻	盐补骨脂
茵陈	知母	益母草	杜仲	苦参
黄芩	射干	墨旱莲	虎杖	制何首乌
菊花	半枝莲	牛藤	射干	远志
制远志	红参	诃子	款冬花	牛膝
泽兰	盐巴戟天			

数据来源：赛默飞世尔科技中国应用中心，标准参考：国家药典委员会官方网站

## 赛默飞世尔科技

---

### 上海

上海市浦东新区新金桥路27号3,6,7号楼  
邮编 201206  
电话 021-68654588\*2570

### 北京

北京市东城区北三环东路36号环球贸易中心C座7层/8层  
邮编 100000  
电话 010-87946888

### 广州

广州国际生物岛寰宇三路36、38号合景星辉广场北塔204-206 单元  
邮编 510000  
电话 020-82401600

### 成都

成都市临江西路1号锦江国际大厦1406 室  
邮编 610041  
电话 028-65545388\*5300

### 沈阳

沈阳市沈河区惠工街10号卓越大厦3109 室  
邮编 110013  
电话 024-31096388\*3901

### 西安

西安市高新区科技路38号林凯国际大厦  
1006-08单元  
邮编 710075  
电话 029-84500588\*3801

### 南京

南京市中央路201号南京国际广场南楼1103室  
邮编 210000  
电话 021-68654588\*2901

### 武汉

武汉市东湖高新技术开发区高新大道生物园路  
生物医药园C8栋5楼  
邮编 430075  
电话 027-59744988\*5401

### 昆明

云南省昆明市五华区三市街6号柏联广场写字  
楼908单元  
邮编 650021  
电话 0871-63118338\*7001

---

欲了解更多信息, 请扫描二维码关注我们的微信公众账号

赛默飞世尔科技在全国有共21个办事处。本资料中的信息、说明和技术指标如有变更, 恕不另行通知。



赛默飞  
官方微信



赛默飞  
中国技术培训中心  
China Service Training Center

热线 800 810 5118  
电话 400 650 5118  
[www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC