

安捷伦中药配方颗粒

液相色谱图谱集



目录

| | |
|--------------------------|-----|
| 序言 | 1 |
| 安捷伦配方颗粒质量标准研究策略 | 3 |
| 安捷伦配方颗粒质量标准重现及改进方案 | 10 |
| 配方颗粒标准重现及改进图谱 | 20 |
| 白鲜皮配方颗粒 | 20 |
| 白芷（白芷）配方颗粒 | 24 |
| 板蓝根配方颗粒 | 27 |
| 补骨脂配方颗粒 | 31 |
| 燂桃仁（桃）配方颗粒 | 35 |
| 燂桃仁（山桃）配方颗粒-山东省标 | 39 |
| 炒莱菔子配方颗粒 | 41 |
| 炒桃仁（桃）配方颗粒 | 45 |
| 炒桃仁（山桃）配方颗粒-山东省标 | 49 |
| 炒王不留行配方颗粒 | 51 |
| 炒栀子配方颗粒 | 55 |
| 车前草（车前）配方颗粒 | 59 |
| 川芎配方颗粒 | 61 |
| 大青叶配方颗粒 | 65 |
| 大枣配方颗粒 | 69 |
| 淡竹叶配方颗粒 | 73 |
| 当归配方颗粒 | 77 |
| 独活配方颗粒 | 81 |
| 杜仲配方颗粒 | 85 |
| 防己配方颗粒 | 89 |
| 粉葛配方颗粒 | 93 |
| 焦栀子配方颗粒 | 97 |
| 金钱草配方颗粒 | 101 |
| 金银花配方颗粒 | 105 |
| 酒丹参配方颗粒 | 111 |
| 苦杏仁（西伯利亚杏）配方颗粒 | 115 |
| 龙胆（龙胆）配方颗粒 | 119 |
| 蜜桑白皮配方颗粒 | 123 |
| 蜜旋覆花（旋覆花）配方颗粒 | 127 |
| 蜜紫菀配方颗粒 | 131 |
| 墨旱莲配方颗粒 | 135 |
| 蒲公英（碱地蒲公英） | 139 |
| 前胡配方颗粒 | 143 |
| 桑白皮配方颗粒 | 147 |
| 桑枝配方颗粒 | 151 |
| 升麻（大三叶升麻）配方颗粒 | 155 |
| 烫骨碎补配方颗粒 | 159 |

| | |
|-------------------|-----|
| 桃仁（桃）配方颗粒..... | 163 |
| 土茯苓配方颗粒..... | 167 |
| 王不留行配方颗粒..... | 171 |
| 旋覆花（旋覆花）配方颗粒..... | 175 |
| 盐补骨脂配方颗粒..... | 179 |
| 鱼腥草配方颗粒..... | 183 |
| 远志（远志）配方颗粒..... | 187 |
| 泽兰配方颗粒..... | 192 |
| 栀子配方颗粒..... | 196 |
| 枳壳配方颗粒..... | 200 |
| 紫苏子配方颗粒..... | 204 |
| 紫菀配方颗粒..... | 208 |
| 知母配方颗粒..... | 212 |

Agilent InfinityLab 液相色谱系列..... 218

序言

中药配方颗粒政策解读

中药配方颗粒是由单味中药饮片经水提、浓缩、干燥、制粒而成的颗粒，按照中医临床处方调配后，供患者冲服使用。与传统中药汤剂相比，中药配方颗粒只需要采用不同药材的颗粒进行组方调剂，然后用热水冲服即可，极大解决了饮片煎煮、服用、携带不方便的问题。

国家对中药配方颗粒的发展始终保持积极谨慎的态度。过去 30 年间，相关政府部门出台了一系列政策、法规（见下图），在不同层面上促进了中药配方颗粒的发展。中药配方颗粒符合中药现代化、创新化的发展要求，其行业接受度和地位都得到进一步的提高。特别是 2021 年 2 月 10 日，国家药监局、国家中医药局、国家卫生健康委和国家医保局联合发布《关于结束中药配方颗粒试点工作的公告》后，中药配方颗粒一时成为中医药产业炙手可热的话题。市场准入放开，加之医保报销覆盖范围的逐步推进，未来中药配方颗粒的市场前景值得期待。



未来市场机遇与挑战并存

中药配方颗粒市场虽然充满机遇，但是由于相关标准要求非常严格，相关企业也将面临巨大的挑战。与《关于结束中药配方颗粒试点工作的公告》同步发布的还有《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》。该技术要求从基本要求、原辅料、标准汤剂、生产工艺、标准制定、稳定性和标准复核等几个方面规范了标准研究制定的过程。按照该技术要求，企业应有配套的中药材种植基地，并且都要制定中药材、中药饮片的企业内控标准，从源头上确保投料中药材的质量可靠性。此外，该技术要求覆盖原料药材、中药饮片、标准汤剂及制备过程、中药配方颗粒成品，体现中药全过程质量控制的特点及方向，尤其是重视了农药残留、重金属、真菌毒素等安全性方面的评价指标，既抓住了中药质量真伪鉴别和足量投料的关键点，亦体现了中药复杂体系质量控制的特点。

目前，除 160 个常用配方颗粒的国家标准已经颁布以外，另有 30 多个中药配方颗粒国家药品标准正在审评过程中，并且已有企业正在针对后续的 246 个品种开展标准研究。首批中药配方颗粒国家标准的制定贯彻了《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》中“全过程管理”、“标准汤剂比对”和“建立严谨的质量标准”的管理理念和要求，目标是形成“最严谨的标准”。随着这套严谨的配方颗粒质量标准体系的建立，中药配方颗粒市场的准入门槛可能会更高，也将对企业的规模和质量管控都提出更高的要求。未来随着行业竞争日益激烈，现有的市场格局有望被打破。业内专家认为，对于药企来说，未来更需要在源头质量监管、药效研究、技术创新等方面下足功夫，才有望获得更多的发展机遇。

安捷伦配方颗粒质量标准研究策略

特征图谱/指纹图谱方法开发

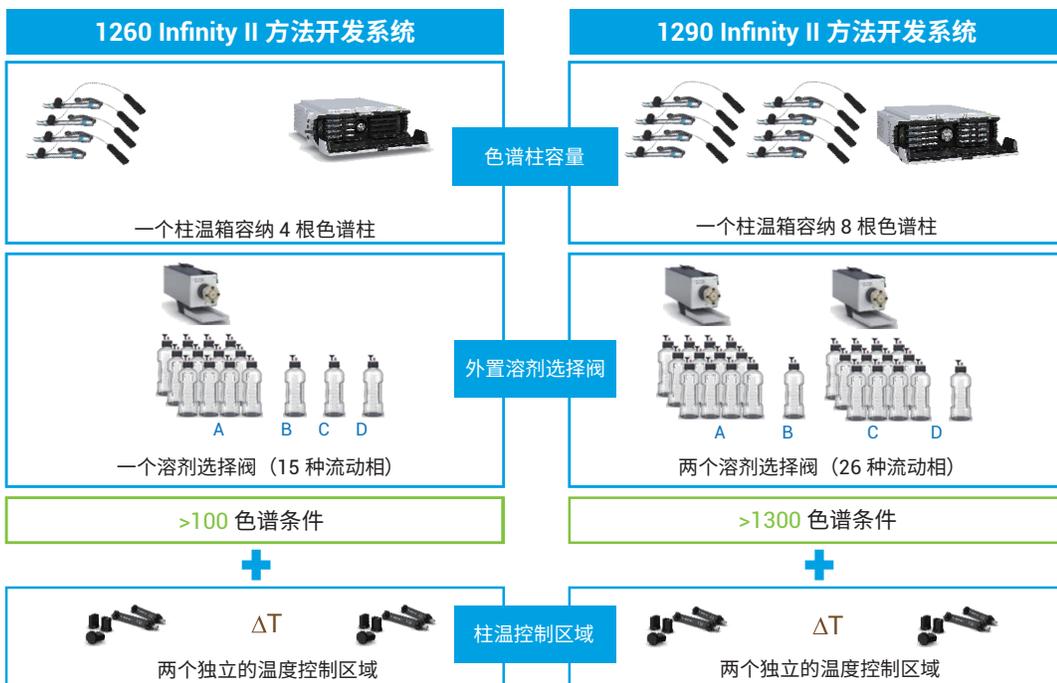
中药配方颗粒作为传统中药饮片的一种补充形式，经过一系列提取、分离、浓缩、干燥、制粒工艺后，其性状已经发生根本变化。因此，对中药配方颗粒质量标准的研究尤为重要。2021年2月10日发布的《关于结束中药配方颗粒试点工作的公告》中明确要求：“中药配方颗粒生产企业应当履行药品全生命周期的主体责任和相关义务，实施生产全过程管理，建立追溯体系，逐步实现来源可查、去向可追，加强风险管理。”其中，以整体质量控制为目的的特征图谱/指纹图谱分析需要涵盖中药材、中药饮片、中间体和成品，是“实施生产全过程管理”的至关重要的环节。液相色谱法以其适用范围广、分离能力强、自动化程度高，已经成为特征图谱/指纹图谱分析的首选分析技术。

中药配方颗粒物质基础复杂、各化学成分含量差异大并且主要由极性化合物组成，为液相色谱特征图谱/指纹图谱的建立带来了挑战。为达到特征图谱/指纹图谱对产品整体性、特征性和稳定性控制的要求，需要对色谱柱种类、流动相类型、温度、梯度乃至检测器类型等参数进行筛选。自动、全面地筛选出最优化的色谱分离条件，是保证特征图谱/指纹图谱分析稳定性的必要条件。

方法开发系统

基于 Agilent 1260 Infinity II 和 1290 Infinity II 液相色谱系统，安捷伦提供了两款可自动筛选优化色谱分离条件的智能化分析方法开发系统，能够满足不同分析时间、不同操作习惯和不同实验室投资预算的需求。1260 Infinity II 液相色谱平台以 HPLC 方法开发为主，并兼顾 UHPLC 性能，可实现 100 多种色谱条件的组合；1290 Infinity II 液相色谱平台代表了最高 UHPLC 性能，采用多溶剂、多色谱柱组合，加上 1300 bar 的超高系统耐压性，可实现 1300 多种色谱条件组合。根据目前已经发布和公示的配方颗粒标准来看，UHPLC 方法大量应用于特征图谱/指纹图谱分析和含量测定。因此，建议相关研究人员将 1290 Infinity II 液相色谱平台作为方法开发系统的首选。

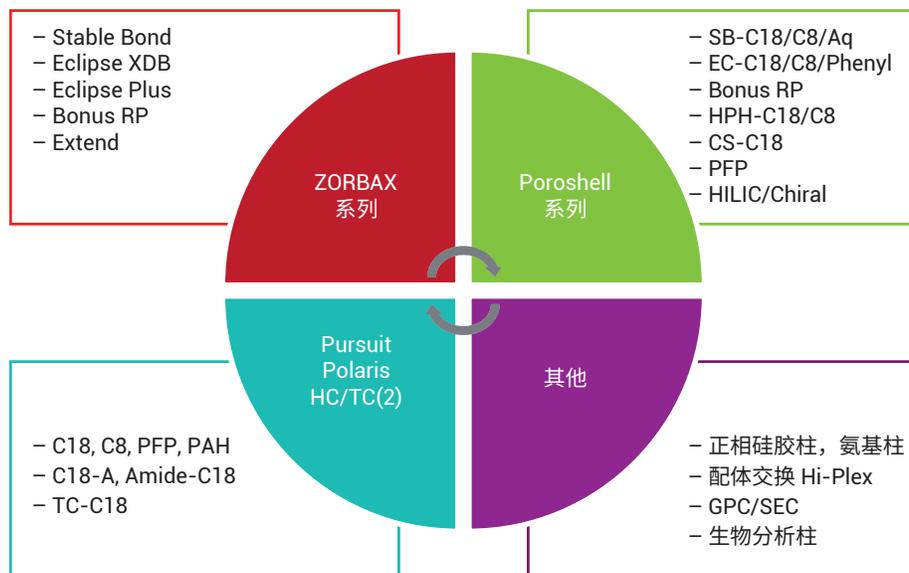
另外，集成了向导式方法开发插件的液相色谱软件，可以根据项目设定实现多因素、多水平正交实验，轻松完成各种色谱条件的组合，并根据实验结果以智能化报告形式提供最佳色谱分离条件。智能化软件与高性能硬件相结合，使用户能够以最少的干预完成系统冲洗、色谱柱平衡、正交实验和色谱柱保存等一系列步骤，完全模拟传统意义上的手动方法开发过程。同时，智能化报告包含详细的文件名、色谱柱、流动相、温度和梯度等信息，可完全实现无纸化操作，为研发人员节省大量时间和精力。



1260/1290 Infinity II 方法开发系统简介

色谱柱选择

Agilent ZORBAX 系列色谱柱已经成为中药分析中最通用的色谱柱系列（例如 SB-C18 和 XDB-C18 等）。而且安捷伦于 2003 年推出了全球首款亚 2 微米粒径的色谱柱，掀开了 UHPLC 分析的序幕，为利用色谱法快速高效地分析中药带来了革命性的变化。近年来，InfinityLab Poroshell 120 系列固定相不断丰富，为采用常规仪器开发 UHPLC 分析方法提供了具有不同选择性的色谱柱。另外，安捷伦还提供 Pursuit XRS、Polaris、TC/HC 等色谱柱系列。



安捷伦色谱柱系列分类

方法开发过程中，可以根据色谱柱选择性的差异来选择合适的填料完成分析。关于色谱柱选择性差异，可参考疏水减法模型 (HSM, Hydrophobic Subtraction Model) 中相似度因子 F_s 的计算结果，比较色谱柱之间的相似度 ($F_s < 3$) 或差异度 ($F_s > 3$)。在实践工作中，C18 色谱柱应用最广泛，其中封端和不封端导致的选择性差异最值得关注。因此，在配方颗粒的特征图谱分析或含量测定中，不封端 SB-C18、封端 XDB/Plus C18、TC-C18 成为最通用的色谱柱。根据样品中关注的组分和液相色谱系统的不同，可根据下表 1 推荐来选择合适的色谱柱。

常用耗材选择

由于样品基质的影响，色谱柱容易损坏，为了更好地保护色谱柱，延长色谱柱的使用寿命，并获得更好的分析结果，提高实验室效率，推荐下列耗材在 HPLC 和 UHPLC 中搭配使用。

| 配方颗粒相关耗材 | HPLC 系统耗材清单 | | UHPLC 系统耗材清单 | | 备注 |
|----------|-------------|--|--------------|--|-----------------------|
| | 货号 | 描述 | 货号 | 描述 | |
| 针式过滤器 | 5191-4295 | ValueLab PTFE-Q 针式滤头, 13 mm 0.45 μm , 100/pk | 5191-4294 | ValueLab PTFE-Q 针式滤头, 13 mm 0.2 μm , 100/pk | 水相有机相 (水-甲醇提取液) 兼容的滤膜 |
| 在线过滤器 | 5067-1602 | 用于 UHPLC 在线过滤器, 含内径 4.6 mm, 孔径 0.5 μm 滤芯, 带 90 mm 毛细管 | 5067-1603 | 用于 UHPLC 在线过滤器, 含内径 2.1 mm, 孔径 0.2 μm 滤芯, 带 90 mm 毛细管 | 过滤样品及流动颗粒物, 保护色谱柱 |
| 手拧接头 | 5067-6166 | 快速连接手拧接头组件, 含 0.17 \times 105 mm | 5067-5957 | 快速连接手拧接头组件, 含 0.12 \times 105 mm | 色谱柱连接、免扳手、万能接头 |
| 溶剂消除管线 | G2260-87301 | 0.5 mm 内径, 400 mm 长不锈钢管线 | G2258-87301 | 0.5 mm 内径, 160 mm 长不锈钢管线 | 溶剂效应消除器 |
| 进样瓶 | 5190-9616 | ValueLab 透明螺纹口 2 mL 进样小瓶, 100 pk | 5190-9616 | ValueLab 透明螺纹口 2 mL 进样小瓶, 100 pk | 样品瓶 |
| 瓶盖 | 5190-9024 | ValueLab PTFE/硅胶固定隔垫, 瓶盖, 100 pk | 5190-9024 | ValueLab PTFE/硅胶固定隔垫, 瓶盖, 100 pk | 样品瓶盖 |

表 1. 中药常见成分分析推荐色谱柱

| 系统 | 名称 | 中药成分分析推荐 |
|-------|--|----------------------|
| UHPLC | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 | 皂苷、生物碱、黄酮 |
| | ZORBAX RRHD SB-C18 | 皂苷、黄酮、香豆素苷、环烯醚萜苷 |
| | ZORBAX RRHD Extend-C18 | 生物碱、酮、环烯醚萜 |
| | ZORBAX RRHT Bonus-RP | 木质素、生物碱 |
| | ZORBAX RRHD SB-Aq | 有机酸、核苷酸 |
| | Poroshell CS-C18 | 生物碱 |
| | Poroshell 120 EC-C18 | 皂苷、生物碱、黄酮 |
| | Poroshell HPH-C18 | 生物碱、酮、环烯醚萜 |
| | Poroshell 120 SB-C18 | 皂苷、黄酮、香豆素苷、环烯醚萜苷 |
| | Poroshell 120 HILIC-Z | 强极性的有机酸、糖、核苷酸等 |
| | Poroshell 120 Phenyl-Hexyl | 有机酸、极性组分 |
| | 常用尺寸：2.1 × 100 mm 或 2.1 × 150 mm；粒径：Zorbax 色谱柱选择 1.8 μm；Poroshell 色谱柱选择 2.7 μm 或 1.9 μm | |
| HPLC | ZORBAX Eclipse Plus C18 | 皂苷、生物碱、黄酮 |
| | ZORBAX XDB-C18 | 皂苷、生物碱、黄酮 |
| | ZORBAX SB-C18 | 皂苷、黄酮、香豆素苷、环烯醚萜苷 |
| | ZORBAX Extend-C18 | 生物碱、酮、环烯醚萜 |
| | ZORBAX SB-Aq | 有机酸、核苷酸 |
| | Agilent TC-C18 | 通用 |
| | Poroshell CS-C18 | 生物碱 |
| | Poroshell 120 EC-C18 | 皂苷、生物碱、黄酮 |
| | Poroshell HPH-C18 | 生物碱、酮、环烯醚萜 |
| | Poroshell 120 SB-C18 | 皂苷、黄酮、香豆素苷、环烯醚萜苷、有机酸 |
| | Poroshell 120 HILIC-Z | 强极性的有机酸、糖、核苷酸等 |
| | 常用尺寸：4.6 × 150 mm 或 4.6 × 250 mm 粒径：ZORBAX 色谱柱选择 3.5 μm 或 5 μm；Poroshell 色谱柱选择 2.7 μm 或 4 μm | |

物质基础研究及特征峰鉴定

《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》中明确规定，应“根据中药配方颗粒的特点，加强专属性鉴别和多成分、整体质量控制”，并且应“建立与药效相关的活性成分或指标成分的含量测定项，并采用特征图谱或指纹图谱等方法进行整体质量评价”。为满足这些要求，必须对中药配方颗粒的物质基础进行全面研究。相较于传统的天然产物鉴定流程，利用高分辨率质谱采集数据并配合数据库比对及计算机辅助智能结构推测，是一种更加高效、经济的方法，可作为中药配方颗粒物质基础研究的主要技术手段。

安捷伦中药配方颗粒物质基础研究策略与方案

安捷伦为中药配方颗粒物质基础研究提供了全面的产品组合，涵盖从仪器数据采集到多样化数据分析软件和鉴定工具，其中主要包括：

- UHPLC/Q-TOF MS，可改善中药提取物复杂体系的分离，获取未知天然化合物的精确质量数信息
- 功能强大、信息量丰富的天然产物 PCDL 数据库，包含约 1300 种天然化合物的二级质谱信息
- Molecular Structure Correlator 软件，适合根据特征离子碎片进行结构归属
- SIRIUS 平台，可对未知物进行分子式计算、结构碎片归属、数据库比对、结构碎片的类别归属

主要成分指认



安捷伦-诗丹德标准天然产物高分辨率质谱标准图谱库

如何有效准确地鉴定中药中的有效成分，是中药研究工作者关注的重点之一。安捷伦-诗丹德标准天然产物高分辨率质谱标准图谱库 (Agilent-NatureStandard Traditional Chinese Medicine Personal Compound Database and Library, 简称 TCM PCDL) 是鉴定中药中有效成分强有力的工具。该谱库包含 2015 版《中国药典》中收录的标准物质的图谱库。

安捷伦 PCDL 的主要特点如下：

- 收录超过 1300 种天然产物，提供准确分子量信息
- 收录超过 5000 张高解析 MS/MS 谱图，且谱图中的碎片离子均经过严格的验证流程进行质量数校正
- 收录各化合物的 CAS 号、ChemSpider 号、结构式、植物来源等信息
- 同时收录 GC/QTOF 和 LC/QTOF 谱图数据
- 搜索结果可显示化合物中文名和英文名

33 种禁用农药与代谢物残留含量

配方颗粒是以中药材及饮片作为原料，《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》明确指出：在质量标准制定过程中，应根据原料中可能存在的有毒有害物质、生产过程中可能造成的污染、剂型要求、贮藏条件等建立检查项目。所有中药配方颗粒都应进行有毒有害物质的检查研究。以栽培中药材为原料生产的中药配方颗粒，农药残留检查可根据可能使用农药的种类进行研究；以易于霉变的中药材（如种子类、果实类中药材等）为原料生产的中药配方颗粒，应进行真菌毒素的检查研究。

安捷伦为中药配方颗粒质量安全保驾护航

2020 版《中国药典》已经正式实施，其中“0212 药材和饮片检定通则”、“2341 农药残留量测定法”中增加了禁用农药残留的监管细则，对国内的中药产业质量安全水平提升意义深远。“2341 农药残留量测定法”第五法包含了以 GC-MS/MS 和 LC-MS/MS 平台为分析手段的检测方法，GC-MS/MS 分析的农药种类为 31 种共计 35 个化合物；LC-MS/MS 分析的农药种类为 30 种共计 31 个化合物，共同可测试的农药为 11 个。因此，同时配备 GC-MS/MS 和 LC-MS/MS 是先决条件。以此为基础，安捷伦为禁用农药在中药配方颗粒中的残留检查研究同时提供完整的一体化解决方案。该方案覆盖从样品处理到报告的作业全流程，其中包括 GC-MS/MS+LC-MS/MS 的整机平台方案、用于样品前处理的消耗品方案、数据完整性的合规方案、分析全流程“交钥匙”服务方案及安捷伦培训中心的培训方案。

平台联动方案

7000D GC-MS/MS +
6465 LC-MS/MS



简化样品处理

一套 QuEChERS 前处理→
两平台分别一针进样



精准反吹技术

8890 PSD 控制柱中反吹避
免重组分影响



数据合规保障

Agilent OpenLab ECM系统,
保证测试结果的数据完整性



全流程交钥匙

工程师现场“全流程”指导
确保快速建立分析能力

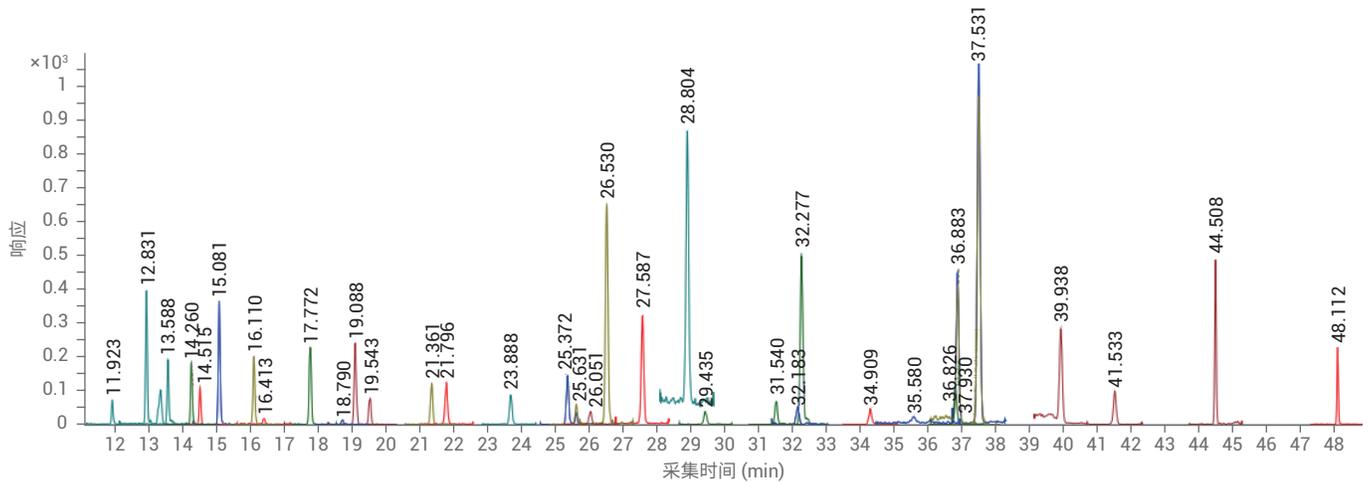
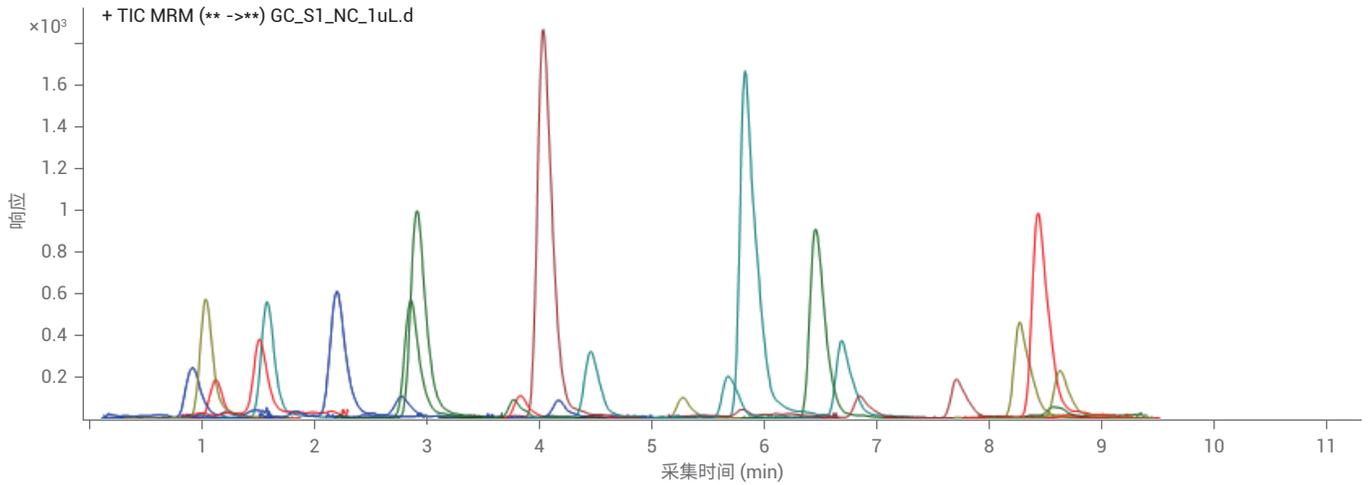


课堂培训

安捷伦培训中心全面培训严
格按照新版《药典》规定



安捷伦配方颗粒农药残留流程和特点介绍



甘草配方颗粒样品及加标样品 LC-MS/MS 和 GC-MS/MS 总离子流图

安捷伦助您轻松应对种植过程中可能使用的其他农药残留检查

安捷伦基于 GC-MS/MS 的保留时间锁定 MRM 方法数据库收录的农药及污染物数据现已超过 1000 种。每个化合物平均提供 8 个母 - 子离子对, 3 种保留时间锁定 RTL 的 GC 方法。即使在无标准品的情况下也可以完成一定范围内的农残筛选。基于 LC-MS/MS 独有的触发式 MRM (tMRM) 采集方式和 tMRM 数据库收录超过 750 种农药污染物信息, 可实现在不损失分析灵敏度的前提下, 为每种筛查农药提供多达 10 种 MRM 条件下的子离子指纹图谱式确认。真正实现通过一次进样同步完成定量和确认, 从而最大程度降低或消除假阳性结果的产生, 并提高筛查结果的准确度。



重金属及有害元素检测

在已经正式颁布的首批 160 个中药配方颗粒国家药品标准中, 13 个品种的中药配方颗粒需要接受重金属及有害物质检测 (见表 2), 且具体方法参照铅、镉、砷、汞、铜测定法 (2020 年版《中国药典》通则 2321 原子吸收分光光度法或电感耦合等离子体质谱法)。

表 2. 需要接受重金属及有害物质检测的 13 个品种

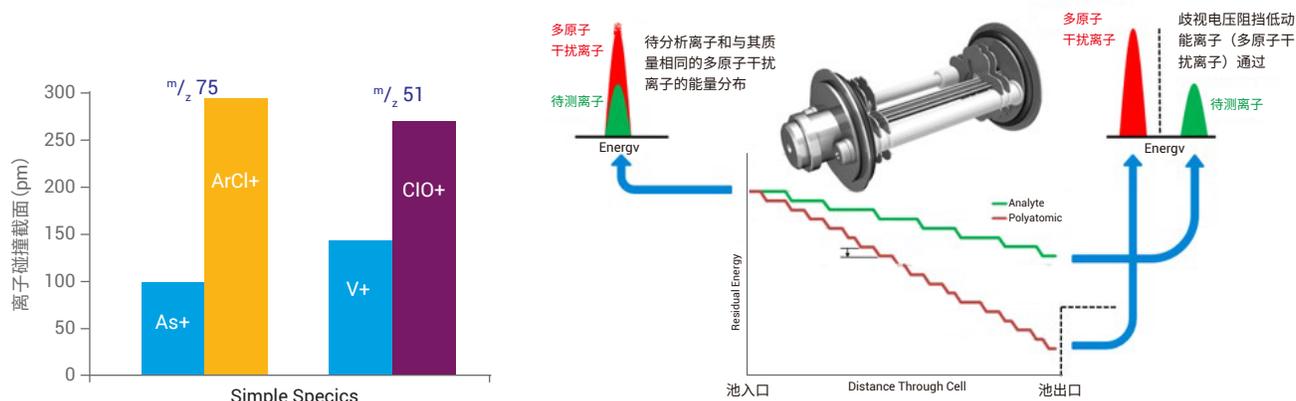
| | | |
|-----------|----------------|---------------|
| 002. 白芍 | 004. 白芷 (白芷) | 005. 白芷 (杭白芷) |
| 035. 丹参 | 037. 当归 | 049. 甘草 (甘草) |
| 051. 葛根 | 065. 黄芪 (蒙古黄芪) | 073. 金银花 |
| 079. 酒女贞子 | 110. 山萸肉 | 111. 山楂 (山里红) |
| 150. 栀子 | | |

相较于色谱系统在制药企业的普及性, 中药配方颗粒中的元素分析要求可能给刚开始从事金属元素分析和 ICP-MS 技术的制药实验室带来了挑战。



安捷伦 ICP-MS 为需要实施元素分析的实验室提供了基于工作流程的简单完整的解决方案，其中：

- 为《中国药典》的中药分析量身定做的软件系统内置药典 I 部方法模板，其中预先定义了药典方法所需的设置（包括操作条件、分析物质量数、积分时间和内标分配），无需编辑，直接调用即可用于分析，节省了方法开发时间。同时，操作人员可借助软件工具，自动完成系统优化与调谐，确保获得一致的系统性能
- 可采用详细的标准操作规程 (SOP) 模板作为实验室 SOP 的基础，该模板中包括有关药典方法设置与操作的分步说明
- 硬件功能可最大程度减少样品前处理并简化校准，包括：
 - 独特的超高基质进样 (UHMI) 系统，可耐受总溶解固体量 (TDS) 高达 25% 的样品，在日常分析中保持良好的长期稳定性，适用于高通量中药配方颗粒样品分析
 - 具有动能歧视功能 (KED) 的氦气碰撞模式可简单可靠地去除所有常见的多原子干扰，确保实现高准确度并获得定性同位素，从而实现明确的分析物鉴定



多原子离子干扰动能歧视 (KED) 原理

下表 (表 3) 为金银花、黄芪和当归三种配方颗粒测定结果。

表 3. 实际样品测定结果

| 元素 | Cu | As | Cd | Hg | Pb |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 药典限量值 | 20 | 2 | 1 | 0.2 | 5 |
| 单位 | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg |
| 金银花-1 | 8.602 | 0.182 | 0.082 | 未检出 | 0.344 |
| 金银花-2 | 9.924 | 0.290 | 0.079 | 未检出 | 0.351 |
| 黄芪-1 | 1.873 | 0.437 | 0.008 | 未检出 | 0.056 |
| 黄芪-2 | 1.896 | 0.661 | 0.006 | 未检出 | 0.058 |
| 当归-1 | 1.439 | 0.235 | 0.003 | 未检出 | 0.050 |
| 当归-2 | 1.447 | 0.454 | 0.003 | 未检出 | 0.045 |

安捷伦配方颗粒质量标准重现及改进方案

特征图谱分析

在已经正式发布的 160 个配方颗粒国家标准以及公示中的国家标准/地方标准中，特征图谱分析得到了普遍应用。特征图谱作为一种多指标质量控制模式，利用特征峰相对保留时间和相对峰面积，可以比较全面地反映样品中包含的化学成分及其含量，从而实现全面控制中药质量的目的。除产品本身质量因素以外，实验室在实施特征图谱重现时还会面临诸多挑战和困难，例如：

- 色谱柱选择不当导致柱效、特征峰相对保留时间不符合要求
- 采用不同品牌液相色谱系统所得到的特征峰相对保留时间不同且超出国标要求
- 在不同品种配方颗粒分析时，频繁切换色谱柱导致耗时耗力且容易损坏色谱柱
- 在某些品种的配方颗粒分析中，方法流动相要求极端比例混合，导致保留时间重现性不高
- QC 实验室需要采用大量的手动计算来确定相对保留时间和相对峰面积是否满足要求

安捷伦利用现有仪器平台并结合各种智能化方案，针对上述难题开发出一系列解决方案

色谱柱选择

根据特征图谱色谱柱信息选择色谱柱

在已公布的 160 个国家标准中，UHPLC 方法作为主要技术应用于配方颗粒特征图谱分析。其中 46 个品种使用安捷伦色谱柱，且以未封端、侧立基团保护的 ZORBAX StableBond 系列色谱柱的应用最为广泛，详见下表（表 4）。

表 4. 160 个国标中使用的安捷伦色谱柱

| | 品种 | 检测成分 | 诗丹德产品货号 | 色谱柱类型 | 部件号 |
|----|---------|--------------------------|--|--|------------|
| 1 | 白鲜皮 | 栲酮 黄柏酮 白鲜碱 柠檬苦素 | ST01260220 ST05930120 ST01160120 ST04580120 | Agilent TC-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 518925-902 |
| 2 | 白芷 | 欧前胡素 异欧前胡素 | ST02340120 ST03180120 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 858700-902 |
| 3 | 板蓝根 | 鸟苷 | ST55670120 | Agilent TC-C18(2), 4.6 x 250 mm, 5 μm | 588925-902 |
| 4 | 补骨脂 | 补骨脂素 | ST01250120 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 959758-902 |
| 5 | 燀桃仁 | 苦杏仁苷 | ST02010120 | Agilent TC-C18(2), 4.6 x 250 mm, 5 μm | 588925-902 |
| 6 | 炒莱菔子 | 芥子碱硫酸盐 3,6'-二芥子酰基蔗糖 | ST01960120 ST07240120 | Agilent TC-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 518925-902 |
| 7 | 炒桃仁 | 苦杏仁苷 | ST02010120 | Agilent TC-C18(2), 4.6 x 250 mm, 5 μm | 588925-902 |
| 8 | 炒王不留行 | 王不留行黄酮苷 | ST08080120 | ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 990967-902 |
| 9 | 炒栀子 | 栀子苷 | ST03330120 | Agilent TC-C18(2), 4.6 x 250 mm, 5 μm | 588925-902 |
| 10 | 车前草（车前） | 大车前苷 | ST06680120 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 858700-902 |
| 11 | 川射干 | 射干苷 | ST00180120 | Agilent TC-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 518925-902 |
| 12 | 大青叶 | 尿苷 紫丁香苷 腺苷 鸟苷 | ST11520120 ST03410120 ST09400120 ST55670120 | ZORBAX SB-Aq, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 880975-914 |
| 13 | 独活 | 蛇床子素 二氢欧山芹醇当归酸酯 | ST02600120 ST01630120 | ZORBAX RRHD Extend-C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 758700-902 |
| 14 | 防己 | 防己诺林碱 粉防己碱 | ST01650120 ST01660120 | ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 959990-902 |
| 15 | 粉葛 | 大豆苷 | ST01370120 | Agilent TC-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 518925-902 |

| | | | | | |
|----|-------------|----------------------------------|--|--|--------------|
| 16 | 麸炒枳壳 | 柚皮苷 新橙皮苷 川陈皮素 橘皮素 | ST00210120 ST06620120 ST00690120 ST00630120 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 858700-902 |
| 17 | 焦栀子 | 栀子苷 | ST03330120 | Agilent TC-C18(2), 4.6 x 250 mm, 5 μm | 588925-902 |
| 18 | 金银花 | 绿原酸 木犀草苷 芦丁 | ST02150120 ST00330120 ST03950120 | ZORBAX SB-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 880975-902 |
| 19 | 酒丹参 | 丹酚酸 B | ST00050120 | Agilent TC-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 518925-902 |
| 20 | 莱菔子 | 芥子碱硫酸盐 3,6'-二芥子酰基蔗糖 | ST01960120 ST07240120 | Agilent TC-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 518925-902 |
| 21 | 龙胆 (龙胆) | 马钱苷酸 獐牙菜苦苷 龙胆苦苷 | ST05430120 ST03310120 ST02090120 | ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 990967-902 |
| 22 | 蜜枇杷叶 | 绿原酸 | ST02150120 | Agilent HC-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 518905-902 |
| 23 | 蜜桑白皮 | 桑皮苷 A 桑黄酮 G | ST05680120 ST80400120 | Agilent TC-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 518925-902 |
| 24 | 蜜旋覆花 (旋覆花) | 绿原酸 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | ST02150120 ST03860120 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 858700-902 |
| 25 | 蜜紫菀 | 绿原酸 1,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | ST02150120 ST00910120 | ZORBAX RRHD SB-Aq, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 858700-914 |
| 26 | 墨旱莲 | 木犀草苷 蟛蜞菊内酯 4,5-二-O-咖啡酰基奎宁酸 | ST00330120 ST06300120 ST06600120 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 858700-902 |
| 27 | 枇杷叶 | 绿原酸 | ST02150120 | Agilent HC-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 518905-902 |
| 28 | 蒲公英 (碱地蒲公英) | 咖啡酸 单咖啡酰基酒石酸 菊苣酸 | ST04140120 STC0120120 ST01970120 | ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 990967-902 |
| 29 | 前胡 | 白花前胡甲素 | ST00170120 | ZORBAX SB-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 880975-902 |
| 30 | 桑白皮 | 桑皮苷 A 桑黄酮 G | ST05680120 ST80400120 | Agilent TC-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 518925-902 |
| 31 | 桑寄生 | 没食子酸 儿茶素 槲皮苷 | ST02220120 ST01600120 ST01810120 | AQ C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | |
| 32 | 桑枝 | 桑皮苷 A | ST05680120 | Agilent TC-C18(2), 4.6 x 250 mm, 5 μm | 588925-902 |
| 33 | 升麻 (大三叶升麻) | 咖啡酸 异阿魏酸 阿魏酸 | ST04140120 ST03140120 ST04370120 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 858700-902 |
| 34 | 烫骨碎补 | 原儿茶酸 柚皮苷 | ST04100120 ST00210120 | ZORBAX SB-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 880975-902 |
| 35 | 桃仁 (桃) | 苦杏仁苷 | ST02010120 | Agilent TC-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 518925-902 |
| 36 | 天花粉 (栝楼) | 色氨酸 | ST56120100 | Polaris NH2, 4.6 x 250 mm, 5 μm | A2013250X046 |
| 37 | 土茯苓 | 落新妇苷 黄杞苷 | ST04130120 ST08090120 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 858700-902 |
| 38 | 王不留行 | 王不留行黄酮苷 | ST08080120 | ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 990967-902 |
| 39 | 旋覆花 (旋覆花) | 绿原酸 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | ST02150120 ST03860120 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 858700-902 |
| 40 | 盐补骨脂 | 补骨脂素 | ST01250120 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 959758-902 |
| 41 | 泽兰 | 迷迭香酸 咖啡酸 | ST00500120 ST04140120 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 858700-902 |
| 42 | 栀子 | 栀子苷 | ST03330120 | Agilent TC-C18(2), 4.6 x 250 mm, 5 μm | 588925-902 |
| 43 | 枳壳 | 柚皮苷 新橙皮苷 川陈皮素 橘皮素 | ST00210120 ST06620120 ST00690120 ST00630120 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 858700-902 |
| 44 | 炙甘草 (胀果甘草) | 甘草苷 甘草酸铵 | ST07010120 ST01670120 | ZORBAX SB-C18, 4.6 x 150 mm, 5 μm | 883975-902 |
| 45 | 紫苏子 | 迷迭香酸 | ST00500120 | ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 x 250 mm, 5 μm | 990967-902 |
| 46 | 紫菀 | 绿原酸 1,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | ST02150120 ST00910120 | ZORBAX RRHD SB-Aq, 2.1 x 100 mm, 1.8 μm | 858700-914 |

色谱柱替代方案建议

基于配方颗粒国家标准中应用的色谱柱，以及安捷伦应用实验室对标准重现及新方法开发的经验，可按照以下原则来选择合适的色谱柱。

UHPLC 方法中的色谱柱选择

在重现配方颗粒标准方法时，除根据标准中指定的色谱柱信息选择色谱柱以外，建议将下表（表 5）色谱柱用于 UHPLC 方法中。其中 Plus C18 和 SB-C18 分别为封端和不封端的 C18 键合相，在特征图谱分析和含量测定方法中的通用性很强，可作为标准方法中非安捷伦色谱柱的首选替代色谱柱。Poroshell 1.9 μm 则可以提供更出色的柱效和分离能力。

表 5. 最常用的 UHPLC 色谱柱

| 序号 | 名称 | 规格 | 部件号 | 规格 | 部件号 | 备注 |
|----|------------------------------|---------------------------------|------------|---------------------------------|------------|-------------|
| 1 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 | 2.1 × 100 mm, 1.8 μm | 959758-902 | 2.1 × 150 mm, 1.8 μm | 959759-902 | 全多孔, 封端, 首选 |
| 2 | ZORBAX RRHD SB-C18 | | 858700-902 | | 859700-902 | 全多孔, 未封端 |
| 3 | ZORBAX RRHD SB-Aq | | 858700-914 | | 859700-914 | 全多孔, 未封端 |
| 4 | Poroshell 120 EC-C18 | 2.1 × 100 mm, 1.9 μm | 695675-902 | 2.1 × 150 mm, 1.9 μm | 693675-902 | 表面多孔, 封端 |
| 5 | Poroshell 120 SB-C18 | | 685675-902 | | 683675-902 | 表面多孔, 未封端 |
| 5 | Poroshell 120 SB-Aq | | 685675-914 | | 683675-914 | 表面多孔, 未封端 |

除上述色谱柱以外，还可以选择 ZORBAX RRHD 的其他键合相（例如 Bonus-RP、Extend-C18 或 Poroshell）来调整选择性，以符合系统适用性和相对保留时间的要求。

普通 HPLC 方法中的色谱柱选择

在常规液相色谱方法中，通常采用 4.6 × 250 mm 色谱柱（表 6）。为保证特征组分的相对保留时间一致，所选择的色谱柱固定相的相似性至关重要。通用色谱柱包括 ZORBAX SB-C18、XDB-C18、Plus C18、TC-C18、TC-C18 (2) 等。当常规液相色谱方法中的柱效、分离度不满足要求时，可选用 Poroshell 4 μm 色谱柱以获得更出色的分离度和柱效。另外，除选择 SB-Aq 以增强极性成分的保留以外，还可选择 Polaris C18-A（极性封端）以改善极性成分的保留、指标性成分的峰形。

表 6. 最常用的 UHPLC 色谱柱

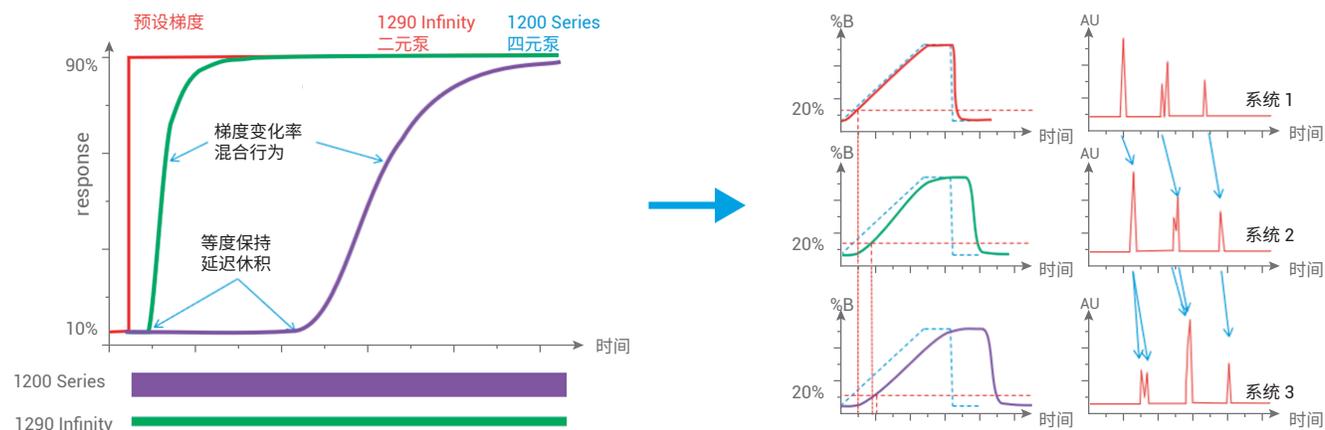
| 序号 | 名称 | 规格 | 部件号 | 规格 | 部件号 | 备注 |
|----|-------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|-----------|
| 1 | ZORBAX SB-C18 | 4.6 × 250 mm, 5 μm | 880975-902 | 4.6 × 150 mm, 3.5 μm | 863953-902 | 全多孔, 未封端 |
| 2 | ZORBAX Eclipse Plus C18 | | 959990-902 | | 959963-902 | 全多孔, 封端 |
| 3 | ZORBAX XDB-C18 | | 990967-902 | | 963967-902 | 全多孔, 封端 |
| 4 | ZORBAX SB-Aq | | 880975-914 | | 863953-914 | |
| 5 | Agilent TC-C18 | | 518925-902 | | | 全多孔, 封端 |
| 6 | Agilent TC-C18(2) | | 588925-902 | | | 全多孔, 封端 |
| 7 | Polaris C18-A | 4.6 × 250 mm, 5 μm | A2000250X046 | 4.6 × 150 mm, 3 μm | A2001150X046 | 全多孔, 极性封端 |
| 8 | Poroshell 120 EC-C18 | 4.6 × 250 mm, 4 μm | 690970-902 | 4.6 × 150 mm, 4 μm | 693970-902 | 表面多孔, 封端 |
| 9 | Poroshell 120 SB-C18 | | 680970-902 | | 683970-902 | 表面多孔, 未封端 |

快速 HPLC/UHPLC 方法中的色谱柱选择

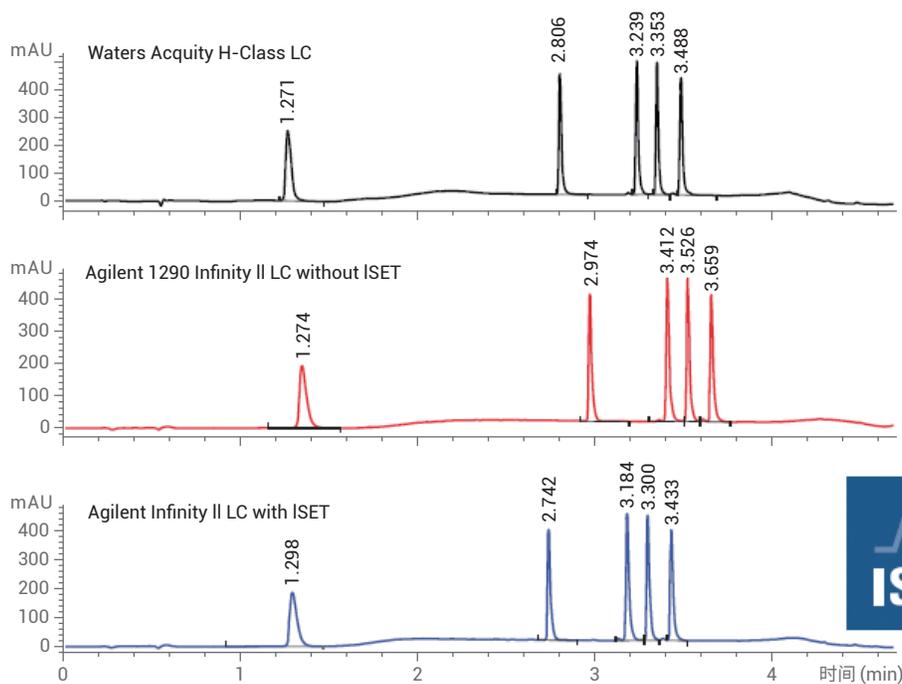
在配方颗粒标准方法中，某些 HPLC 方法运行时间过长。因此，在灵敏度、相对保留时间 (RRT)、含量测定等方面符合要求的前提下，从 HPLC 转换到 UHPLC 可大大节省时间和溶剂消耗，提高分析通量和效率。另外，对于流速较低、耗时较长的 UHPLC 方法，还可通过提高流速，实现更高效、快速的特征图谱分析或含量测定。此文集中，安捷伦科技（中国）有限公司联合上海诗丹德标准技术服务有限公司开展了大量方法转换工作。有关方法转换中的粒径改变或要求，可参考 2020 版《中国药典》0512 通则中有关粒径和柱长的变化范围进行调整 (L/dp 或柱效范围在 -25% 至 +50% 之间)。

采用智能模拟技术调整不同色谱系统延迟体积和混合方式

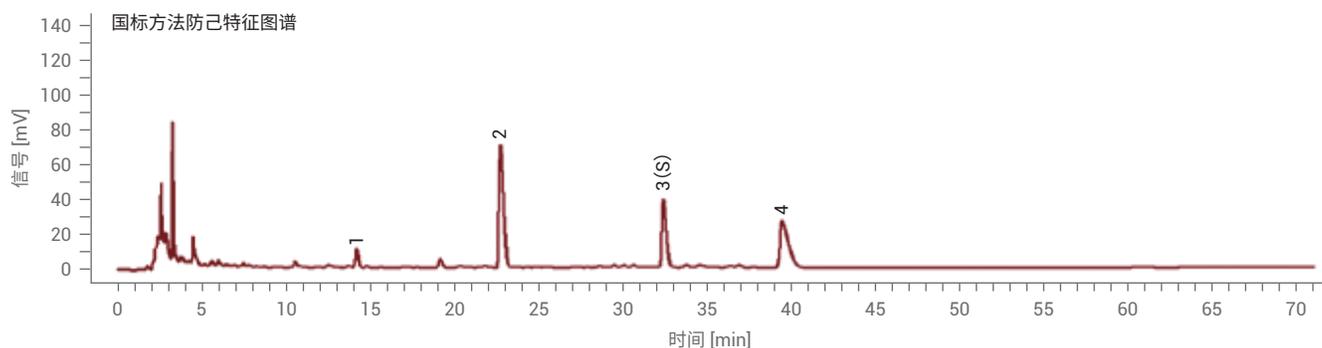
延迟体积是指液相色谱系统中不同流动相接触位置到色谱柱头的体积。该参数会影响梯度方法中色谱峰之间的分离度和保留时间，进而影响峰与峰之间的相对保留时间。在 HPLC 仪器与 UHPLC 仪器之间、不同品牌仪器之间，延迟体积差异所带来的影响尤为明显。利用安捷伦智能模拟技术 (ISET) 可以解决不同系统之间延迟体积和混合方式的差异问题。经过 10 年多的发展，ISET 已经非常成熟并已发展到 4.0 版。可以在 Agilent 1260 Prime、1290 四元系统和 1290 二元系统上，利用 ISET 模拟不同品牌液相色谱系统运行并重现其结果。该技术对于在配方颗粒特征图谱中重现相对保留时间至关重要，能够使企业大大提高标准方法重现的成功率。



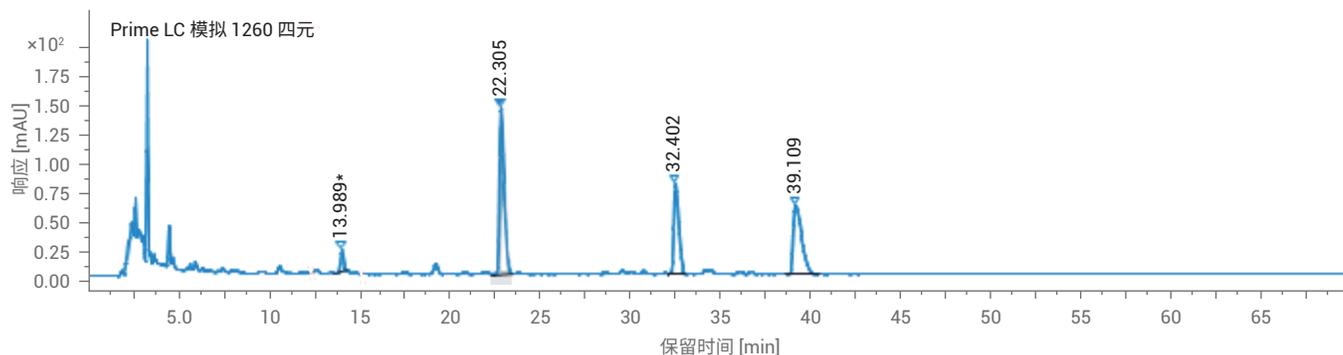
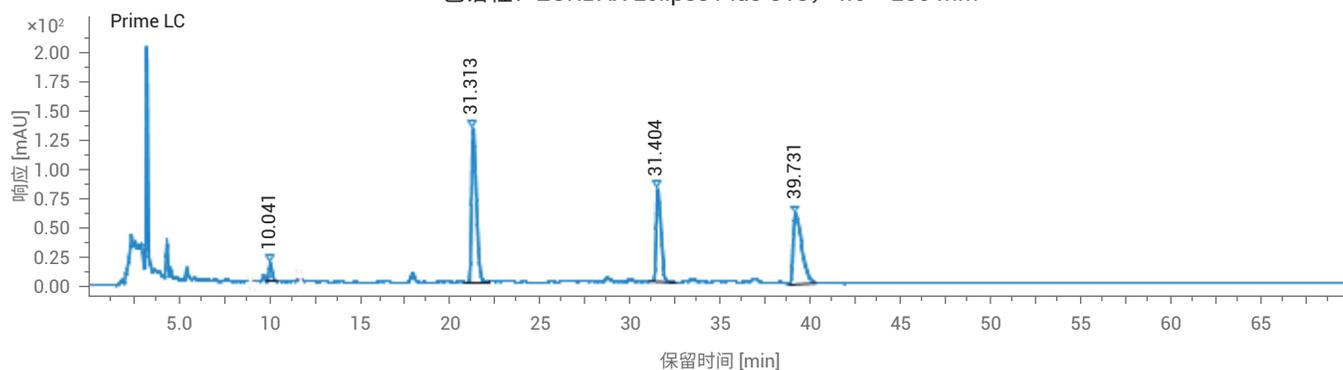
具有不同延迟体积和混合方式的系统运行同一方法所得到的不同结果



1290 四元系统模拟 Waters H-Class 所得到的结果



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, 4.6 × 250 mm



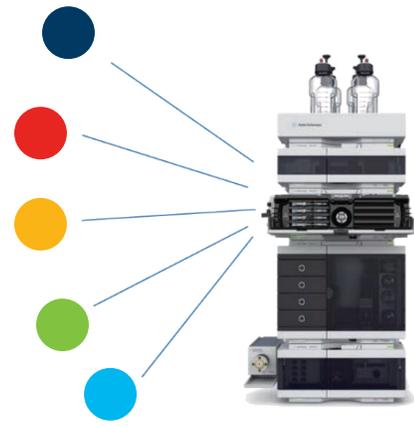
| 峰 | 相对保留时间要求 | 1260 Prime | | 1260 Prime LC 模拟 1260 四元 | |
|---------|-------------|------------|------|--------------------------|-----|
| | | 相对保留时间 | 偏差 | 相对保留时间 | 偏差 |
| 1 | 0.432 ± 10% | 0.319 | -26% | 0.431 | 0 |
| 2 | 0.695 ± 10% | 0.676 | -3% | 0.702 | +1% |
| 3 (特征峰) | 1 | 1 | — | 1 | — |

1260 Prime 超高效液相色谱系统模拟或不模拟普通液相色谱系统分析防己所得到的结果

采用多柱、多流动相切换以提高检测效率

利用多方法液相色谱系统的色谱柱筛选和流动相选择功能，最多可以选择 26 种流动相和 32 根色谱柱，从而最大程度提高仪器利用率并降低色谱柱更换频率。各配方颗粒品种的特征图谱分析方法既包括 HPLC 方法，也包括 UHPLC 方法，且所用色谱柱和流动相各不相同。在仪器数量有限的情况下，将会带来大量手工操作，严重影响实验室的数据产出。多方法系统可自动运行不同方法，实现过夜运行、甚至 7 × 24 小时连续运行，以最快的速度提供实验结果。以某中药抗疫复方原料分析为例，可预先将用到的色谱柱和流动相全部装载到系统上，然后系统根据方法设置，自动切换至相应的色谱柱和流动相进行分析。由此，可大幅节省人力、提高效率并降低风险，特别适合于多品种中药配方颗粒的特征图谱分析。

| 项目 | 色谱柱 | 流动相 A | 流动相 B |
|------|--|----------|-------|
| 金钱草 | CORTECS T3, 2.1 × 100 mm, 1.6 μm | 0.2%磷酸溶液 | 乙腈 |
| 广金钱草 | CORTECS T3, 2.1 × 150 mm, 1.6 μm | 0.1%磷酸溶液 | 乙腈 |
| 金银花 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm | 0.4%磷酸溶液 | 乙腈 |
| 大青叶 | ZORBAX SB-Aq, 4.6 × 250 mm, 5 μm | 0.1%磷酸溶液 | 甲醇 |
| 墨旱莲 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm | 磷酸缓冲盐 | 乙腈 |
| 前胡 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm | 水 | 甲醇 |



多方法系统用于多种配方颗粒样品的连续不间断运行

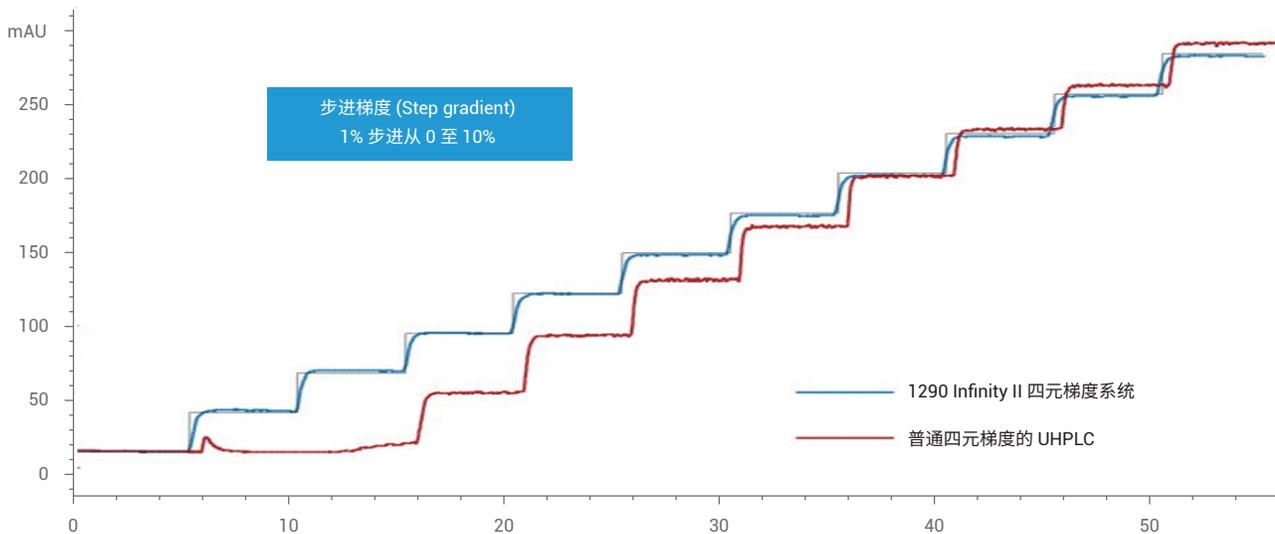
专利混合技术保障极端比例和缓梯度方法的重现性

中药配方颗粒包含大量极性成分，例如核苷类、氨基酸类等。这些极性成分极难通过反相液相色谱方法进行分析，一方面需要选择合适的色谱柱来增强保留和分离，另一方面则需要采用高比例水相作为起始条件进行梯度洗脱。确保液相色谱系统极端比例的混合精度和准确度，是此类方法可重现、可转移的必要条件。Agilent Inlet Weaver 和 Jet Weaver 技术使 UHPLC 系统采用很小的体积即可实现极端比例流动相的在线准确混合。以大枣配方颗粒标准方法为例，特征图谱色谱条件为典型极端比例下的缓梯度且流速较低，但 Inlet Weaver 的超强混合能力仍然可以保证获得完美的保留时间稳定性。5 针大枣供试品连续进样，四个特征峰保留时间的相对标准偏差小于 0.12%。

Inlet Weaver



Jet Weaver

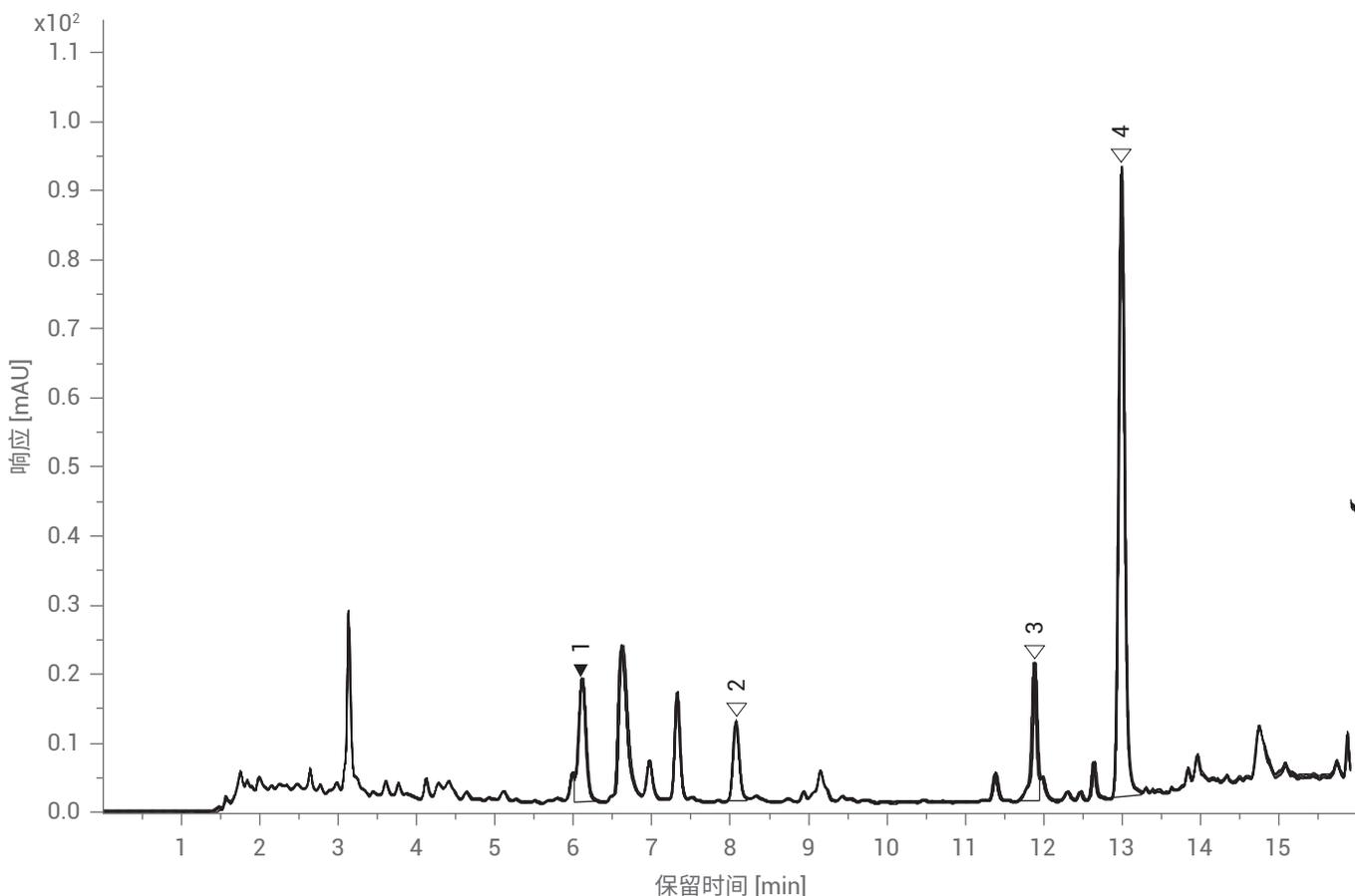


1290 Infinity II 液相色谱系统在极端流动相比例下的准确性 (1-10%, 1% 步进变化)

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 150 mm,内径为 2.1 mm, 粒径为 1.6 μm ）；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 0.2 ml；柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ ；检测波长为 254 nm。理论板数按环磷腺苷峰计算应不低于 10000。

| 时间 (分钟) | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
|---------|-----------|-----------|
| 0~7 | 0→2 | 100→98 |
| 7~11 | 2→9 | 98→91 |
| 11~16 | 9 | 91 |

| 峰 | 保留时间 (min) 平均值 | 保留时间 RSD% | 峰面积 (平均值) | 峰面积 RSD% |
|---|----------------|-----------|-----------|----------|
| 1 | 6.10 | 0.12 | 119.1792 | 0.15 |
| 2 | 8.06 | 0.07 | 68.0546 | 1.30 |
| 3 | 11.88 | 0.09 | 95.1378 | 0.21 |
| 4 | 12.98 | 0.05 | 493.5500 | 0.28 |



大枣配方颗粒供试品连续进样 5 针色谱叠加图

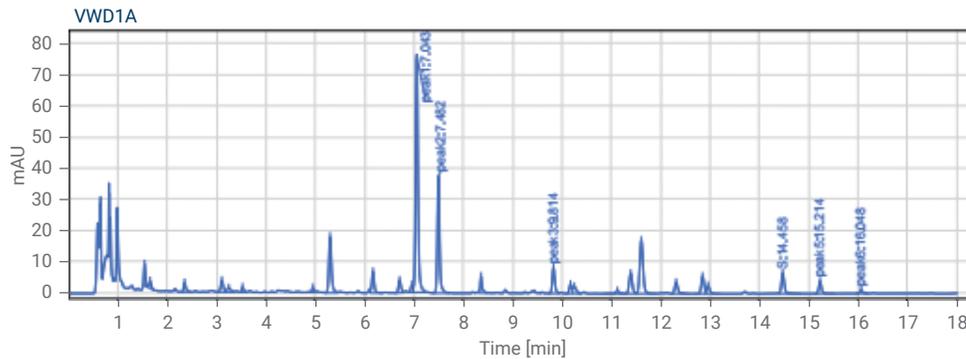
采用智能报告缩短数据处理时间

配方颗粒企业 QC 实验室每天产生大量数据，如何根据质量标准快速判定产品是否合格，是 QC 实验室实现高通量分析的一大瓶颈。另外，在大部分特征图谱分析中，既要考虑特征峰的个数和相对保留时间是否满足要求，还需要考虑某些特征峰相对于参考峰的百分比含量是否合格。面对如此繁琐的日常工作，采用 Agilent OpenLab CDS 2.X 软件的自定义报告功能，可根据每个品种的具体要求预先设置报告模板，在数据采集完成后可一键生成报告，无需任何人为干预。以白芷配方颗粒特征图谱分析为例（如下图所示），一键生成的报告不仅包括各特征峰的相对保留时间和相对峰面积，而且能够以醒目的颜色标记各特征峰是否合格（绿色代表合格，红色代表不合格）。

Single Injection Report



Data file: Baizl_vwD_F0.35 2020-03-20 16-39-01_010_001.D
Path: /LC/Results/白芷/BaiZhi.rslt **Result Verlon:** 2020-0512-0743-46300
Sample name: Baizl_wD_F0.35 **Operator:** sYSTEM
Instrument: **Injection date:** 2020-03-20 16:39:36+08:00
Inj.volume: **Locatlon:** -29999
Acq. method: baizhi_0p35ml-vwd.M **Type:** sampla
Processing method: *BaiZhi.pmx **sample amount:**
Manually modified: None



Signal: VWD1A

| Name | RT[min] | RefName | Area | RRT | RRT Limit | RRT LimiRangeP | RRT LimiRange | RPA Result | RPA | RPA limiRange | RPA Resufl |
|-------|----------|---------|---------|-------|-----------|----------------|---------------|------------|-------|---------------|------------|
| peak1 | 7.043 | s | 254.719 | 0.487 | 0.490 | 10.00 | 0.441~0.539 | PASS | 9.053 | 0.713~ | PASS |
| peak2 | 7.482 | S | 125.174 | 0.517 | 0.520 | 10.00 | 0.468~0.572 | PASS | 4.449 | ~ | |
| peak3 | 9.814 | S | 29.715 | 0.679 | 0.670 | 10.00 | 0.603~0.737 | PASS | 1.056 | 0.338~ | PASS |
| S | 14.458 | S | 28.136 | 1.000 | | | | | 1.000 | | |
| peak5 | 15.214 | S | 15.702 | 1.052 | 1.050 | 10.00 | 0.945~1.155 | PASS | 0.558 | 0.22~ | PASS |
| peak6 | 16.048 | S | 4.461 | 1.110 | | | | | 0.159 | | |

白芷配方颗粒特征图谱分析智能化报告模板

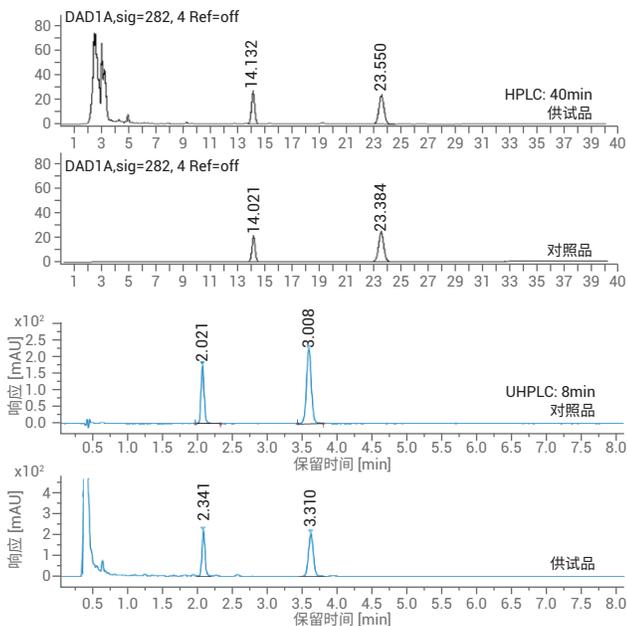
含量测定

配方颗粒国家标准中的含量测定方法延续了《中国药典》的发展趋势，以液相色谱作为含量测定的主要仪器平台，并且强调应选择与功能主治及活性相关的专属性成分作为含量测定指标，尽可能建立多成分含量测定方法。同时，液相色谱技术的发展也为含量测定提供了更便捷的平台和工具。

大量采用超高效液相色谱方法以提升效率

相较于《中国药典》现行方法，配方颗粒含量测定方法明确收录了大量 UHPLC 方法。《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》也指出，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 UHPLC 方法。这种变化为企业采用更先进的分析仪器来提高样品分析效率提供了法定依据。以防己配方颗粒为例，采用 HPLC 方法进行含量测定时，每个样品的分析时间为 40 分钟；而按照《中国药典》第四部 0512 通则公式，采用 UHPLC 方法后，每个样品的分析时间仅为 8 分钟，分析通量可提高 5 倍。

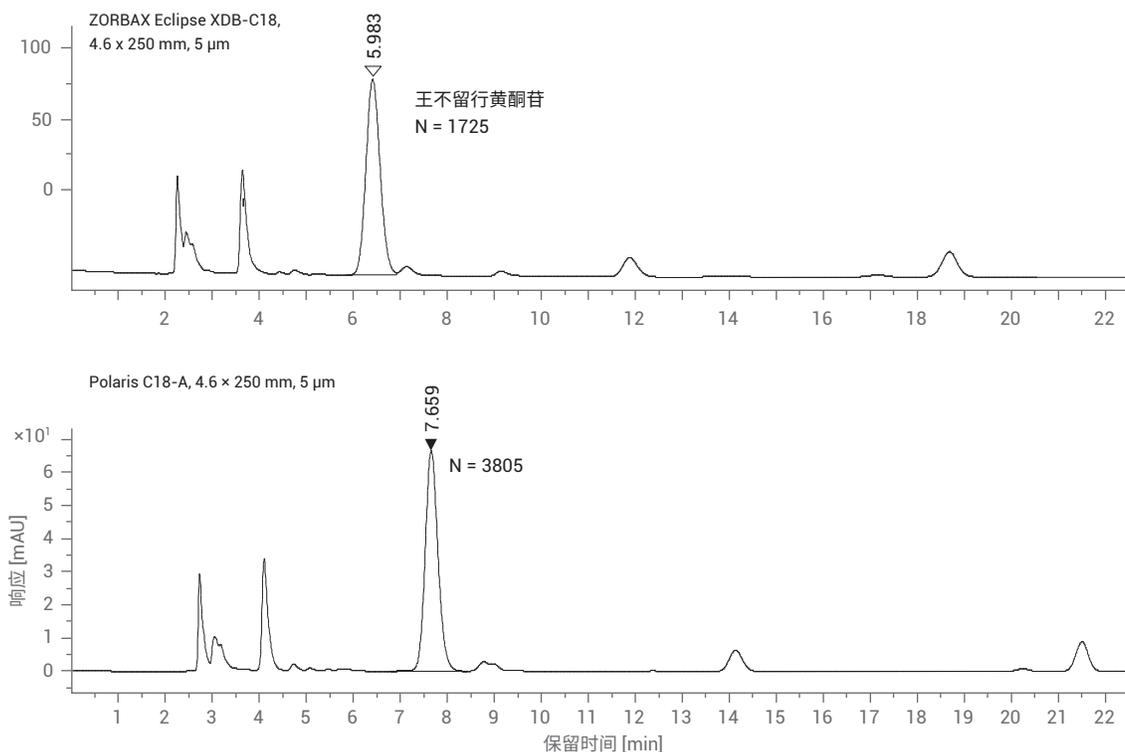
【含量测定】 照高效液相色谱法(中国药典2020年版通则0512)测定。
色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-甲醇-0.03 mol/L磷酸二氢钠水溶液-三乙胺(40:30:30:0.1)为流动相;检测波长为282 nm。理论板数按防己碱峰计算应不低于4000。
对照品溶液的制备 取防己碱对照品、防己诺林碱对照品适量,精密称定,加甲醇分别制成每1 ml 含粉防己碱0.1 mg、防己诺林碱0.05 mg的混合溶液,即得。
供试品溶液的制备 取本品适量,研细,取约0.1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇25 ml,称定重量,加热回流30分钟,放冷,再称定重量,用70%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。



根据2020版《中国药典》0512通则要求将防己HPLC方法转换为UHPLC方法

多柱切换技术有助于更快速、更轻松地找到合适的色谱柱

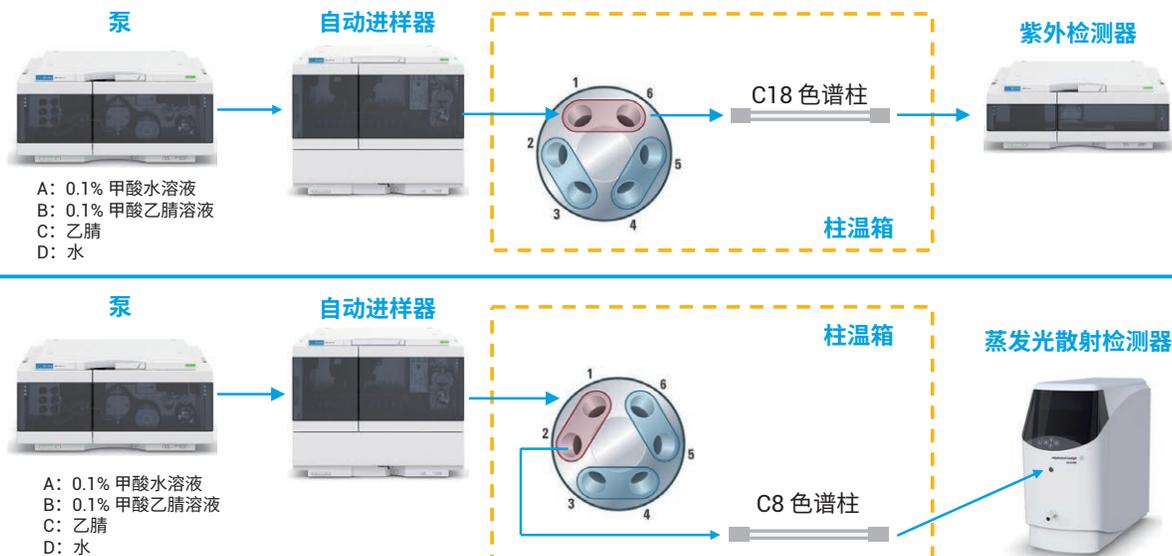
与特征图谱分析方法不同,配方颗粒含量测定项下未指定色谱柱具体品牌或者规格。对某些品种而言,为达到柱效和分离度的要求,也需要对色谱柱进行筛选。借助安捷伦多柱切换技术,可轻松筛选采用多种不同键合工艺的十八烷基硅烷键合相,并确定最佳色谱柱。王不留行配方颗粒含量测定以王不留行黄酮苷为指标成分,要求理论塔板数不低于3000。由于王不留行黄酮苷在含量测定条件下保留较弱,很难达到标准要求的理论塔板数。通过自动筛选采用4种不同键合工艺的色谱柱,发现Agilent Polaris C18-A(4.6 × 250 mm, 5 μm)可以在不改变国家标准所规定的色谱条件下满足理论塔板数要求。



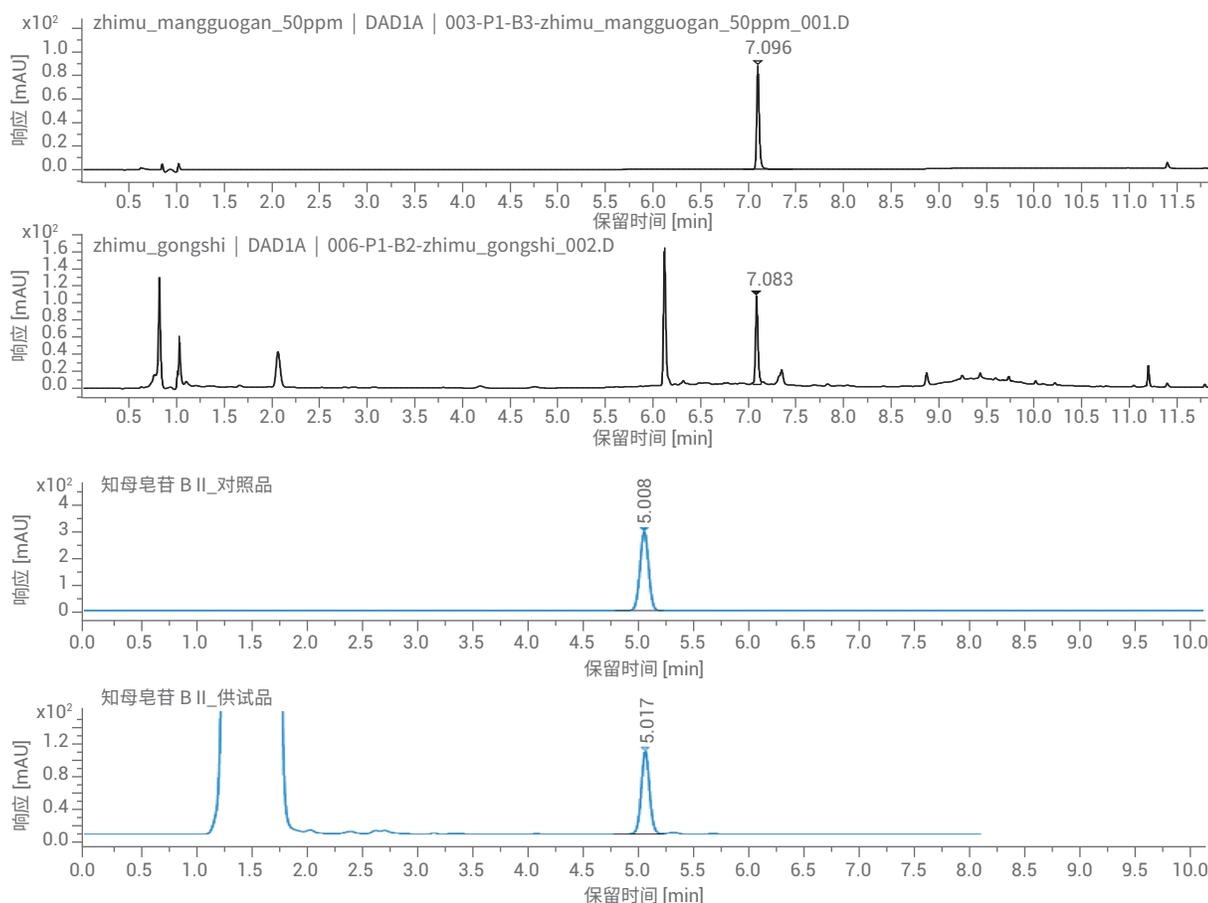
王不留行黄酮苷在不同C18色谱柱上的保留及理论塔板数

阀切换技术助力多指标成分的快速测定

多指标成分含量测定可通过一种方法实现。但对于某些品种，由于分析物组成的差异，需要采用不同方法、甚至不同检测器进行测定。例如，在知母配方颗粒含量测定项下，采用 UHPLC-UV 方法测定芒果苷含量，并采用 HPLC-ELSD 方法测定知母皂苷 B II 含量。这两种方法不仅检测器类型不同，而且流动相和色谱柱也有所不同。为快速有效地完成知母配方颗粒的含量测定，可以在配备 ELSD 和 UV（或 DAD）的 UHPLC 系统上借助阀切换技术实现两种含量测定方法的自由切换，进而实现分析效率最大化和仪器利用率最大化。



柱切换技术方案示意图



使用柱切换方案完成芒果苷 (UV) 和知母皂苷 B II (ELSD) 的连续快速测定

白鲜皮配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------|--|---|----|------|------|-------|-------|-------|----|-------|--------|--|----------|----|-------|------|-----------|-------|-----------|----|-------|-------|
| 仪器 | 1260 二元系统, 包含二元泵 (G1312B), 自动进样器 (G1367E), 柱温箱 (G1316A), DAD (G4212A) | 1290 二元系统, 包含 1290 高速泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 518925-902 | ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959764-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1% H ₃ PO ₄ ; MPB: ACN | 柱温 25 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0~25</td> <td>5→30</td> </tr> <tr> <td>25~40</td> <td>30→50</td> </tr> <tr> <td>40~60</td> <td>50</td> </tr> <tr> <td>后运行时间</td> <td>10 min</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0~25 | 5→30 | 25~40 | 30→50 | 40~60 | 50 | 后运行时间 | 10 min | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0~3.6</td> <td>5→30</td> </tr> <tr> <td>3.60~5.76</td> <td>30→50</td> </tr> <tr> <td>5.76~9.00</td> <td>50</td> </tr> <tr> <td>后运行时间</td> <td>3 min</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0~3.6 | 5→30 | 3.60~5.76 | 30→50 | 5.76~9.00 | 50 | 后运行时间 | 3 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0~25 | 5→30 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25~40 | 30→50 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 40~60 | 50 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间 | 10 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0~3.6 | 5→30 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3.60~5.76 | 30→50 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5.76~9.00 | 50 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间 | 3 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 230 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 10 Hz | 230 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 白鲜碱、柠檬苦素、黄柏酮、枳酮, 均由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 15.084 | | 0.379 | 0.341~0.401 | | | 121957 |
| 2 | 15.551 | | 0.391 | 0.351~0.411 | | | 138556 |
| 3 | 29.588 | | 0.743 | 0.670~0.786 | | | 48872 |
| 4 (S) | 39.819 | 白鲜碱 | | | | | 329267 |
| 5 | 44.029 | 柠檬苦素 | | | | | 388631 |
| 6 | 52.442 | 黄柏酮 | | | | | 201459 |
| 7 | 54.849 | 枳酮 | | | | | 153047 |

UHPLC 方法

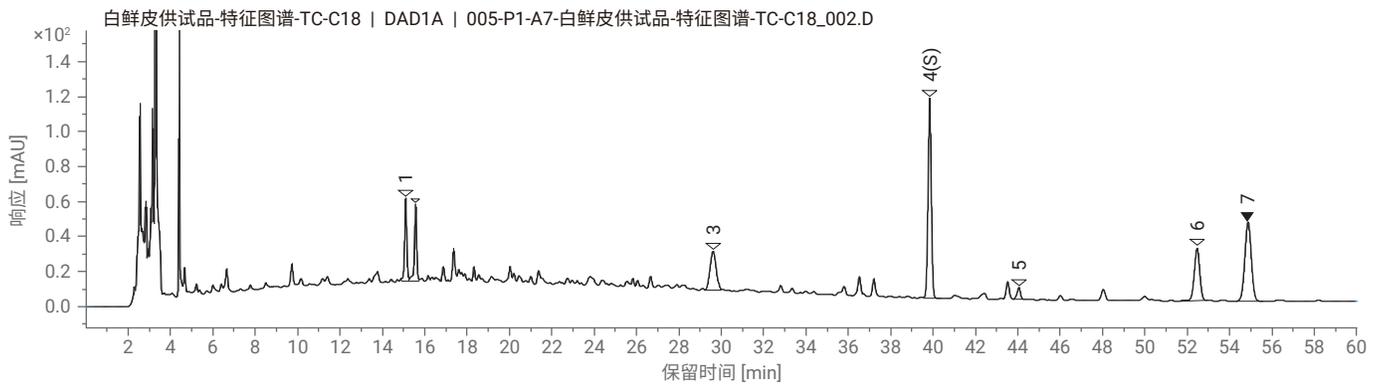
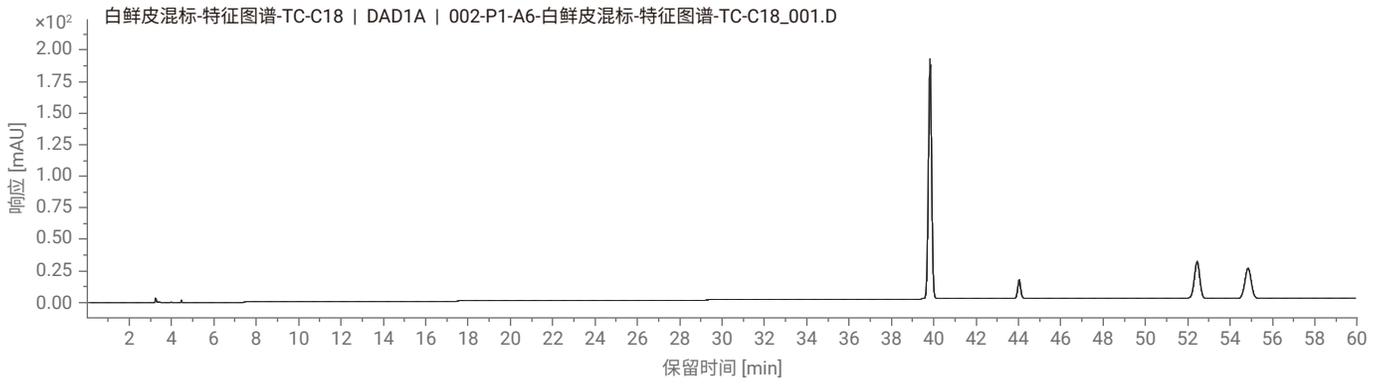
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.029 | | 0.369 | 0.341~0.401 | | | 85436 |
| 2 | 2.09 | | 0.380 | 0.351~0.411 | | | 96529 |
| 3 | 3.958 | | 0.719 | 0.670~0.786 | | | 1081028 |
| 4 (S) | 5.502 | 白鲜碱 | | | | | 287208 |
| 5 | 6.149 | 柠檬苦素 | | | | | 371377 |
| 6 | 7.235 | 黄柏酮 | | | | | 231191 |
| 7 | 7.541 | 枳酮 | | | | | 188938 |

小结及注意事项

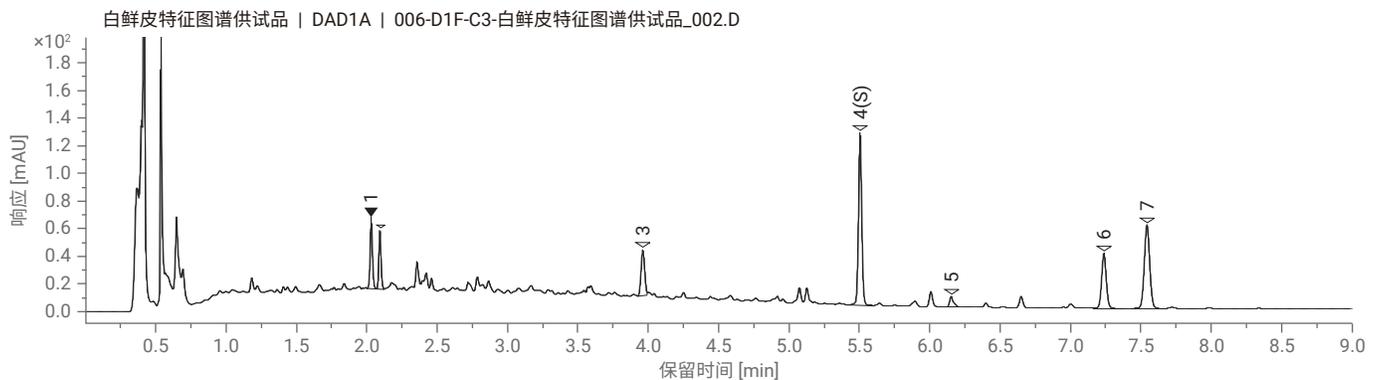
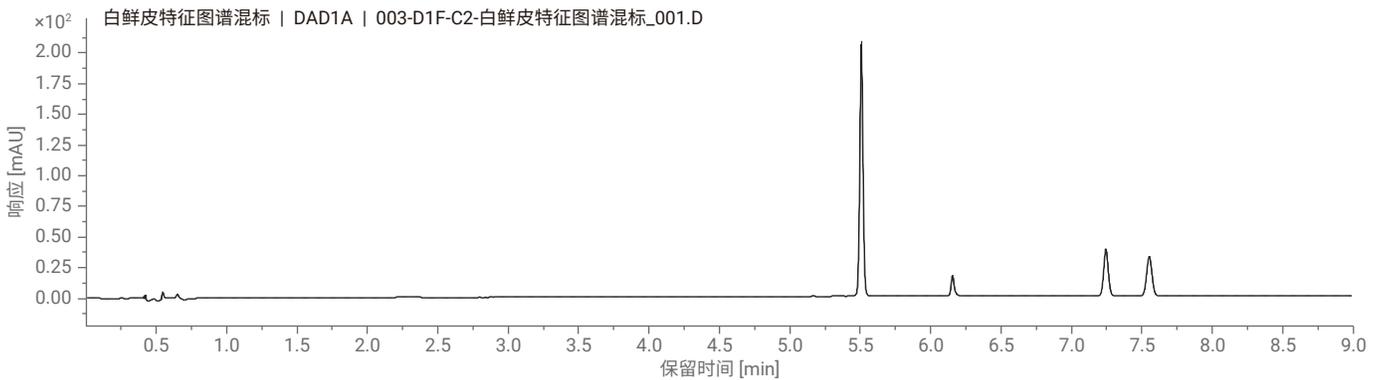
- 原始方法压力最高 152 bar, UHPLC 方法压力最高 648 bar
- 转换成 UHPLC 方法后分析时间由 60 分钟缩短至 9 分钟

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|---|
| 仪器 | 1260 二元系统, 包含二元泵 (G1312B), 自动进样器 (G1367E), 柱温箱 (G1316A), DAD (G4212A) | 1290 二元系统, 包含 1290 高速泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 518925-902 | ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959764-902 |
| 流动相 | MPA: H ₂ O; MPB: MeOH | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 60 40 60 | 时间 (min) B% 0 60 5 60 |
| 柱温 | 25 °C | 25 °C |
| 检测器 | 236 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 10 Hz | 236 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl |
| 对照品 | 栲酮、黄柏酮, 均由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 黄柏酮 | 17.148 | 16245 | 0.92 | 4.7 |
| 栲酮 | 19.781 | 20736 | 0.99 | 3.0 |

UHPLC 方法

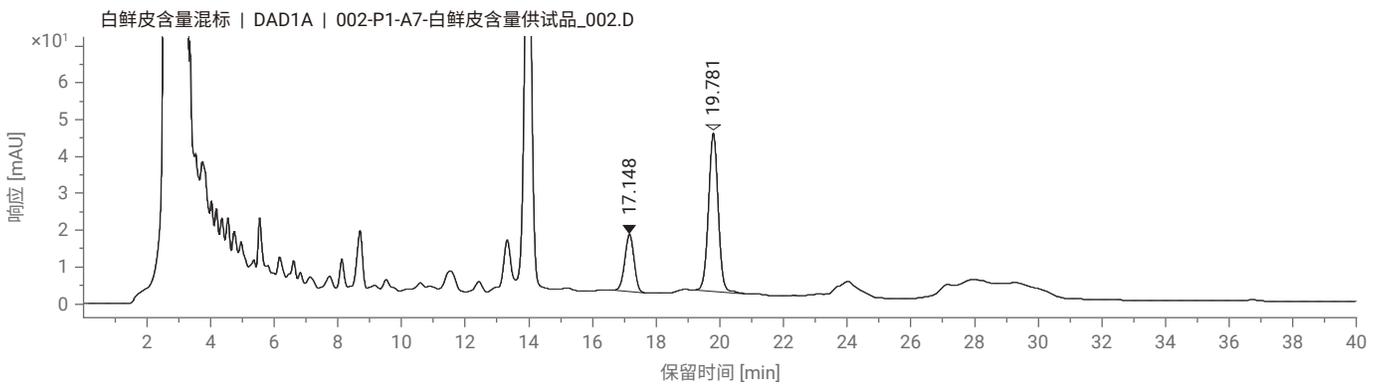
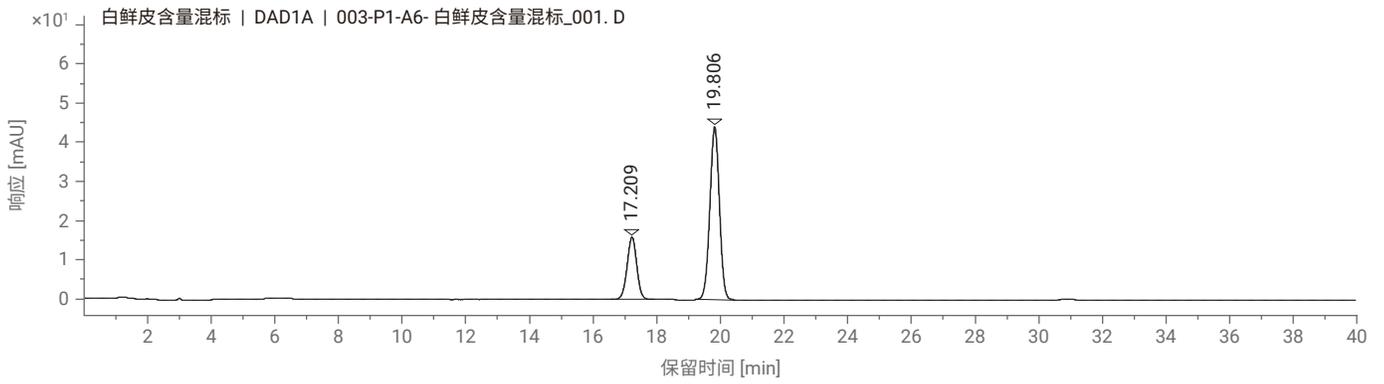
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 黄柏酮 | 2.132 | 7296 | 1.41 | 4.7 |
| 栲酮 | 2.38 | 9495 | 1.51 | 2.9 |

小结及注意事项

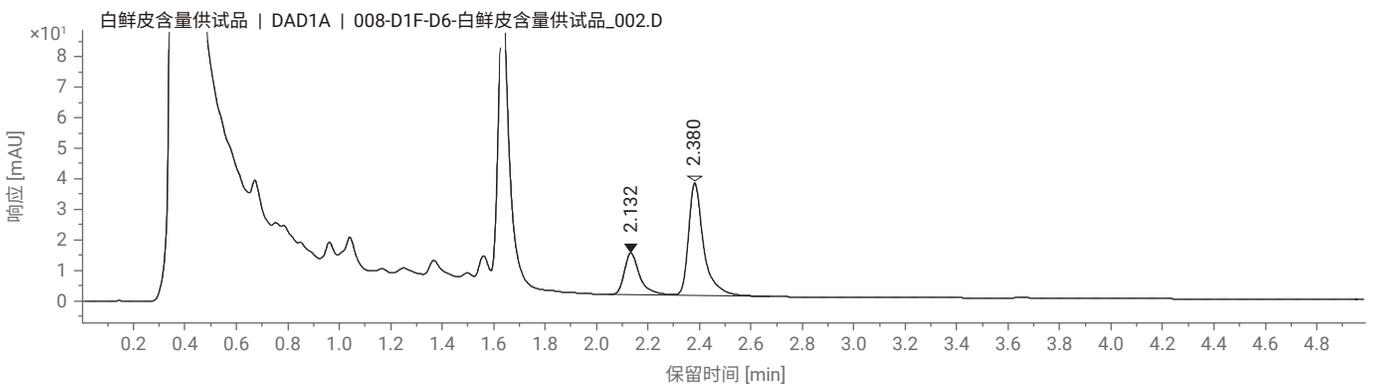
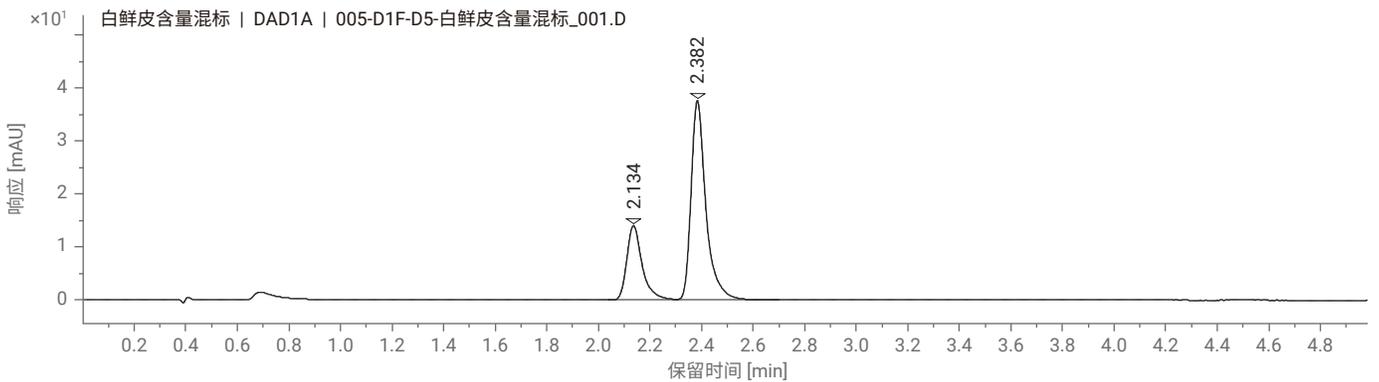
- 原方法转换成 UHPLC 方法后分析时间由 40 分钟缩短至 5 分钟

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



白芷（白芷）配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|--|--|----------|----|
| 仪器 | 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | 1290 II 二元 UPLC 系统, 包括: 高速泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm; PN: 858700-902 | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1%CH ₃ COOH; MPB: ACN | 柱温 35 °C | | |
| 流速 | 原始方法: 0.35 ml/min | 加速方法: 0.8 ml/min | | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 15 | 0.00 | 15 |
| | 5.5 | 28 | 2.41 | 28 |
| | 7 | 40 | 3.06 | 40 |
| | 9.5 | 40 | 4.16 | 40 |
| | 15.5 | 65 | 6.78 | 65 |
| | 15.51 | 15 | 6.79 | 15 |
| 18.00 | 15 | 7.88 | 15 | |
| 检测器 | 300 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | |
| 对照品 | 欧前胡素、异欧前胡素, 由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|---------|--------|-------------|-------|--------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 7.834 | 水合氧化前胡素 | 0.525 | 0.441-0.539 | 4.91 | ≥0.713 | 164825 |
| 2 | 8.173 | 白当归素 | 0.547 | 0.468-0.572 | | | 241230 |
| 3 | 10.390 | 佛手苷内酯 | 0.696 | 0.603-0.737 | 0.95 | ≥0.338 | 166113 |
| 4 (S) | 14.934 | 欧前胡素 | | | | | 368333 |
| 5 | 15.662 | 珊瑚菜素 | 1.049 | 0.945-1.155 | 0.48 | ≥0.220 | 442515 |
| 6 | 16.441 | 异欧前胡素 | | | | | 473346 |

加速方法

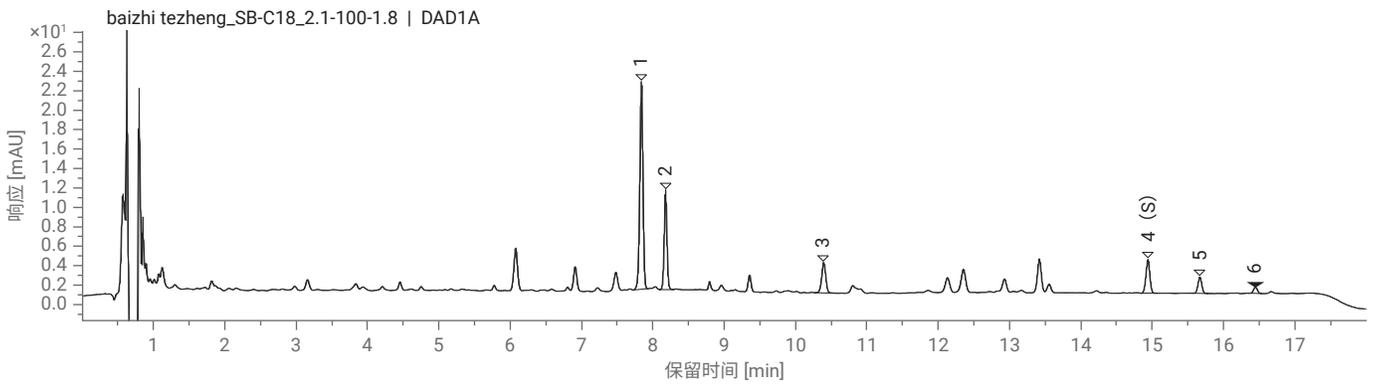
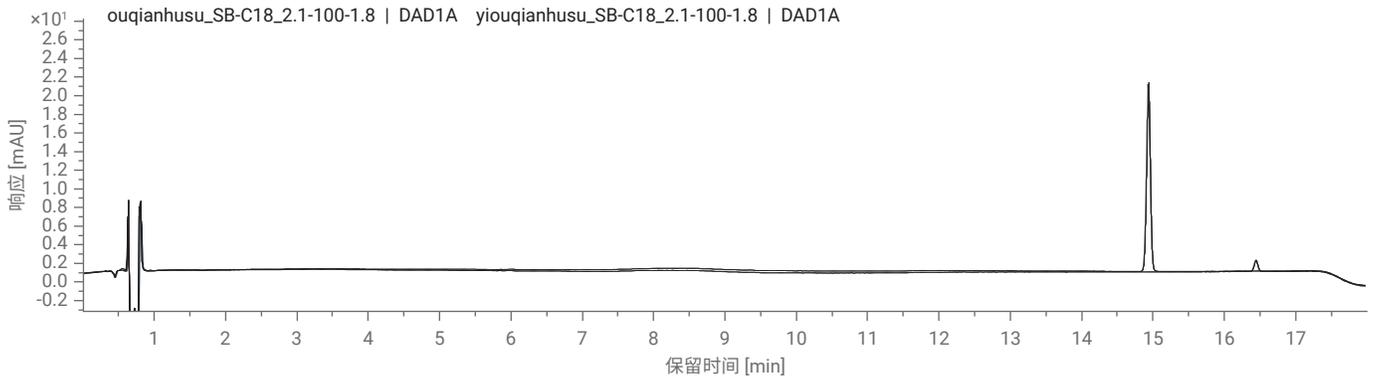
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|---------|--------|-------------|--------|--------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 3.045 | 水合氧化前胡素 | 0.480 | 0.441-0.539 | 10.101 | ≥0.713 | 149350 |
| 2 | 3.175 | 白当归素 | 0.501 | 0.468-0.572 | | | 206088 |
| 3 | 4.038 | 佛手苷内酯 | 0.637 | 0.603-0.737 | 1.960 | ≥0.338 | 141351 |
| 4 (S) | 6.343 | 欧前胡素 | | | | | 381614 |
| 5 | 6.663 | 珊瑚菜素 | 1.050 | 0.945-1.155 | 0.399 | ≥0.220 | 421092 |
| 6 | 6.766 | 异欧前胡素 | | | | | 349247 |

小结及注意事项

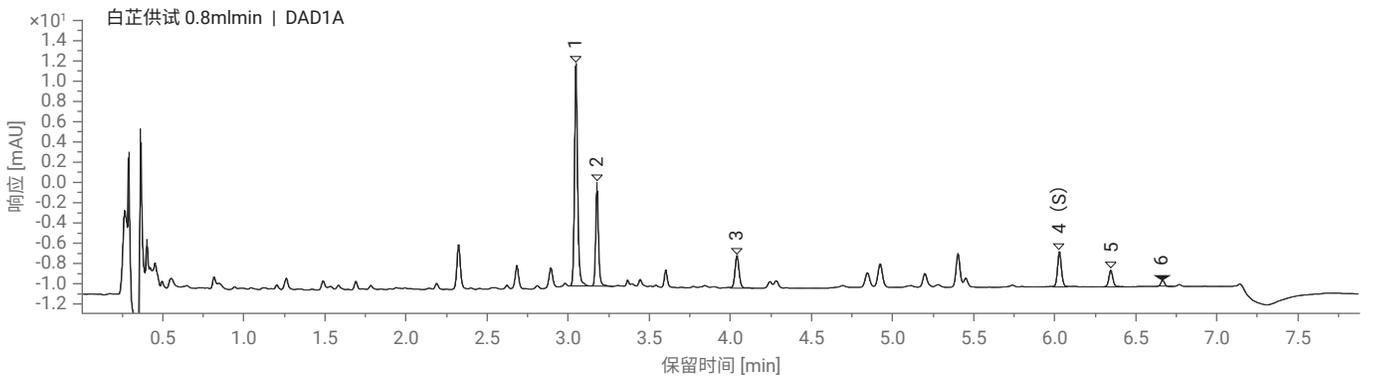
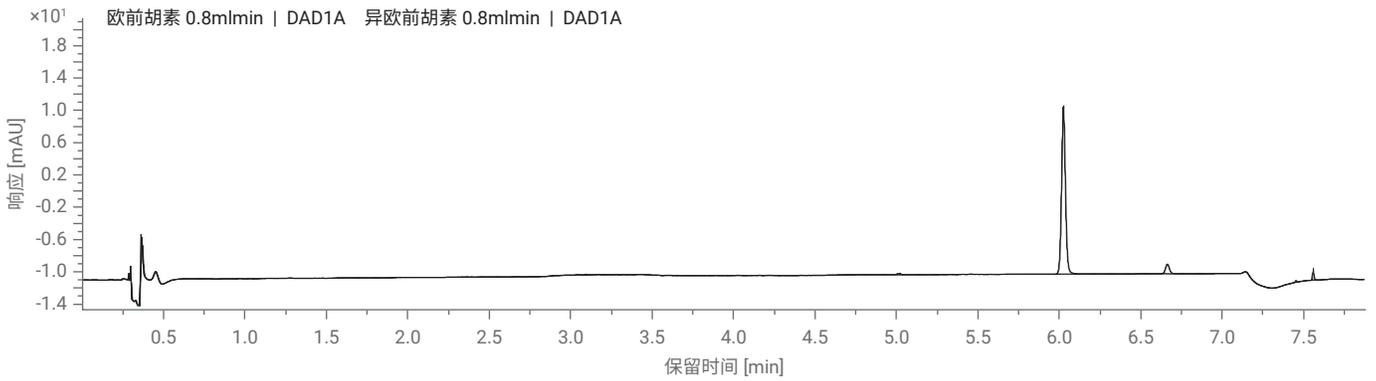
- 原始方法压力最高 415 bar, 加速方法压力最高 890 bar
- 加速后分析时间缩短 10 分钟

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | |
|-------|--|----|
| 仪器 | 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm; PN: 858700-902 | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O; MPB: MeOH | |
| 流速 | 0.4 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 55 |
| | 15 | 55 |
| 柱温 | 40 °C | |
| 检测器 | 300 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | |
| 进样量 | 0.8 μl | |
| 对照品 | 欧前胡素, 均由诗丹德提供 | |

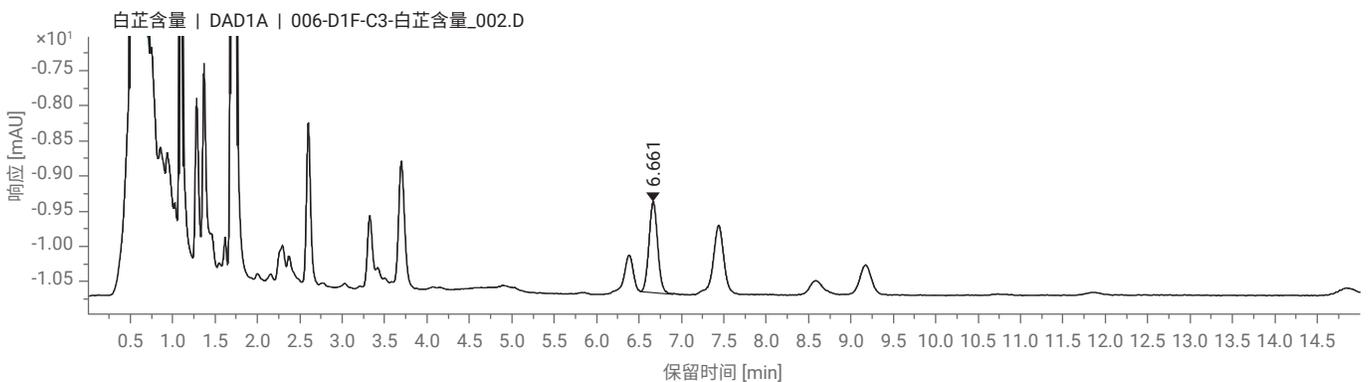
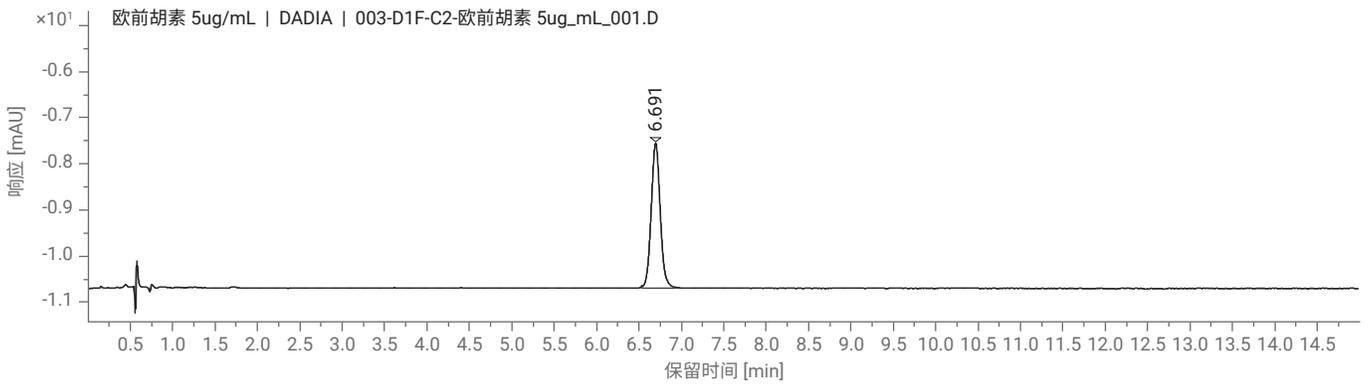
系统适用性

原方法

| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|---|------|------------|----------|------------|-----------|
| 1 | 欧前胡素 | 6.66 | 19196 | 1.07 | 0.21 |

典型图谱

原方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



板蓝根配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--|---|----|---|---|---|---|----|---|----|---|----------|-------|---|----------|----|---|---|------|---|------|---|------|---|----------|-------|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18(2), 4.6 × 250 mm, 5 μm; PN: 588925-902 | Porosehl 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm; PN: 695675-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1% H ₃ PO ₄ ; MPB: MeOH | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/min | 0.5 ml/min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>Post run</td> <td>7 min</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 1 | 5 | 1 | 30 | 7 | 40 | 7 | Post run | 7 min | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>0.76</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>4.56</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>6.08</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>Post run</td> <td>3 min</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 1 | 0.76 | 1 | 4.56 | 7 | 6.08 | 7 | Post run | 3 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Post run | 7 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0.76 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4.56 | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6.08 | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Post run | 3 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 30 °C | 30 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 245 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 245 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 0.8 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 乌苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-----------|--------|---------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 12.805 | 尿苷 | 0.605 | 0.558 - 0.682 | | | 26072 |
| 2 | 14.445 | 腺苷 | 0.682 | 0.610 - 0.746 | | | 27509 |
| 3 (S) | 21.169 | 乌苷 | | | | | 31666 |
| 4 | 25.033 | (R,S)-告依春 | 1.183 | 1.049 - 1.283 | | | 37729 |

UHPLC 方法

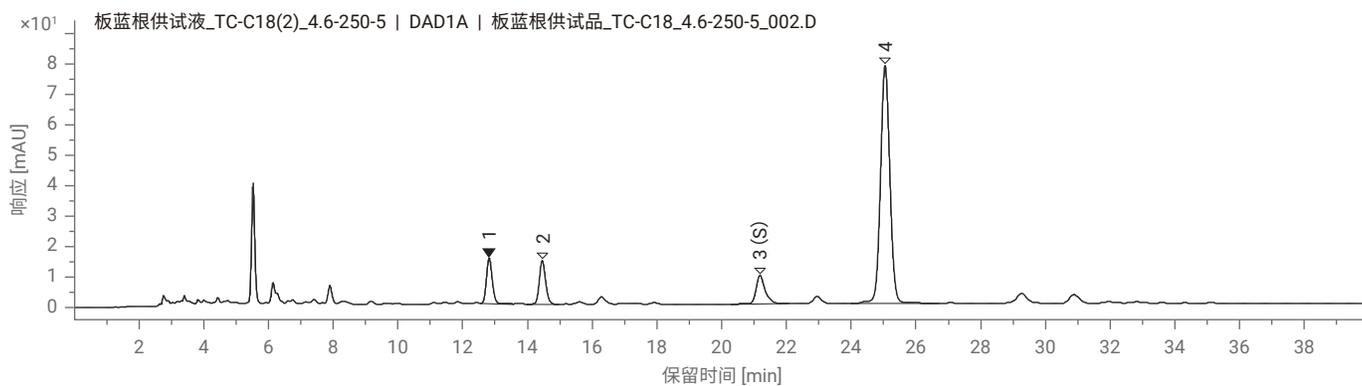
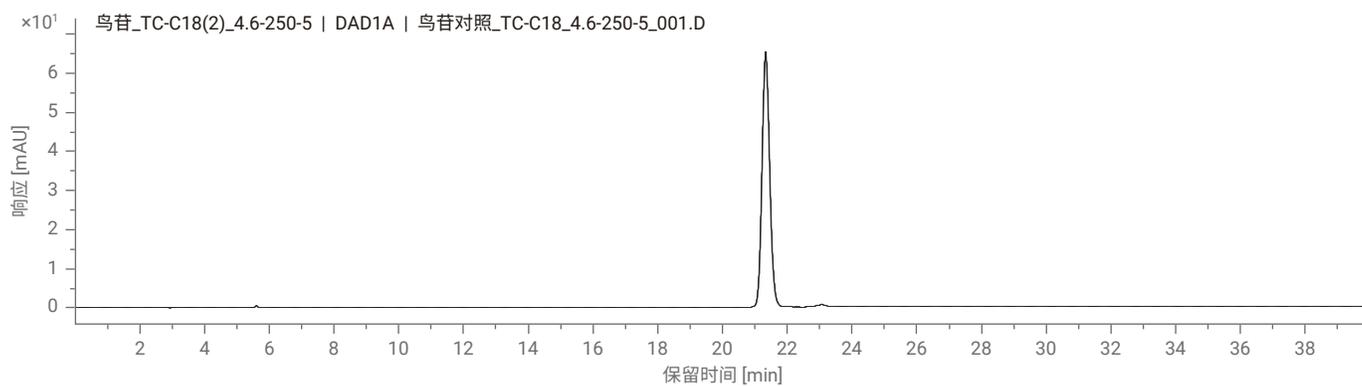
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-----------|--------|---------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 1.283 | 尿苷 | 0.539 | 0.558 - 0.682 | | | 9859 |
| 2 | 1.559 | 腺苷 | 0.655 | 0.610 - 0.746 | | | 10740 |
| 3 (S) | 2.380 | 乌苷 | | | | | 14673 |
| 4 | 3.071 | (R,S)-告依春 | 1.29 | 1.049 - 1.283 | | | 15799 |

小结及注意事项

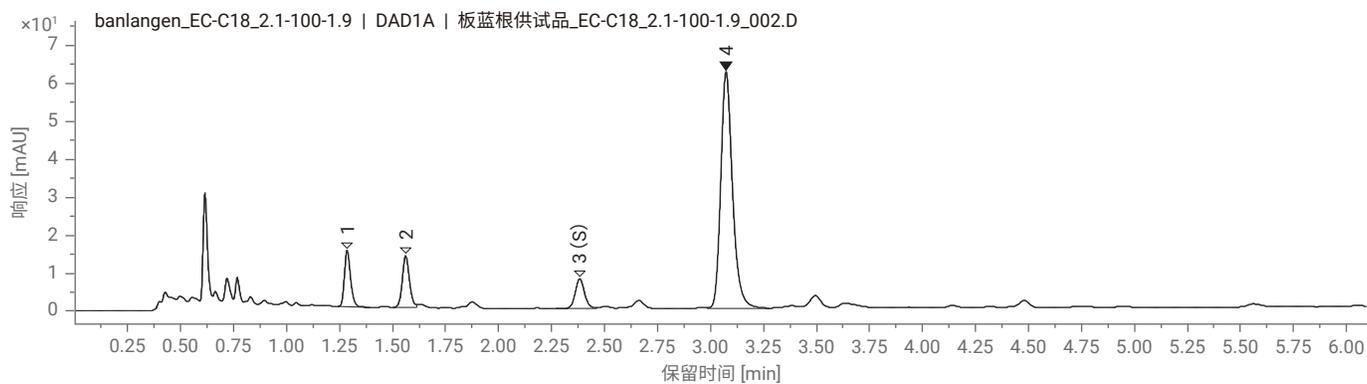
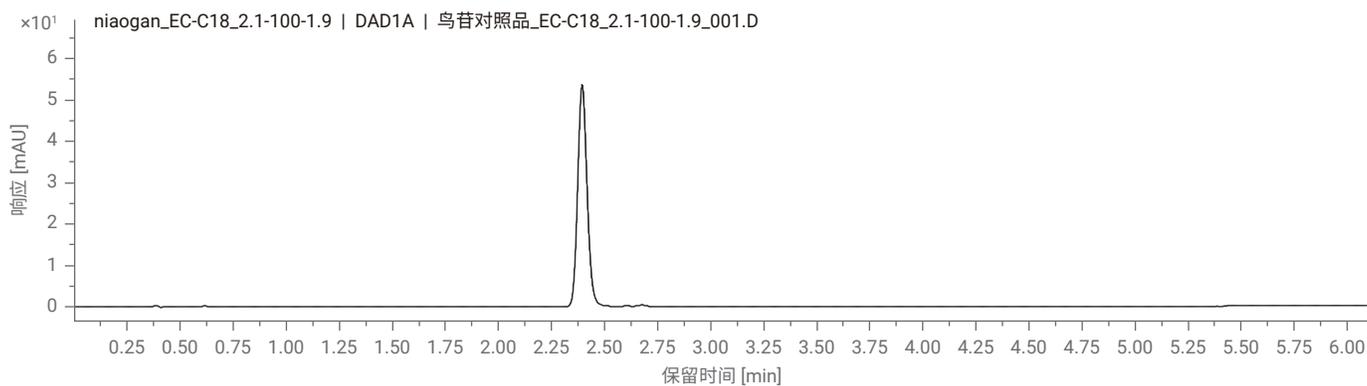
- 转换成 UHPLC 方法后分析时间由 47 分钟缩短至 9 分钟

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--|---|----|---|---|---|---|----|---|----|---|----------|-------|---|----------|----|---|---|------|---|------|---|------|---|----------|-------|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18(2), 4.6 × 250 mm, 5 μm; PN: 588925-902 | Porosehl 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm; PN: 695675-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1% H ₃ PO ₄ ; MPB: MeOH | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.5 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>Post run</td> <td>7 min</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 1 | 5 | 1 | 30 | 7 | 40 | 7 | Post run | 7 min | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>0.76</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>4.56</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>6.08</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>Post run</td> <td>3 min</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 1 | 0.76 | 1 | 4.56 | 7 | 6.08 | 7 | Post run | 3 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Post run | 7 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0.76 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4.56 | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6.08 | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Post run | 3 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 30 °C | 30 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 245 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 245 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 5 μl | 0.8 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | (R,S)告依春, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

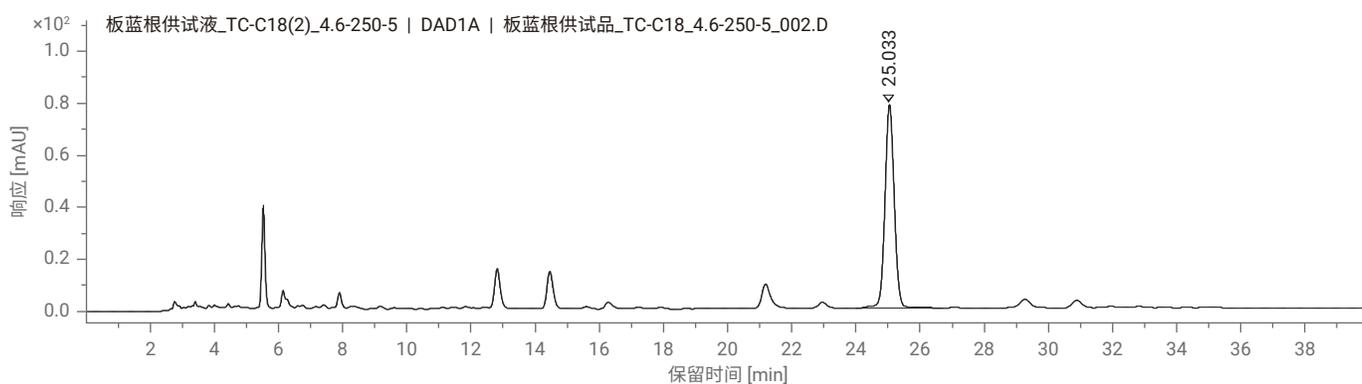
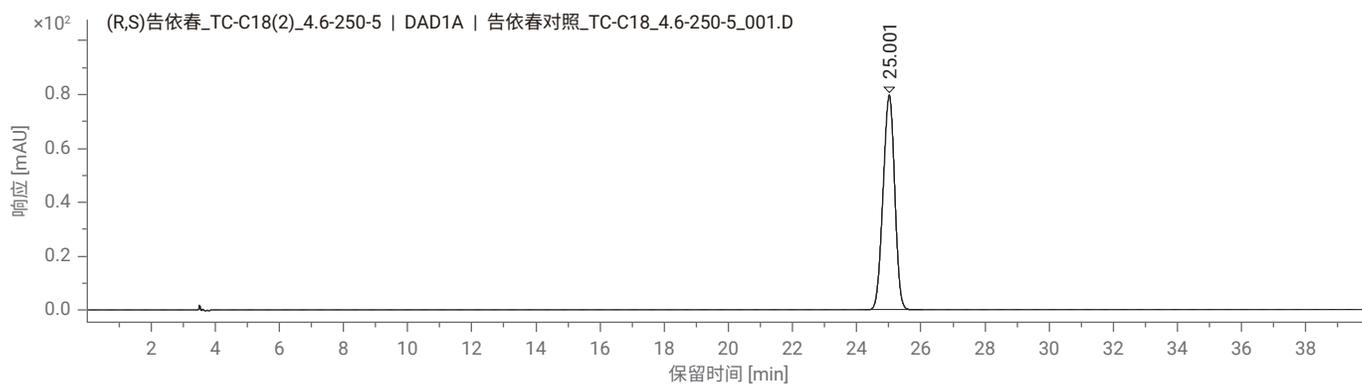
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----------|------------|----------|------------|-----------|
| (R,S)-告依春 | 25.033 | 37729 | 1.05 | 1.51 |

UHPLC 方法

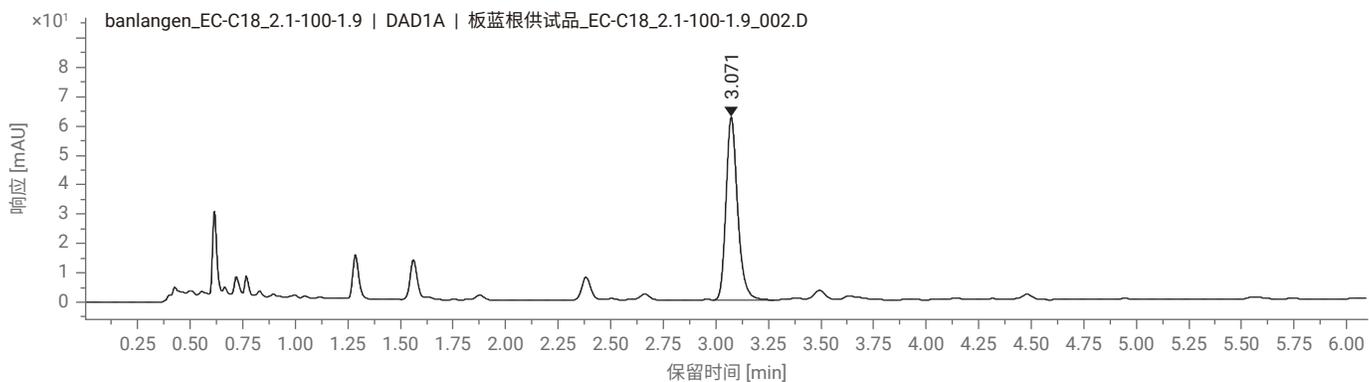
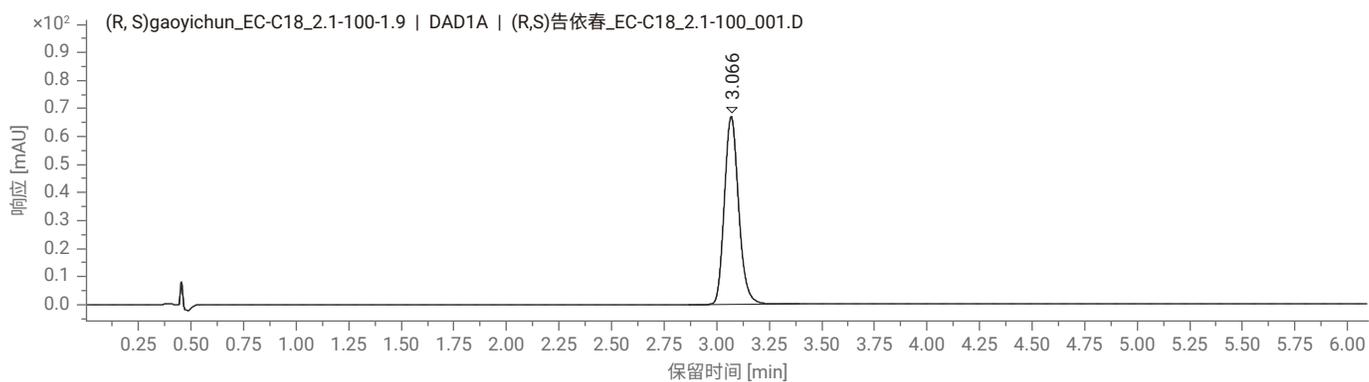
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----------|------------|----------|------------|-----------|
| (R,S)-告依春 | 3.071 | 15799 | 1.28 | 1.52 |

典型图谱

HPLC 方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



补骨脂配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|--|-------|--------------|------|
| 仪器 | 1290 二元系统模拟四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.1% 磷酸); MPB: ACN | 柱温 | 30 °C | |
| 流速 | 原始方法: 0.35 ml/ min | 加速方法: | 0.70 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 11 | 0 | 11 |
| | 6 | 17 | 3 | 17 |
| | 15 | 36 | 7.5 | 36 |
| | 19 | 70 | 9.5 | 70 |
| | 21 | 95 | 10.5 | 95 |
| | 22 | 95 | 11 | 95 |
| | 22.1 | 11 | 11.1 | 11 |
| | 25 | 11 | 13.5 | 11 |
| 检测器 | 246 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | 进样量 | 1 μl |
| 对照品 | 补骨脂素、异补骨脂素, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

UHPLC 原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 5.396 | 补骨脂苷 | 0.36 | 0.31-0.37 | | | 33751 |
| 2 | 5.968 | 异补骨脂苷 | 0.40 | 0.33-0.41 | | | 43753 |
| 3 (S) | 15.006 | 补骨脂素 | | | | | 155993 |
| 4 | 15.608 | 异补骨脂素 | 1.04 | 0.94-1.14 | | | 174732 |
| 5 | 23.197 | 补骨脂酚 | | | | | 4359439 |

UHPLC 加速方法

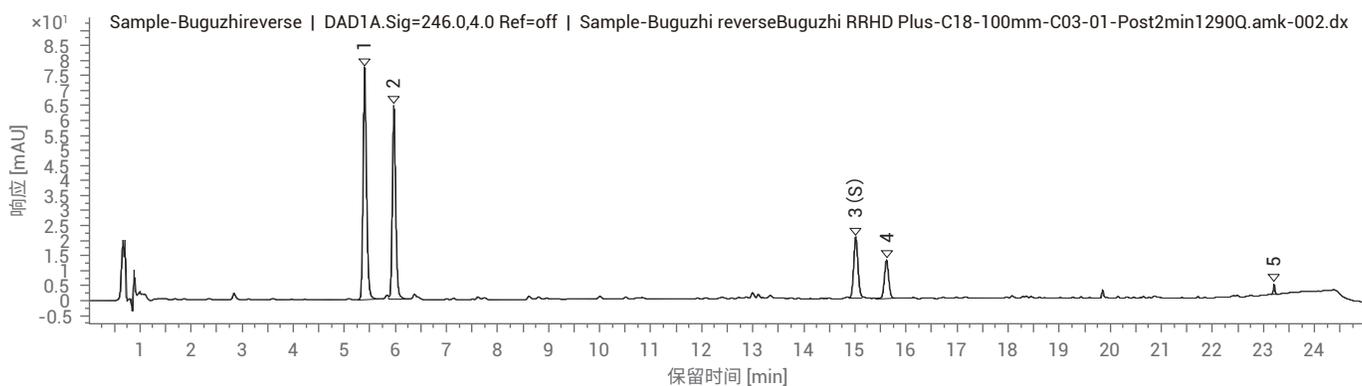
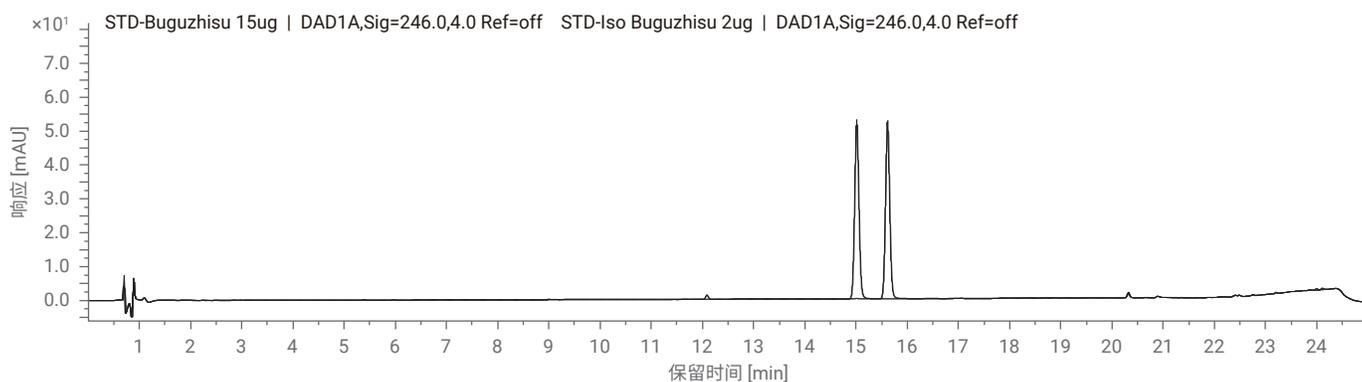
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.833 | 补骨脂苷 | 0.37 | 0.31-0.37 | | | 29368 |
| 2 | 3.136 | 异补骨脂苷 | 0.41 | 0.33-0.41 | | | 37272 |
| 3 (S) | 7.569 | 补骨脂素 | | | | | 171373 |
| 4 | 7.875 | 异补骨脂素 | 1.04 | 0.94-1.14 | | | 192313 |
| 5 | 11.602 | 补骨脂酚 | | | | | 3562811 |

小结及注意事项

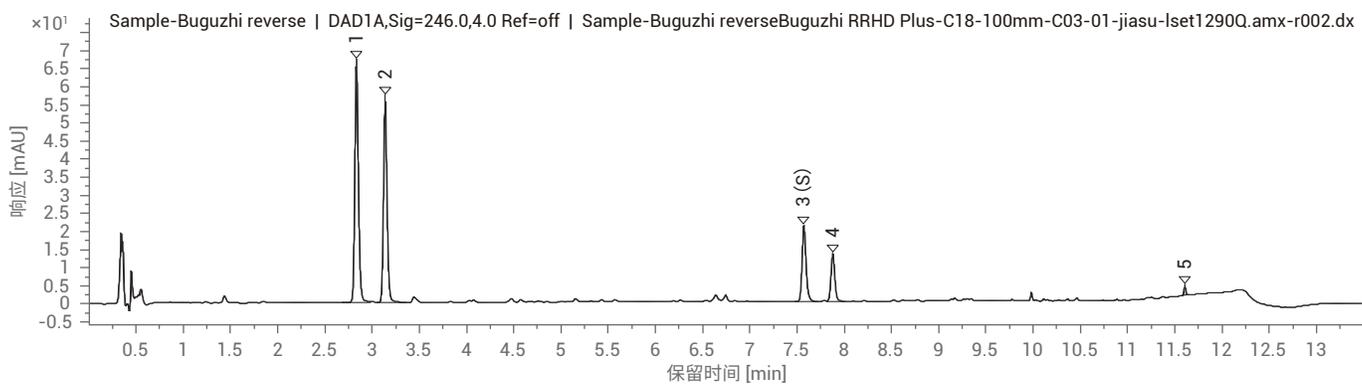
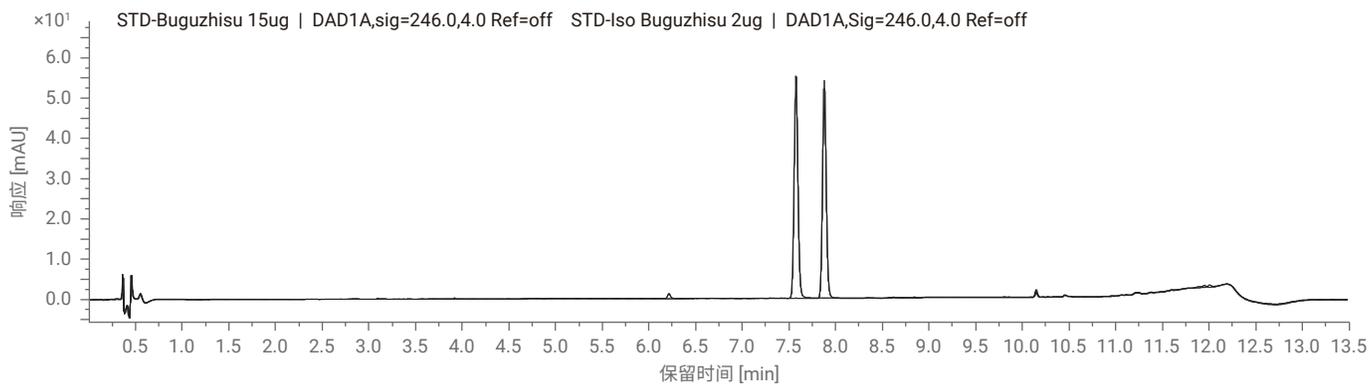
- 原始方法压力最高 381 bar, 加速方法压力最高 705Bar
- 原始方法与加速方法的图谱轮廓保持一致, 均能满足系统适用性及相对保留时间要求

特征图谱

UHPLC 方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 加速方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|----|--------------------|----|
| 仪器 | 1290 二元系统模拟 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.1% 磷酸); MPB: ACN | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.35 ml/ min | | 加速方法: 0.70 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 11 | 0 | 11 |
| | 6 | 17 | 3 | 17 |
| | 15 | 36 | 7.5 | 36 |
| | 19 | 70 | 9.5 | 70 |
| | 21 | 95 | 10.5 | 95 |
| | 22 | 95 | 11 | 95 |
| | 22.1 | 11 | 11.1 | 11 |
| | 25 | 11 | 13.5 | 11 |
| 柱温 | 30 °C | | | |
| 检测器 | 246 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | |
| 对照品 | 补骨脂素, 由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

UHPLC-二元-原始方法

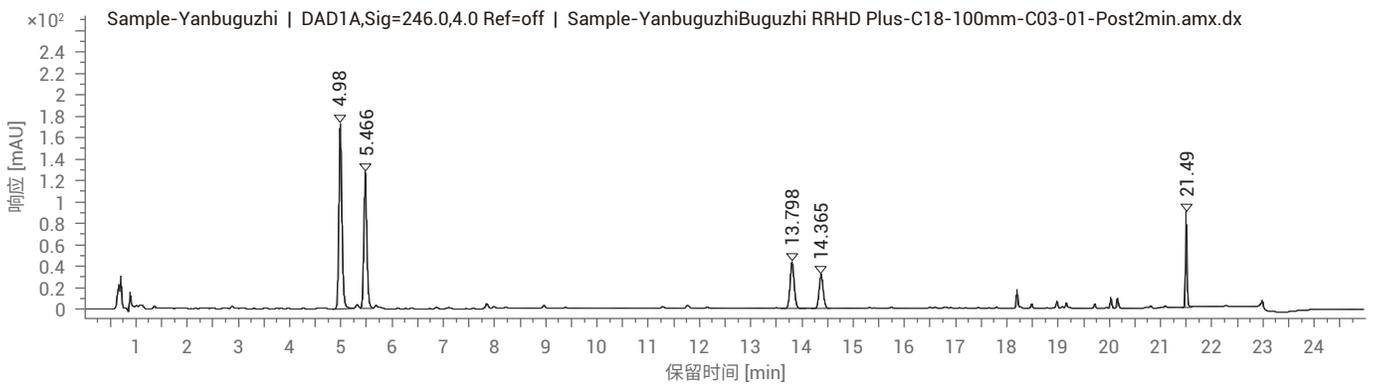
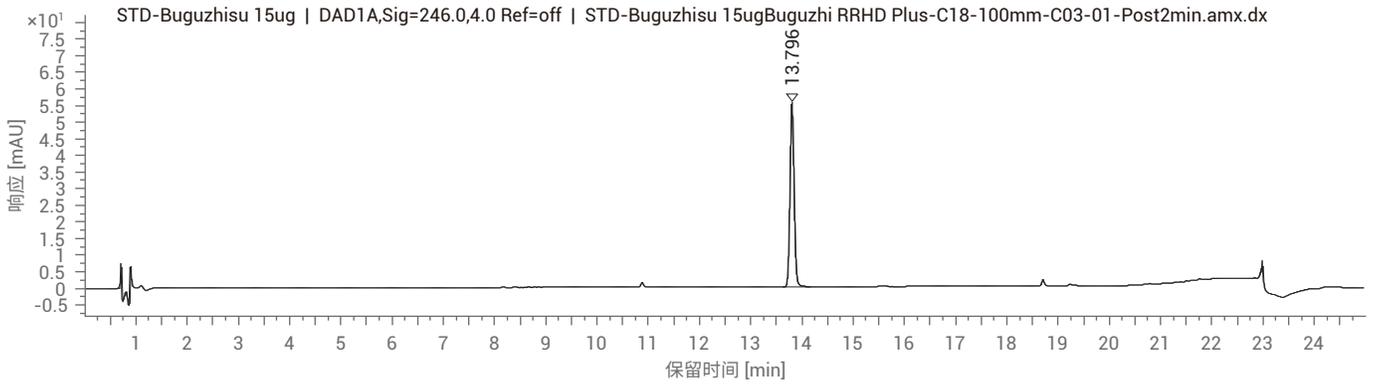
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-------|------------|----------|------------|-----------|
| 补骨脂苷 | 4.98 | 37698 | 1.21 | 6.75 |
| 异补骨脂苷 | 5.466 | 46198 | 1.19 | 4.52 |
| 补骨脂素 | 13.798 | 147144 | 1.08 | 5.94 |
| 异补骨脂素 | 14.365 | 163606 | 1.08 | 4.20 |
| 补骨脂酚 | 21.49 | 3875959 | 1.28 | |

UHPLC-四元-加速方法

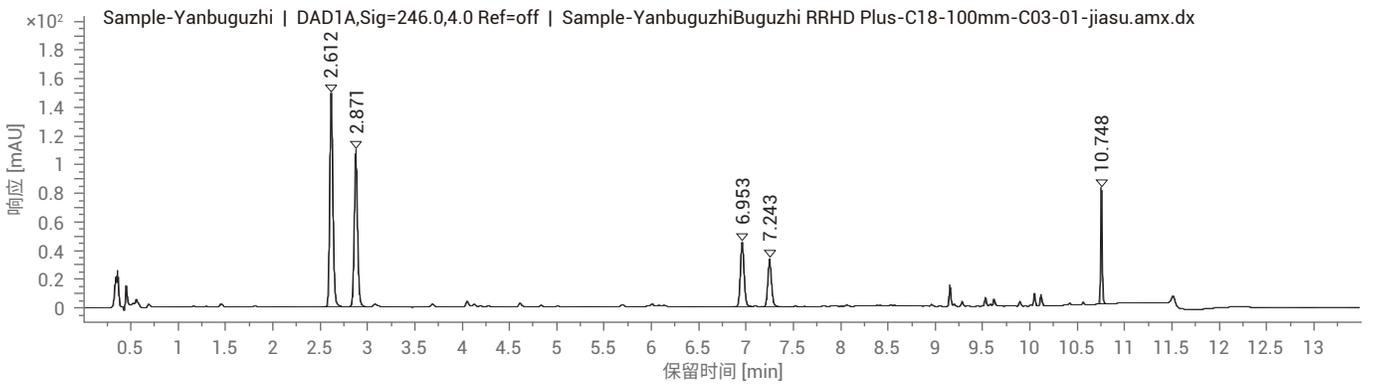
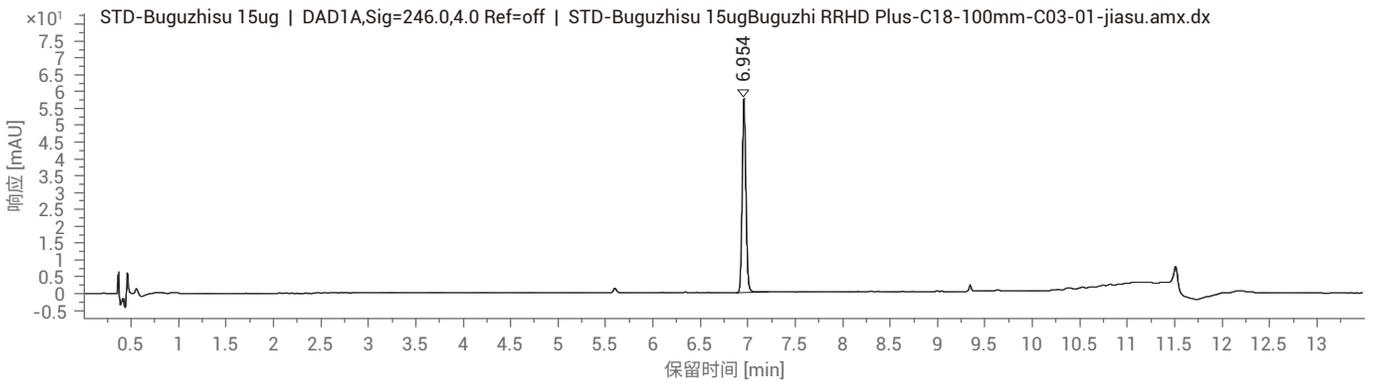
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-------|------------|----------|------------|-----------|
| 补骨脂苷 | 2.612 | 31836 | 1.18 | 6.62 |
| 异补骨脂苷 | 2.871 | 36733 | 1.13 | 4.63 |
| 补骨脂素 | 6.953 | 158972 | 1.10 | 5.90 |
| 异补骨脂素 | 7.243 | 177407 | 1.12 | 4.17 |
| 补骨脂酚 | 10.748 | 3185383 | 1.23 | |

典型图谱

UHPLC 原始方法图谱(上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 加速方法图谱(上图为对照品, 下图为供试品)



燐桃仁（桃）配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|---|---|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18(2), 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 588925-902 | Poroshell 120 SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 685675-902 |
| 流动相 | MPA: 0.1% H ₃ PO ₄ ; MPB: MeOH | MPA: 0.1% H ₃ PO ₄ ; MPB: MeOH |
| 流速 | 1.0 ml/min | 0.4 ml/min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% | 时间 (min) B% |
| | 0 5 | 0 5 |
| | 10 15 | 1.9 15 |
| | 20 25 | 3.8 25 |
| | 30 35 | 5.7 35 |
| | 40 35 | 7.6 35 |
| | Post run 7 min | Post run 3 min |
| 柱温 | 20 °C | 25 °C |
| 检测器 | 214 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 5 Hz | 214 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 0.8 μl |
| 对照品 | 苦杏仁苷, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 23.246 | | 0.888 | 0.799-0.937 | | | 84413 |
| 2 | 24.247 | 色氨酸 | 0.926 | 0.809-0.949 | | | 81430 |
| 3 (S) | 26.180 | 苦杏仁苷 | | | | | 59169 |
| 4 | 28.684 | | 1.096 | 1.029-1.209 | | | 94178 |
| 5 | 29.418 | | 1.124 | 1.058-1.242 | | | 97571 |
| 6 | 34.381 | | 1.313 | 1.292-1.516 | | | 113689 |

UHPLC 方法

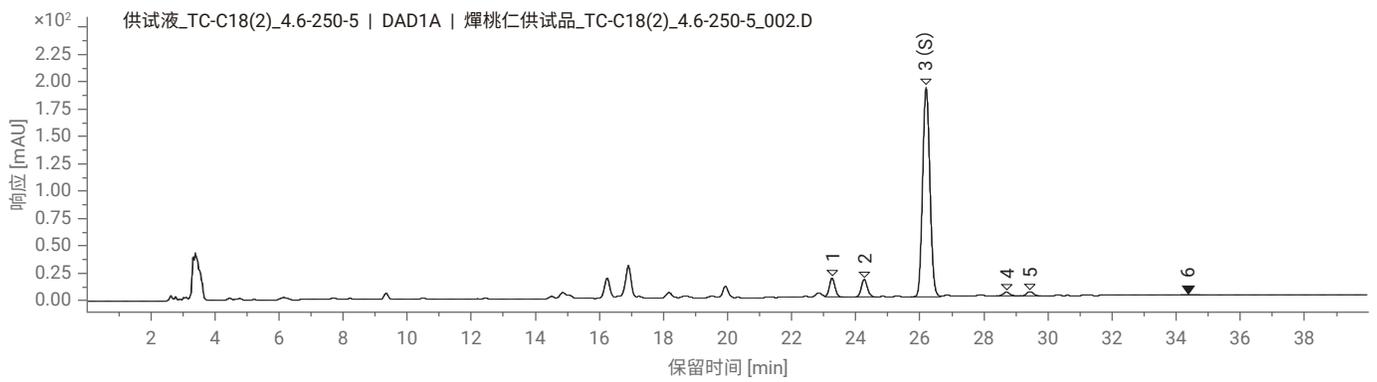
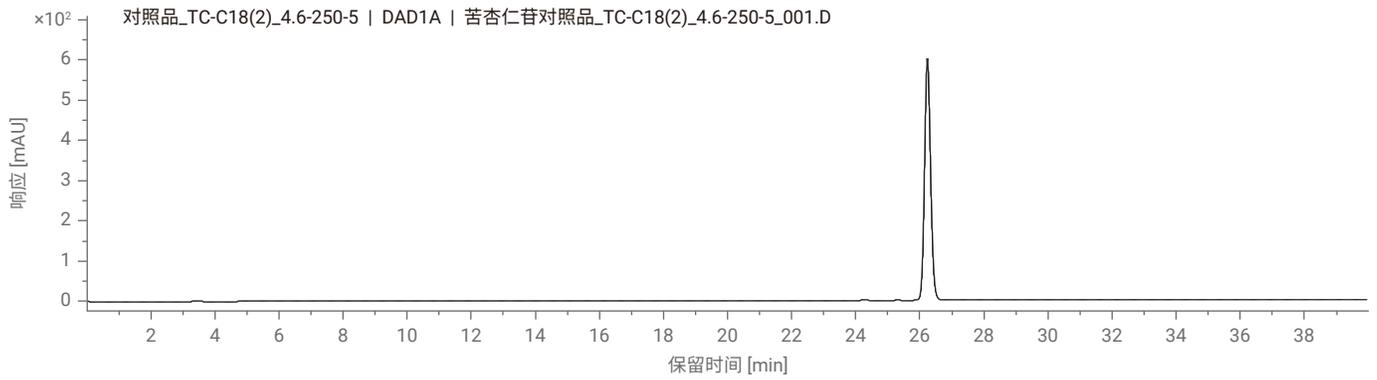
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 4.671 | | 0.844 | 0.799-0.937 | | | 94129 |
| 2 | 5.015 | 色氨酸 | 0.906 | 0.809-0.949 | | | 142676 |
| 3 (S) | 5.534 | 苦杏仁苷 | | | | | 38177 |
| 4 | 5.911 | | 1.068 | 1.029-1.209 | | | 12097 |
| 5 | 6.034 | | 1.090 | 1.058-1.242 | | | 118549 |
| 6 | 7.766 | | 1.403 | 1.292-1.516 | | | 148049 |

小结及注意事项

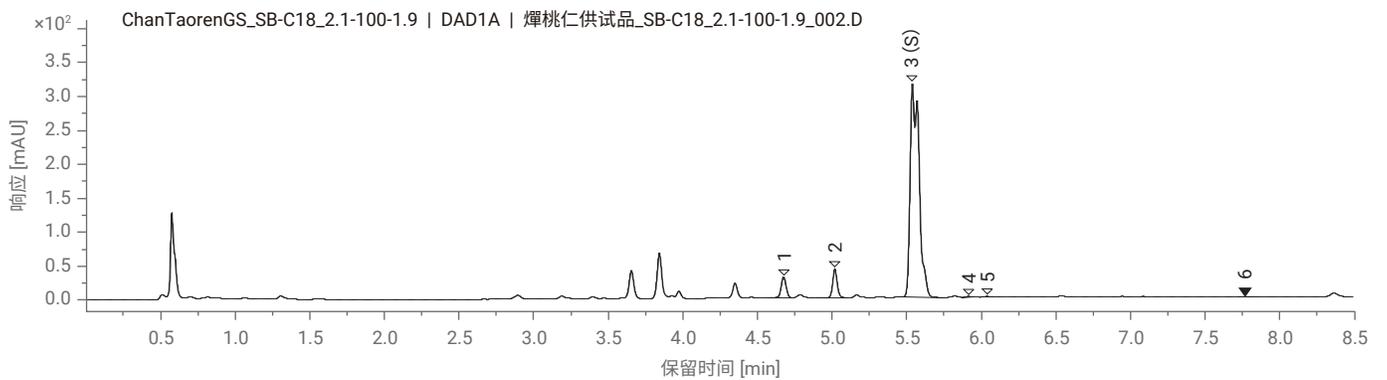
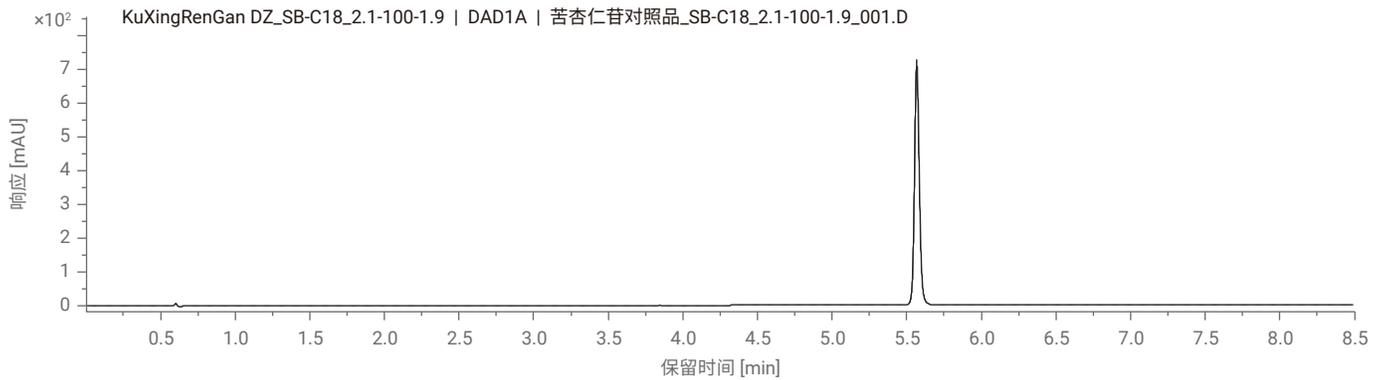
- 原始方法压力最高 320 bar, UHPLC 方法压力最高 888 bar; 加速分析方法比原方法时间缩短 36.4 min
- 苦杏仁苷存在异构体, UHPLC 方法采用 Poroshell 120 SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm 色谱柱时, 由于选择性差异导致苦杏仁苷异构体略有分离
- 苦杏仁苷存在异构体, 并且在溶液中会相互转化, 对照品溶液建议临用新制

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|----------|----|---|---|----|---|----|---|----|---|------|----|----|----|----------|-------|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 50 mm, 1.8 μm, PN: 857700-902 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1% H ₃ PO ₄ ; MPB: ACN | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 0.4 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table><tr><td>时间 (min)</td><td>B%</td></tr><tr><td>0</td><td>3</td></tr><tr><td>10</td><td>3</td></tr><tr><td>12</td><td>4</td></tr><tr><td>25</td><td>4</td></tr><tr><td>25.1</td><td>95</td></tr><tr><td>28</td><td>95</td></tr><tr><td>Post run</td><td>4 min</td></tr></table> | 时间 (min) | B% | 0 | 3 | 10 | 3 | 12 | 4 | 25 | 4 | 25.1 | 95 | 28 | 95 | Post run | 4 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25.1 | 95 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 28 | 95 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Post run | 4 min | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 23 °C | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 210 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 苦杏仁苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

UHPLC 方法

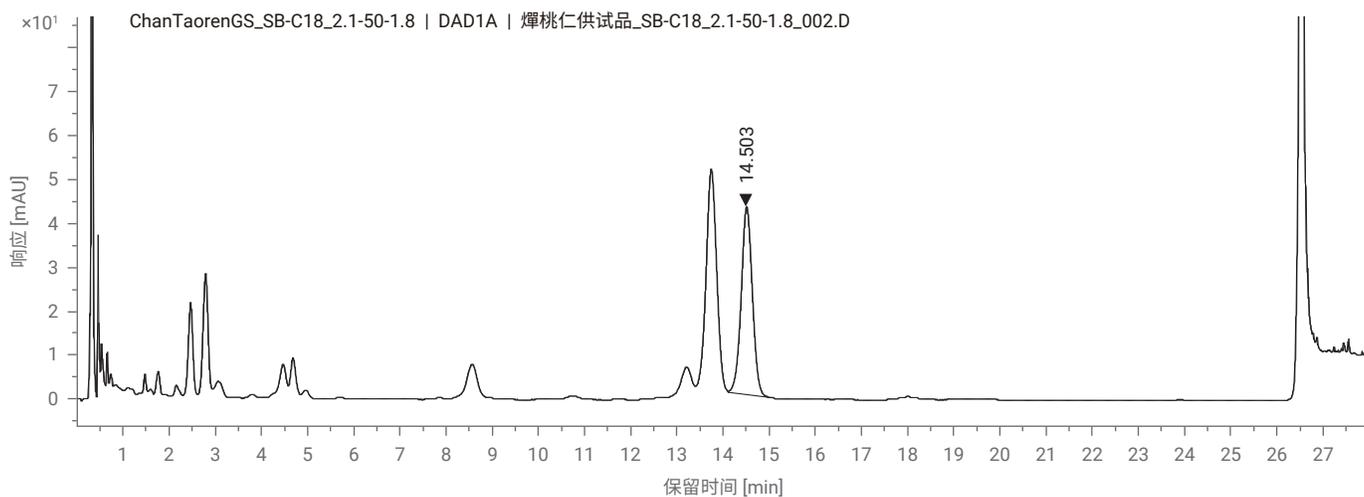
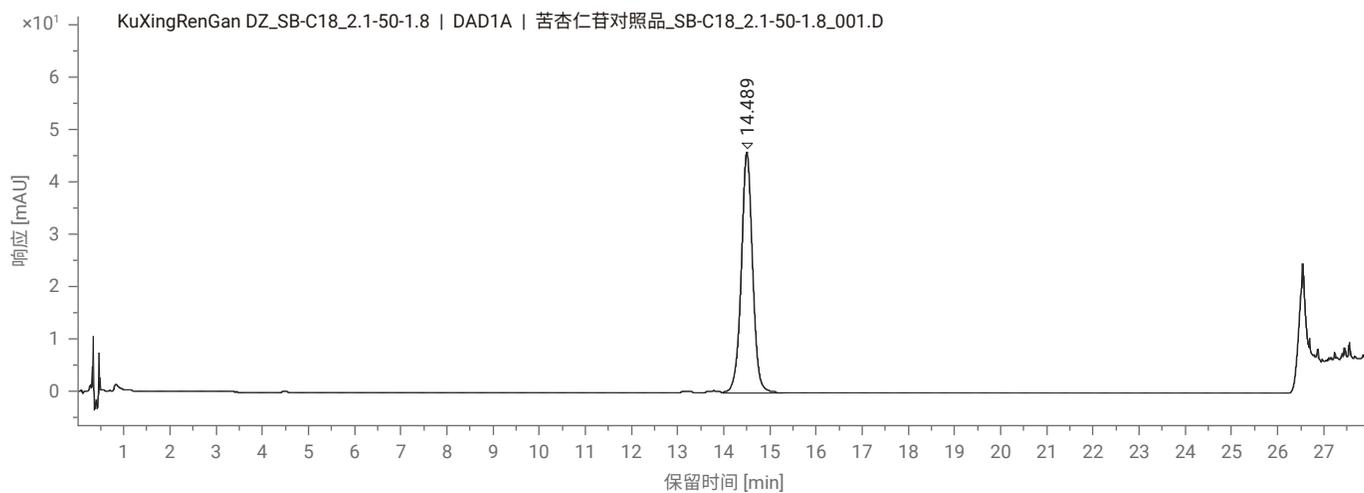
| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|---|------|------------|----------|------------|-----------|
| 1 | 苦杏仁苷 | 14.489 | 18608 | 1.00 | 49.46 |

小结及注意事项

- 国标原方法梯度最终比例洗脱强度较弱, 为避免样品中较强保留组分在色谱柱内残留富集造成柱污染, 梯度结束后增加高比例有机相洗柱程序
- 苦杏仁苷存在异构体, 并且在溶液中会相互转化, 对照品溶液建议临用新制

典型图谱

UHPLC 方法



燂桃仁（山桃） 配方颗粒-山东省标



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--|----------|----|---|---|---|---|---|---|----|---|----|-----|--------|-------|
| 仪器 | 1260 二元系统, 包含二元泵(G1312B), 自动进样器 (G1367E), 柱温箱 (G1316A), DAD (G4212A) | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Poroshell 120 SB-C18, 3.0 × 100 mm, 2.7 μm, PN: 685975-302 | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.2% H_3PO_4 ; MPB: Acetonitrile | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 0.8 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <tr><td>时间 (min)</td><td>B%</td></tr> <tr><td>0</td><td>3</td></tr> <tr><td>3</td><td>3</td></tr> <tr><td>5</td><td>4</td></tr> <tr><td>28</td><td>4</td></tr> <tr><td>33</td><td>100</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>3 min</td></tr> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 3 | 3 | 3 | 5 | 4 | 28 | 4 | 33 | 100 | 后运行时间: | 3 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 3 | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 3 | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 4 | | | | | | | | | | | | | | |
| 28 | 4 | | | | | | | | | | | | | | |
| 33 | 100 | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 3 min | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 25 °C | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 210 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 4 μl | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 苦杏仁苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

UHPLC 方法

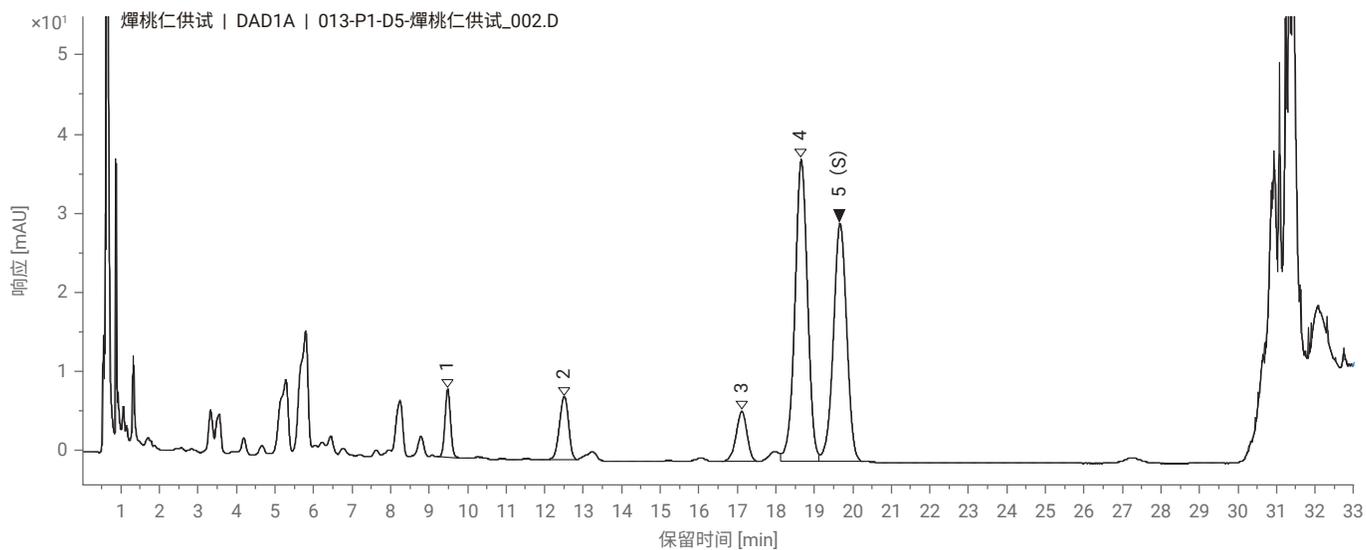
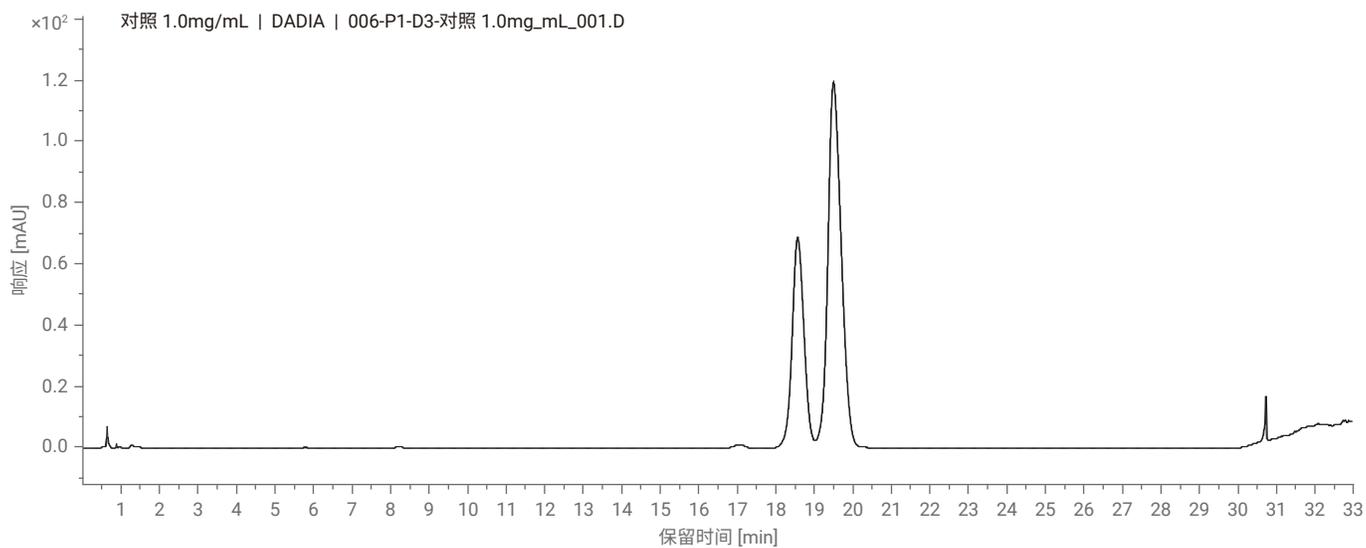
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 9.476 | 色氨酸 | | | | | 20938 |
| 2 | 12.502 | | 0.636 | 0.540~0.660 | | | 12973 |
| 3 | 17.104 | | 0.870 | 0.774~0.946 | | | 18311 |
| 4 | 18.638 | | 0.949 | 0.855~1.045 | | | 16895 |
| 5(S) | 19.649 | 苦杏仁苷 | | | | | 15981 |

小结及注意事项

- 苦杏仁苷存在异构体, 参考山东省桃仁（山桃）配方颗粒方法, 苦杏仁苷与异构体能够得到有效分离 (R_s 1.69)
- 苦杏仁苷存在异构体, 并且在溶液中会相互转化, 对照品溶液建议临用新制

特征图谱

UHPLC 方法图谱



含量测定系统适用性及结果

| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|---|------|------------|----------|------------|-----------|
| 1 | 苦杏仁苷 | 19.658 | 16143 | 0.97 | 30.8 |

炒莱菔子配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-----------------------|--|--|
| 仪器 | 1290 二元泵 iSet 模拟 1260Q: 四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 四系统: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 518925-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.1%磷酸); MPB: 乙腈 | 柱温 30 °C |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.4 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% | 时间 (min) B% |
| | 0 2 | 0 2 |
| | 10 3 | 2.1 3 |
| | 17 10 | 3.6 10 |
| | 20 12 | 4.2 12 |
| | 45 15 | 9.5 15 |
| | 70 30 | 14.7 30 |
| | 75 55 | 15.8 55 |
| 77 2 | 16.2 2 | |
| | 后运行时间: 10 min | 后运行时间: 4 min |
| 检测器 | 225 nm 采样频率: 2.5 Hz | 225 nm 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl |
| 对照品 | 芥子碱硫酸盐, 3,6-二芥子酰基蔗糖, 均由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 8.063 | | | | | | 11838 |
| 2 | 32.443 | 芥子碱硫酸盐 | | | | | 117902 |
| 3 | 56.354 | | 0.89 | 0.80-0.98 | | | 554176 |
| 4 (S) | 63.345 | 3,6-二芥子酰基蔗糖 | | | | | 998292 |

UHPLC 方法

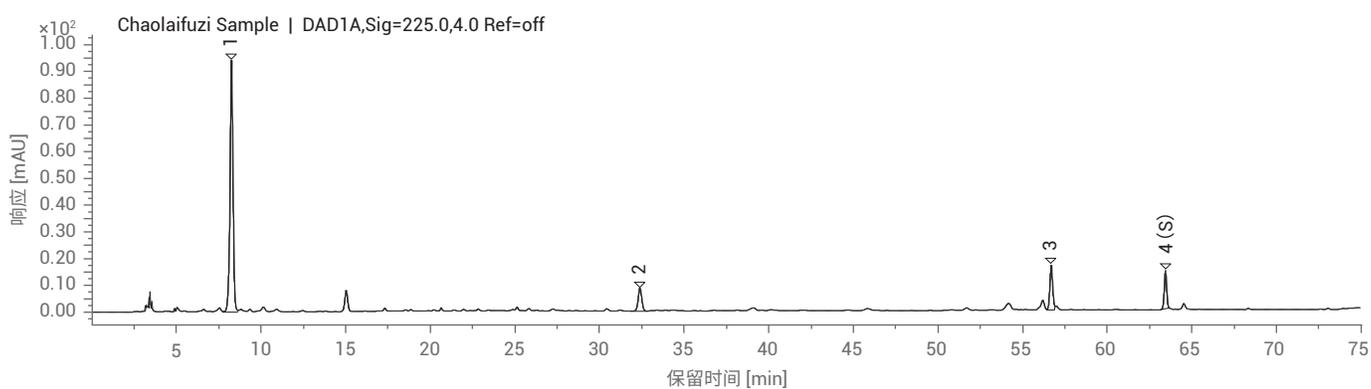
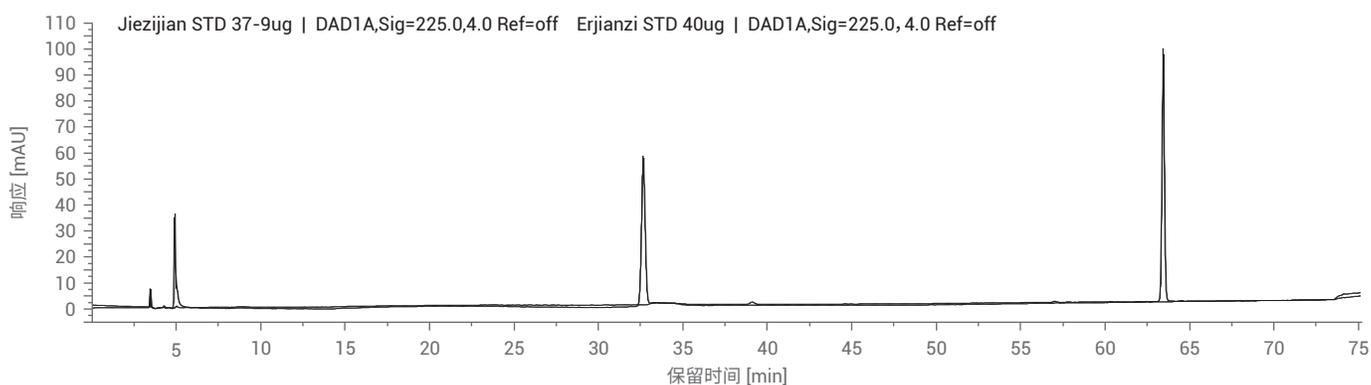
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 |
|-------|------------|-------------|--------|----------|-------|------|--------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 3.754 | | | | | | 55741 |
| 2 | 7.666 | 芥子碱硫酸盐 | | | | | 85930 |
| 3 | 11.892 | | 0.86 | 0.8-0.98 | | | 349516 |
| 4 (S) | 13.888 | 3,6-二芥子酰基蔗糖 | | | | | 817748 |

小结及注意事项

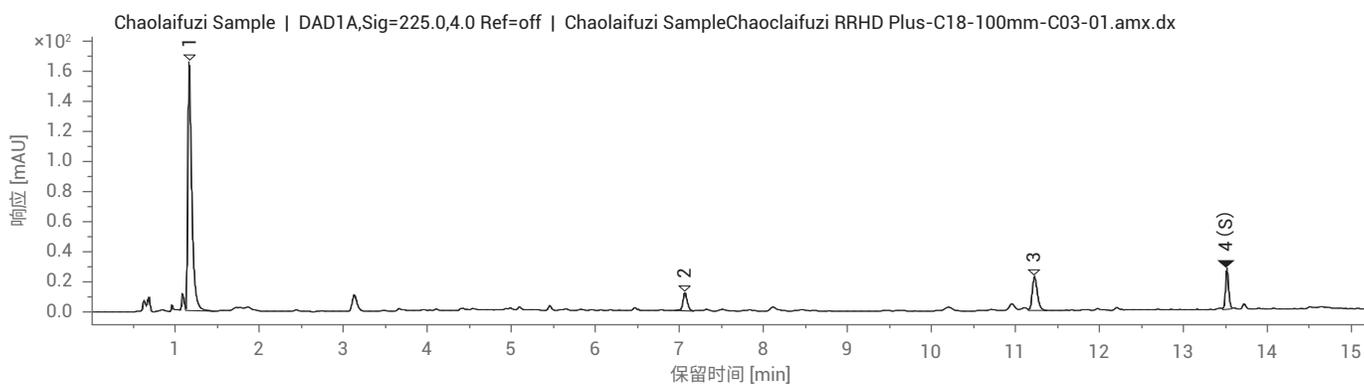
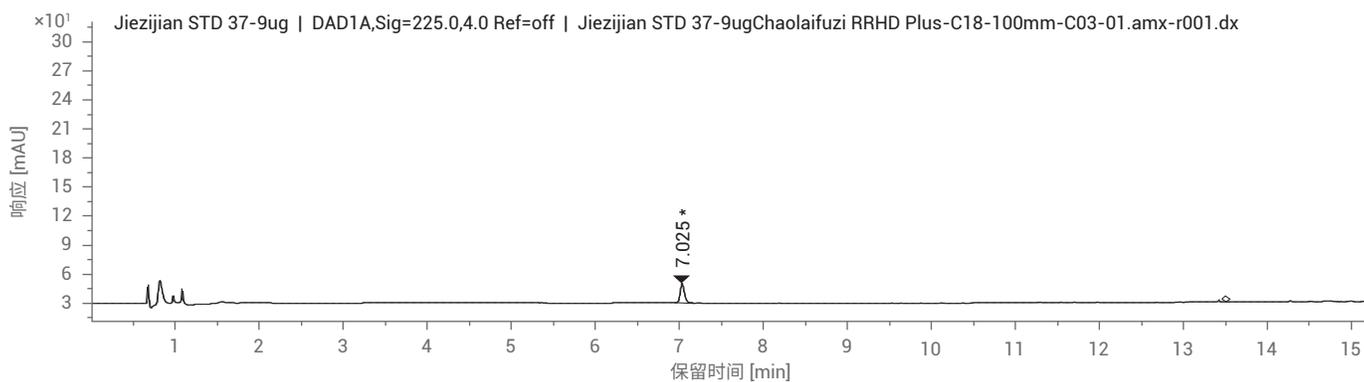
- 原方法增加后运行时间 10 分钟, UHPLC 增加后运行时间 4 分钟
- 转换成 UHPLC 色谱方法, 时间从 77 分钟缩短到 16.2 分钟, 时间节省 60 分钟 (77% 时间节省)

特征图谱

HPLC 方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|--|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|----------|----|---|----|---|----|-----|----|---|----|---|----|
| 仪器 | 1290 二元泵 iSet 模拟 1260Q: 四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 二元泵 iSet 模拟 1290Q: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 518925-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.1%磷酸) ; MPB: 乙腈 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.4 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>11</td></tr> <tr><td>28</td><td>11</td></tr> <tr><td>30</td><td>45</td></tr> <tr><td>35</td><td>45</td></tr> <tr><td>37</td><td>11</td></tr> </tbody> </table> 后运行: 10 min | 时间 (min) | B% | 0 | 11 | 28 | 11 | 30 | 45 | 35 | 45 | 37 | 11 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>11</td></tr> <tr><td>6</td><td>11</td></tr> <tr><td>6.5</td><td>45</td></tr> <tr><td>7</td><td>45</td></tr> <tr><td>8</td><td>11</td></tr> </tbody> </table> 后运: 4 min | 时间 (min) | B% | 0 | 11 | 6 | 11 | 6.5 | 45 | 7 | 45 | 8 | 11 |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 11 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 28 | 11 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | 45 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35 | 45 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 37 | 11 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 11 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 11 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6.5 | 45 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | 45 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | 11 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 30 °C | 30 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 326 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz | 326 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 芥子碱硫酸盐、3,6-二芥子酰基蔗糖对照品均由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|--------|------------|----------|------------|-----------|
| 芥子碱硫酸盐 | 23.021 | 19190 | 1.06 | 8.25 |

UHPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|--------|------------|----------|------------|-----------|
| 芥子碱硫酸盐 | 5.739 | 13076 | 1.52 | 6.72 |

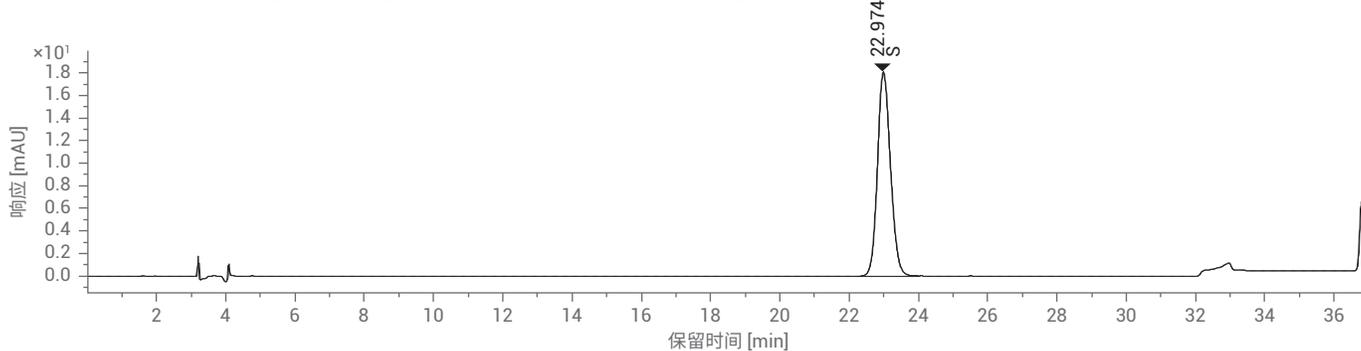
小结及注意事项

- 含量测定 HPLC 方法中, 对照品用甲醇溶解, 容易产生溶剂效应, 需要在进样器和柱温箱之间使用溶剂效应消除管线
- 含量测定方法从 HPLC 转换到 UHPLC, 时间从 37 分钟缩短到 8 分钟, 节省 29 分钟 (78% 时间节省)
- 芥子碱硫酸盐不稳定, 对照品可能出多个峰; 方法转换过程中可能存在降解, UHPLC 方法含量测定结果偏低

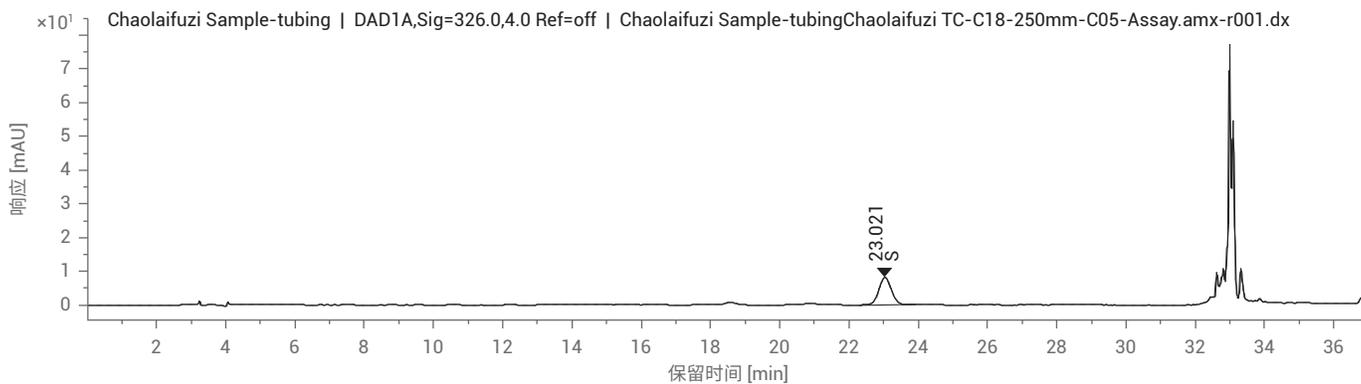
典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）

Jiazijian STD 37-9ug | DAD1A,Sig=326.0,4.0 Ref=off | Jiazijian STD 37-9ugChaolaifuzi TC-C18-250mm-C05-Assay.amx-r002.dx

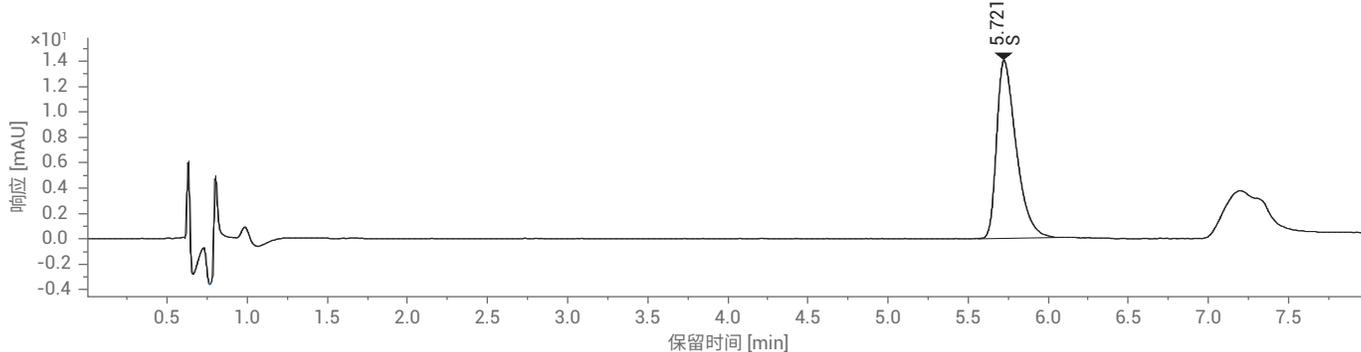


Chaolaifuzi Sample-tubing | DAD1A,Sig=326.0,4.0 Ref=off | Chaolaifuzi Sample-tubingChaolaifuzi TC-C18-250mm-C05-Assay.amx-r001.dx

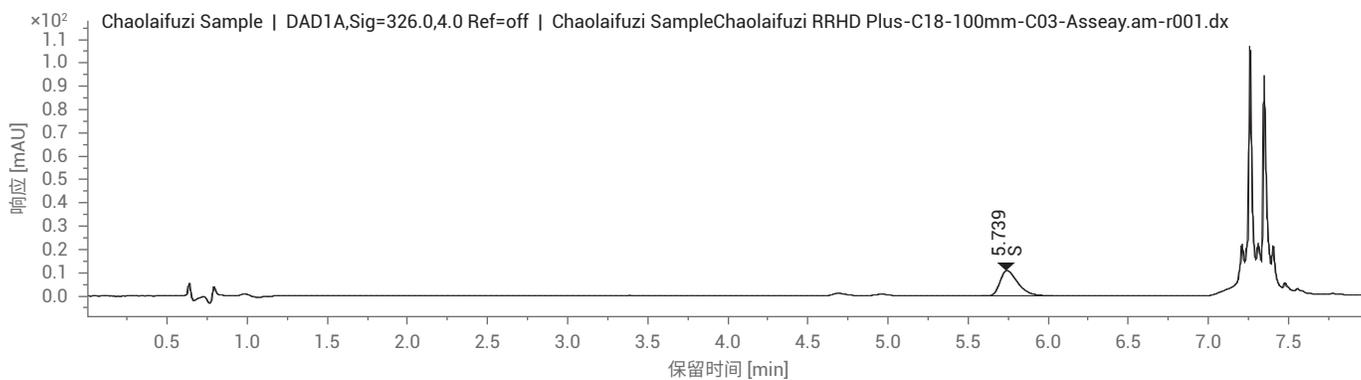


UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）

Jiezijian STD 37-9ug | DAD1A,Sig=326.0,4.0 Ref=off | Jiezijian STD 37-9ugChaolaifuzi RRHD Plus-C18-100mm-C03-Assay.amx-r002.dx



Chaolaifuzi Sample | DAD1A,Sig=326.0,4.0 Ref=off | Chaolaifuzi SampleChaolaifuzi RRHD Plus-C18-100mm-C03-Asseay.am-r001.dx



炒桃仁（桃）配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | |
|-------|--|---|----------|-------|
| 仪器 | 1260 二元系统, 包含二元泵(G1312B), 自动进样器 (G1367E), 柱温箱 (G1316A), DAD (G4212A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18(2), 4.6 x 250 mm, 5 μm, PN: 588925-902 | Poroshell 120 SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.9 μm, PN: 685675-902 | | |
| 流动相 | MPA: 0.1%H ₃ PO ₄ ; MPB: MeOH | MPA: 0.1%H ₃ PO ₄ ; MPB: MeOH | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.4 ml/ min | | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 5 | 0 | 5 |
| | 10 | 15 | 1.9 | 15 |
| | 20 | 25 | 3.8 | 25 |
| | 30 | 35 | 5.7 | 35 |
| | 40 | 35 | 7.6 | 35 |
| | Post run | 7 min | Post run | 3 min |
| 柱温 | 20 °C | 25 °C | | |
| 检测器 | 214 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 214 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | |
| 进样量 | 10 μl | 0.8 μl | | |
| 对照品 | 苦杏仁苷, 由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 23.445 | | 0.889 | 0.798~0.936 | | | 97570 |
| 2 | 24.746 | 色氨酸 | 0.938 | 0.807~0.947 | | | 93971 |
| 3 (S) | 26.371 | 苦杏仁苷 | | | | | 70769 |
| 4 | 29.666 | | 1.125 | 1.029~1.207 | | | 94915 |
| 5 | 30.404 | | 1.153 | 1.059~1.243 | | | 109077 |
| 6 | 36.875 | | 1.398 | 1.308~1.536 | | | 160472 |

UHPLC 方法

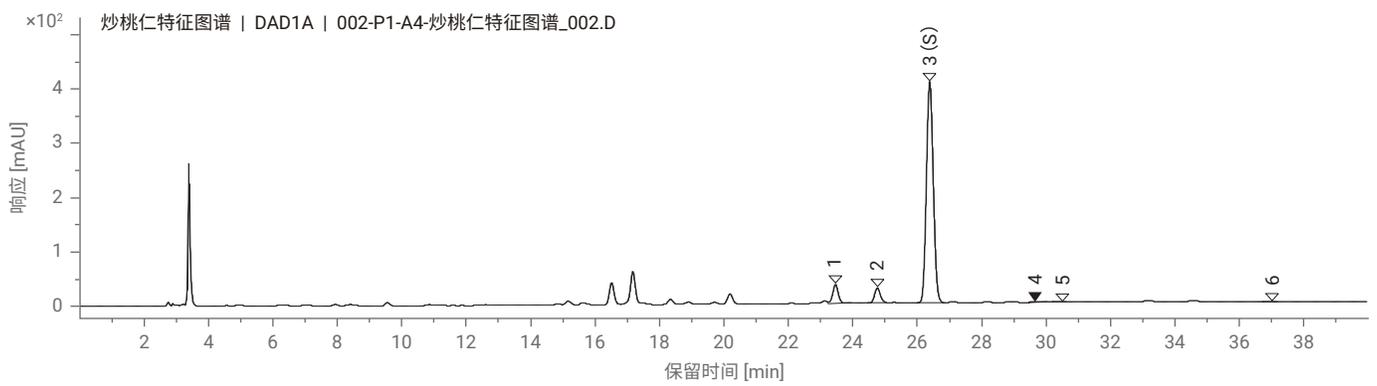
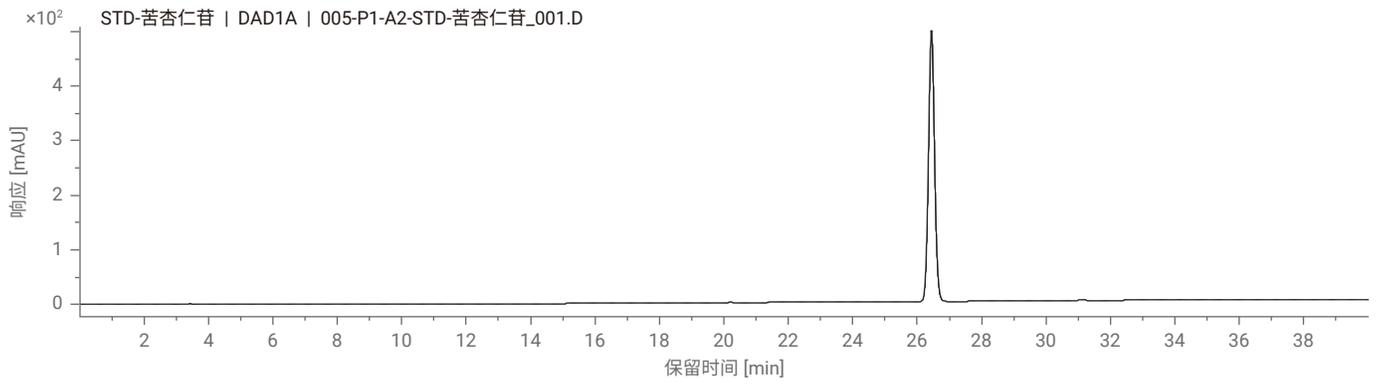
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 4.666 | | 0.843 | 0.798~0.936 | | | 150222 |
| 2 | 5.012 | 色氨酸 | 0.906 | 0.807~0.947 | | | 142522 |
| 3 (S) | 5.533 | 苦杏仁苷 | | | | | 38162 |
| 4 | 5.910 | | 1.068 | 1.029~1.207 | | | 124360 |
| 5 | 6.032 | | 1.090 | 1.059~1.243 | | | 120871 |
| 6 | 7.760 | | 1.402 | 1.308~1.536 | | | 145290 |

小结及注意事项

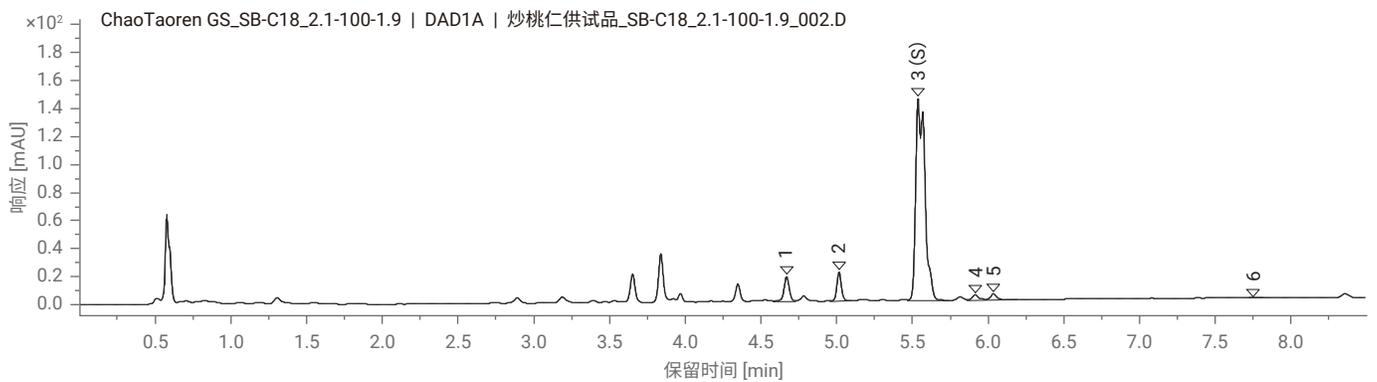
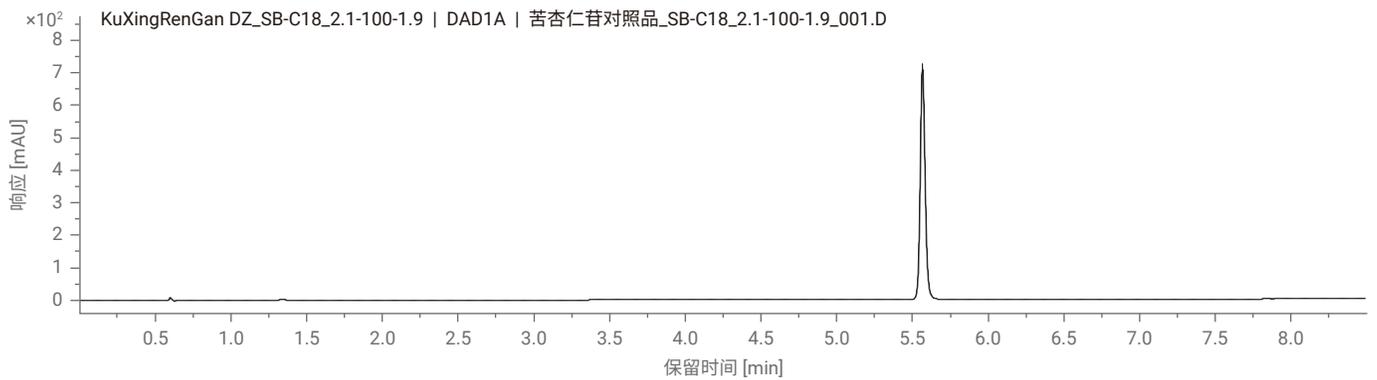
- 苦杏仁苷存在异构体, UHPLC 方法采用 Poroshell 120 SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.9 μm 色谱柱时, 由于选择性差异导致苦杏仁苷异构体略有分离
- 苦杏仁苷存在异构体, 并且在溶液中会相互转化, 对照品溶液须临用新制

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|----------|----|---|---|----|---|----|---|----|---|------|----|----|----|----------|-------|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 50 mm, 1.8 μm, PN: 857700-902 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1% H ₃ PO ₄ ; MPB: ACN | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 0.4 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table><tr><td>时间 (min)</td><td>B%</td></tr><tr><td>0</td><td>3</td></tr><tr><td>10</td><td>3</td></tr><tr><td>12</td><td>4</td></tr><tr><td>25</td><td>4</td></tr><tr><td>25.1</td><td>95</td></tr><tr><td>28</td><td>95</td></tr><tr><td>Post run</td><td>4 min</td></tr></table> | 时间 (min) | B% | 0 | 3 | 10 | 3 | 12 | 4 | 25 | 4 | 25.1 | 95 | 28 | 95 | Post run | 4 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25.1 | 95 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 28 | 95 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Post run | 4 min | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 23 °C | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 210 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 苦杏仁苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

UHPLC 方法

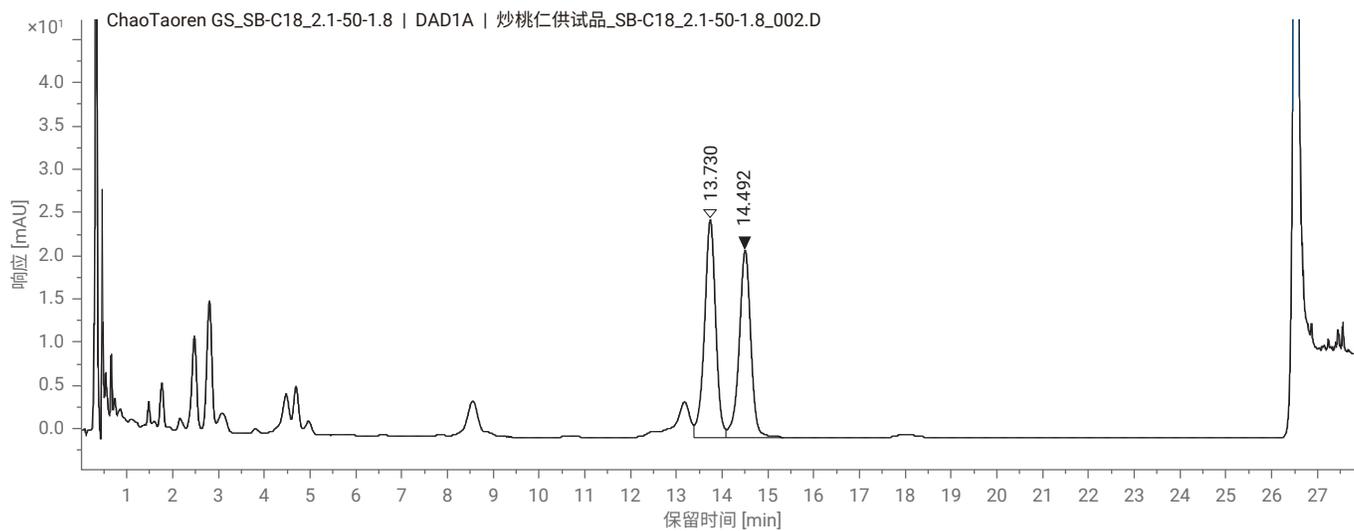
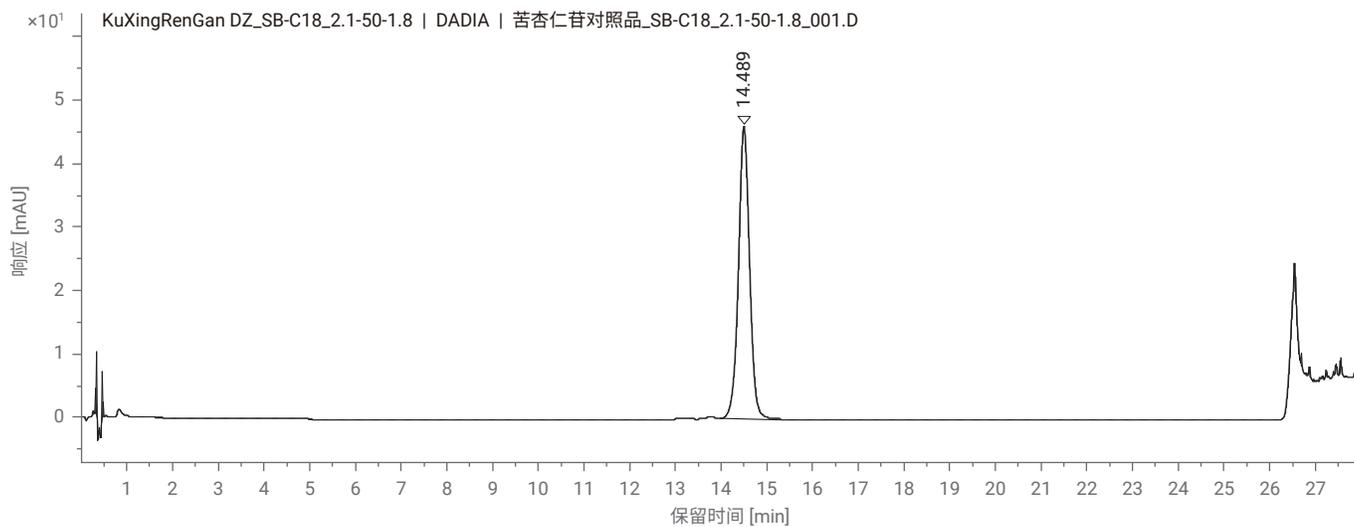
| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|---|------|------------|----------|------------|-----------|
| 1 | 苦杏仁苷 | 14.492 | 18493 | 0.94 | 22.34 |

小结及注意事项

- 国标原方法梯度最终比例洗脱强度较弱, 为避免样品中较强保留组分在色谱柱内残留富集造成柱污染, 梯度结束后增加高比例有机相洗柱程序
- 苦杏仁苷存在异构体, 并且在溶液中会相互转化, 对照品溶液建议临用新制

典型图谱

UHPLC 方法



炒桃仁（山桃） 配方颗粒-山东省标



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|----------|----|---|---|---|---|---|---|----|---|----|-----|--------|-------|
| 仪器 | 1260 二元系统, 包含二元泵(G1312B), 自动进样器 (G1367E), 柱温箱 (G1316A), DAD (G4212A) | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Poroshell 120 SB-C18, 3.0 × 100 mm, 2.7 μm, PN: 685975-302 | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.2% H ₃ PO ₄ ; MPB: Acetonitrile | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 0.8 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <tr> <td>时间 (min)</td> <td>B%</td> </tr> <tr> <td>0</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>28</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>33</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>后运行时间:</td> <td>3 min</td> </tr> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 3 | 3 | 3 | 5 | 4 | 28 | 4 | 33 | 100 | 后运行时间: | 3 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 3 | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 3 | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 4 | | | | | | | | | | | | | | |
| 28 | 4 | | | | | | | | | | | | | | |
| 33 | 100 | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 3 min | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 25 °C | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 210 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 4 μl | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 苦杏仁苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

UHPLC 方法

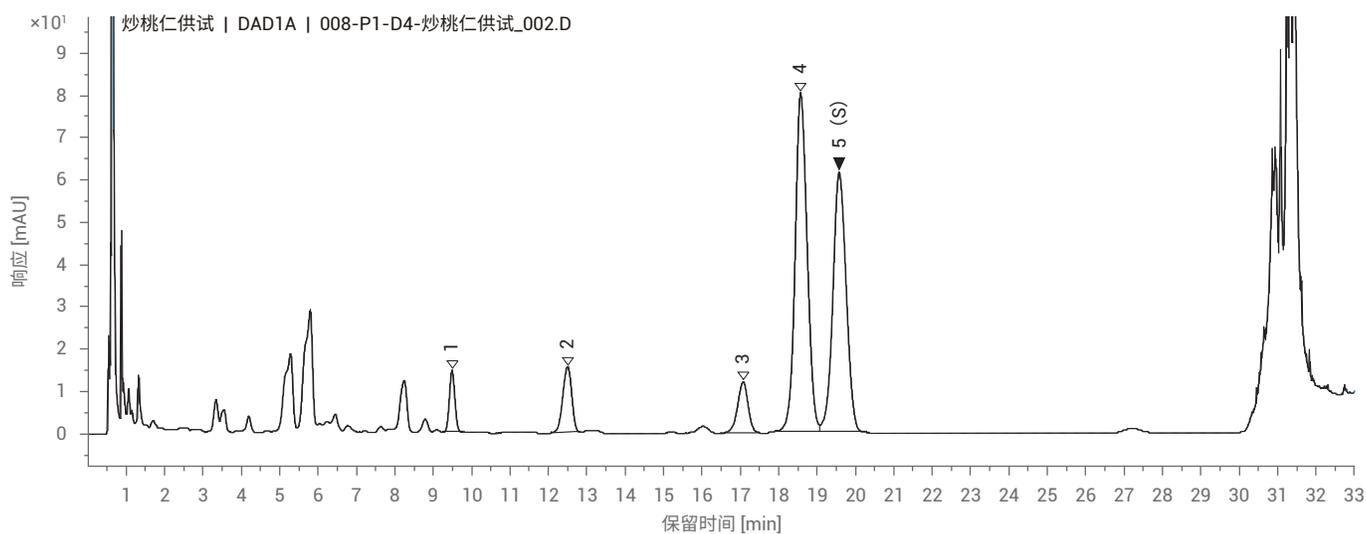
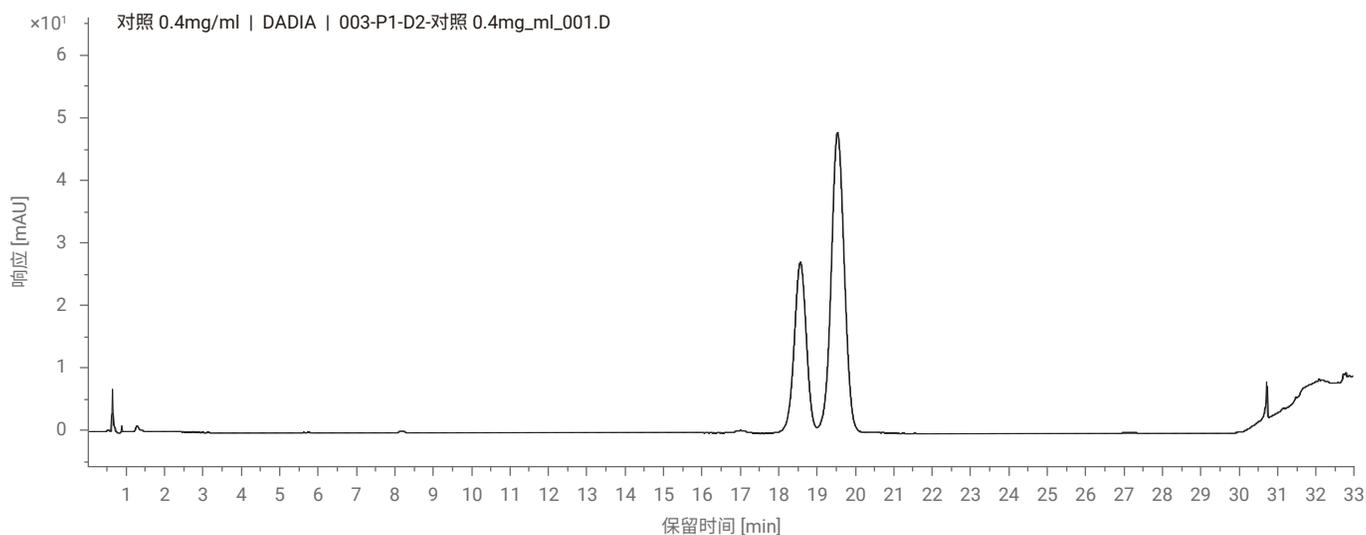
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 9.457 | 色氨酸 | | | | | 20695 |
| 2 | 12.488 | | 0.638 | 0.540~0.660 | | | 13373 |
| 3 | 17.058 | | 0.872 | 0.774~0.946 | | | 19057 |
| 4 | 18.562 | | 0.949 | 0.855~1.045 | | | 17352 |
| 5 (S) | 19.565 | 苦杏仁苷 | | | | | 15490 |

小结及注意事项

- 苦杏仁苷存在异构体, 参考山东省炒桃仁（山桃）配方颗粒方法, 苦杏仁苷与异构体能够得到有效分离 (Rs 1.69)
- 苦杏仁苷存在异构体, 并且在溶液中会相互转化, 对照品溶液建议临用新制

特征图谱

UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定系统适用性及结果

| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|---|------|------------|----------|------------|-----------|
| 1 | 苦杏仁苷 | 19.593 | 15818 | 1.02 | 63.0 |

炒王不留行配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|--|
| 仪器 | 1290 二元泵 iSET 模拟 1260 四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 二元泵 iSET 模拟 1290 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 × 250 mm, 5µm, PN: 990967-902 | ZORBAX RRHD Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 µm, PN: 959758-902 |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.1%磷酸); MPB: 乙腈 | 柱温 30 °C |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 5 35 20 60 60 后运行时间: 10 min | 时间 (min) B% 0 5 5 20 9 60 后运行时间: 3 min |
| 检测器 | 270 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 2.5 Hz | 270 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 µl | 1 µl |
| 对照品 | 王不留行黄酮苷, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

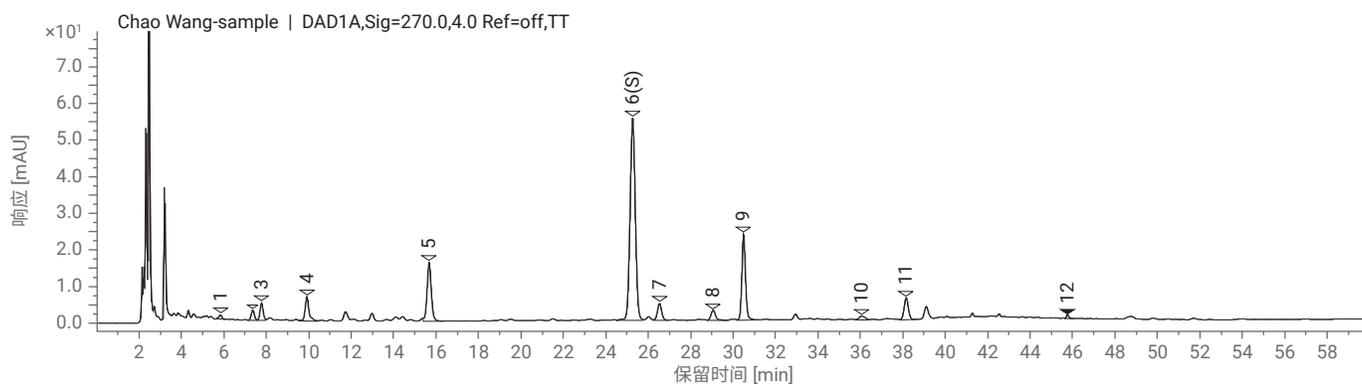
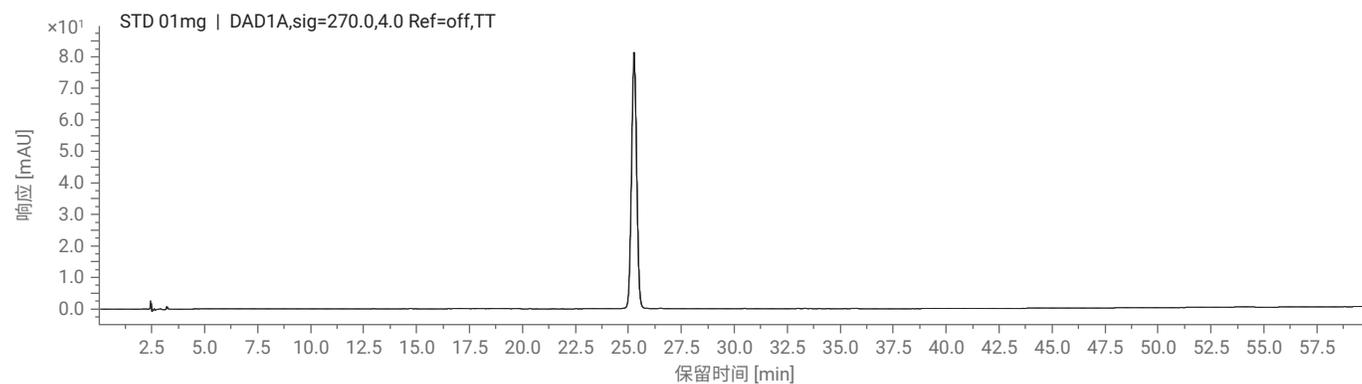
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-----------------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 5.819 | | 0.23 | 0.20-0.24 | | | 27483 |
| 2 | 7.343 | | 0.29 | 0.27-0.33 | | | 12170 |
| 3 | 7.754 | | 0.31 | 0.29-0.35 | | | 15519 |
| 4 | 9.89 | 原儿茶酸 | 0.39 | 0.37-0.45 | | | 20358 |
| 5 | 15.65 | 刺桐碱 | 0.62 | 0.58-0.71 | | | 31632 |
| 6 (S) | 25.248 | 王不留行黄酮苷 | | | | | 51654 |
| 7 | 26.51 | 肥皂草苷 | 1.05 | 0.95-1.16 | | | 89930 |
| 8 | 29.039 | | 1.15 | 1.03-1.26 | | | 101673 |
| 9 | 30.474 | 异牡荆素-2"-O-阿拉伯糖苷 | 1.21 | 1.09-1.33 | | | 167156 |
| 10 | 36.024 | | 1.43 | 1.29-1.57 | | | 89176 |
| 11 | 38.138 | | 1.51 | 1.35-1.65 | | | 185101 |
| 12 | 45.741 | 王不留行环肽 B | 1.812 | 1.64-2.00 | | | 1168488 |

UHPLC 方法

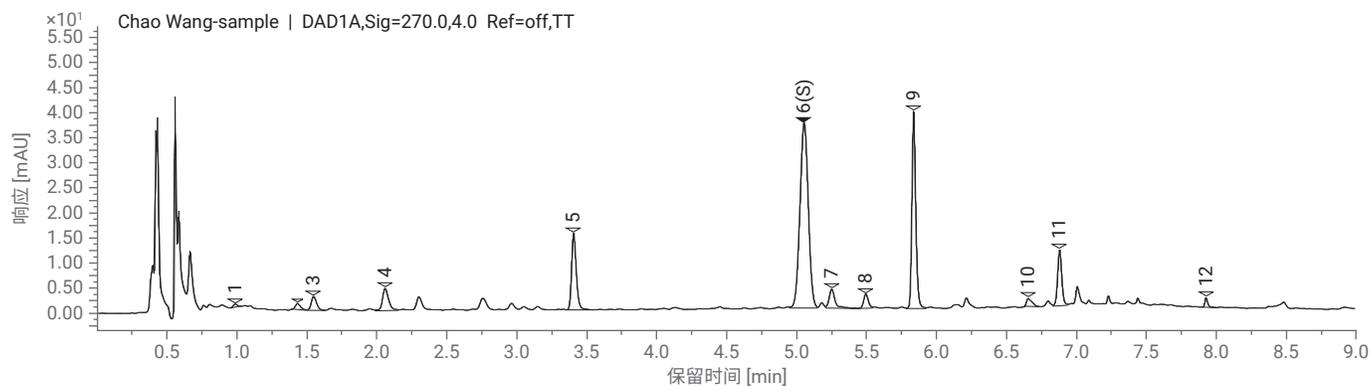
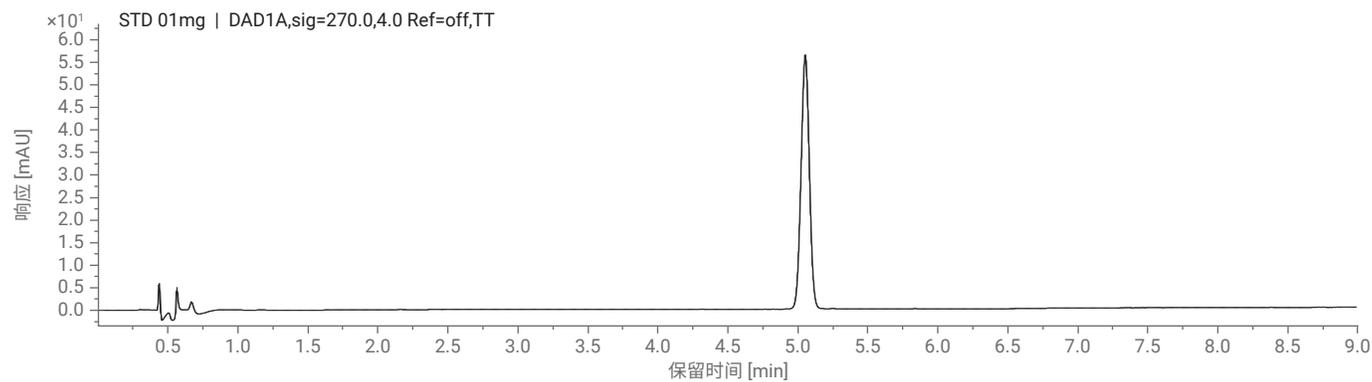
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-----------------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 0.986 | | 0.20 | 0.20-0.24 | | | 5583 |
| 2 | 1.429 | | 0.28 | 0.27-0.33 | | | 8549 |
| 3 | 1.545 | | 0.30 | 0.29-0.35 | | | 11612 |
| 4 | 2.298 | 原儿茶酸 | 0.46 | 0.37-0.45 | | | 17090 |
| 5 | 3.403 | 刺桐碱 | 0.67 | 0.58-0.71 | | | 52654 |
| 6 (S) | 5.051 | 王不留行黄酮苷 | | | | | 33552 |
| 7 | 5.248 | 肥皂草苷 | 1.04 | 0.95-1.16 | | | 93435 |
| 8 | 5.492 | | 1.09 | 1.03-1.26 | | | 134743 |
| 9 | 5.833 | 异牡荆素-2"-O-阿拉伯糖苷 | 1.16 | 1.09-1.33 | | | 228277 |
| 10 | 6.651 | | 1.32 | 1.29-1.57 | | | 266976 |
| 11 | 6.877 | | 1.36 | 1.35-1.65 | | | 335853 |
| 12 | 7.923 | 王不留行环肽 B | 1.57 | 1.64-2.00 | | | 913635 |

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| HPLC 方法 | |
|---------|--|
| 仪器 | 1290 二元泵 iSET 模拟 1260Q; 四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) |
| 色谱柱 | Polaris C18-A, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: A2000250X046 |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.3%磷酸); MPB: 甲醇 |
| 流速 | 1.0 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 35 10 35 20 40 35 50 后运行: 10 min |
| 柱温 | 35 °C |
| 检测器 | 280 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz |
| 进样量 | 10 μl |
| 对照品 | 王不留行黄酮苷, 由诗丹德提供 |

系统适用性

HPLC 方法

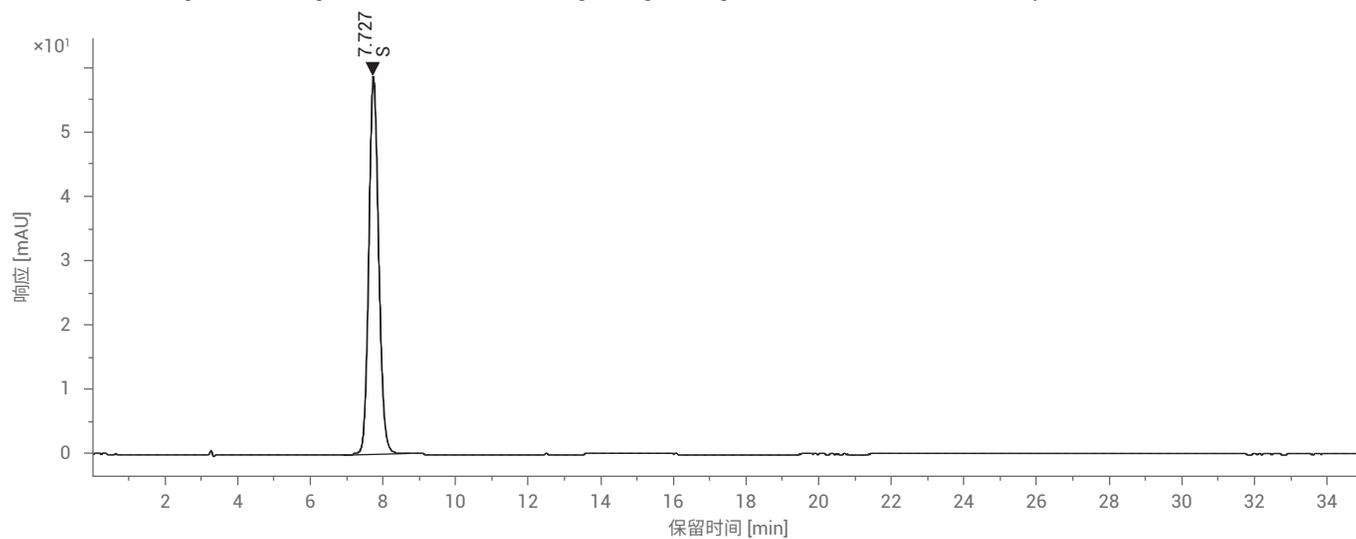
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|---------|------------|----------|------------|-----------|
| 王不留行黄酮苷 | 7.729 | 4061 | 1.12 | 6.43 |

小结及注意事项

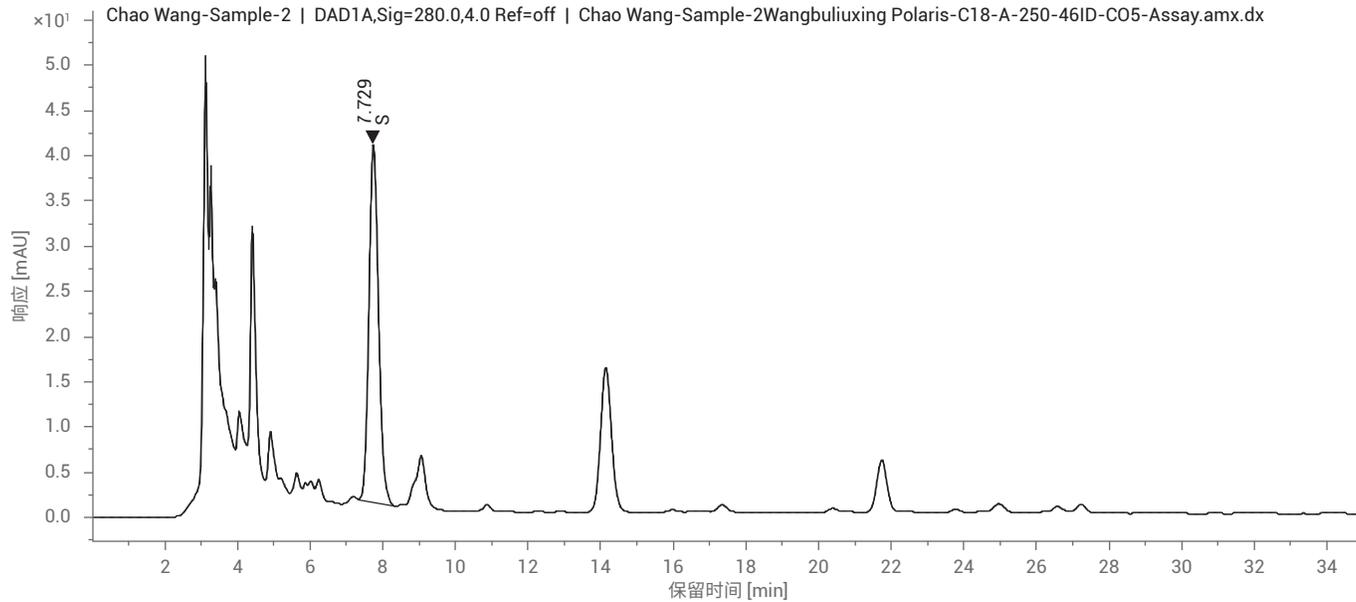
- 自动进样器到柱温箱之间连接管线换成 0.5 mm (内径) × 400 mm (长度) 的不锈钢管线 (G2260-87301), 以克服溶剂效应
- 色谱柱 Polaris C18-A 选择性最佳, 可以保证王不留行黄酮苷理论塔板数达到系统适用性要求

典型图谱

STD 01mg-2 | DAD1A,Sig=280.0,4.0 Ref=off | STD 01mg-2Wangbuliuxing Polaris-C18-A-250-46ID-C05-Assay.amx.dx



Chao Wang-Sample-2 | DAD1A,Sig=280.0,4.0 Ref=off | Chao Wang-Sample-2Wangbuliuxing Polaris-C18-A-250-46ID-C05-Assay.amx.dx



炒栀子配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------|---|--|----|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--|----------|----|--------|------|-----------|-------|-----------|-------|-----------|-------|--------|-------|
| 仪器 | 1260 二元系统: 包含二元泵(G1312B), 自动进样器 (G1367E), 柱温箱 (G1316A), DAD (G4212A) | 1290 二元系统: 包含 1290 高速泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 518925-902 | Poroshell 120 SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 685675-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.4% H ₃ PO ₄ ; MPB: ACN | 进样量 10 μl (HPLC) ; 0.8 μl (UHPLC) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.5 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0~10</td> <td>8→15</td> </tr> <tr> <td>10~15</td> <td>15→20</td> </tr> <tr> <td>15~20</td> <td>20→25</td> </tr> <tr> <td>20~40</td> <td>25→30</td> </tr> <tr> <td>后运行时间:</td> <td>10 min</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0~10 | 8→15 | 10~15 | 15→20 | 15~20 | 20→25 | 20~40 | 25→30 | 后运行时间: | 10 min | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0~1.52</td> <td>8→15</td> </tr> <tr> <td>1.52~2.28</td> <td>15→20</td> </tr> <tr> <td>2.28~3.04</td> <td>20→25</td> </tr> <tr> <td>3.04~6.08</td> <td>25→30</td> </tr> <tr> <td>后运行时间:</td> <td>3 min</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0~1.52 | 8→15 | 1.52~2.28 | 15→20 | 2.28~3.04 | 20→25 | 3.04~6.08 | 25→30 | 后运行时间: | 3 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0~10 | 8→15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10~15 | 15→20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 15~20 | 20→25 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 20~40 | 25→30 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 10 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0~1.52 | 8→15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1.52~2.28 | 15→20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2.28~3.04 | 20→25 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3.04~6.08 | 25→30 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 3 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 30 °C | 20 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 0-22 min 238 nm (4 nm), Ref: off; 22-40 min 440 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | 0-3.15 min 238 nm (4 nm), Ref: off; 3.15-6.08 min 440 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 栀子苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-----------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 6.875 | | 0.424 | 0.377~0.443 | | | 20093 |
| 2 | 8.437 | | 0.520 | 0.510~0.598 | | | 19651 |
| 3 | 11.666 | | 0.719 | 0.649~0.761 | | | 33138 |
| 4 | 13.246 | 京尼平-1-β-D-龙单双糖苷 | 0.817 | 0.742~0.870 | | | 77958 |
| 5 (S) | 16.222 | 栀子苷 | | | | | 120229 |
| 6 | 23.019 | | 1.419 | 1.339~1.571 | | | 400309 |
| 7 | 26.470 | 西红花苷 I | 1.632 | 1.574~1.848 | | | 221569 |

UHPLC 方法

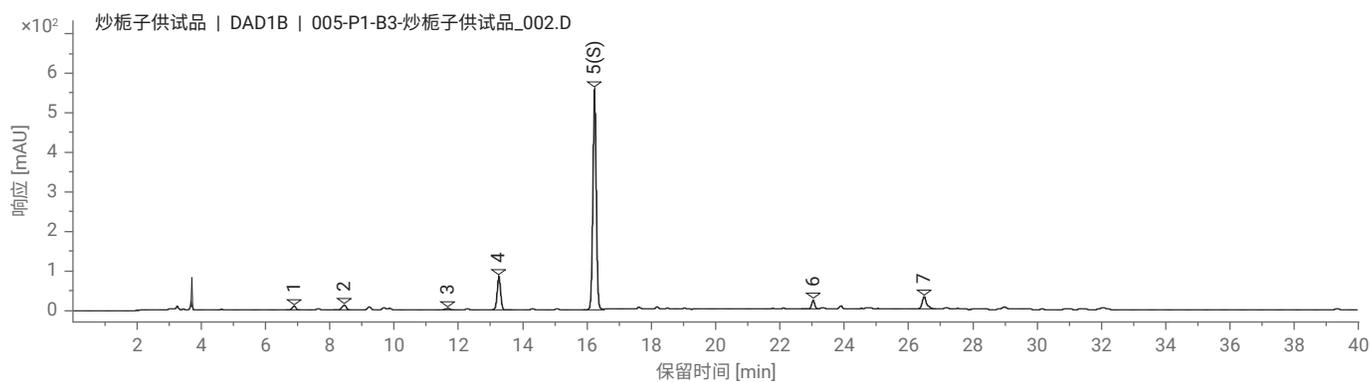
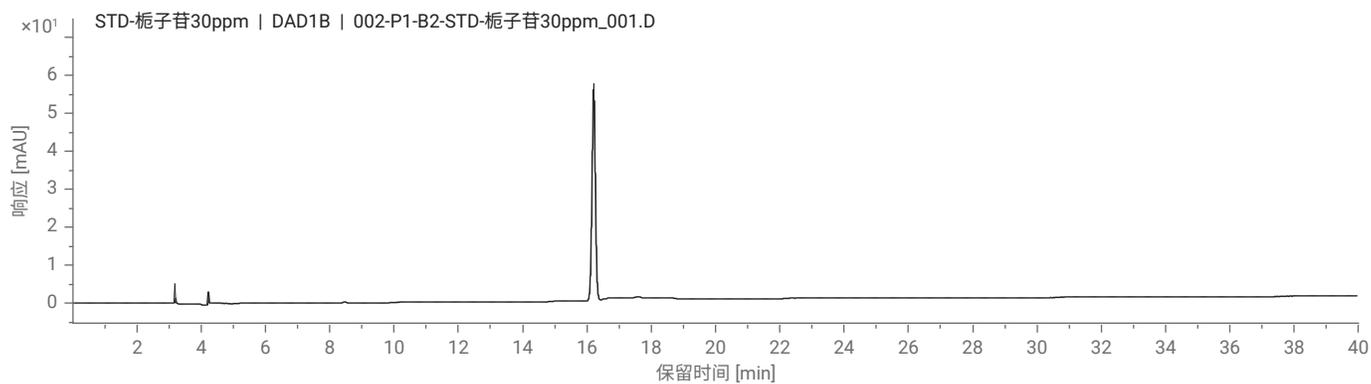
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-----------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 1.017 | | 0.435 | 0.377~0.443 | | | 3900 |
| 2 | 1.246 | | 0.533 | 0.510~0.598 | | | 14733 |
| 3 | 1.618 | | 0.693 | 0.649~0.761 | | | 19176 |
| 4 | 1.908 | 京尼平-1-β-D-龙单双糖苷 | 0.817 | 0.742~0.870 | | | 46463 |
| 5 (S) | 2.336 | 栀子苷 | | | | | 69668 |
| 6 | 3.346 | | 1.432 | 1.339~1.571 | | | 188858 |
| 7 | 3.958 | 西红花苷 I | 1.694 | 1.574~1.848 | | | 175739 |

小结及注意事项

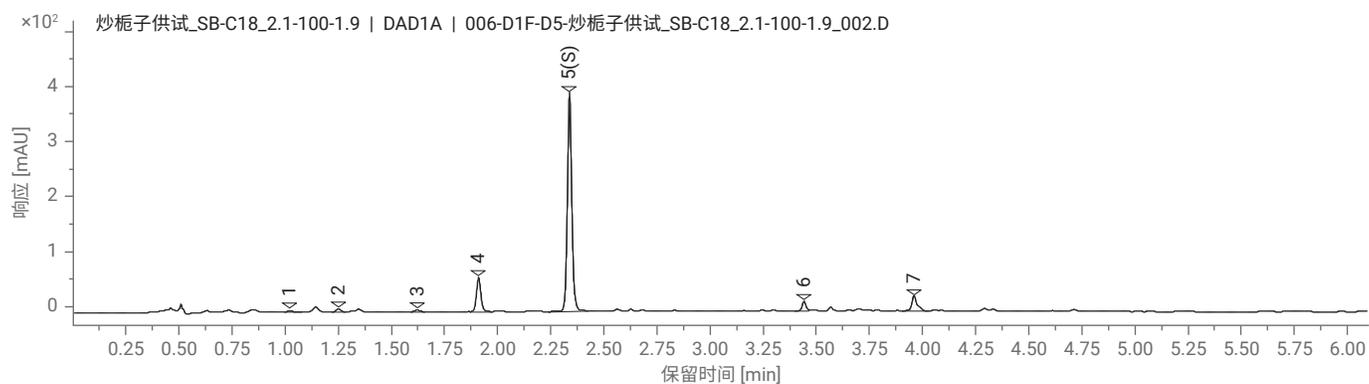
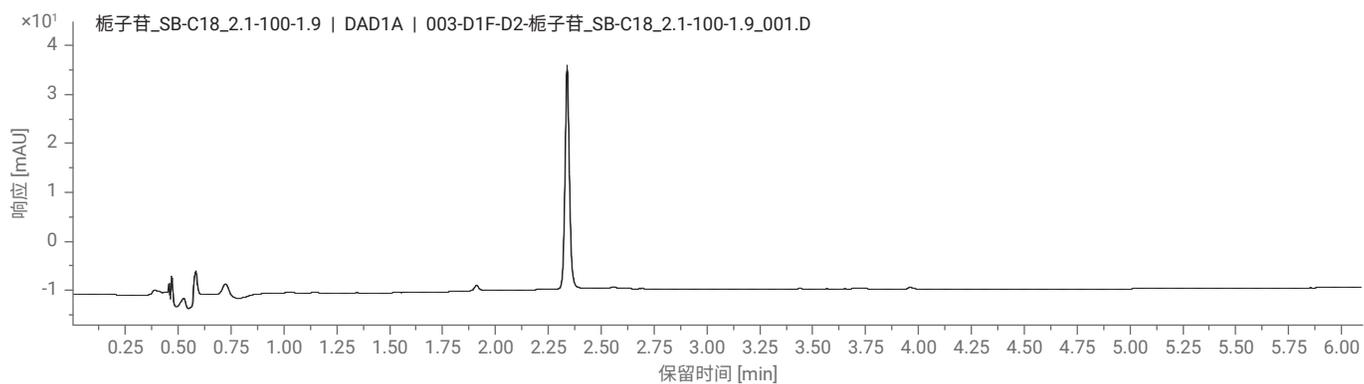
- 原始方法压力最高 146 bar, UHPLC 方法压力最高 502 bar
- UHPLC 分析时间缩短 34 分钟

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|---|
| 仪器 | 1260 二元系统: 包含二元泵(G1312B), 自动进样器 (G1367E), 柱温箱 (G1316A), DAD (G4212A) | 1290 二元系统: 包含 1290 高速泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 518925-902 | Poroshell 120 SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 685675-902 |
| 流动相 | MPA: H ₂ O; MPB: ACN | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.5 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 15 40 15 | 时间 (min) B% 0 15 4 15 |
| 柱温 | 30 °C | 25 °C (根据压力情况, 可适当提高) |
| 检测器 | 238 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz | 238 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 0.8 μl |
| 对照品 | 栀子苷 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 栀子苷 | 10.106 | 16040 | 1.05 | 145.5 |

UHPLC 方法

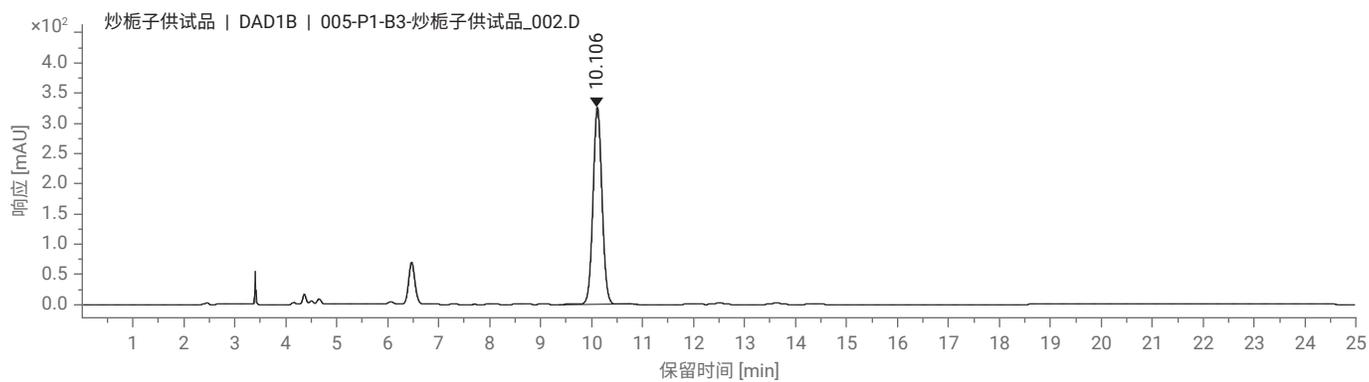
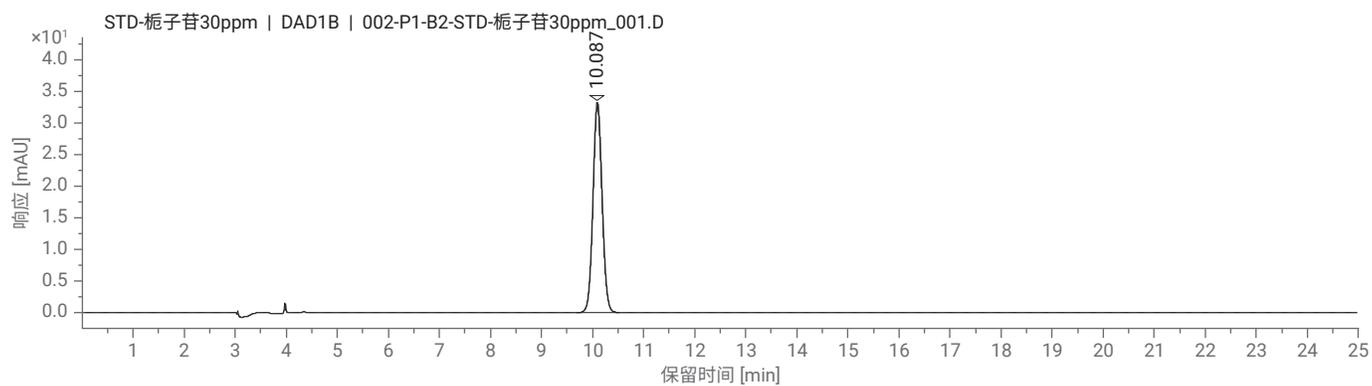
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 栀子苷 | 1.209 | 3336 | 1.03 | 132.1 |

小结及注意事项

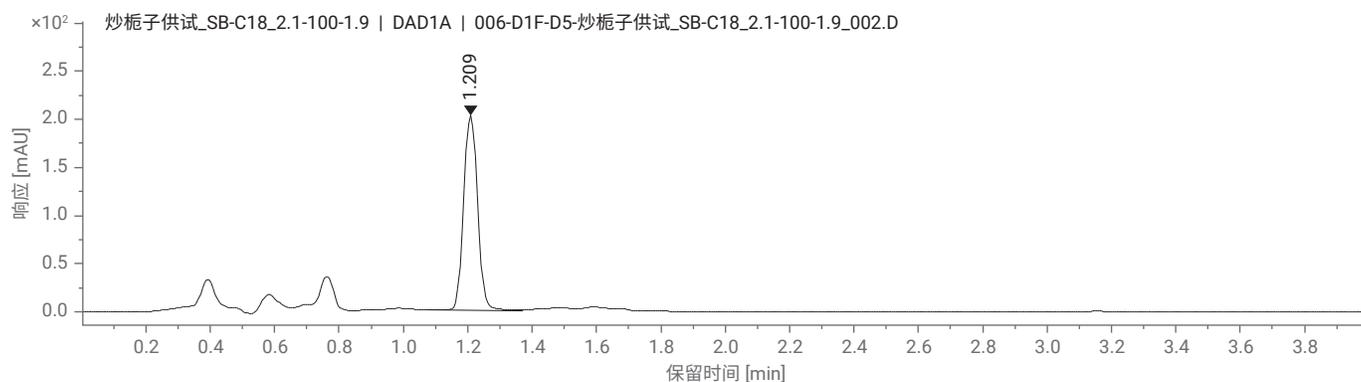
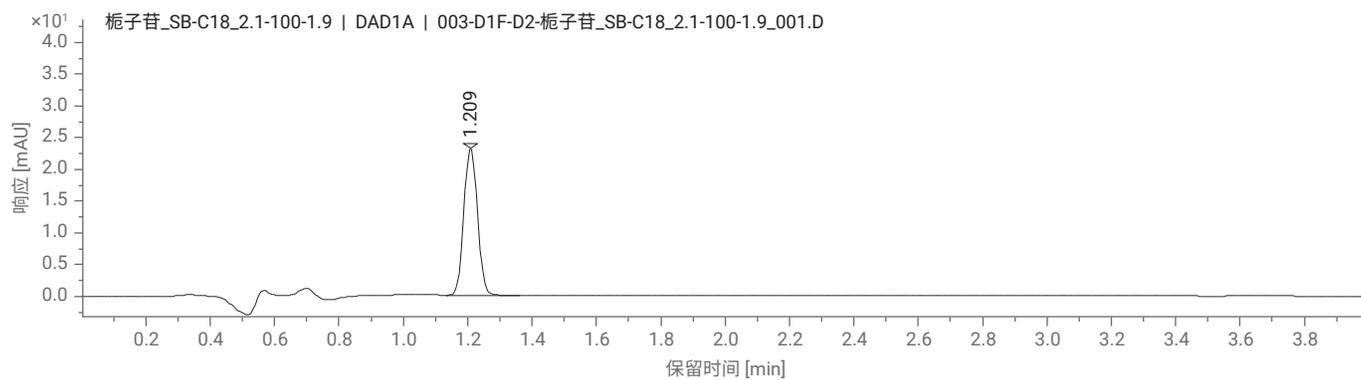
- 使用 UHPLC 方法后分析时间由 40 分钟缩短至 4 分钟

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



车前草（车前）配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| 仪器 | 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--|----------|----|---|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 30 °C | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.05% 磷酸; MPB: ACN | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"><thead><tr><th>时间 (min)</th><th>B%</th></tr></thead><tbody><tr><td>0</td><td>12</td></tr><tr><td>5</td><td>13</td></tr><tr><td>15</td><td>17</td></tr><tr><td>20</td><td>17</td></tr><tr><td>25</td><td>88</td></tr><tr><td>26</td><td>12</td></tr><tr><td>35</td><td>12</td></tr></tbody></table> | 时间 (min) | B% | 0 | 12 | 5 | 13 | 15 | 17 | 20 | 17 | 25 | 88 | 26 | 12 | 35 | 12 |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 12 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 13 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 15 | 17 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 20 | 17 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25 | 88 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 26 | 12 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35 | 12 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 330 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 大车前苷、木犀草苷、车前草苷 D, 均由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

原始方法

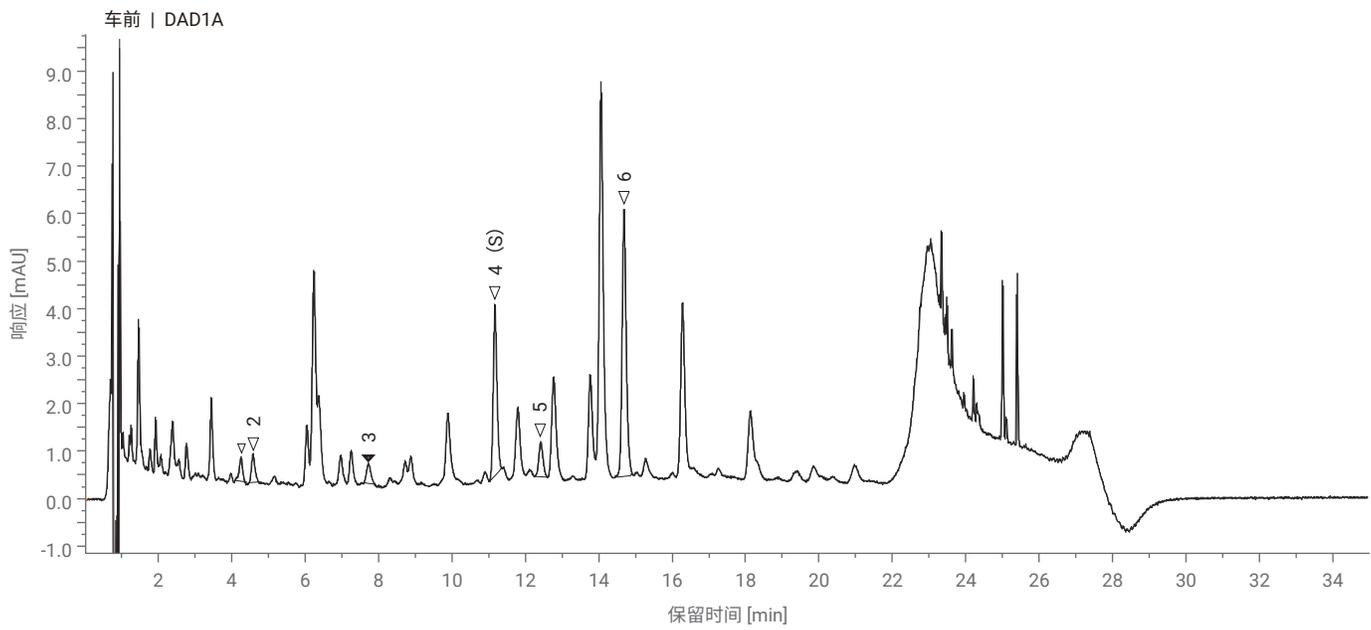
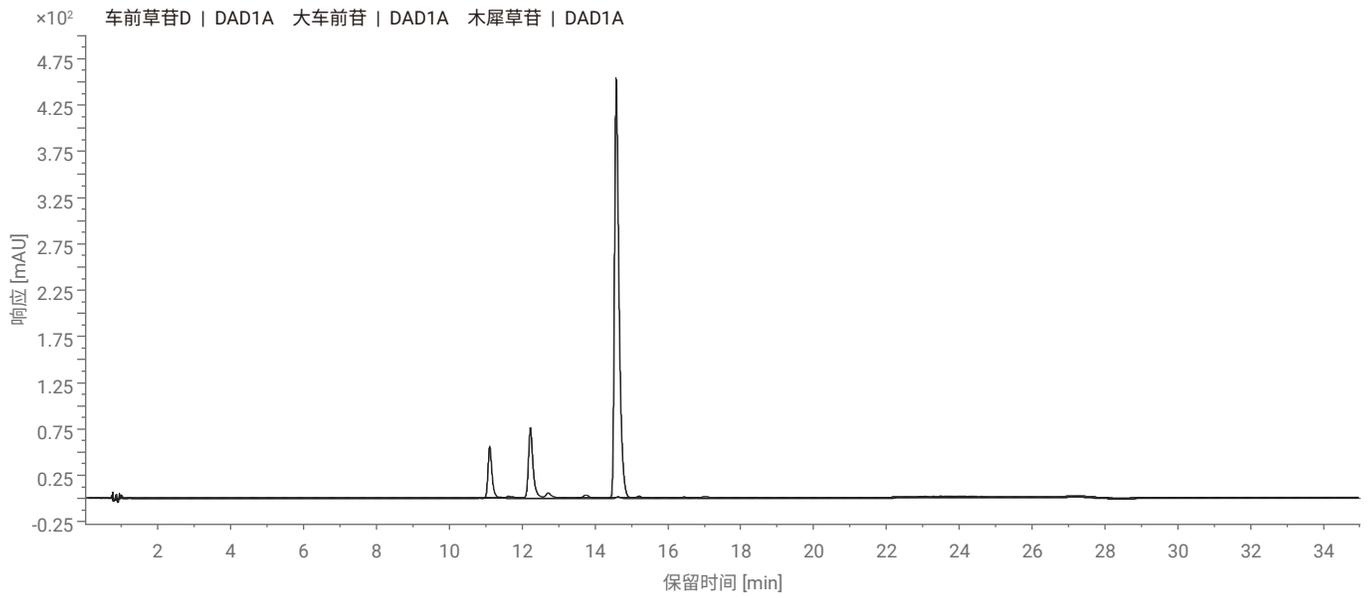
| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|--------|------------|--------|---------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | | 4.24 | 0.38 | 0.351 ~ 0.429 | | | 13061 |
| 2 | | 4.56 | 0.41 | 0.369 ~ 0.451 | | | 12239 |
| 3 | | 7.70 | 0.69 | 0.63 ~ 0.77 | | | 19107 |
| 4 (S) | 大车前苷 | 11.16 | | | | | 59022 |
| 5 | 木犀草苷 | 12.41 | 1.11 | 0.963 ~ 1.177 | | | 56273 |
| 6 | 车前草苷 D | 14.67 | 1.31 | 1.179 ~ 1.441 | | | 86993 |

小结及注意事项

- 5 号特征峰容易指认错误, 建议采用标样进行定位

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品、下图为供试品）



川芎配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | |
|-------|---|--|----------|----|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 二元泵系统: 包含二元泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117A) | | |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm; PN: 959990-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm; PN: 959758-902 | | |
| 流动相 | MPA: ACN; MPB: 0.1%磷酸水溶液 | 柱温 30 °C | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min | | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 92 | 0 | 92 |
| | 5 | 92 | 0.69 | 92 |
| | 25 | 80 | 3.47 | 80 |
| | 45 | 60 | 6.25 | 60 |
| | 50 | 20 | 6.95 | 20 |
| | 65 | 20 | 9.03 | 20 |
| 检测器 | 300 nm (4 nm), Ref: on; 采样频率: 2.5 Hz | 300 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | |
| 进样量 | 10 μl | 0.8 μl | | |
| 对照品 | 阿魏酸, 由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|---------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 14.39 | 绿原酸 | 0.553 | 0.518~0.634 | | | 33808 |
| 2 | 15.49 | 隐绿原酸 | 0.595 | 0.563~0.689 | | | 40499 |
| 3 | 17.05 | 咖啡酸 | 0.655 | 0.610~0.746 | | | 49875 |
| 4 | 17.72 | | 0.681 | 0.658~0.804 | | | 48833 |
| 5 (S) | 26.03 | 阿魏酸 | | | | | 110910 |
| 6 | 30.82 | | 1.184 | 1.021~1.247 | | | 128892 |
| 7 | 33.38 | 洋川芎内酯 I | 1.282 | 1.130~1.382 | | | 269304 |
| 8 | 34.96 | | 1.343 | 1.175~1.437 | | | 346629 |
| 9 | 42.84 | | 1.646 | 1.375~1.681 | | | 582279 |
| 10 | 51.26 | 洋川芎内酯 A | 1.969 | 1.598~1.954 | | | 3440613 |

UHPLC 方法

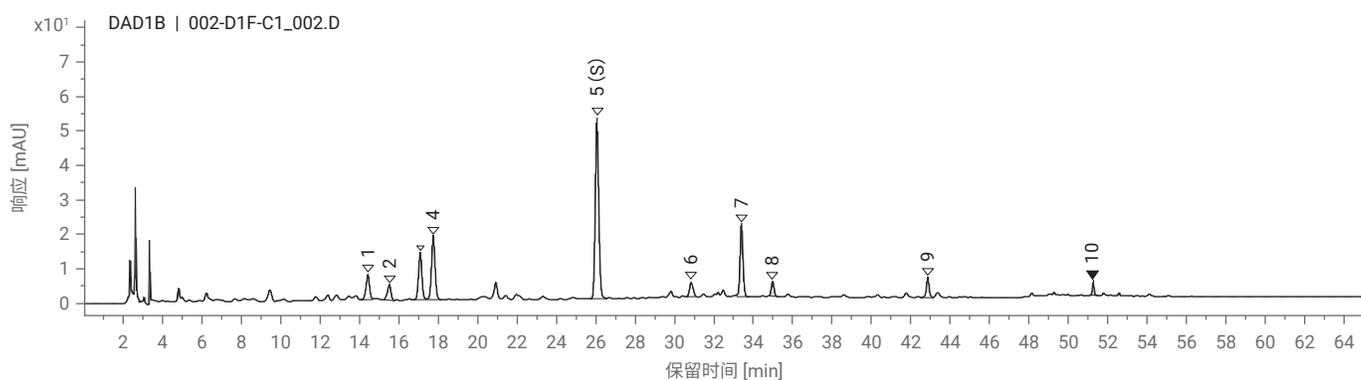
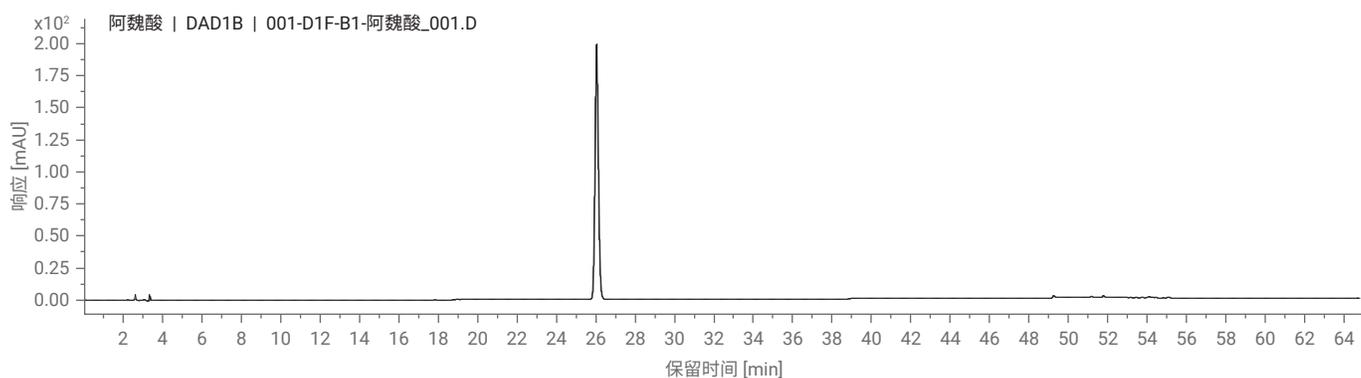
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|---------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.379 | 绿原酸 | 0.577 | 0.518~0.634 | | | 41459 |
| 2 | 2.595 | 隐绿原酸 | 0.629 | 0.563~0.689 | | | 52454 |
| 3 | 2.774 | 咖啡酸 | 0.672 | 0.610~0.746 | | | 57233 |
| 4 | 2.921 | | 0.708 | 0.658~0.804 | | | 55550 |
| 5 (S) | 4.125 | 阿魏酸 | | | | | 117413 |
| 6 | 4.785 | | 1.160 | 1.021~1.247 | | | 70195 |
| 7 | 5.170 | 洋川芎内酯 I | 1.253 | 1.130~1.382 | | | 253525 |
| 8 | 5.390 | | 1.307 | 1.175~1.437 | | | 275562 |
| 9 | 6.441 | | 1.561 | 1.375~1.681 | | | 402692 |
| 10 | 7.505 | 洋川芎内酯 A | 1.819 | 1.598~1.954 | | | 1312820 |

小结及注意事项

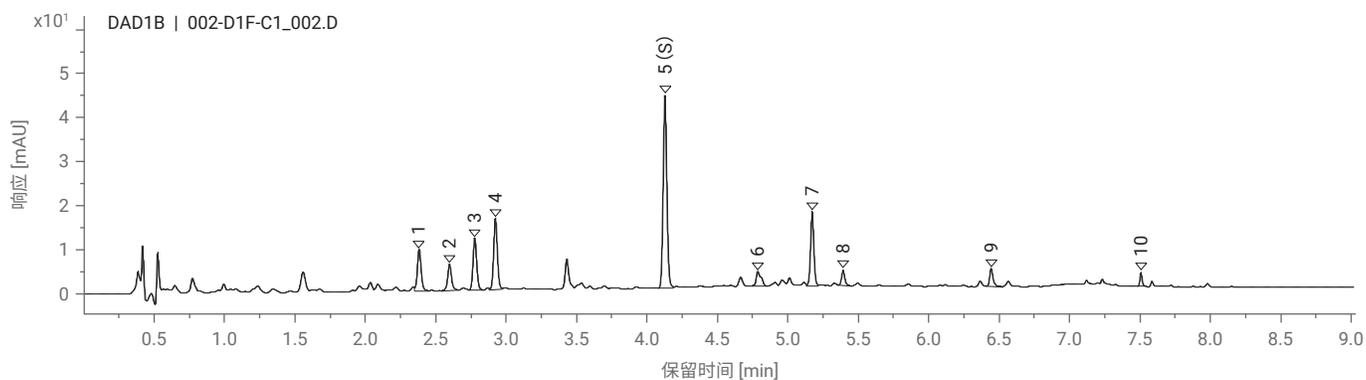
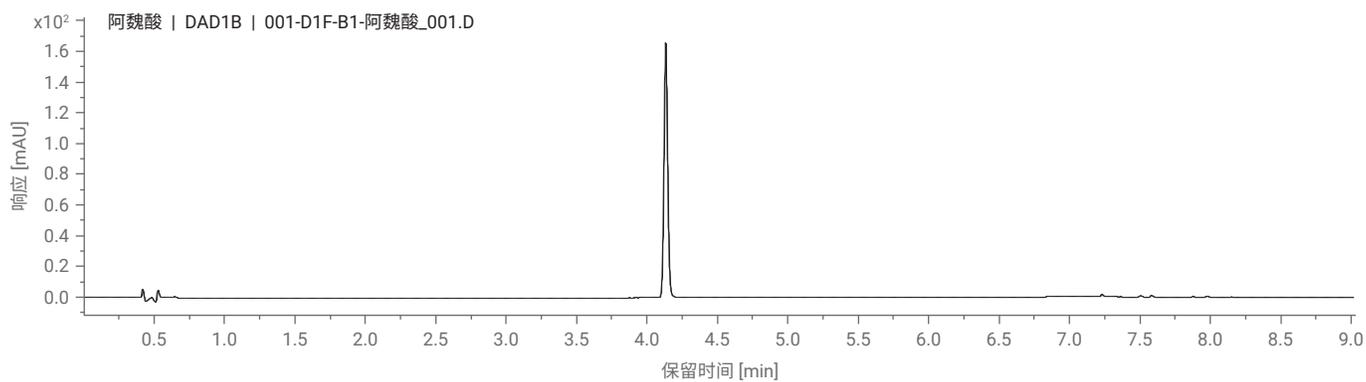
- 采用原始 HPLC 方法压力最高约 200 bar, 根据 2020 版药典(四部)通则 0512 高效液相色谱法中色谱参数允许调整范围表, 转化为 UHPLC 方法后压力最高约 600 bar
- 转换成 UHPLC 后分析时间由 65 min 缩短至 9 min, 既节省了时间又节省了溶剂消耗量

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|---|--|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 二元系统, 包含二元泵(G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 250 mm, 5 µm; PN: 959990-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 µm; PN: 959758-902 |
| 流动相 | MPA: ACN; MPB: 0.1% 磷酸水 | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 85 40 85 | 时间 (min) B% 0 85 8 85 |
| 柱温 | 30 °C | 30 °C |
| 检测器 | 321 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | 321 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 µl | 0.8 µl |
| 对照品 | 阿魏酸, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|---|-----|------------|----------|------------|--------|
| 1 | 阿魏酸 | 19.037 | 18391 | 1.091 | 0.134 |

UHPLC 方法

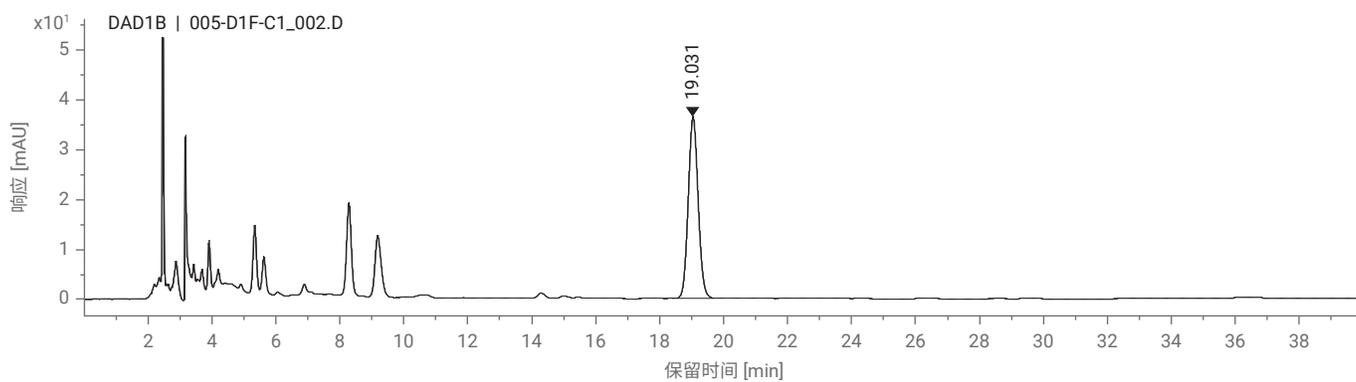
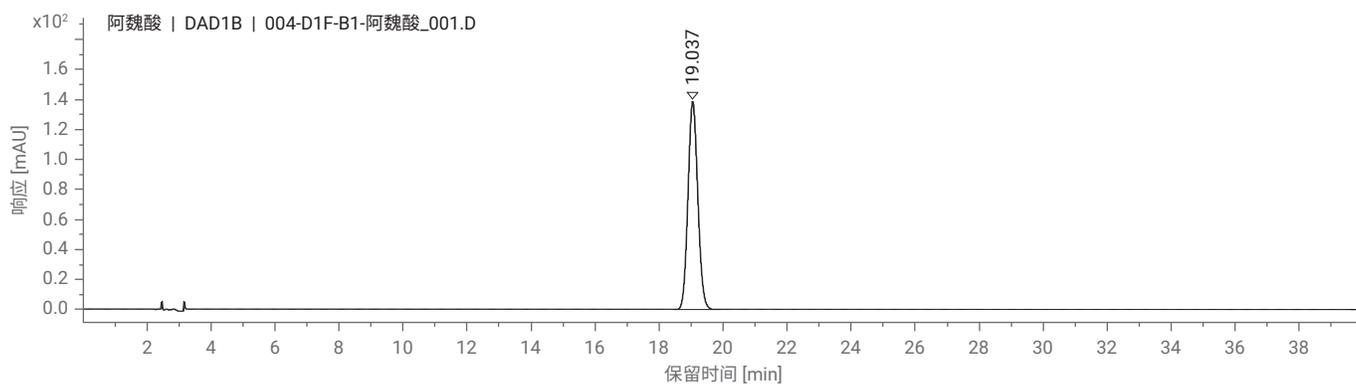
| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|---|-----|------------|----------|------------|--------|
| 1 | 阿魏酸 | 3.012 | 18831 | 1.051 | 0.132 |

小结及注意事项

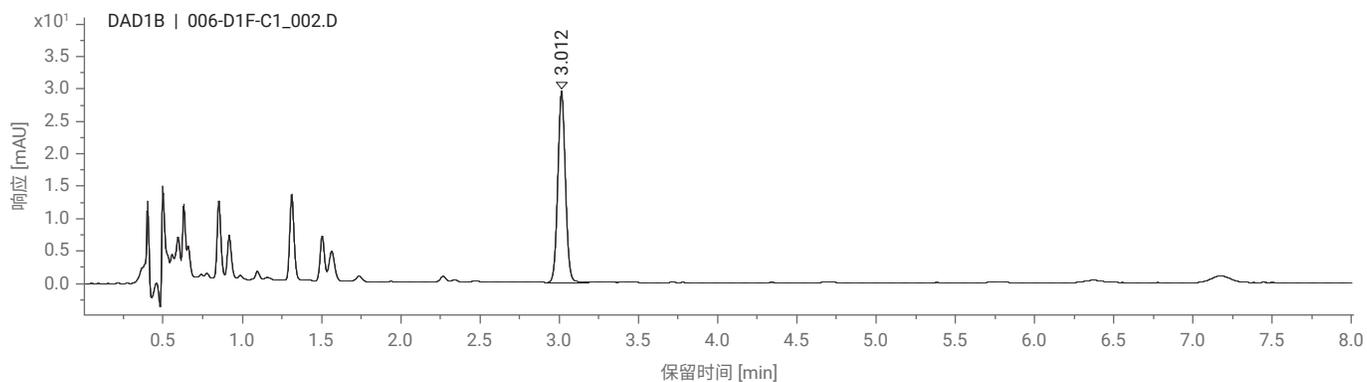
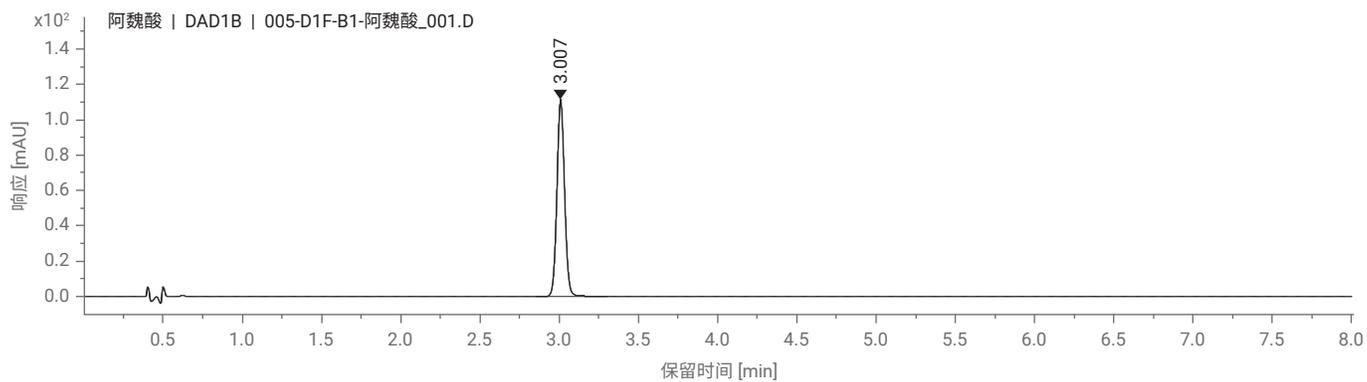
- 转换成 UHPLC 后, 分析时间由 40 分钟缩短至 8 分钟
- HPLC 和 UHPLC 含量测定结果一致

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



大青叶配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|---|---|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 四元系统, 包含四元泵 (G7104C), 自动进样器 (G7129C), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-Aq, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 880975-914 | Poroshell 120 SB-Aq, 3.0 × 100 mm, 1.8 μm; PN: 858700-314 |
| 流动相 | MPA: 0.1% H ₃ PO ₄ ; MPB: MeOH | 柱温 30 °C |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.8 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% | 时间 (min) B% |
| | 0~20 0→2 | 0~4.32 0→2 |
| | 20~40 2→20 | 4.32~8.64 2→20 |
| | 40~80 20→45 | 8.64~17.28 20→45 |
| | 80~100 45→70 | 17.28~21.60 45→70 |
| | 后运行时间: 10 min | 后运行时间: 3 min |
| 检测器 | 260 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 260 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 0.8 μl |
| 对照品 | 尿苷、腺苷、尿苷, 均由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

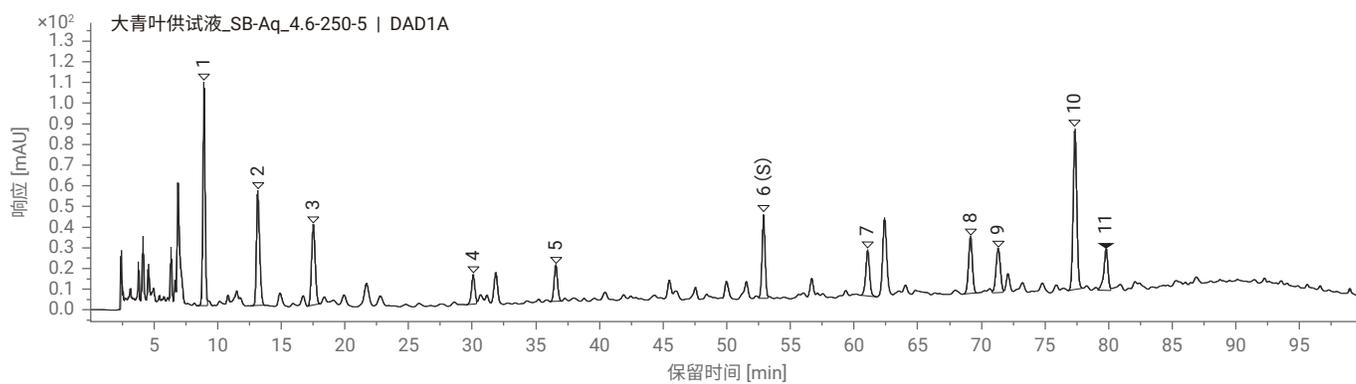
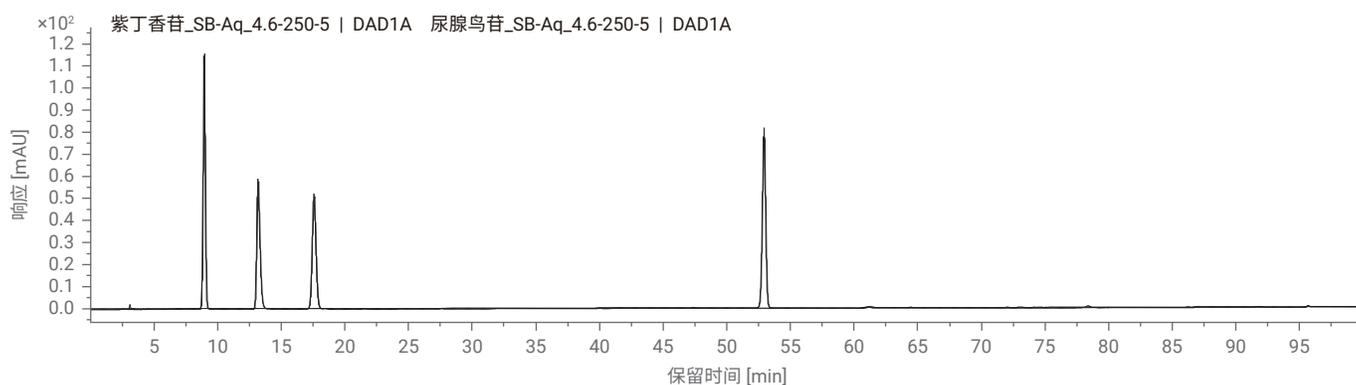
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|---------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 8.901 | 尿苷 | | | | | 14062 |
| 2 | 13.120 | 腺苷 | | | | | 13412 |
| 3 | 17.486 | 鸟苷 | | | | | 17256 |
| 4 | 30.046 | | 0.568 | 0.510 - 0.624 | | | 66949 |
| 5 | 36.529 | | 0.691 | 0.617 - 0.755 | | | 92094 |
| 6 (S) | 52.852 | 紫丁香苷 | | | | | 244322 |
| 7 | 61.030 | | 1.155 | 1.043 - 1.275 | | | 214726 |
| 8 | 69.106 | | 1.308 | 1.177 - 1.439 | | | 253081 |
| 9 | 71.280 | 异荛草苷 | 1.349 | 1.217 - 1.487 | | | 209369 |
| 10 | 77.314 | 异牡荆苷 | 1.463 | 1.319 - 1.612 | | | 359905 |
| 11 | 79.758 | 异金雀花素 | 1.509 | 1.360 - 1.662 | | | 383012 |

UHPLC 方法

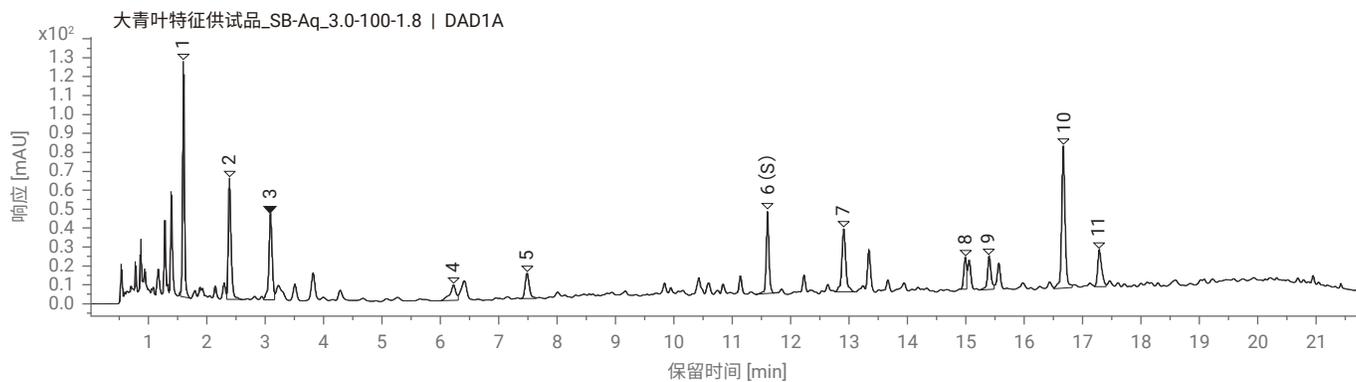
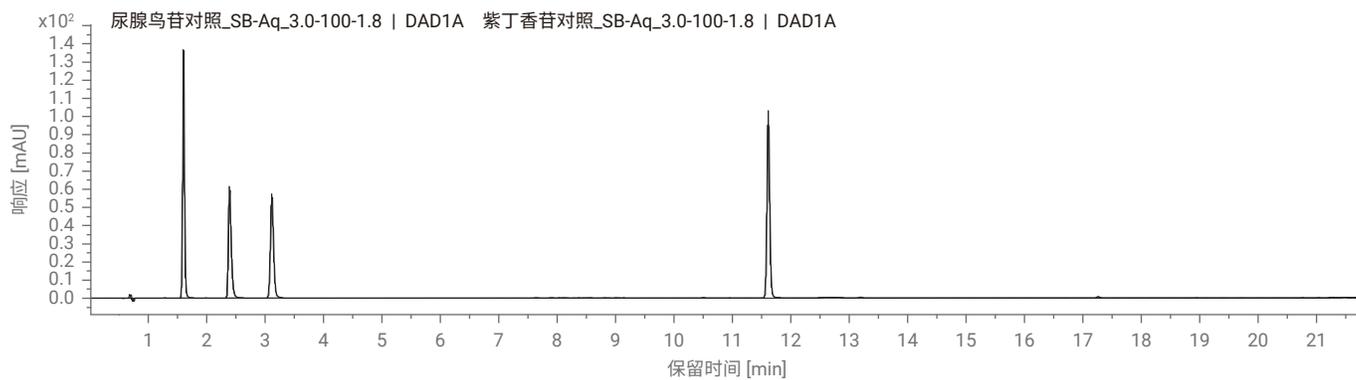
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|---------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 1.578 | 尿苷 | | | | | 15330 |
| 2 | 2.377 | 腺苷 | | | | | 13712 |
| 3 | 3.078 | 鸟苷 | | | | | 16923 |
| 4 | 6.193 | | 0.536 | 0.510 - 0.624 | | | 27583 |
| 5 | 7.453 | | 0.644 | 0.617 - 0.755 | | | 57849 |
| 6 (S) | 11.576 | 紫丁香苷 | | | | | 345154 |
| 7 | 12.890 | | 1.112 | 1.043 - 1.275 | | | 211007 |
| 8 | 14.953 | | 1.292 | 1.177 - 1.439 | | | 311898 |
| 9 | 15.361 | 异荛草苷 | 1.328 | 1.217 - 1.487 | | | 397185 |
| 10 | 16.627 | 异牡荆苷 | 1.437 | 1.319 - 1.612 | | | 456118 |
| 11 | 17.244 | 异金雀花素 | 1.490 | 1.360 - 1.662 | | | 337642 |

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|--|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) |
| 色谱柱 | Poroshell 120 EC-C18, 4.6 × 250 mm, 4 μm; PN: 690970-902 | Poroshell 120 EC-C18, 3.0 × 100 mm, 2.7 μm; PN: 695975-302 |
| 流动相 | MPA: H ₂ O; MPB: MeOH | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.8 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 75 17 75 | 时间 (min) B% 0 75 4 75 |
| 柱温 | 30 °C | 30 °C |
| 检测器 | 289 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 289 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 1.7 μl |
| 对照品 | 靛玉红, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (μg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 靛玉红 | 8.674 | 27899 | 1.06 | 20.1 |

UHPLC 方法

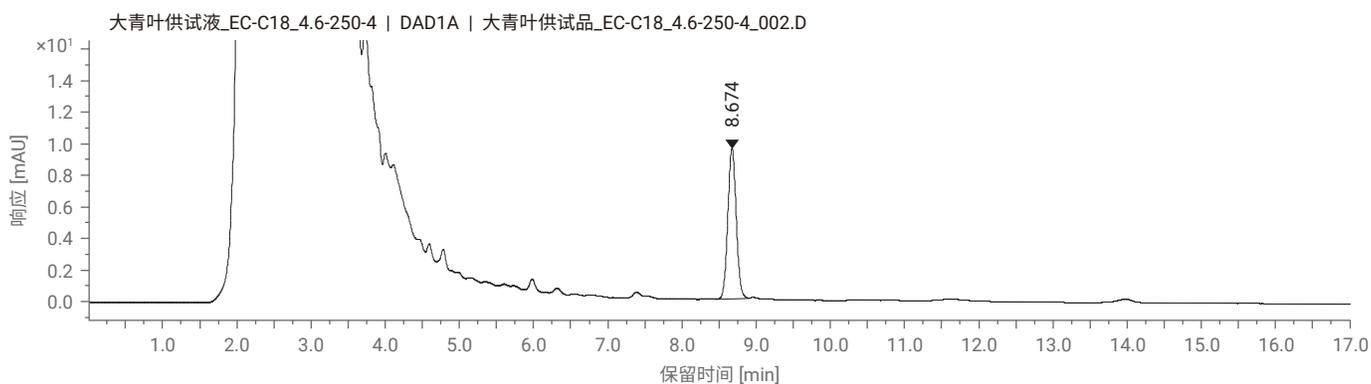
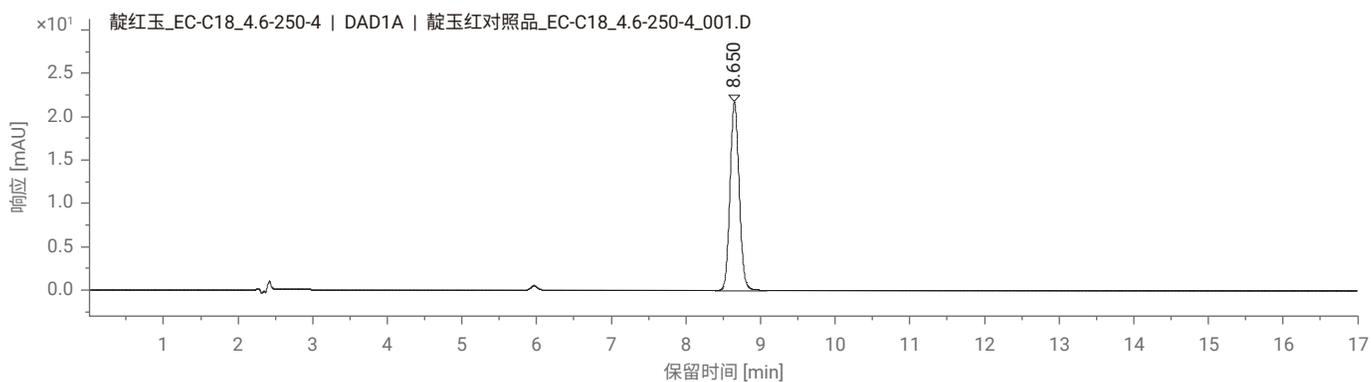
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|-----|------------|----------|------------|--------|
| 靛玉红 | 1.907 | 8058 | 1.26 | 21.0 |

小结及注意事项

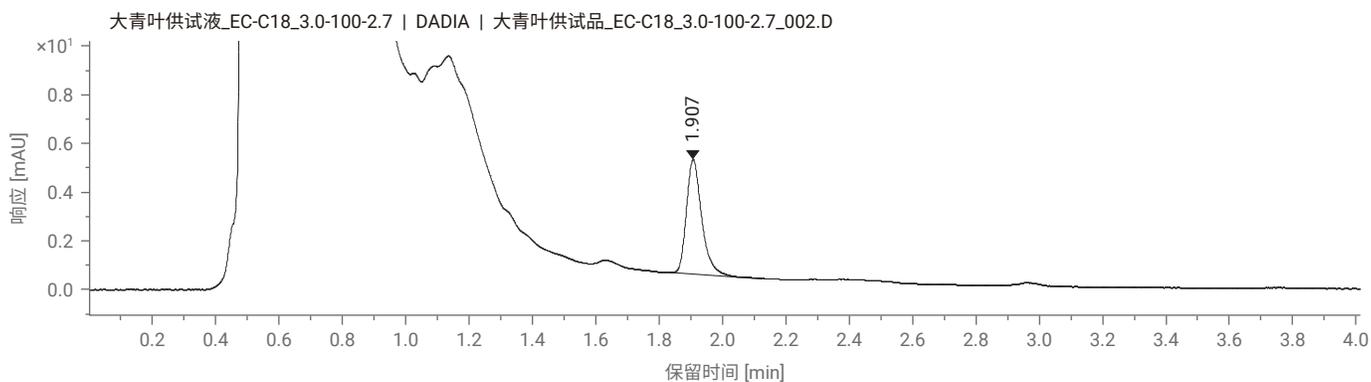
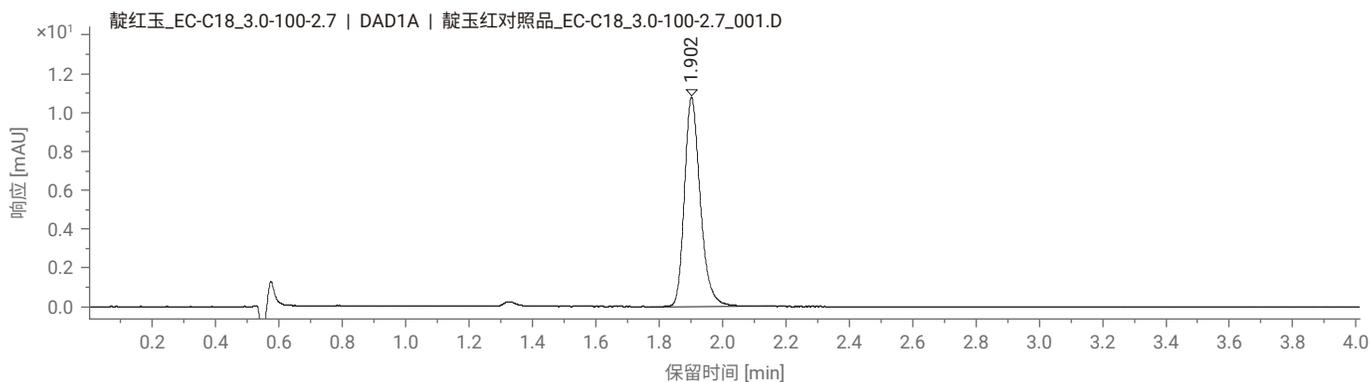
- 含量测定使用特征图相同的色谱柱时存在基线干扰, 使用表面多孔填料的 Poroshell 120 EC-C18 柱可显著改善基线干扰情况, 以获得更准确的结果

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



大枣配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | |
|-------|--|-------|
| 仪器 | 1290 二元 UHPLC 系统, 包括: 高速泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | |
| 色谱柱 | CORTECS T3, 2.1 × 150 mm, 1.6 μm | |
| 流动相 | A: 0.1% 磷酸溶液; B: 乙腈 | |
| 流速 | 原始方法: 0.2 ml/min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 0 |
| | 7 | 2 |
| | 11 | 9 |
| | 16 | 9 |
| | 后运行时间: | 8 min |
| 检测器 | 254 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | |
| 柱温 | 30 °C | |
| 进样量 | 2 μl | |
| 对照品 | 环磷腺苷、5-羟甲基糠醛, 均由诗丹德提供 | |

系统适用性

原始方法

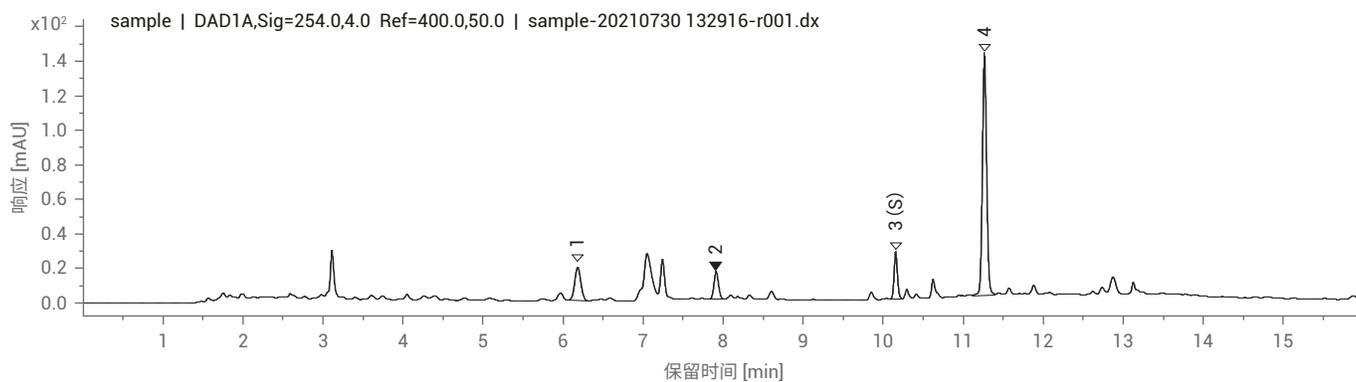
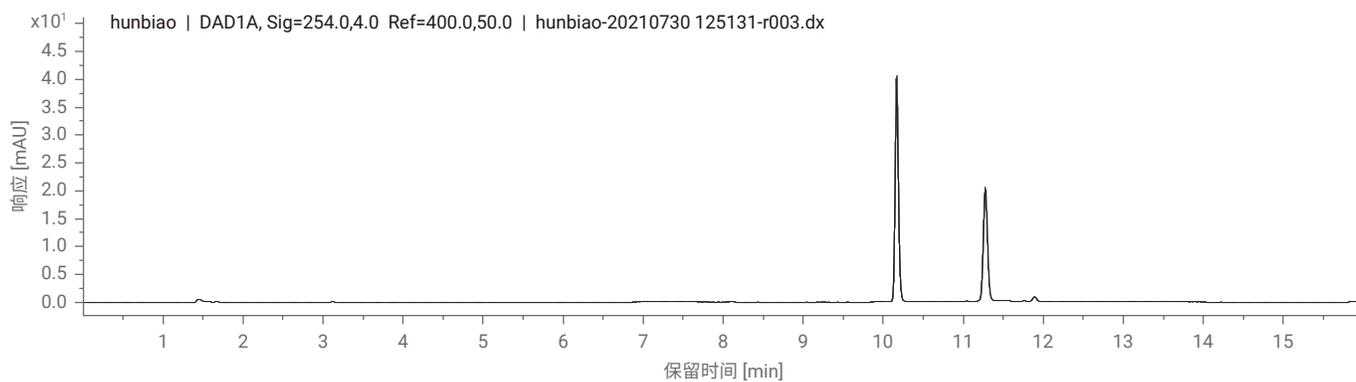
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|---------|--------|------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 6.177 | | | | | | 30788 |
| 2 | 7.907 | | | | | | 97552 |
| 3 (S) | 10.151 | 环磷腺苷 | | | | | 304320 |
| 4 | 11.260 | 5-羟甲基糠醛 | | | | | 226147 |

小结及注意事项

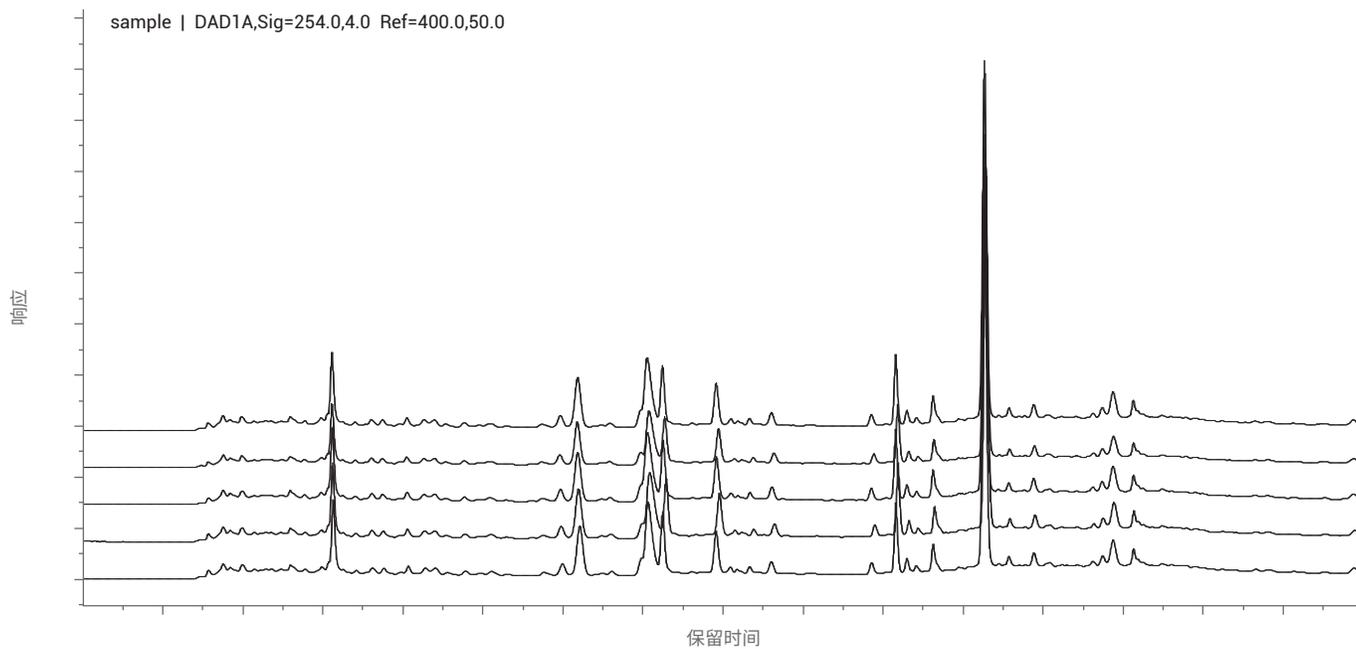
- 方法需设定 8 分钟后运行时间
- 国标方法有机相洗脱强度不够, 样品分析结束需尽快冲洗

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



供试品连续 5 针进样重复性



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | |
|-------|--|----|
| 仪器 | 1290 二元 UHPLC 系统, 包括: 高速泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm; PN: 959758-902 | |
| 流动相 | A: 0.02 mol/l 磷酸二氢钾溶液; B: 甲醇 | |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 10 |
| | 10 | 10 |
| 检测器 | 259 nm, Reference: 360 nm, 参比带宽 100 nm; 采样频率: 40 Hz | |
| 柱温 | 30 °C | |
| 进样量 | 2 μl | |
| 对照品 | 环磷腺苷, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

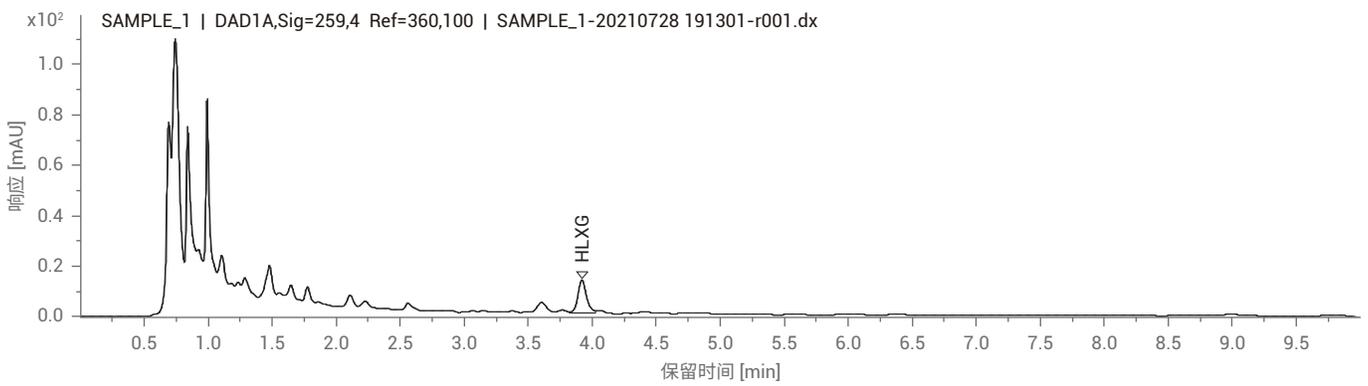
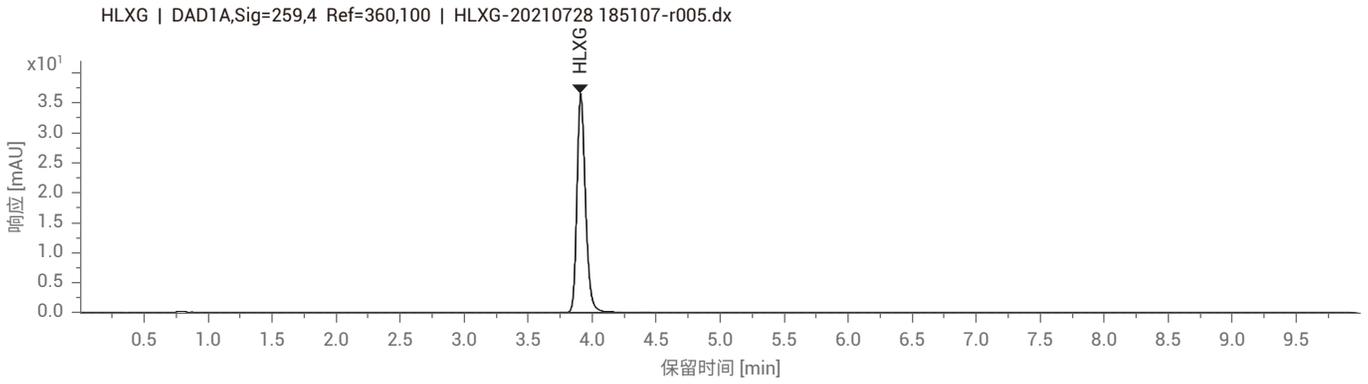
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 环磷腺苷 | 3.906 | 17643 | 1.25 | 0.24 |

小结及注意事项

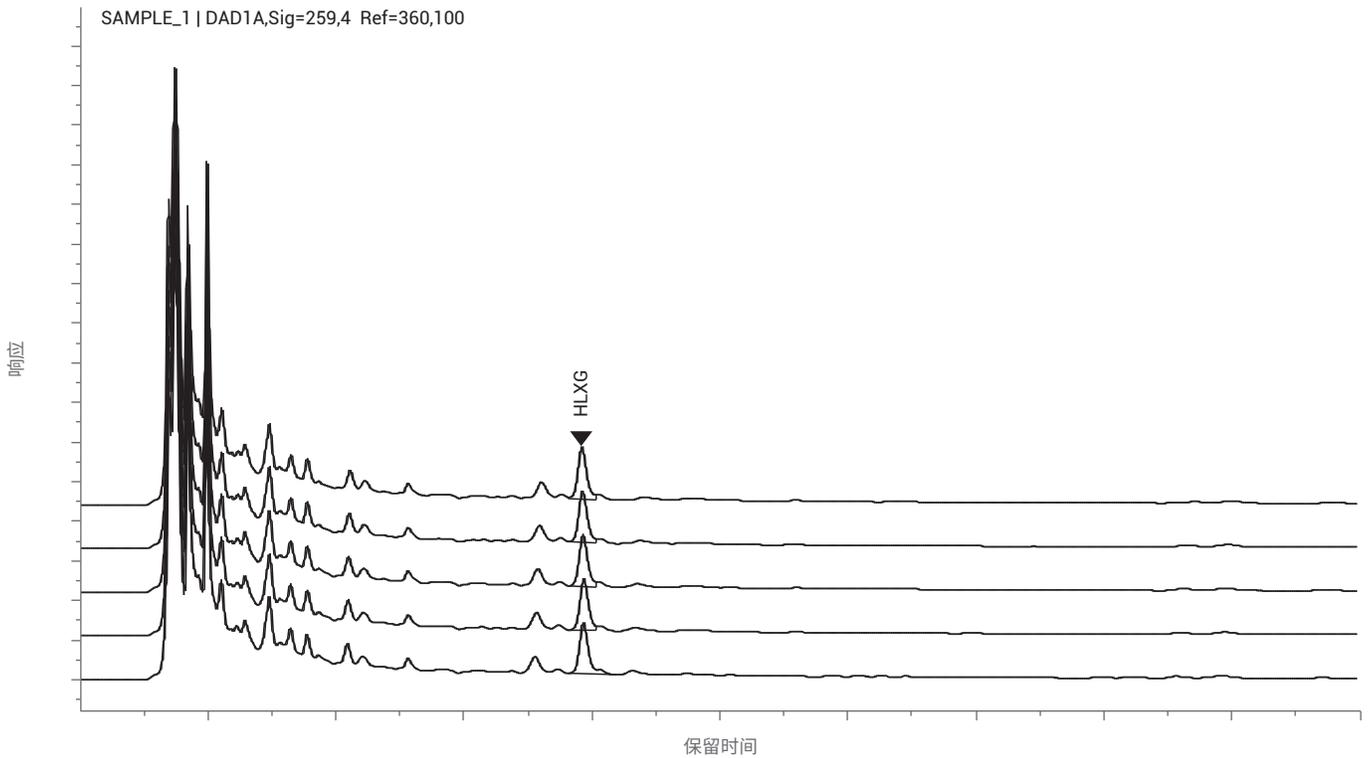
- 采用 Zorbax Eclipse Plus C18 (2.1 × 100 mm, 1.8 μm) 可满足含量测定系统适用性要求, 理论板数按环磷腺苷峰计算可达 17643
- 建议方法结束时间延长至环磷腺苷出峰时间的 2 倍以尽可能将供试品中的组分洗脱干净

典型图谱

原始方法（上图为对照品，下图为供试品）



供试品连续 5 针进样重复性



淡竹叶配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|-------|-------------------|-------|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.2%磷酸); MPB: ACN | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.25 ml/ min | | 加速方法: 0.5 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 5 | 0 | 5 |
| | 4 | 8 | 2 | 8 |
| | 25 | 15 | 12.5 | 15 |
| | 30 | 75 | 15 | 75 |
| | 后运行时间: | 5 min | 后运行时间: | 3 min |
| 柱温 | 40 °C | | | |
| 检测器 | 350 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 20 Hz | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | |
| 对照品 | 异荭草苷、日当药黄素, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 14.76 | | 0.81 | 0.71-0.87 | | | 96577 |
| 2 (S) | 18.272 | 异荭草苷 | | | | | 124514 |
| 3 | 19.467 | 日当药黄素 | 1.07 | 0.99-1.21 | | | 130599 |
| 4 | 22.6 | | 1.24 | 1.14-1.40 | | | 152582 |

加速方法

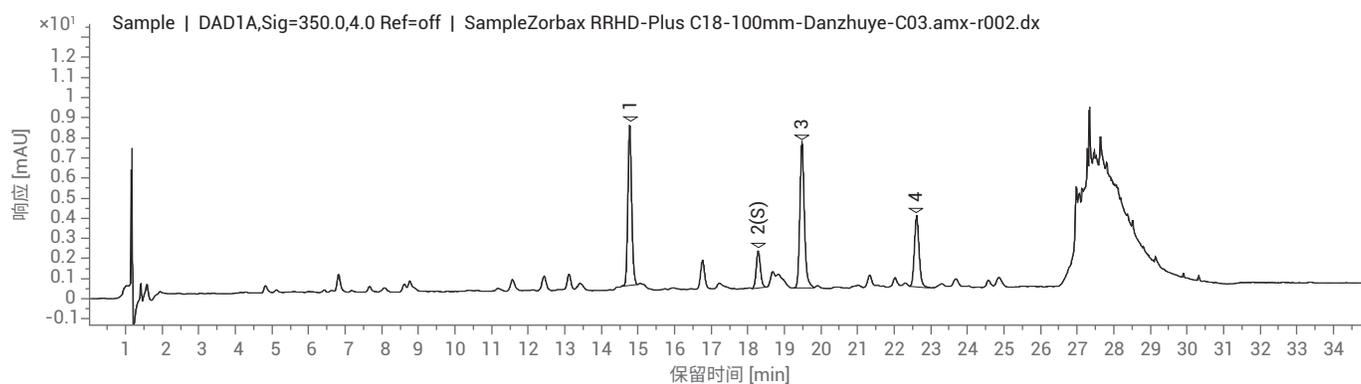
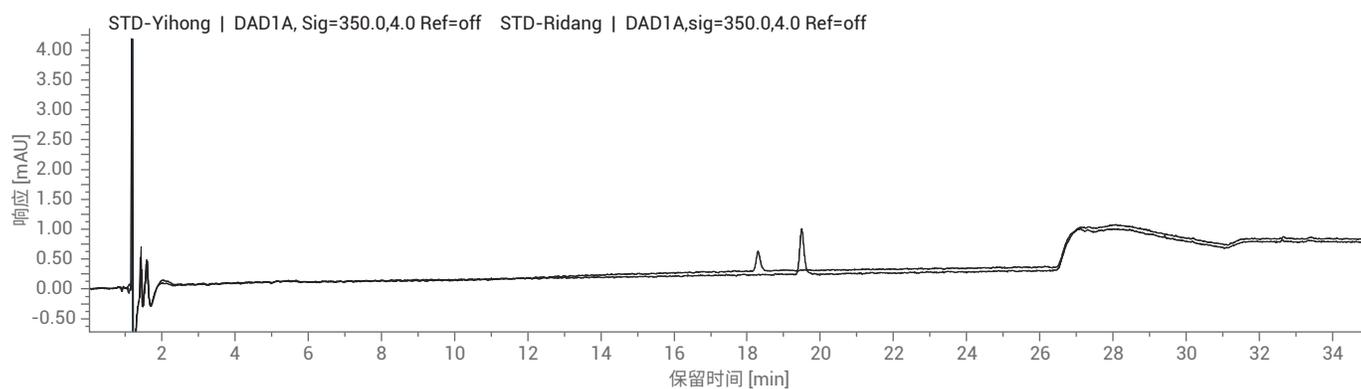
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 7.471 | | 0.81 | 0.71-0.87 | | | 67018 |
| 2 (S) | 9.25 | 异荭草苷 | | | | | 94893 |
| 3 | 9.894 | 日当药黄素 | 1.07 | 0.99-1.21 | | | 102712 |
| 4 | 11.459 | | 1.24 | 1.14-1.40 | | | 115373 |

小结及注意事项

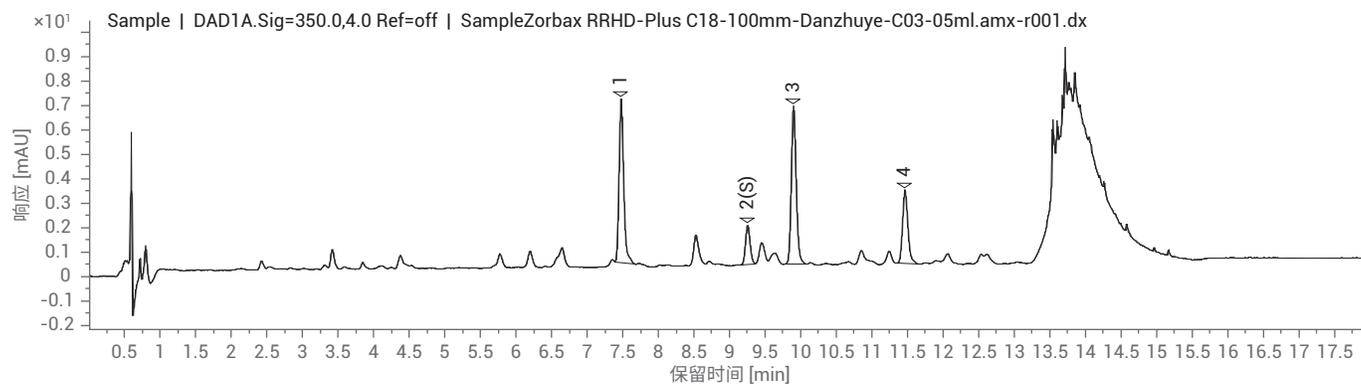
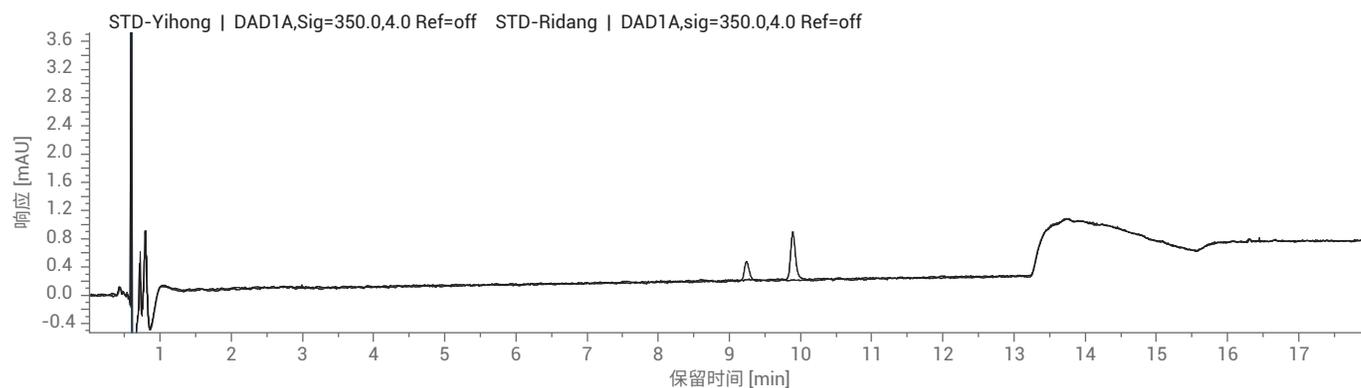
- 原始方法压力最高 240 bar, 加速方法压力最高 455 bar
- 加速后分析时间缩短 15 分钟 (50% 时间节省)

特征图谱

原始方法图谱（上两图为对照品，下图为供试品）



加速方法图谱（上两图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|----|--------------------|----|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.2%磷酸); MPB: ACN | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.25 ml/ min | | 加速方法: 0.50 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 5 | 0 | 5 |
| | 4 | 8 | 2 | 8 |
| | 25 | 15 | 12.5 | 15 |
| | 30 | 75 | 15 | 75 |
| | 后运行时间: 5 min | | 后运行时间: 3 min | |
| 柱温 | 40 °C | | | |
| 检测器 | 350 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | |
| 对照品 | 异荭草苷, 由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 异荭草苷 | 18.272 | 124514 | 1.19 | 0.48 |

加速方法

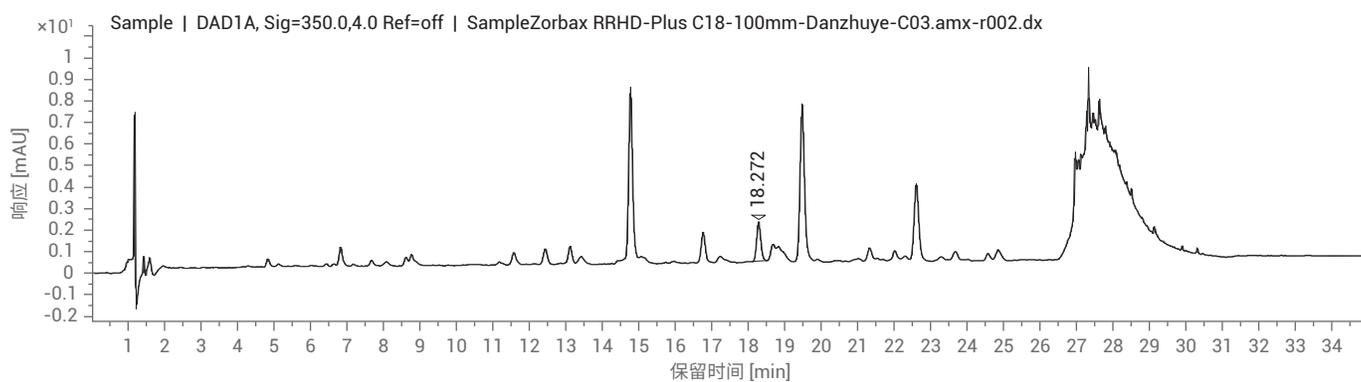
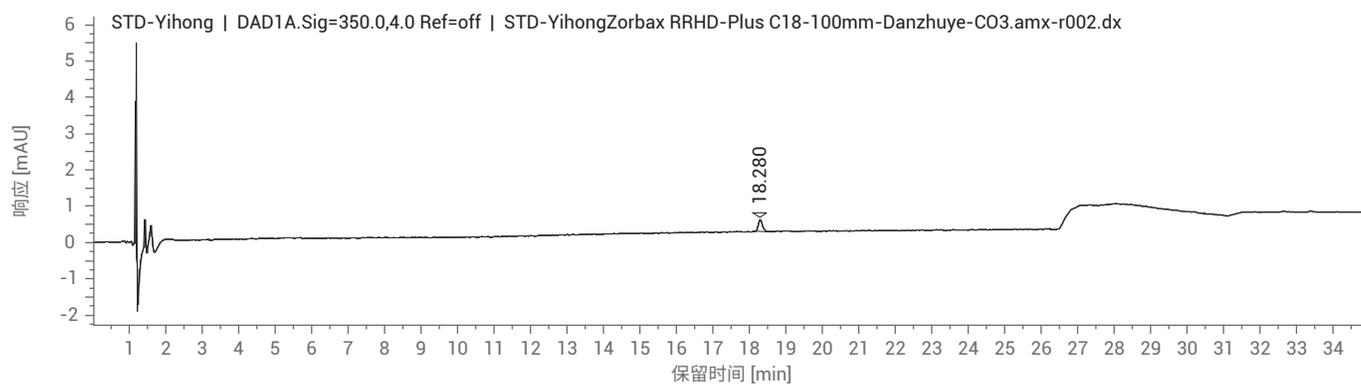
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 异荭草苷 | 9.25 | 94893 | 1.18 | 0.48 |

小结及注意事项

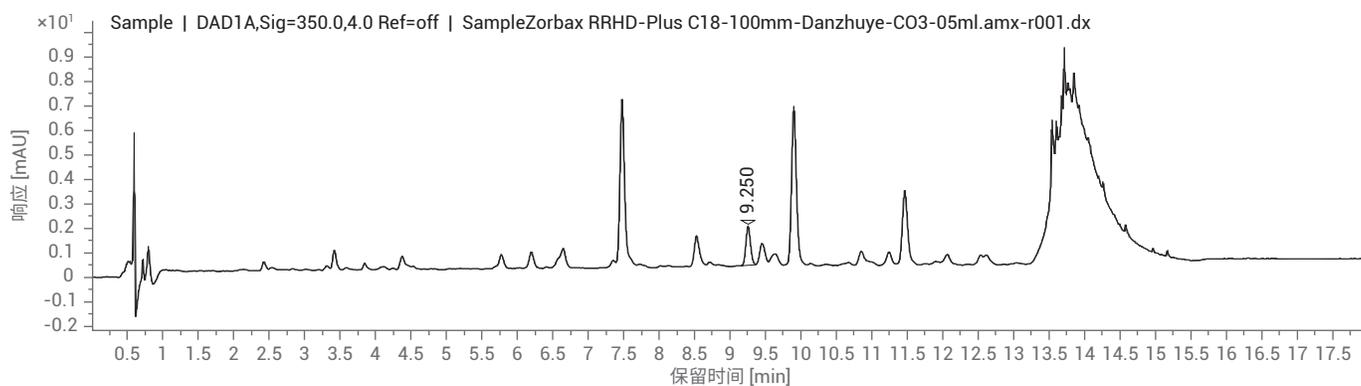
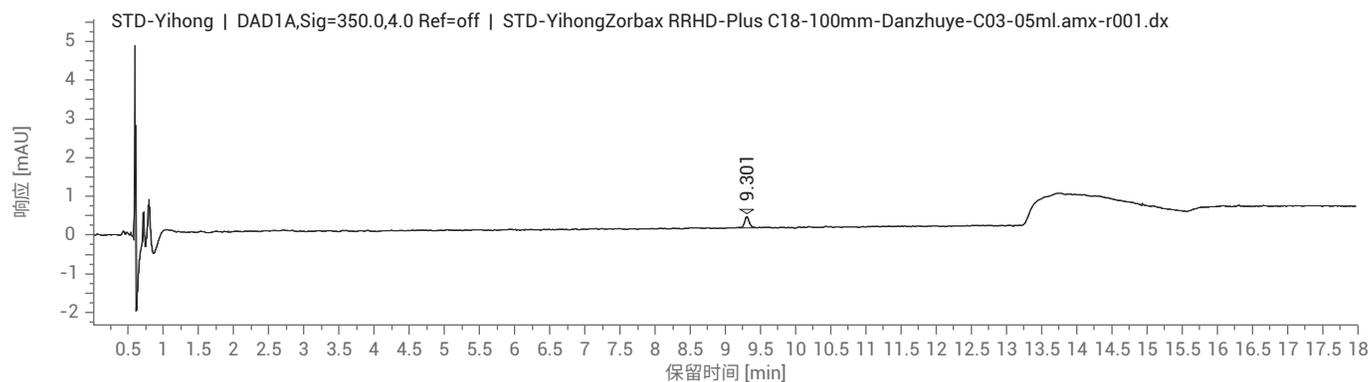
- 国标方法中没有列出回梯度的时间, 需要增加后运行的时间, 或在梯度表中设置

典型图谱

原方法（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法（上图为对照品，下图为供试品）



当归配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|-------|--------------------------------------|-----|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | |
| 色谱柱 | Poroshell 120 SB-C18, 2.1x100 mm, 1.9 μm, PN: 685675-902 | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1% FA; MPB: 乙腈 | 检测器 | 270 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/min | 加速方法: | 0.6 ml/min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 0 | 1.5 | 0 |
| | 5 | 4 | 2.5 | 4 |
| | 16 | 30 | 8 | 30 |
| | 17 | 100 | 8.5 | 100 |
| | 20 | 100 | 10 | 100 |
| | 20.1 | 0 | 10.1 | 0 |
| 25 | 0 | 12.5 | 0 | |
| 柱温 | 35 °C | 进样量 | 标准品 1 μl, 样品 2 μl | |
| 对照品 | 腺苷、色氨酸、阿魏酸, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|--------|---------|------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 腺苷 | 2.420 | 0.532 | 0.504-0.616 | | | 12975 |
| 2 (S1) | 腺苷 | 4.548 | | | | | 14282 |
| 3 | 尿苷 | 5.389 | 1.185 | 1.08-1.32 | | | 16221 |
| 4 | 色氨酸 | 8.933 | | | | | 199407 |
| 5 (S2) | 阿魏酸 | 13.670 | | | | | 448870 |
| 6 | 洋川芎内酯 I | 15.916 | 1.164 | 1.044-1.276 | | | 493406 |
| 7 | 洋川芎内酯 H | 16.482 | 1.206 | 1.089-1.331 | | | 505104 |

加速方法

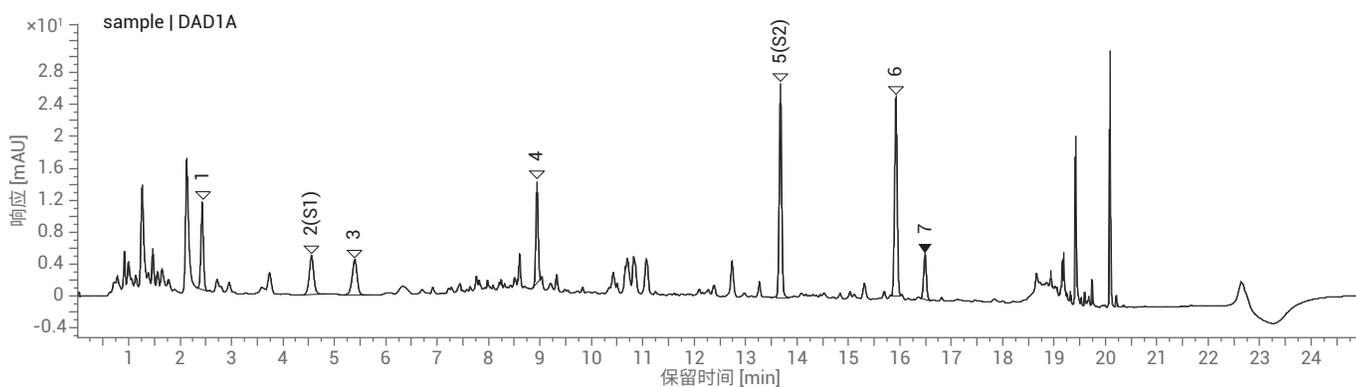
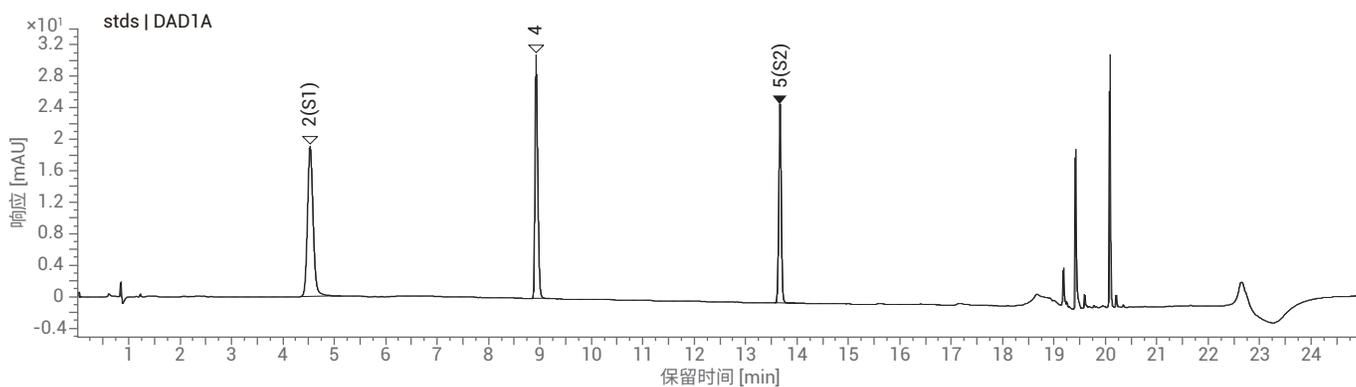
| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|--------|---------|------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 腺苷 | 1.239 | 0.54 | 0.504-0.616 | | | 11766 |
| 2 (S1) | 腺苷 | 2.294 | | | | | 13883 |
| 3 | 尿苷 | 2.692 | 1.173 | 1.08-1.32 | | | 16606 |
| 4 | 色氨酸 | 4.488 | | | | | 194377 |
| 5 (S2) | 阿魏酸 | 6.877 | | | | | 474648 |
| 6 | 洋川芎内酯 I | 8.043 | 1.17 | 1.044-1.276 | | | 522750 |
| 7 | 洋川芎内酯 H | 8.333 | 1.212 | 1.089-1.331 | | | 524417 |

小结及注意事项

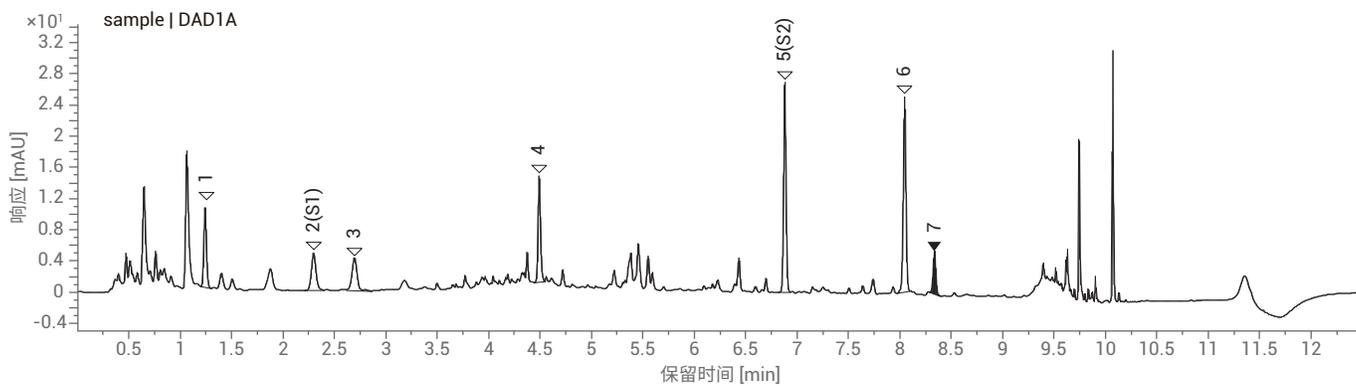
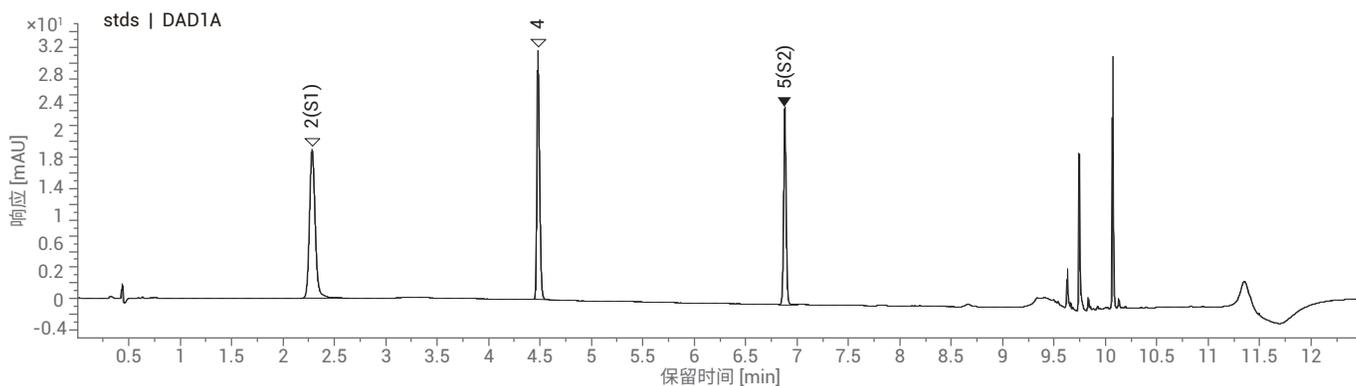
- 原始方法压力最高 332 bar, 加速方法压力最高 628 bar; 加速后分析时间缩短 12.5 分钟 (50%)
- 标品中腺苷峰溶剂效应严重, 采用 30% 甲醇作为对照品溶剂来代替原来 70% 甲醇溶剂, 结果能消除腺苷峰的溶剂效应

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|----|-------------------|----|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | |
| 色谱柱 | Poroshell 120 SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 685675-902 | | | |
| 流动相 | MPA: 0.085% 磷酸水溶液; MPB: 乙腈 | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.4 ml/ min | | 加速方法: 0.8 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 83 | 0 | 83 |
| | 5 | 83 | 5 | 83 |
| 柱温 | 35 °C | | | |
| 检测器 | 316 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | |
| 进样量 | 2 μl | | | |
| 对照品 | 阿魏酸, 由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 阿魏酸 | 2.407 | 11650 | 1.1 | 0.66 |

加速方法

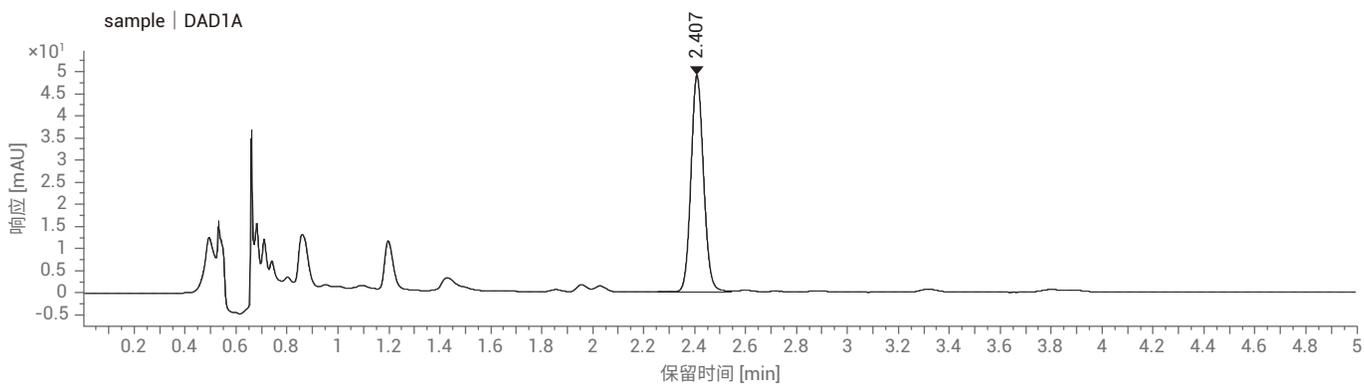
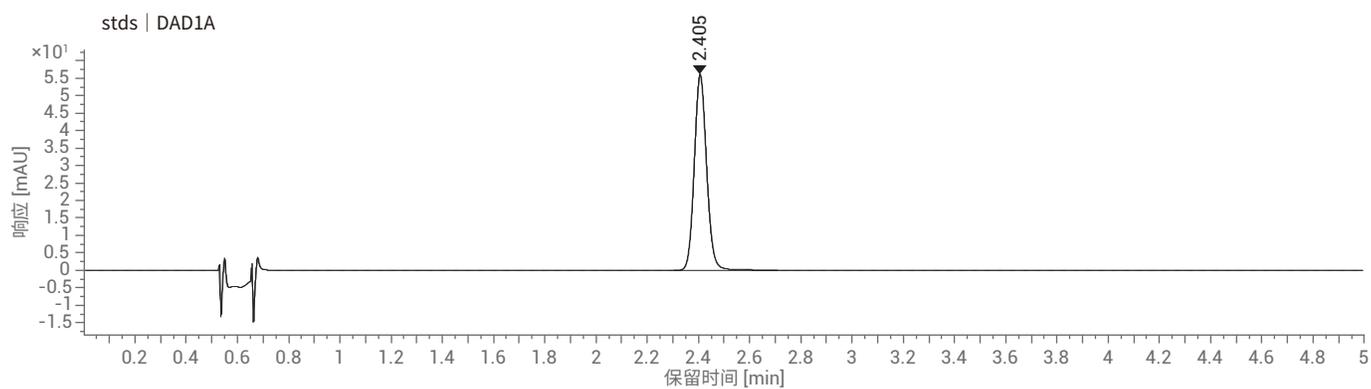
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 阿魏酸 | 1.224 | 10419 | 1.1 | 0.66 |

小结及注意事项

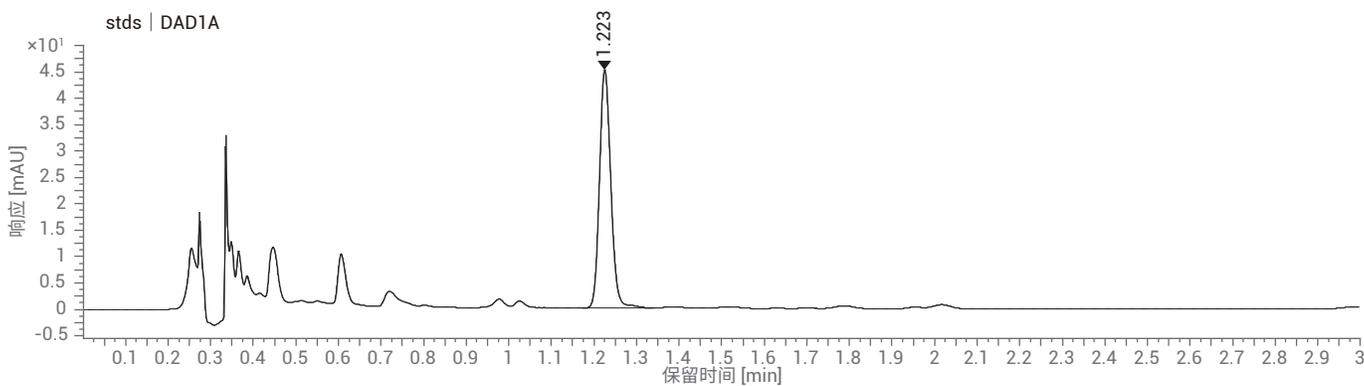
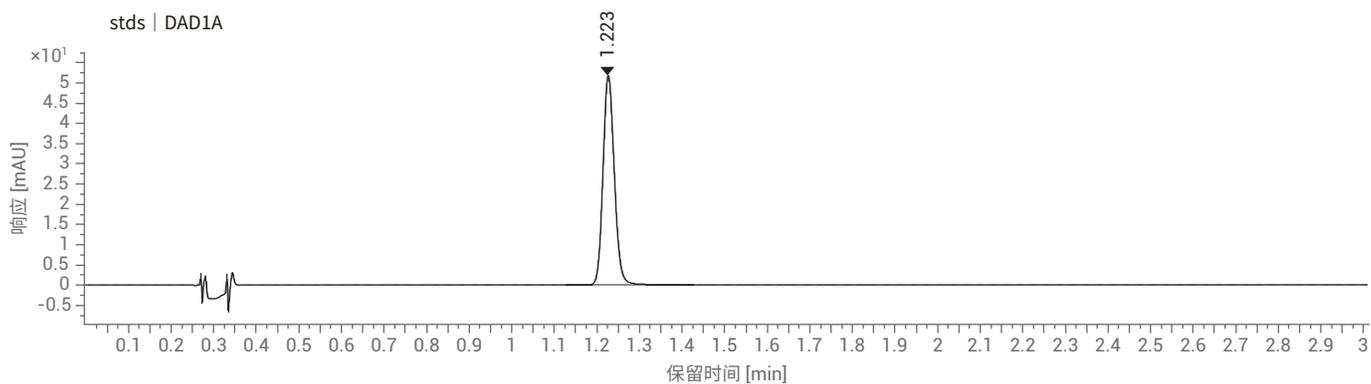
- 原始方法压力最高 437 bar, 加速方法压力最高 808 bar
- 加速后分析时间缩短 2.5 分钟 (50%)

典型图谱

原始方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



加速方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



独活配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|--|-------|-------------|-------|
| 仪器 | 1290 二元 iSET 模拟 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD Extend-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 758700-902 | 柱温 | 35 °C | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O; MPB: 甲醇 | 进样量 | 1 μl | |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/ min | 加速方法: | 0.6 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 30 | 0 | 30 |
| | 2 | 35 | 1 | 35 |
| | 10 | 45 | 5 | 45 |
| | 18 | 51 | 9 | 51 |
| | 23 | 90 | 11.5 | 90 |
| | 30 | 90 | 15 | 90 |
| | 后运行时间: | 5 min | 后运行时间: | 3 min |
| 检测器 | 330 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | |
| 对照品 | 蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

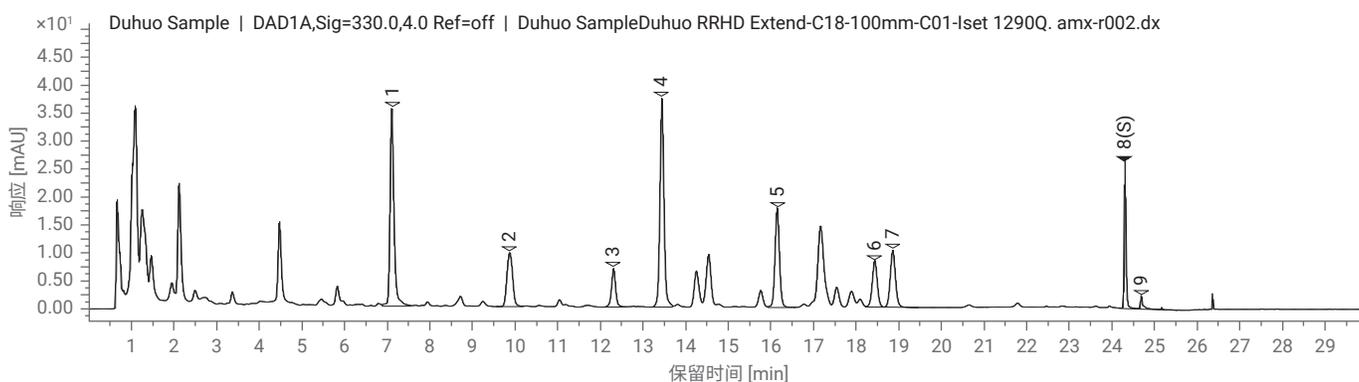
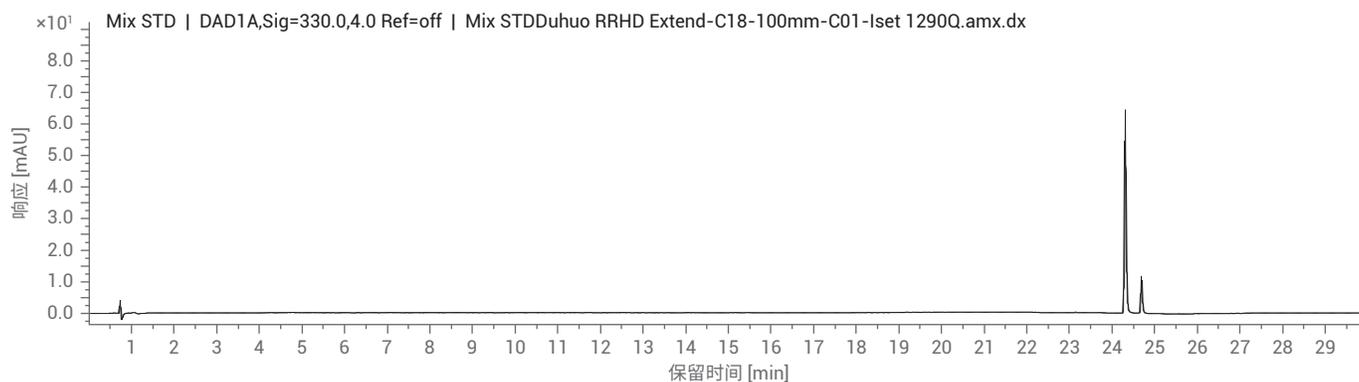
| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | | 7.096 | | | | | 34048 |
| 2 | | 9.864 | 0.41 | 0.34-0.42 | | | 26885 |
| 3 | | 12.299 | 0.51 | 0.43-0.53 | | | 89178 |
| 4 | | 13.434 | 0.55 | 0.48-0.58 | | | 104282 |
| 5 | | 16.138 | 0.66 | 0.57-0.69 | | | 120844 |
| 6 | | 18.427 | 0.76 | 0.65-0.79 | | | 123221 |
| 7 | | 18.849 | 0.78 | 0.67-0.81 | | | 117369 |
| 8 (S) | 蛇床子素 | 24.298 | | | | | 2091056 |
| 9 | 二氢欧山芹醇当归酸酯 | 24.678 | 1.02 | 0.92-1.12 | | | 2448645 |

加速方法

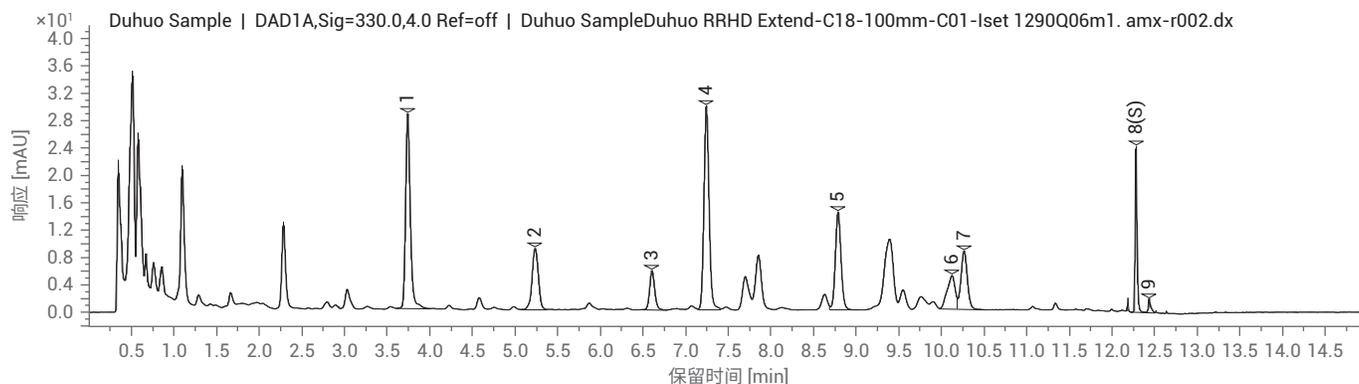
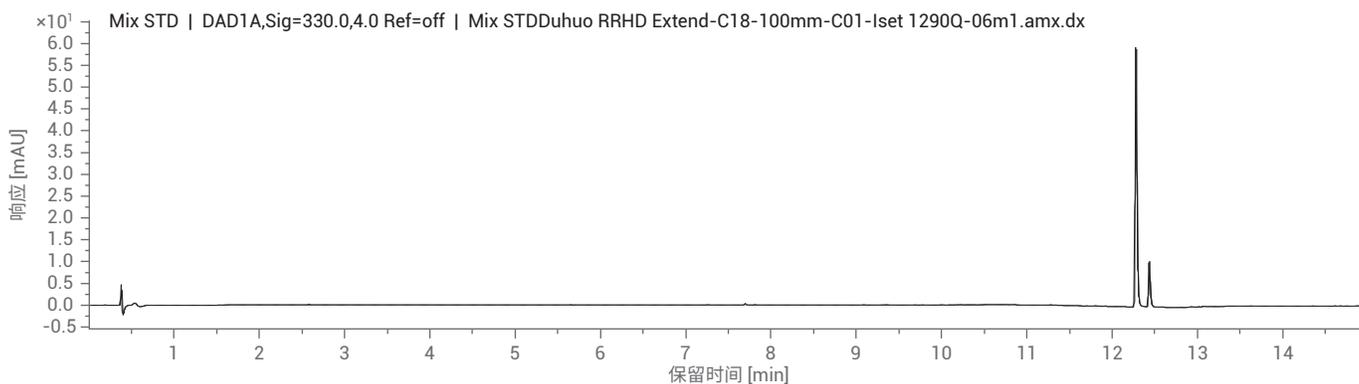
| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | | 3.736 | | | | | 24629 |
| 2 | | 5.23 | 0.43 | 0.34-0.42 | | | 26030 |
| 3 | | 6.601 | 0.54 | 0.43-0.53 | | | 63323 |
| 4 | | 7.239 | 0.59 | 0.48-0.58 | | | 72316 |
| 5 | | 8.783 | 0.72 | 0.57-0.69 | | | 85898 |
| 6 | | 10.119 | 0.82 | 0.65-0.79 | | | 46960 |
| 7 | | 10.26 | 0.84 | 0.67-0.81 | | | 92567 |
| 8 (S) | 蛇床子素 | 12.277 | | | | | 1911441 |
| 9 | 二氢欧山芹醇当归酸酯 | 12.433 | 1.01 | 0.92-1.12 | | | 1894725 |

特征图谱

原始方法图谱(上图为对照品, 下图为供试品)



加速方法图谱(上图为对照品, 下图为供试品)



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|--|
| 仪器 | 1290 二元泵 iSet 模拟 1260Q: 四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 二元泵 iSet 模拟 1290Q: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 880975-902 | ZORBAX RRHD Extend-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 758700-902 |
| 流动相 | MPA: H ₂ O; MPB: 乙腈 | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.3 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 49 40 49 | 时间 (min) B% 0 49 10 49 |
| 柱温 | 30 °C | 30 °C |
| 检测器 | 254 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz | 254 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 1 |
| 对照品 | 蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯对照品均由诗丹德提供 | |

系统适用性

原方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------------|------------|----------|------------|-----------|
| 蛇床子素 | 22.354 | 21843 | 1.07 | 0.960 |
| 二氢欧山芹醇当归酸酯 | 29.788 | 23135 | 0.94 | 0.035 |

UHPLC 方法

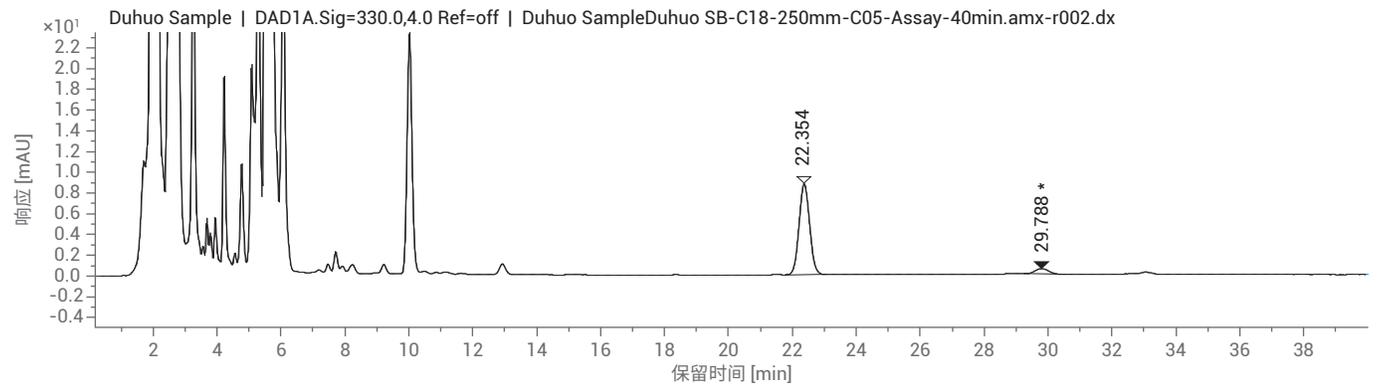
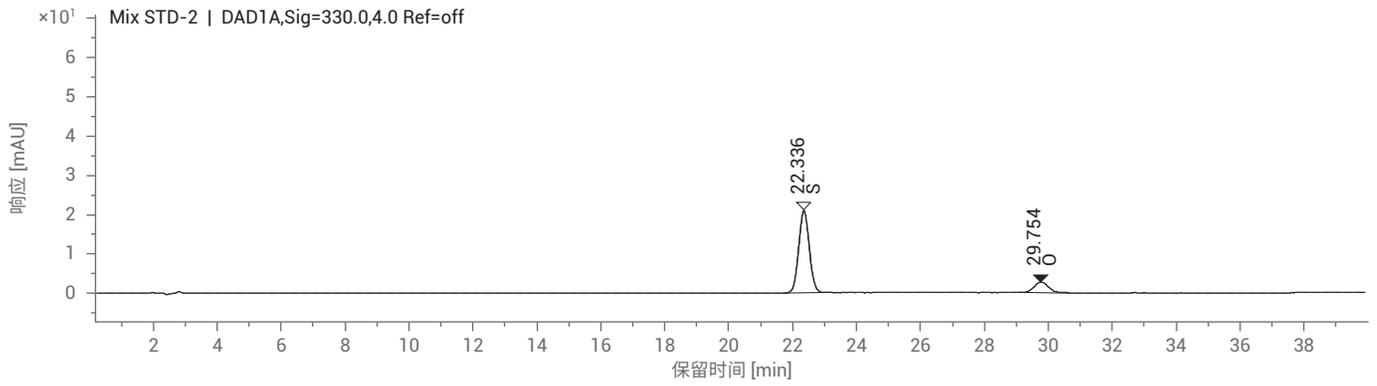
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------------|------------|----------|------------|-----------|
| 蛇床子素 | 6.399 | 18430 | 1.22 | 0.938 |
| 二氢欧山芹醇当归酸酯 | 8.691 | 20420 | 1.04 | 0.037 |

小结及注意事项

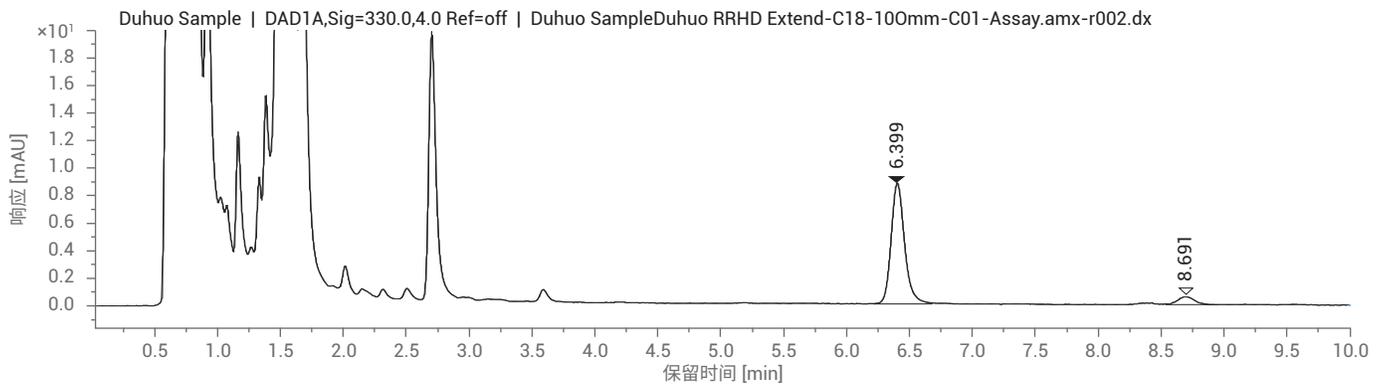
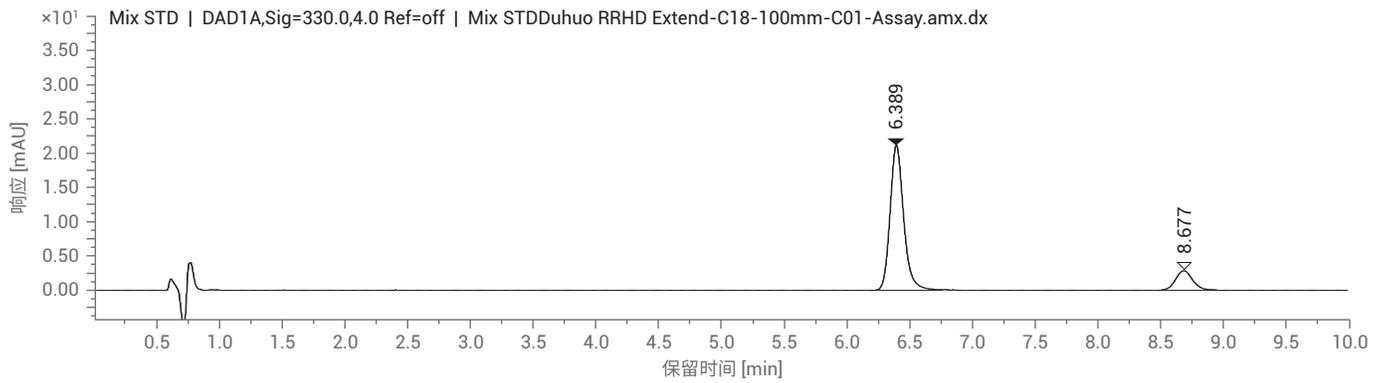
- 按标准方法选择 ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm 色谱柱可以满足含量测定要求
- 使用特征图谱中 UHPLC 色谱柱 (ZORBAX RRHD Extend-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm) 测试结果与 HPLC 方法测试结果一致, 时间从 40 min 缩短到 10 min

典型图谱

原方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



杜仲配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | |
|-------|--|----|
| 仪器 | 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.2%甲酸); MPB: ACN | |
| 流速 | 0.3 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 3 |
| | 3 | 10 |
| | 6 | 10 |
| | 15 | 20 |
| | 17 | 55 |
| | 17.01 | 3 |
| | 20 | 3 |
| 柱温 | 40 °C | |
| 检测器 | 254 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | |
| 进样量 | 1 μl | |
| 对照品 | 松脂醇二葡萄糖苷, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

原始方法

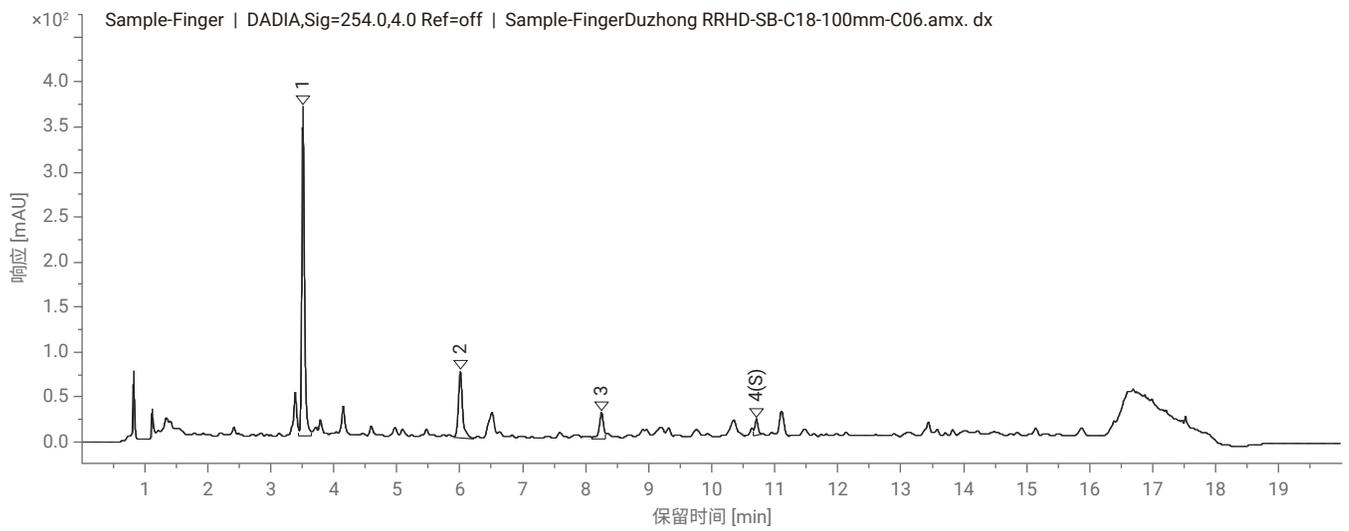
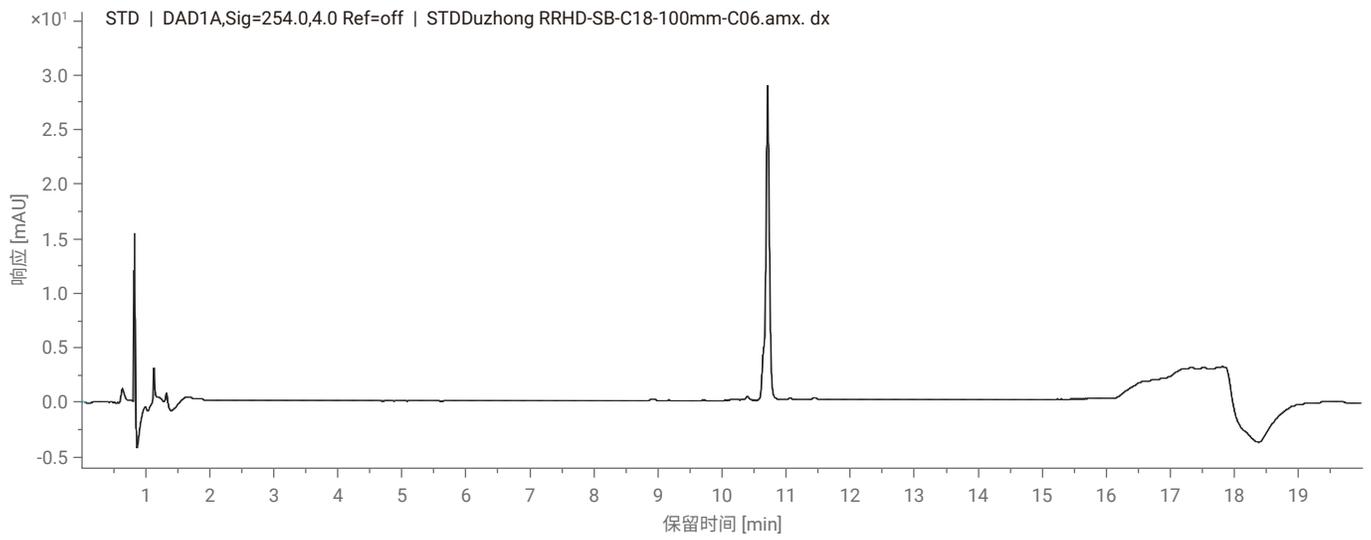
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|----------|--------|-----------|-------|---------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 3.506 | 京尼平苷酸 | | | 11.1 | 2.1-26 | 39065 |
| 2 | 6.003 | 绿原酸 | 0.56 | 0.44-0.54 | 3.4 | 1.8-8.0 | 50812 |
| 3 | 8.243 | | 0.77 | 0.62-0.76 | | | 89605 |
| 4 (S) | 10.702 | 松脂醇二葡萄糖苷 | | | | | 215914 |

小结及注意事项

- 杜仲配方颗粒样品 S 峰处附近干扰峰较多, 容易导致定位错误

特征图谱

(上图为对照品, 下图为供试品)



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | |
|-------|--|-----|
| 仪器 | 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O; MPB: MeOH | |
| 流速 | 0.3 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 22 |
| | 15 | 22 |
| | 16 | 100 |
| | 20 | 100 |
| | 后运行: 5 min | |
| 柱温 | 35 °C | |
| 检测器 | 277 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | |
| 进样量 | 1 μl | |
| 对照品 | 松脂醇二葡萄糖苷, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

原方法

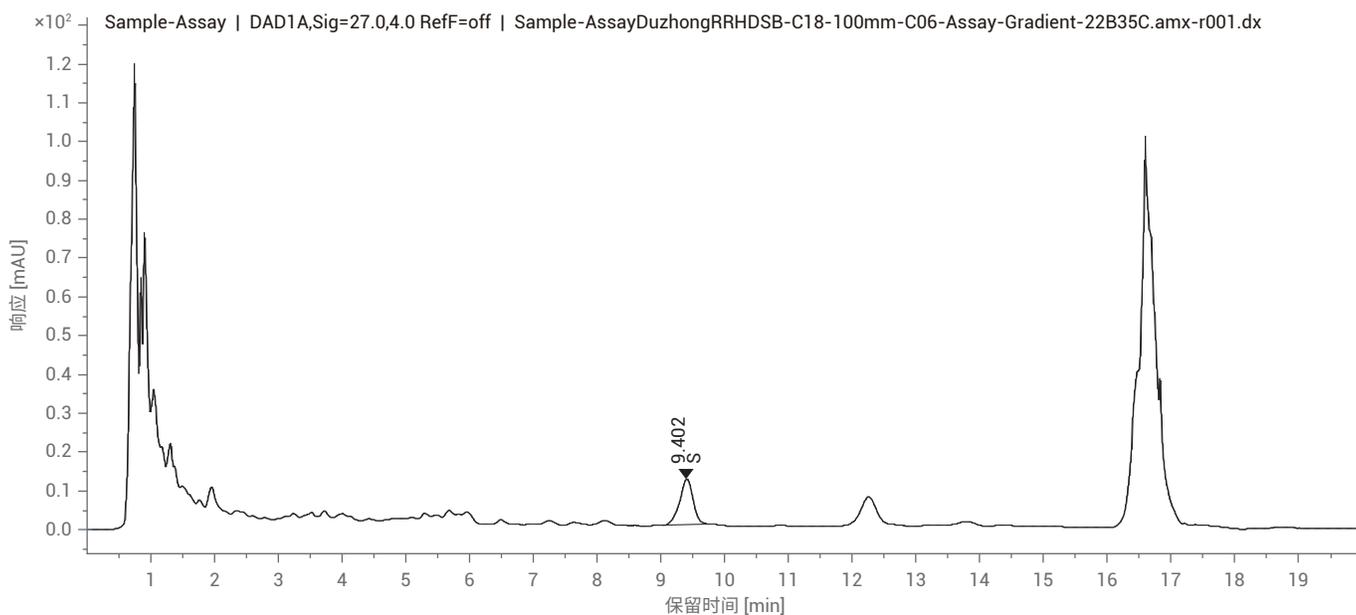
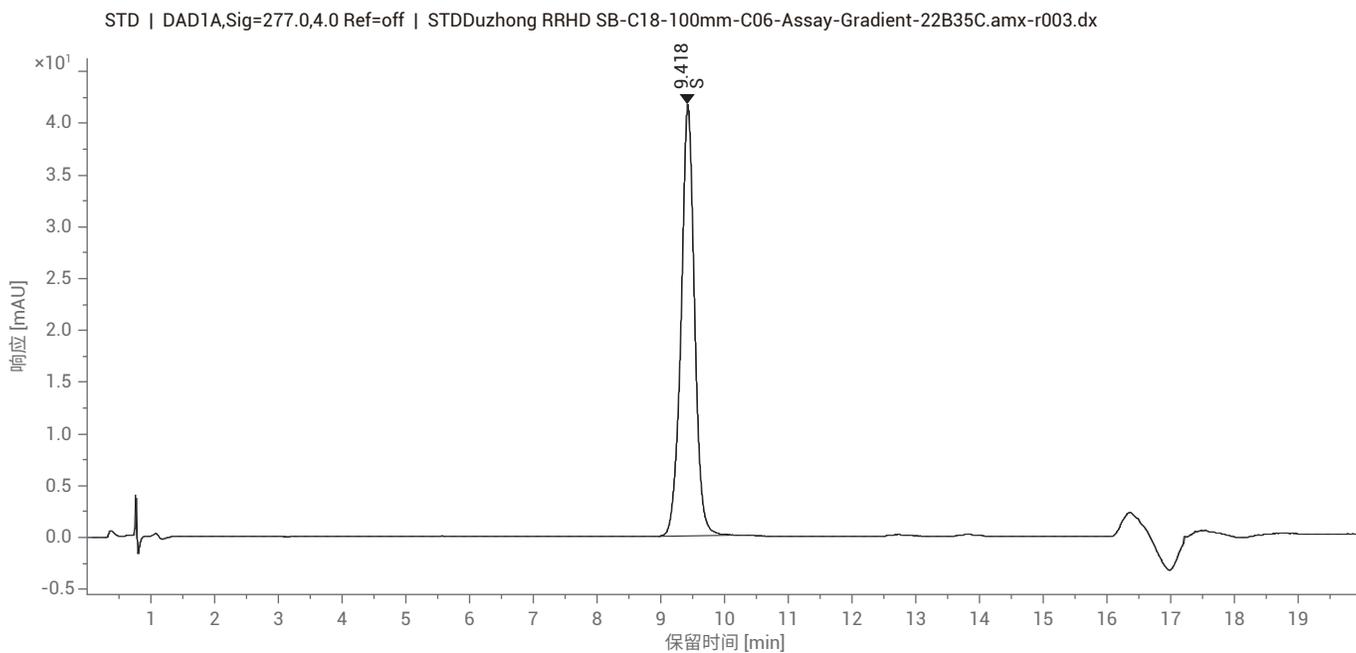
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|----------|------------|----------|------------|-----------|
| 松脂醇二葡萄糖苷 | 9.402 | 10224 | 0.95 | 5.3 |

小结及注意事项

- 含量测定方法, 柱效较难达到, 需要筛选色谱柱
- 含量测定中有机相比例从 25% 调整到 22%, 柱温从 30 °C 调整为 35 °C, 以满足柱效要求
- 等度淋洗之后, 供试品中仍有未洗脱成分, 长期会导致柱效下降, 本方法在梯度洗脱后增加梯度冲洗色谱柱

典型图谱

(上图为对照品, 下图为供试品)



防己配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--|---|----|---|----|----|----|----|----|--------|--------|--|----------|----|---|----|-----|----|----|----|--------|-------|
| 仪器 | 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) 采用 ISET 模拟泵 G1311A、进样器 G7129A | 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 959990-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.2% 磷酸含 0.4% 三乙胺; MPB: ACN | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比 | <table border="1"> <tr><td>时间 (min)</td><td>B%</td></tr> <tr><td>0</td><td>10</td></tr> <tr><td>30</td><td>20</td></tr> <tr><td>70</td><td>20</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>15 min</td></tr> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 10 | 30 | 20 | 70 | 20 | 后运行时间: | 15 min | <table border="1"> <tr><td>时间 (min)</td><td>B%</td></tr> <tr><td>0</td><td>10</td></tr> <tr><td>4.5</td><td>20</td></tr> <tr><td>10</td><td>20</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>3 min</td></tr> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 10 | 4.5 | 20 | 10 | 20 | 后运行时间: | 3 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 70 | 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 15 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4.5 | 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 3 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 25°C | 25°C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 282 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz | 282 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 防己诺林碱、粉防己碱, 均由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|---------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 14.408 | | 0.443 | 0.389 ~ 0.475 | | | 32424 |
| 2 | 22.864 | | 0.703 | 0.626 ~ 0.765 | | | 31647 |
| 3 (S) | 32.493 | 防己诺林碱 | | | | | 64261 |
| 4 | 39.197 | 粉防己碱 | | | | | 26348 |

UHPLC 方法

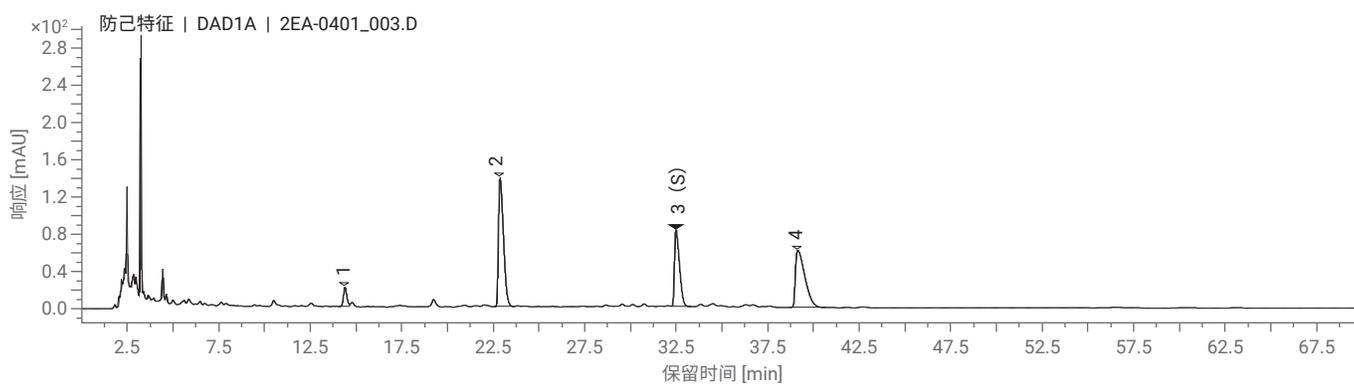
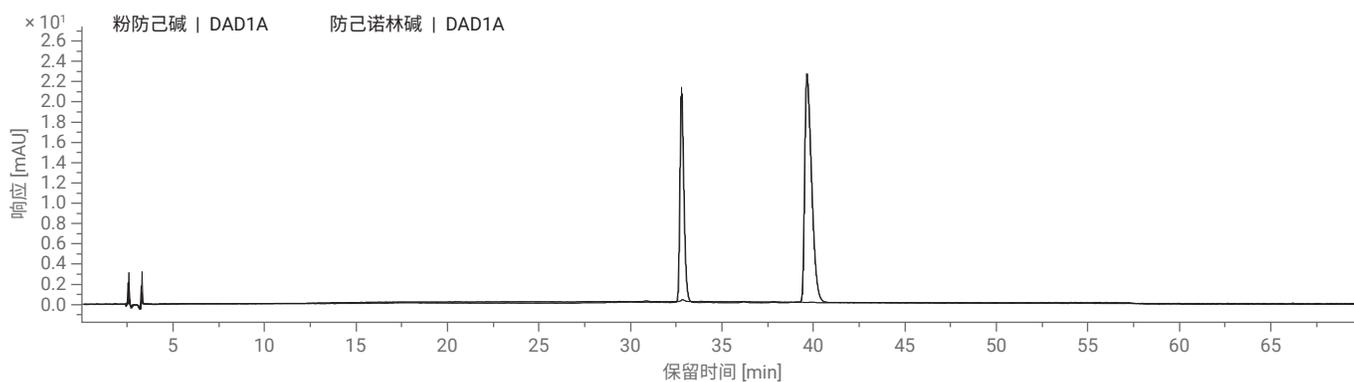
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|---------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.652 | | 0.461 | 0.389 ~ 0.475 | | | 35968 |
| 2 | 4.094 | | 0.712 | 0.626 ~ 0.765 | | | 49858 |
| 3 (S) | 5.752 | 防己诺林碱 | | | | | 82667 |
| 4 | 6.991 | 粉防己碱 | | | | | 29888 |

小结及注意事项

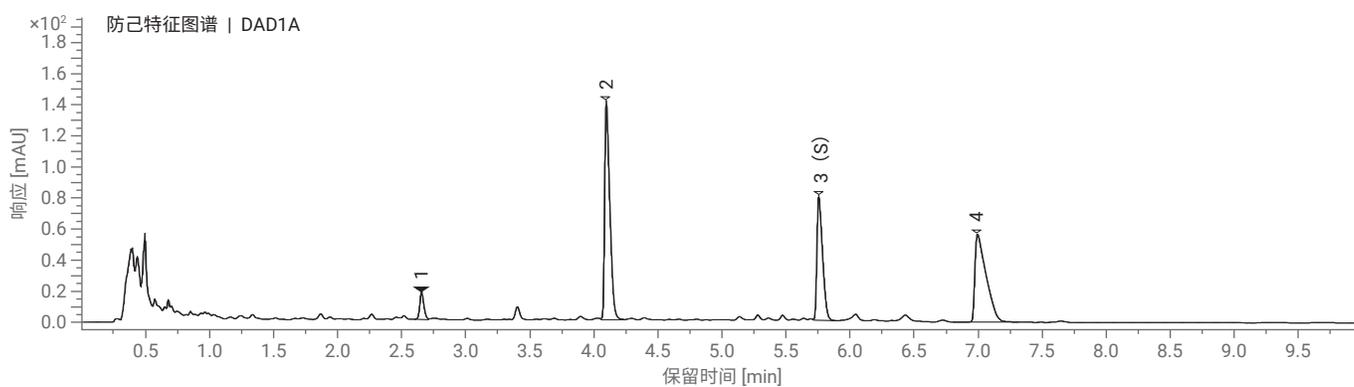
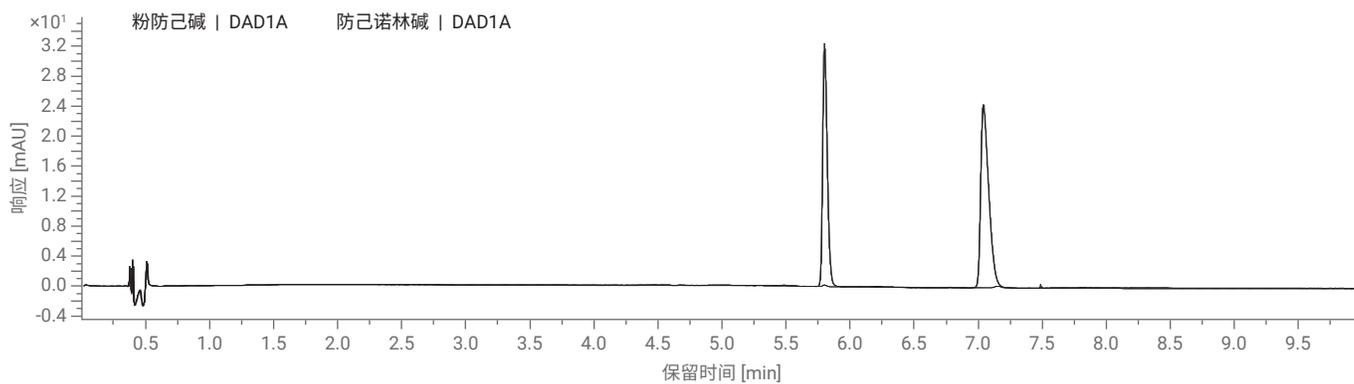
- 国标方法无后平衡时间, 建议 HPLC 后平衡 15 min, UHPLC 方法后平衡 3 min
- HPLC 方法转换成 UHPLC 方法, 分析时间由 70 分钟缩短至 10 分钟
- 转换后的 UHPLC 仍然能够满足标准特征图谱系统适用性及 RRT 要求

特征图谱

HPLC 方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|---|----|----|---|----|----|----|----|----|--|----------|----|----|---|----|----|---|----|----|
| 仪器 | 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) 采用 ISET 模拟泵 G1311A、进样器 G7129A | 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 959990-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.03 mol/L Na ₂ PO ₄ (0.33%三乙胺); MPB: ACN; MPC: MeOH | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> <th>C%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>40</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>40</td> <td>30</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | C% | 0 | 40 | 30 | 40 | 40 | 30 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> <th>C%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>40</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>6</td> <td>40</td> <td>30</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | C% | 0 | 40 | 30 | 6 | 40 | 30 |
| 时间 (min) | B% | C% | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 40 | 30 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | 40 | 30 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | C% | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 40 | 30 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 40 | 30 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 25°C | 25°C | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 282 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | 282 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 防己诺林碱、粉防己碱, 均由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|-------|------------|----------|------------|--------|
| 防己诺林碱 | 14.091 | 16981 | 0.99 | 1.366 |
| 粉防己碱 | 23.492 | 17856 | 0.96 | 2.136 |

UHPLC 方法

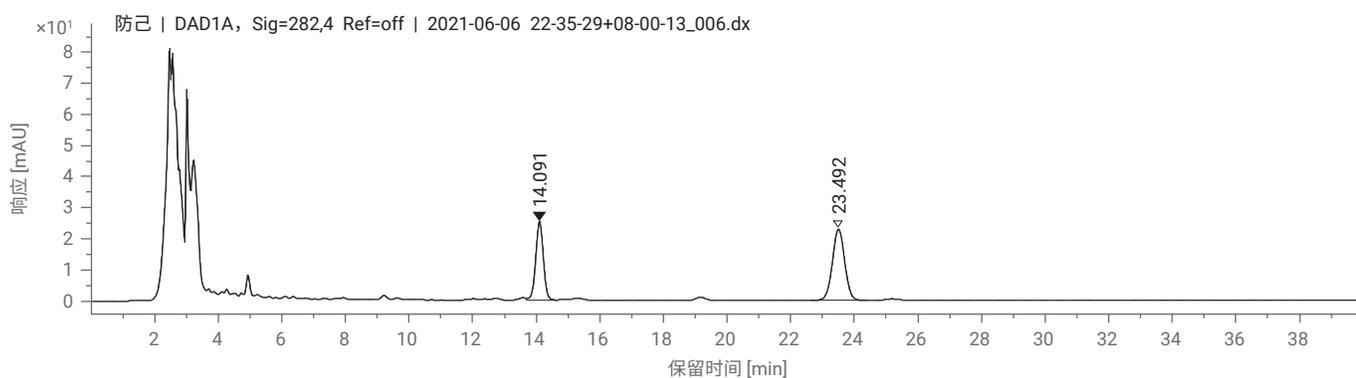
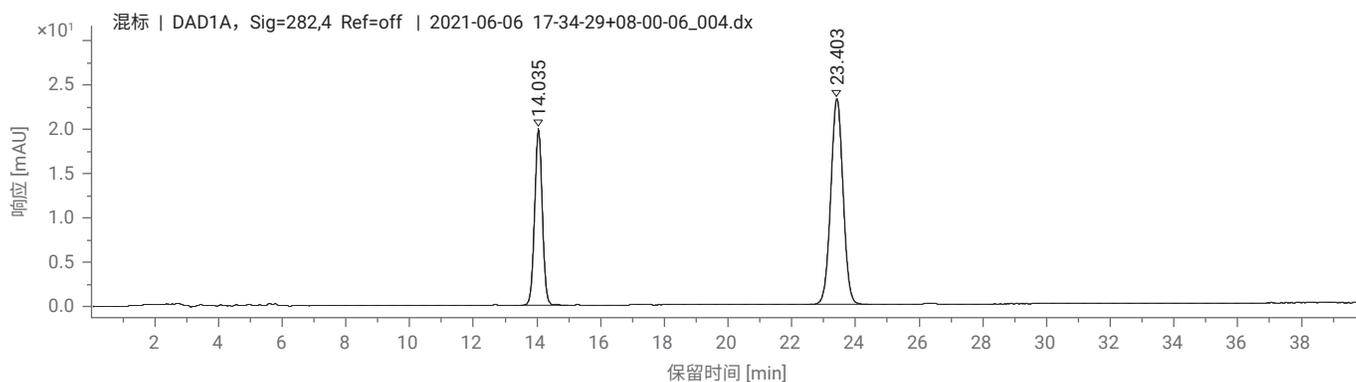
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|-------|------------|----------|------------|--------|
| 防己诺林碱 | 2.031 | 11285 | 0.89 | 1.409 |
| 粉防己碱 | 3.553 | 14223 | 0.93 | 2.213 |

小结及注意事项

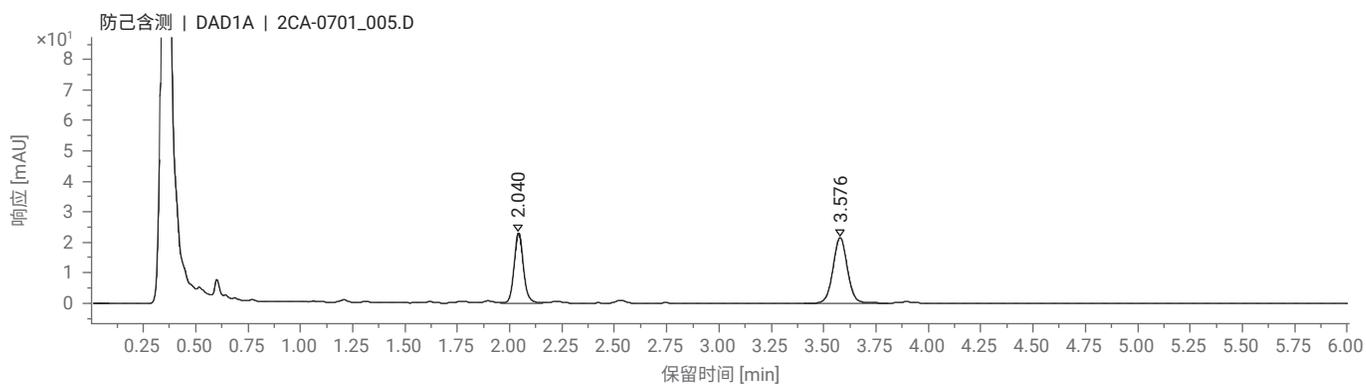
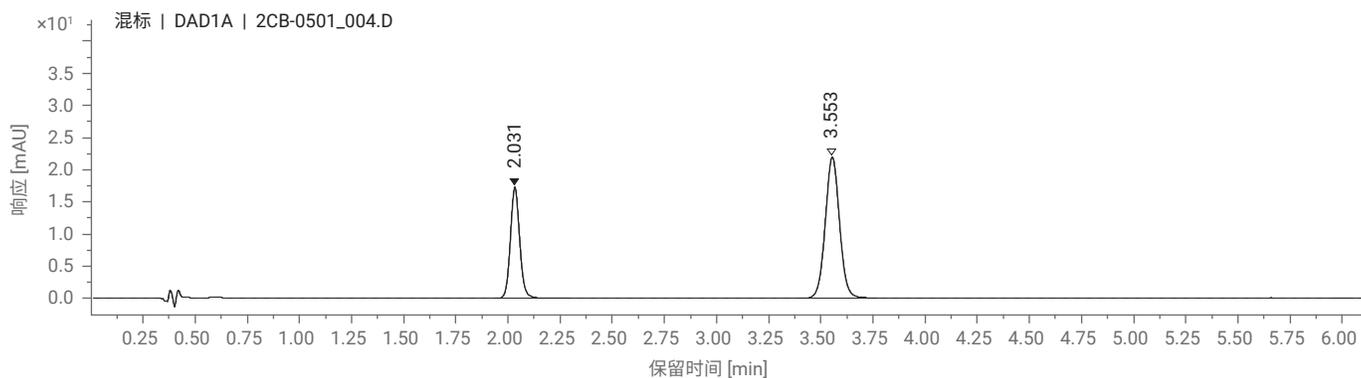
- 将 HPLC 方法转换为 UHPLC, 时间由 40 分钟缩短至 6 分钟
- HPLC 和 UHPLC 方法含量测定结果无明显差异
- 转换后的 UHPLC 方法仍然能够满足含量测定系统适用性要求

典型色谱图

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



粉葛配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------|--|---|----|---|----|----|----|----|----|-----------|--------|---|----------|----|---|----|------|----|-----|----|--------|-------|
| 仪器 | 1260 Prime LC 系统, 包含四元泵 (G7104C), 自动进样器 (G7129C), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7117C) 采用 ISET 模拟泵 G1311A 和进样器 G7129A | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 518925-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1%FA, MPB: ACN | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/min | 0.6 ml/min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>35</td> </tr> <tr> <td>50</td> <td>35</td> </tr> <tr> <td>post run:</td> <td>15 min</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 10 | 40 | 35 | 50 | 35 | post run: | 15 min | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>5.76</td> <td>35</td> </tr> <tr> <td>7.2</td> <td>35</td> </tr> <tr> <td>后运行时间:</td> <td>3 min</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 10 | 5.76 | 35 | 7.2 | 35 | 后运行时间: | 3 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | 35 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 50 | 35 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| post run: | 15 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5.76 | 35 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7.2 | 35 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 3 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 30 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 250 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 0.8 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 大豆苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|---------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 14.417 | 葛根素 | 0.771 | 0.723 ~ 0.849 | | | 77640 |
| 2 | 15.167 | | 0.812 | 0.764 ~ 0.897 | | | 83934 |
| 3 (S) | 18.622 | 大豆苷 | | | | | 109676 |
| 4 | 25.066 | | 1.352 | 1.218 ~ 1.430 | | | 149020 |
| 5 | 35.999 | 大豆苷元 | 1.933 | 1.715 ~ 2.013 | | | 172565 |

UHPLC 方法

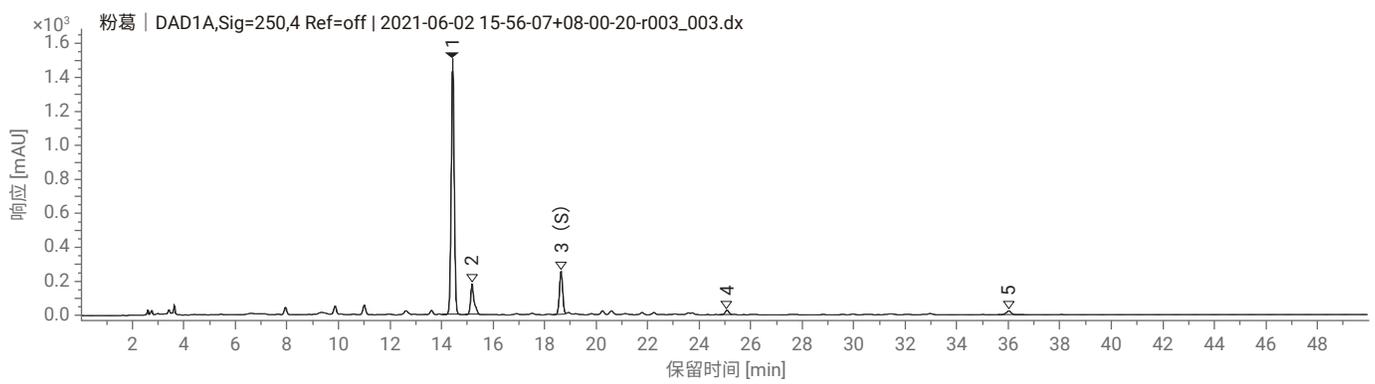
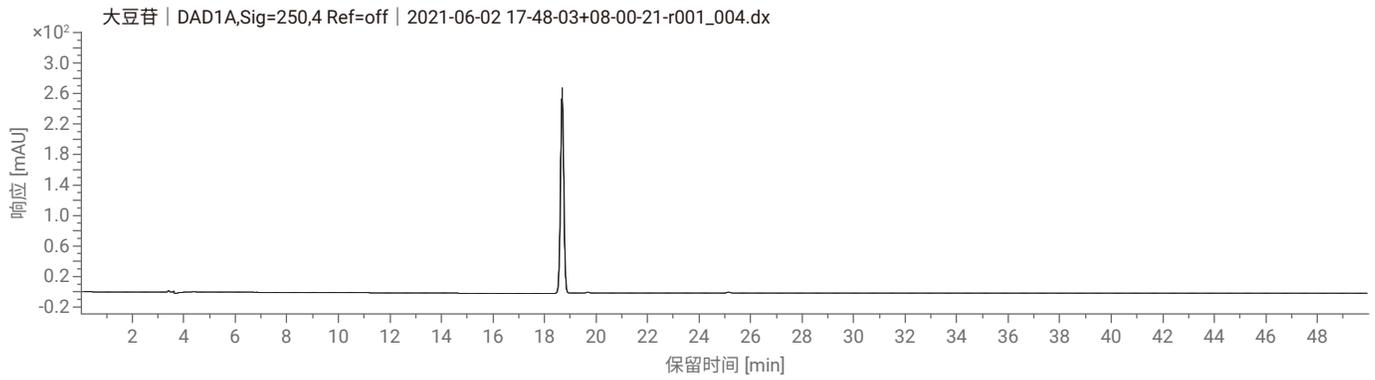
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|---------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.368 | 葛根素 | 0.798 | 0.723 ~ 0.849 | | | 62606 |
| 2 | 2.557 | | 0.862 | 0.764 ~ 0.897 | | | 77890 |
| 3 (S) | 2.967 | 大豆苷 | | | | | 95486 |
| 4 | 3.870 | | 1.304 | 1.218 ~ 1.430 | | | 144975 |
| 5 | 5.401 | 大豆苷元 | 1.820 | 1.715 ~ 2.013 | | | 210387 |

小结及注意事项

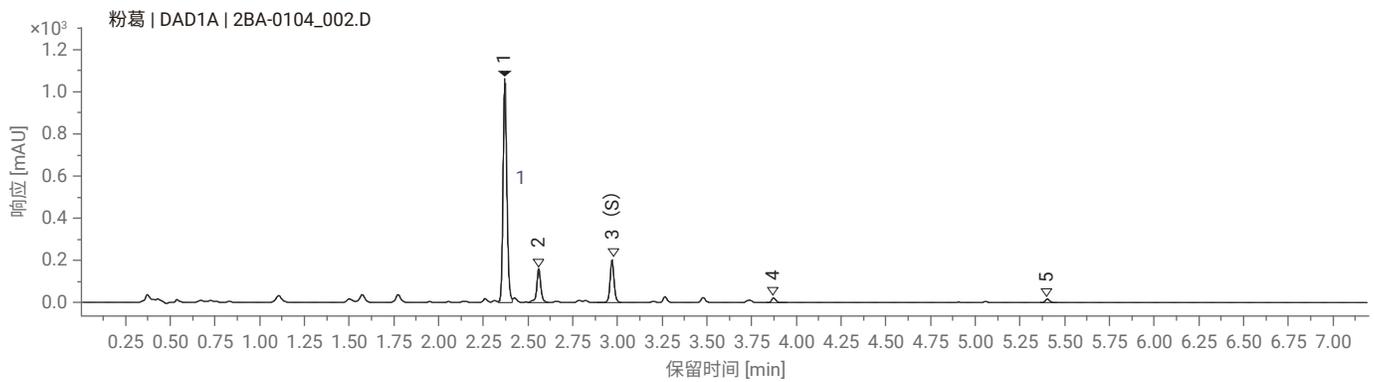
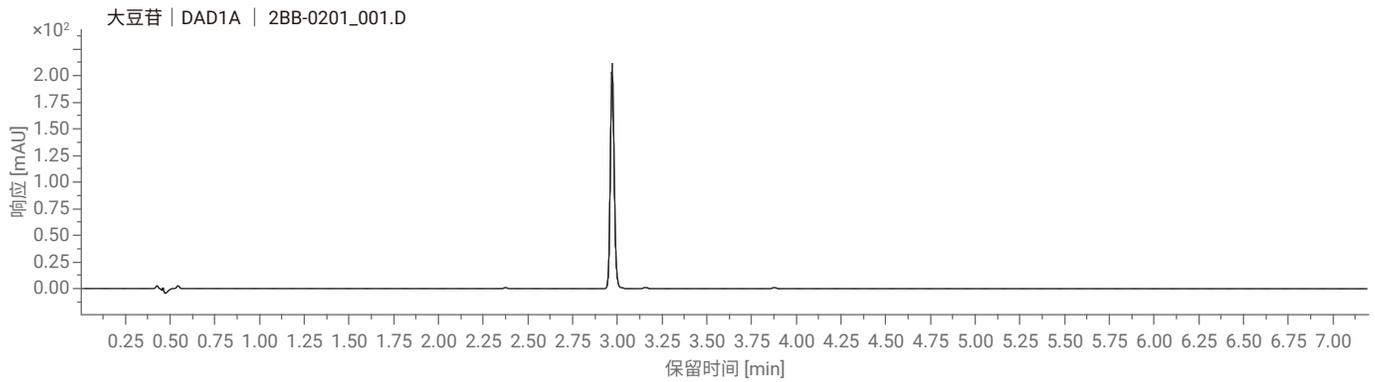
- 原始方法增加后平衡时间 15 分钟, 转换后的 UHPLC 增加 3 分钟后平衡时间

特征图谱

HPLC 方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|--|
| 仪器 | 1260 Prime LC 系统, 包含全能泵 (G7104C), 自动进样器 (G7129C), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7117C) 采用 ISET 模拟泵 G1311A 和进样器 G7129A | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 518925-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 |
| 流动相 | MPA: H ₂ O; MPB: MeOH | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.5 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 25 30 25 | 时间 (min) B% 0 25 6 25 |
| 柱温 | 30 °C | 30 °C |
| 检测器 | 250 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | 250 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz |
| 进样量 | 5 μl | 0.8 μl |
| 对照品 | 葛根素, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|-----|------------|----------|------------|--------|
| 葛根素 | 20.075 | 13545 | 1.09 | 4.30 |

UHPLC 方法

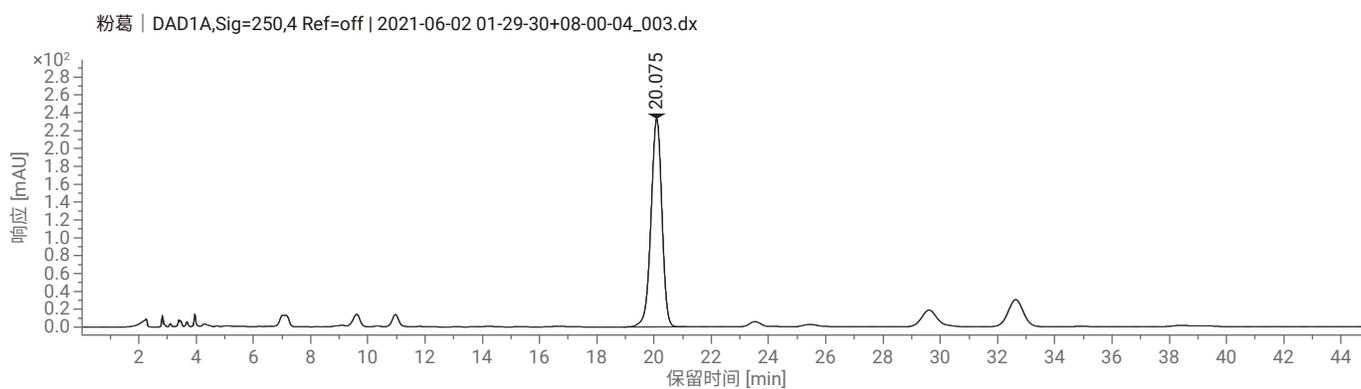
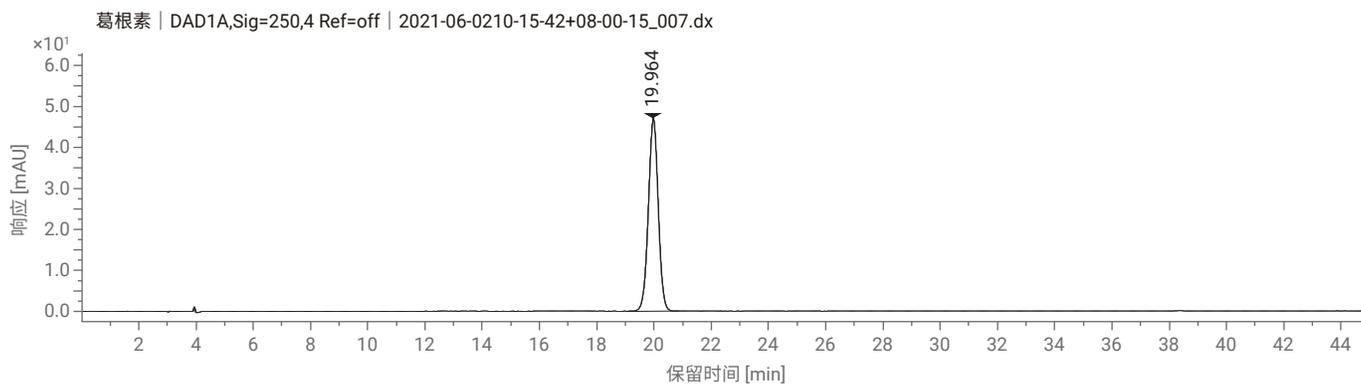
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|-----|------------|----------|------------|--------|
| 葛根素 | 2.707 | 8984 | 0.95 | 4.24 |

小结及注意事项

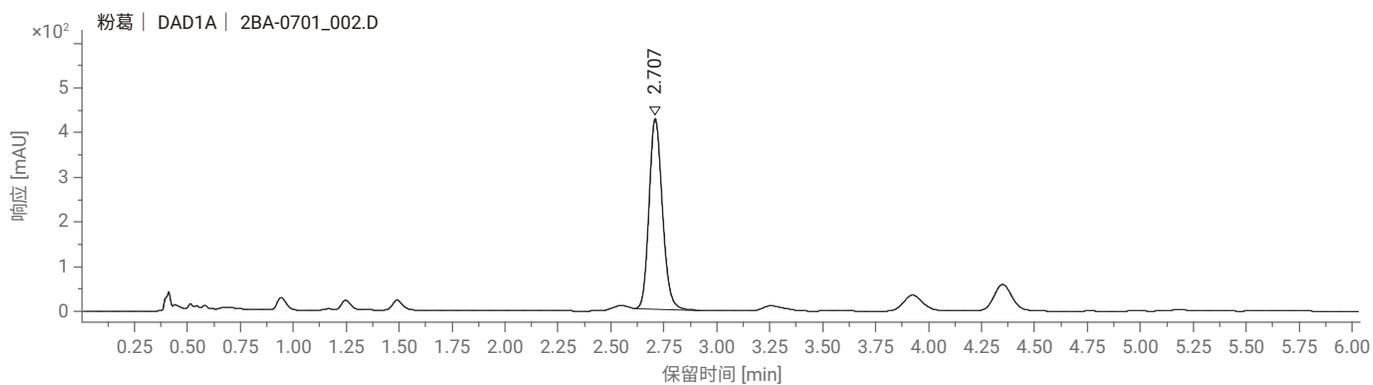
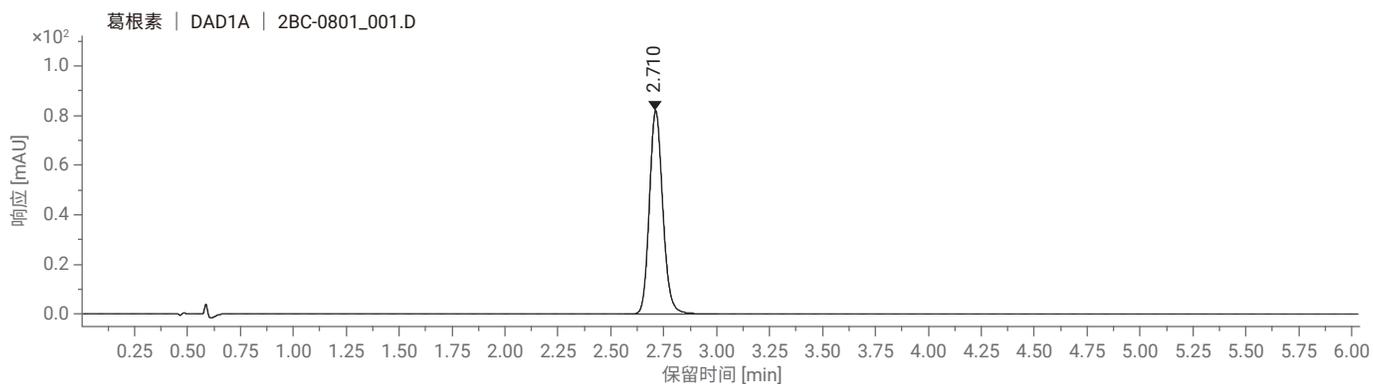
- HPLC 含量测定方法, 需更换自动进样器到柱温箱管线为, 以克服溶剂效应

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



焦栀子配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | |
|-------|---|--|----------|-------|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm; PN: 518925-902 | Porosehl 120 SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm; PN: 685675-902 | | |
| 流动相 | MPA: 0.4% H ₃ PO ₄ ; MPB: ACN | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.5 ml/ min | | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 8 | 0 | 8 |
| | 10 | 15 | 1.52 | 15 |
| | 15 | 20 | 2.28 | 20 |
| | 20 | 25 | 3.04 | 25 |
| | 40 | 30 | 6.08 | 30 |
| | Post run | 7 min | Post run | 2 min |
| 柱温 | 25 °C | 20 °C | | |
| 检测器 | 0~23.6 min, 238 nm (4 nm), Ref: off; 23.6~40 min, 440 nm (4 nm), Ref: off 采样频率: 5 Hz | 0~3.5 min, 238 nm (4 nm), Ref: off; 3.5~6.08 min, 440 nm (4 nm), Ref: off 采样频率: 20 Hz | | |
| 进样量 | 10 μl | 0.8 μl | | |
| 对照品 | 栀子苷, 由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-----|--------|---------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 6.877 | | 0.426 | 0.369 - 0.451 | | | 20006 |
| 2 | 12.157 | | 0.815 | 0.725 - 0.887 | | | 71823 |
| 3 (S) | 16.141 | 栀子苷 | | | | | 112904 |
| 4 | 22.936 | | 1.421 | 1.310 - 1.601 | | | 311918 |

UHPLC 方法

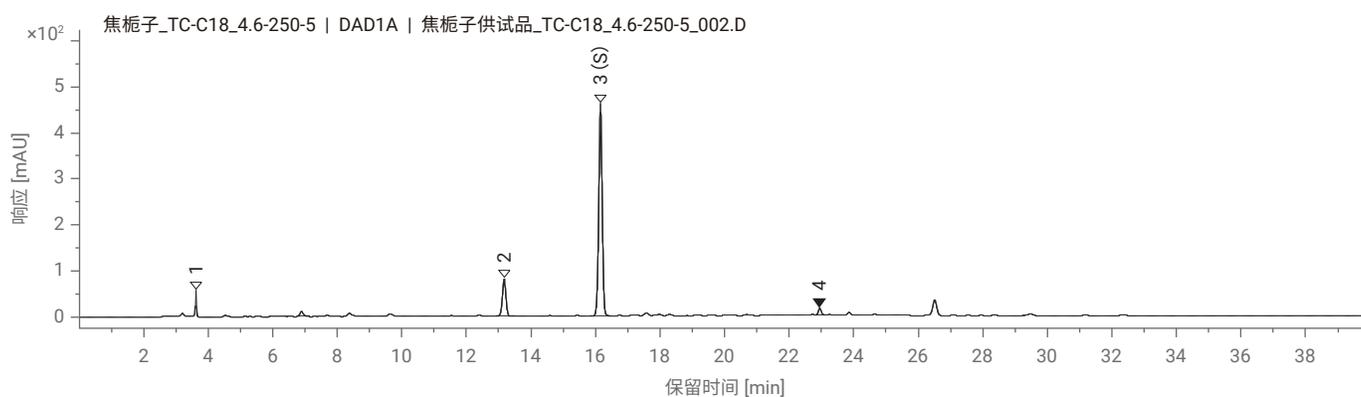
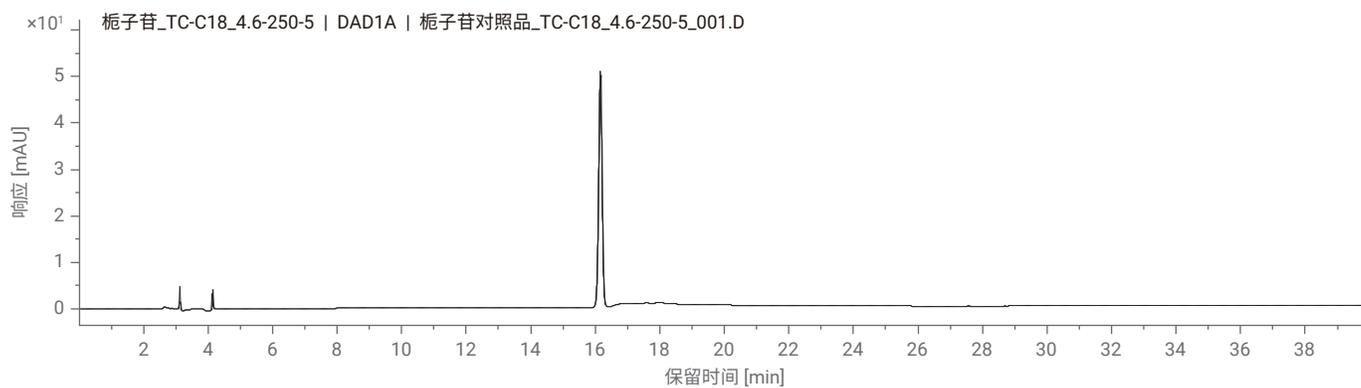
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-----|--------|---------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 1.019 | | 0.437 | 0.369 - 0.451 | | | 4697 |
| 2 | 1.908 | | 0.817 | 0.725 - 0.887 | | | 44640 |
| 3 (S) | 2.334 | 栀子苷 | | | | | 64297 |
| 4 | 3.437 | | 1.472 | 1.310 - 1.601 | | | 199172 |

小结及注意事项

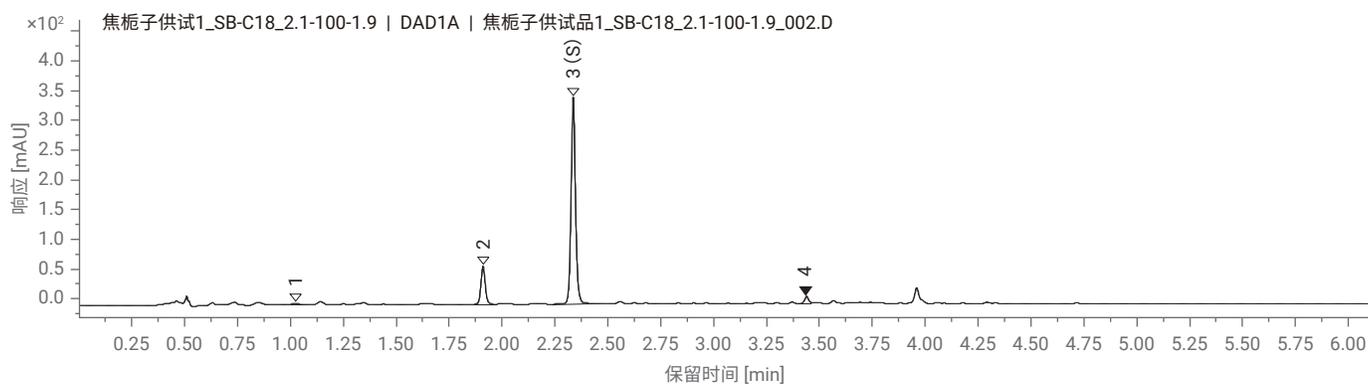
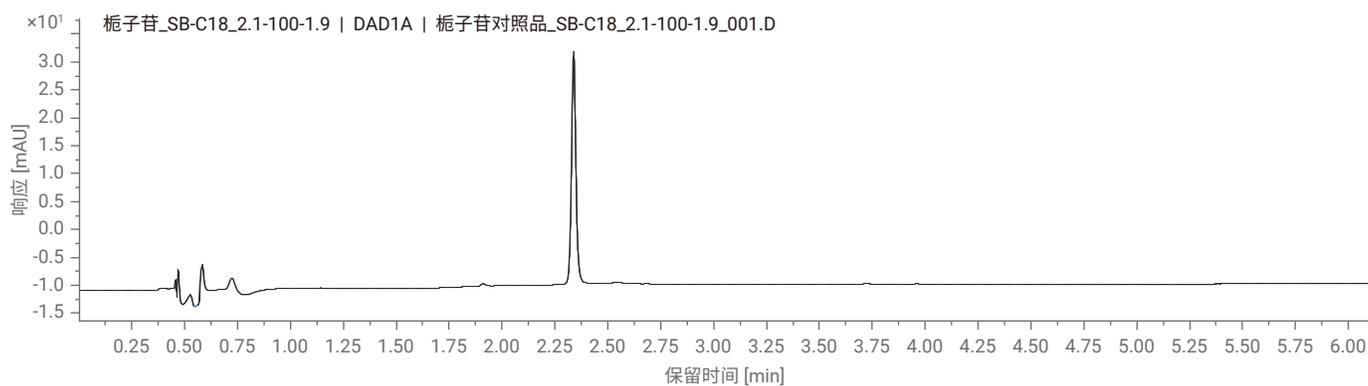
- 转换成 UHPLC 后分析时间由 47 分钟缩短至 8 分钟; 转换后的 UHPLC 可以满足系统适用性及相对保留时间要求
- 由于 0.4% 磷酸 pH 较低, 建议采用耐低 pH 的色谱柱以提高色谱柱寿命

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|---|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm; PN: 518925-902 | Porosehl 120 SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm; PN: 685675-902 |
| 流动相 | MPA: H ₂ O; MPB: ACN | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.5 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 15 25 25 后运行时间: 10 min | 时间 (min) B% 0 15 5 25 后运行时间: 3 min |
| 柱温 | 25 °C | 25 °C |
| 检测器 | 238 nm (4 nm), Ref: off; 采集频率: 5 Hz | 238 nm (4 nm), Ref: off; 采集频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10ul | 0.8 μl |
| 对照品 | 栀子苷, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 栀子苷 | 10.301 | 14734 | 1.04 | 135.79 |

UHPLC 方法

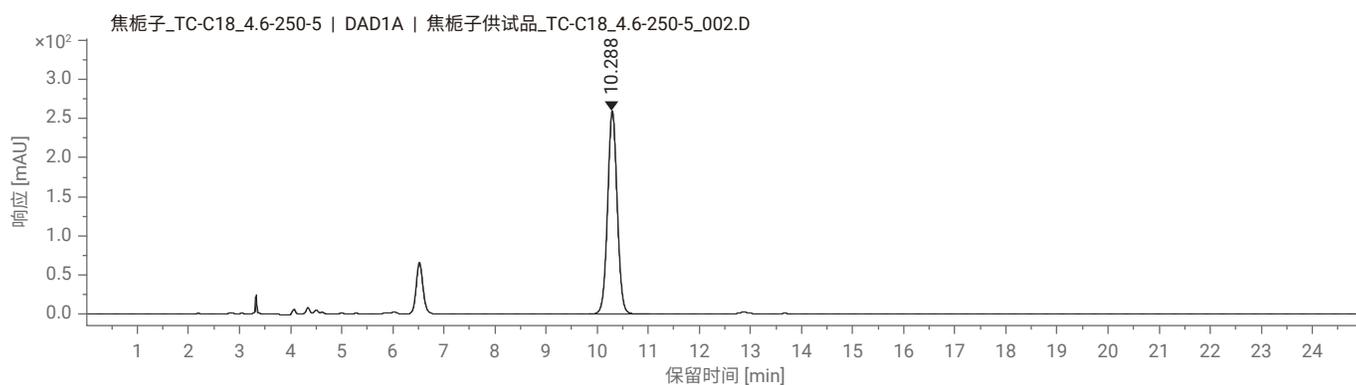
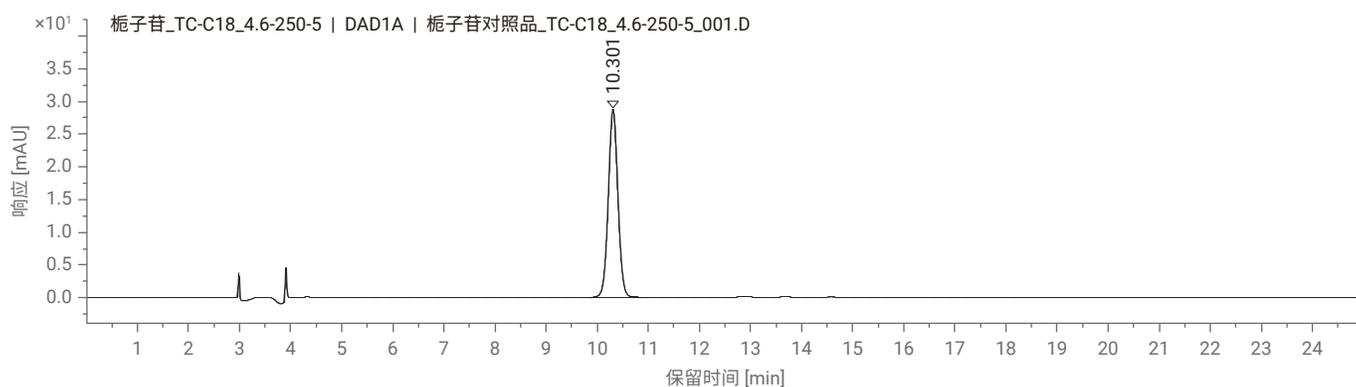
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 栀子苷 | 1.208 | 3371 | 0.98 | 123.14 |

小结及注意事项

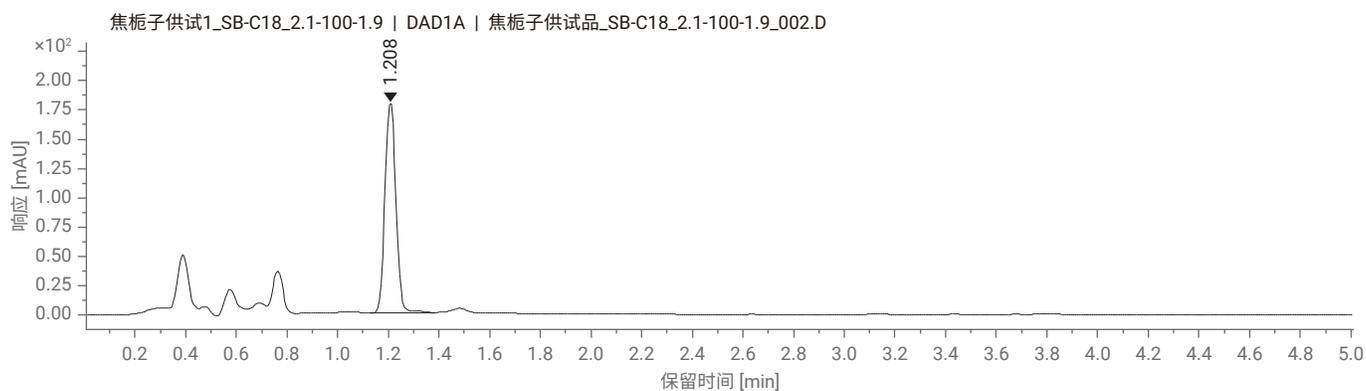
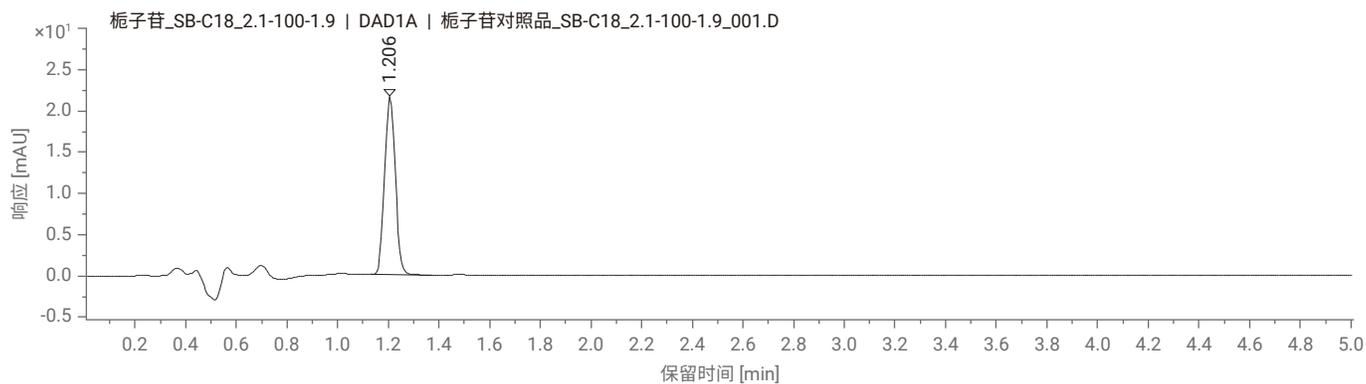
- 特征图谱检测波长切换时间需要根据 4 号峰的实际出峰情况确定, 待 4 号峰出峰后检测波长由 238 nm 切换到 440 nm

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



金钱草配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|----|------------------|--------------------------------------|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | |
| 色谱柱 | Poroshell 120 SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 685675-902 | | | |
| 流动相 | A: 0.2% 磷酸; B: 乙腈 | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.2 ml/min | | 加速方法: 0.4 ml/min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 12 | 0 | 12 |
| | 15 | 15 | 7.5 | 15 |
| | 30 | 35 | 15 | 35 |
| | 30.1 | 12 | 15.1 | 12 |
| | 35 | 12 | 17.5 | 12 |
| 柱温 | 30 °C | | 检测器 | 364 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 1 μl | | | |
| 对照品 | 山奈酚-3-O-(2,6-α-L-二吡喃鼠李糖基-β-D-吡喃葡萄糖苷)、槲皮素、山奈酚, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|--------|------------|--------------------------------------|--------|-----------|-------|--------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 10.84 | | 0.93 | 0.84-1.02 | | | 30960 |
| 2 (S1) | 11.683 | 山奈酚-3-O-(2,6-α-L-二吡喃鼠李糖基-β-D-吡喃葡萄糖苷) | | | 7.23 | >=0.96 | 33612 |
| 3 | 18.469 | | 0.67 | 0.64-0.78 | | | 51444 |
| 4 | 19.991 | 山奈酚-3-O-芸香糖苷 | 0.72 | 0.68-0.83 | 5.24 | >=1.1 | 96260 |
| 5 (S2) | 27.600 | 槲皮素 | | | 1 | 1 | 408280 |
| 6 | 31.465 | 山奈酚 | | | | | 513684 |

加速方法

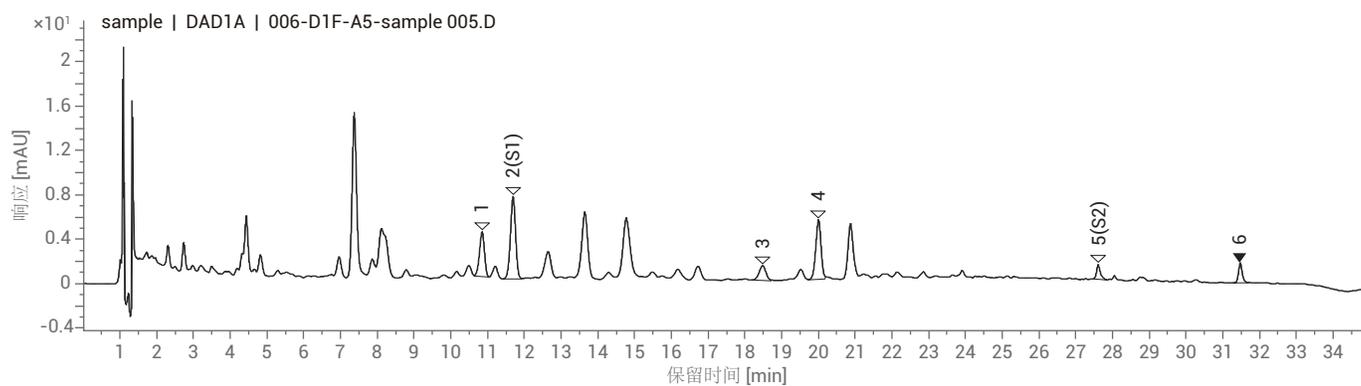
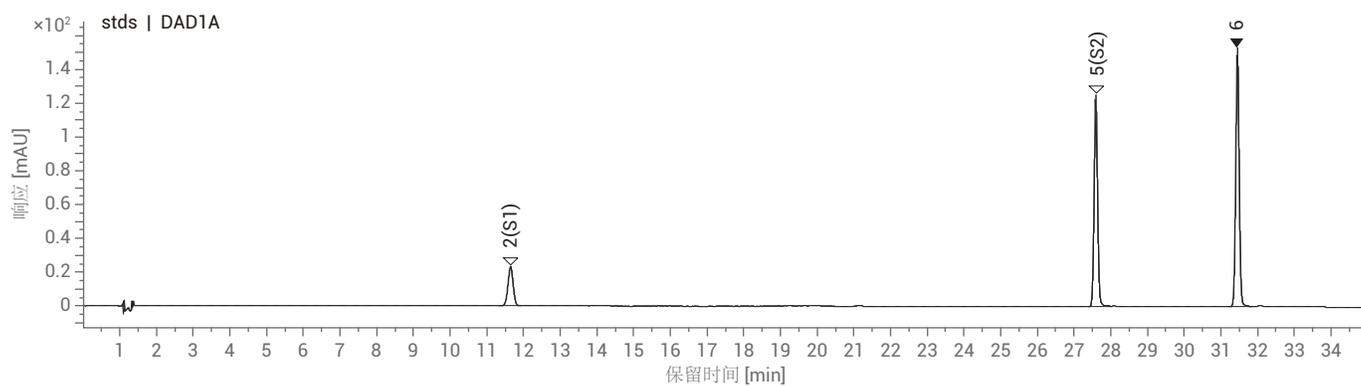
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|--------|------------|--------------------------------------|--------|-----------|-------|--------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 5.420 | | 0.93 | 0.84-1.02 | | | 22090 |
| 2 (S1) | 5.852 | 山奈酚-3-O-(2,6-α-L-二吡喃鼠李糖基-β-D-吡喃葡萄糖苷) | | | 6.0 | >=0.96 | 23860 |
| 3 | 9.104 | | 0.68 | 0.64-0.78 | | | 36315 |
| 4 | 9.839 | 山奈酚-3-O-芸香糖苷 | 0.73 | 0.68-0.83 | 7.27 | >=1.1 | 93262 |
| 5 (S2) | 13.435 | 槲皮素 | | | 1 | 1 | 346680 |
| 6 | 15.361 | 山奈酚 | | | | | 438752 |

小结及注意事项

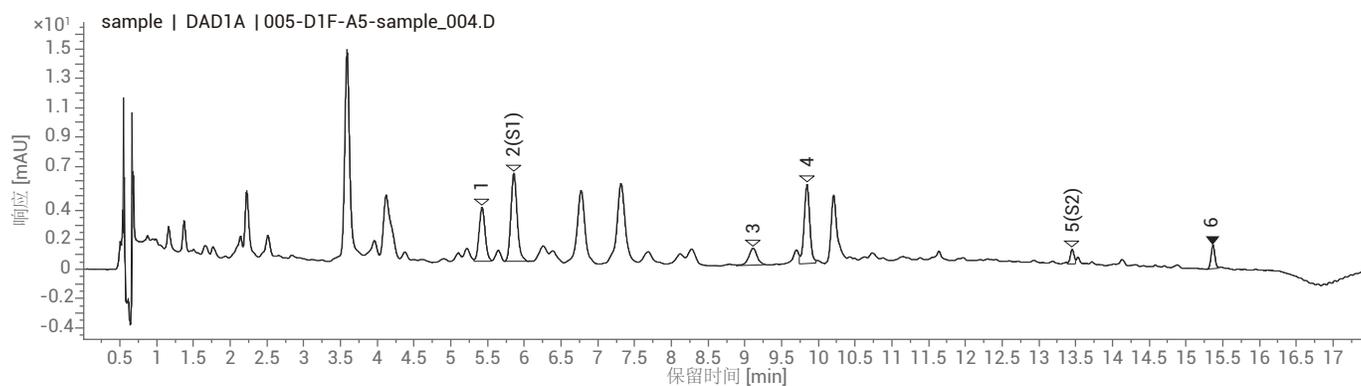
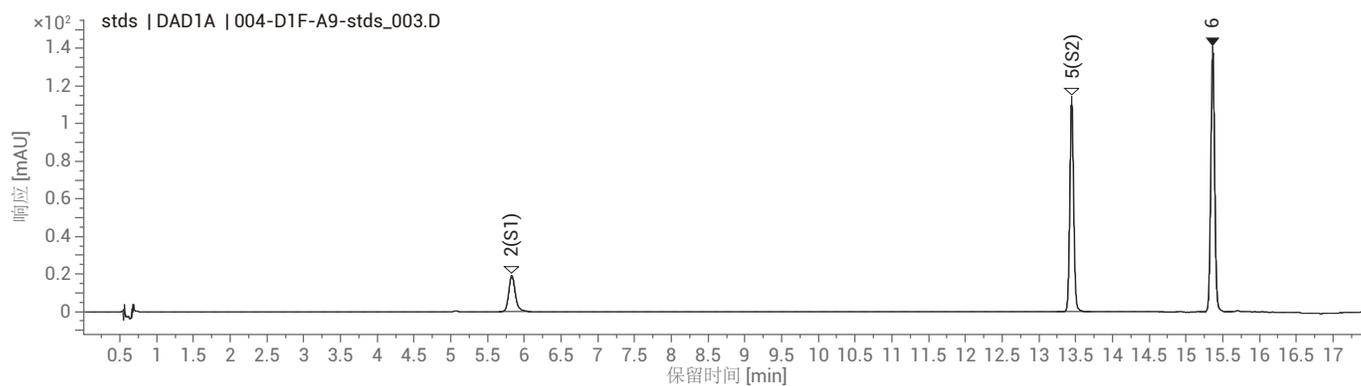
- 原始方法压力最高 246 bar, 加速方法压力最高 470 bar; 加速后分析时间缩短 17.5 分钟 (50%)

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|--|----|---|----|----|----|--|----------|----|---|----|---|----|
| 仪器 | 1260 四元 UHPLC 系统, 包括: 四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7115A) | 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 880975-902 | Poroshell 120 SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 685675-902 | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | A: 0.4% 磷酸水溶液; B: MeOH | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min (原标准流速) | 0.5 ml/ min | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>48</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>48</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 48 | 30 | 48 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>45</td> </tr> <tr> <td>8</td> <td>45</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 45 | 8 | 45 |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 48 | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | 48 | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 45 | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | 45 | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 30 °C | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 360 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz | 360 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 0.8 μl | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 对照品槲皮素、山柰酚, 均由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 总含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|------------|
| 槲皮素 | 13.324 | 11160 | 1.07 | 2.17 |
| 山柰酚 | 23.939 | 14081 | 1.07 | |

UHPLC 方法

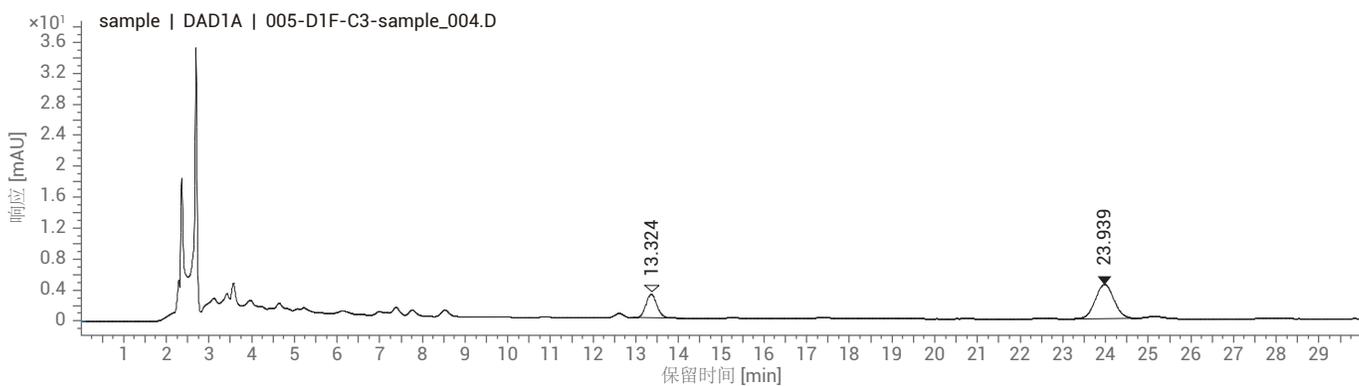
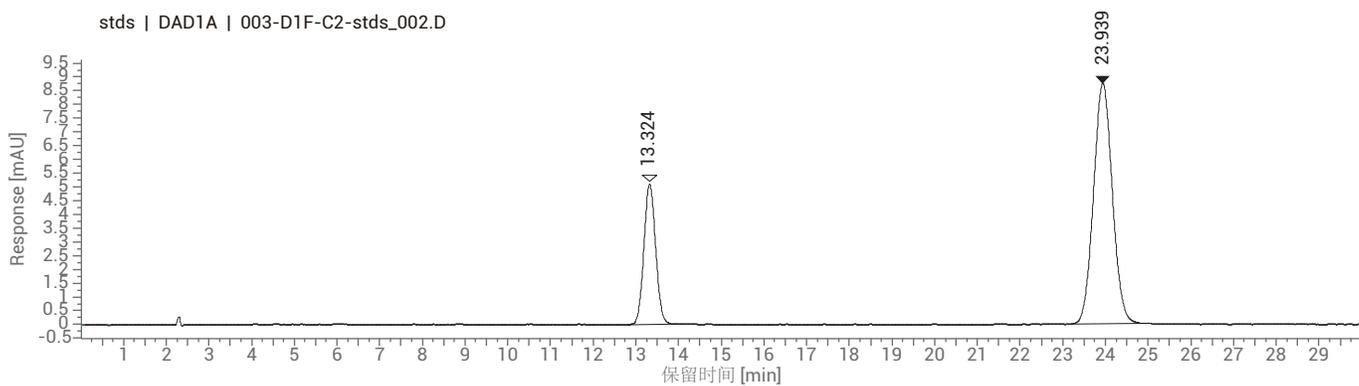
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 总含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|------------|
| 槲皮素 | 2.694 | 8011 | 1.28 | 2.10 |
| 山柰酚 | 4.841 | 11067 | 1.15 | |

小结及注意事项

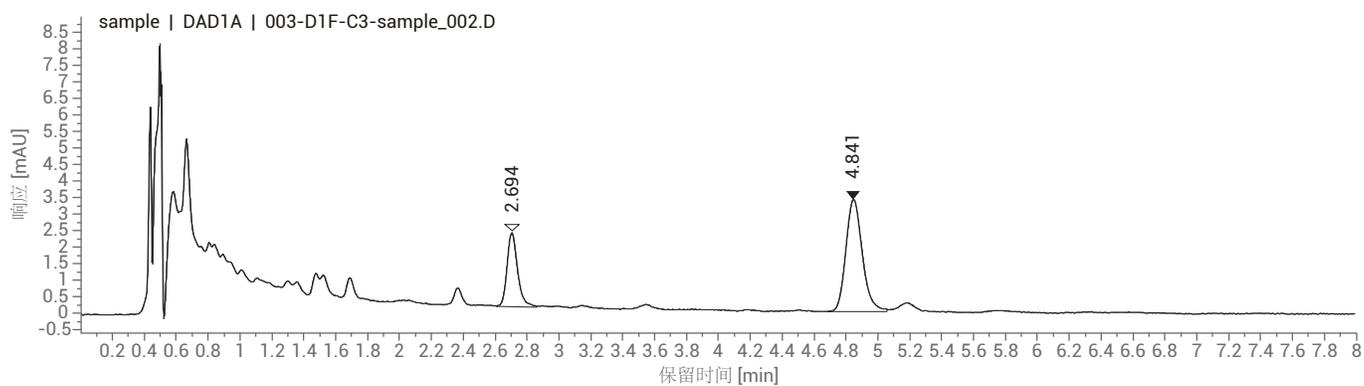
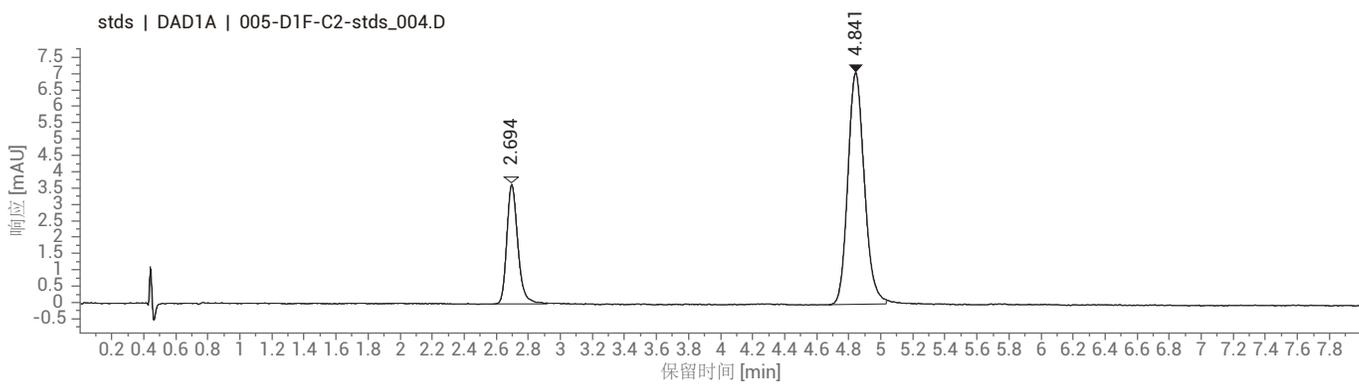
- 按照原方法的 50% 甲醇的流动相, 样品中的含测成分槲皮素和山柰酚都有干扰峰未分开, HPLC 方法降低甲醇比例至 48%, 能使俩成分完全和杂质峰分离, 满足定量需求; 转成 UHPLC 方法后, 甲醇比例调整至 45%, 能使俩成分完全和杂质峰分离, 满足定量需求

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



金银花配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|---|---|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm; PN: 880975-902 | Poroshell 120 SB-C18, 3.0 × 100 mm, 2.7 μm; PN: 685975-302 |
| 流动相 | MPA: 0.4% H ₃ PO ₄ ; MPB: ACN | 柱温 35 °C |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.8 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% | 时间 (min) B% |
| | 0 10 | 0 10 |
| | 15 10 | 3.24 10 |
| | 20 15 | 4.32 15 |
| | 50 20 | 10.80 20 |
| | 55 30 | 11.88 30 |
| | 60 10 | 12.96 10 |
| | Post run 7 min | Post run 2 min |
| 检测器 | 350 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 350 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 对照品溶液 10uL, 供试品溶液 15 uL | 对照品溶液 1.7 uL, 供试品溶液 2.6 uL |
| 对照品 | 绿原酸、木犀草苷、芦丁, 均由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------|------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | | 6.162 | 0.572 | 0.522-0.638 | | | 10734 |
| 2 (S) | 绿原酸 | 10.769 | | | | | 12573 |
| 3 | | 12.248 | 1.137 | 1.035-1.265 | | | 13300 |
| 4 | 芦丁 | 31.333 | | | | | 109042 |
| 5 | 木犀草苷 | 34.064 | | | | | 105643 |
| 6 | | 39.514 | 3.669 | 3.420-4.180 | | | 110322 |
| 7 | | 41.774 | 3.879 | 3.618-4.422 | | | 102792 |
| 8 | | 48.351 | 4.49 | 4.176-5.104 | | | 126488 |

UHPLC 方法

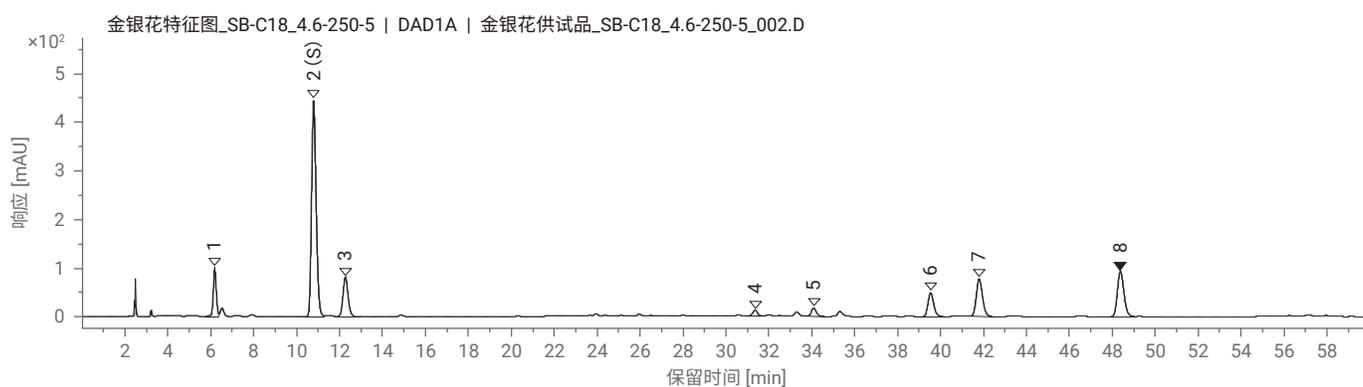
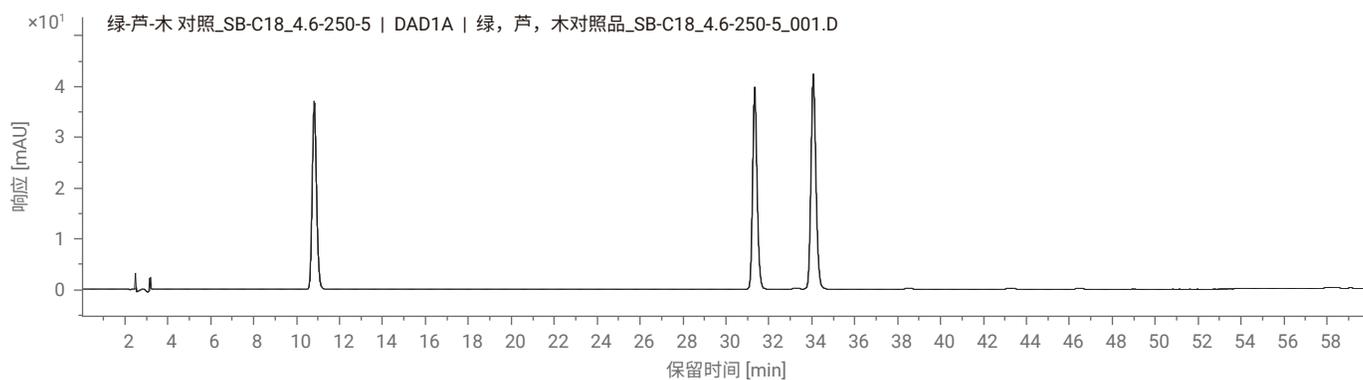
| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------|------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | | 1.377 | | | | | 7810 |
| 2 (S) | 绿原酸 | 2.384 | 0.578 | 0.522-0.638 | | | 11721 |
| 3 | | 2.691 | 1.128 | 1.035-1.265 | | | 12132 |
| 4 | 芦丁 | 8.049 | | | | | 138904 |
| 5 | 木犀草苷 | 8.605 | | | | | 131590 |
| 6 | | 9.823 | 4.119 | 3.420-4.180 | | | 140557 |
| 7 | | 10.224 | 4.288 | 3.618-4.422 | | | 1133621 |
| 8 | | 11.788 | 4.943 | 4.176-5.104 | | | 160901 |

小结及注意事项

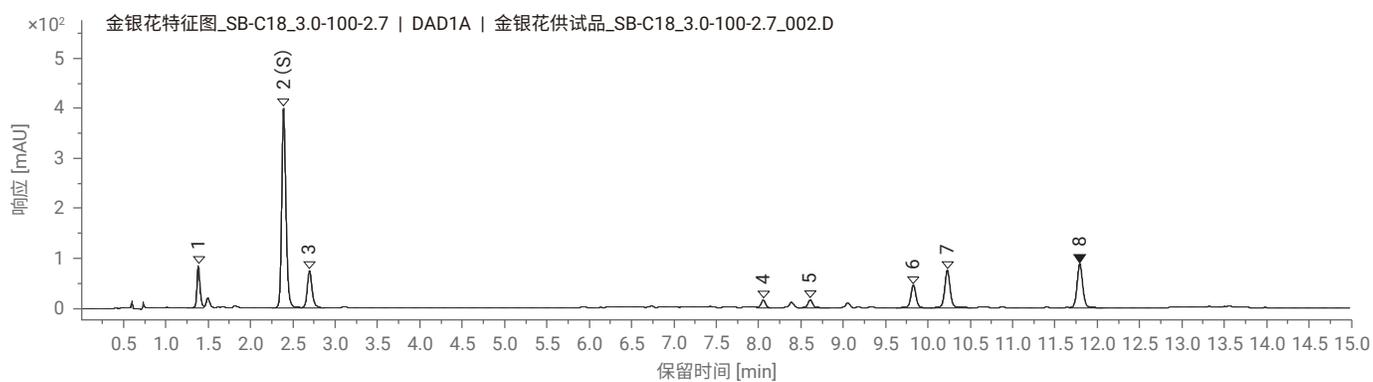
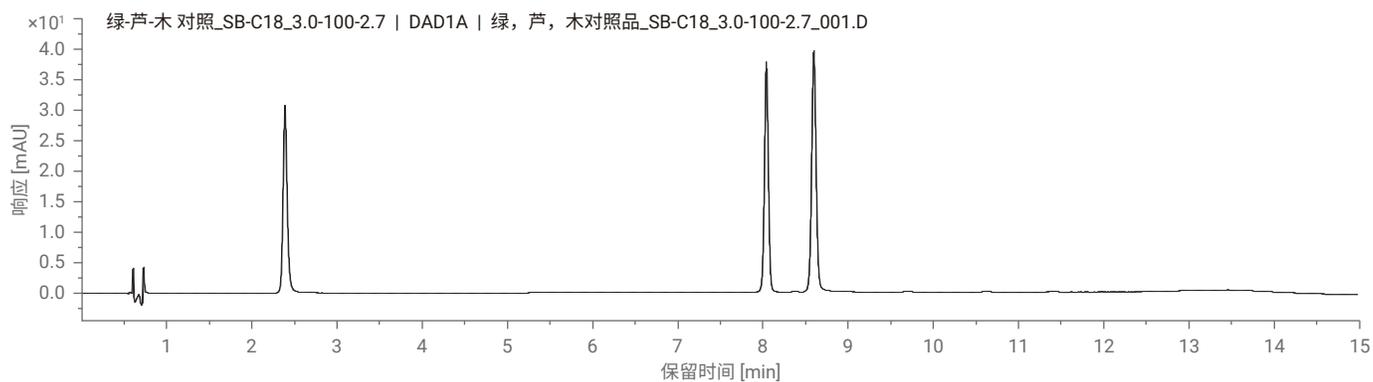
- 原始方法压力最高 130 bar, UHPLC 方法压力最高 306 bar
- 使用 UHPLC 方法后分析时间缩短 52 分钟

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

酚酸类

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|---|----|---|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----------|-------|--|----------|----|---|----|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|----------|---------|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm; PN: 880975-902 | Poroshell 120 SB-C18, 3.0 × 100 mm, 2.7 μm; PN: 685975-302 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1% H ₃ PO ₄ ; MPB: ACN | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 0.7 ml/min | 0.6 ml/min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>14</td></tr> <tr><td>8</td><td>19</td></tr> <tr><td>14</td><td>19</td></tr> <tr><td>34</td><td>31</td></tr> <tr><td>35</td><td>90</td></tr> <tr><td>40</td><td>90</td></tr> <tr><td>Post run</td><td>7 min</td></tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 14 | 8 | 19 | 14 | 19 | 34 | 31 | 35 | 90 | 40 | 90 | Post run | 7 min | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>14</td></tr> <tr><td>1.73</td><td>19</td></tr> <tr><td>3.02</td><td>19</td></tr> <tr><td>7.34</td><td>31</td></tr> <tr><td>7.56</td><td>90</td></tr> <tr><td>8.64</td><td>90</td></tr> <tr><td>Post run</td><td>3.5 min</td></tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 14 | 1.73 | 19 | 3.02 | 19 | 7.34 | 31 | 7.56 | 90 | 8.64 | 90 | Post run | 3.5 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 14 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | 19 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 14 | 19 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 34 | 31 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35 | 90 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | 90 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Post run | 7 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 14 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1.73 | 19 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3.02 | 19 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7.34 | 31 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7.56 | 90 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8.64 | 90 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Post run | 3.5 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 23 °C | 20 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 327 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 327 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 1.7 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 绿原酸, 木犀草苷、芦丁、3,5-二-O-咖啡酰奎宁酸、4,5-二-O-咖啡酰奎宁酸, 均由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|----|----------------|------------|----------|------------|-----------|
| 1 | 绿原酸 | 8.523 | 23028 | 1.16 | 41.66 |
| 2 | 3,5-二-O-咖啡酰奎宁酸 | 26.361 | 101233 | 1.15 | 10.13 |
| 3 | 4,5-二-O-咖啡酰奎宁酸 | 28.749 | 155384 | 1.16 | 7.90 |
| 总量 | | | | | 59.69 |

UHPLC 方法

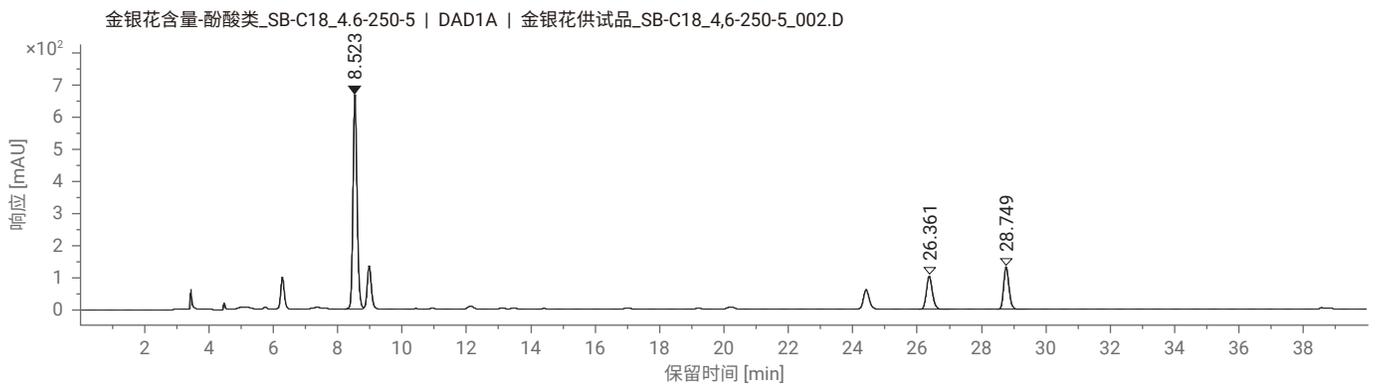
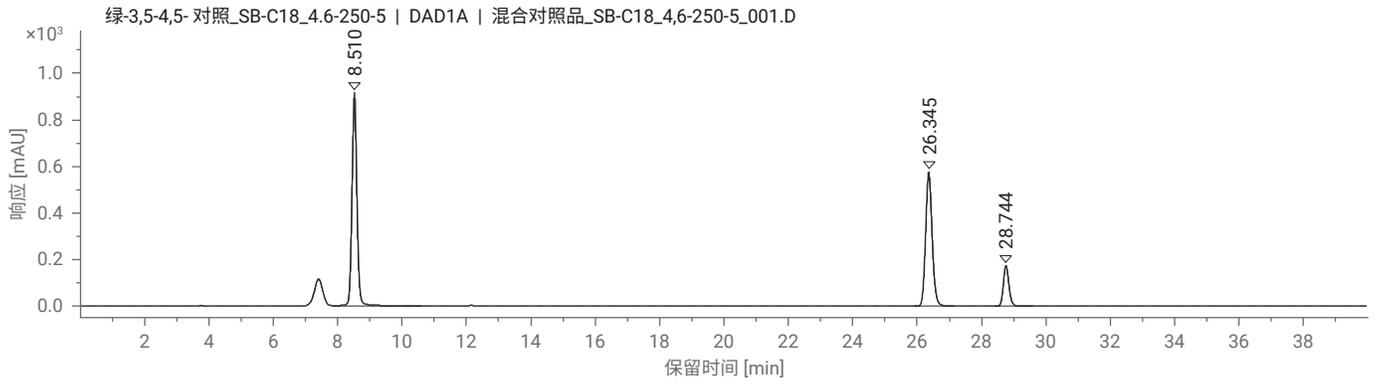
| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|----|----------------|------------|----------|------------|-----------|
| 1 | 绿原酸 | 2.027 | 9452 | 1.29 | 36.20 |
| 2 | 3,5-二-O-咖啡酰奎宁酸 | 7.164 | 140407 | 1.02 | 11.18 |
| 3 | 4,5-二-O-咖啡酰奎宁酸 | 7.803 | 206218 | 1.08 | 8.47 |
| 总量 | | | | | 55.85 |

小结及注意事项

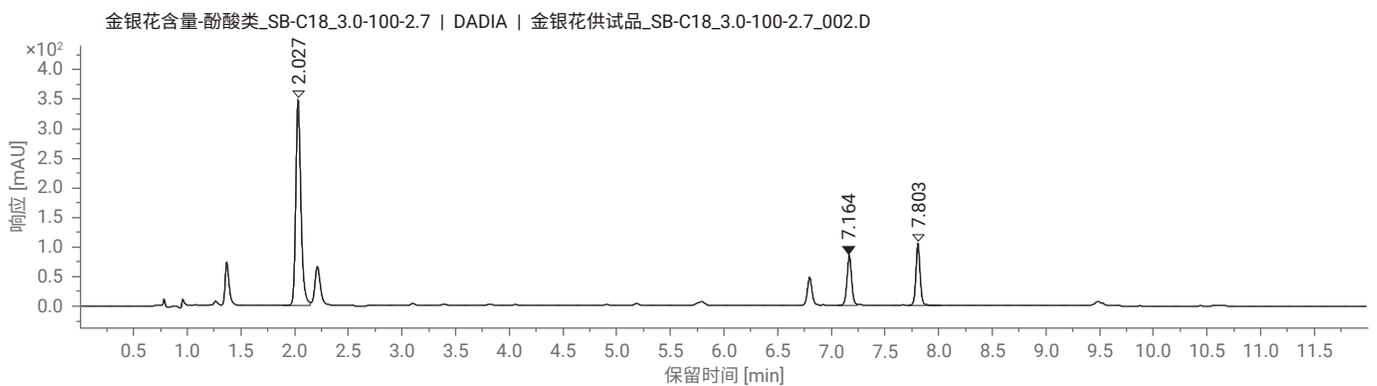
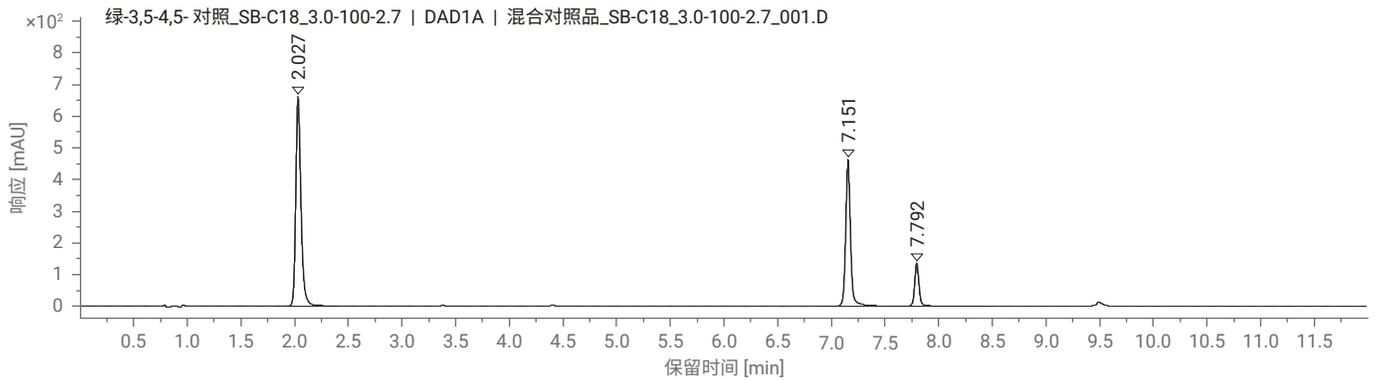
- 转换成 UHPLC 方法后分析时间由 47 分钟缩短至 12 分钟

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



木犀草苷

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|---|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-Phenyl, 4.6 × 250 mm, 5 µm; PN: 880975-912 | ZORBAX RRHD SB-Phenyl, 3 × 100 mm, 1.8 µm; PN: 858700-312 |
| 流动相 | MPA: 0.3% H ₃ PO ₄ ; MPB: ACN | |
| 流速 | 1 ml/ min | 0.6 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 10 15 20 30 20 40 30 Post run 7 min | 时间 (min) B% 0 10 4.32 20 8.64 20 11.52 30 Post run 3 min |
| 柱温 | 25 °C | 20 °C |
| 检测器 | 350 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 350 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 µl | 1.7 µl |
| 对照品 | 木犀草苷, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 木犀草苷 | 22.050 | 64088 | 1.13 | 0.62 |

UHPLC 方法

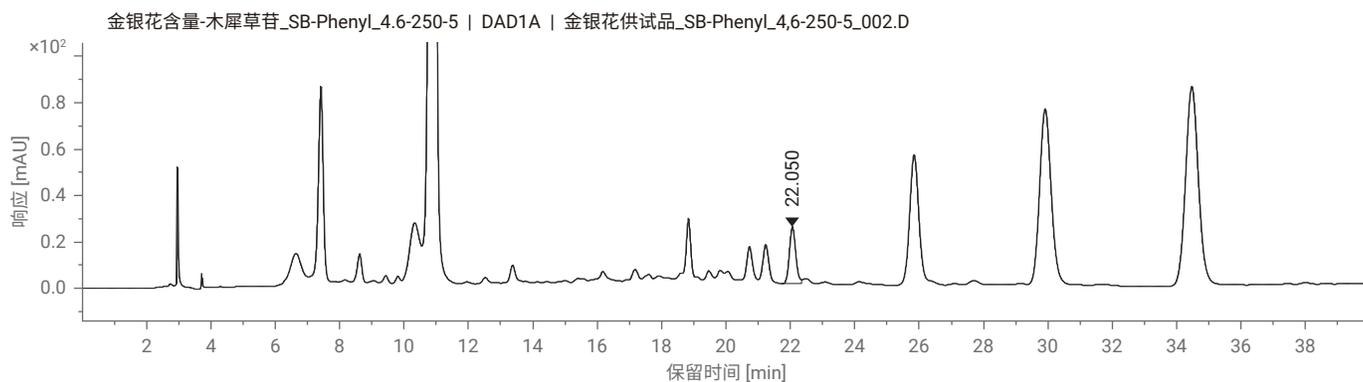
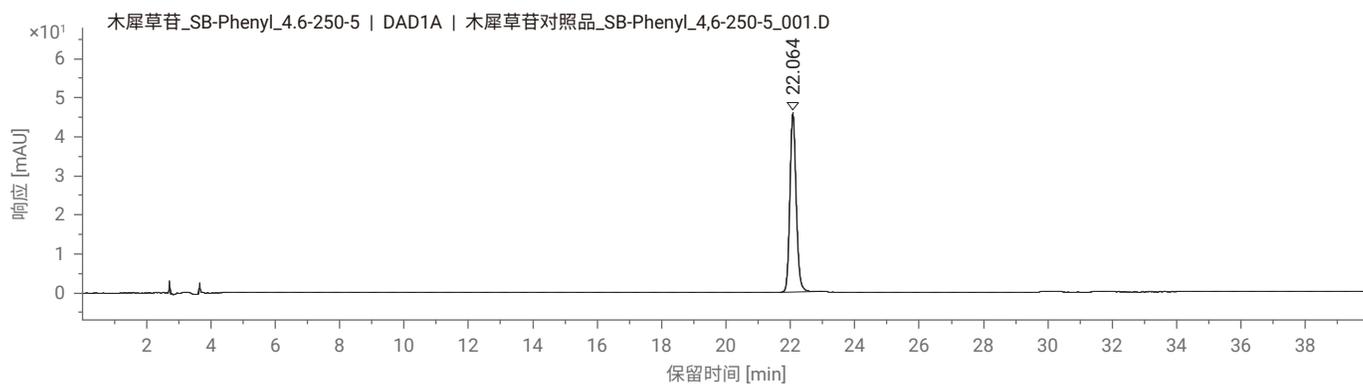
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 木犀草苷 | 8.622 | 86075 | 1.04 | 0.63 |

小结及注意事项

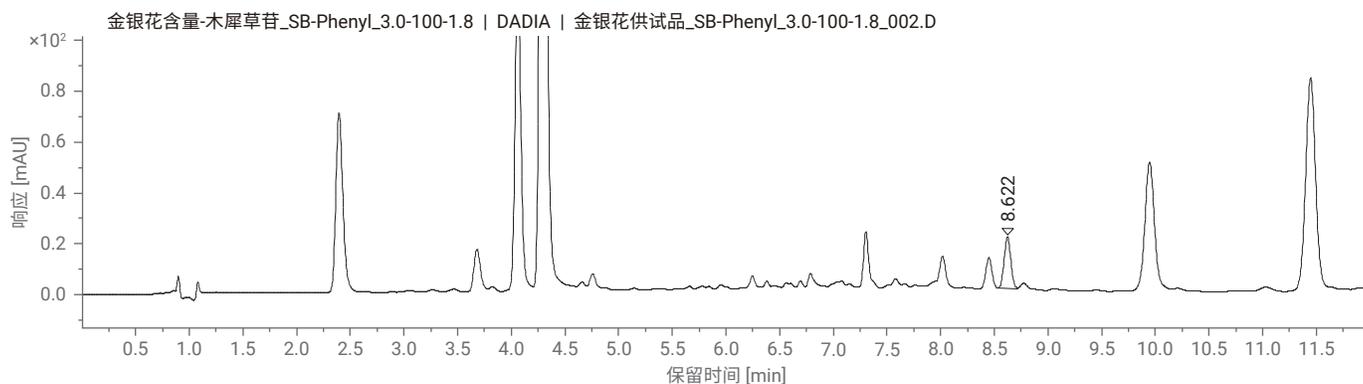
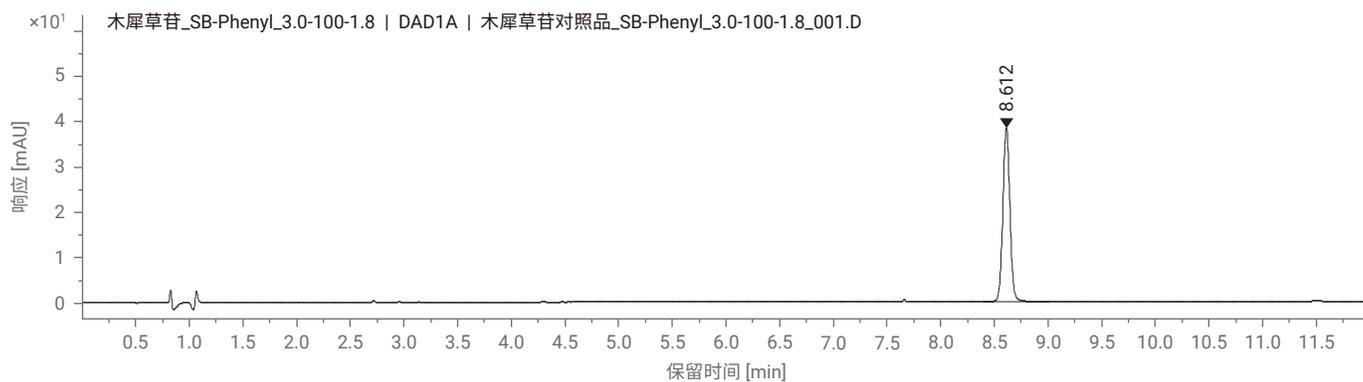
- 转换成 UHPLC 方法分析时间由 47 分钟缩短至 15 分钟

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



酒丹参配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|--|
| 仪器 | 1260 二元系统, 包含二元泵(G1312B), 自动进样器 (G1367E), 柱温箱 (G1316A), DAD (G4212A) | 1290 二元系统, 包含 1290 高速泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 518925-902 | ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959764-902 |
| 流动相 | MPA: 0.4% H_3PO_4 ; MPB: Acetonitrile | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0~22 5→22 22~55 15→20 后运行时间: 10 min | 时间 (min) B% 0~3.17 5→22 3.17~7.92 15→20 后运行时间: 3 min |
| 柱温 | 40 °C | 35 °C |
| 检测器 | 286 nm (4 nm) Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz | |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl |
| 对照品 | 丹酚酸 B, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 7.406 | | 0.192 | 0.160~0.188 | | | 15340 |
| 2 | 9.185 | | 0.239 | 0.211~0.247 | | | 21081 |
| 3 | 9.962 | 丹参素钠 | 0.259 | 0.240~0.282 | | | 28064 |
| 4 | 14.845 | 原儿茶醛 | 0.386 | 0.347~0.407 | | | 51923 |
| 5 | 18.256 | | 0.474 | 0.453~0.531 | | | 96505 |
| 6 | 29.365 | | 0.763 | 0.713~0.837 | | | 203179 |
| 7 | 33.401 | 迷迭香酸 | 0.868 | 0.803~0.943 | | | 154484 |
| 8 (S) | 38.484 | 丹酚酸 B | | | | | 156613 |

UHPLC 方法

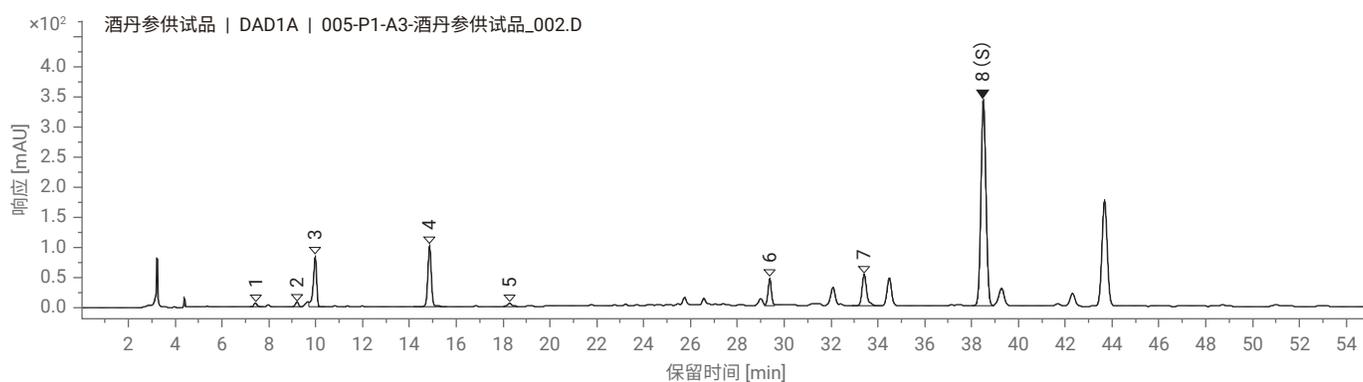
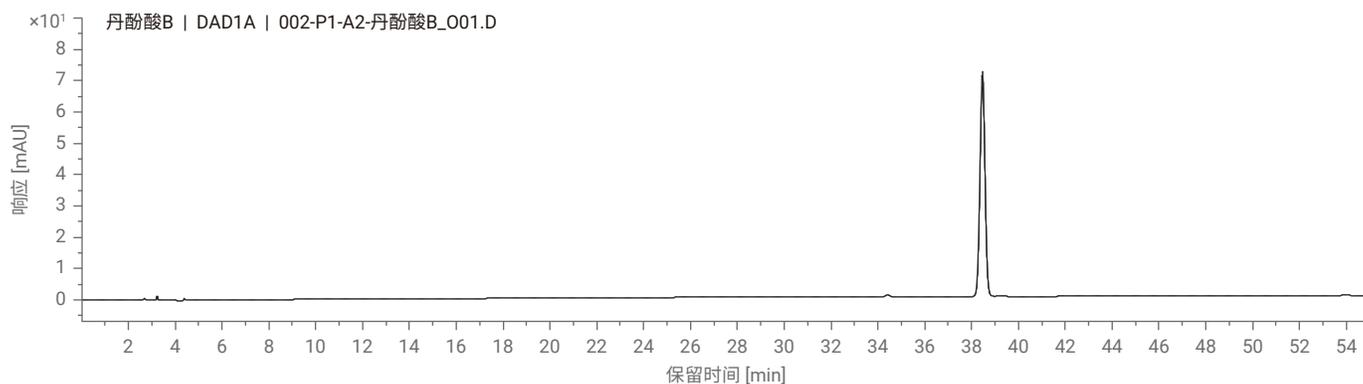
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 0.843 | | 0.164 | 0.160~0.188 | | | 0.72 |
| 2 | 1.053 | | 0.205 | 0.211~0.247 | | | 1.19 |
| 3 | 1.161 | 丹参素钠 | 0.226 | 0.240~0.282 | | | 1.34 |
| 4 | 1.756 | 原儿茶醛 | 0.341 | 0.347~0.407 | | | 1.16 |
| 5 | 2.254 | | 0.438 | 0.453~0.531 | | | 0.99 |
| 6 | 3.954 | | 0.769 | 0.713~0.837 | | | 1.05 |
| 7 | 4.404 | 迷迭香酸 | 0.856 | 0.803~0.943 | | | 1.13 |
| 8 (S) | 5.144 | 丹酚酸 B | | | | | 1.24 |

小结及注意事项

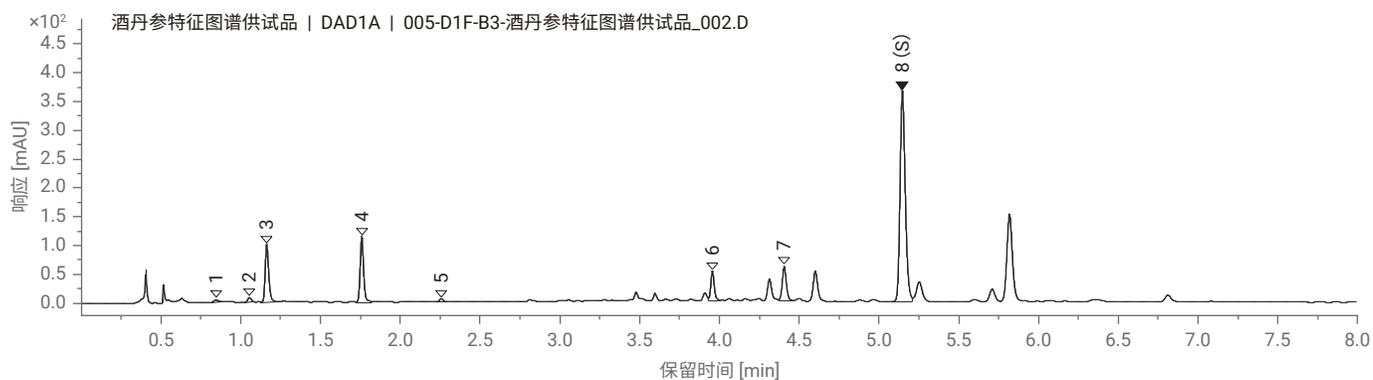
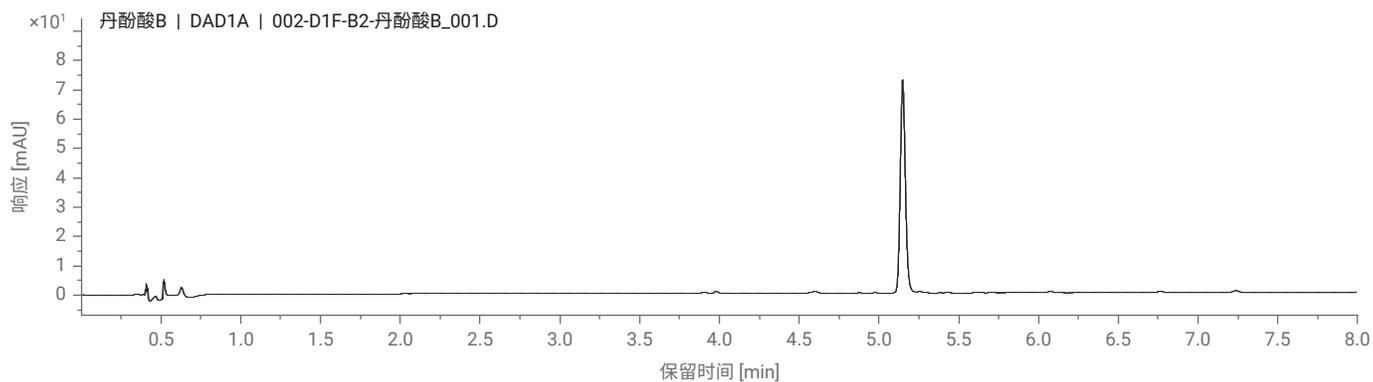
- 原始方法压力最高 120 bar, UHPLC 方法压力最高 675 bar; 使用 UHPLC 方法后分析时间缩短 47 分钟

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|---|---|
| 仪器 | 1260 二元系统, 包含二元泵(G1312B), 自动进样器 (G1367E), 柱温箱 (G1316A), DAD (G4212A) | 1290 二元系统, 包含 1290 高速泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 518925-902 | Poroshell SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 685675-902 |
| 流动相 | MPA: 0.4%H ₃ PO ₄ ; MPB: Acetonitrile | |
| 流速 | 1.0 ml/ min (原标准流速) | 0.5 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 22 45 22 | 时间 (min) B% 0 22 5 22 |
| 柱温 | 40 °C | 35 °C (根据压力情况, 可适当提高) |
| 检测器 | 286 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz | 286 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl |
| 对照品 | 丹酚酸 B, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-------|------------|----------|------------|-----------|
| 丹酚酸 B | 25.005 | 14625 | 1 | 25.7 |

UHPLC 方法

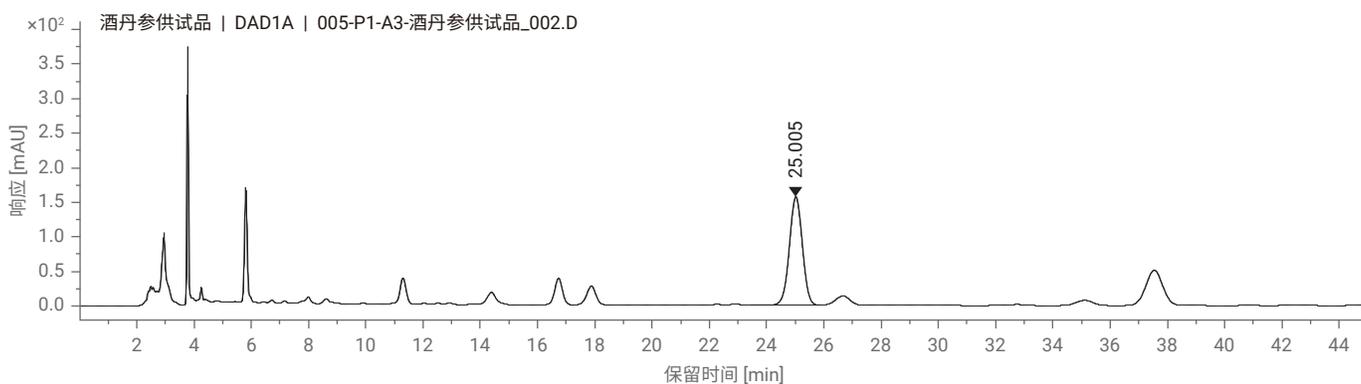
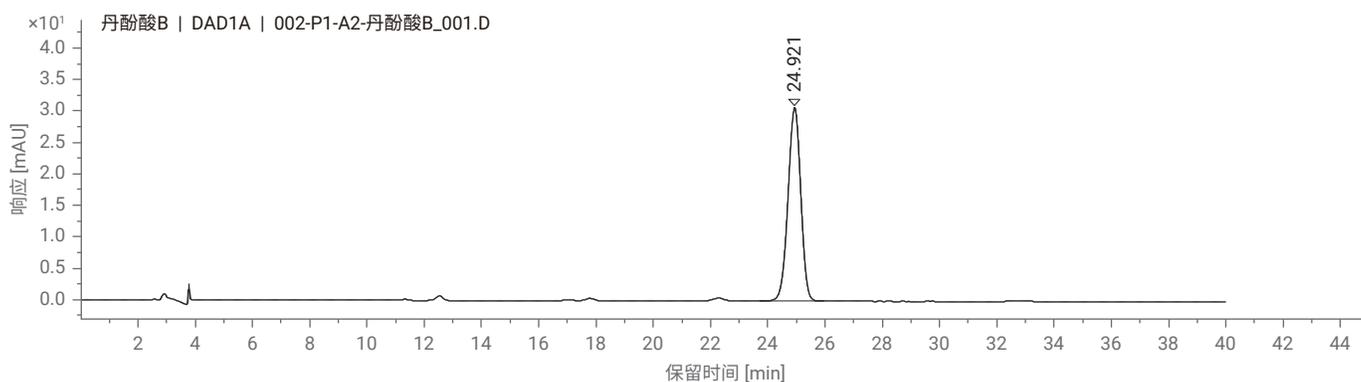
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-------|------------|----------|------------|-----------|
| 丹酚酸 B | 3.166 | 12995 | 1 | 25.3 |

小结及注意事项

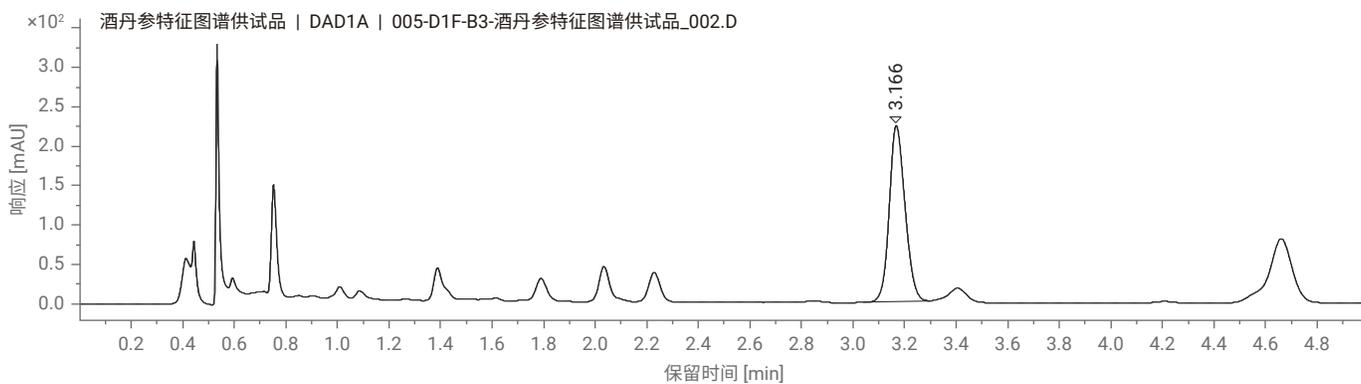
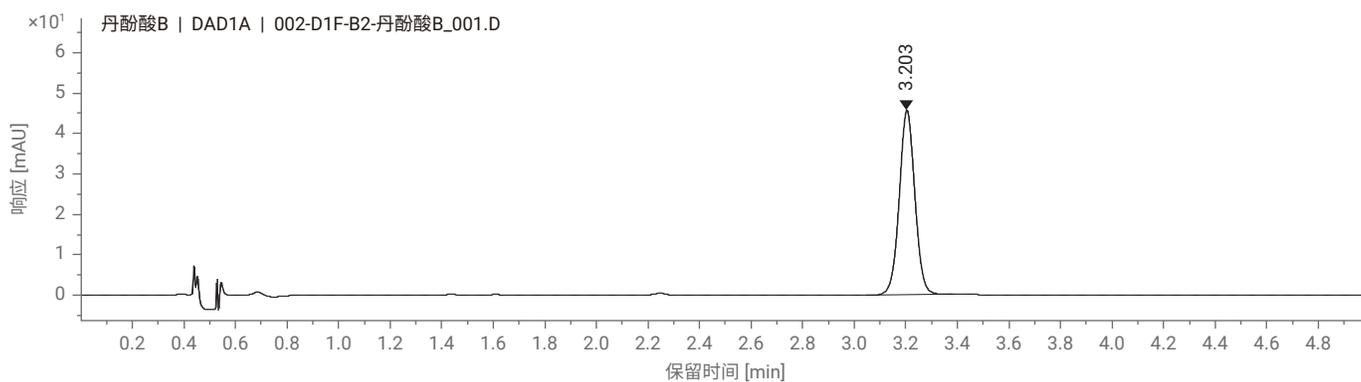
- 原始方法压力最高 120 bar, UHPLC 方法压力最高 642 bar
- 转换成 UHPLC 方法后, 分析时间由 45 分钟缩短至 5 分钟

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



苦杏仁（西伯利亚杏） 配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|---|----|---|---|----|---|---|----------|----|---|---|----|---|
| 仪器 | 1260 二元系统, 包含二元泵(G1312B), 自动进样器 (G1367E), 柱温箱 (G1316A), DAD (G4212A) | 1290 四元系统, 包含四元泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN 880975-902 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN 858700-902 | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1% H ₃ PO ₄ ; MPB: ACN | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min (原标准流速未规定) | 0.5 ml/ min | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>4</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 4 | 60 | 4 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>4</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 4 | 10 | 4 |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 4 | | | | | | | | | | | | | |
| 60 | 4 | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 4 | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 4 | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 25 °C | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 207 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 207 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 苦杏仁苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|--------|--------|-------------|-------|-----------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 10.752 | | 0.271 | | 0.41 | ≥0.080 | 15500 |
| 2 | 18.609 | | 0.470 | 0.045-0.550 | | | 8938 |
| 3 | 29.116 | | 0.735 | 0.639-0.781 | | | 13806 |
| 4 | 37.545 | L-苦杏仁苷 | 0.947 | 0.855-1.045 | 1.14 | 0.40~1.50 | 14260 |
| 5 (S) | 39.631 | 苦杏仁苷 | | | | | 14549 |

UHPLC 方法

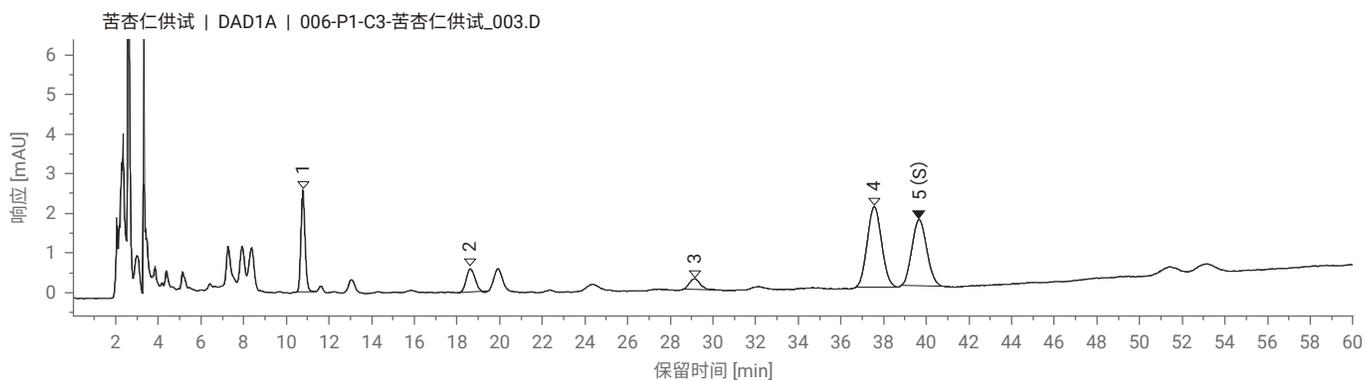
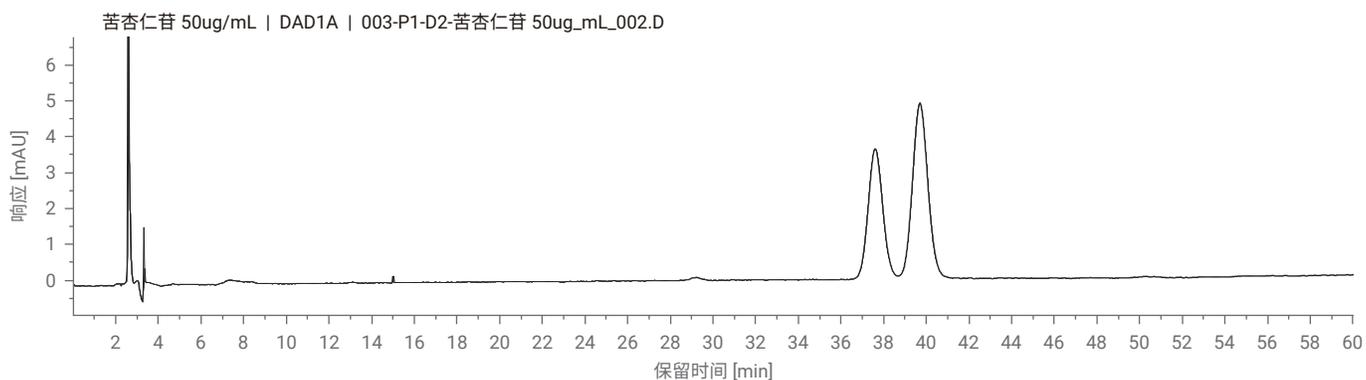
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|--------|--------|-------------|-------|-----------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.055 | | 0.269 | | 0.38 | ≥0.080 | 14316 |
| 2 | 3.532 | | 0.462 | 0.045-0.550 | | | 14809 |
| 3 | 5.788 | | 0.757 | 0.639-0.781 | | | 14879 |
| 4 | 7.256 | L-苦杏仁苷 | 0.949 | 0.855-1.045 | 1.13 | 0.40~1.50 | 16404 |
| 5 (S) | 7.646 | 苦杏仁苷 | | | | | 16926 |

小结及注意事项

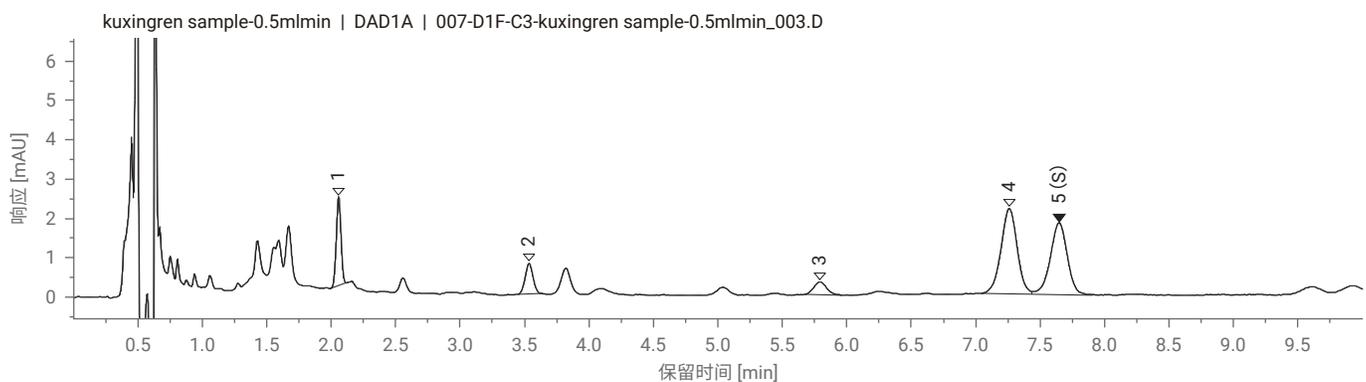
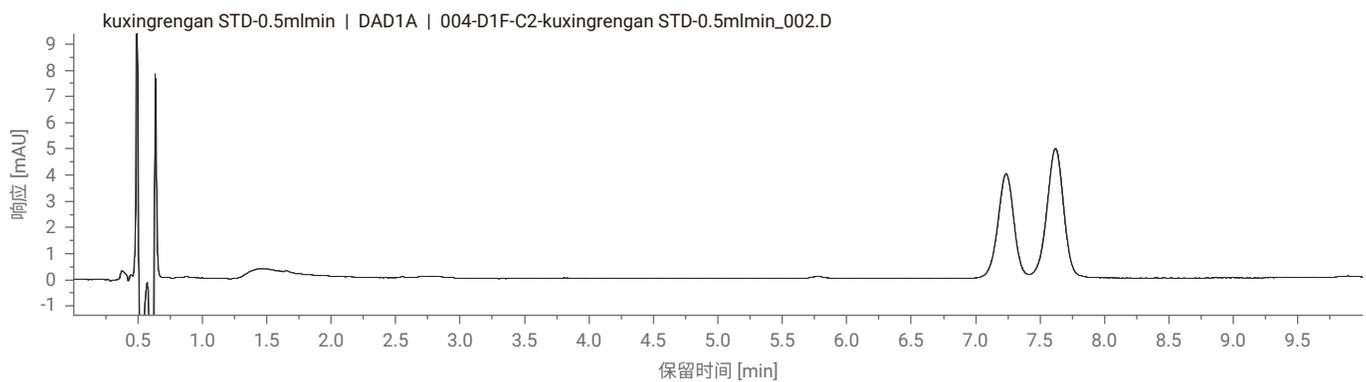
- UHPLC 方法压力最高 740 bar
- 苦杏仁苷溶液放置久后发生构型转换, 注意溶液保存时间

特征图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|---|
| 仪器 | 1260 二元系统, 包含二元泵(G1312B), 自动进样器 (G1367E), 柱温箱 (G1316A), DAD (G4212A) | 1290 四元系统, 包含四元泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN 880975-902 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN 858700-902 |
| 流动相 | MPA: 0.1%H ₃ PO ₄ ; MPB: ACN | |
| 流速 | 1.0 ml/ min (原标准流速未规定) | 0.5 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 4 60 4 | 时间 (min) B% 0 4 10 4 |
| 柱温 | 25 °C | |
| 检测器 | 207 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 207 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl |
| 对照品 | 苦杏仁苷, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 苦杏仁苷 | 39.594 | 15390 | 1.07 | 26.74 |

UHPLC 方法

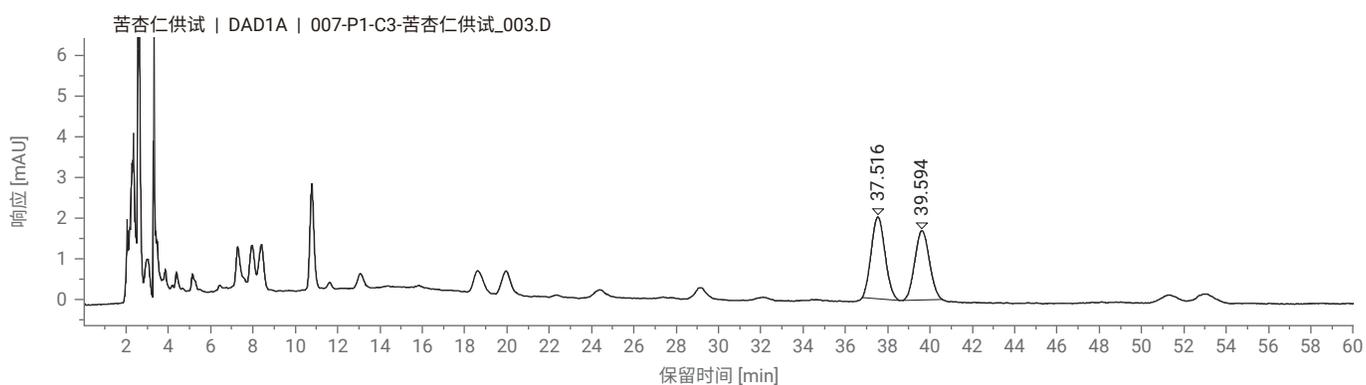
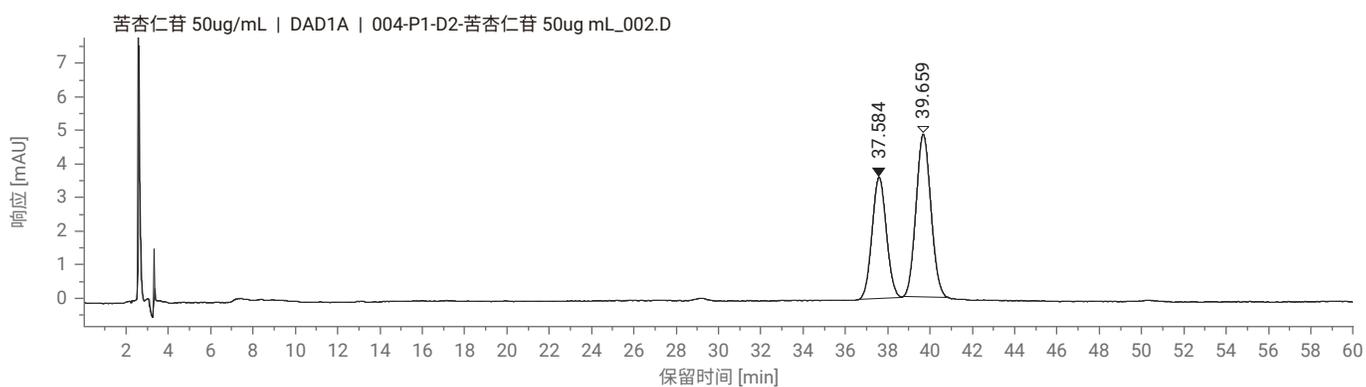
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 苦杏仁苷 | 7.646 | 16724 | 0.93 | 29.18 |

小结及注意事项

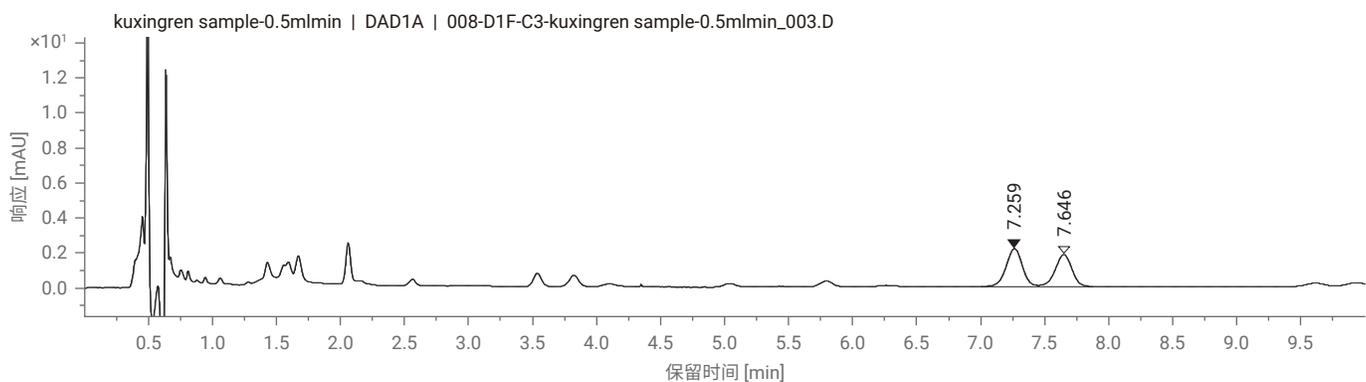
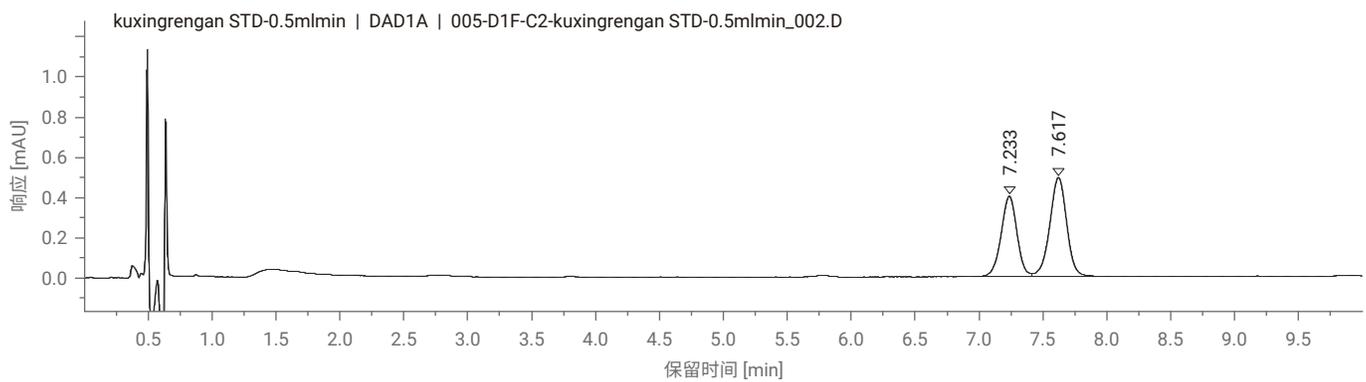
- UPLC 方法压力最高 740 bar
- HPLC 转换到 UPLC 方法后, 分析时间缩短 50 分钟

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



龙胆（龙胆）配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|--|
| 仪器 | 1260 二元系统, 包括: 二元泵(G1312B), 自动进样器 (G1367E), 柱温箱 (G1316A), DAD (G4212A) | 1290 II 二元 UPLC 系统, 包括: 高速泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 990967-902 | ZORBAX RRHD Eclipse XDB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN 981758-902 |
| 流动相 | MPA: 0.1% 醋酸; MPB: Acetonitrile | 柱温 30 °C |
| 流速 | 0.8 ml/ min | 0.5 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0~12 5→11 12~30 11 30~70 11→70 70~75 70 后运行时间: 10 min | 时间 (min) B% 0~12 5→11 12~30 11 30~70 11→70 70~75 70 后运行时间: 3 min |
| 检测器 | 240 nm (4 nm) Ref: off; 采样频率: 10 Hz | 240 nm (4 nm) Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl |
| 对照品 | 马钱苷酸、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷, 均由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-------------|-------|-------------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 15.380 | 马钱苷酸 | | | 0.242 | 0.105~0.429 | 63785 |
| 2 | 20.427 | 獐牙菜苦苷 | | | | | 32910 |
| 3 (S) | 25.728 | 龙胆苦苷 | | | | | 31414 |
| 4 | 27.766 | | 1.079 | 0.963~1.177 | | | 21737 |
| 5 | 51.736 | | 2.011 | 1.962~2.398 | | | 644565 |
| 6 | 53.090 | | 2.064 | 2.016~2.464 | 0.096 | 0.039~0.156 | 1215672 |

UHPLC 方法

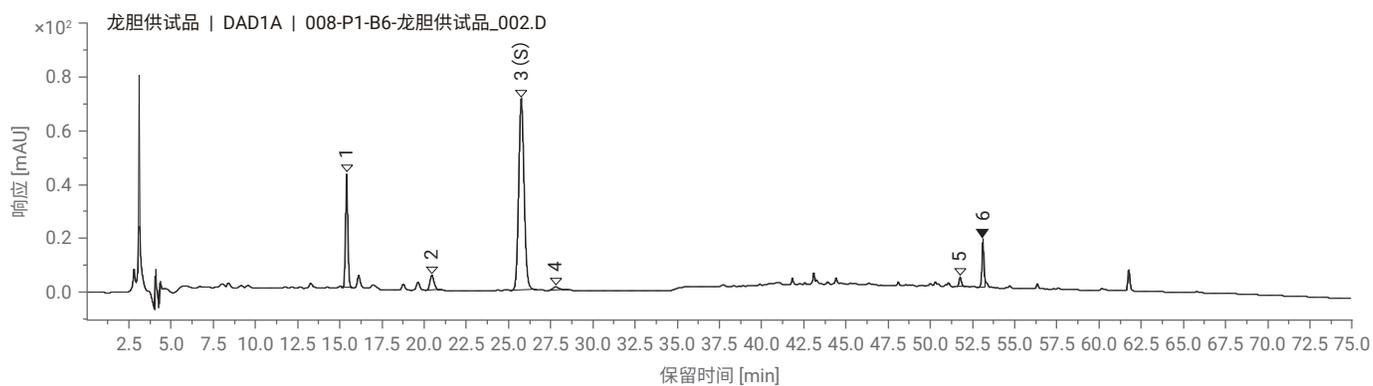
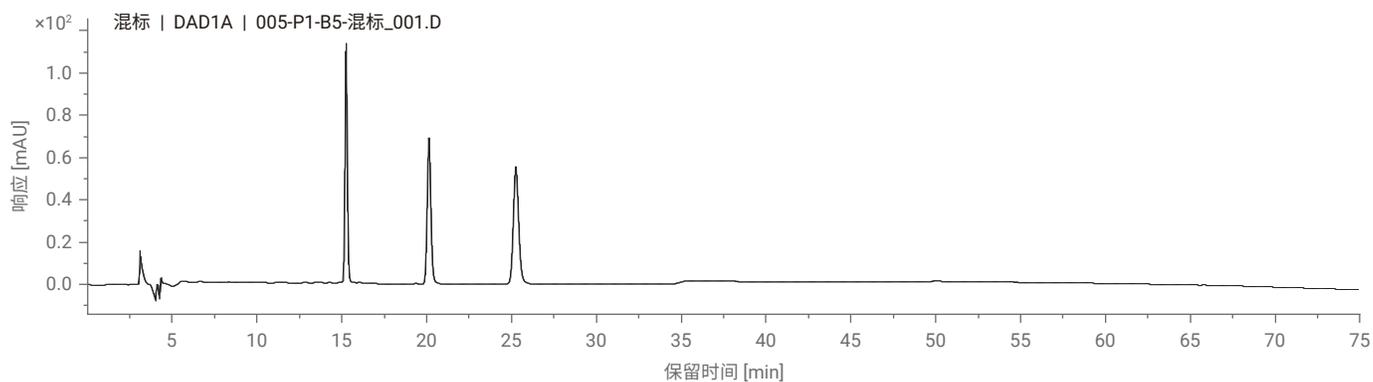
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-----|--------|-------------|-------|-------------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.285 | | | | 0.245 | 0.105~0.429 | 55741 |
| 2 | 3.057 | | | | | | 29827 |
| 3 (S) | 3.808 | | | | | | 32965 |
| 4 | 4.123 | | 1.083 | 0.963-1.177 | | | 17513 |
| 5 | 7.604 | | 1.997 | 1.962-2.398 | | | 682345 |
| 6 | 7.807 | | 2.050 | 2.016-2.464 | 0.094 | 0.039-0.156 | 844208 |

小结及注意事项

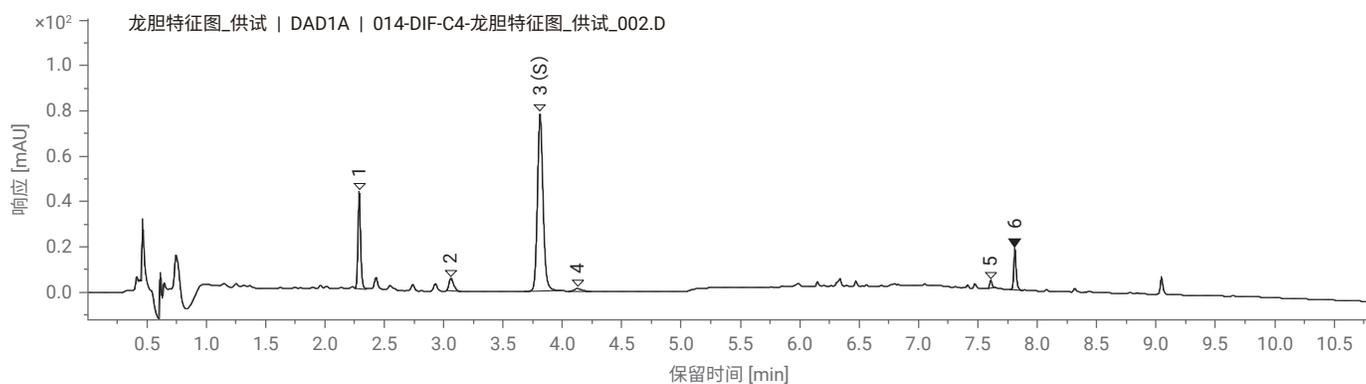
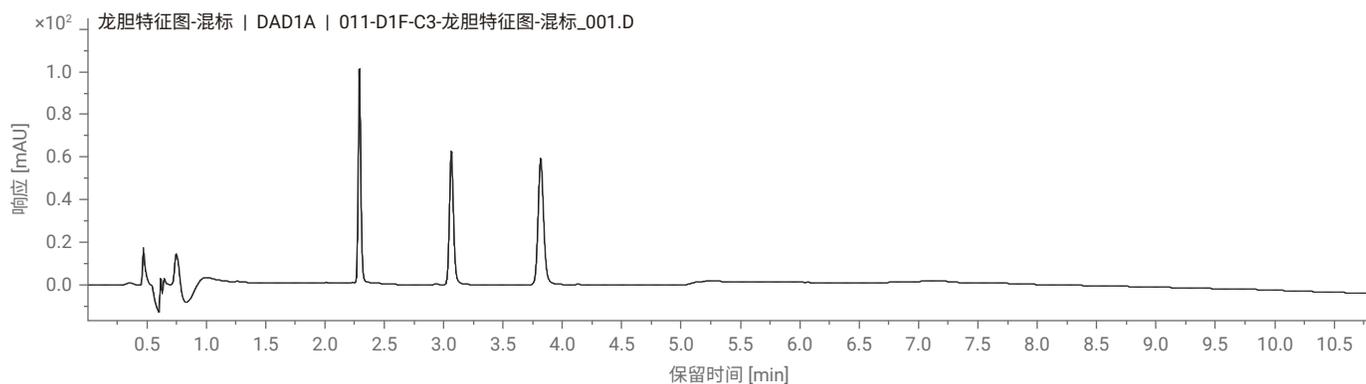
- UPLC 方法压力最高 590 bar
- HPLC 转换到 UPLC 方法后, 分析时间由 75 分钟缩短 12 分钟

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | UHPLC 方法 | UHPLC 加速方法 |
|-------|--|--|
| 仪器 | 1290 II 二元 UPLC 系统, 包括: 高速泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | 1290 II 二元 UPLC 系统, 包括: 高速泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD Eclipse XDB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN 981758-902 | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O; MPB: MeOH | |
| 流速 | 0.4 ml/ min | 0.6 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 23 8 23 | 时间 (min) B% 0 23 6 23 |
| 柱温 | 30 °C | 30 °C |
| 检测器 | 270 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | |
| 进样量 | 1 μl | 1 μl |
| 对照品 | 龙胆苦苷 由诗丹德提供 | |

系统适用性

UHPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 龙胆苦苷 | 3.253 | 7377 | 1.18 | 65.70 |

UHPLC 加速方法

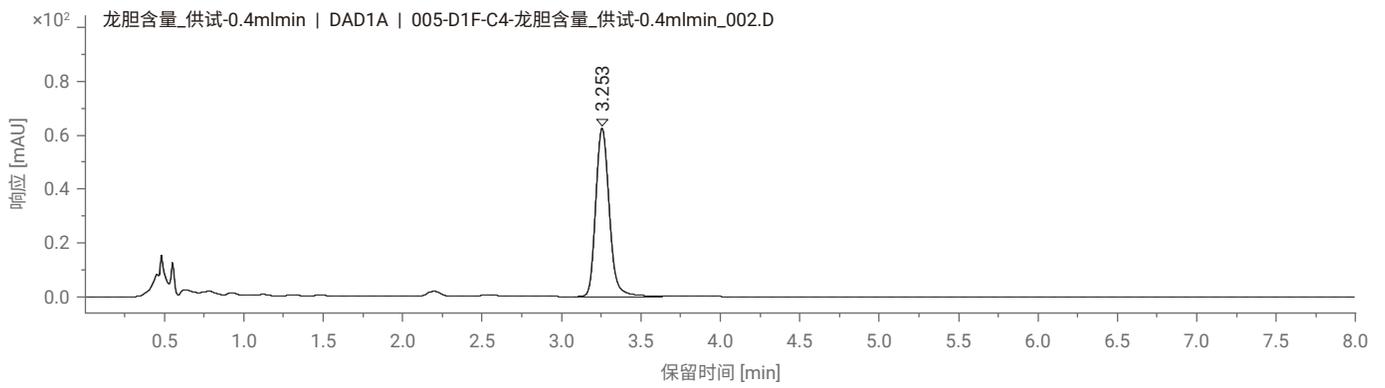
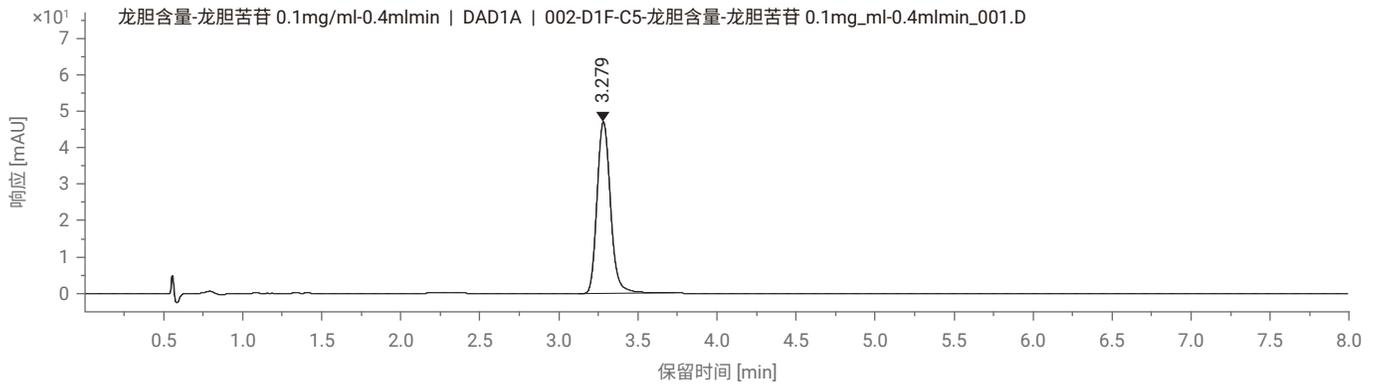
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 龙胆苦苷 | 2.173 | 6539 | 1.18 | 65.71 |

小结及注意事项

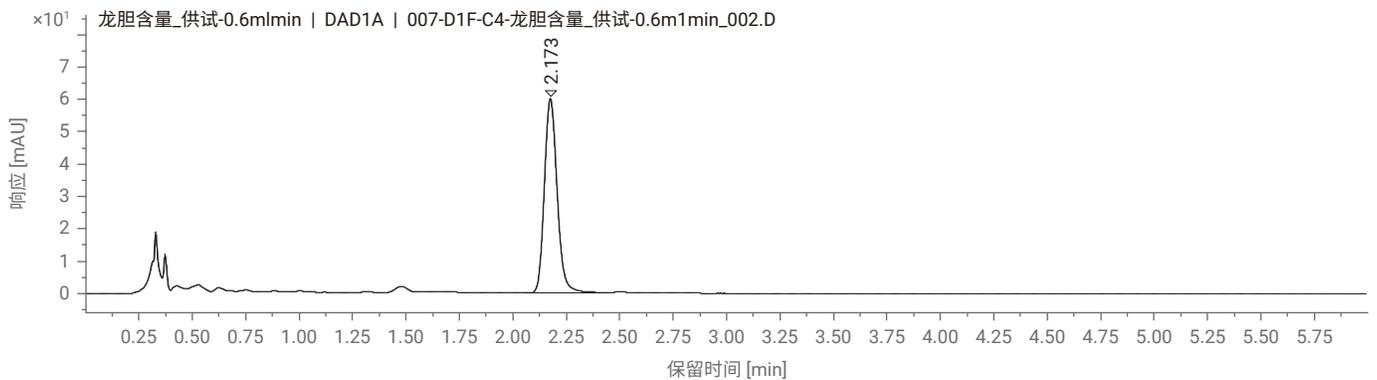
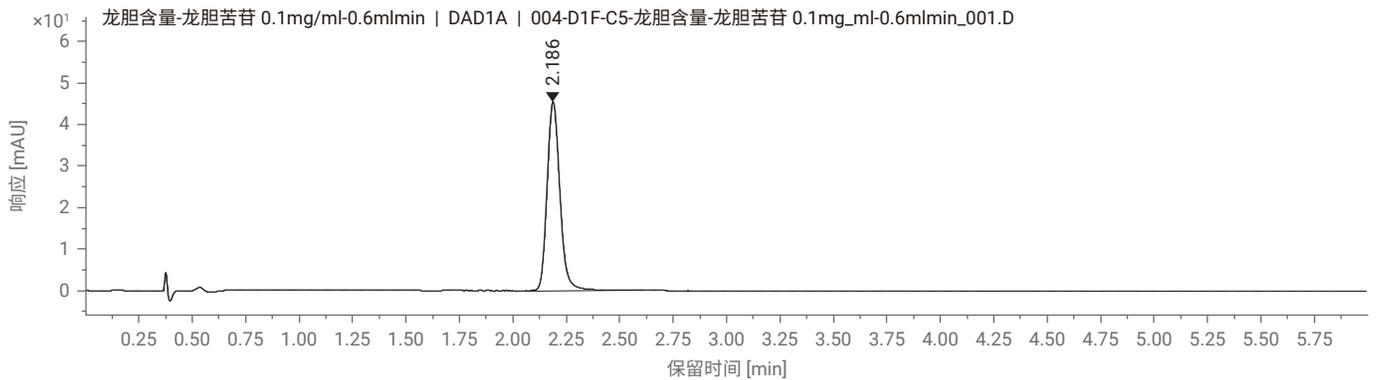
- 原始方法压力最高 614 bar, 加速方法压力最高 884 bar
- 加速后分析时间缩短 2 分钟, 分析速度提升 25%

典型图谱

UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 加速方法（上图为对照品，下图为供试品）



蜜桑白皮配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|--------|--|---|
| 仪器 | 1260 II 二元系统, 包含二元泵(G7112B), 自动进样器(G7167A), 柱温箱(G7116A), DAD(G7117C) | 1290 II 二元系统, 包含二元泵(G7120A), 自动进样器(G7167B), 柱温箱(G7116B), DAD(G7117B) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18(2), 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 588925-902; 25 °C | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902; 25 °C |
| 流动相 | MPA: 0.1%甲酸; MPB: 乙腈 | 检测器 280 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz (HPLC); 40 Hz (UHPLC) |
| 流速 | 1.0 mL/min | 0.6 mL/min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% | 时间 (min) B% |
| | 0 9 | 0 9 |
| | 5 9 | 0.72 9 |
| | 15 13 | 2.16 13 |
| | 25 22 | 3.60 22 |
| | 35 34 | 5.04 34 |
| | 50 48 | 7.20 48 |
| | 60 53 | 8.64 53 |
| | 65 65 | 9.36 65 |
| | 80 65 | 11.52 65 |
| 81 9 | 11.66 9 | |
| 90 9 | 12.96 9 | |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl |
| 对照品 | 桑皮苷 A、桑黄酮 G, 均由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|------|------------|-------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 5.736 | | 0.094 | 0.09-0.11 | | | 19503 |
| 2 | 7.535 | | 0.123 | 0.117-0.143 | | | 18478 |
| 3 | 16.325 | 桑皮苷 A | 0.267 | | | | 53150 |
| 4 | 24.713 | | 0.405 | 0.378-0.462 | | | 95375 |
| 5 | 26.017 | | 0.426 | 0.396-0.484 | | | 263456 |
| 6 | 33.394 | | 0.547 | 0.495-0.605 | | | 357282 |
| 7(S) | 61.088 | 桑黄酮 G | | | | | 446191 |

UHPLC 方法

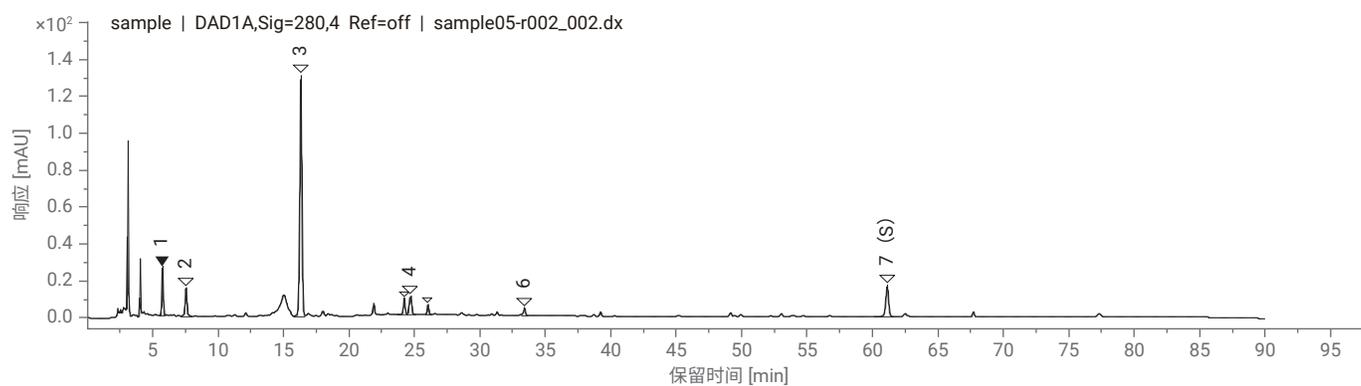
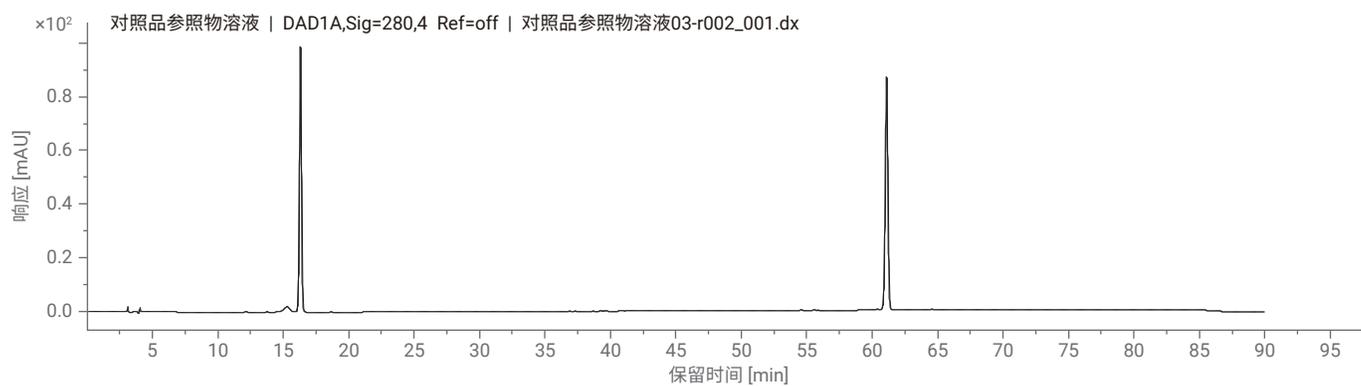
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|------|------------|-------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 0.690 | | 0.079 | 0.09-0.11 | | | 6582 |
| 2 | 0.898 | | 0.103 | 0.117-0.143 | | | 6499 |
| 3 | 1.998 | 桑皮苷 A | 0.228 | | | | 18883 |
| 4 | 3.327 | | 0.380 | 0.378-0.462 | | | 28850 |
| 5 | 3.549 | | 0.406 | 0.396-0.484 | | | 139859 |
| 6 | 4.632 | | 0.530 | 0.495-0.605 | | | 228822 |
| 7(S) | 8.745 | 桑黄酮 G | | | | | 313545 |

小结及注意事项

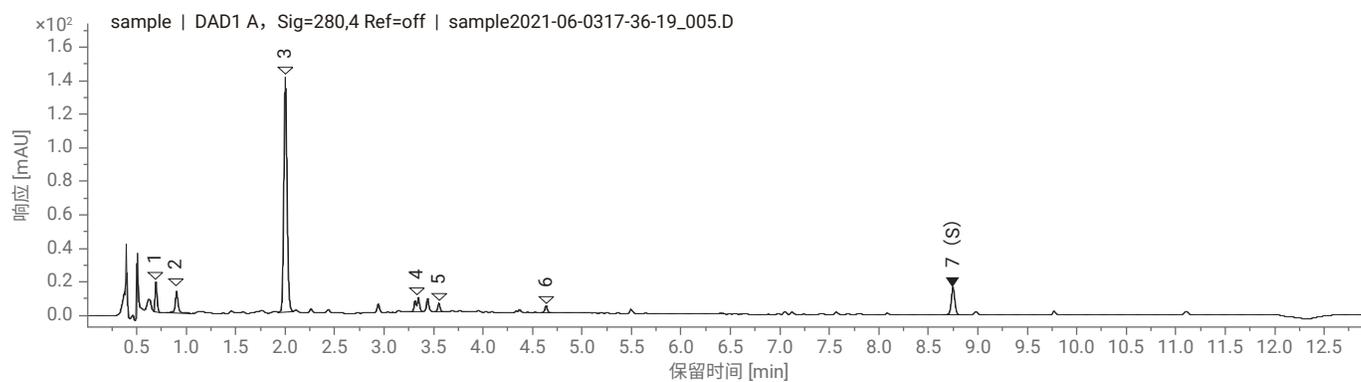
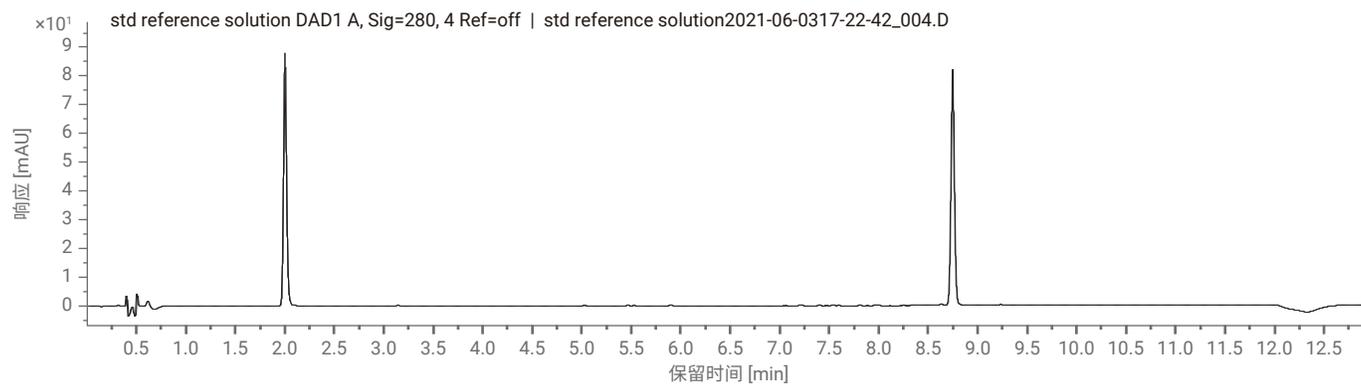
- 原始方法压力最高 162 bar, UHPLC 方法压力最高 607 bar; 方法转换后由 90 分钟缩短至 13 分钟
- UHPLC 色谱柱与 HPLC 填料类型不同, 导致色谱峰 4 与前面峰出峰顺序发生变化

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|--|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 二元系统, 包含二元泵(G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 880975-902 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 |
| 流动相 | MPA: 0.1% 磷酸; MPB: 乙腈 | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.4 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 11 15 11 | 时间 (min) B% 0 11 4 11 |
| 柱温 | 25 °C | 25 °C |
| 检测器 | 324 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz | 324 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl |
| 对照品 | 桑皮苷 A, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-------|------------|----------|------------|-----------|
| 桑皮苷 A | 7.397 | 8054 | 1.176 | 26.4 |

UHPLC 方法

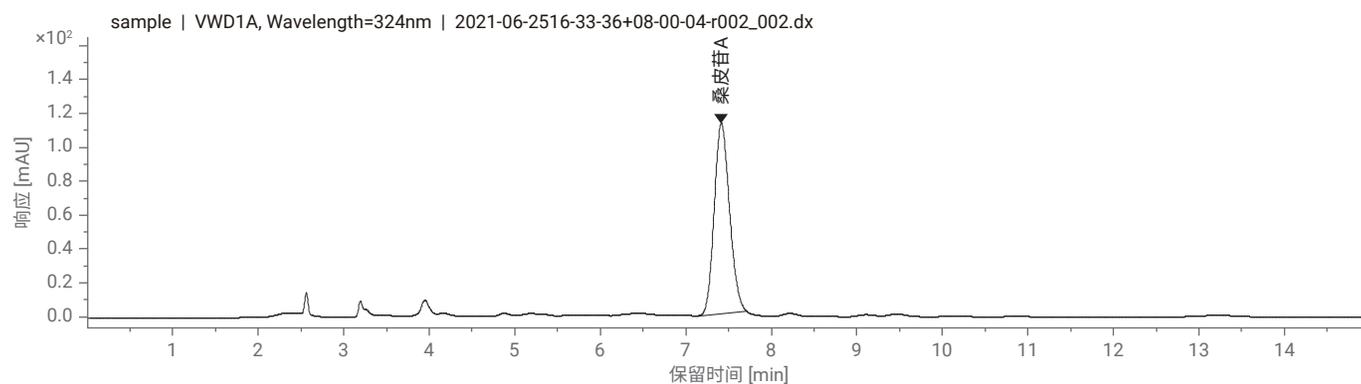
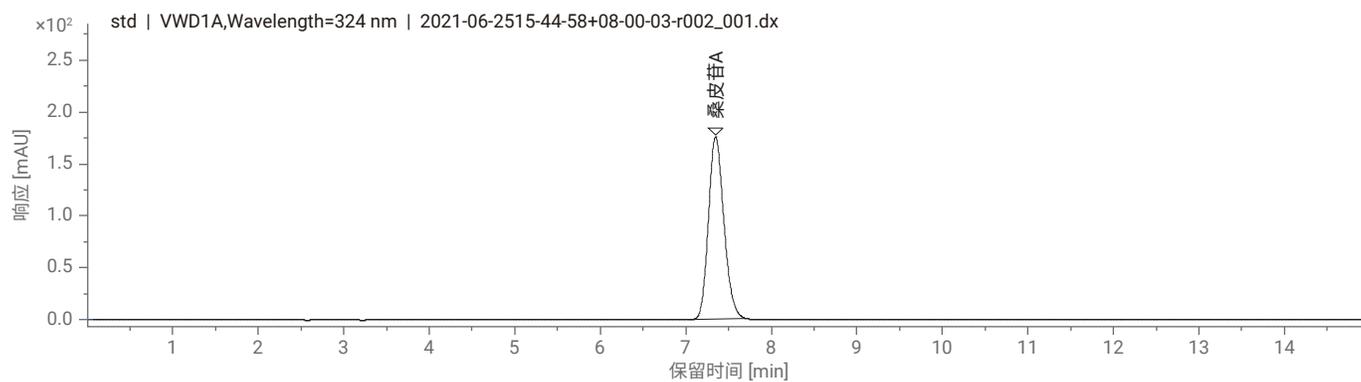
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-------|------------|----------|------------|-----------|
| 桑皮苷 A | 1.867 | 8690 | 1.210 | 27.2 |

小结及注意事项

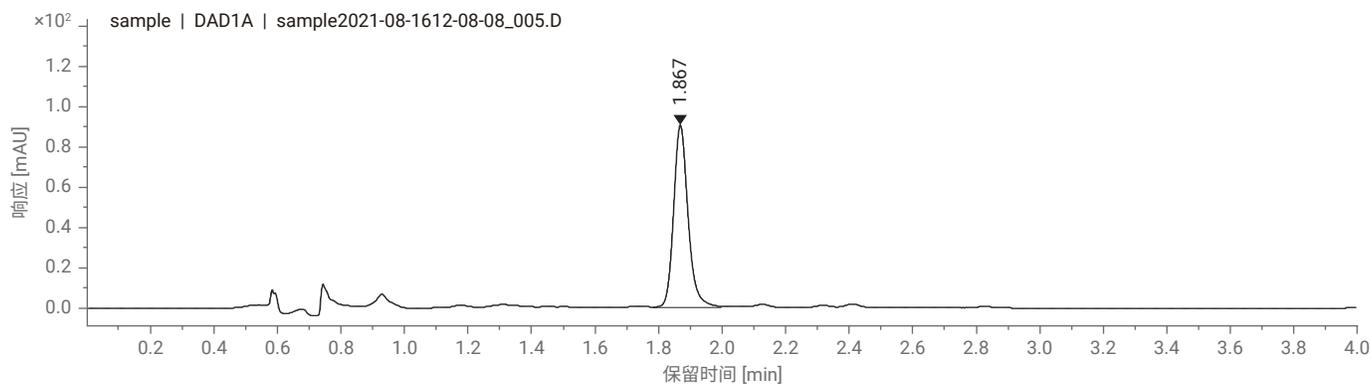
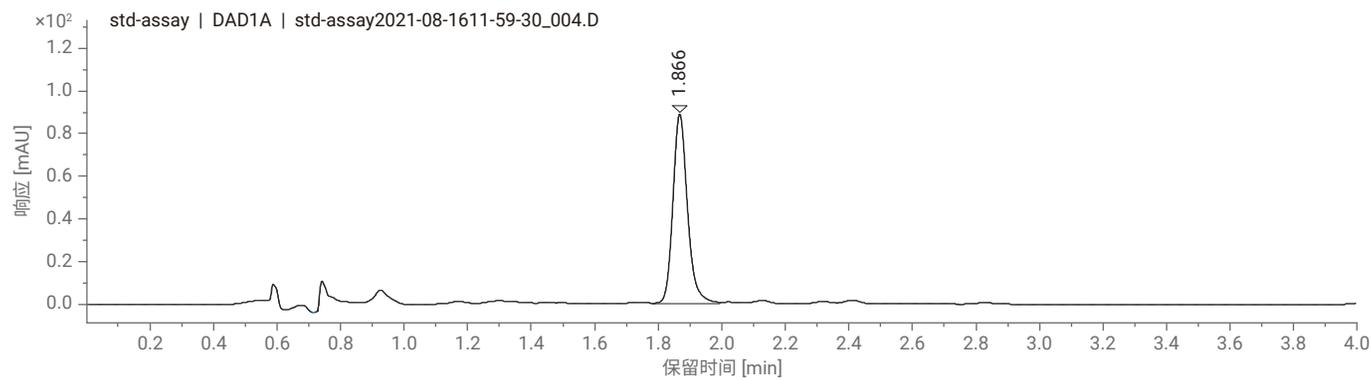
- HPLC 的特征图谱和含量方法, 都存在溶剂效应, 其中, 含量方法进行了进样器至色谱柱之间的管路加粗, 可以明显改善
- HPLC 方法转换为 UHPLC 后, 分析时间由 15 分钟可以缩短至 4 分钟; 柱效由 8054 提高到 8690

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



蜜旋覆花 (旋覆花) 配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|--------|---|--------|------------|------|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1% 磷酸溶液; MPB: ACN | | | |
| 流速 | 0.3 ml/min | | 0.6 ml/min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 8 | 0 | 8 |
| | 4.5 | 13 | 2.3 | 13 |
| | 6 | 18 | 3 | 18 |
| | 10 | 18 | 5 | 18 |
| | 12 | 24 | 6 | 24 |
| | 16 | 24 | 8 | 24 |
| | 19 | 35 | 9.5 | 35 |
| | 22 | 100 | 11 | 100 |
| | 23 | 100 | 12 | 100 |
| 后运行时间: | 5 min | 后运行时间: | 3 min | |
| 柱温 | 35 °C | | 进样量 | 1 μl |
| 检测器 | 230 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | |
| 对照品 | 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸, 绿原酸, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|----------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 4.236 | 绿原酸 | 0.370 | | | | 25632 |
| 2 | 7.233 | 1,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | 0.631 | 0.549 | | | 114224 |
| 3 (S) | 11.460 | 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | | | | | 75454 |
| 4 | 12.459 | | 1.087 | 0.981-1.199 | | | 100270 |
| 5 | 13.205 | 4,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | 1.152 | 1.035-1.265 | | | 214027 |
| 6 | 18.473 | | 1.640 | 1.476-1.804 | | | 208077 |

加速方法

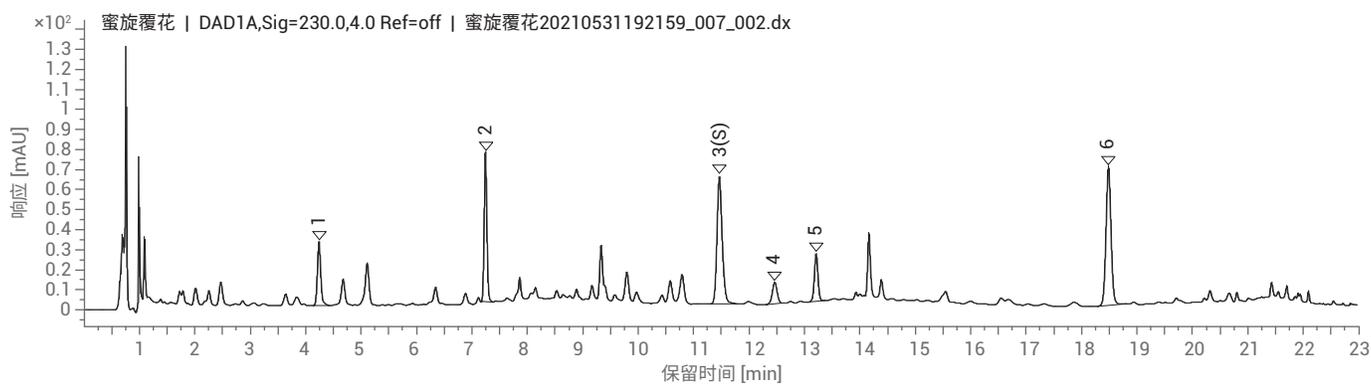
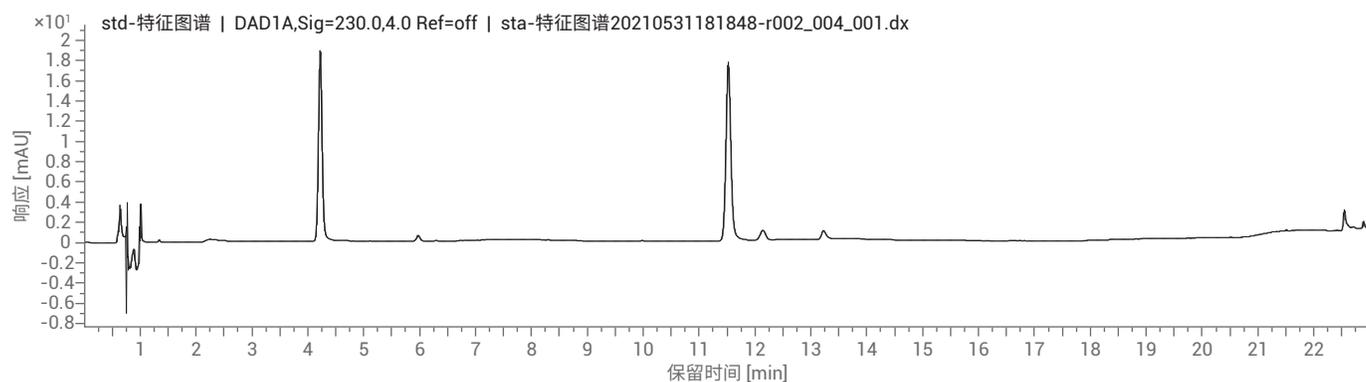
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|----------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.149 | 绿原酸 | 0.368 | | | | 21001 |
| 2 | 3.688 | 1,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | 0.632 | 0.549-0.671 | | | 94947 |
| 3 (S) | 5.840 | 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | | | | | 56338 |
| 4 | 6.284 | | 1.076 | 0.981-1.199 | | | 77203 |
| 5 | 6.698 | 4,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | 1.147 | 1.035-1.265 | | | 186554 |
| 6 | 9.304 | | 1.593 | 1.476-1.804 | | | 159856 |

小结及注意事项

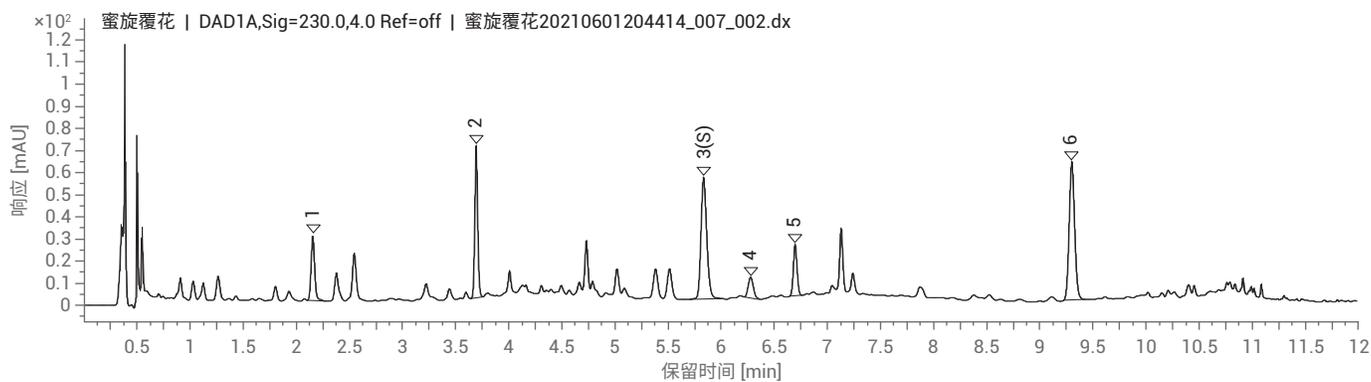
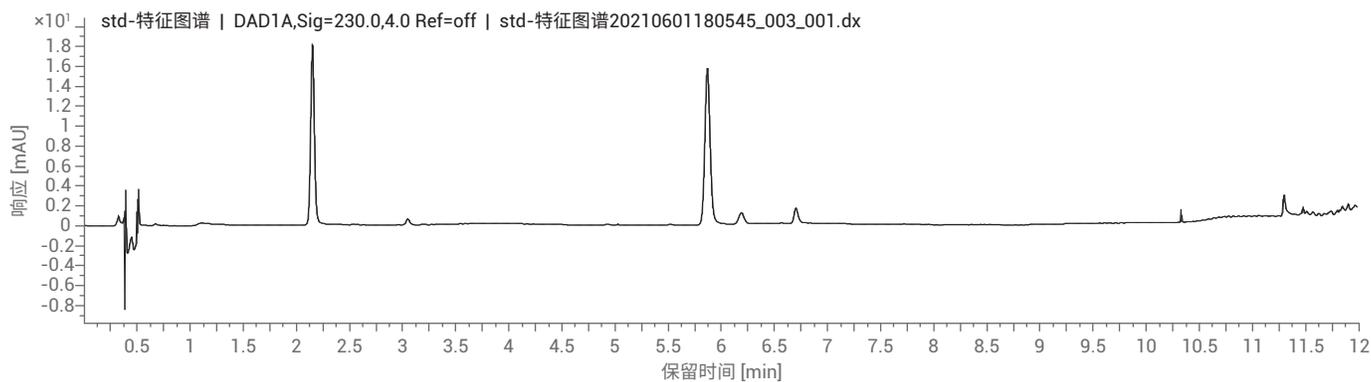
- 蜜旋覆花和旋覆花样品加速实验后运行时间由 3 分钟改为 5 分钟后重现性更好。如遇到类似现象, 建议调整后运行时间

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|-------|-------------------|-------|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1% 磷酸溶液; MPB: ACN | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/ min | | 加速方法: 0.6 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 8 | 0 | 8 |
| | 4.5 | 13 | 2.3 | 13 |
| | 6 | 18 | 3 | 18 |
| | 10 | 18 | 5 | 18 |
| | 12 | 24 | 6 | 24 |
| | 16 | 24 | 8 | 24 |
| | 19 | 35 | 9.5 | 35 |
| | 22 | 100 | 11 | 100 |
| | 23 | 100 | 12 | 100 |
| | 后运行时间: | 5 min | 后运行时间: | 3 min |
| 柱温 | 35 °C | | | |
| 检测器 | 327 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | |
| 对照品 | 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸, 由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原方法

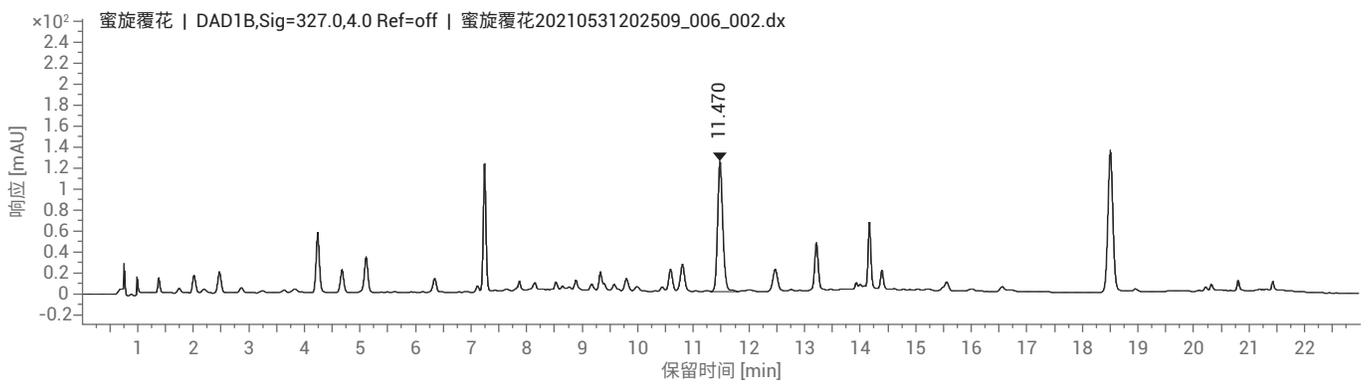
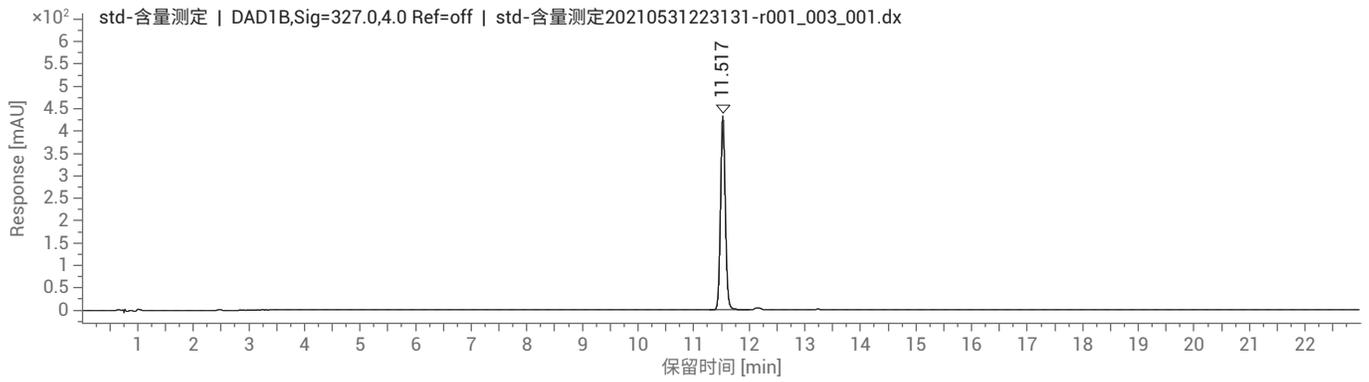
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|----------------|------------|----------|------------|-----------|
| 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | 11.470 | 76593 | 0.79 | 7.834 |

加速方法

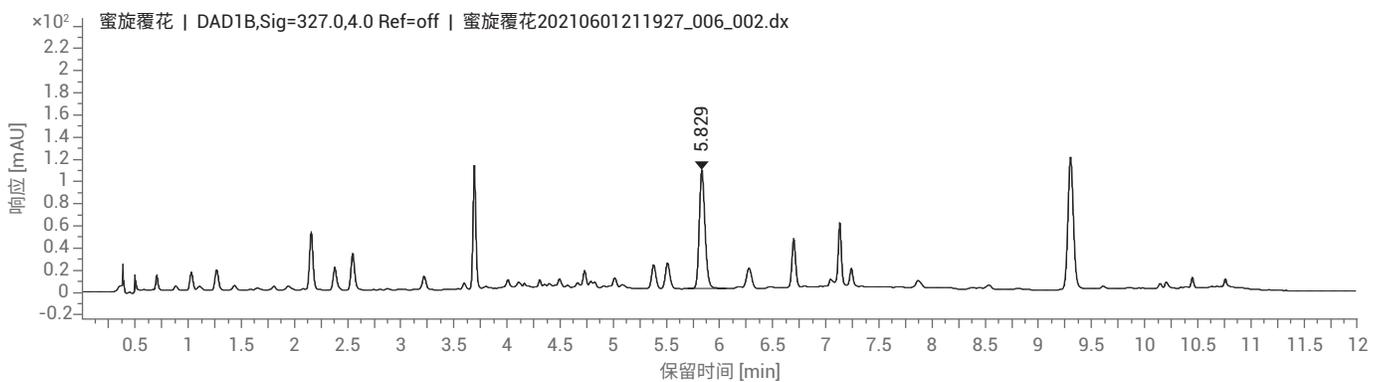
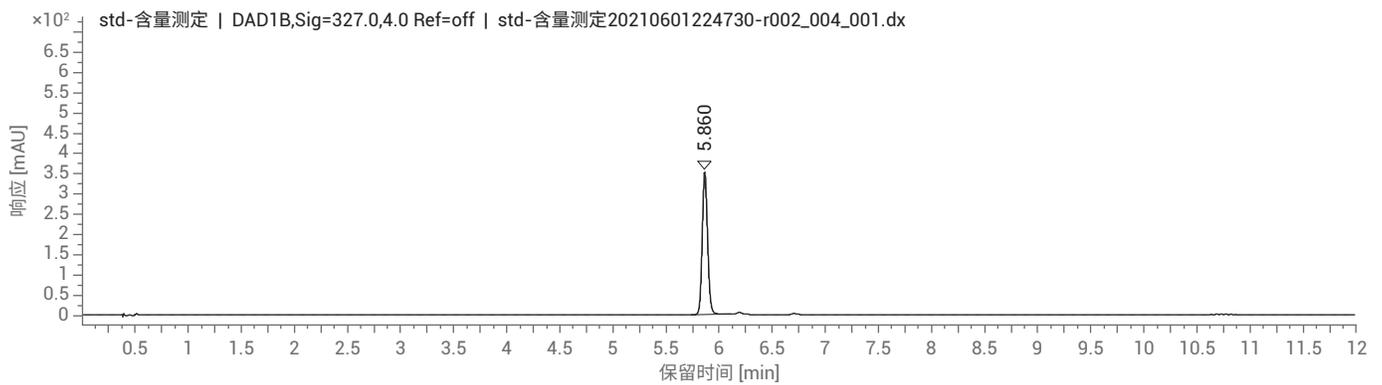
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|----------------|------------|----------|------------|-----------|
| 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | 5.829 | 56739 | 0.78 | 8.041 |

典型图谱

原方法（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法（上图为对照品，下图为供试品）



蜜紫苑配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|-------|-------------|-------|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-Aq, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-914 | 柱温 | 35 °C | |
| 流动相 | MPA: 0.1% 甲酸溶液; MPB: 四氢呋喃—甲醇 (1:4) | 进样量 | 1 μl | |
| 流速 | 原始方法: 0.35 ml/ min | 加速方法: | 0.6 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 9 | 0 | 9 |
| | 10 | 11 | 5.83 | 11 |
| | 11 | 21 | 6.42 | 21 |
| | 17 | 26 | 9.92 | 26 |
| | 25 | 26 | 14.59 | 26 |
| | 36 | 38 | 21 | 38 |
| | 后运行时间: | 5 min | 后运行时间: | 3 min |
| 检测器 | 327 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | |
| 对照品 | 绿原酸、1,5-O二咖啡酰奎宁酸, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

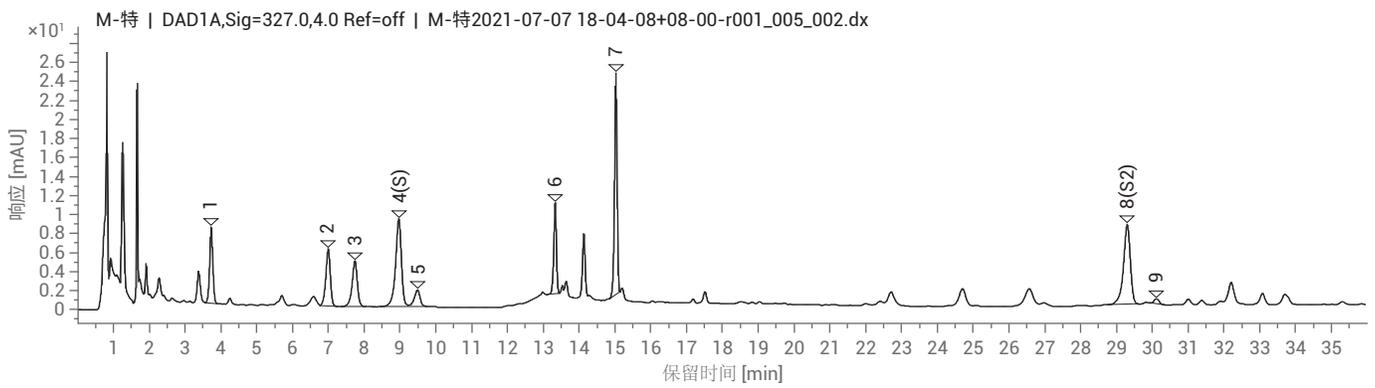
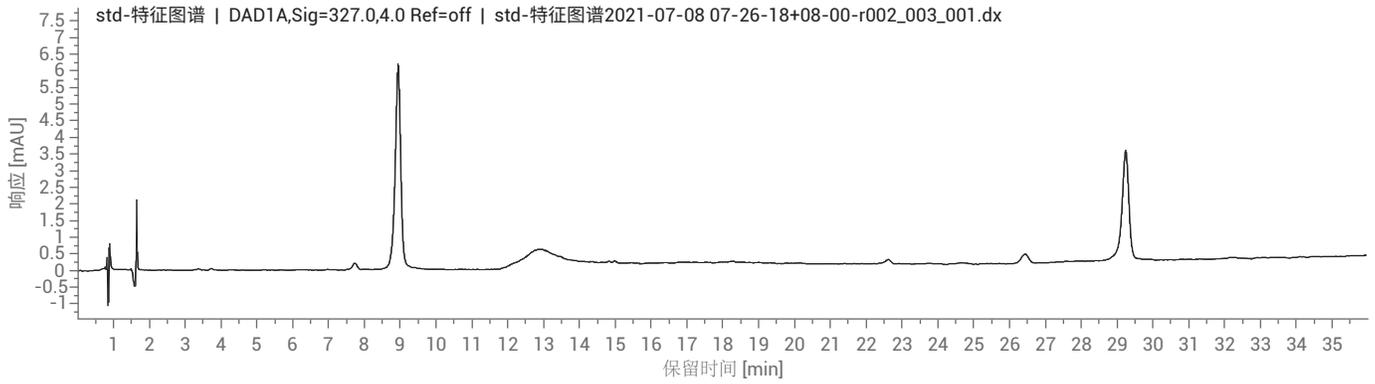
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|--------|------------|--------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 3.724 | 新绿原酸 | 0.415 | 0.378~0.462 | | | 8686 |
| 2 | 6.989 | | 0.780 | 0.729~0.891 | | | 15473 |
| 3 | 7.741 | 隐绿原酸 | 0.864 | 0.828~1.012 | | | 15001 |
| 4 (S1) | 8.963 | 绿原酸 | | | | | 16419 |
| 5 | 9.481 | 咖啡酸 | 1.058 | 1.017~1.243 | | | 18559 |
| 6 | 13.313 | | 1.485 | 1.269~1.551 | | | 177675 |
| 7 | 15.015 | 1,3-O二咖啡酰奎宁酸 | 1.675 | 1.422~1.738 | | | 221505 |
| 8 (S2) | 29.293 | 1,5-O二咖啡酰奎宁酸 | | | | | 126974 |
| 9 | 30.111 | | 1.028 | 0.945~1.155 | | | 200125 |

加速方法

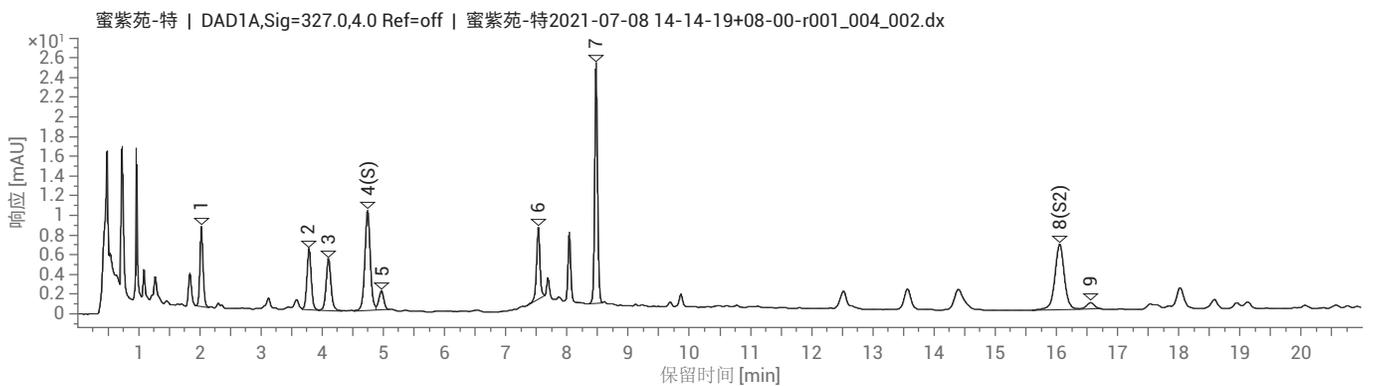
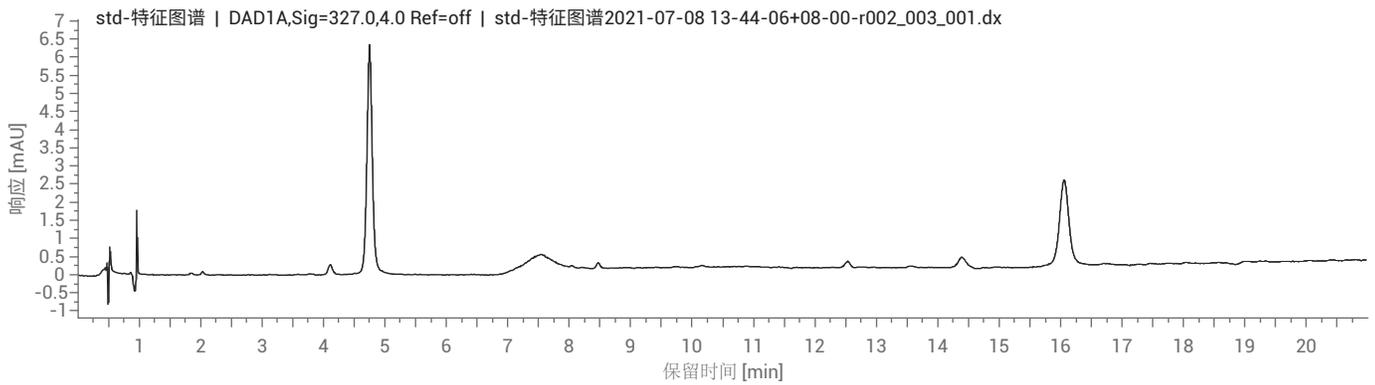
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|--------|------------|--------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.019 | 新绿原酸 | 0.426 | 0.378~0.462 | | | 7928 |
| 2 | 3.779 | | 0.798 | 0.729~0.891 | | | 14472 |
| 3 | 4.096 | 隐绿原酸 | 0.865 | 0.828~1.012 | | | 13828 |
| 4 (S1) | 4.735 | 绿原酸 | | | | | 14654 |
| 5 | 4.960 | 咖啡酸 | 1.048 | 1.017~1.243 | | | 17771 |
| 6 | 7.526 | | 1.589 | 1.269~1.551 | | | 89208 |
| 7 | 8.469 | 1,3-O二咖啡酰奎宁酸 | 1.789 | 1.422~1.738 | | | 172960 |
| 8 (S2) | 16.045 | 1,5-O二咖啡酰奎宁酸 | | | | | 55874 |
| 9 | 16.551 | | 1.031 | 0.945~1.155 | | | 72734 |

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|-------|-------------------|-------|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-Aq, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-914 | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1% 甲酸溶液; MPB: 四氢呋喃—甲醇 (1:4) | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.35 ml/ min | | 加速方法: 0.6 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 9 | 0 | 9 |
| | 10 | 11 | 5.83 | 11 |
| | 11 | 21 | 6.42 | 21 |
| | 17 | 26 | 9.92 | 26 |
| | 25 | 26 | 14.59 | 26 |
| | 36 | 38 | 21 | 38 |
| | psot run: | 5 min | 后运行时间: | 3 min |
| 柱温 | 35 °C | | | |
| 检测器 | 327 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 40 Hz | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | |
| 对照品 | 绿原酸由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原方法

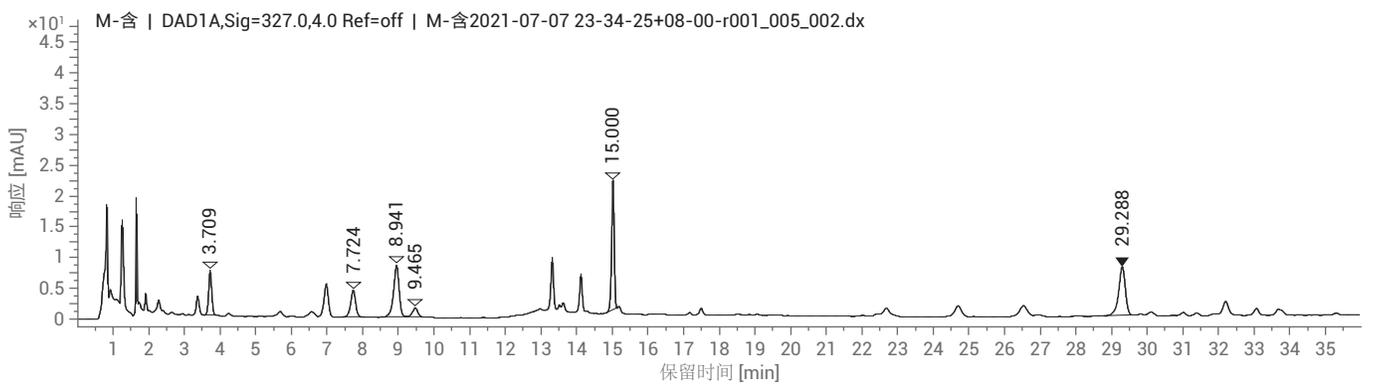
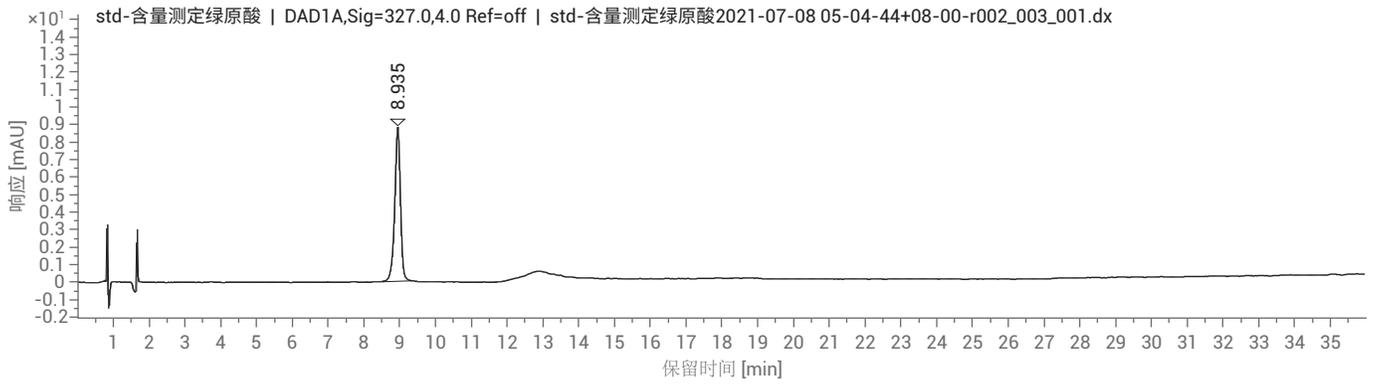
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|---------------|------------|----------|------------|-----------|
| 新绿酸 | 3.709 | 9151 | 1.00 | 0.312 |
| 隐绿酸 | 7.724 | 15397 | 0.89 | 0.345 |
| 绿原酸 (S) | 8.941 | 17128 | 0.87 | 0.671 |
| 咖啡酸 | 9.465 | 19955 | 0.87 | 0.061 |
| 1,3-O-二咖啡酰奎宁酸 | 15.000 | 222009 | 0.92 | 0.707 |
| 1,5-O-二咖啡酰奎宁酸 | 29.283 | 127694 | 0.87 | 0.605 |
| 总量 | | | | 2.701 |

加速方法

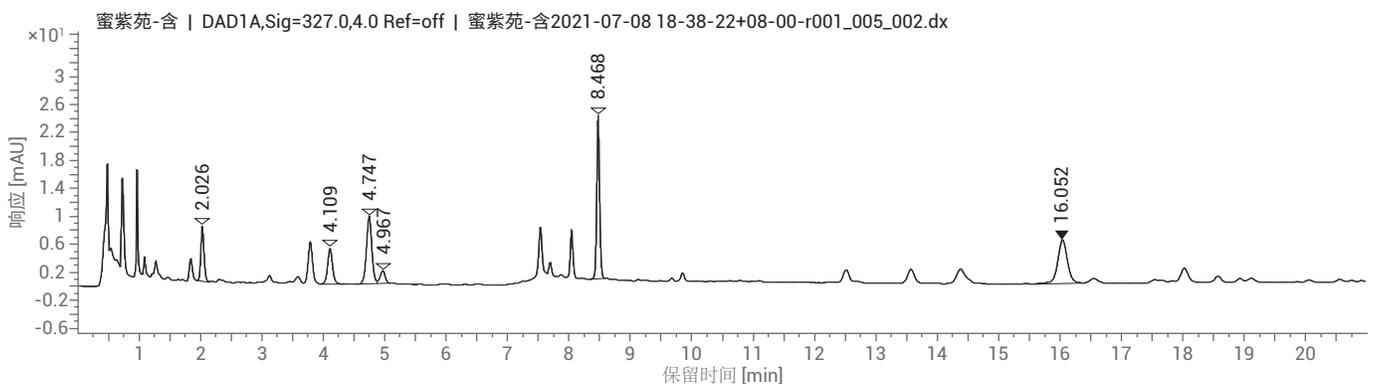
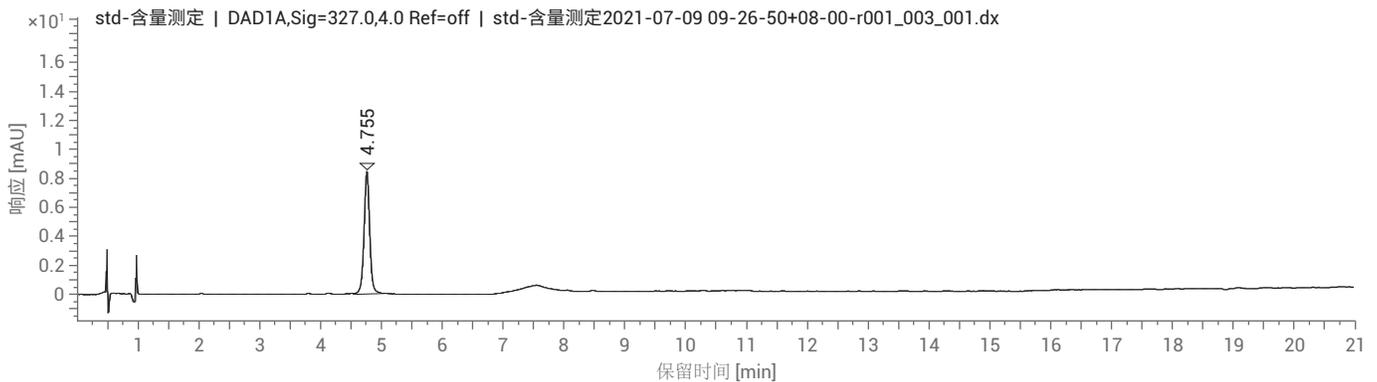
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|---------------|------------|----------|------------|-----------|
| 新绿酸 | 2.026 | 7839 | 1.13 | 0.315 |
| 隐绿酸 | 4.109 | 13886 | 1.05 | 0.349 |
| 绿原酸 (S) | 4.747 | 14822 | 1.06 | 0.678 |
| 咖啡酸 | 4.967 | 17740 | 1.07 | 0.067 |
| 1,3-O-二咖啡酰奎宁酸 | 8.468 | 170596 | 1.11 | 0.749 |
| 1,5-O-二咖啡酰奎宁酸 | 16.052 | 53772 | 1.06 | 0.639 |
| 总量 | | | | 2.797 |

典型图谱

原方法（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法（上图为对照品，下图为供试品）



墨旱莲配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|--|-------------------|----------|------|
| 仪器 | 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | 柱温 | 30 °C | |
| 流动相 | MPA: 0.80%TEA + 0.53%PA; MPB: ACN | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/ min (原标准流速) | 加速方法: 0.6 ml/ min | | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 11 | 0 | 11 |
| | 3 | 16 | 1.5 | 16 |
| | 9 | 16 | 4.5 | 16 |
| | 20 | 20 | 10 | 20 |
| | 34 | 20 | 17 | 20 |
| | 40 | 80 | 20 | 80 |
| | 41 | 11 | 20.5 | 11 |
| 50 | 11 | 25 | 11 | |
| 检测器 | 330 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | 进样量 | 1 μl |
| 对照品 | 木犀草苷、4,5-二-O-咖啡酰奎宁酸、蟛蜞菊内酯, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|----------------|--------|-------------|-------|-------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 3.856 | 咖啡酸 | 0.41 | 0.40 ~ 0.50 | | | 21081 |
| 2(S1) | 9.377 | 木犀草苷 | | | 0.64 | ≥0.26 | 34794 |
| 3 | 12.014 | 异绿原酸 B | 1.28 | 1.16 ~ 1.42 | | | 41784 |
| 4 | 13.494 | | 1.44 | 1.35 ~ 1.65 | | | 49100 |
| 5 | 16.614 | 4,5-二-O-咖啡酰奎宁酸 | | | | | 73580 |
| 6 | 21.646 | | 0.73 | 0.66 ~ 0.80 | | | 12046 |
| 7 | 22.626 | | 0.76 | 0.68 ~ 0.87 | | | 99100 |
| 8(S2) | 29.855 | 蟛蜞菊内酯 | | | | | 53362 |

加速方法

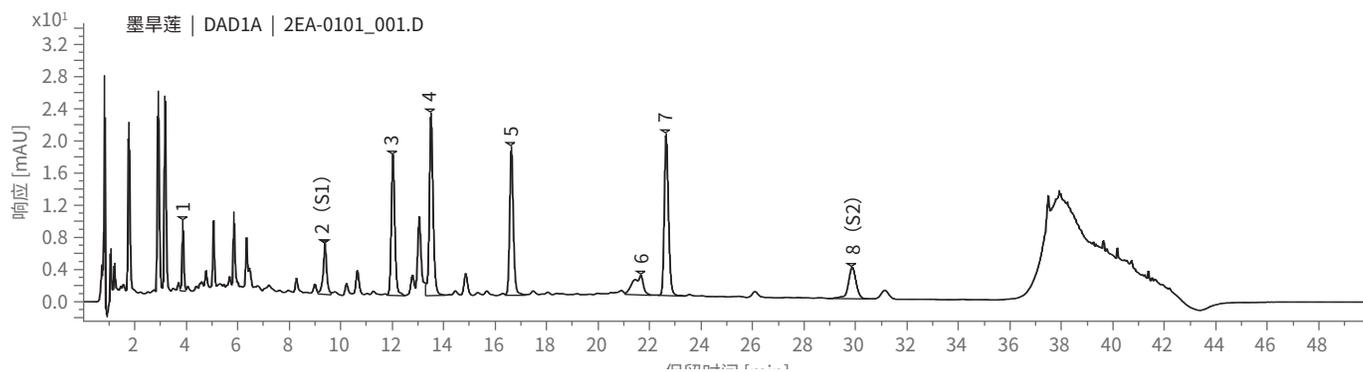
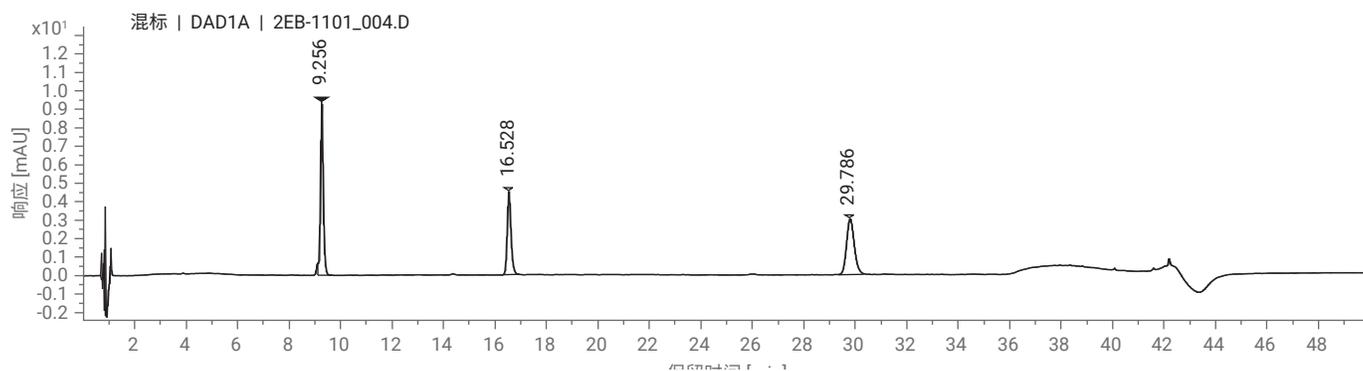
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|----------------|--------|-------------|-------|-------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 1.884 | 咖啡酸 | 0.40 | 0.40 ~ 0.50 | | | 14632 |
| 2(S1) | 4.655 | 木犀草苷 | | | 0.67 | ≥0.26 | 21343 |
| 3 | 5.943 | 异绿原酸 B | 1.28 | 1.16 ~ 1.42 | | | 27079 |
| 4 | 6.795 | | 1.46 | 1.35 ~ 1.65 | | | 34057 |
| 5 | 8.268 | 4,5-二-O-咖啡酰奎宁酸 | | | | | 49471 |
| 6 | 10.901 | | 0.73 | 0.66 ~ 0.80 | | | 29596 |
| 7 | 11.329 | | 0.76 | 0.68 ~ 0.87 | | | 74791 |
| 8(S2) | 14.959 | 蟛蜞菊内酯 | | | | | 45532 |

小结及注意事项

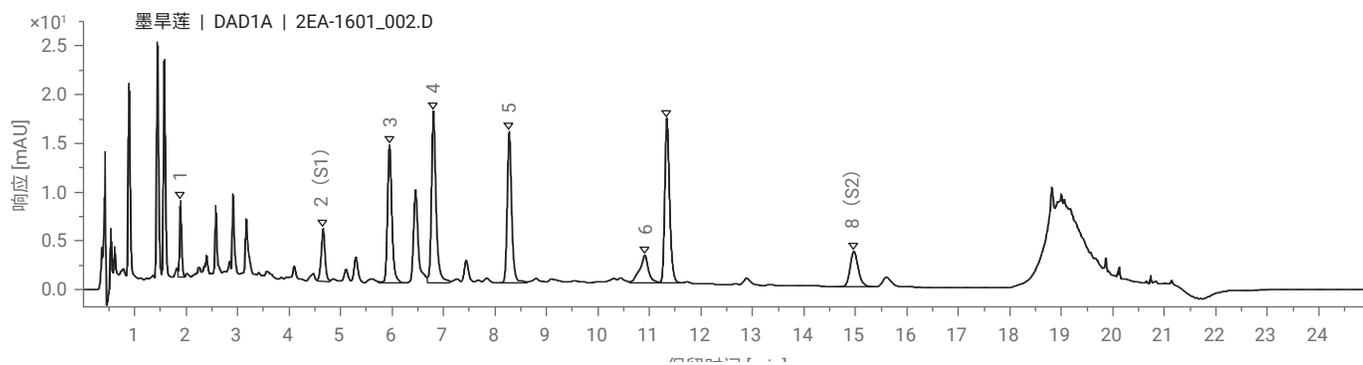
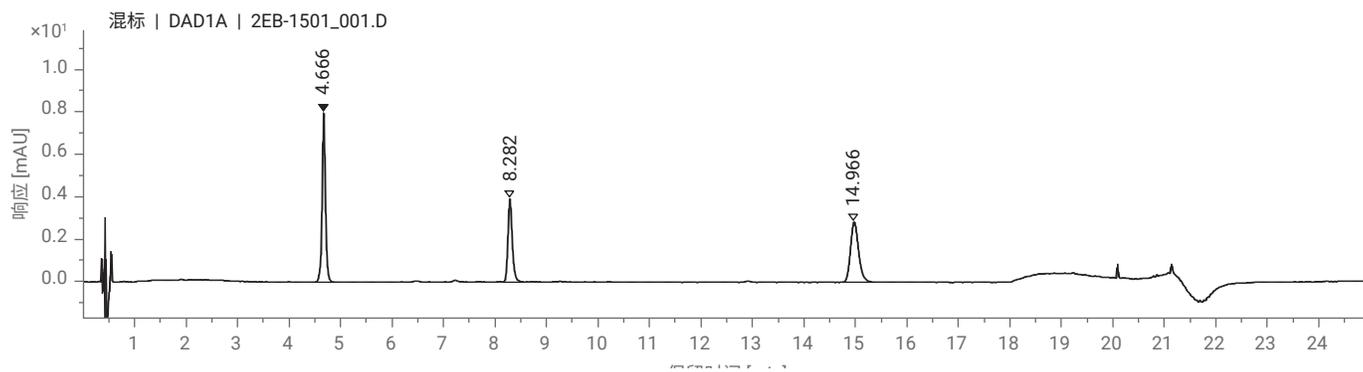
- 6 号特征峰有干扰
- 加速后分析时间由 50 分钟缩短至 25 分钟
- 加速后的 UHPLC 方法仍然能够满足标准特征图谱系统适用性及 RRT 要求

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|---|---|
| 仪器 | 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) 采用 ISET 模拟泵 G1311A, 进样器 G1329A | 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 959990-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 |
| 流动相 | MPA: 0.5%HAc; MPB: MeOH | |
| 流速 | 1.0 ml/ min (原标准流速) | 0.5 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 35 10 59 20 59 后运行时间: 15 min | 时间 (min) B% 0 35 1.73 59 5 59 后运行时间: 3 min |
| 柱温 | 30°C | 35 °C (根据压力情况, 可适当提高) |
| 检测器 | 351 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | 351 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz |
| 进样量 | 5 μl | 0.8ul |
| 对照品 | 蟛蜞菊内酯由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|-------|------------|----------|------------|--------|
| 蟛蜞菊内酯 | 15.453 | 50619 | 1.19 | 0.14 |

UHPLC 方法

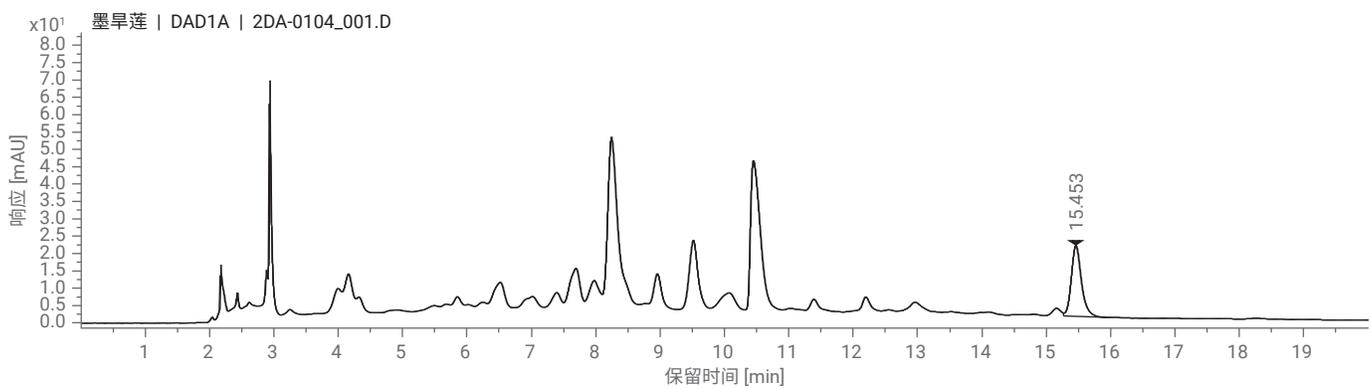
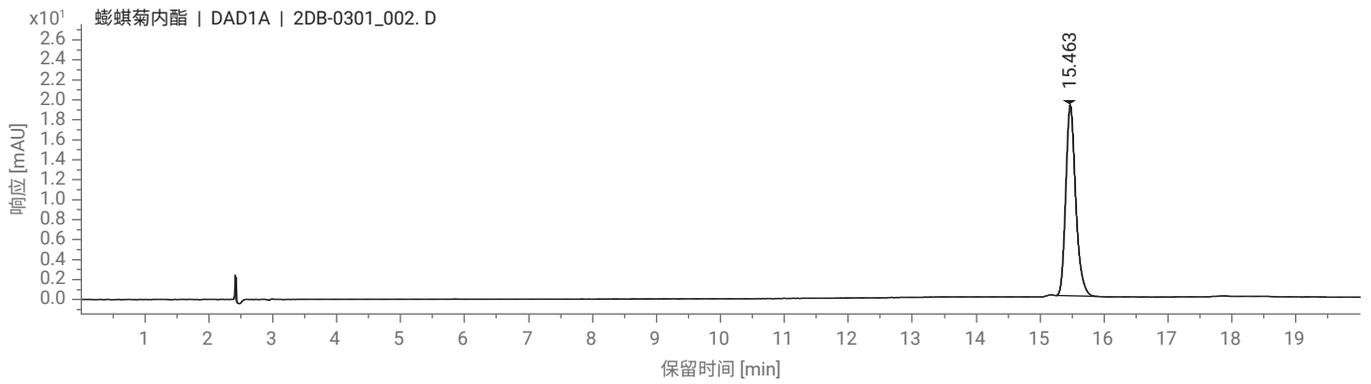
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|-------|------------|----------|------------|--------|
| 蟛蜞菊内酯 | 3.431 | 76644 | 1.23 | 0.12 |

小结及注意事项

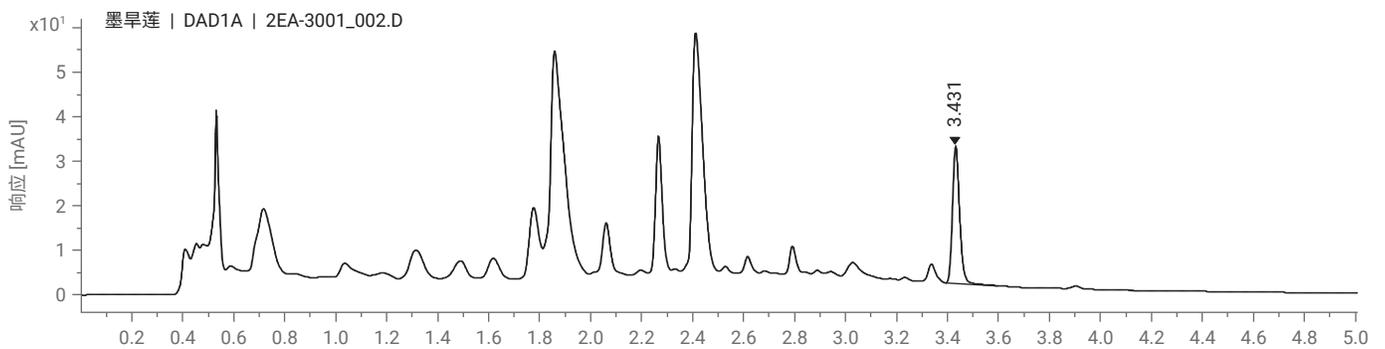
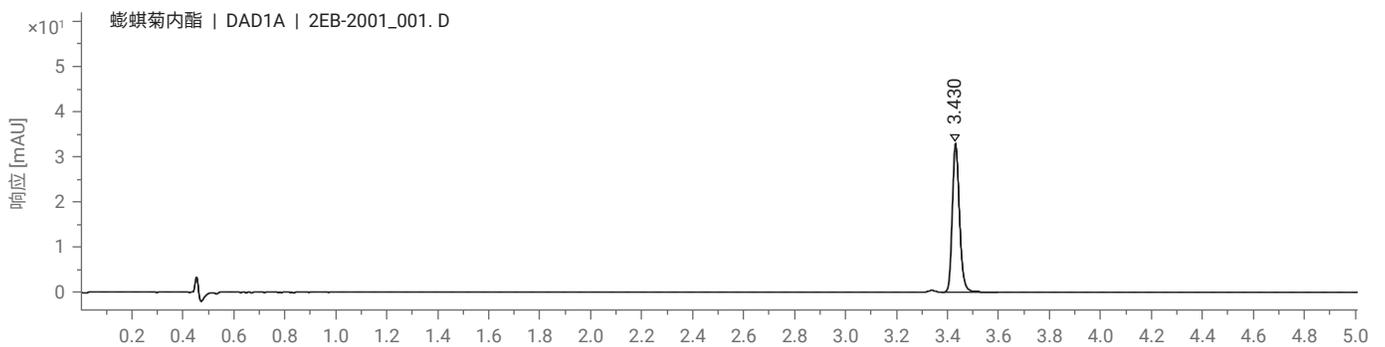
- 国标方法无后平衡时间, 建议 HPLC 后平衡 15 min, UHPLC 方法后平衡 3 min
- 将 HPLC 方法转化成 UHPLC, 分析时间由 20 分钟缩短至 5 分钟
- 转换后的 UHPLC, 供试品中蟛蜞菊内酯峰与前面的干扰峰分离度提高

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



蒲公英（碱地蒲公英）



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--|--|----|---|---|----|----|----|----|----|----|----|---|----|---|--|----------|----|---|---|---|----|---|----|----|----|------|---|----|---|
| 仪器 | 1260 二元系统, 包含二元泵(G7112B), 自动进样器 (G7167A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 二元系统, 包含二元泵(G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN 990967-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN 959758-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.5%醋酸; MPB: 甲醇 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min (原标准流速) | 0.42 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>5</td></tr> <tr><td>25</td><td>15</td></tr> <tr><td>35</td><td>35</td></tr> <tr><td>50</td><td>35</td></tr> <tr><td>51</td><td>5</td></tr> <tr><td>58</td><td>5</td></tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 5 | 25 | 15 | 35 | 35 | 50 | 35 | 51 | 5 | 58 | 5 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>5</td></tr> <tr><td>5</td><td>15</td></tr> <tr><td>7</td><td>35</td></tr> <tr><td>10</td><td>35</td></tr> <tr><td>10.2</td><td>5</td></tr> <tr><td>12</td><td>5</td></tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 5 | 5 | 15 | 7 | 35 | 10 | 35 | 10.2 | 5 | 12 | 5 |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35 | 35 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 50 | 35 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 51 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 58 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | 35 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 35 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10.2 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 35 °C | 35 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 323 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz | 323 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 0.8 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 单咖啡酰酒石酸、咖啡酸、菊苣酸, 均由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|------|------------|---------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 10.694 | 单咖啡酰酒石酸 | 0.394 | | | | 12928 |
| 2 | 14.274 | 新绿原酸 | 0.526 | 0.491-0.600 | | | 19645 |
| 3 | 24.742 | 绿原酸 | 0.911 | 0.830-1.014 | | | 33690 |
| 4(S) | 27.155 | 咖啡酸 | | | | | 35385 |
| 5 | 34.662 | 菊苣酸 | 1.276 | | | | 247795 |

UHPLC 方法

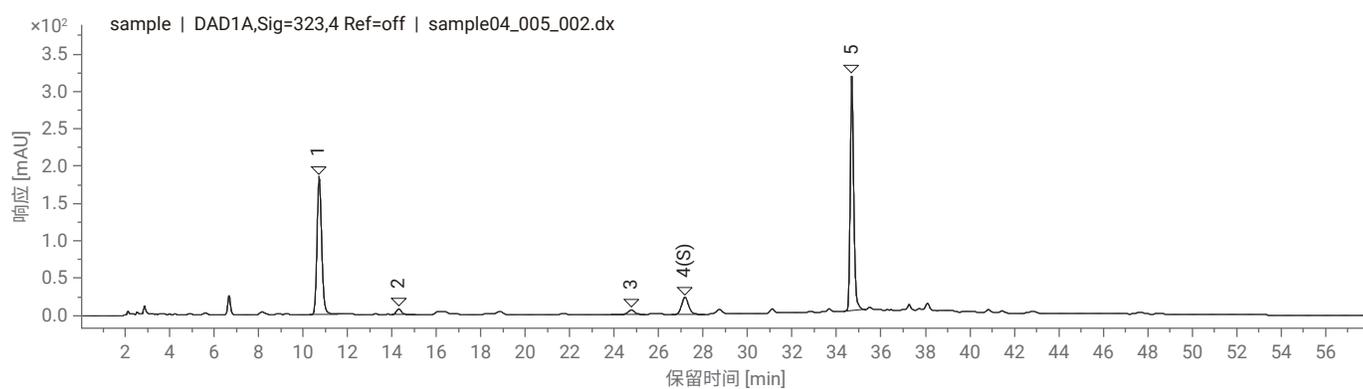
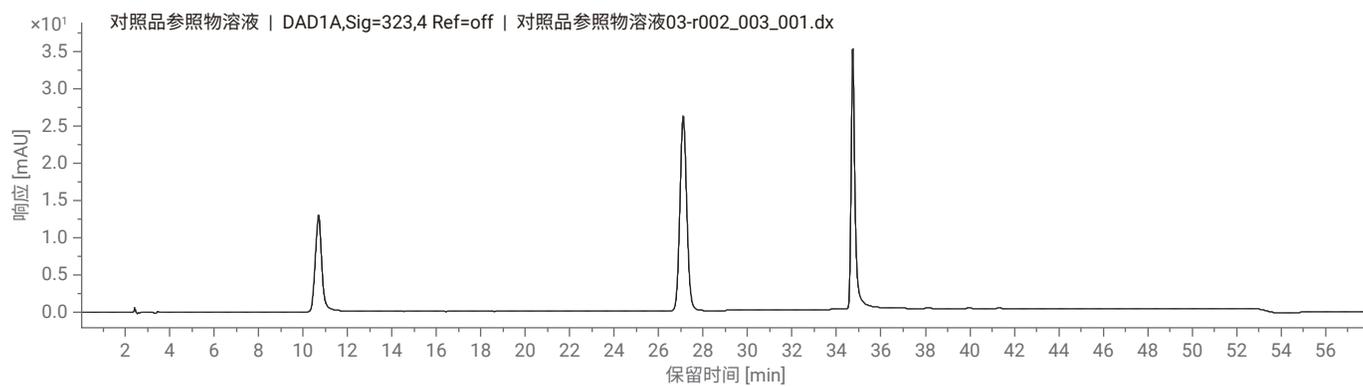
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|------|------------|---------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.835 | 单咖啡酰酒石酸 | 0.434 | | | | 19683 |
| 2 | 3.734 | 新绿原酸 | 0.572 | 0.491-0.600 | | | 35633 |
| 3 | 6.120 | 绿原酸 | 0.937 | 0.830-1.014 | | | 93654 |
| 4(S) | 6.530 | 咖啡酸 | | | | | 118687 |
| 5 | 7.562 | 菊苣酸 | 1.158 | | | | 276290 |

小结及注意事项

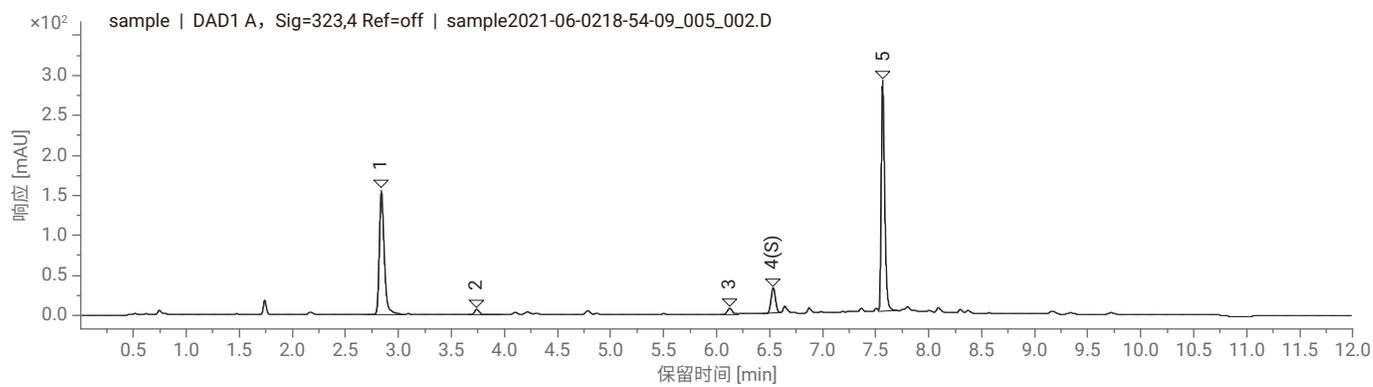
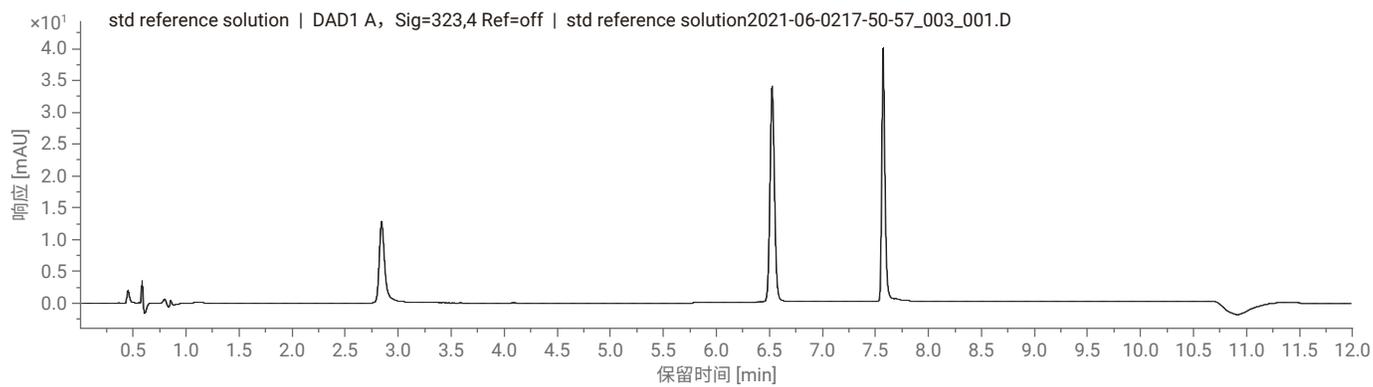
- 原始方法压力最高 165 bar, UHPLC 方法压力最高 607 bar

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|--|
| 仪器 | 1260 二元系统, 包含二元泵(G7112B), 自动进样器 (G7167A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 二元系统, 包含二元泵(G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN 990967-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN 959758-902 |
| 流动相 | MPA: 0.5%醋酸; MPB: 甲醇 | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.42 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 5 25 15 35 35 50 35 51 5 58 5 | 时间 (min) B% 0 5 5 15 7 35 10 35 10.2 5 12 5 |
| 柱温 | 35°C | 35°C |
| 检测器 | 323 nm (4 nm), Ref. off; 采样频率: 2.5 Hz | 323 nm (4 nm), Ref. off; 采样频率: 40 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 0.8 μl |
| 对照品 | 单咖啡酰酒石酸、菊苣酸、咖啡酸, 均由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|---------|------------|----------|------------|-----------|
| 单咖啡酰酒石酸 | 10.694 | 12927 | 1.197 | 10.0 |
| 菊苣酸 | 34.662 | 247795 | 1.256 | 8.6 |

UHPLC 方法

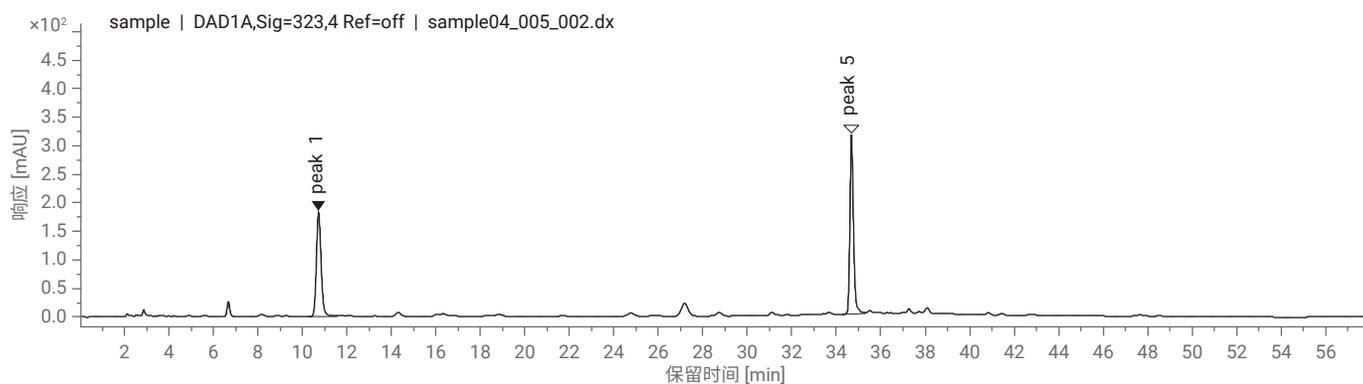
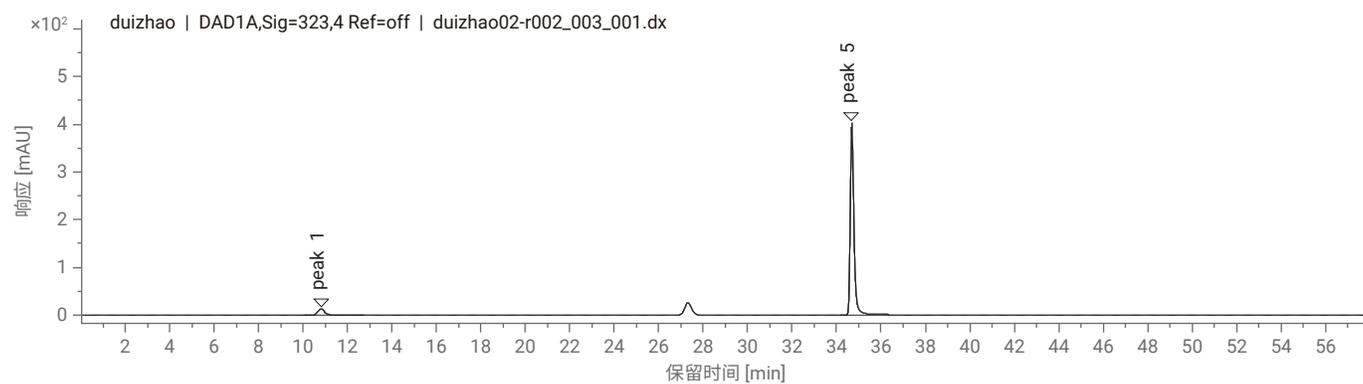
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|---------|------------|----------|------------|-----------|
| 单咖啡酰酒石酸 | 2.835 | 19683 | 1.364 | 10.4 |
| 菊苣酸 | 7.562 | 276291 | 1.460 | 7.9 |

小结及注意事项

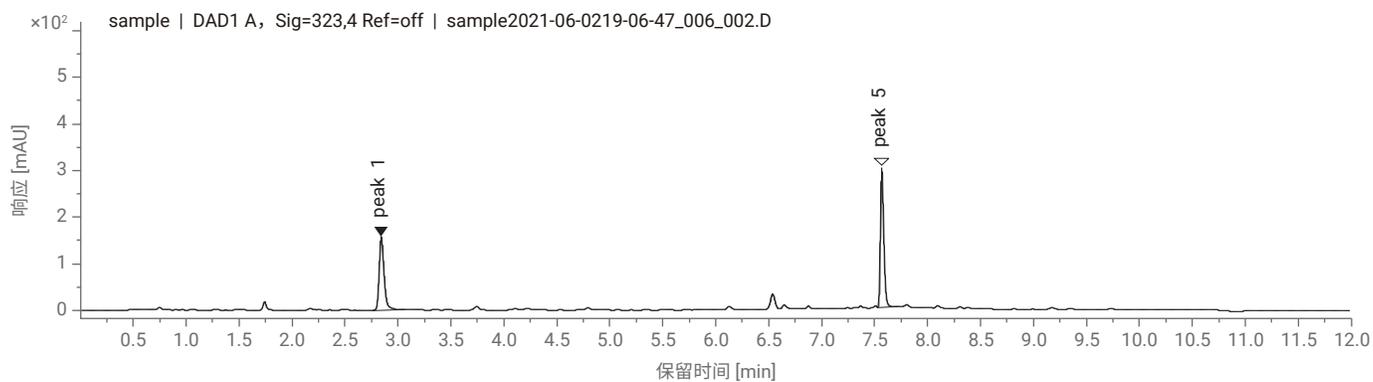
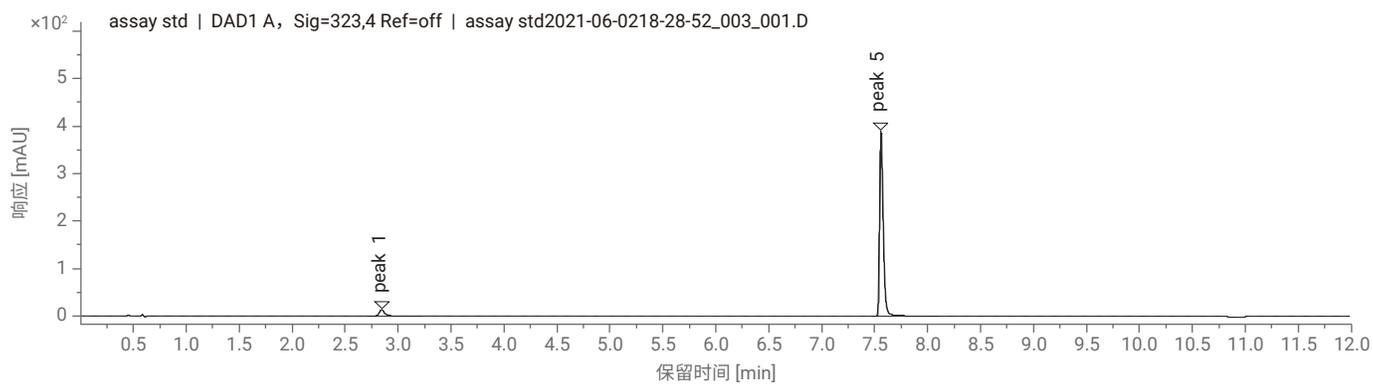
- 菊苣酸易残留, 洗针要用强溶剂清洗
- 含量方法和特征图谱方法一致, 从 HPLC 转至 UHPLC, 方法由 50 分钟可缩短至 10 分钟

典型图谱

HPLC 方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



前胡配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | |
|-------|---|---|----------|----|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117C) | | |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 880975-902 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | | |
| 流动相 | MPA: MeOH; MPB: H ₂ O | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min | | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 85 | 0 | 85 |
| | 20 | 55 | 3 | 55 |
| | 65 | 5 | 9.5 | 5 |
| | 70 | 5 | 10.5 | 5 |
| 柱温 | 30 °C | 40 °C | | |
| 检测器 | 321 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 321 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl | | |
| 对照品 | 白花前胡甲素、白花前胡乙素, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|--------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 38.563 | | 0.789 | 0.729~0.891 | | | 221334 |
| 2 | 47.573 | | 0.973 | 0.878~1.074 | | | 382834 |
| 3 (S) | 48.876 | 白花前胡甲素 | | | | | 401241 |
| 4 | 50.66 | | 1.037 | 0.931~1.137 | | | 437114 |
| 5 | 55.167 | 白花前胡乙素 | 1.129 | 1.007~1.231 | | | 524569 |

UHPLC 方法

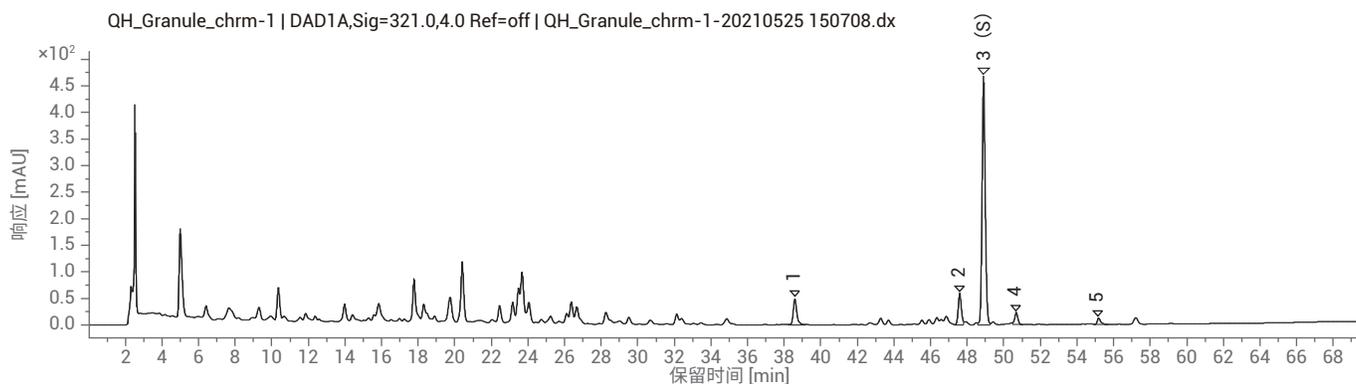
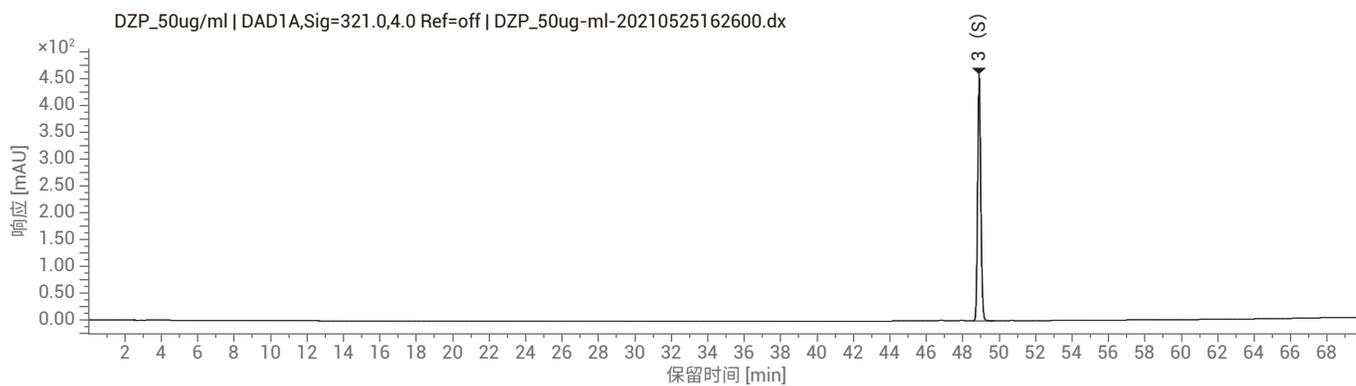
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|--------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 6.54 | | 0.810 | 0.729~0.891 | | | 278738 |
| 2 | 7.885 | | 0.976 | 0.878~1.074 | | | 436442 |
| 3 (S) | 8.078 | 白花前胡甲素 | | | | | 461302 |
| 4 | 8.329 | | 1.031 | 0.931~1.137 | | | 467422 |
| 5 | 9.01 | 白花前胡乙素 | 1.115 | 1.007~1.231 | | | 543671 |

小结及注意事项

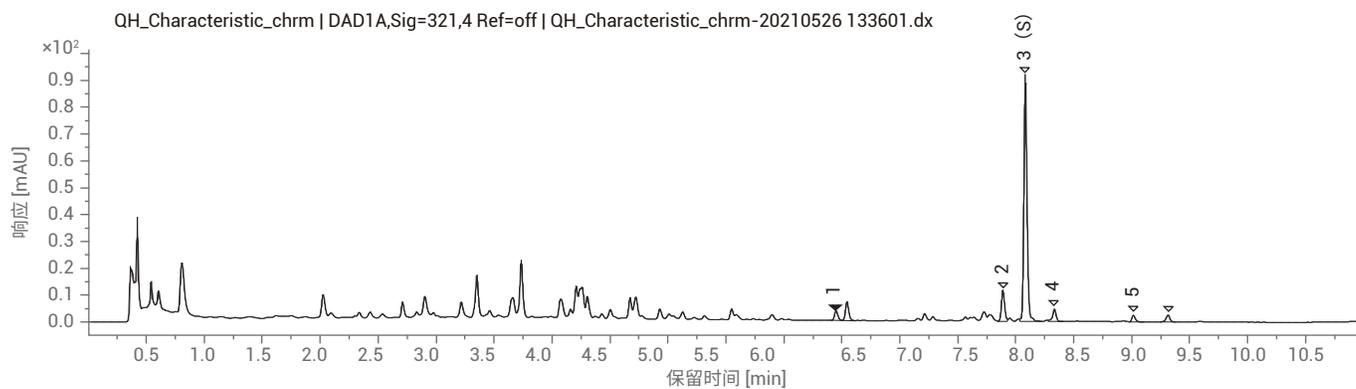
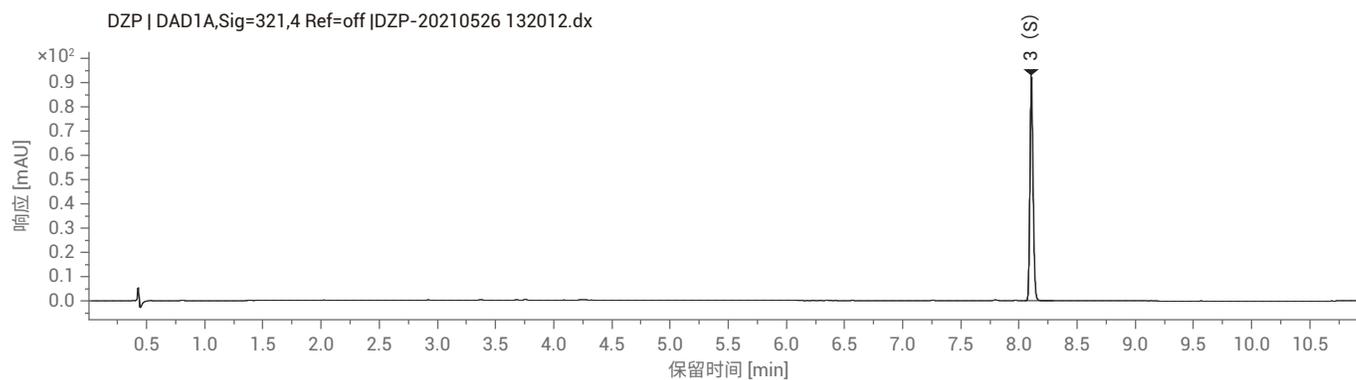
- 由于常规分析方法梯度表中未包含平衡过程, 因此设置了后运行时间 8 min
- 原始方法压力最高 191 bar, UHPLC 方法压力最高 780 bar, 方法转换后特征谱图中各特征峰完全满足标准要求
- 方法转换后分析时间缩短约 59 分钟
- 方法转换后, 原特征图谱中色谱峰 1 被分成两个峰, 两个峰的 UV 光谱图类似

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|--|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117C) |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 990967-902 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 |
| 流动相 | MPA: MeOH; MPB: H ₂ O | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 25 30 25 | 时间 (min) B% 0 25 8.5 25 |
| 柱温 | 30 °C | 35 °C (根据压力情况, 可适当提高) |
| 检测器 | 321 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 321 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl |
| 对照品 | 白花前胡甲素, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|--------|------------|----------|------------|-----------|
| 白花前胡甲素 | 7.835 | 8300 | 1.25 | 2.09 |

UHPLC 方法

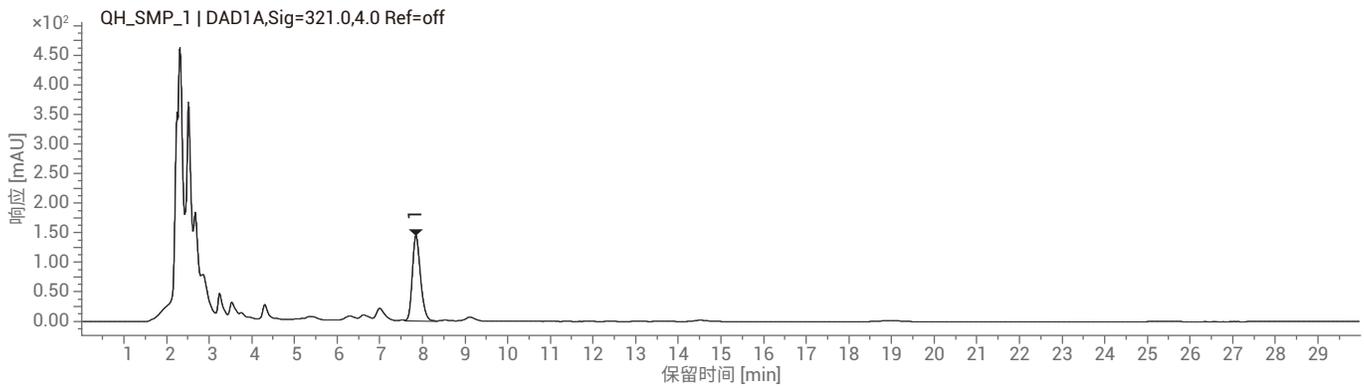
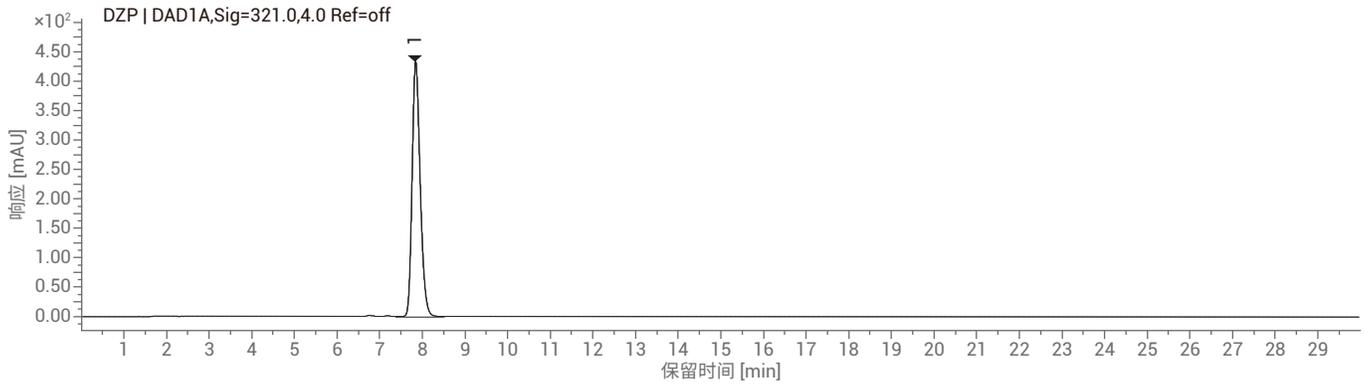
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|--------|------------|----------|------------|-----------|
| 白花前胡甲素 | 1.816 | 8296 | 1.30 | 2.13 |

小结及注意事项

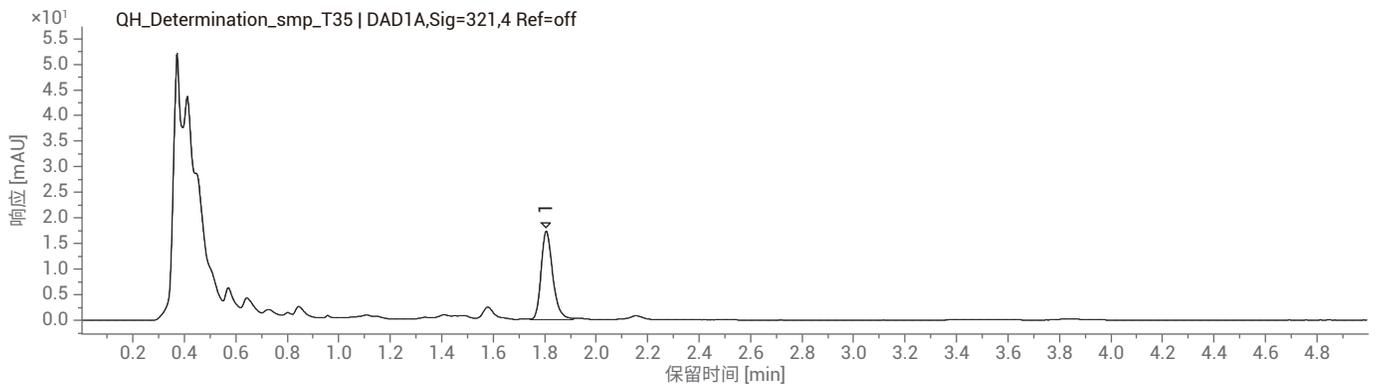
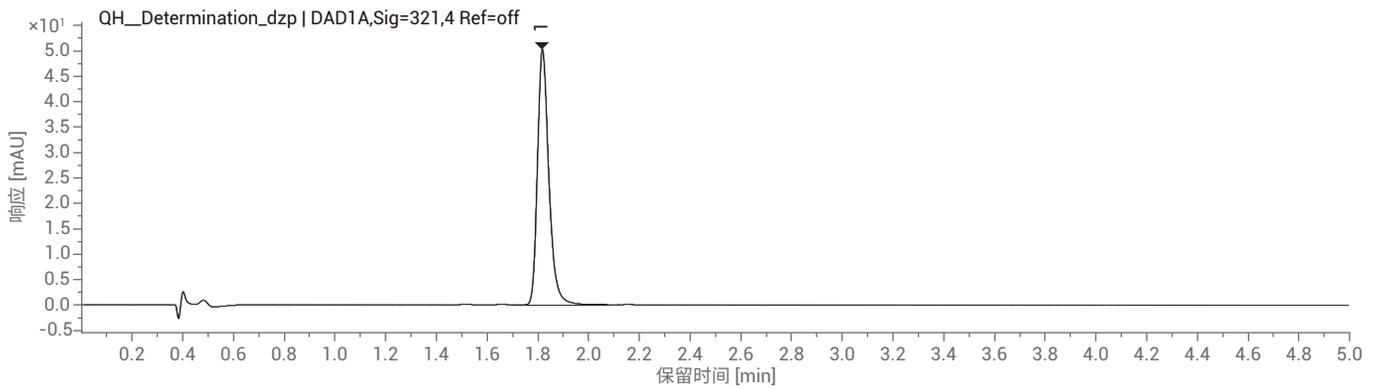
- 采用标准色谱条件, 目标峰分离良好; 理论板数和含量测定结果完全满足标准要求
- 采用 UHPLC 方法, 样品分离结果能匹配采用常规标准色谱条件的分离结果, 且目标峰保留时间缩短约 6 min, 含量测定结果仍在标准要求范围内
- 原始方法压力最高 158 bar, UHPLC 方法压力为 770 bar

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



桑白皮配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-----------------|---|---|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 四元系统, 包含四元泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18(2), 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 588925-902 | Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 695675-902 |
| 流动相 | MPA: ACN; MPB: 0.1% FA | 柱温 25 °C |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.5 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% | 时间 (min) B% |
| | 0 91 | 0.00 91 |
| | 5 91 | 0.76 91 |
| | 15 87 | 2.28 87 |
| | 25 78 | 3.80 78 |
| | 35 66 | 5.32 66 |
| | 50 52 | 7.60 52 |
| | 60 47 | 9.12 47 |
| | 65 35 | 9.88 35 |
| | 80 35 | 12.16 35 |
| 后运行时间: 10 min | 后运行时间: 3 min | |
| 检测器 | 280 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 280 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 1.7 μl |
| 对照品 | 桑皮苷 A、桑黄酮 G, 均由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-------------|-------|------|-----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 16.500 | 桑皮苷 A | | | | | 49257.81 |
| 2 | 24.654 | | 0.400 | 0.378~0.462 | | | 210262.25 |
| 3 | 26.076 | | 0.423 | 0.394~0.482 | | | 246715.44 |
| 4 | 33.315 | | 0.540 | 0.495~0.605 | | | 341738.71 |
| 5 (S) | 61.662 | 桑黄酮 G | | | | | 467898.12 |

UHPLC 方法

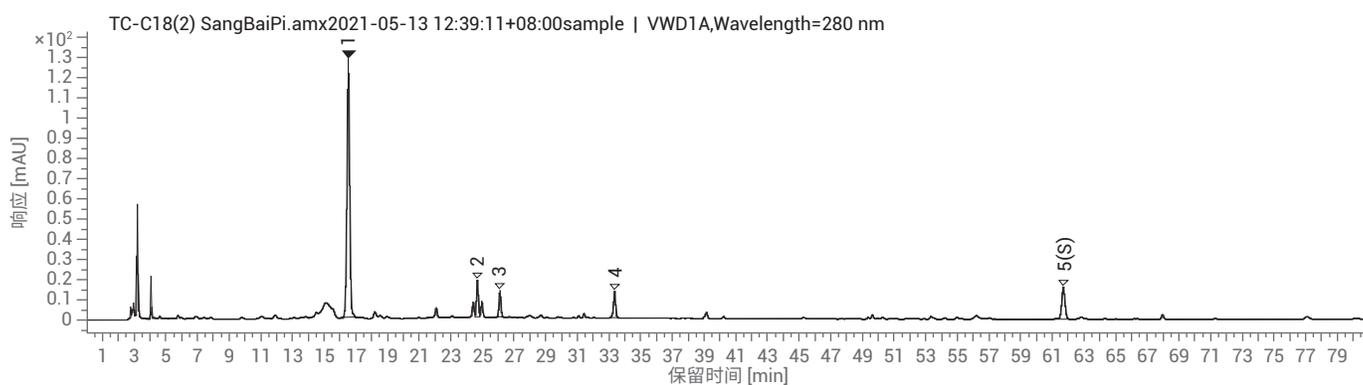
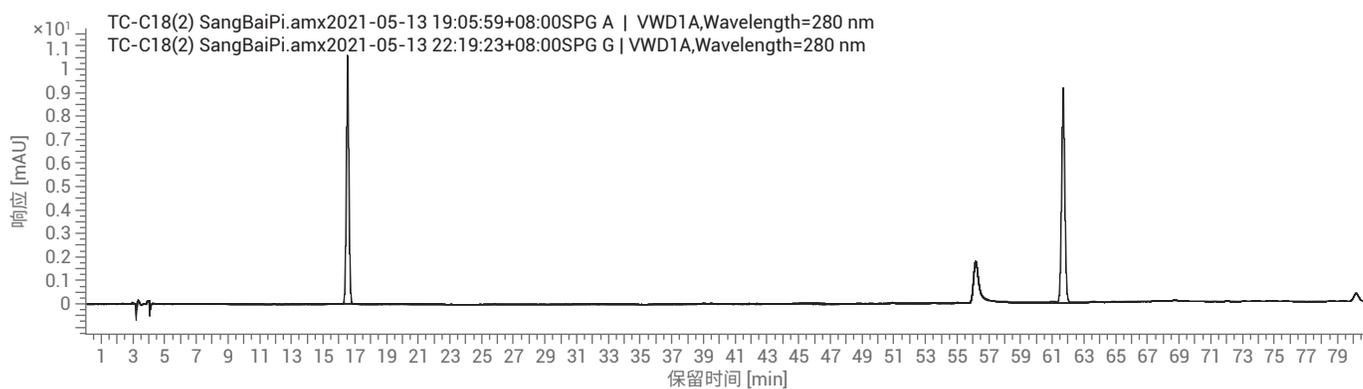
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-------------|-------|------|-----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.390 | 桑皮苷 A | | | | | 6130.08 |
| 2 | 4.627 | | 0.432 | 0.378~0.462 | | | 126426.59 |
| 3 | 4.770 | | 0.445 | 0.394~0.482 | | | 181534.93 |
| 4 | 6.199 | | 0.579 | 0.495~0.605 | | | 396299.50 |
| 5 (S) | 10.710 | 桑黄酮 G | | | | | 473799.60 |

小结及注意事项

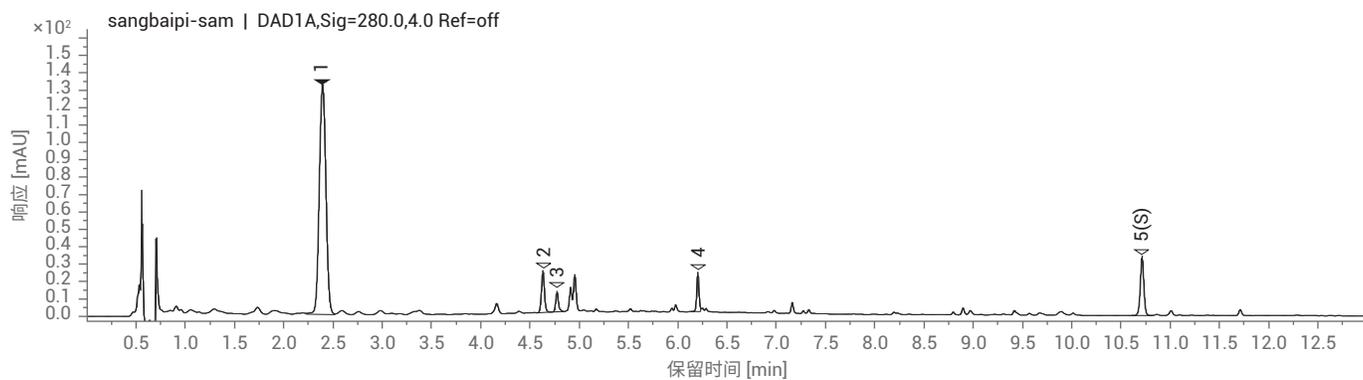
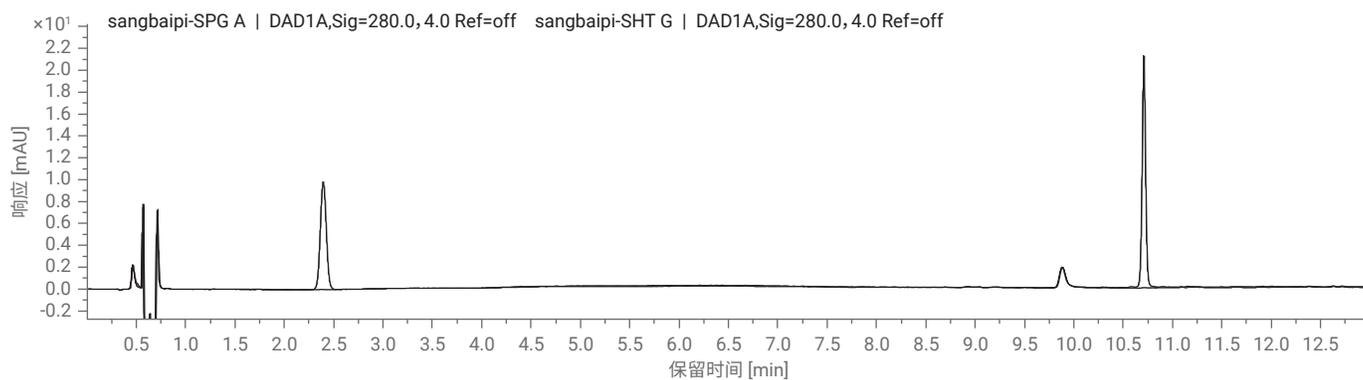
- 原始方法压力最高 144 bar, 转换后的 UHPLC 方法压力最高 400 bar
- 用 UHPLC 方法分析时间缩短 55 分钟
- 国标中无后运行方法, 建议 HPLC 方法后运行时间 10 min, UHPLC 方法后运行时间 6 min

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|--|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18(2), 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 588925-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 150 mm, 1.8 μm, PN: 959759-902 |
| 流动相 | MPA: 0.1% 磷酸溶液; MPB: 乙腈 | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.4 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 11 60 11 | 时间 (min) B% 0 11 10 11 |
| 柱温 | 25 °C | 25 °C |
| 检测器 | 324 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 324 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 ul | 1.7 ul |
| 对照品 | 桑皮苷 A, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-------|------------|----------|------------|-----------|
| 桑皮苷 A | 12.353 | 12019 | 1.02079 | 51.453 |

UHPLC 方法

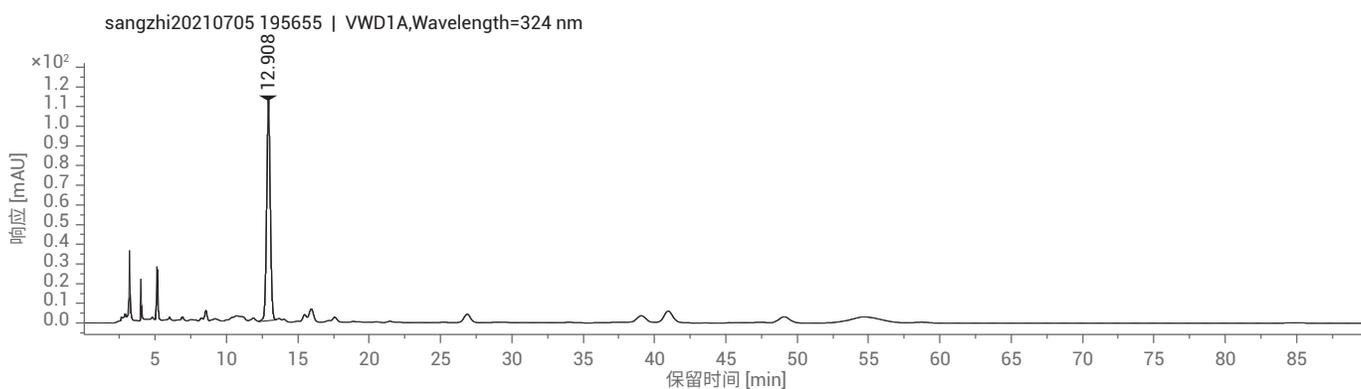
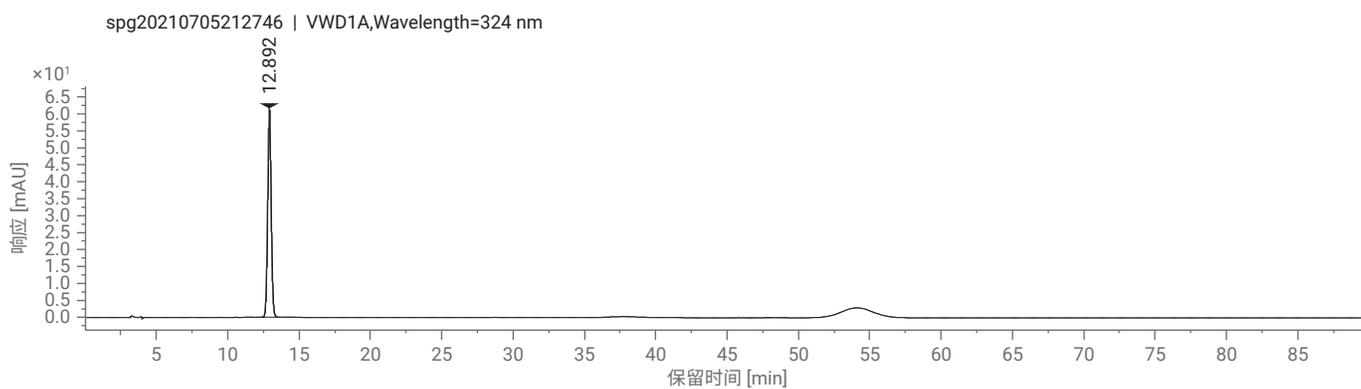
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-------|------------|----------|------------|-----------|
| 桑皮苷 A | 2.489 | 13631 | 1.06 | 48.39 |

小结及注意事项

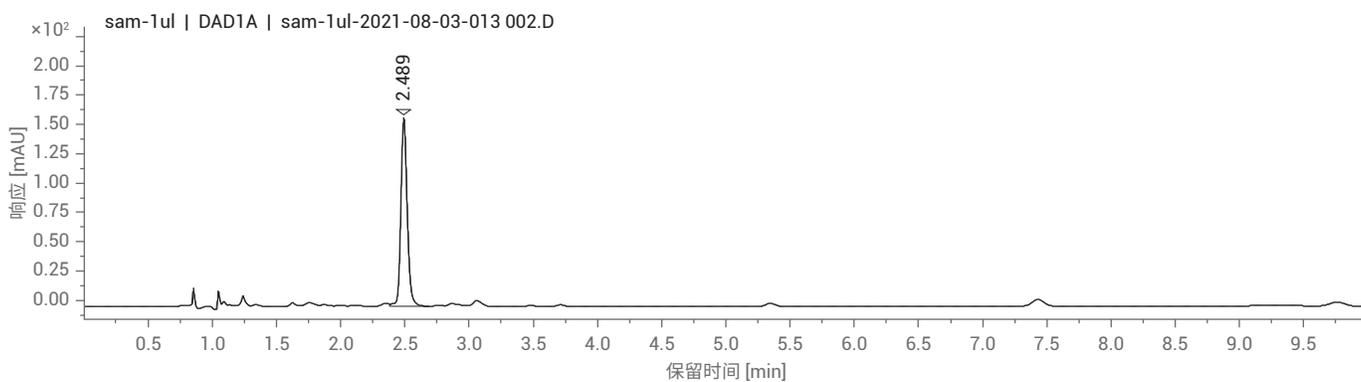
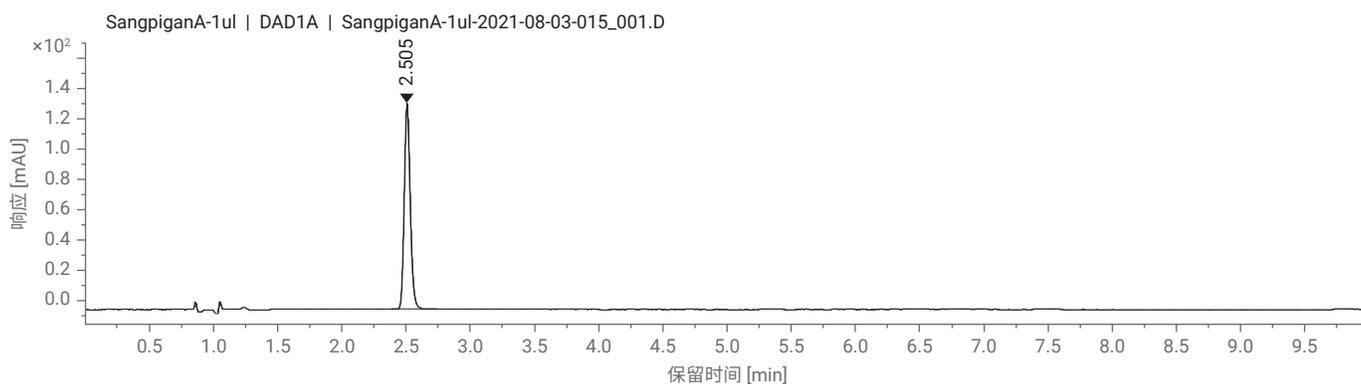
- HPLC 等度条件下, 供试品中桑皮苷 A 出峰 12.35 分钟, 但是样品中一直有组分被洗脱出来, 所以建议方法结束时间为 60 分钟或者在 20 分钟后改为梯度洗脱方法
- 等度条件下, 分析时间由 60 分钟缩短至 10 分钟

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



桑枝配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|---|----|---|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|--------|---|----------|----|---|----|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|--------|-------|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18(2), 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 588925-902 | Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 695675-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: ACN; MPB: 0.1% FA | 柱温 25 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.5 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <tr><td>时间 (min)</td><td>B%</td></tr> <tr><td>0</td><td>91</td></tr> <tr><td>5</td><td>91</td></tr> <tr><td>15</td><td>87</td></tr> <tr><td>45</td><td>78</td></tr> <tr><td>50</td><td>66</td></tr> <tr><td>65</td><td>35</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>10 min</td></tr> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 91 | 5 | 91 | 15 | 87 | 45 | 78 | 50 | 66 | 65 | 35 | 后运行时间: | 10 min | <table border="1"> <tr><td>时间 (min)</td><td>B%</td></tr> <tr><td>0</td><td>91</td></tr> <tr><td>0.76</td><td>91</td></tr> <tr><td>2.28</td><td>87</td></tr> <tr><td>6.84</td><td>78</td></tr> <tr><td>7.60</td><td>66</td></tr> <tr><td>9.88</td><td>35</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>3 min</td></tr> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 91 | 0.76 | 91 | 2.28 | 87 | 6.84 | 78 | 7.60 | 66 | 9.88 | 35 | 后运行时间: | 3 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 91 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 91 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 15 | 87 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 45 | 78 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 50 | 66 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 65 | 35 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 10 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 91 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0.76 | 91 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2.28 | 87 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6.84 | 78 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7.60 | 66 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9.88 | 35 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 3 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 320 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 5 Hz | 320 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 1.7 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 桑皮苷 A, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-------------|-------|------|------------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 (S) | 16.513 | 桑皮苷 A | | | | | 57472.60 |
| 2 | 18.193 | | 1.102 | 0.993~1.213 | | | 71568.40 |
| 3 | 22.666 | | 1.373 | 1.230~1.504 | | | 94180.25 |
| 4 | 31.146 | | 1.886 | 1.653~2.021 | | | 75114.02 |
| 5 | 45.143 | | 2.734 | 2.405~2.939 | | | 148614.77 |
| 6 | 54.966 | | 3.329 | 2.954~3.610 | | | 1367449.95 |

UHPLC 方法

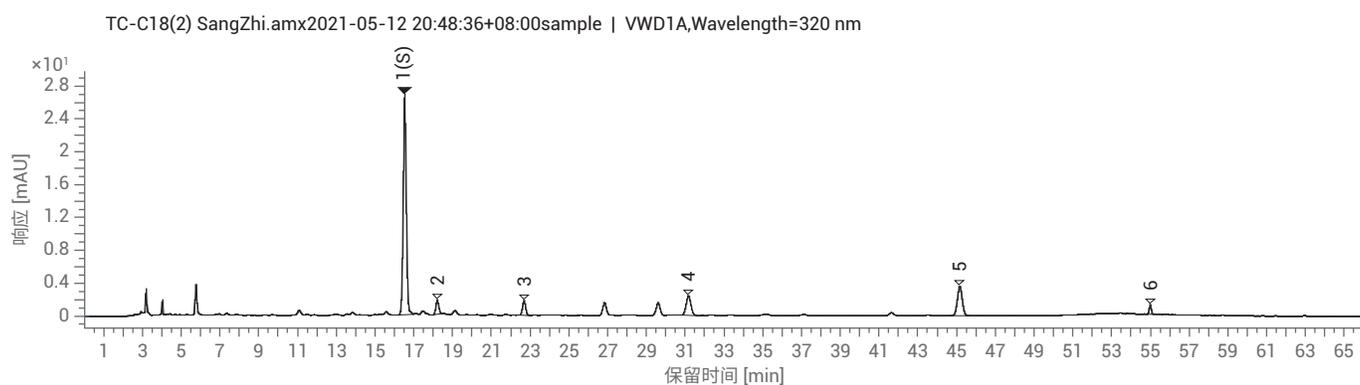
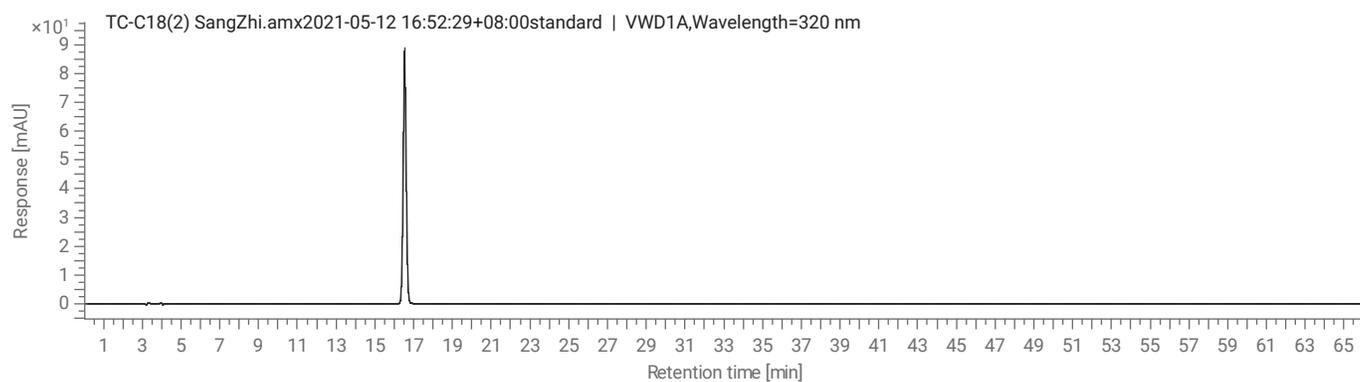
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-------------|-------|------|-----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 (S) | 1.555 | 桑皮苷 A | | | | | 6055.36 |
| 2 | 1.937 | | 1.246 | 0.993~1.213 | | | 7648.16 |
| 3 | 3.196 | | 2.055 | 1.230~1.504 | | | 34667.71 |
| 4 | 4.133 | | 2.658 | 1.653~2.021 | | | 80989.31 |
| 5 | 6.305 | | 4.055 | 2.405~2.939 | | | 137263.92 |
| 6 | 8.705 | | 5.598 | 2.954~3.610 | | | 478258.42 |

小结及注意事项

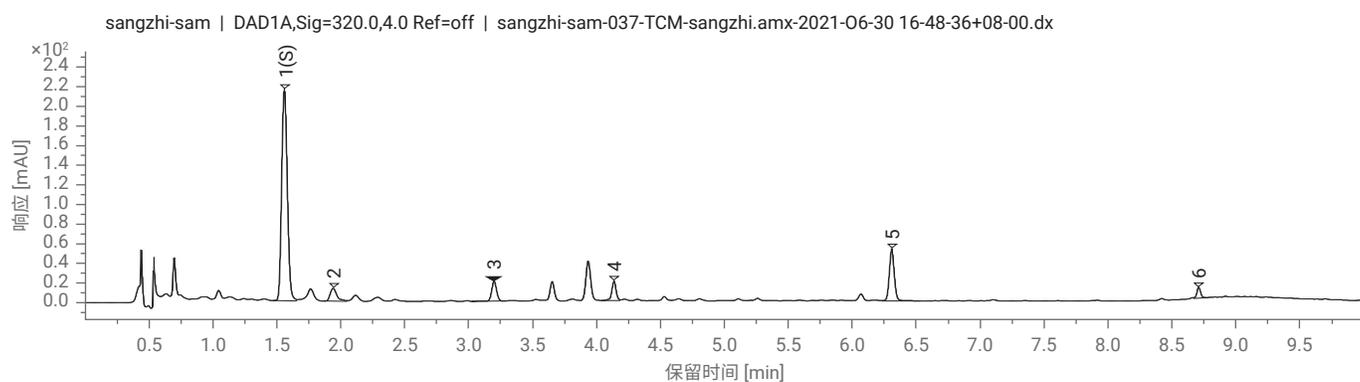
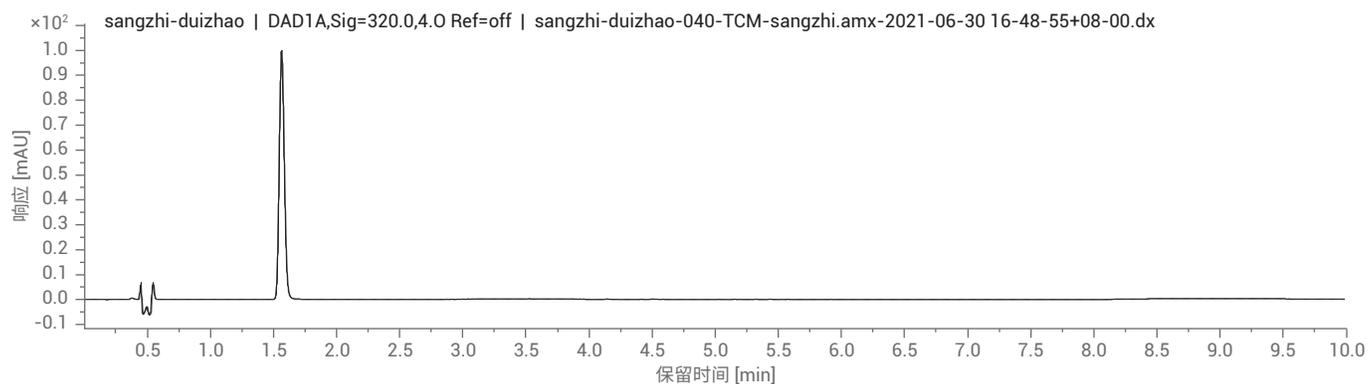
- 原始方法压力最高 142 bar, 转换后的 UHPLC 方法压力最高 565 bar
- 方法转换后, 分析时间由 65 分钟缩短至 10 分钟
- 按照方法转换用 Poroshell 的色谱柱, 相对保留时间有偏差, 仅供参考
- 国标中无后运行方法, 建议 HPLC 方法后运行时间 10 min, UHPLC 方法后运行时间 6 min

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|--|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18(2), 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 588925-902 | Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 695675-902 |
| 流动相 | MPA: 0.1%磷酸溶液; MPB: 乙腈 | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.5 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 11 90 11 | 时间 (min) B% 0 11 20 11 |
| 柱温 | 25 °C | 25 °C |
| 检测器 | 324 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 324 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10ul | 1.7ul |
| 对照品 | 桑皮苷 A, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-------|------------|----------|------------|-----------|
| 桑皮苷 A | 12.961 | 12504 | 1.049 | 18.821 |

UHPLC 方法

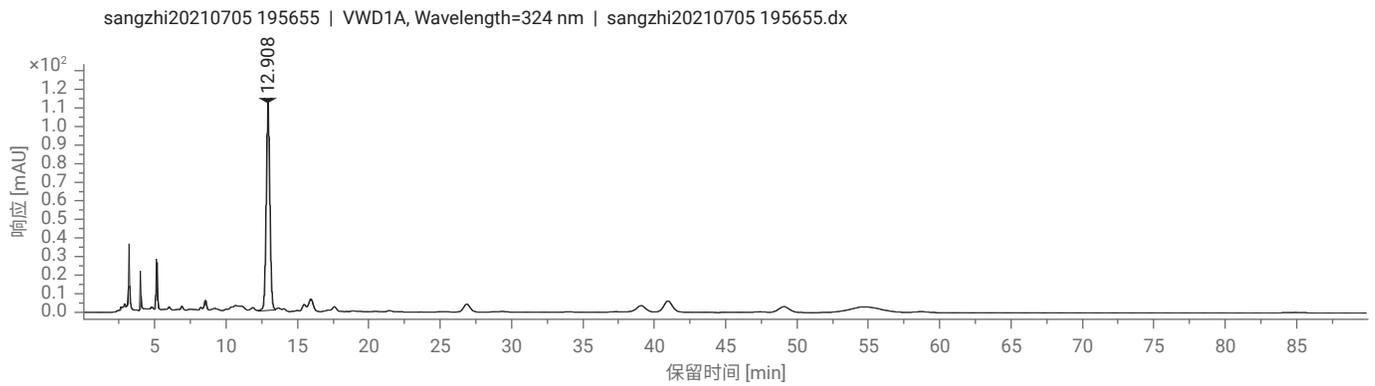
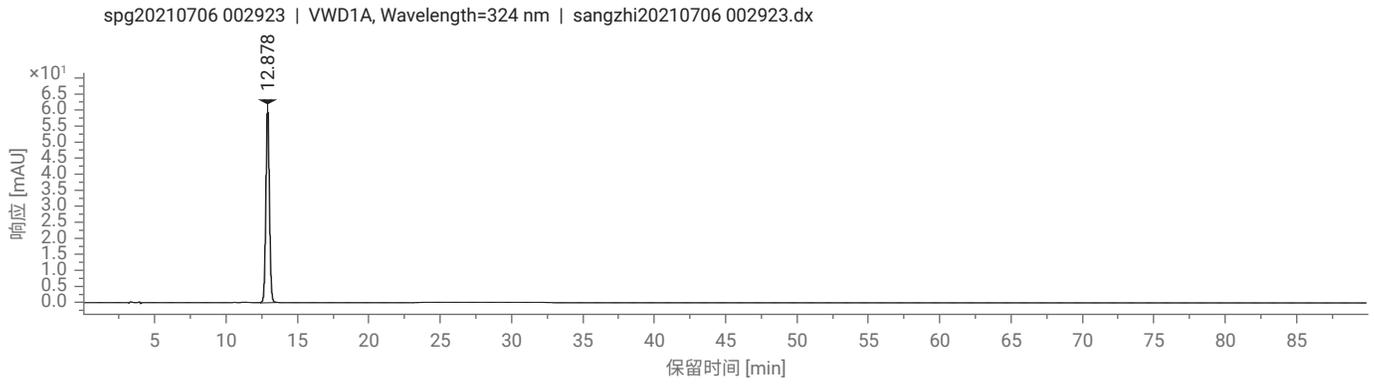
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-------|------------|----------|------------|-----------|
| 桑皮苷 A | 1.559 | 4957 | 1.4779 | 16.956 |

小结及注意事项

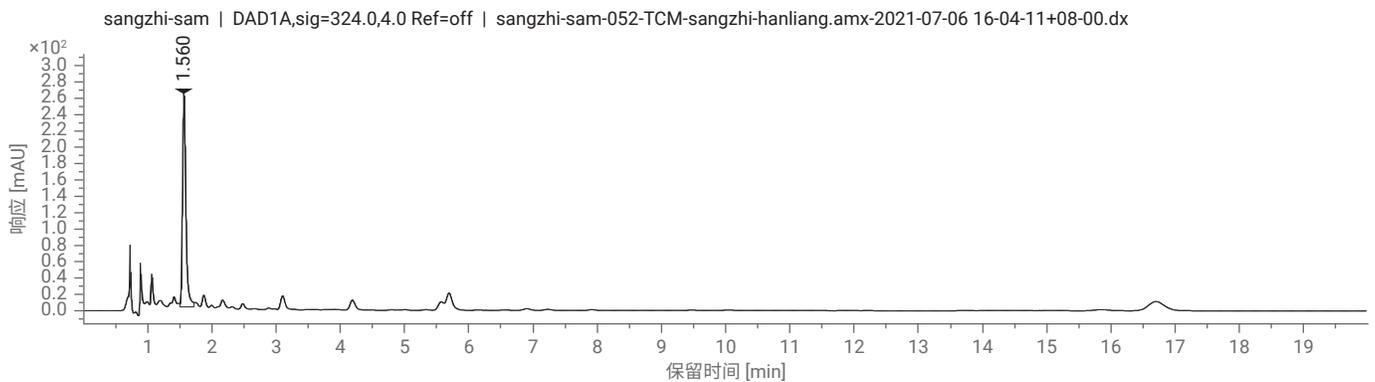
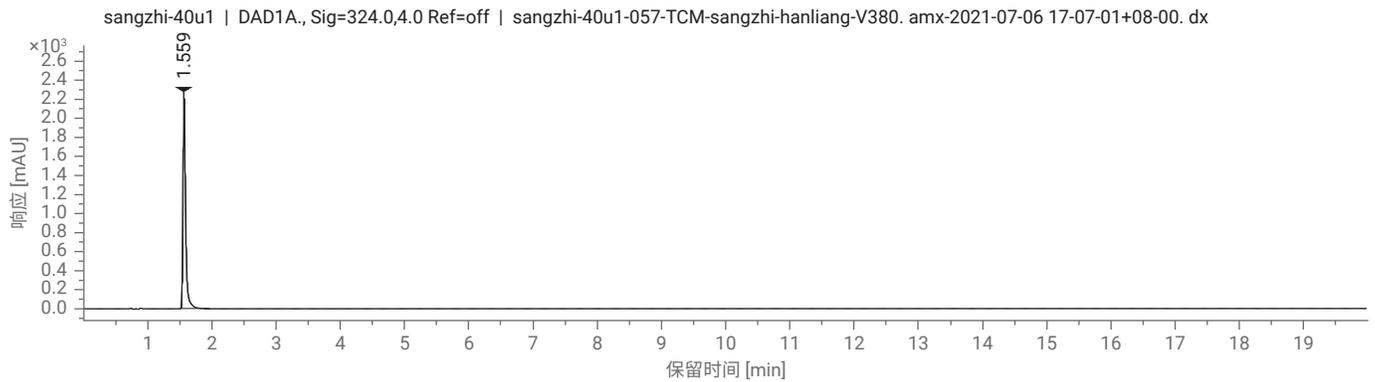
- HPLC 等度条件下, 供试品中桑皮苷 A 出峰 12.96 分钟, 但是样品中一直有组分被洗脱出来, 所以建议方法结束时间为 90 分钟或者在 20 分钟后改为梯度洗脱方法
- 等度条件下, 分析时间由 90 分钟缩短至 20 分钟

典型图谱

HPLC 方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



升麻（大三叶升麻） 配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|--|-------|-------------|-------|
| 仪器 | 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | 柱温 | 35 °C | |
| 流动相 | MPA: 0.05% 磷酸; MPB: ACN | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/ min | 加速方法: | 0.6 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 12 | 0 | 12 |
| | 1 | 12 | 0.5 | 12 |
| | 3 | 18 | 1.5 | 18 |
| | 6 | 18 | 3 | 18 |
| | 13 | 35 | 6.5 | 35 |
| | 15 | 90 | 7.5 | 90 |
| | 19 | 90 | 9.5 | 90 |
| | 后运行时间: | 5 min | 后运行时间: | 3 min |
| 检测器 | 320 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | 进样量 | 1 μl |
| 对照品 | 咖啡酸、阿魏酸、异阿魏酸, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------|------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 咖啡酸 | 3.431 | | | | | 16259 |
| 2 | 阿魏酸 | 6.334 | | | | | 55418 |
| 3 (S) | 异阿魏酸 | 6.906 | | | | | 56418 |
| 4 | | 9.776 | 1.42 | 1.30 ~ 1.58 | | | 175029 |
| 5 | | 11.191 | 1.62 | 1.51 ~ 1.85 | | | 312979 |
| 6 | | 12.157 | 1.76 | 1.66 ~ 2.02 | | | 389754 |
| 7 | | 12.384 | 1.79 | 1.69 ~ 2.07 | | | 390161 |

加速方法

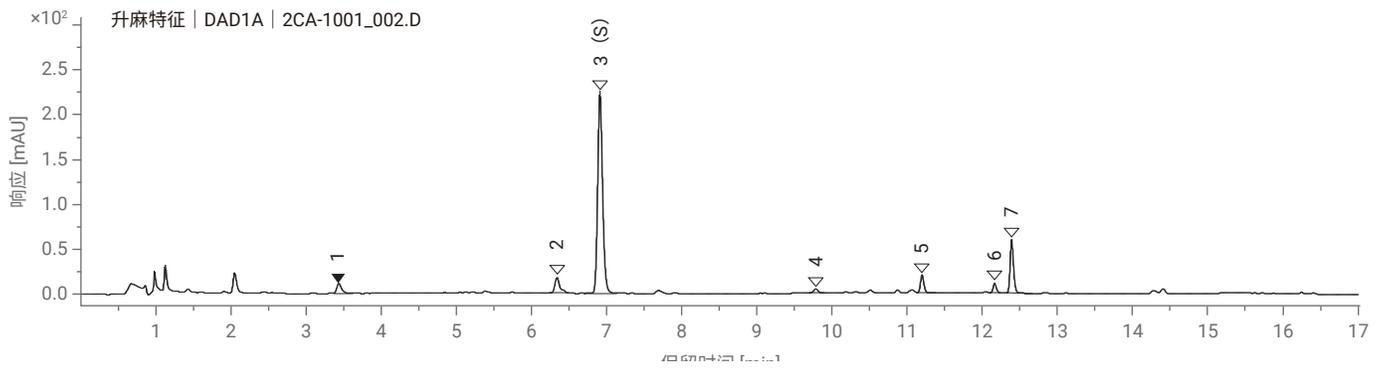
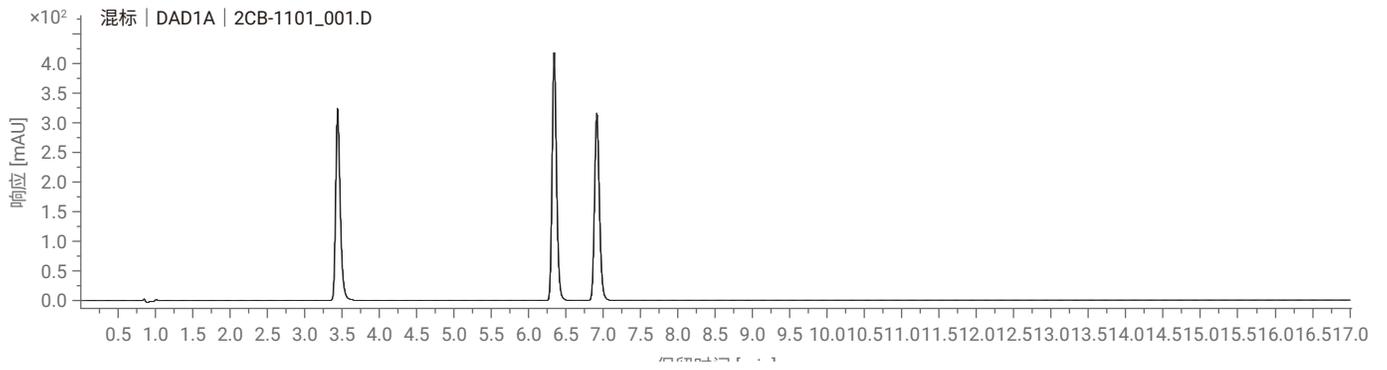
| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------|------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 咖啡酸 | 1.698 | | | | | 12736 |
| 2 | 阿魏酸 | 3.158 | | | | | 49729 |
| 3 (S) | 异阿魏酸 | 3.444 | | | | | 48363 |
| 4 | | 4.894 | 1.42 | 1.30 ~ 1.58 | | | 98727 |
| 5 | | 5.640 | 1.64 | 1.51 ~ 1.85 | | | 215325 |
| 6 | | 6.132 | 1.78 | 1.66 ~ 2.02 | | | 259442 |
| 7 | | 6.252 | 1.82 | 1.69 ~ 2.07 | | | 277808 |

小结及注意事项

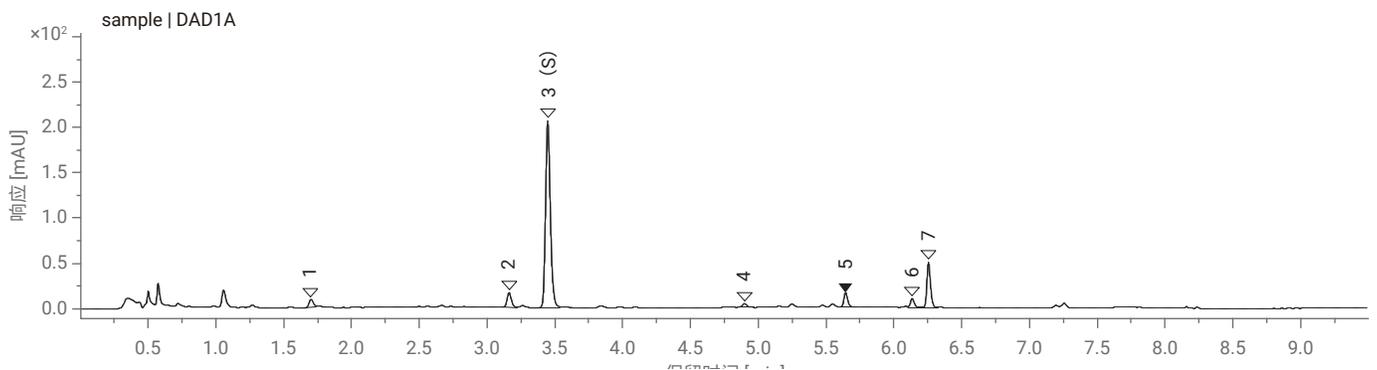
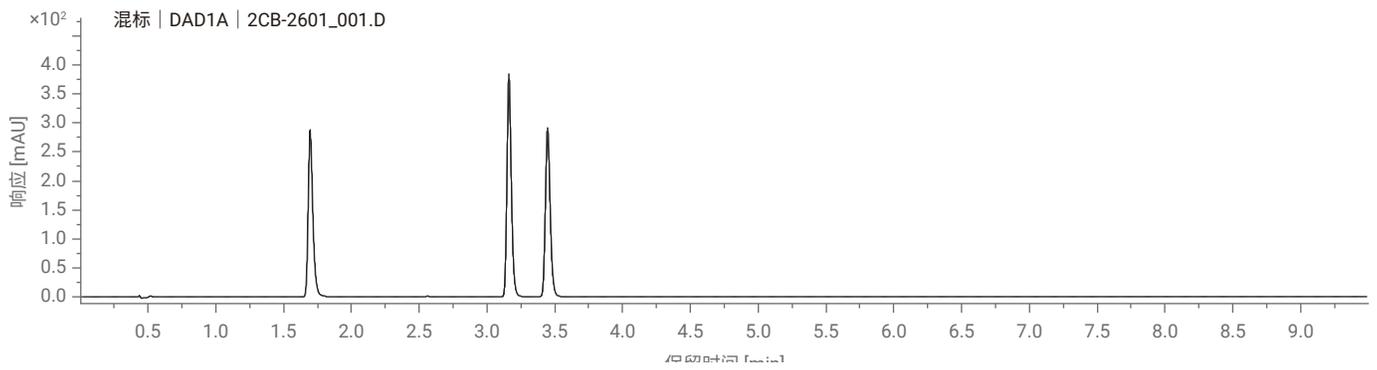
- 加速方法时间由原来 19 分钟缩短至 9.5 分钟,
- 加速后方法系统适用性及特征峰相对保留时间仍满足需求

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品、下图为供试品）



加速方法图谱（上图为对照品、下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | |
|-------|---|---|
| 仪器 | 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | |
| 流动相 | MPA: 0.1% 磷酸水溶液; MPB: ACN; | |
| 流速 | 原始方法: 0.4 ml/ min (原标准流速) | 加速方法: 0.6 ml/ min |
| 流动相比例 | 原始方法: 时间 (min) B% 0 13 10 13 12 100 15 100 17 13 27 13 | 加速方法: 时间 (min) B% 0 13 6.7 13 8 100 10 100 11.3 13 18 13 |
| 柱温 | 30 °C | |
| 检测器 | 316 nm (4 nm), Ref. off; 采样频率: 20 Hz | |
| 进样量 | 1 μl | |
| 对照品 | 异阿魏酸由诗丹德提供 | |

系统适用性

原方法

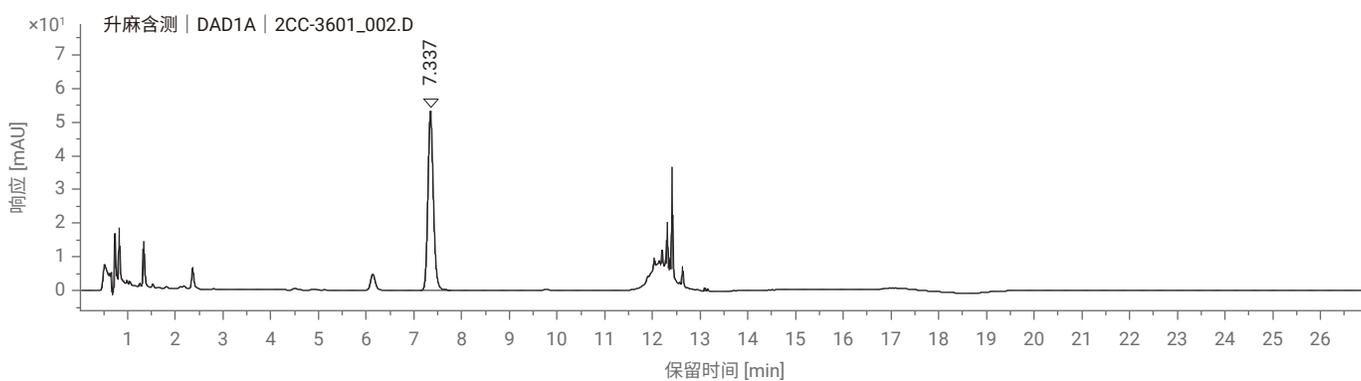
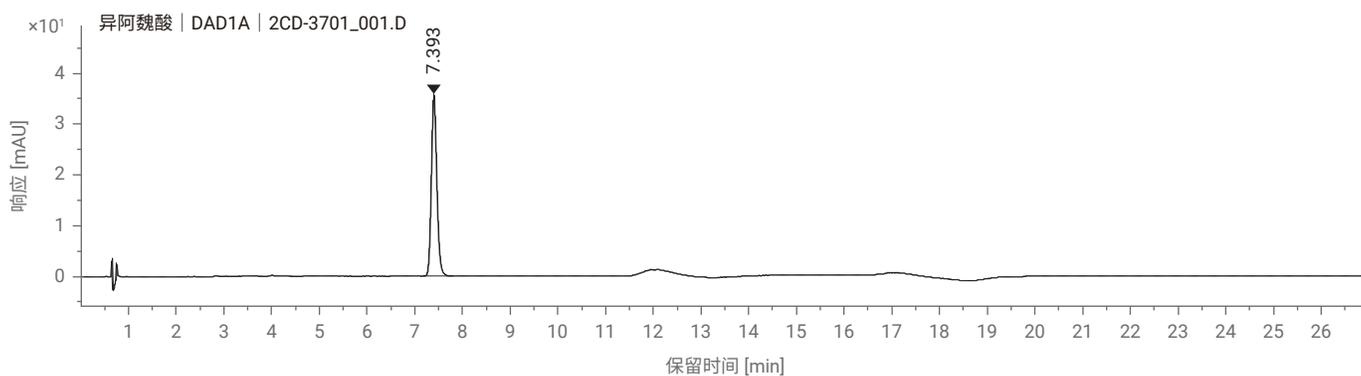
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|------|------------|----------|------------|--------|
| 异阿魏酸 | 7.337 | 21041 | 0.82 | 1.81 |

UHPLC 方法

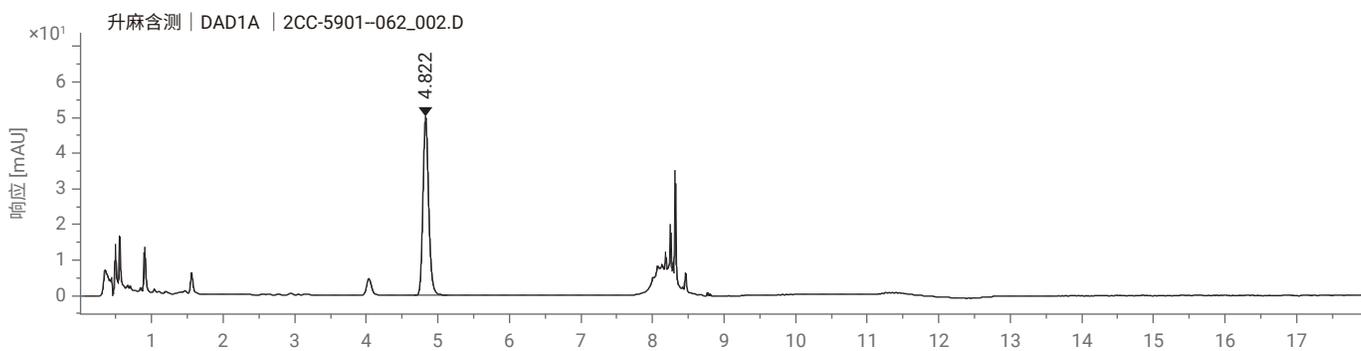
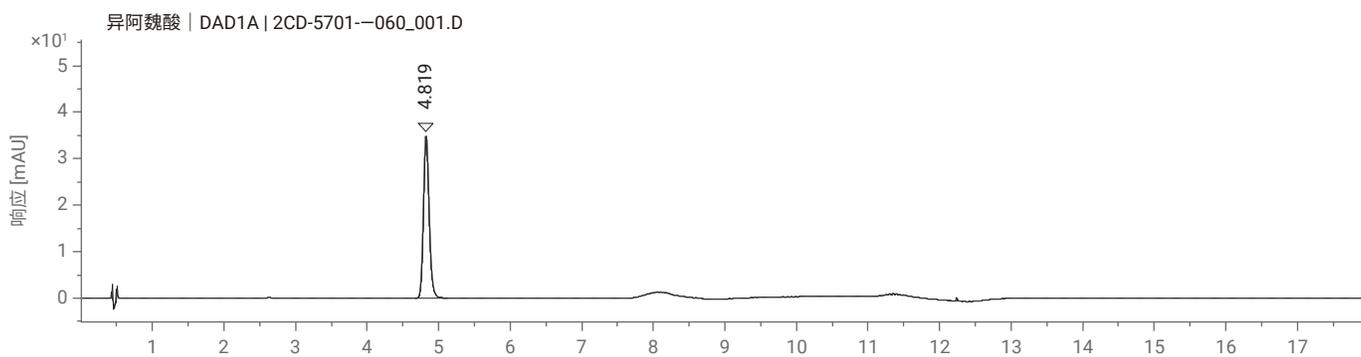
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|------|------------|----------|------------|--------|
| 异阿魏酸 | 4.823 | 18641 | 0.82 | 1.78 |

典型图谱

原方法（上图为对照品、下图为供试品）



加速方法（对照品和供试品）



烫骨碎补配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--|---|----|---|----|---|----|----|----|----|----|----|----|--------|--------|--|----------|----|---|----|---|----|-----|----|-----|----|-----|----|--------|-------|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 880975-902 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPB: ACN; MPA: 0.08%甲酸 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>A%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>94</td></tr> <tr><td>7</td><td>94</td></tr> <tr><td>12</td><td>89</td></tr> <tr><td>14</td><td>89</td></tr> <tr><td>45</td><td>73</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>12 min</td></tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | A% | 0 | 94 | 7 | 94 | 12 | 89 | 14 | 89 | 45 | 73 | 后运行时间: | 12 min | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>A%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>94</td></tr> <tr><td>1</td><td>94</td></tr> <tr><td>1.8</td><td>89</td></tr> <tr><td>2.1</td><td>89</td></tr> <tr><td>7.0</td><td>73</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>4 min</td></tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | A% | 0 | 94 | 1 | 94 | 1.8 | 89 | 2.1 | 89 | 7.0 | 73 | 后运行时间: | 4 min |
| 时间 (min) | A% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 94 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | 94 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | 89 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 14 | 89 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 45 | 73 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 12 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | A% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 94 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 94 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1.8 | 89 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2.1 | 89 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7.0 | 73 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 4 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 40 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 260 nm (4 nm), Ref: 450 nm (100 nm); 采样频率: 10 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 原儿茶酸、柚皮苷, 均由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 6.81 | | 0.794 | 0.714~0.872 | | | 10346 |
| 2(S1) | 8.579 | 原儿茶酸 | | | | | 11994 |
| 3 | 19.545 | | 0.553 | 0.519~0.635 | | | 84080 |
| 4 | 30.684 | | 0.868 | 0.788~0.964 | | | 202355 |
| 5(S2) | 35.356 | 柚皮苷 | | | | | 230579 |

UHPLC 方法

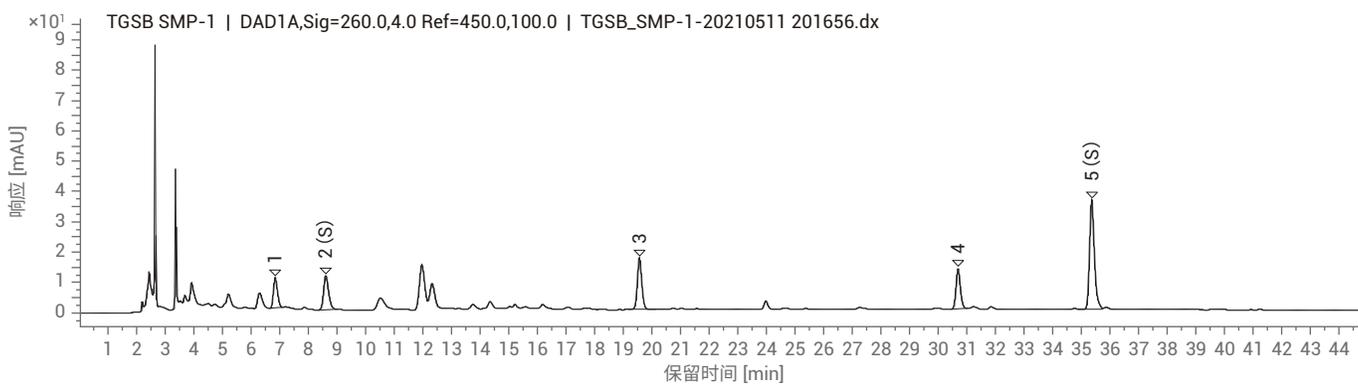
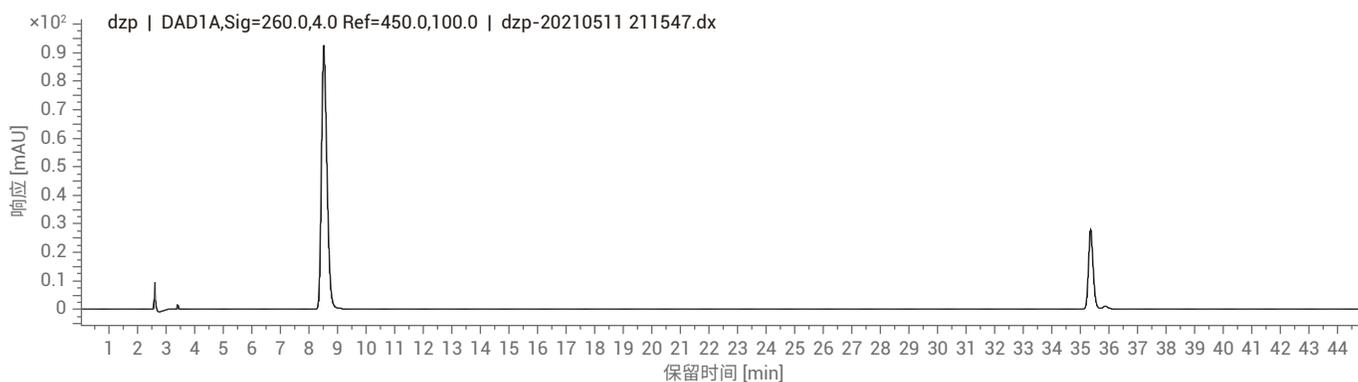
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 1.024 | | 0.821 | 0.714~0.872 | | | 7219 |
| 2(S1) | 1.248 | 原儿茶酸 | 1.000 | | | | 8931 |
| 3 | 3.548 | | 0.595 | 0.519~0.635 | | | 99413 |
| 4 | 5.275 | | 0.885 | 0.788~0.964 | | | 205517 |
| 5(S2) | 5.963 | 柚皮苷 | 1.000 | | | | 253470 |

小结及注意事项

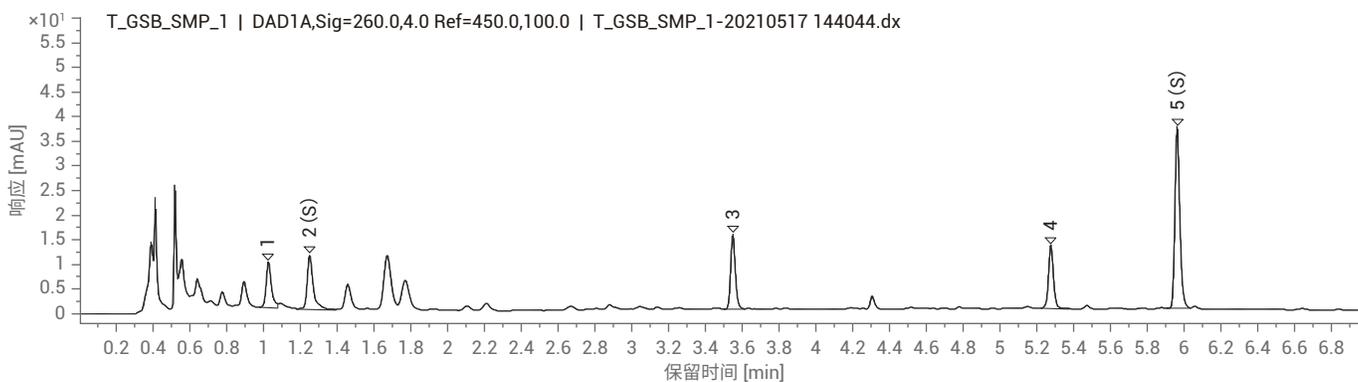
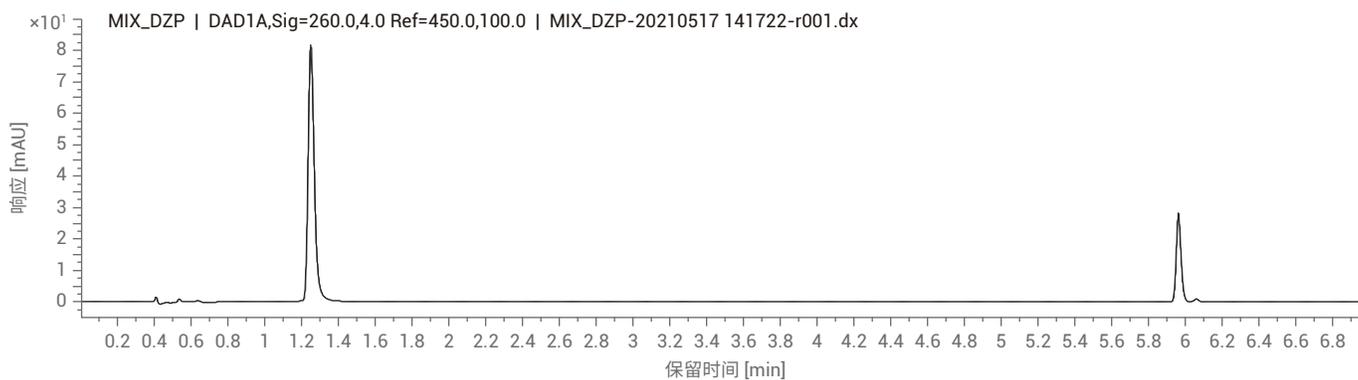
- 常规分析方法中设置了后运行时间 12 min, UHPLC 方法后运行时间为 4 min
- 原始方法分析时可在自动进样器到色谱柱中间加粗管路 (0.5 mmID × 400 mm) 以避免溶剂效应
- 原始方法压力最高 100 bar, UHPLC 方法压力最高 563 bar; 使用 UHPLC 方法后分析时间缩短 38 分钟

特征图谱

HPLC 方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|---|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 880975-902 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 |
| 流动相 | MPA: 3% 冰醋酸水溶液; MPB: 3%冰醋酸甲醇溶液 | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 31 20 31 | 时间 (min) B% 0 31 5 31 |
| 柱温 | 30 °C | 40 °C |
| 检测器 | 283 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 283 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 2 μl |
| 对照品 | 柚皮苷, 诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 柚皮苷 | 13.82 | 4985.37 | 1.11 | 16.3 |

UHPLC 方法

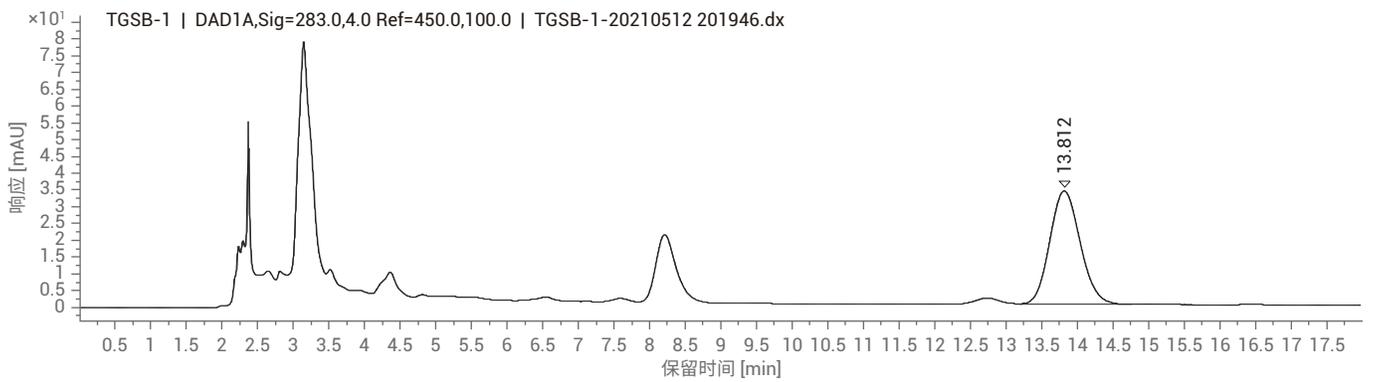
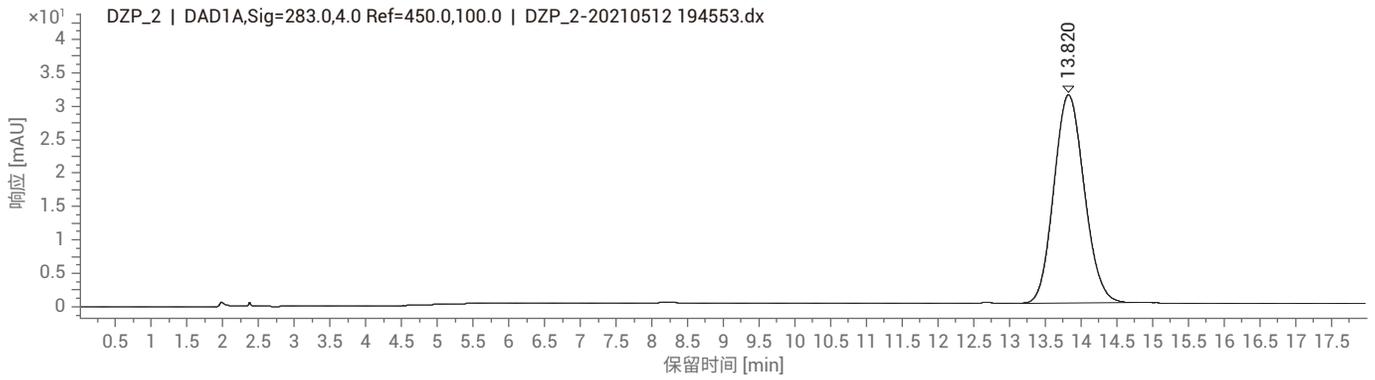
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 柚皮苷 | 1.949 | 3988.52 | 1.12 | 14.59 |

小结及注意事项

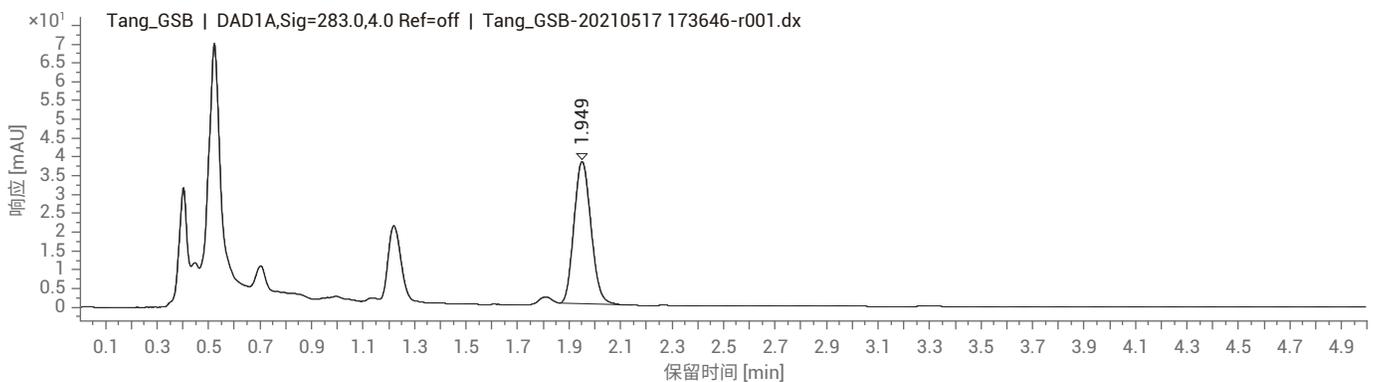
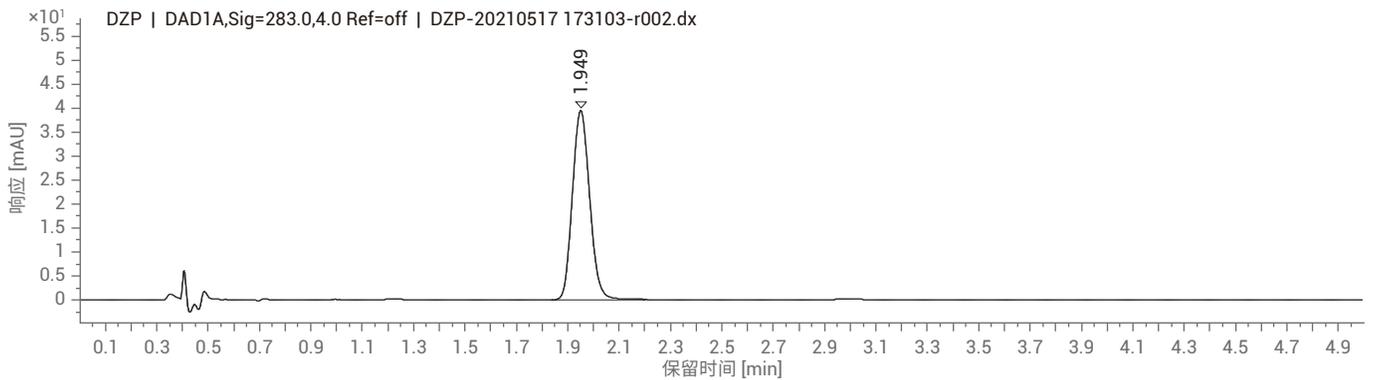
- 原始方法压力最高 176 bar, UHPLC 方法压力最高 740 bar
- 使用 UHPLC 方法后分析时间缩短约 15 分钟

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



桃仁（桃）配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|---|----|---|----|----|----|----|----|----|----|--|----------|----|---|----|------|----|------|----|------|----|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18(2), 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 588925-902 | Poroshell SB-C18, 2.1 mm × 100 mm, 1.9 μm, PN: 685675-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: MeOH; MPB: 0.1% H ₃ PO ₄ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.5 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>95</td></tr> <tr><td>10</td><td>85</td></tr> <tr><td>20</td><td>75</td></tr> <tr><td>30</td><td>65</td></tr> </tbody> </table> 后运行时间: 15 min | 时间 (min) | B% | 0 | 95 | 10 | 85 | 20 | 75 | 30 | 65 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>95</td></tr> <tr><td>1.52</td><td>85</td></tr> <tr><td>3.04</td><td>75</td></tr> <tr><td>4.56</td><td>65</td></tr> </tbody> </table> 后运行时间: 5 min | 时间 (min) | B% | 0 | 95 | 1.52 | 85 | 3.04 | 75 | 4.56 | 65 |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 95 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 85 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 20 | 75 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | 65 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 95 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1.52 | 85 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3.04 | 75 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4.56 | 65 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 25 °C | 25 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 214 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 214 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 1.7 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 苦杏仁苷 (D 型), 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 21.937 | | 0.878 | 0.811~0.951 | | | 83077 |
| 2 | 22.637 | 色氨酸 | 0.906 | 0.829~0.973 | | | 78712 |
| 3 (S) | 24.985 | 苦杏仁苷 | | | | | 73334 |
| 4 | 27.477 | | 1.100 | 1.024~1.202 | | | 97828 |
| 5 | 28.209 | | 1.129 | 1.052~1.236 | | | 90974 |

UHPLC 方法

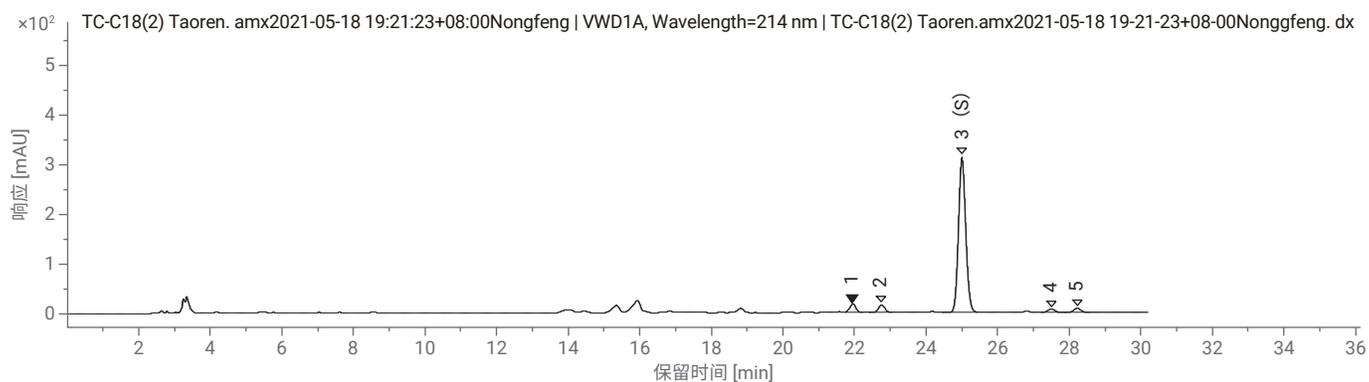
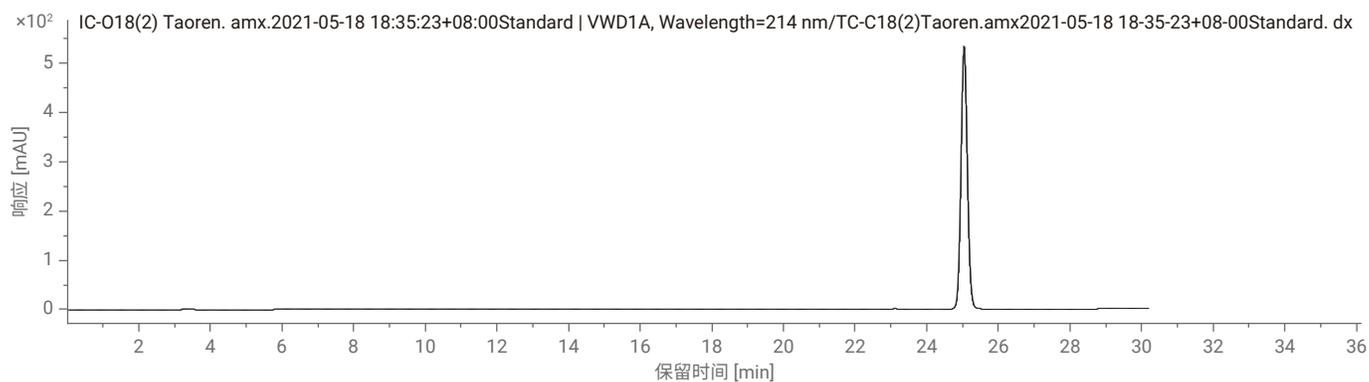
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 3.873 | | 0.849 | 0.811~0.951 | | | 84841 |
| 2 | 4.143 | 色氨酸 | 0.908 | 0.829~0.973 | | | 112605 |
| 3 (S) | 4.564 | 苦杏仁苷 | | | | | 28555 |
| 4 | 4.876 | | 1.068 | 1.024~1.202 | | | 105099 |
| 5 | 4.975 | | 1.090 | 1.052~1.236 | | | 168479 |

小结及注意事项

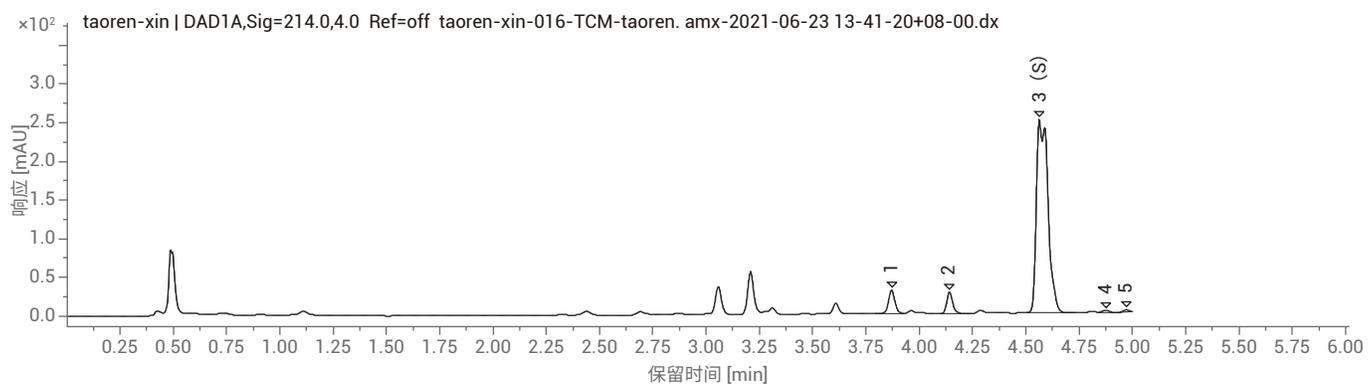
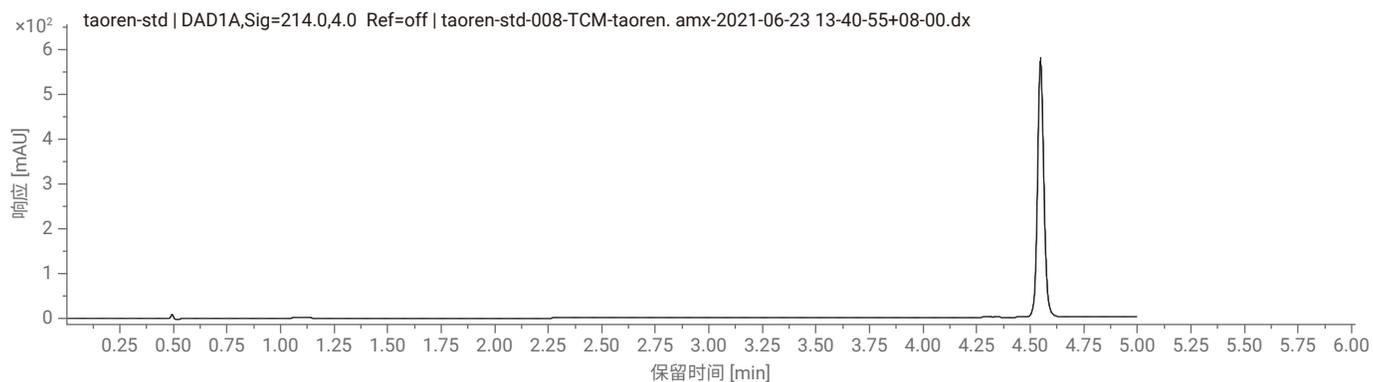
- 原始方法压力最高 220 bar, UHPLC 方法压力最高 915 bar
- 原方法增加后平衡时间 15 分钟, UHPLC 增加后平衡时间 5 分钟
- 转换后的 UHPLC 方法由于柱效提高可以将供试品中 D/L-苦杏仁苷分离成肩峰, 原 HPLC 方法无法分离
- 国标中无后运行方法, 建议 HPLC 方法后运行时间 10 min, UHPLC 方法后运行时间 6 min

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| UHPLC 方法 | |
|----------|--|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 × 50 mm, 1.8 μm, PN: 959741-902 |
| 流动相 | MPA: ACN; MPB: 0.1% H ₃ PO ₄ |
| 流速 | 0.4 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 97 10 97 12 96 25 96 后运行时间: 5 min |
| 柱温 | 25 °C |
| 检测器 | 214 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 1 μl |
| 对照品 | 苦杏仁苷, 由诗丹德提供 |

系统适用性

UHPLC 方法

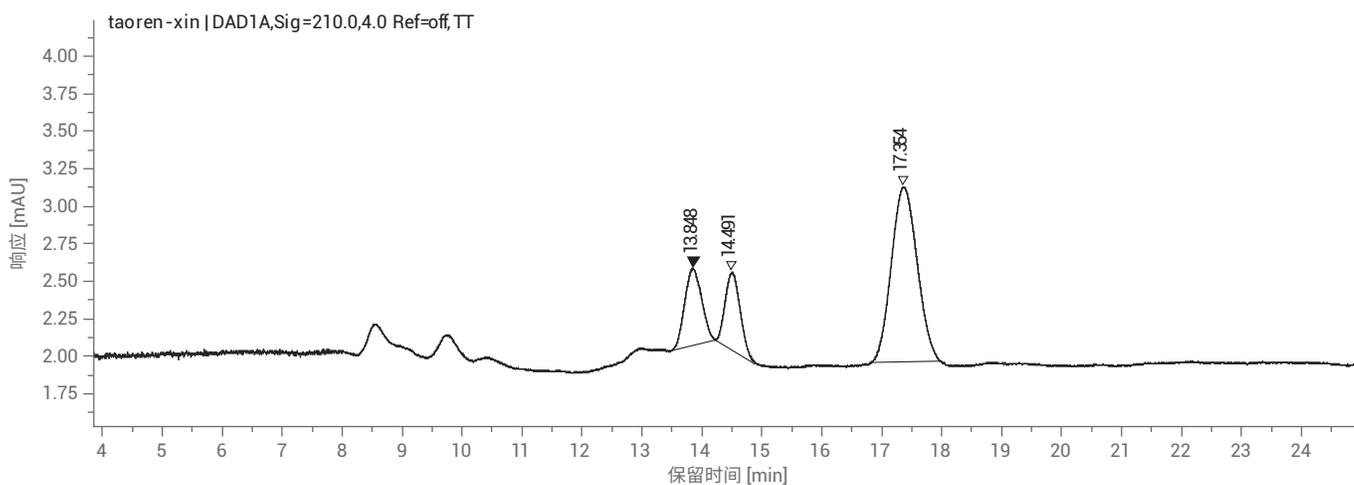
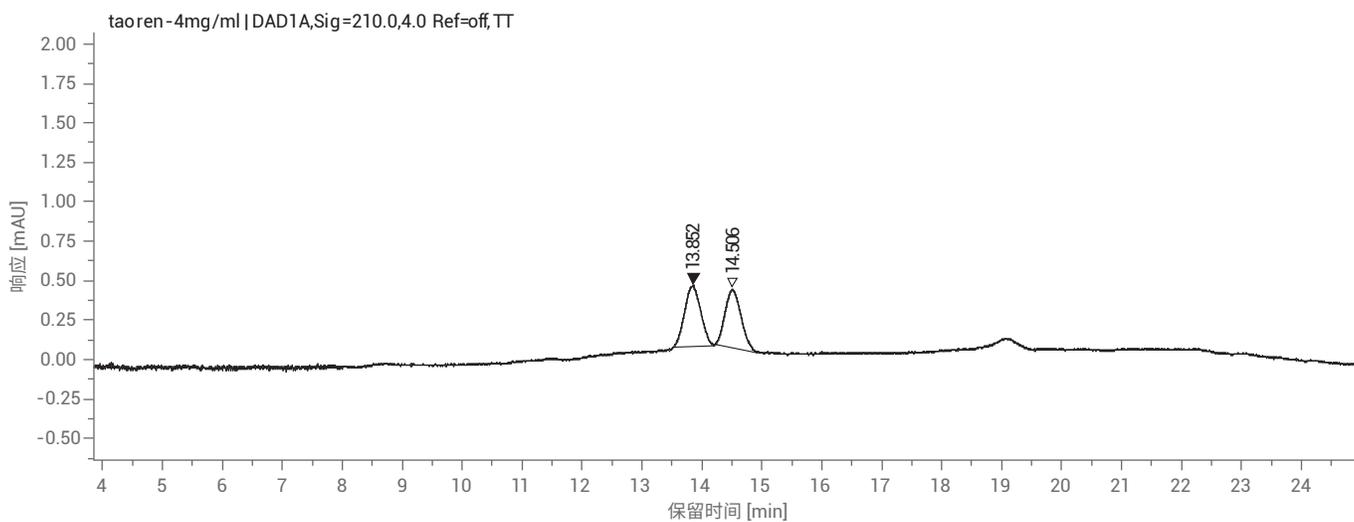
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|----------|------------|----------|------------|--------|
| 苦杏仁苷及异构体 | 14.491 | 14681.83 | 0.97402 | 30.5 |

小结及注意事项

- 更换自动进样器到柱温箱管线为 0.25 mm 内径, 以克服溶剂效应
- 增加 5 分钟后平衡时间
- 苦杏仁苷标样配成溶液后长时间放置不稳定, 建议超过 48 小时后重新配置
- 对照品为 D-苦杏仁苷, 而供试品中同时含有 D 型和 L 型苦杏仁苷, 含量测定时容易造成困惑

典型图谱

UHPLC 方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



土茯苓配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--|---|----|---|----|---|----|---|----|----|----|--------|-------|---|----------|----|---|----|-----|----|-----|----|-----|----|--------|-------|
| 仪器 | 1260 Prime UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104C), 自动进样器 (G7129C), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 二元系统, 包括: 二元泵 (G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: ACN; MPB: 0.2% HAc | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.4 ml/min | 加速方法: 0.6 ml/min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>A%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>13</td></tr> <tr><td>2</td><td>13</td></tr> <tr><td>5</td><td>17</td></tr> <tr><td>14</td><td>23</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>5 min</td></tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | A% | 0 | 13 | 2 | 13 | 5 | 17 | 14 | 23 | 后运行时间: | 5 min | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>A%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>13</td></tr> <tr><td>1.3</td><td>13</td></tr> <tr><td>3.3</td><td>17</td></tr> <tr><td>9.3</td><td>23</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>3 min</td></tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | A% | 0 | 13 | 1.3 | 13 | 3.3 | 17 | 9.3 | 23 | 后运行时间: | 3 min |
| 时间 (min) | A% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 13 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 13 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 17 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 14 | 23 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 5 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | A% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 13 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1.3 | 13 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3.3 | 17 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9.3 | 23 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 3 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 30 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 291 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 落新妇苷、黄杞苷, 均有诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|--------|--------|-----------|-------|-----------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 6.74 | 新落新妇苷 | 0.93 | 0.84-1.02 | | | 51061 |
| 2 (S) | 7.24 | 落新妇苷 | | | | | 57705 |
| 3 | 8.57 | 新异落新妇苷 | 1.19 | 1.09-1.33 | 0.51 | 0.38-0.88 | 71969 |
| 4 | 8.96 | 异落新妇苷 | 1.24 | 1.13-1.39 | | | 79527 |
| 5 | 9.55 | 黄杞苷 | | | | | 77695 |

加速方法

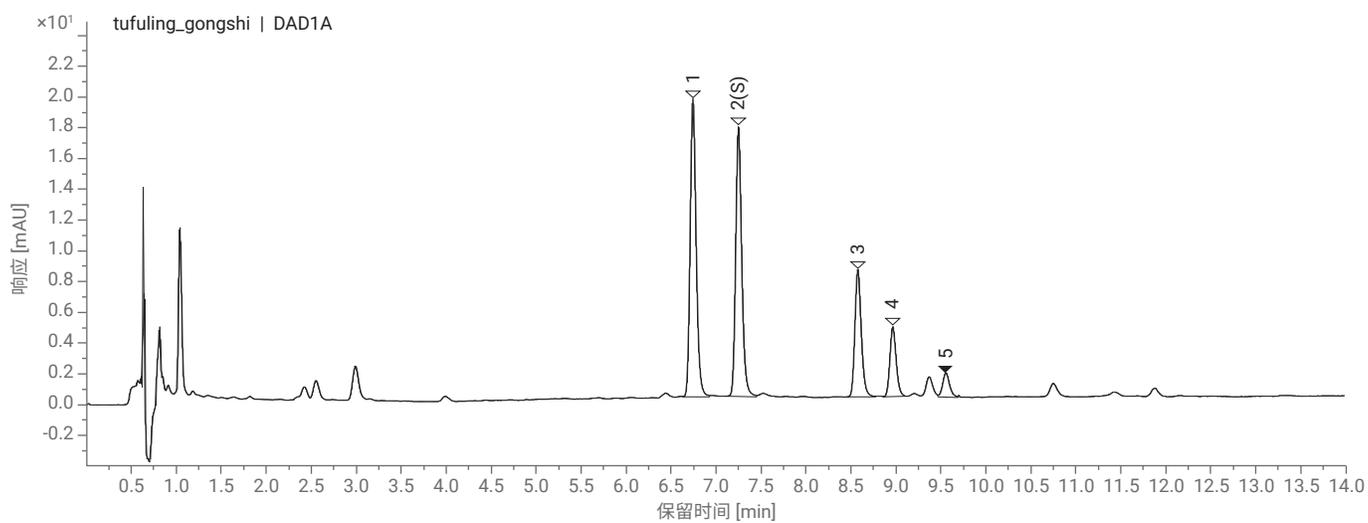
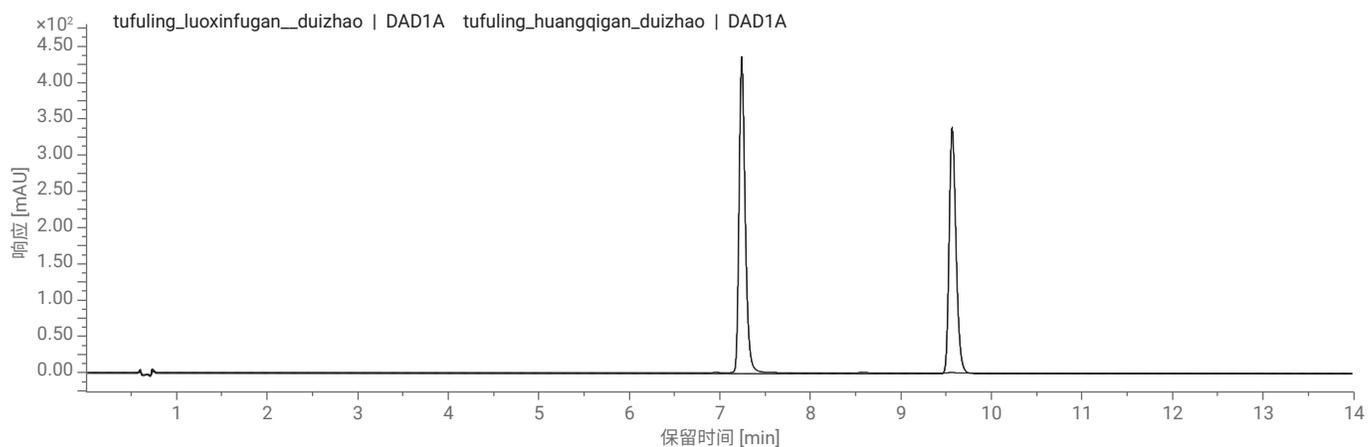
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|--------|--------|-----------|-------|-----------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 4.21 | 新落新妇苷 | 0.93 | 0.84-1.02 | | | 46049 |
| 2 (S) | 4.52 | 落新妇苷 | | | | | 52712 |
| 3 | 5.36 | 新异落新妇苷 | 1.19 | 1.09-1.33 | 0.55 | 0.38-0.88 | 65137 |
| 4 | 5.62 | 异落新妇苷 | 1.24 | 1.13-1.39 | | | 64125 |
| 5 | 6.01 | 黄杞苷 | | | | | 57330 |

小结及注意事项

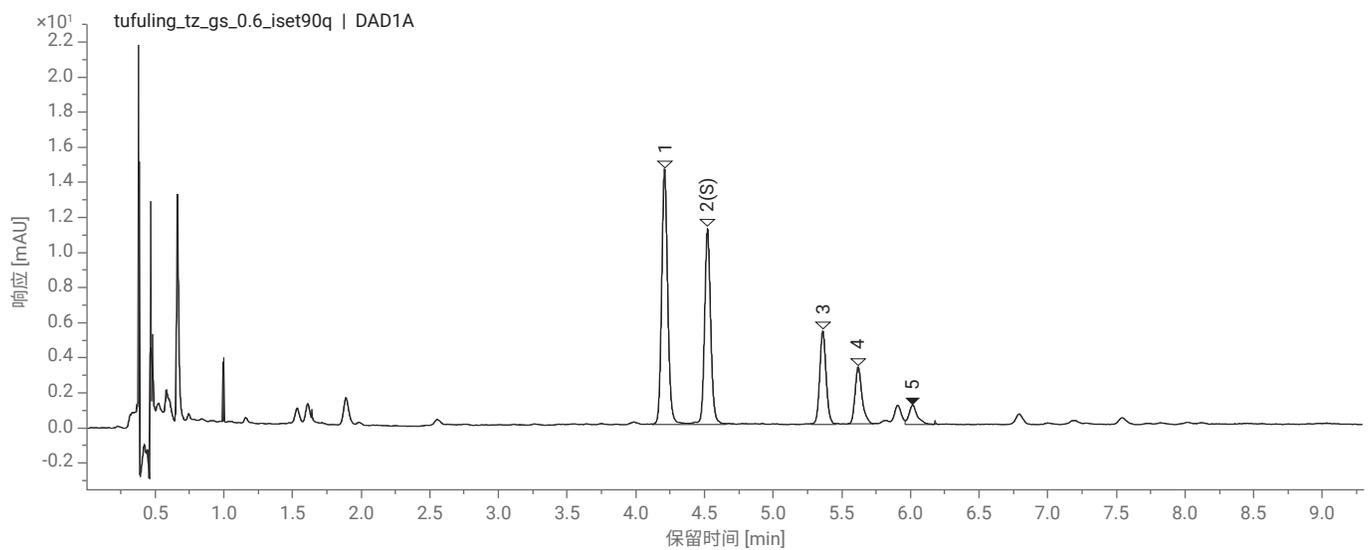
- 原始方法压力最高 495 bar, 加速方法压力理论上最高 790 bar
- 原方法无平衡时间, 需要加 5 min 后运行时间; 加速方法增加 3 min 后运行时间

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法图谱（供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | |
|-------|---|--|
| 仪器 | 1260 Prime UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104C), 自动进样器 (G7129C), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 二元系统, 包括: 二元泵(G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 50 mm, 1.8 μm, PN: 857700-902 | |
| 流动相 | MPA: MeOH; MPB: 0.1%HAc | |
| 流速 | 原始方法: 0.4 ml/ min | 加速方法: 0.8 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) A% 0 30 10 30 | 时间 (min) A% 0 30 5 30 |
| 柱温 | 30 °C | |
| 检测器 | 291 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | |
| 进样量 | 2 μl | |
| 对照品 | 落新妇苷, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

原方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 |
|------|------------|----------|------------|------|
| 落新妇苷 | 3.03 | 6437 | 1.10 | 20mg |

加速方法

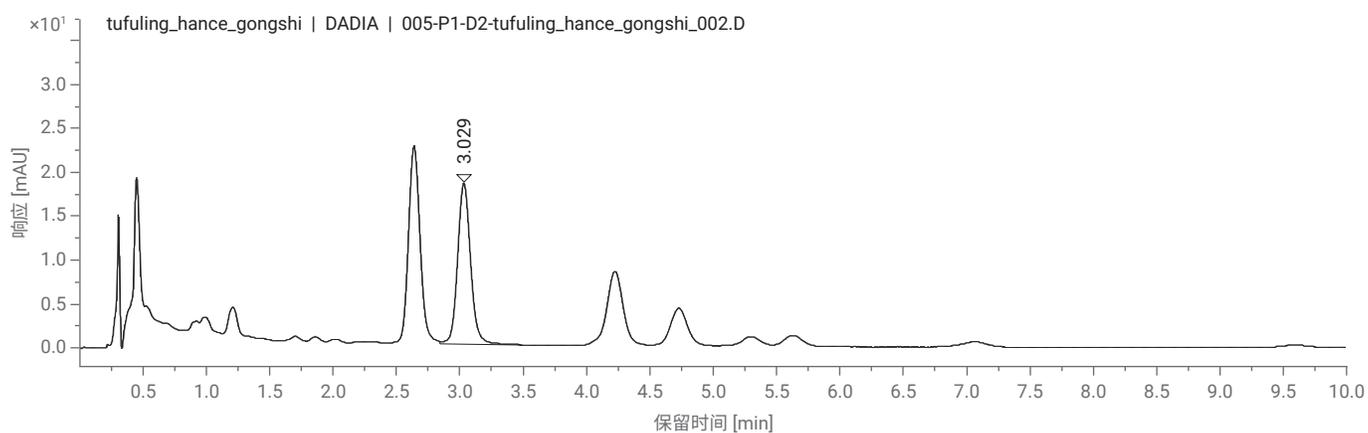
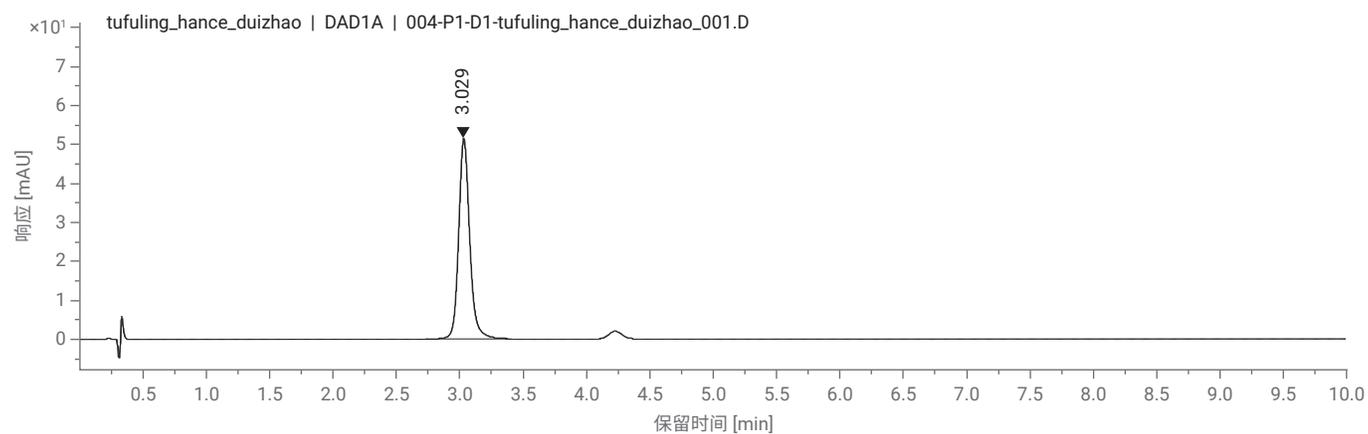
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|------|------------|----------|------------|--------|
| 落新妇苷 | 1.90 | 3335 | 1.10 | 21mg |

小结及注意事项

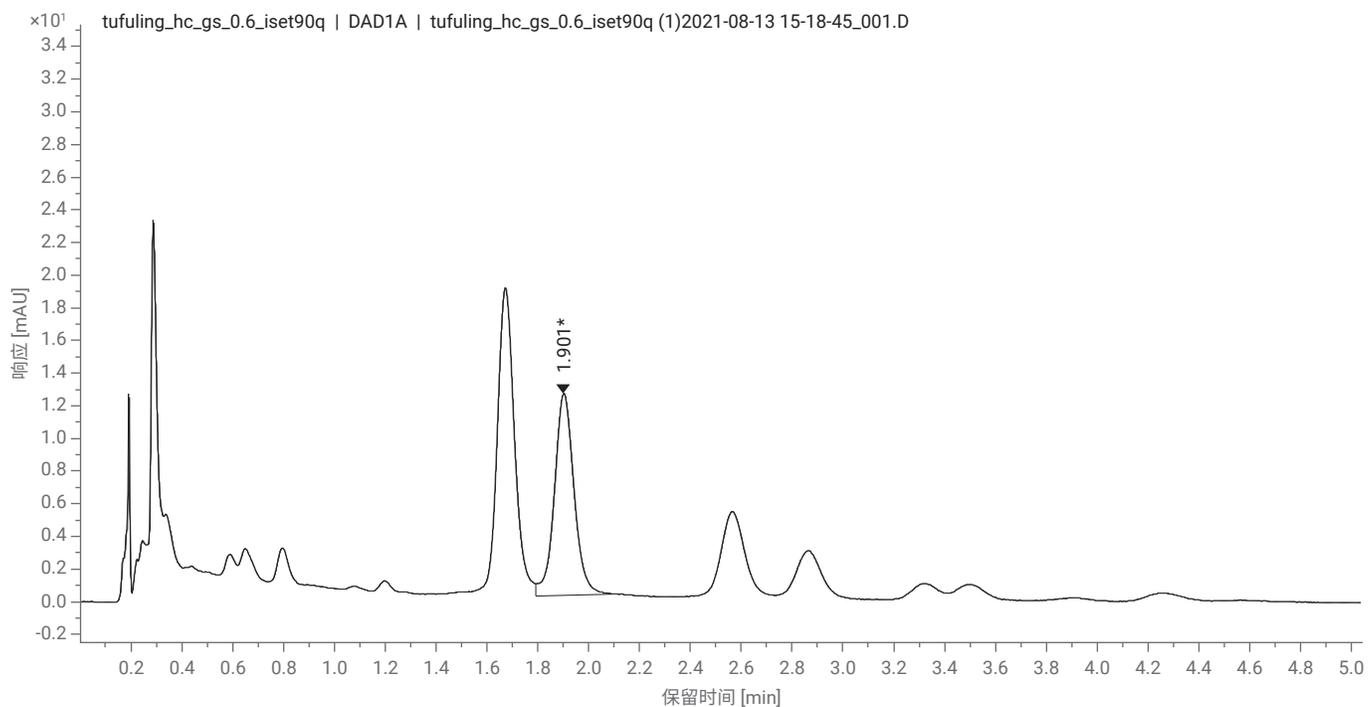
- 原方法压力为 340 bar, 加速方法压力能达到 650 bar

典型图谱

原方法（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法（供试品）



王不留行配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|---|---|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包括四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 四元系统, 包括全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117C) |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 990967-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 |
| 流动相 | MPA: 0.1%磷酸; MPB: ACN | |
| 流速 | 1.0 ml/min | 0.6 ml/min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% | 时间 (min) B% |
| | 0~35 5-20 | 0~5.1 5-20 |
| | 35~60 20-60 | 5.1~9.0 20-60 |
| | 后运行时间: 8 min | 后运行时间: 3 min |
| 柱温 | 35°C | 35°C |
| 检测器 | 270 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5.0 Hz | 270 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl |
| 对照品 | 王不留行黄酮苷, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-----------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 5.047 | | 0.207 | 0.187~0.229 | | | 7212 |
| 2 | 15.474 | 刺桐碱 | 0.635 | 0.557~0.681 | | | 33306 |
| 3 (S) | 24.356 | 王不留行黄酮苷 | | | | | 50308 |
| 4 | 25.601 | 肥皂草苷 | 1.051 | 0.945~1.155 | | | 92843 |
| 5 | 28.156 | | 1.156 | 1.013~1.239 | | | 94018 |
| 6 | 29.438 | 异牡荆素-2"-O-阿拉伯糖苷 | 1.209 | 1.089~1.331 | | | 160518 |
| 7 | 36.828 | | 1.512 | 1.362~1.664 | | | 172212 |
| 8 | 45.063 | 王不留行环肽 B | 1.850 | 1.658~2.026 | | | 1173384 |

UHPLC 方法

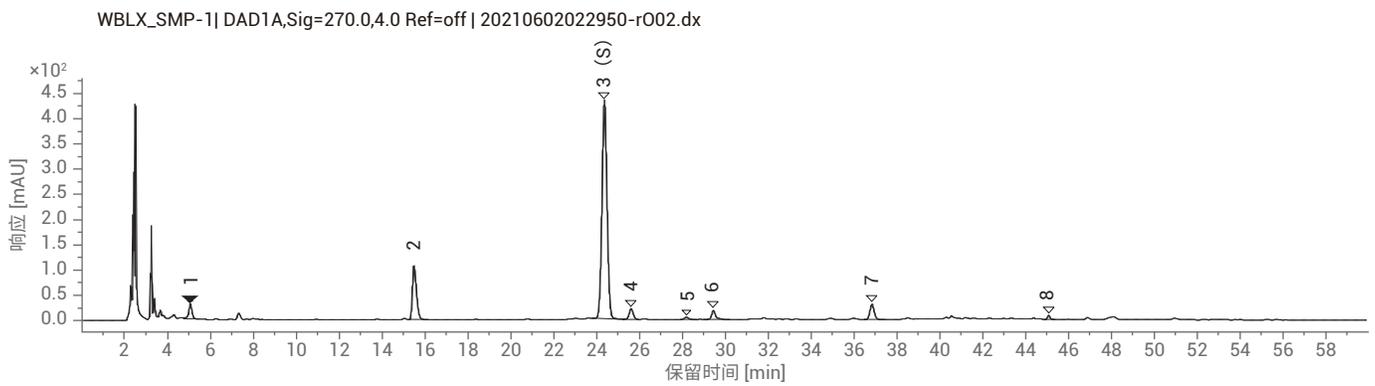
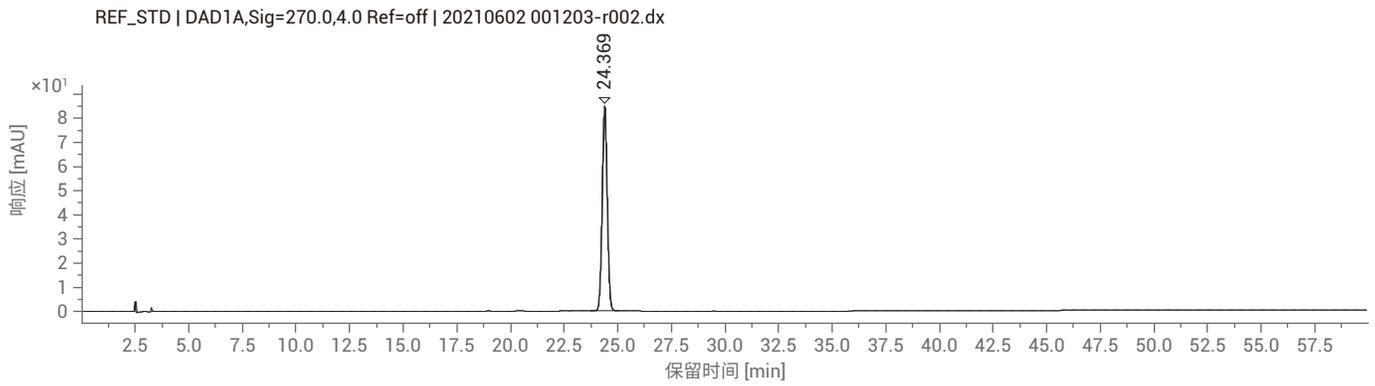
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-----------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 0.875 | | 0.189 | 0.187~0.229 | | | 5238 |
| 2 | 2.916 | 刺桐碱 | 0.631 | 0.557~0.681 | | | 44716 |
| 3 (S) | 4.621 | 王不留行黄酮苷 | | | | | 42024 |
| 4 | 4.804 | 肥皂草苷 | 1.040 | 0.945~1.155 | | | 105163 |
| 5 | 4.941 | | 1.069 | 1.013~1.239 | | | 87417 |
| 6 | 5.401 | 异牡荆素-2"-O-阿拉伯糖苷 | 1.169 | 1.089~1.331 | | | 233252 |
| 7 | 6.529 | | 1.413 | 1.362~1.664 | | | 323017 |
| 8 | 7.573 | 王不留行环肽 B | 1.639 | 1.658~2.026 | | | 1127172 |

小结及注意事项

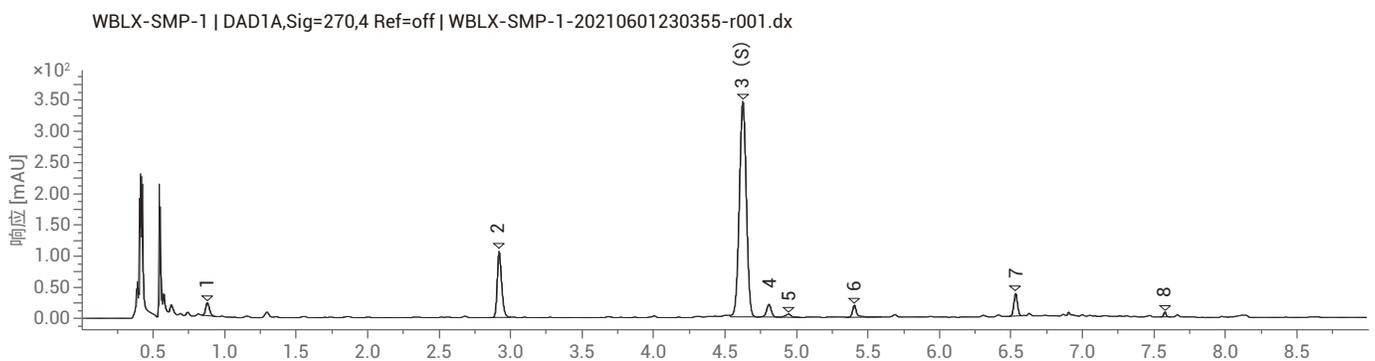
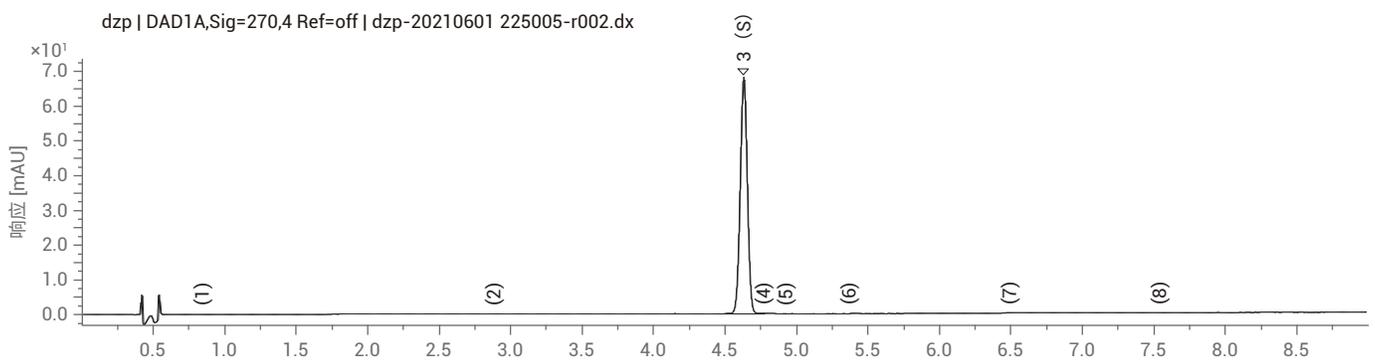
- 常规分析方法中设置了 post time 8 min; UHPLC 方法设置了 post time 3 min
- 原始方法压力最高 121 bar, UHPLC 方法压力最高 570 bar
- 采用 UHPLC 方法虽然特征峰 8 的相对保留时间不在标准规定范围内, 但利用 UV 光谱亦可对该峰进行定位

特征图谱

HPLC 方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|---|--|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包括四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117B) | 1290 四元系统, 包括全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) |
| 色谱柱 | ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 959990-902 | ZORBAX RRHD SB-Aq, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-914 |
| 流动相 | MPA: 0.3% 磷酸; MPB: MeOH | |
| 流速 | 1.0 ml/ min (原标准流速) | 0.4 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 35 10 35 20 40 35 50 40 50 后运行时间: 15 min | 时间 (min) B% 0 35 2.1 35 4.2 40 7.4 50 8.0 50 后运行时间: 4 min |
| 柱温 | 40°C | 40°C |
| 检测器 | 280 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 280 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10 μl | 1.0 μl |
| 对照品 | 王不留行黄酮苷, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|---------|------------|----------|------------|----------|
| 王不留行黄酮苷 | 5.605 | 3204 | 1.26 | 25.4mg/g |

UHPLC 方法

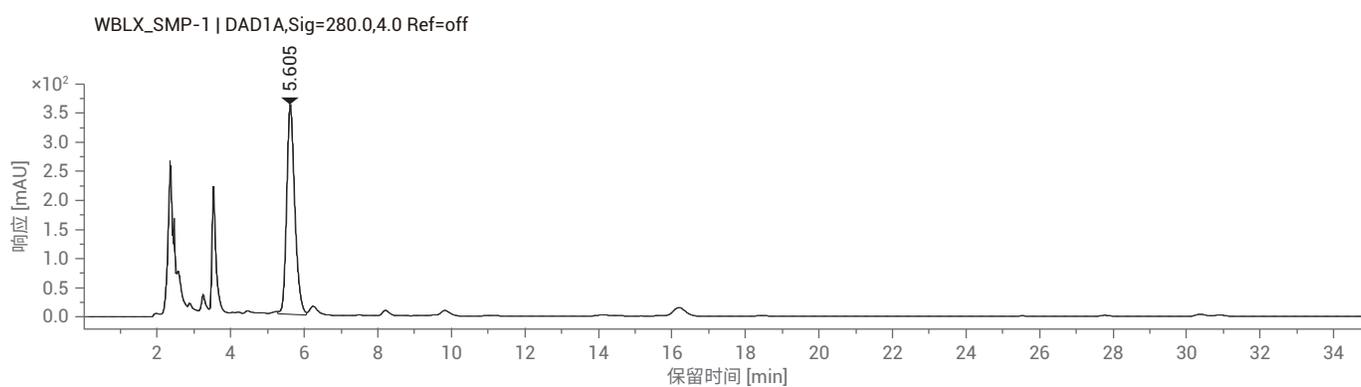
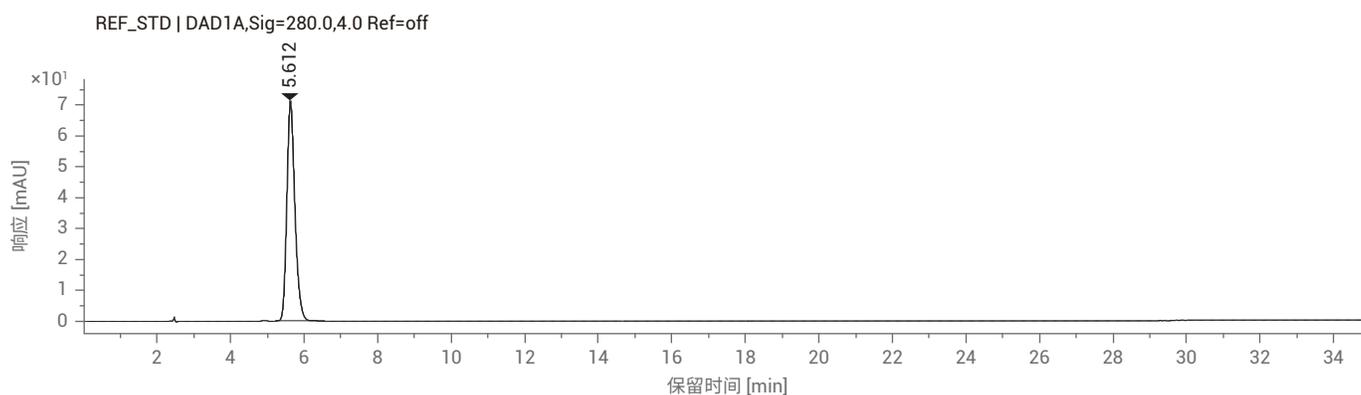
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|---------|------------|----------|------------|----------|
| 王不留行黄酮苷 | 2.008 | 3274 | 1.12 | 25.6mg/g |

小结及注意事项

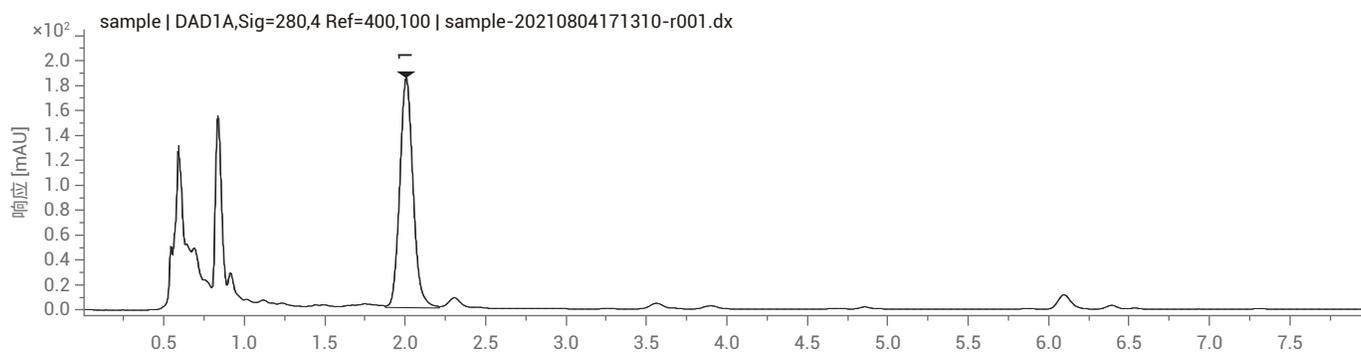
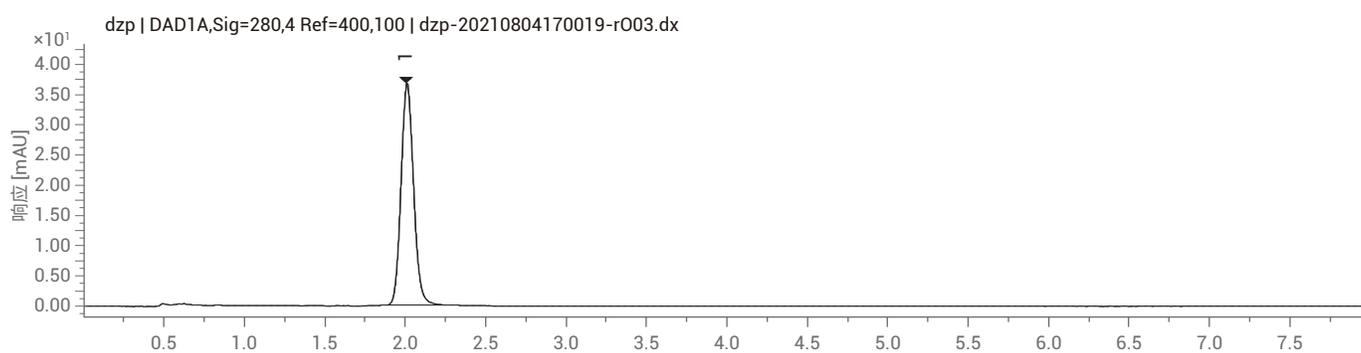
- 更换自动进样器到柱温箱管线为 G2260-87301 (溶剂效应消除管线), 以克服溶剂效应
- HPLC 方法后运行时间 15 分钟, UHPLC 方法后运行时间 4 分钟
- UHPLC 方法压力最高 625 bar; UHPLC 方法转换后分析时间由 40 分钟缩短至 8 分钟
- UHPLC 方法连续进样 (n = 6) 的精密度 RSD% 为 0.33%

典型图谱

HPLC 方法 (供试品和对照品)



UHPLC 方法 (供试品和对照品)



旋覆花（旋覆花） 配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|--------|---|--------|-------------|------|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1%磷酸溶液; MPB: ACN | | | |
| 流速 | 0.3 ml/ min | | 0.6 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 8 | 0 | 8 |
| | 4.5 | 13 | 2.3 | 13 |
| | 6 | 18 | 3 | 18 |
| | 10 | 18 | 5 | 18 |
| | 12 | 24 | 6 | 24 |
| | 16 | 24 | 8 | 24 |
| | 19 | 35 | 9.5 | 35 |
| | 22 | 100 | 11 | 100 |
| | 23 | 100 | 12 | 100 |
| 后运行时间: | 5 min | 后运行时间: | 3 min | |
| 柱温 | 35 °C | | 进样量 | 1 μl |
| 检测器 | 230 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | |
| 对照品 | 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸, 绿原酸,均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|----------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 4.237 | 绿原酸 | 0.370 | | | | 24651 |
| 2 | 7.240 | 1,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | 0.632 | 0.549-0.671 | | | 113570 |
| 3 (S) | 11.452 | 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | | | | | 72799 |
| 4 | 12.451 | | 1.087 | 0.981-1.199 | | | 98454 |
| 5 | 13.199 | 4,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | 1.152 | 1.035-1.265 | | | 209168 |
| 6 | 18.476 | | 1.613 | 1.476-1.804 | | | 203020 |

加速方法

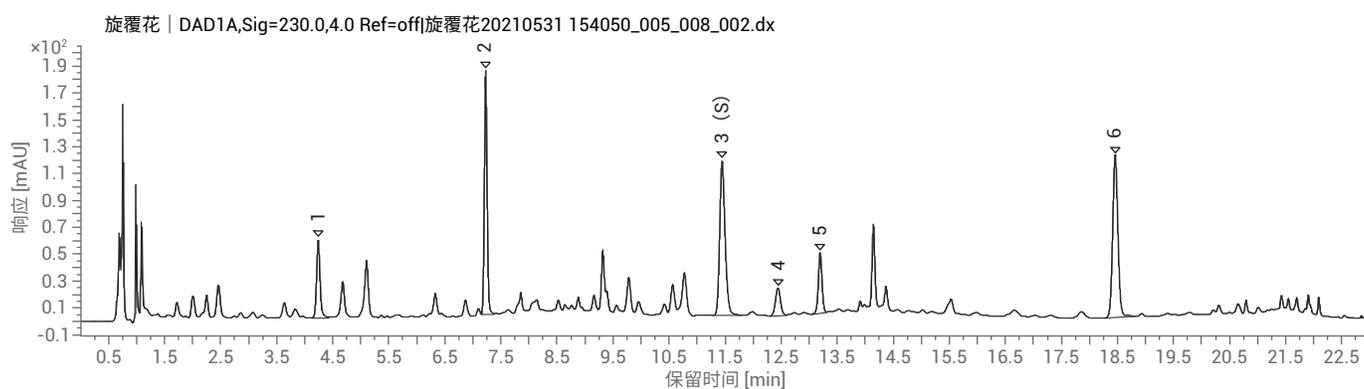
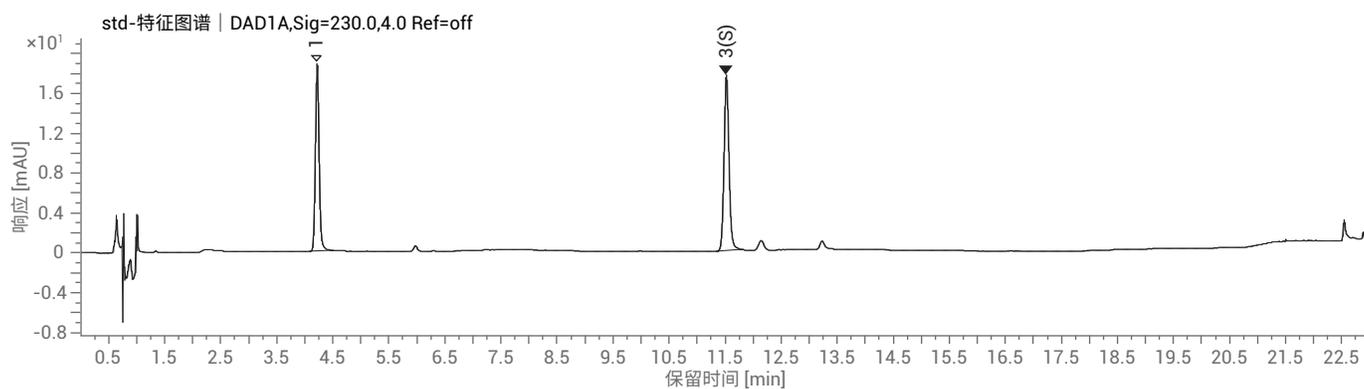
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|----------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.150 | 绿原酸 | 0.369 | | | | 21341 |
| 2 | 3.688 | 1,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | 0.632 | 0.549-0.671 | | | 98017 |
| 3 (S) | 5.832 | 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | | | | | 56535 |
| 4 | 6.276 | | 1.076 | 0.981-1.199 | | | 74851 |
| 5 | 6.695 | 4,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | 1.148 | 1.035-1.265 | | | 191089 |
| 6 | 9.307 | | 1.596 | 1.476-1.804 | | | 161007 |

小结及注意事项

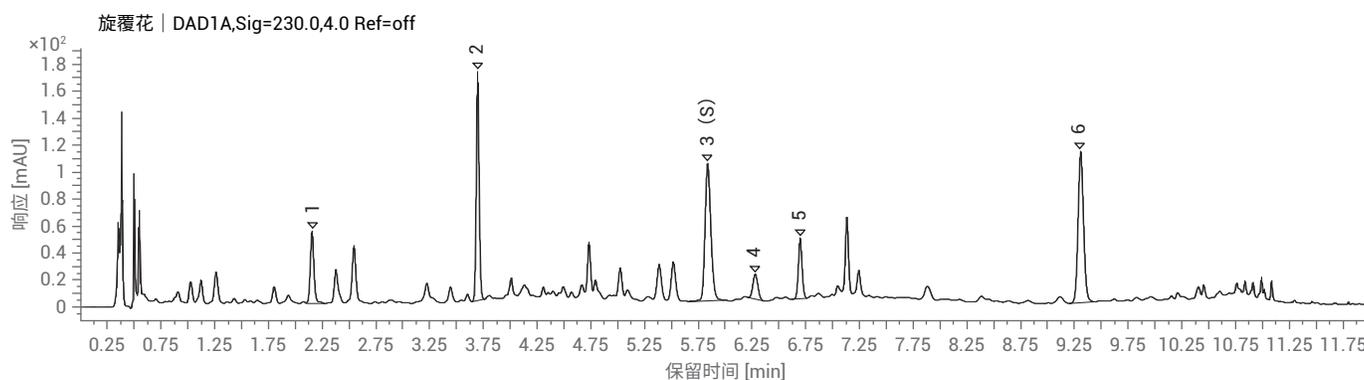
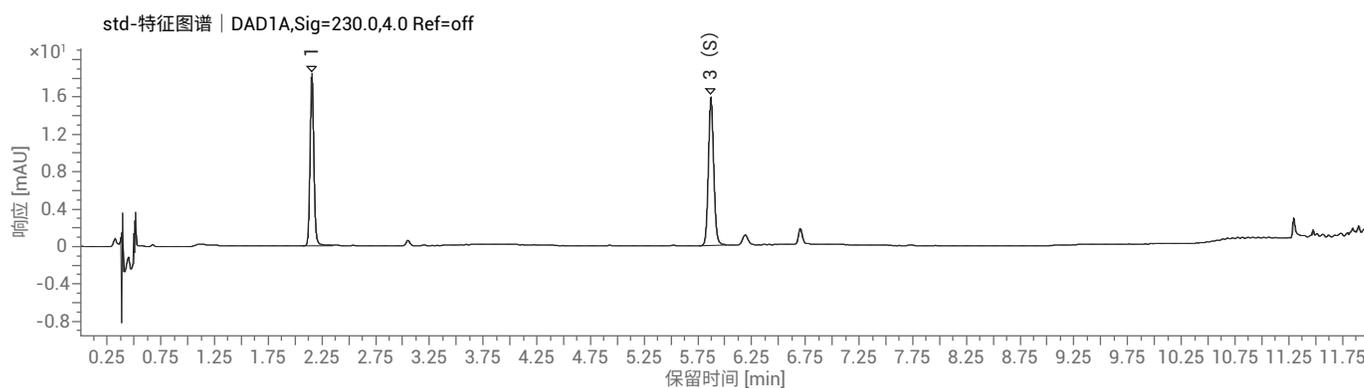
- 蜜旋覆花和旋覆花样品加速实验后运行时间由 3 分钟改为 5 分钟后重现性更好

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|-------|-------------------|-------|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1% 磷酸溶液; MPB: ACN | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/ min | | 加速方法: 0.6 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 8 | 0 | 8 |
| | 4.5 | 13 | 2.3 | 13 |
| | 6 | 18 | 3 | 18 |
| | 10 | 18 | 5 | 18 |
| | 12 | 24 | 6 | 24 |
| | 16 | 24 | 8 | 24 |
| | 19 | 35 | 9.5 | 35 |
| | 22 | 100 | 11 | 100 |
| | 23 | 100 | 12 | 100 |
| | 后运行时间: | 5 min | 后运行时间: | 3 min |
| 柱温 | 35 °C | | | |
| 检测器 | 327 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | |
| 对照品 | 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸, 由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原方法

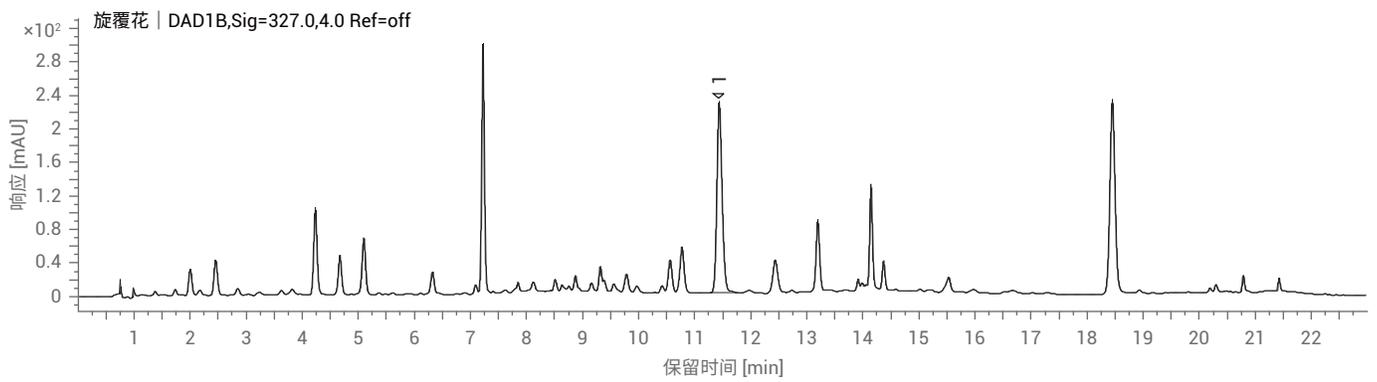
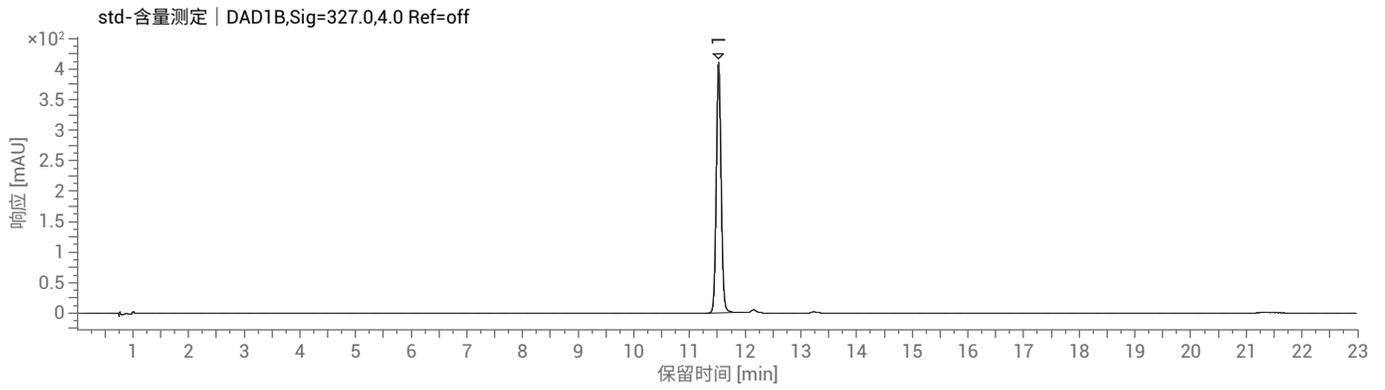
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|----------------|------------|----------|------------|-----------|
| 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | 11.431 | 75253 | 0.77 | 14.667 |

加速方法

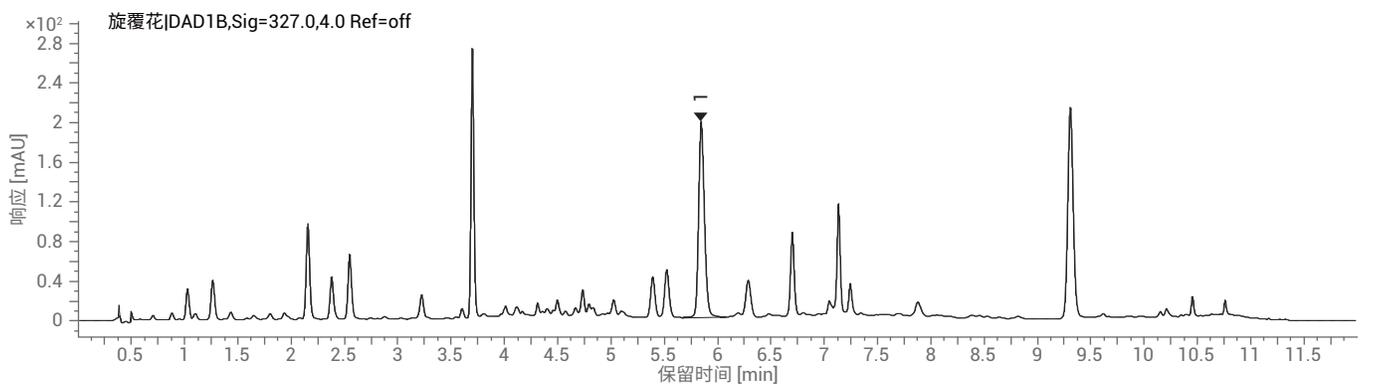
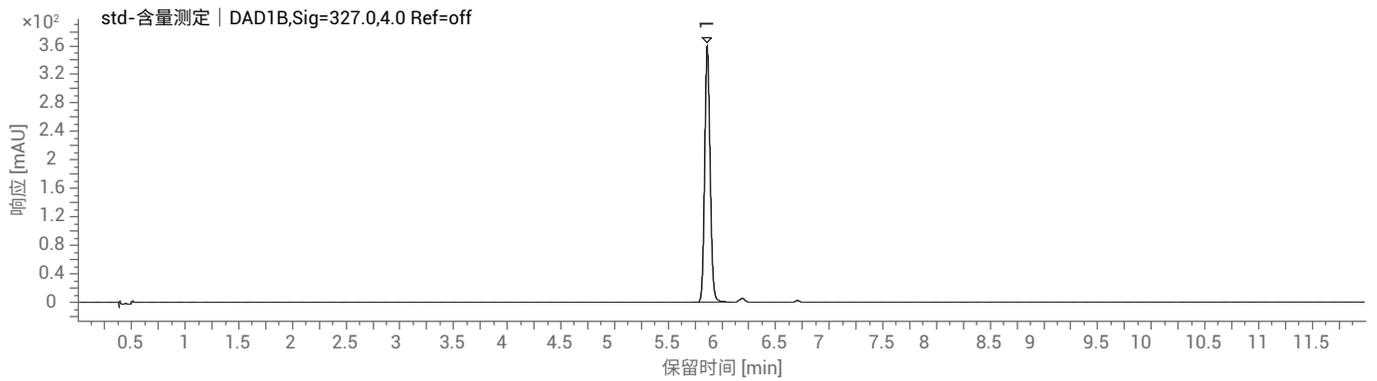
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|----------------|------------|----------|------------|-----------|
| 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸 | 5.842 | 56677 | 0.76 | 14.913 |

典型图谱

原方法（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法（上图为对照品，下图为供试品）



盐补骨脂配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|-------|--------------|------|
| 仪器 | 1290 二元系统模拟 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.1%磷酸); MPB: ACN | 柱温 | 30 °C | |
| 流速 | 原始方法: 0.35 ml/ min | 加速方法: | 0.70 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 11 | 0 | 11 |
| | 6 | 17 | 3 | 17 |
| | 15 | 36 | 7.5 | 36 |
| | 19 | 70 | 9.5 | 70 |
| | 21 | 95 | 10.5 | 95 |
| | 22 | 95 | 11 | 95 |
| | 22.1 | 11 | 11.1 | 11 |
| | 25 | 11 | 13.5 | 11 |
| 检测器 | 246 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | 进样量 | 1 μl |
| 对照品 | 补骨脂素、异补骨脂素, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

UHPLC 原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 5.391 | 补骨脂苷 | 0.36 | 0.31-0.37 | | | 33751 |
| 2 | 5.961 | 异补骨脂苷 | 0.40 | 0.33-0.41 | | | 43753 |
| 3 (S) | 15.016 | 补骨脂素 | | | | | 155993 |
| 4 | 15.616 | 异补骨脂素 | 1.04 | 0.94-1.14 | | | 174732 |
| 5 | 23.192 | 补骨脂酚 | | | | | 4359439 |

UHPLC 加速方法

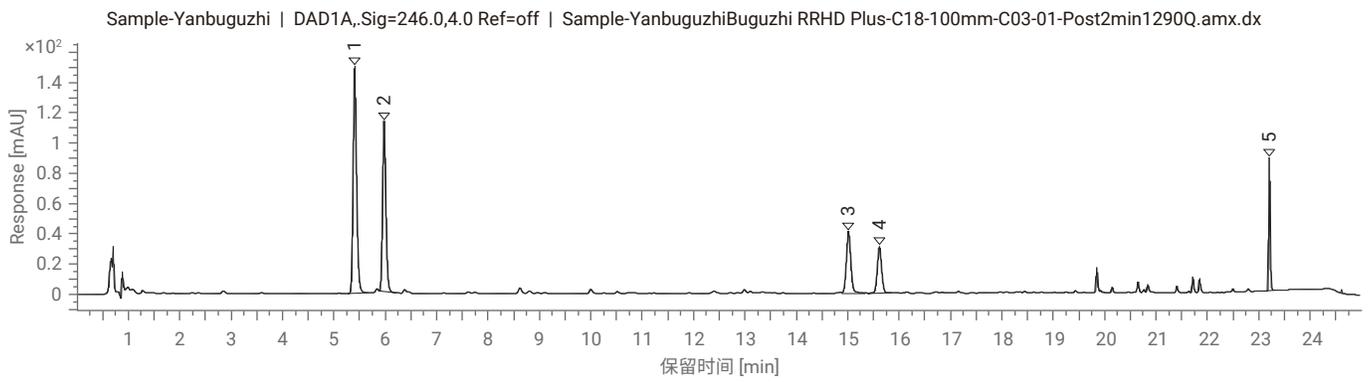
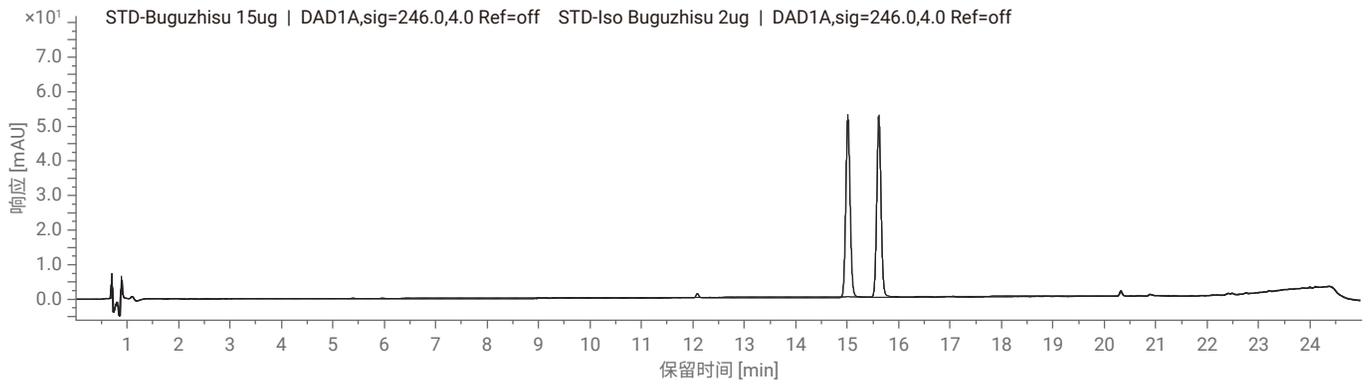
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|-------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.835 | 补骨脂苷 | 0.37 | 0.31-0.37 | | | 29368 |
| 2 | 3.141 | 异补骨脂苷 | 0.41 | 0.33-0.41 | | | 37272 |
| 3 (S) | 7.571 | 补骨脂素 | | | | | 171373 |
| 4 | 7.878 | 异补骨脂素 | 1.04 | 0.94-1.14 | | | 192313 |
| 5 | 11.612 | 补骨脂酚 | 1.53 | | | | 3562811 |

小结及注意事项

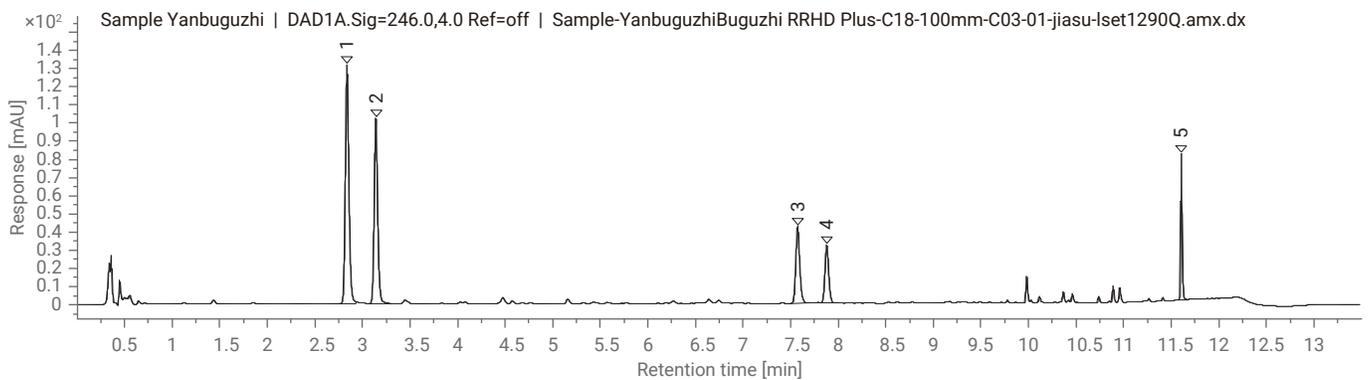
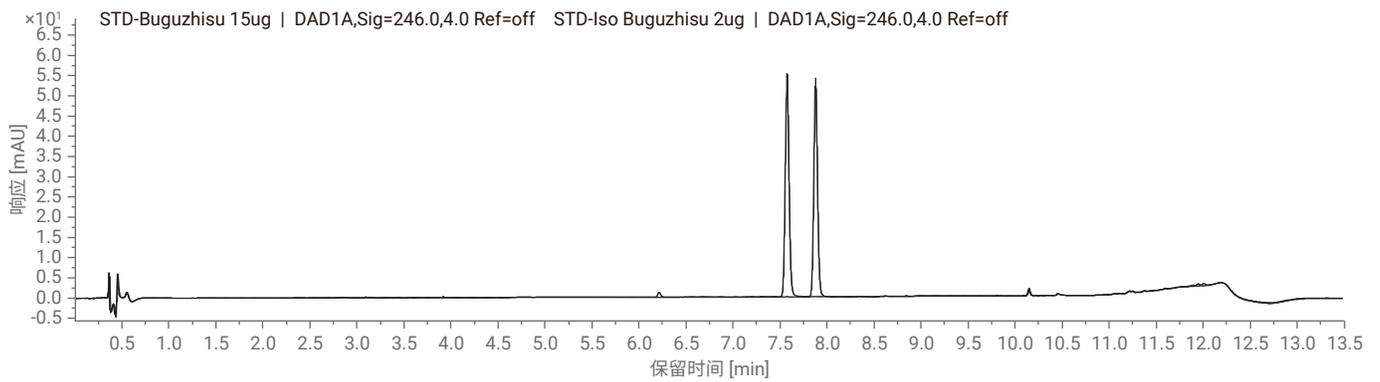
- 原始方法压力最高 383 bar , 加速方法压力最高 707Bar
- 原始方法与加速方法的图谱轮廓保持一致, 均能满足系统适用性及相对保留时间要求

特征图谱

UHPLC 原始方法图谱(上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 加速方法图谱(上图为对照品, 下图为供试品)



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|----|--------------------|----|
| 仪器 | 1290 二元系统模拟 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.1% 磷酸); MPB: ACN | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.35 ml/ min | | 加速方法: 0.70 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 11 | 0 | 11 |
| | 6 | 17 | 3 | 17 |
| | 15 | 36 | 7.5 | 36 |
| | 19 | 70 | 9.5 | 70 |
| | 21 | 95 | 10.5 | 95 |
| | 22 | 95 | 11 | 95 |
| | 22.1 | 11 | 11.1 | 11 |
| | 25 | 11 | 13.5 | 11 |
| 柱温 | 30 °C | | | |
| 检测器 | 246 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | |
| 对照品 | 补骨脂素, 由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

UHPLC 原始方法

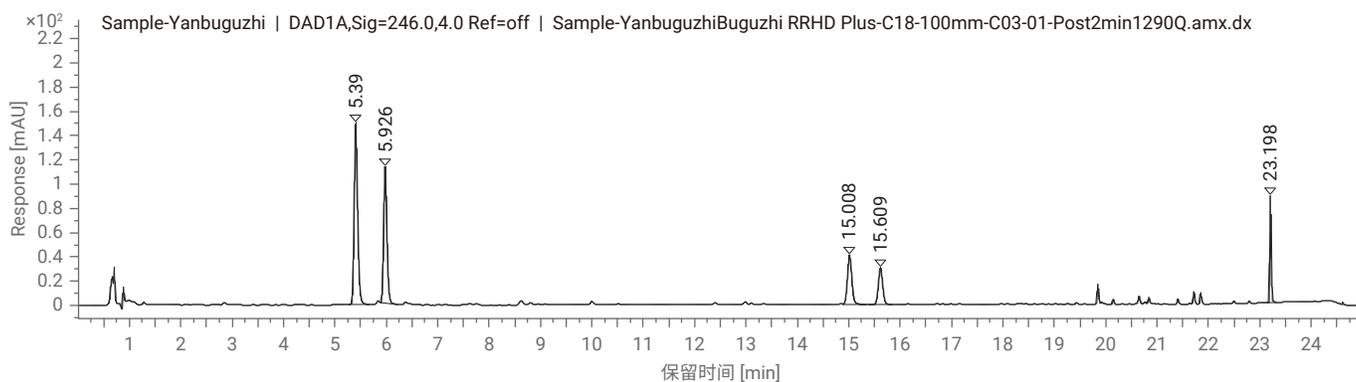
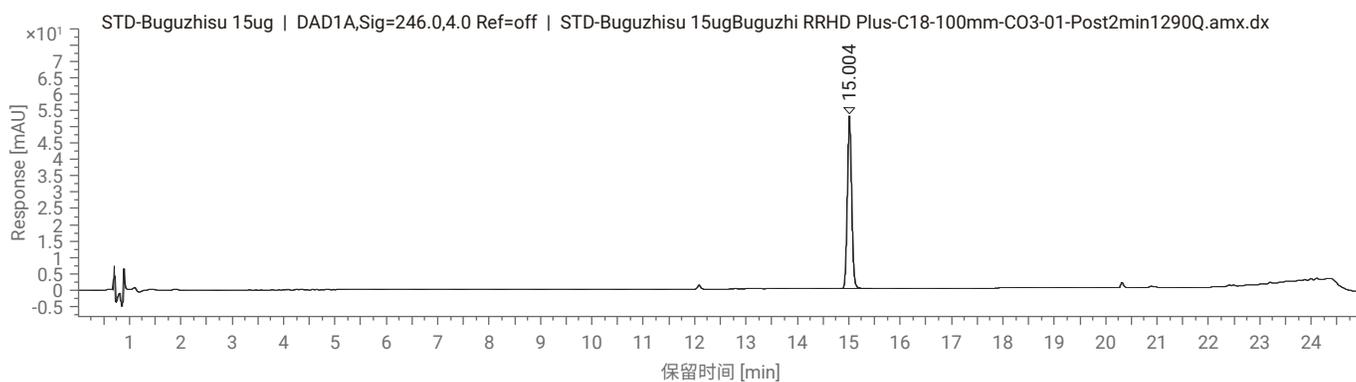
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-------|------------|----------|------------|-----------|
| 补骨脂苷 | 5.39 | 33477 | 1.24 | 3.45 |
| 异补骨脂苷 | 5.962 | 43236 | 1.20 | 2.59 |
| 补骨脂素 | 15.008 | 156280 | 1.09 | 2.95 |
| 异补骨脂素 | 15.609 | 174770 | 1.06 | 1.75 |
| 补骨脂酚 | 23.198 | 4179576 | 1.34 | |

UHPLC 加速方法

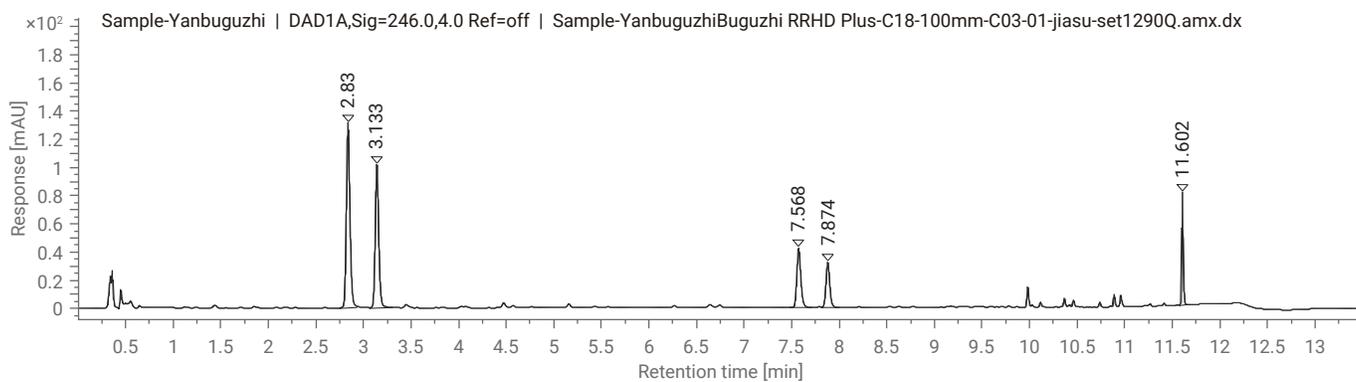
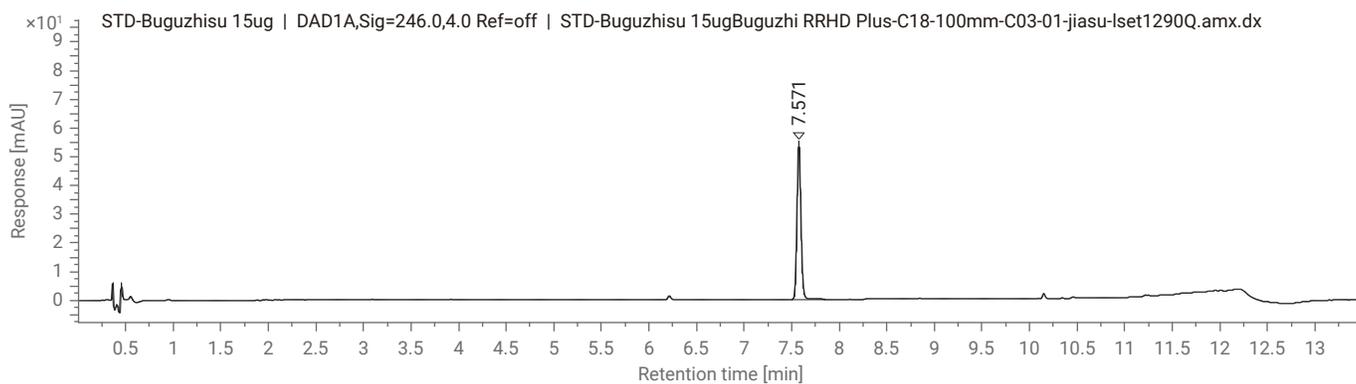
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-------|------------|----------|------------|-----------|
| 补骨脂苷 | 2.83 | 29078 | 1.19 | 3.42 |
| 异补骨脂苷 | 3.133 | 36936 | 1.18 | 2.62 |
| 补骨脂素 | 7.568 | 170610 | 1.23 | 2.96 |
| 异补骨脂素 | 7.874 | 192161 | 1.11 | 1.74 |
| 补骨脂酚 | 11.602 | 3467743 | 1.22 | |

典型图谱

UHPLC 原始方法图谱(上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 加速方法图谱(上图为对照品, 下图为供试品)



鱼腥草配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--|--|----|---|---|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|--|----------|----|---|---|-----|---|-----|----|-----|----|-----|----|-----|----|----|----|------|---|
| 仪器 | 1290 二元泵 iSet 模拟 1260Q: 四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 二元泵 iSet 模拟 1290Q: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 518925-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.1% 磷酸); MPB: 乙腈 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/min | 0.6 ml/min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>6</td></tr> <tr><td>10</td><td>8</td></tr> <tr><td>25</td><td>15</td></tr> <tr><td>30</td><td>16</td></tr> <tr><td>45</td><td>18</td></tr> <tr><td>55</td><td>27</td></tr> <tr><td>75</td><td>27</td></tr> <tr><td>80</td><td>6</td></tr> </tbody> </table> 后运行: 10 min | 时间 (min) | B% | 0 | 6 | 10 | 8 | 25 | 15 | 30 | 16 | 45 | 18 | 55 | 27 | 75 | 27 | 80 | 6 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>6</td></tr> <tr><td>1.5</td><td>8</td></tr> <tr><td>3.8</td><td>15</td></tr> <tr><td>4.5</td><td>16</td></tr> <tr><td>6.8</td><td>18</td></tr> <tr><td>8.3</td><td>27</td></tr> <tr><td>12</td><td>27</td></tr> <tr><td>12.5</td><td>6</td></tr> </tbody> </table> 后运行: 3 min | 时间 (min) | B% | 0 | 6 | 1.5 | 8 | 3.8 | 15 | 4.5 | 16 | 6.8 | 18 | 8.3 | 27 | 12 | 27 | 12.5 | 6 |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | 16 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 45 | 18 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 55 | 27 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 75 | 27 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 80 | 6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1.5 | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3.8 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4.5 | 16 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6.8 | 18 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8.3 | 27 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | 27 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12.5 | 6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 30 °C | 进样量 10 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 0~30 分钟为 326 nm, 30~80 分钟为 254 nm 采样频率: 2.5 Hz | 0~4.5 分钟为 326 nm, 4.5~12.5 分钟为 254 nm 采样频率: 205 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 绿原酸、金丝桃苷、槲皮苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-----------|---------|-----------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 峰 5/峰 6 | 规定范围 (大于) | |
| 1 | 16.741 | 新绿原酸 | 0.71 | 0.59-0.73 | | | 49085 |
| 2 (S) | 23.638 | 绿原酸 | | | | | 111983 |
| 3 | 25.299 | 隐绿原酸 | 1.07 | 0.93-1.13 | | | 135405 |
| 4 | 26.835 | | 1.14 | 1.02-1.24 | | | 104382 |
| 5 | 46.02 | 金丝桃苷 | 249 | | | | 122157 |
| 6 | 54.60 | 槲皮苷 | 579 | | 0.430 | 0.141 | 636531 |

UHPLC 方法

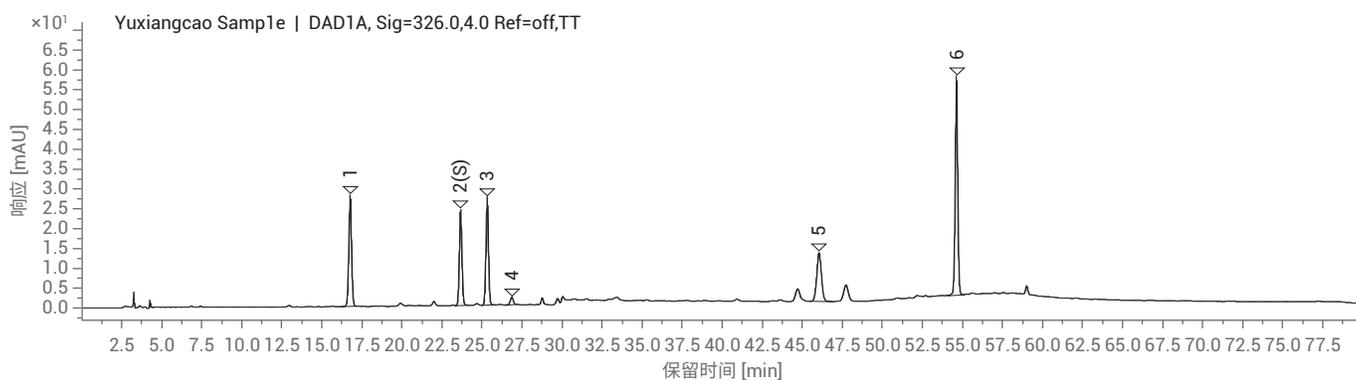
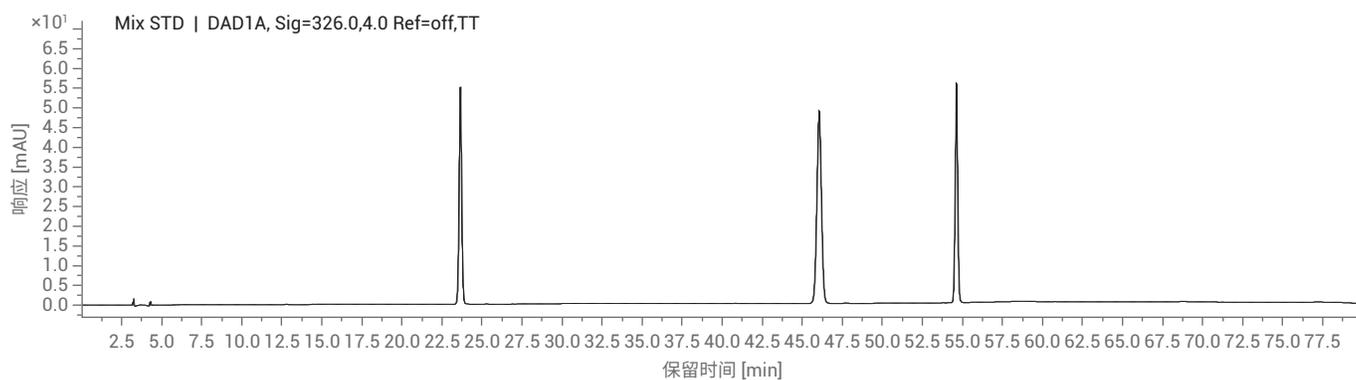
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-----------|---------|-----------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 峰 5/峰 6 | 规定范围 (大于) | |
| 1 | 2.347 | 新绿原酸 | 0.69 | 0.59-0.73 | | | 21286 |
| 2 (S) | 3.423 | 绿原酸 | | | | | 65168 |
| 3 | 3.722 | 隐绿原酸 | 1.09 | 0.93-1.13 | | | 87656 |
| 4 | 4.39 | | 1.28 | 1.02-1.24 | | | 47868 |
| 5 | 6.671 | 金丝桃苷 | 37.51 | | | | 98523 |
| 6 | 8.192 | 槲皮苷 | 91.79 | | 0.409 | 0.141 | 364761 |

小结及注意事项

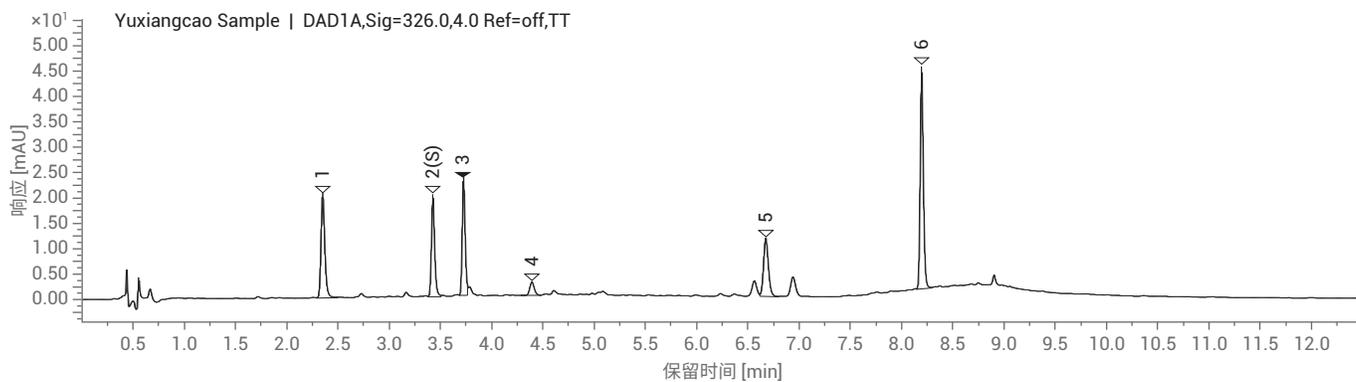
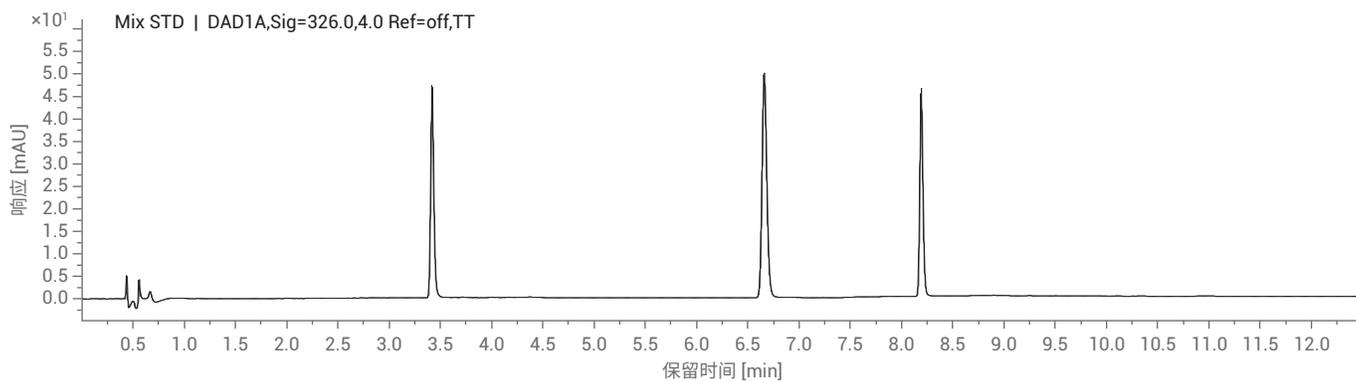
- 原始 HPLC 采用 Luna C18 柱, 转换到 TC-C18 柱候可以满足特征图谱分析要求
- 从 HPLC 方法转换到 UHPLC 方法, 分析时间从 80 分钟缩短到 12.5 分钟

特征图谱

HPLC 方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



UHPLC 方法图谱 (上图为对照品, 下图为供试品)



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|--|----|---|----|----|----|---|----------|----|---|----|----|----|
| 仪器 | 1290 二元泵 iSet 模拟 1260Q: 四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 二元泵 iSet 模拟 1290Q: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 518925-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: H ₂ O (0.1%磷酸) ; MPB: 乙腈 | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>23</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>23</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 23 | 30 | 23 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>23</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>23</td> </tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 23 | 30 | 23 |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 23 | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | 23 | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 23 | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | 23 | | | | | | | | | | | | | |
| 柱温 | 30 °C | 30 °C | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 254 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz | 254 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 槲皮苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) N ≥ 3000 (S 峰) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|-------------------------|------------|-----------|
| 槲皮苷 | 11.989 | 18329 | 1.03 | 5.90 |

UHPLC 方法

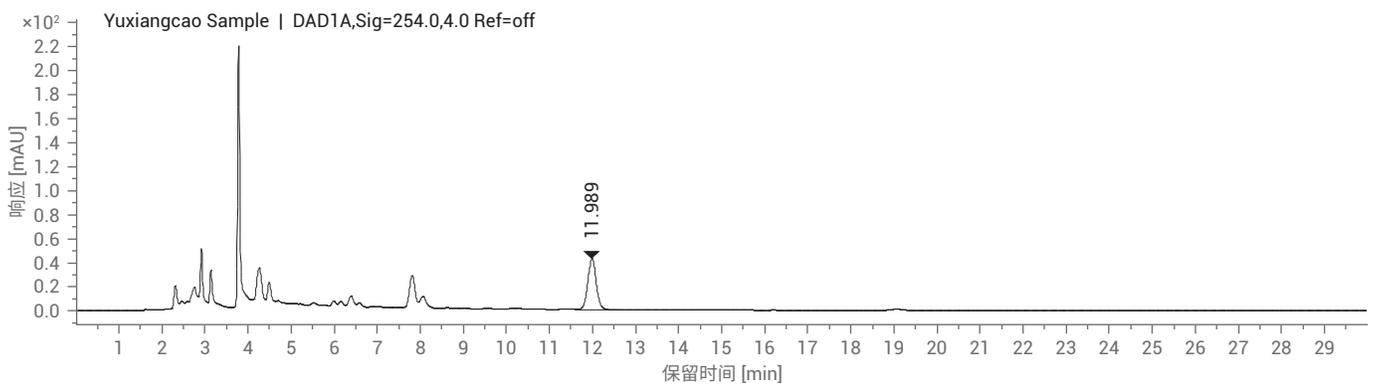
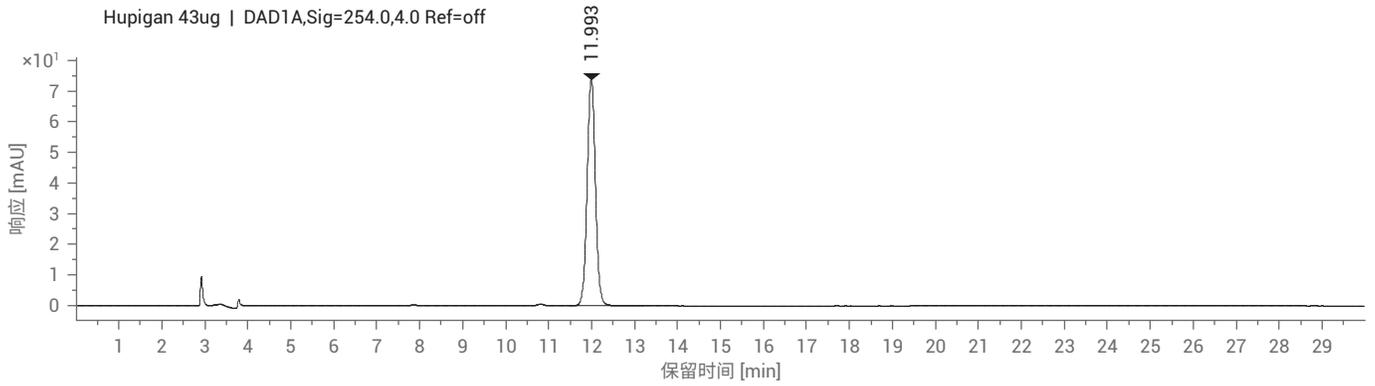
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) N ≥ 3000 (S 峰) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|-------------------------|------------|-----------|
| 槲皮苷 | 1.555 | 8401 | 1.38 | 5.76 |

小结及注意事项

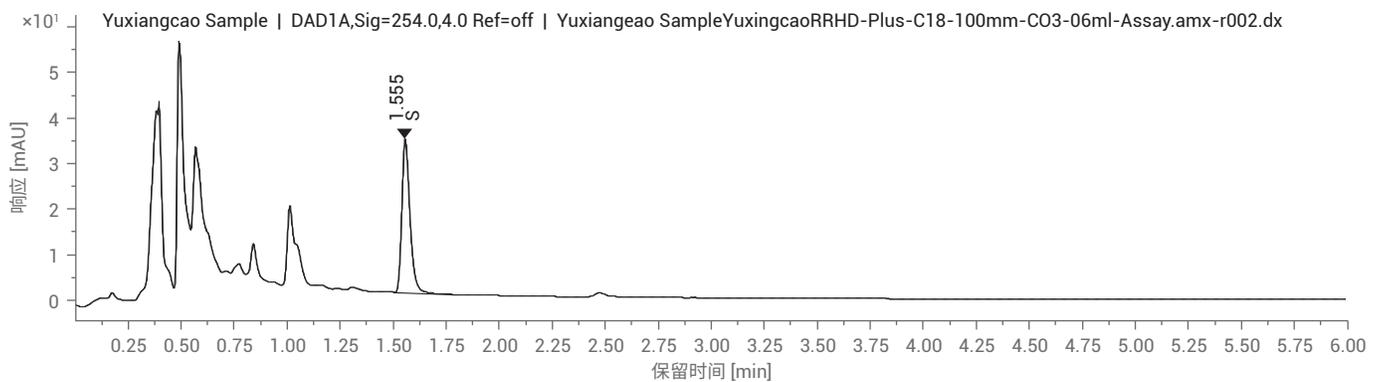
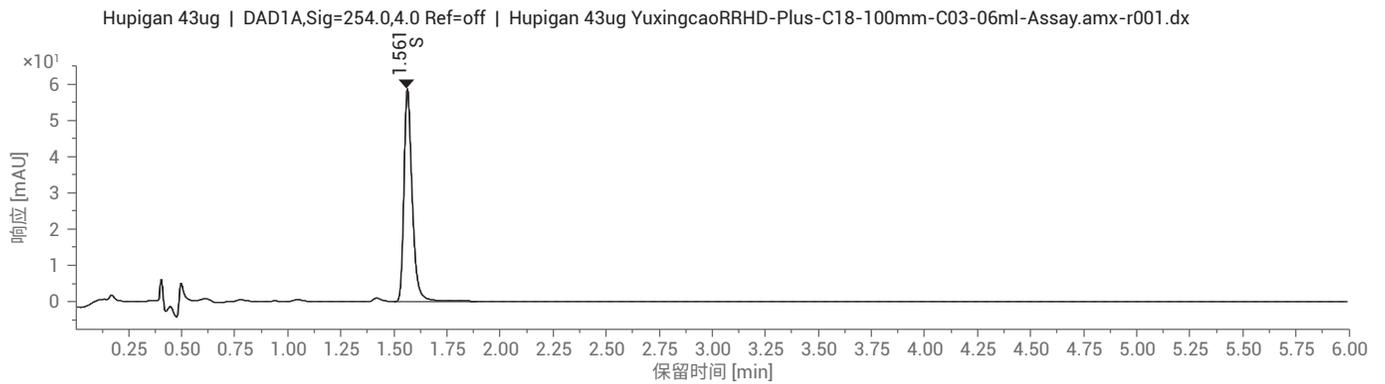
- 色谱柱 TC-C18 含量检测峰形完好
- 方法转换到 UHPLC 方法后, 时间从 30 分钟减少到 6 分钟, 效率提高 5 倍

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



远志（远志）配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | |
|-------|--|-------|-------|
| 仪器 | 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B); 用 ISET 模拟 Waters H-CLASS | | |
| 色谱柱 | CORTECS T3, 2.1 × 150 mm, 1.6 μm | 柱温 | 30 °C |
| 流动相 | A: 0.1% FA ; B: 乙腈 | | |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/ min | | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | |
| | 0 | 10 | |
| | 3 | 15 | |
| | 8 | 15 | |
| | 10 | 22 | |
| | 23 | 28 | |
| | 25 | 37 | |
| | 33 | 42 | |
| | 38 | 50 | |
| 40 | 10 | | |
| | pos run: | 5 min | |
| 检测器 | 320 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | 进样量 | 2 μl |
| 对照品 | 远志吡酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖, 均由诗丹德提供 | | |

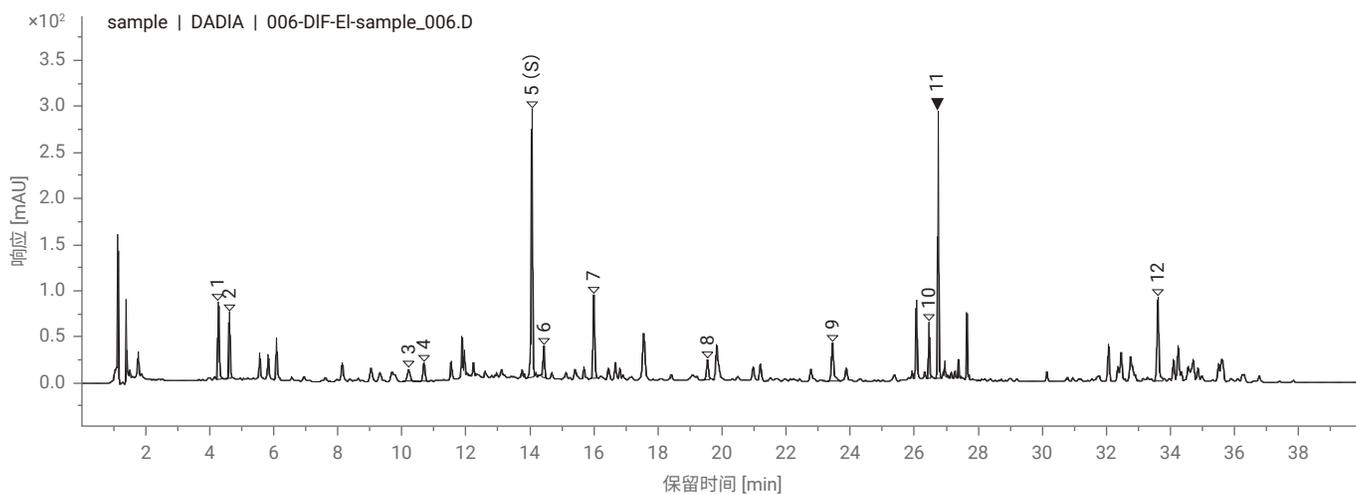
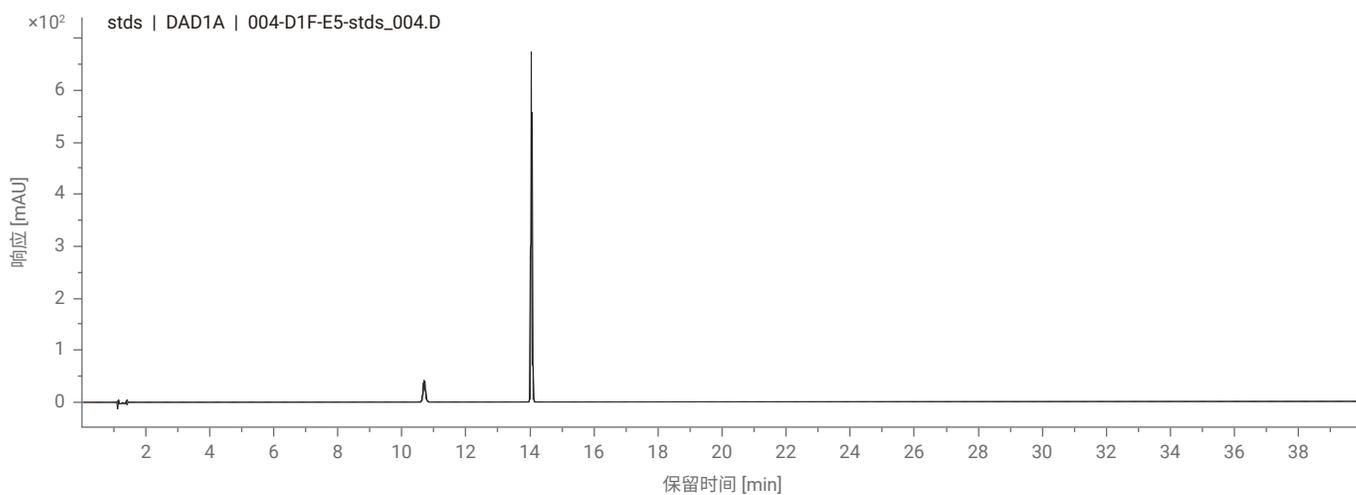
系统适用性

原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|--------|------------|--------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 4.263 | 西伯利亚远志糖 A5 | | | | | 43099 |
| 2 | 4.605 | | | | | | 59099 |
| 3 | 10.202 | 远志吡酮 III | | | | | 64463 |
| 4 | 10.678 | 远志吡酮 XI | 0.76 | 0.648-0.792 | | | 133656 |
| 5 (S1) | 14.049 | 3,6'-二芥子酰基蔗糖 | | | | | 728206 |
| 6 | 14.421 | | 1.026 | 0.927-1.133 | | | 445919 |
| 7 | 15.981 | | 1.138 | 1.017-1.243 | | | 505283 |
| 8 | 19.530 | | 1.39 | 1.26-1.54 | | | 481471 |
| 9 | 23.430 | | 1.668 | 1.494-1.826 | | | 675846 |
| 10 | 26.445 | | 1.882 | 1.746-2.134 | | | 3486842 |
| 11 | 26.733 | | 1.903 | 1.773-2.167 | | | 5104639 |
| 12 | 33.592 | | 2.391 | 2.25-2.75 | | | 1919328 |

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

细叶远志皂苷

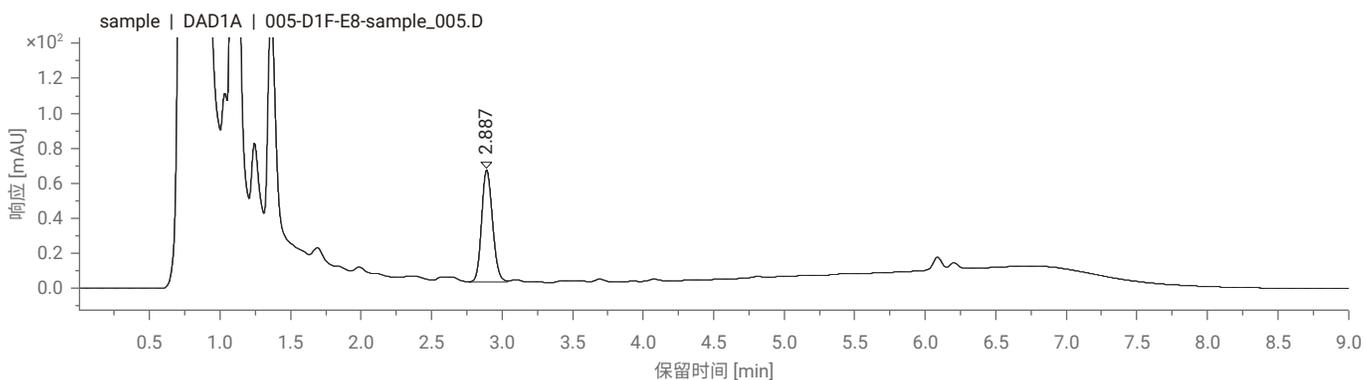
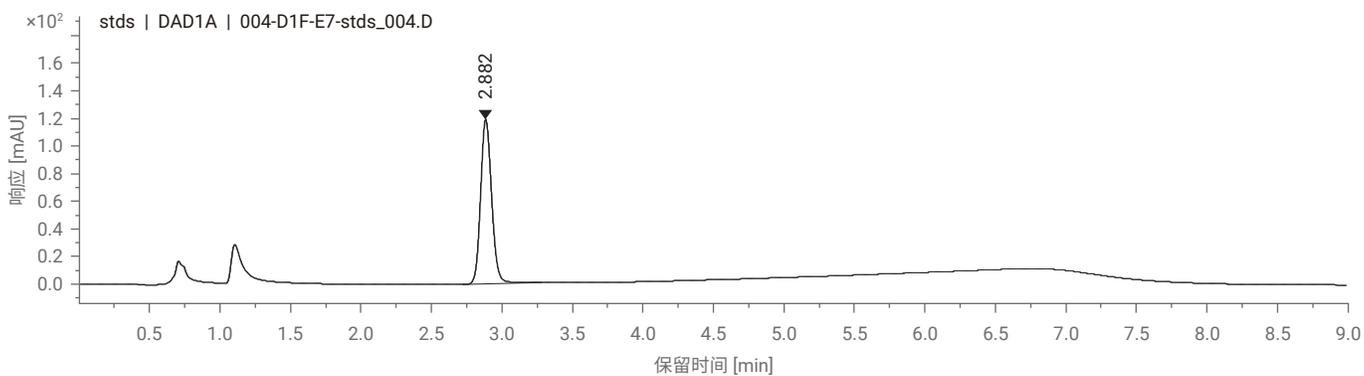
仪器配置及色谱条件

| | | | |
|-------|--|-----|-------|
| 仪器 | 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | |
| 色谱柱 | Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 695675-902 | | |
| 流动相 | A: 0.05% 磷酸; B: 甲醇 | 柱温 | 30 °C |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/ min (原标准流速) | | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | |
| | 0 | 64 | |
| | 1 | 64 | |
| | 5 | 75 | |
| | 5.1 | 64 | |
| | 9 | 64 | |
| 检测器 | 210 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | 进样量 | 1 μl |
| 对照品 | 细叶远志皂苷, 由诗丹德提供 | | |

系统适用性

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | (mg/g) |
|--------|------------|----------|------------|--------|
| 细叶远志皂苷 | 2.882 | 6692 | 1.15 | 13.0 |

典型图谱



远志吡啶III、3,6'-二芥子酰基蔗糖

仪器配置及色谱条件

| | | | |
|-------|---|--|------|
| 仪器 | 1290 四元 UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | |
| 色谱柱 | Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 695675-902 | | |
| 流动相 | A: 0.05% 磷酸; B: 乙腈 | | |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/ min | 加速方法: 0.6 ml/ min | |
| 流动相比例 | 经过优化的方法: 时间 (min) B% 0 13 7 13 7.1 16 17 16 17.1 60 20 60 20.1 13 25 13 | 加速方法: 时间 (min) B% 0 13 4 13 4.1 16 9 16 9.1 60 11 60 11.1 13 14 13 | |
| 柱温 | 30 °C | 进样量 | 1 μl |
| 检测器 | 320 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 40 Hz | | |
| 对照品 | 远志吡啶III、3,6'-二芥子酰基蔗糖, 均由诗丹德提供 | | |

系统适用性

原方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|--------------|------------|----------|------------|-----------|
| 远志吡啶III | 6.867 | 16615 | 1.15 | 0.96 |
| 3,6'-二芥子酰基蔗糖 | 15.405 | 57111 | 1.17 | 3.84 |

加速方法

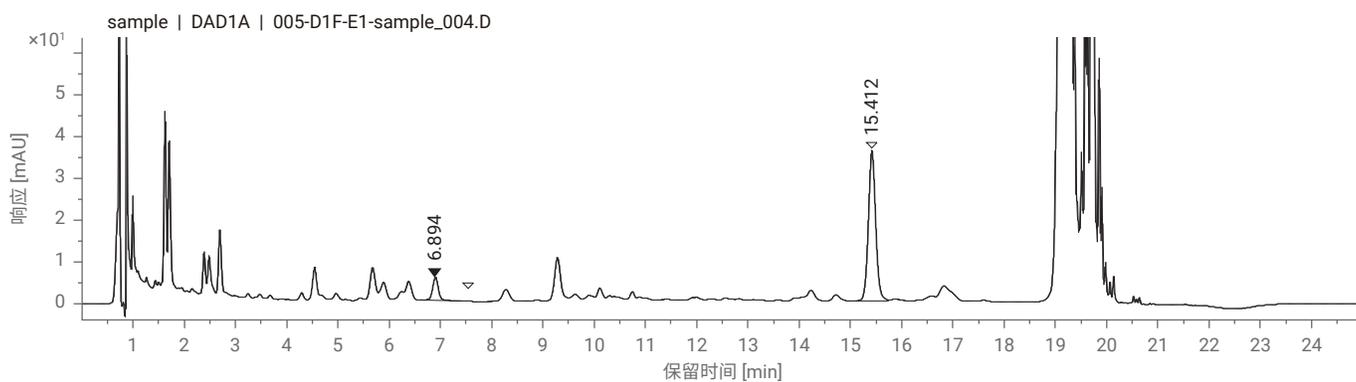
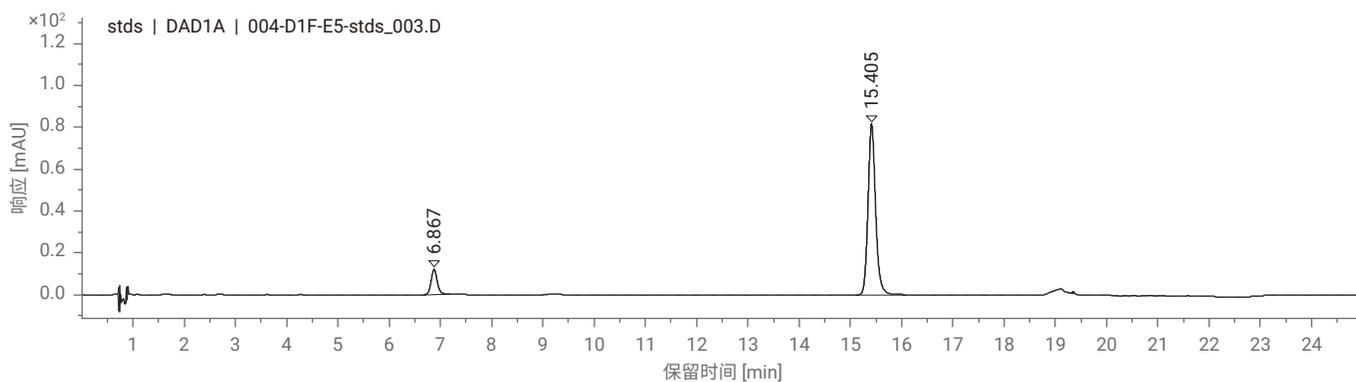
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|--------------|------------|----------|------------|-----------|
| 远志吡啶III | 3.885 | 11691 | 1.04 | 0.94 |
| 3,6'-二芥子酰基蔗糖 | 8.985 | 39774 | 0.91 | 3.76 |

小结及注意事项

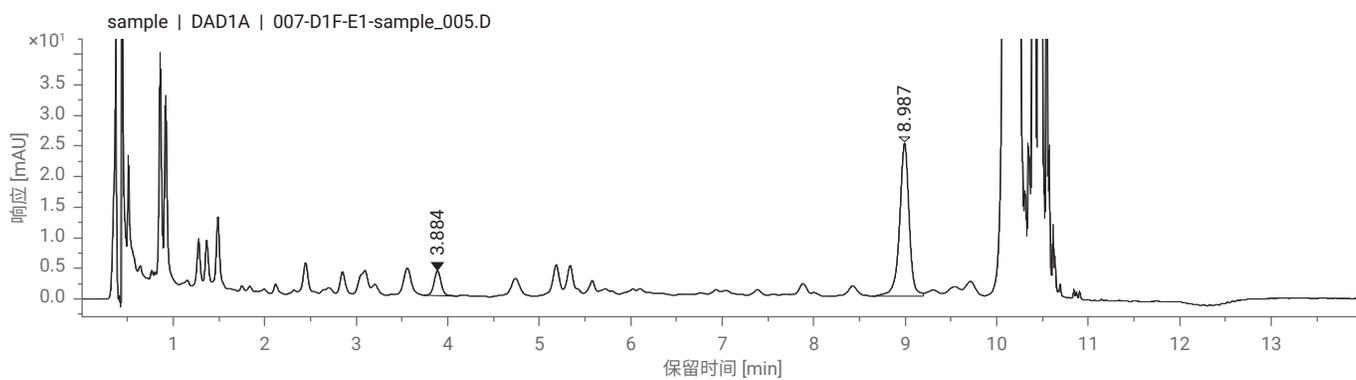
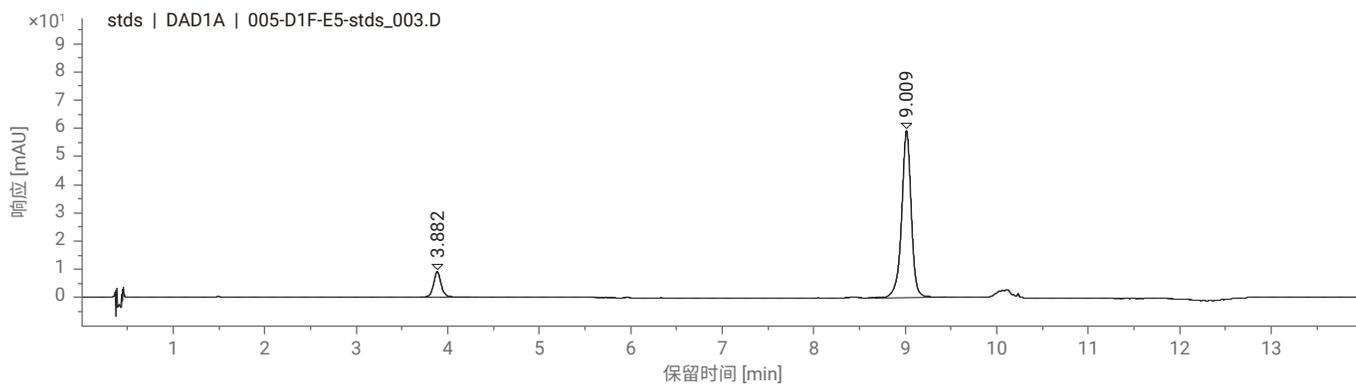
- 原始方法压力最高 454 bar, 加速方法压力最高 832 bar
- 原始方法中远志吡啶 III 和 3,6'-二芥子酰基蔗糖含量测定分别是在 16% 和 18% 的乙腈等度洗脱的, 在此条件下发现两个化合物在样品中均有干扰峰未分开。因此, 条件优化为在分别 13% 和 16% 乙腈比例下分离, 两个化合物均能获得基线分离

典型图谱

原方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



加速方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



泽兰配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|--|----------|----|
| 仪器 | 1260 Prime UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104C), 自动进样器 (G7129C), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 二元系统, 包括: 二元泵(G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | | | |
| 流动相 | MPA: ACN; MPB: 0.05% H_3PO_4 | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.4 ml/ min | 加速方法: 0.6 ml/ min | | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | A% | 时间 (min) | A% |
| | 0 | 10 | 0 | 10 |
| | 3 | 13 | 2 | 13 |
| | 9 | 13 | 6 | 13 |
| | 10 | 15 | 6.7 | 15 |
| | 15 | 20 | 10 | 20 |
| | 24 | 30 | 16 | 30 |
| | 26 | 90 | 17.3 | 90 |
| | 26.01 | 10 | 17.4 | 10 |
| 30 | 10 | 20 | 10 | |
| 柱温 | 40 °C | 45 °C | | |
| 检测器 | 330 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 40 Hz | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | |
| 对照品 | 咖啡酸、迷迭香酸, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-----------|-------|-------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.74 | 咖啡酸 | | | | | 17432 |
| 2 | 9.36 | | 0.65 | 0.54-0.66 | 0.54 | ≥0.22 | 29448 |
| 3 (S) | 14.49 | 迷迭香酸 | | | | | 149651 |
| 4 | 23.66 | | 1.63 | 1.49-1.83 | 0.18 | ≥0.09 | 847787 |

加速方法

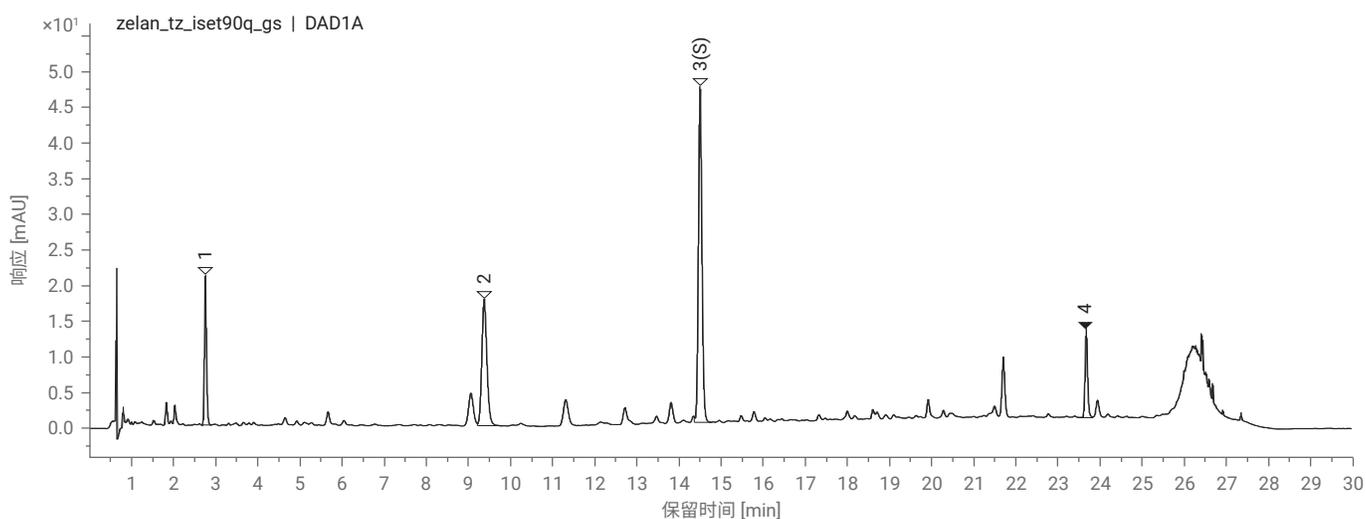
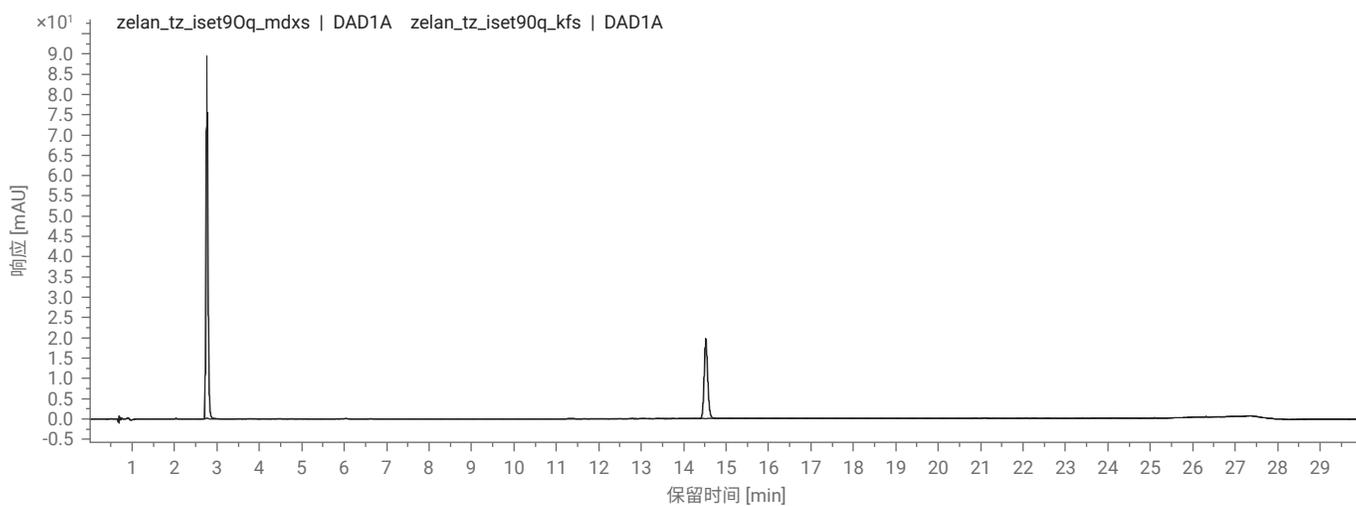
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-----------|-------|-------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 1.75 | 咖啡酸 | | | | | 14458 |
| 2 | 5.86 | | 0.63 | 0.54-0.66 | 0.51 | ≥0.22 | 26337 |
| 3 (S) | 9.31 | 迷迭香酸 | | | | | 113137 |
| 4 | 15.68 | | 1.68 | 1.49-1.83 | 0.14 | ≥0.09 | 773828 |

小结及注意事项

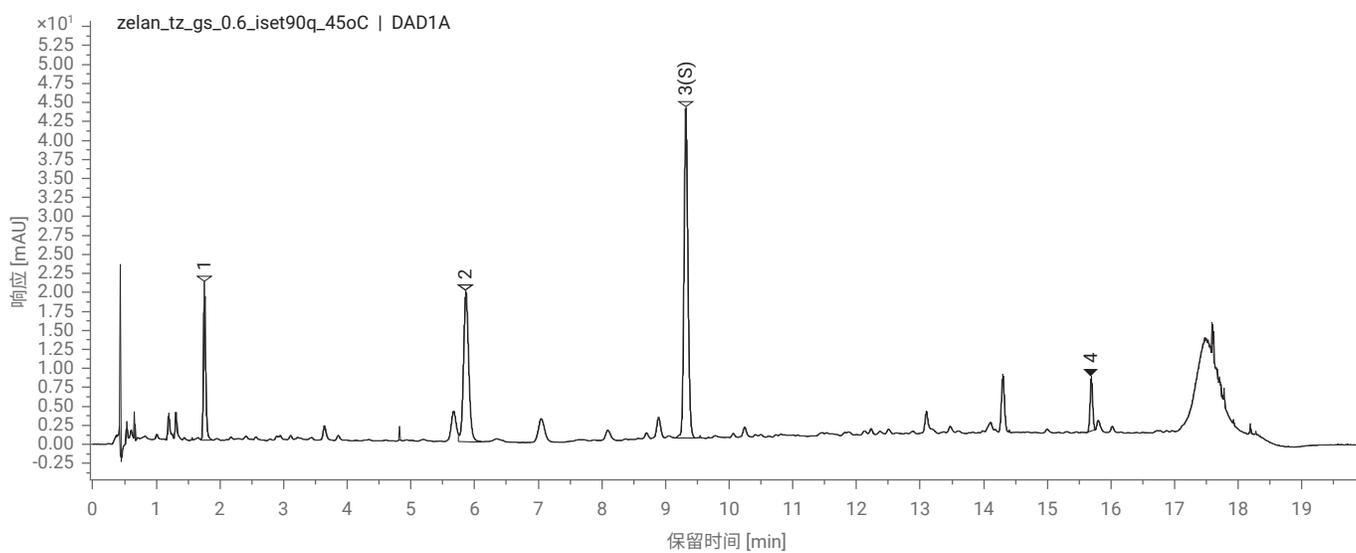
- 原始方法压力最高 420 bar, 加速方法压力最高 670 bar
- 加速 1.5 倍, 时间相应缩短, 在满足原方法要求之外提高了效率

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法图谱（供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|----|--|----|
| 仪器 | 1260 Prime UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104C), 自动进样器 (G7129C), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 150 mm, 5 μm PN: 883975-902 | | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 50 mm, 1.8 μm PN: 857700-902 | |
| 流动相 | MPA: ACN; MPB: 0.1% H ₃ PO ₄ | | | |
| 流速 | 原始方法: 1.0 ml/ min | | 转换方法: 0.6 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | A% | 时间 (min) | A% |
| | 0 | 15 | 0 | 15 |
| | 10 | 20 | 1.2 | 20 |
| | 25 | 25 | 3 | 25 |
| | 28 | 50 | 3.36 | 50 |
| | 28.01 | 15 | 3.37 | 15 |
| | 36 | 15 | 4.32 | 15 |
| 柱温 | 30 °C | | | |
| 检测器 | 330 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | | 330 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | |
| 进样量 | 10 μl | | 0.7 μl | |
| 对照品 | 迷迭香酸, 由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 |
|------|------------|----------|------------|-------|
| 迷迭香酸 | 15.3 | 27159 | 1.0 | 7.2mg |

转换方法

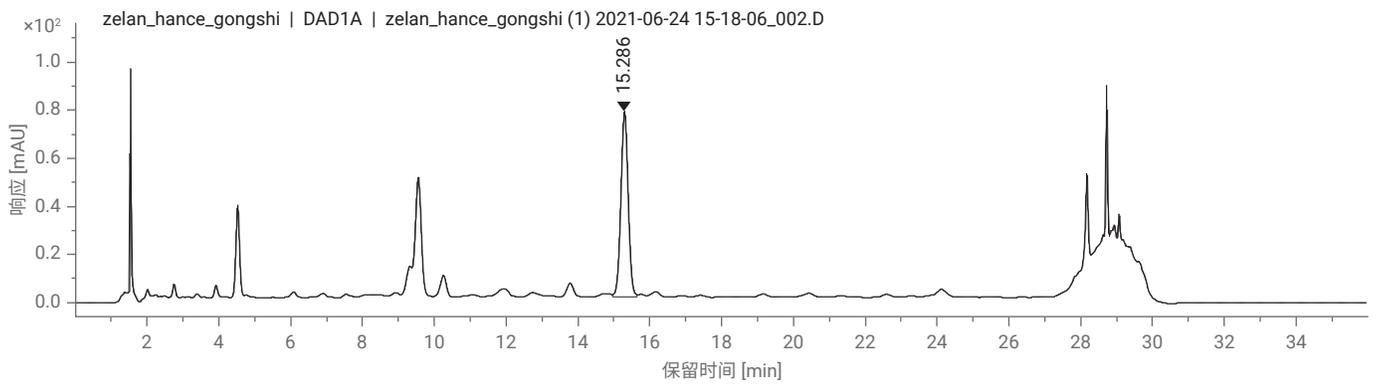
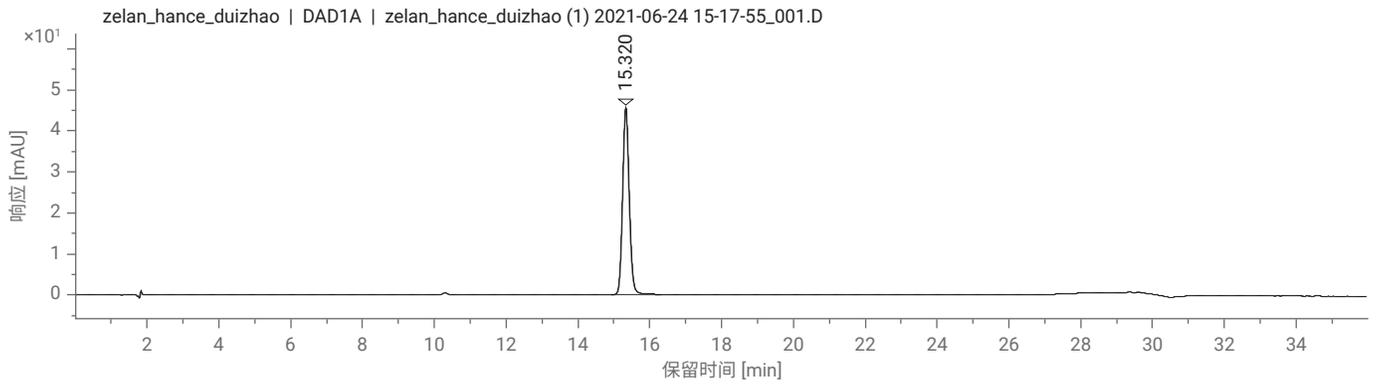
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 |
|------|------------|----------|------------|-------|
| 迷迭香酸 | 2.7 | 38230 | 1.1 | 7.6mg |

小结及注意事项

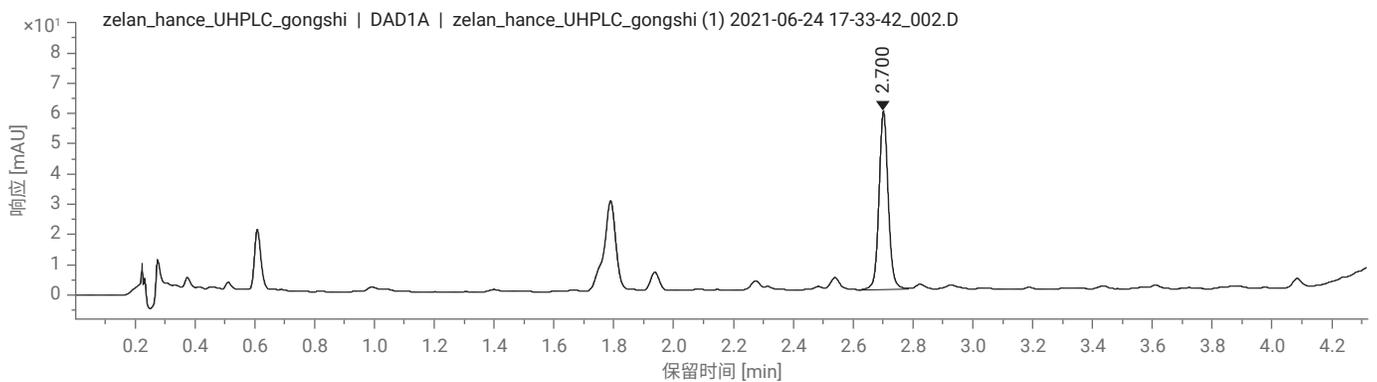
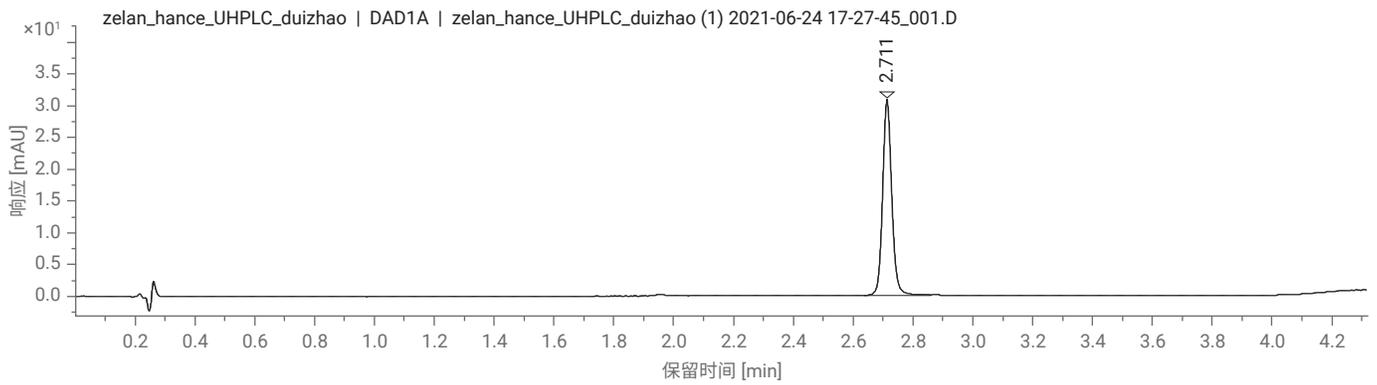
- 国标的含量测定方法需要 36 分钟分析时间, 按照 2020 版本药典 0512 通则转换成 UHPLC 方法之后只需要 4.5 分钟左右, 大大节约了时间和试剂消耗, 提高了效率

典型图谱

原方法（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法（上图为对照品，下图为供试品）



栀子配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|---|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|--------|--|----------|----|---|----|------|----|------|----|------|----|------|----|--------|-------|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18(2), 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 588925-902 | Poroshell SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 685675-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: ACN; MPB: 0.4% H ₃ PO ₄ | 柱温 25 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.5 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>92</td></tr> <tr><td>10</td><td>85</td></tr> <tr><td>15</td><td>80</td></tr> <tr><td>20</td><td>75</td></tr> <tr><td>40</td><td>70</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>10 min</td></tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 92 | 10 | 85 | 15 | 80 | 20 | 75 | 40 | 70 | 后运行时间: | 10 min | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>92</td></tr> <tr><td>1.52</td><td>85</td></tr> <tr><td>2.28</td><td>80</td></tr> <tr><td>3.04</td><td>75</td></tr> <tr><td>6.08</td><td>70</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>3 min</td></tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 92 | 1.52 | 85 | 2.28 | 80 | 3.04 | 75 | 6.08 | 70 | 后运行时间: | 3 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 92 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 85 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 15 | 80 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 20 | 75 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | 70 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 10 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 92 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1.52 | 85 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2.28 | 80 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3.04 | 75 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6.08 | 70 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 3 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 0-20 min :238 nm (4 nm);23-40 min 440 nm; Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 0-3.5 min:238 nm (4 nm);3.5-8 min 440 nm; Ref: off; 采样频率: 20 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 1.7 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 栀子苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|----------------|------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | | 6.557 | 0.420 | 0.376~0.442 | | | 20660 |
| 2 | | 11.087 | 0.710 | 0.648~0.760 | | | 18615 |
| 3 | 京尼平 1-β-D龙胆双糖苷 | 12.707 | 0.814 | 0.742~0.870 | | | 51774 |
| 4 (S) | 栀子苷 | 15.609 | | | | | 85620 |
| 5 | | 22.605 | 1.448 | 1.339~1.571 | | | 277501 |
| 6 | 西红花苷 I | 26.910 | 1.724 | 1.572~1.845 | | | 217954 |

UHPLC 方法

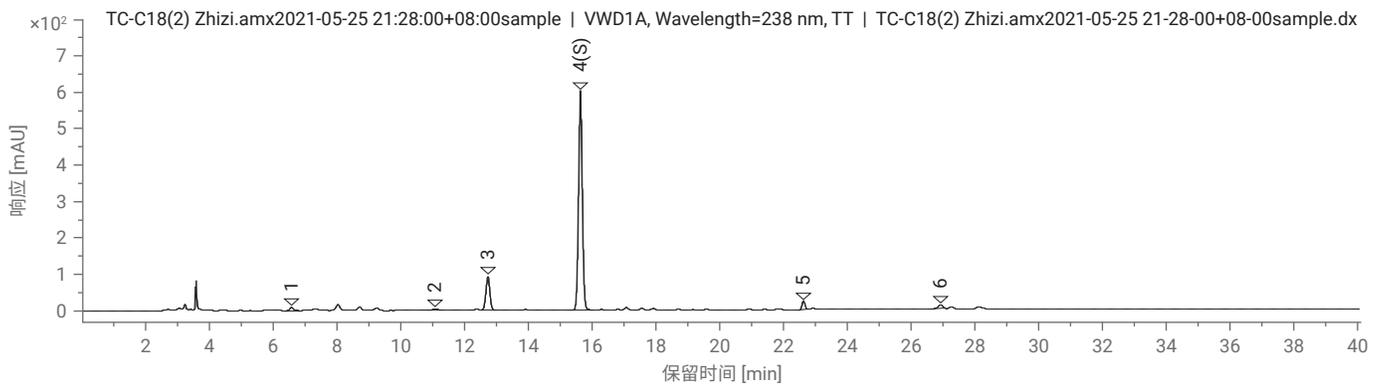
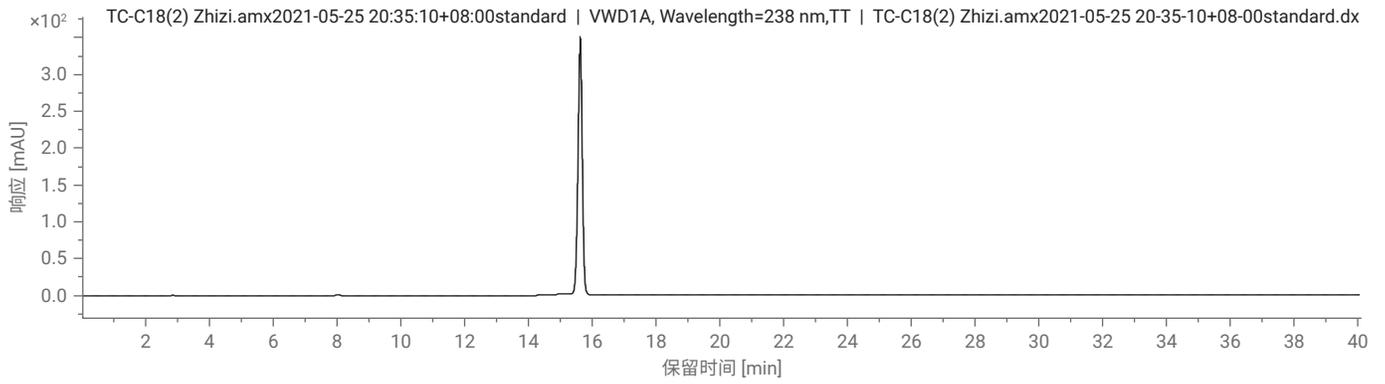
| 峰 | 化合物 | 保留时间 (min) | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|----------------|------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | | 0.911 | 0.289 | 0.376~0.442 | | | 5464 |
| 2 | | 2.117 | 0.672 | 0.648~0.760 | | | 18662 |
| 3 | 京尼平 1-β-D龙胆双糖苷 | 2.662 | 0.845 | 0.742~0.870 | | | 57872 |
| 4 (S) | 栀子苷 | 3.150 | | | | | 89399 |
| 5 | | 4.40 | 1.397 | 1.339~1.571 | | | 261185 |
| 6 | 西红花苷 I | 4.952 | 1.572 | 1.572~1.845 | | | 245639 |

小结及注意事项

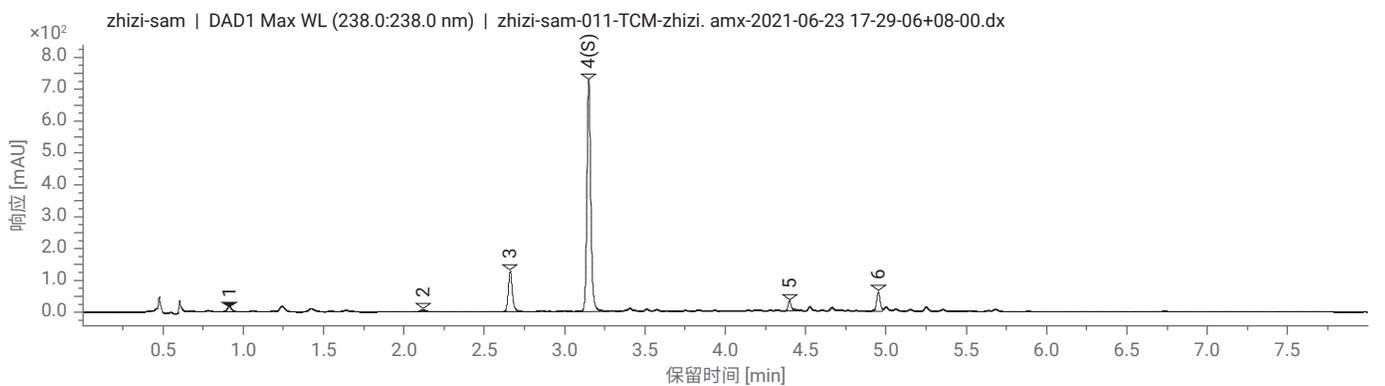
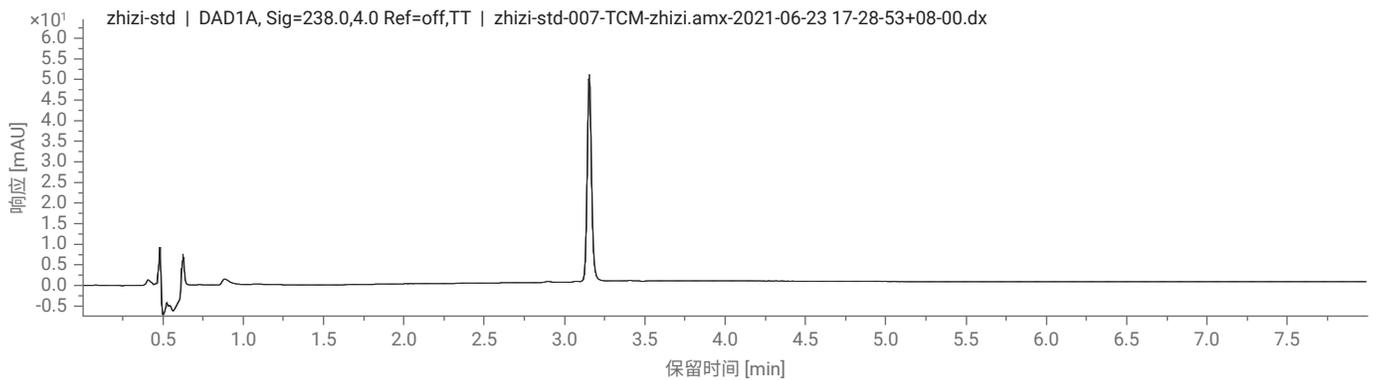
- 原始方法压力最高 145 bar, UHPLC 方法压力最高 635 bar; 使用 UHPLC 方法后分析时间缩短 34 分钟
- 按照方法转换用 poroshell 的色谱柱, 相对保留时间有偏差, 仅供参考
- 国标中无后运行方法, 建议 HPLC 方法后运行时间 10 min, UHPLC 方法后运行时间 6 min

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|--|---|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), VWD (G7114A) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) |
| 色谱柱 | Agilent TC-C18(2), 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 588925-902 | Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm, PN: 695675-902 |
| 流动相 | MPA: H ₂ O; MPB: ACN | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.5 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 15 30 15 | 时间 (min) B% 0 15 5 15 |
| 柱温 | 25 °C | 25 °C |
| 检测器 | 238 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz | 238 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz |
| 进样量 | 10ul | 1.7ul |
| 对照品 | 栀子苷, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 栀子苷 | 9.361 | 15229 | 1.03554 | 103 |

UHPLC 方法

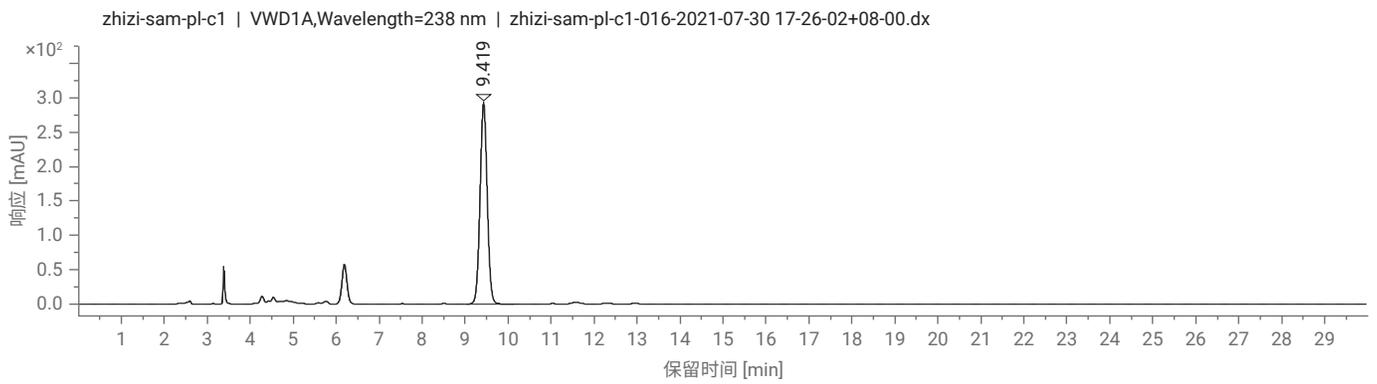
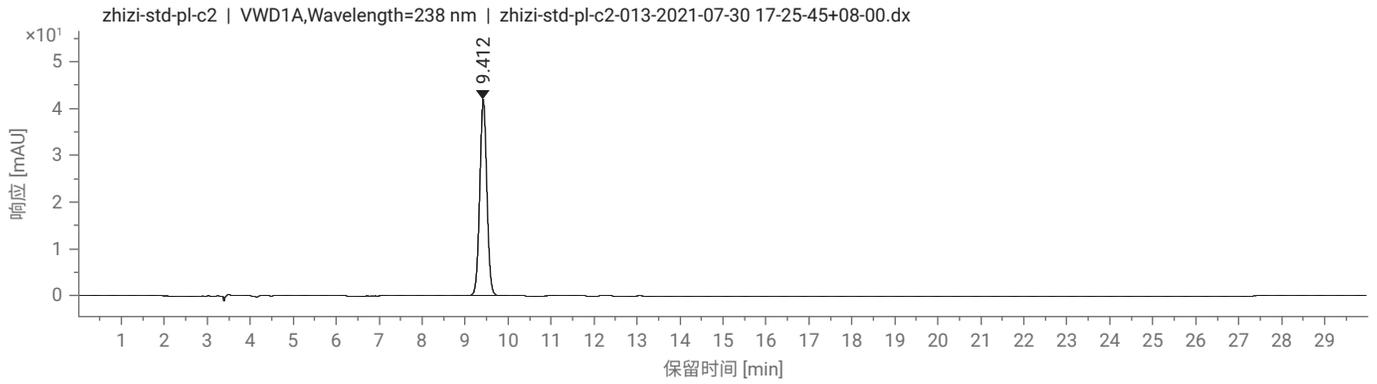
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|-----|------------|----------|------------|-----------|
| 栀子苷 | 1.705 | 7548 | 1.42106 | 107 |

小结及注意事项

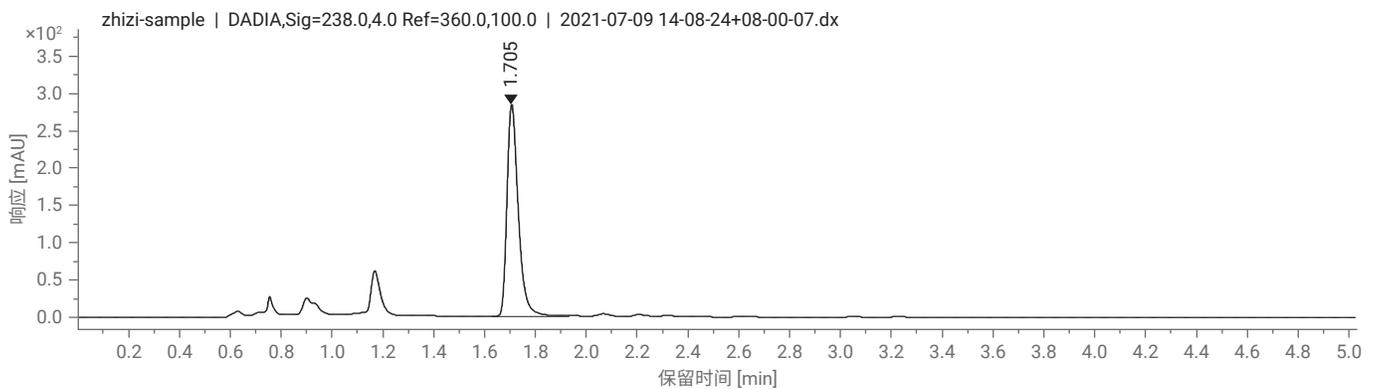
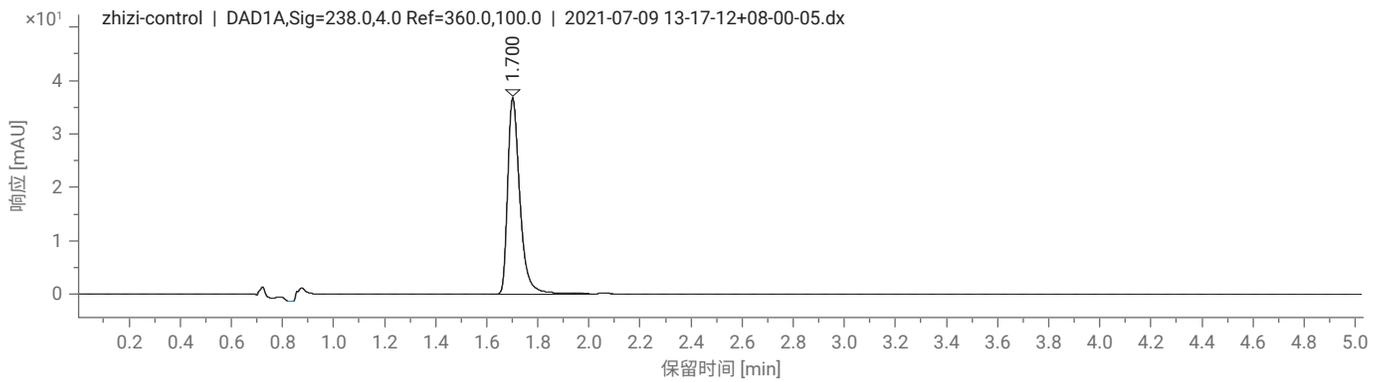
- 转换后的 UHPLC 时间由 30 分钟缩短至 5 分钟, 栀子苷柱效满足系统适用性要求

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



枳壳配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|------|------------------|----|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117C) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | | | |
| 流动相 | MPA: ACN; MPB: 0.05% H ₃ PO ₄ | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.4 ml/min | | 加速方法: 0.6 ml/min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 85 | 0 | 85 |
| | 7 | 75 | 4.7 | 75 |
| | 8 | 60 | 5.4 | 60 |
| | 10 | 55 | 6.7 | 55 |
| | 13 | 40 | 8.7 | 40 |
| | 15 | 85 | 10 | 85 |
| 20 | 85 | 13.5 | 85 | |
| 柱温 | 30 °C | | 35 °C | |
| 检测器 | 320m(4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | |
| 进样量 | 2 μl | | | |
| 对照品 | 柚皮苷、新橙皮苷、川陈皮素、橘皮素, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-----------|-------|-------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 6.091 | 柚皮苷 | | | | | 54610 |
| 2 (S) | 7.205 | 新橙皮苷 | | | | | 80186 |
| 3 | 8.014 | | 1.112 | 1.02~1.24 | | | 92766 |
| 4 | 10.031 | | 1.392 | 1.31~1.61 | | | 684346 |
| 5 | 11.517 | | 1.598 | 1.49~1.82 | | | 507524 |
| 6 | 12.26 | | 1.702 | 1.59~1.95 | | | 448177 |
| 7 | 13.191 | 川陈皮素 | | | 0.27 | >0.05 | 563045 |
| 8 | 14.147 | 橘皮素 | | | 0.22 | >0.05 | 607831 |

加速方法

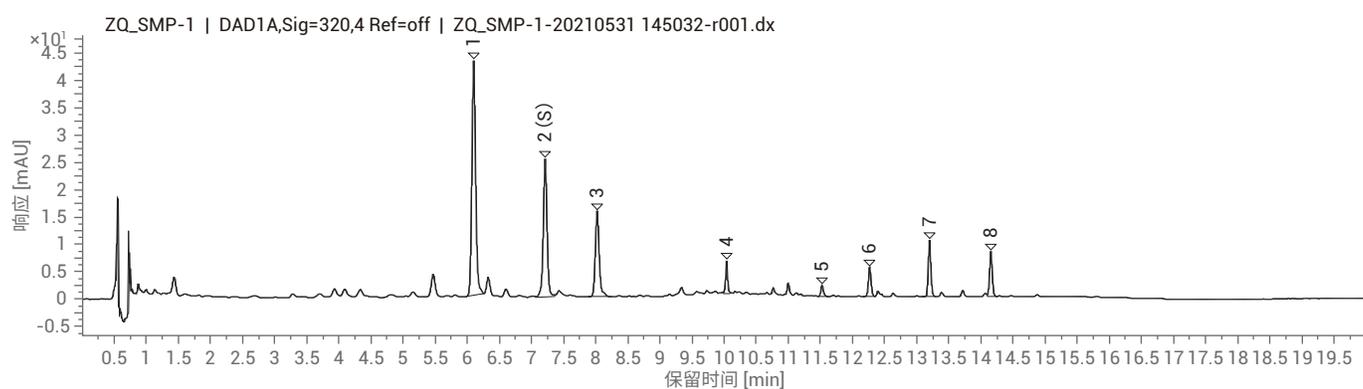
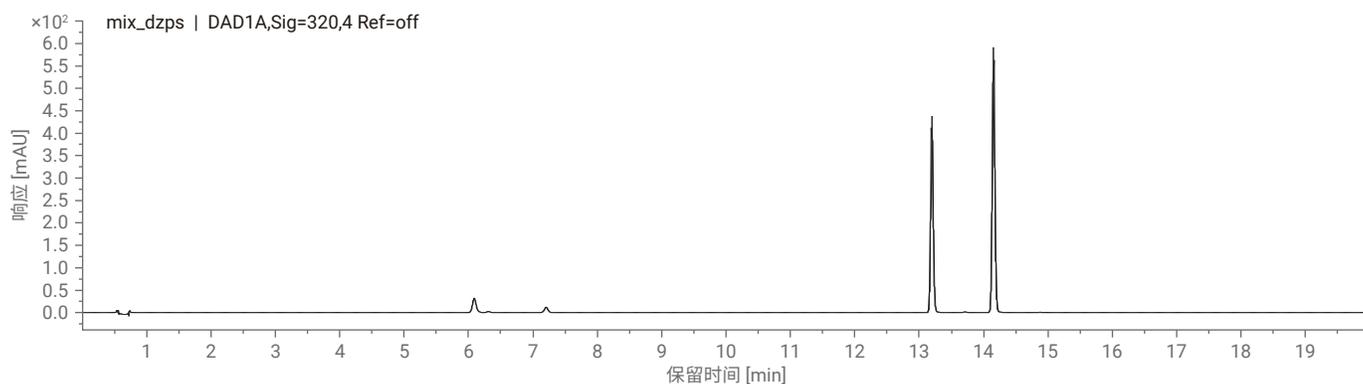
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|-------|------------|------|--------|-----------|-------|-------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 3.921 | 柚皮苷 | | | | | 42658 |
| 2 (S) | 4.728 | 新橙皮苷 | | | | | 68914 |
| 3 | 5.355 | | 1.133 | 1.02~1.24 | | | 86445 |
| 4 | 6.737 | | 1.425 | 1.31~1.61 | | | 605345 |
| 5 | 7.786 | | 1.647 | 1.49~1.82 | | | 591548 |
| 6 | 8.194 | | 1.733 | 1.59~1.95 | | | 486729 |
| 7 | 8.898 | 川陈皮素 | | | 0.28 | >0.05 | 598655 |
| 8 | 9.498 | 橘皮素 | | | 0.23 | >0.05 | 644272 |

小结及注意事项

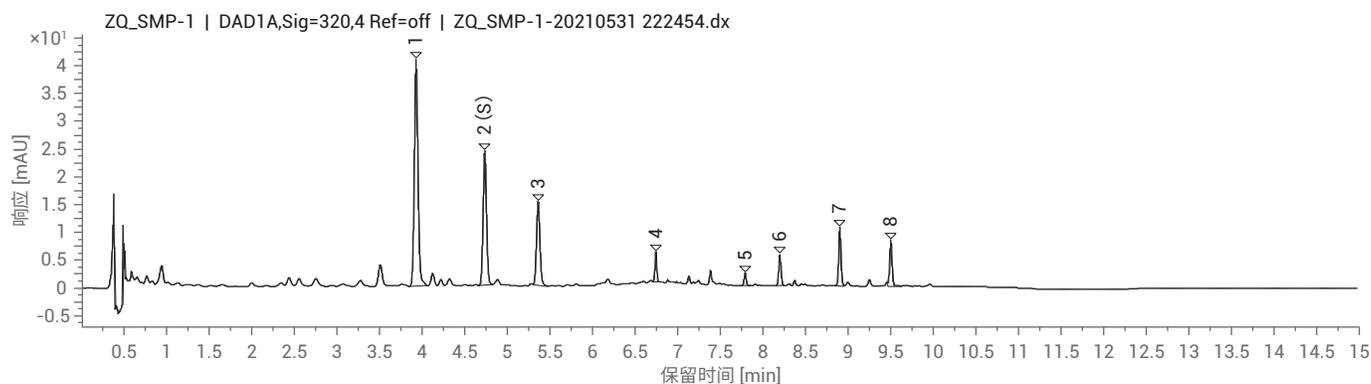
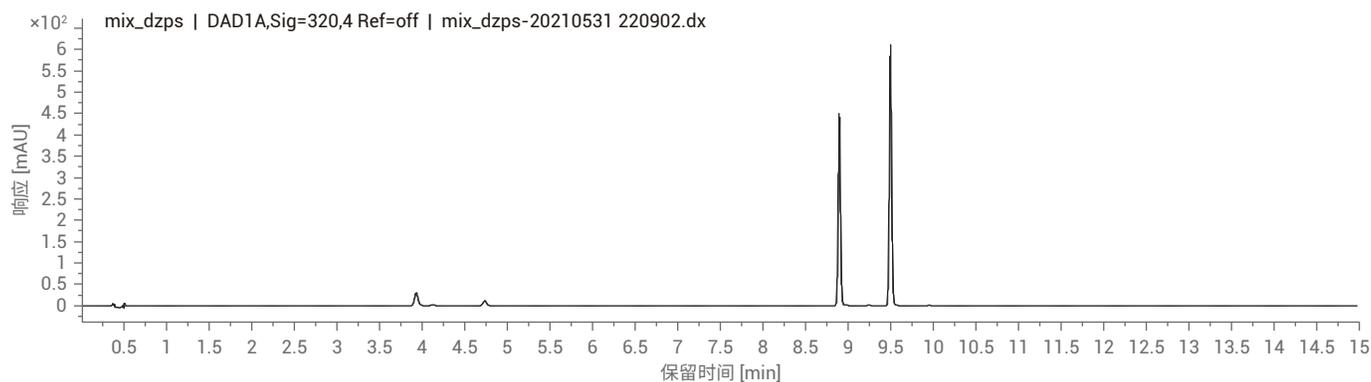
- 原始方法压力最高 450 bar, 加速方法压力最高 610 bar
- 使用 380 μl 混合器; 加速后分析时间缩短 6.5 分钟

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|----|-------------------|----|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117C) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-902 | | | |
| 流动相 | MPA: ACN; MPB: 0.05% H ₃ PO ₄ | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.4 ml/ min | | 加速方法: 0.6 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 85 | 0 | 85 |
| | 7 | 75 | 4.7 | 75 |
| | 8 | 60 | 5.4 | 60 |
| | 10 | 55 | 6.7 | 55 |
| | 13 | 40 | 8.7 | 40 |
| | 15 | 85 | 10 | 85 |
| | 20 | 85 | 13.5 | 85 |
| 柱温 | 30 °C | | 35 °C | |
| 检测器 | 283 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 40 Hz | | | |
| 进样量 | 2 μl | | | |
| 对照品 | 柚皮苷、新橙皮苷, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 柚皮苷 | 6.148 | 56279 | 1.12 | 127.51 |
| 新橙皮苷 | 7.263 | 88987 | 1.09 | 84.96 |

加速方法

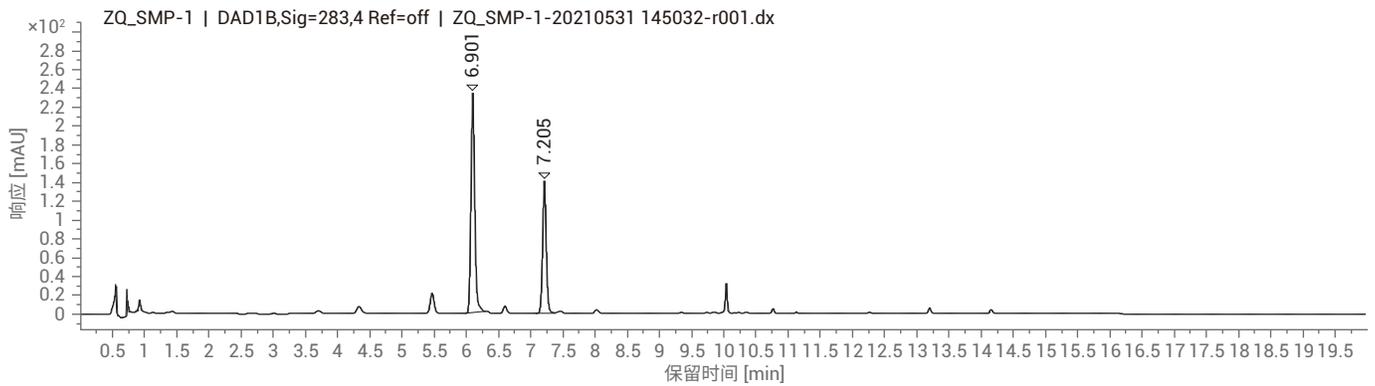
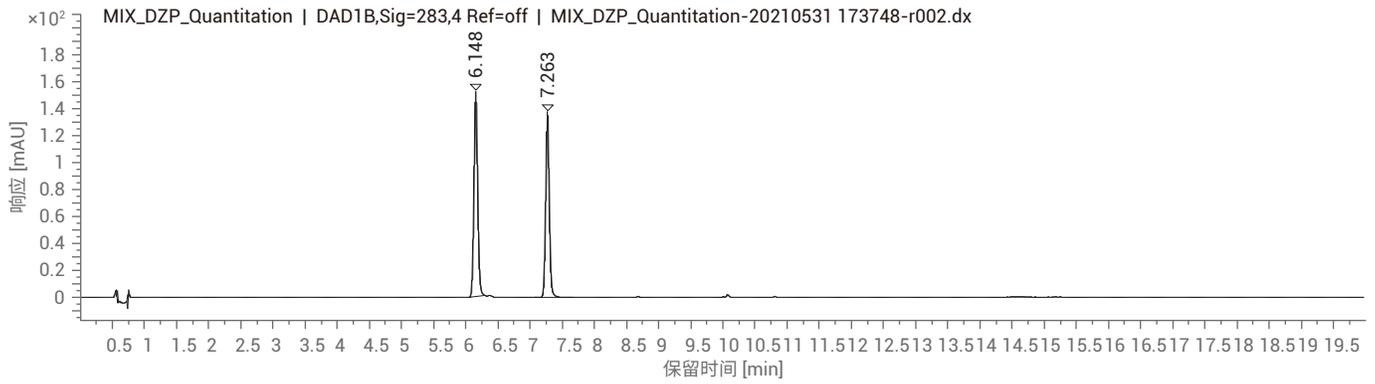
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 柚皮苷 | 3.923 | 43287 | 1.09 | 127.74 |
| 新橙皮苷 | 4.729 | 73206 | 1.06 | 86.23 |

小结及注意事项

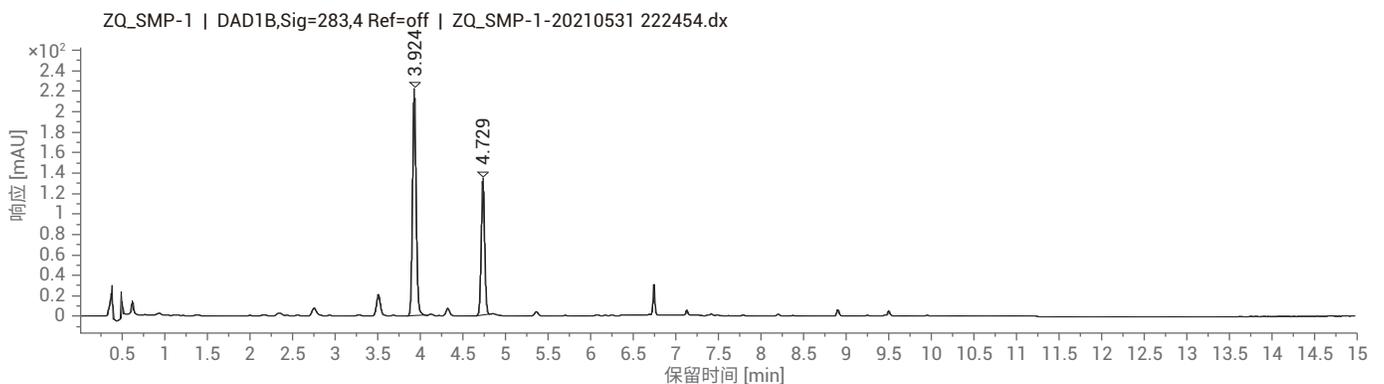
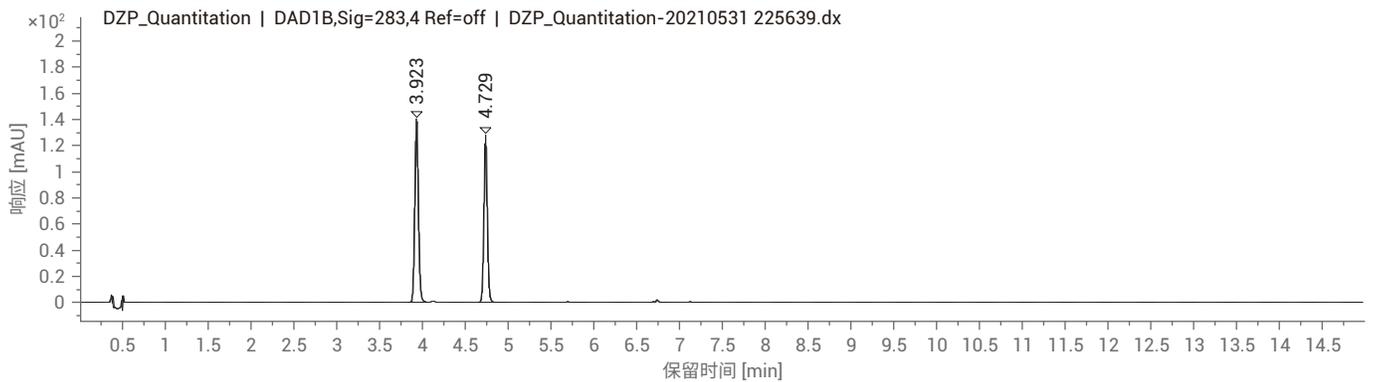
- 加速方法对柚皮苷的分离效果略好于标准方法
- 加速方法适当提高柱温利于降低流动相粘度, 降低系统反压

典型图谱

原始方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



加速方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



紫苏子配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--|---|----|---|----|----|----|----|----|----|----|--------|--------|---|----------|----|---|----|------|----|-----|----|-----|----|--------|-------|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117B) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117C) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 880975-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: ACN; MPB: 0.08%甲酸 | 柱温 30 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <tr><td>时间 (min)</td><td>B%</td></tr> <tr><td>0</td><td>97</td></tr> <tr><td>10</td><td>83</td></tr> <tr><td>35</td><td>78</td></tr> <tr><td>60</td><td>40</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>12 min</td></tr> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 97 | 10 | 83 | 35 | 78 | 60 | 40 | 后运行时间: | 12 min | <table border="1"> <tr><td>时间 (min)</td><td>B%</td></tr> <tr><td>0</td><td>97</td></tr> <tr><td>1.45</td><td>83</td></tr> <tr><td>8.7</td><td>78</td></tr> <tr><td>9.0</td><td>40</td></tr> <tr><td>后运行时间:</td><td>4 min</td></tr> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 97 | 1.45 | 83 | 8.7 | 78 | 9.0 | 40 | 后运行时间: | 4 min |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 97 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 83 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35 | 78 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 60 | 40 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 12 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 97 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1.45 | 83 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8.7 | 78 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9.0 | 40 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 后运行时间: | 4 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 284 nm (4 nm), Ref: 360(100 nm); 采样频率: 5.0 Hz | 284 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 进样量 | 10 μl | 1 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 咖啡酸、迷迭香酸, 均由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

HPLC 方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 9.824 | | 0.344 | 0.307~0.375 | | | 36938 |
| 2 | 11.112 | | 0.388 | 0.343~0.419 | | | 79513 |
| 3 | 13.258 | 咖啡酸 | 0.463 | 0.411~0.503 | | | 89086 |
| 4 | 20.659 | | 0.716 | 0.644~0.788 | | | 60699 |
| 5 | 26.887 | | 0.933 | 0.844~1.032 | | | 68252 |
| 6(S) | 28.833 | 迷迭香酸 | | | | | 67766 |

UHPLC 方法

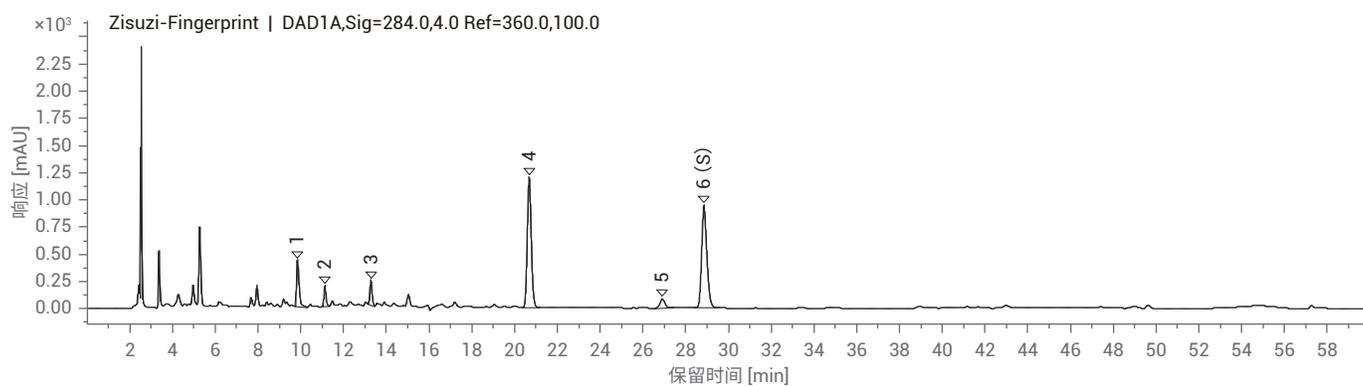
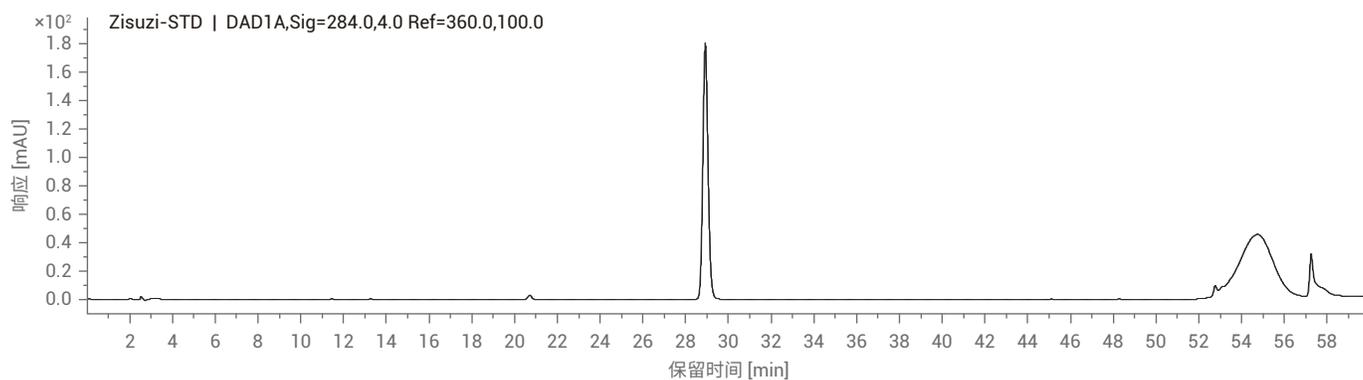
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|------|------------|------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.171 | | 0.389 | 0.307~0.375 | | | 60859 |
| 2 | 2.465 | | 0.442 | 0.343~0.419 | | | 166867 |
| 3 | 2.770 | 咖啡酸 | 0.497 | 0.411~0.503 | | | 130248 |
| 4 | 4.296 | | 0.770 | 0.644~0.788 | | | 102069 |
| 5 | 5.355 | | 0.960 | 0.844~1.032 | | | 104647 |
| 6(S) | 5.579 | 迷迭香酸 | | | | | 90926 |

小结及注意事项

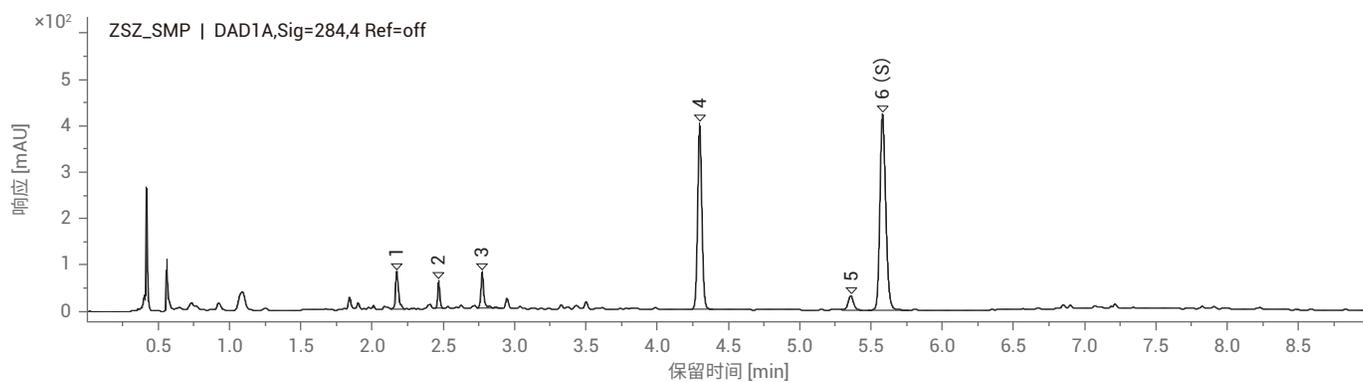
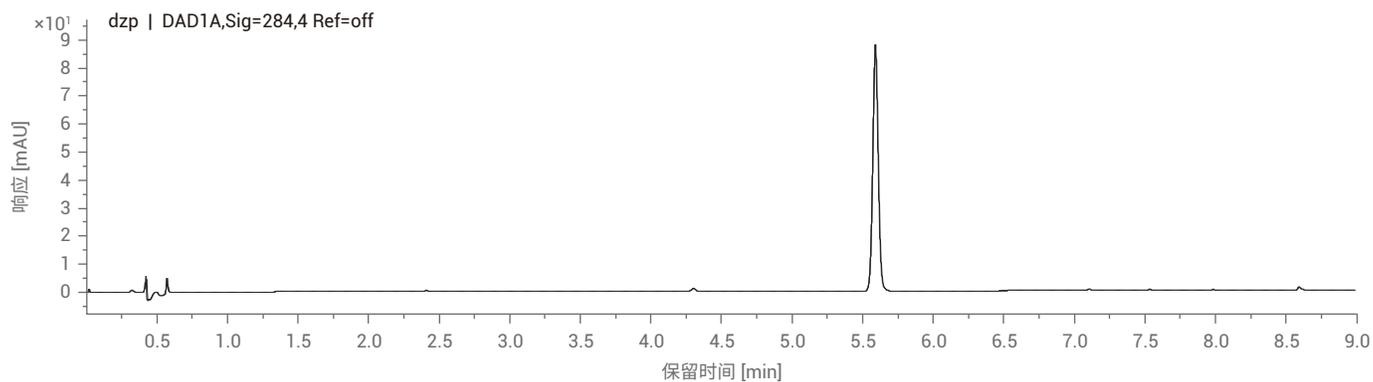
- 常规分析方法中设置了后运行时间 12 min; UHPLC 方法后运行时间设置为 4 min
- 原始方法压力最高 138 bar, UHPLC 方法压力最高 618 bar; 使用 UHPLC 方法后分析时间缩短 51 分钟

特征图谱

HPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|---|--|
| 仪器 | 1260 四元系统, 包含四元泵 (G7111B), 自动进样器 (G7129A), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117B) | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7129B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117C) |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm, PN: 880975-902 | ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 959758-902 |
| 流动相 | MPA: MeOH; MPB: 0.1%FA | |
| 流速 | 1.0 ml/ min | 0.6 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 60 27 60 | 时间 (min) B% 0 60 5 60 |
| 柱温 | 30 °C | 40 °C |
| 检测器 | 330 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 5 Hz | 330 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz |
| 进样量 | 5 μl | 1 μl |
| 对照品 | 迷迭香酸, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 迷迭香酸 | 13.140 | 6914 | 1.2 | 11.52 |

UHPLC 方法

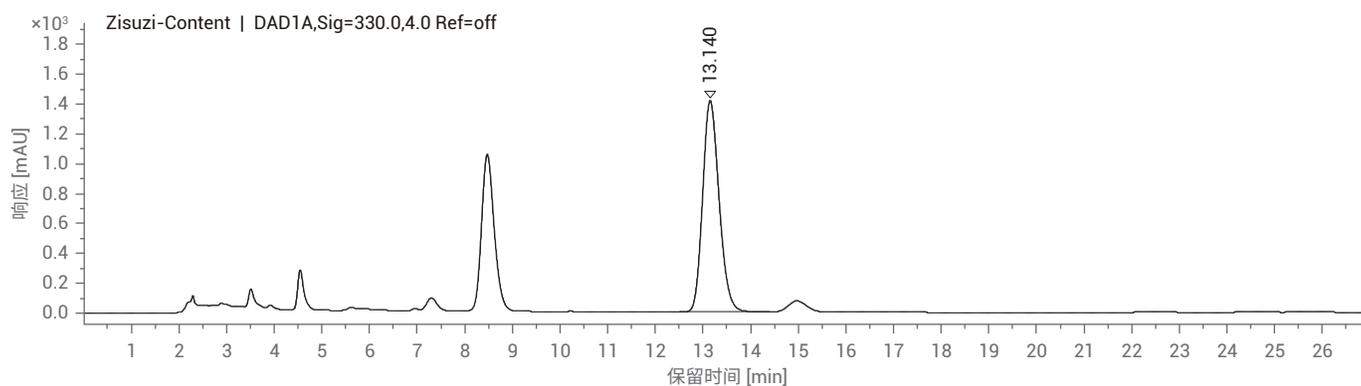
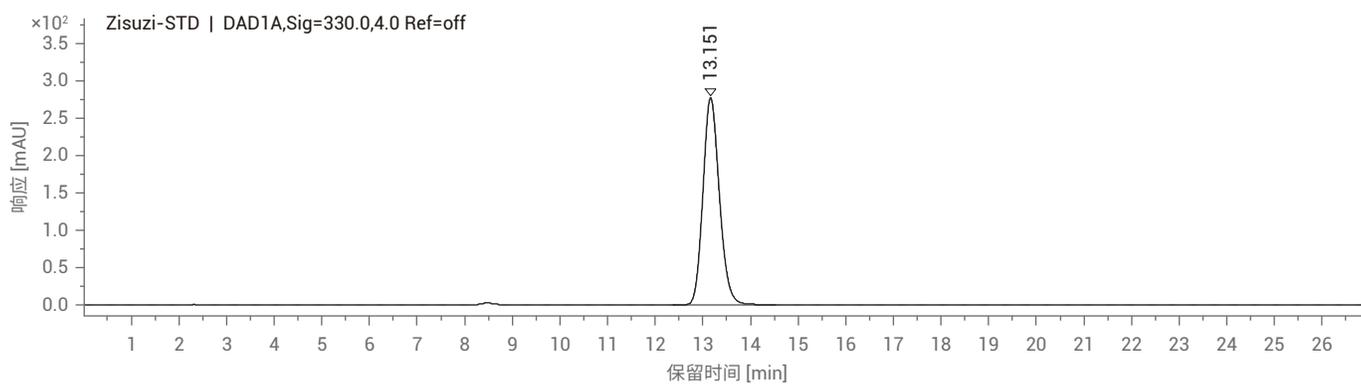
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|------|------------|----------|------------|-----------|
| 迷迭香酸 | 1.591 | 4939 | 1.20 | 10.14 |

小结及注意事项

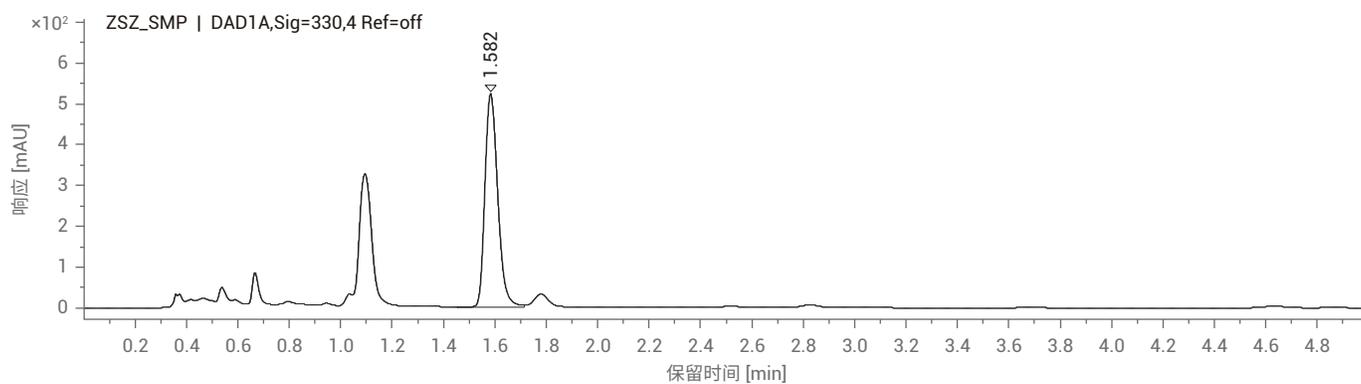
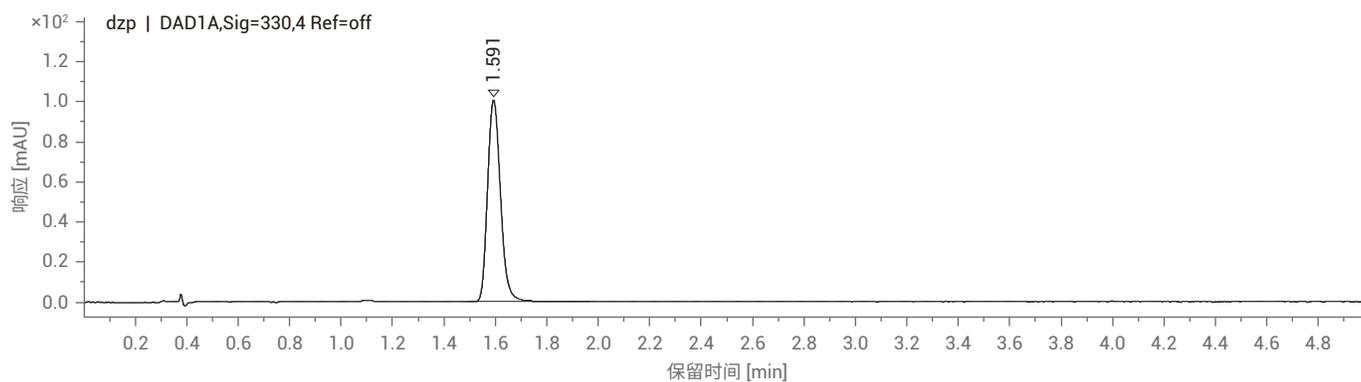
- 更换自动进样器到柱温管线为 0.25 × 400 mm 管线, 以克服溶剂效应
- HPLC 方法中使用了 60 mm 光程的流通池

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



紫菀配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|-------|--------------|----|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-Aq, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-914 | 柱温 | 35 °C | |
| 流动相 | MPA: 0.1%甲酸溶液; MPB: 四氢呋喃—甲醇 (1:4) | 进样量 | 1 μl | |
| 流速 | 原始方法: 0.35 ml/ min | 加速方法: | 0.6 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 9 | 0 | 9 |
| | 10 | 11 | 5.83 | 11 |
| | 11 | 21 | 6.42 | 21 |
| | 17 | 26 | 9.92 | 26 |
| | 25 | 26 | 14.59 | 26 |
| | 36 | 38 | 21 | 38 |
| | 后运行时间: 5 min | | 后运行时间: 3 min | |
| 检测器 | 327 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 40 Hz | | | |
| 对照品 | 绿原酸、1, 5-O二咖啡酰奎宁酸, 均由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原始方法

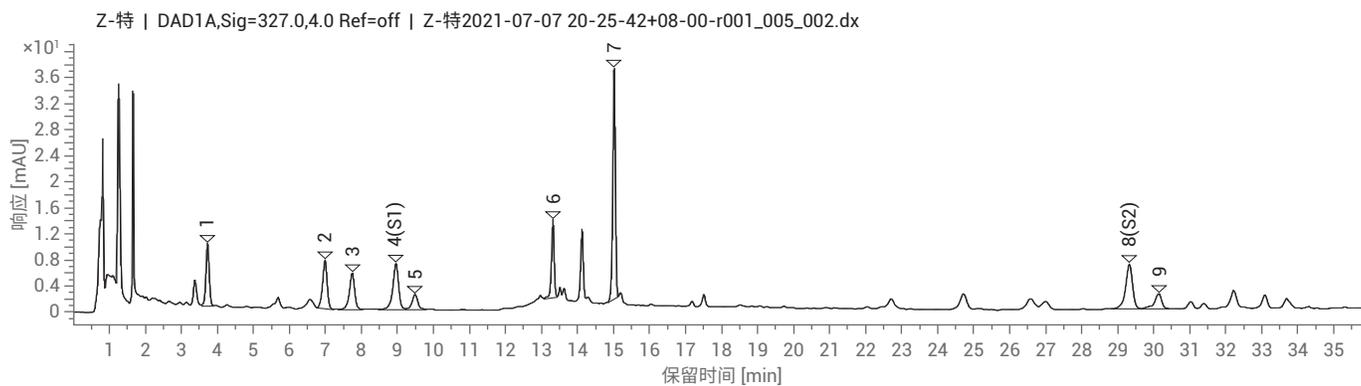
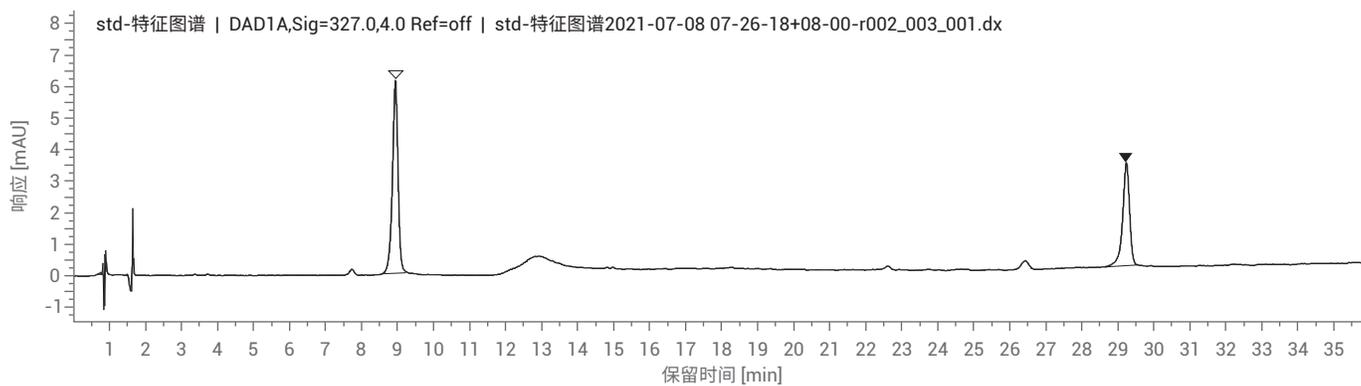
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|--------|------------|--------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 3.714 | 新绿原酸 | 0.415 | 0.378~0.462 | | | 8810 |
| 2 | 6.975 | | 0.780 | 0.729~0.891 | | | 15291 |
| 3 | 7.734 | 隐绿原酸 | 0.864 | 0.828~1.012 | | | 15264 |
| 4 (S1) | 8.948 | 绿原酸 | | | | | 16667 |
| 5 | 9.475 | 咖啡酸 | 1.059 | 1.017~1.243 | | | 18906 |
| 6 | 13.307 | | 1.487 | 1.269~1.551 | | | 182291 |
| 7 | 15.008 | 1,3-O二咖啡酰奎宁酸 | 1.677 | 1.422~1.738 | | | 222085 |
| 8 (S2) | 29.316 | 1,5-O二咖啡酰奎宁酸 | | | | | 123613 |
| 9 | 30.128 | | 1.028 | 0.945~1.155 | | | 139143 |

加速方法

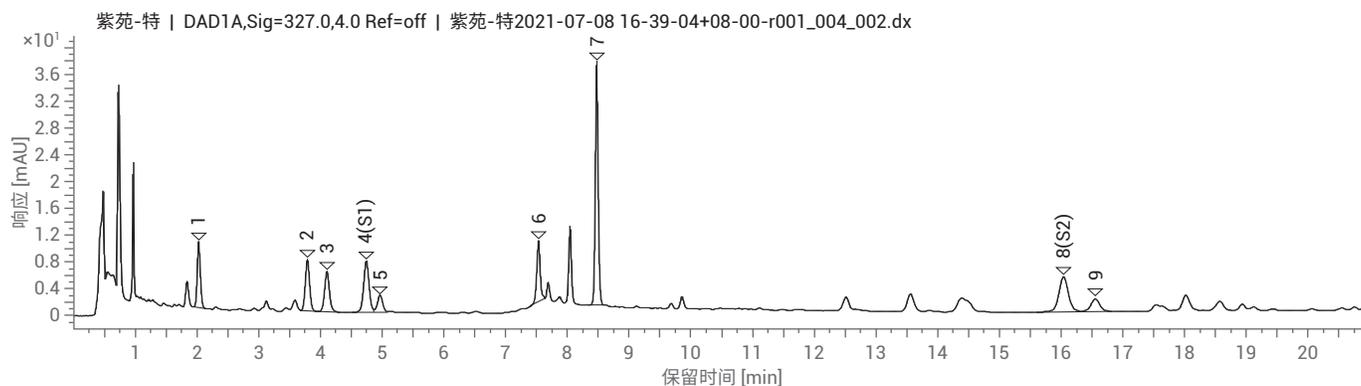
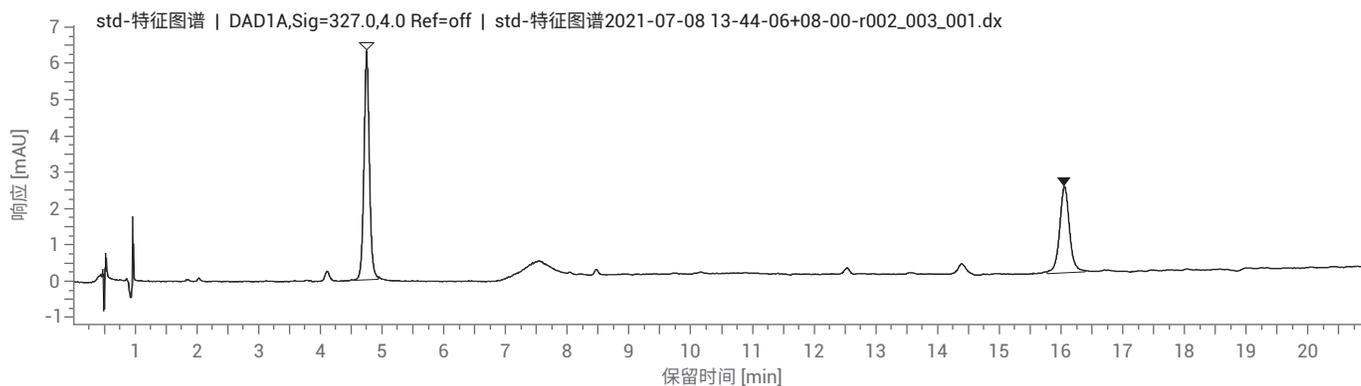
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|--------|------------|--------------|--------|-------------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.021 | 新绿原酸 | 0.427 | 0.378~0.462 | | | 7922 |
| 2 | 3.782 | / | 0.798 | 0.729~0.891 | | | 14482 |
| 3 | 4.098 | 隐绿原酸 | 0.865 | 0.828~1.012 | | | 14099 |
| 4 (S1) | 4.737 | 绿原酸 | | | | | 14693 |
| 5 | 4.959 | 咖啡酸 | 1.047 | 1.017~1.243 | | | 18246 |
| 6 | 7.526 | | 1.589 | 1.269~1.551 | | | 89073 |
| 7 | 8.468 | 1,3-O二咖啡酰奎宁酸 | 1.788 | 1.422~1.738 | | | 173840 |
| 8 (S2) | 16.032 | 1,5-O二咖啡酰奎宁酸 | | | | | 54633 |
| 9 | 16.543 | | 1.032 | 0.945~1.155 | | | 67113 |

特征图谱

原始方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



加速方法图谱（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| | | | | |
|-------|---|-------|-------------------|-------|
| 仪器 | 1290 四元系统, 包含全能泵 (G7104A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117B) | | | |
| 色谱柱 | ZORBAX RRHD SB-Aq, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm, PN: 858700-914 | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1%甲酸溶液; MPB: 四氢呋喃—甲醇 (1:4) | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.35 ml/ min | | 加速方法: 0.6 ml/ min | |
| 流动相比例 | 时间 (min) | B% | 时间 (min) | B% |
| | 0 | 9 | 0 | 9 |
| | 10 | 11 | 5.83 | 11 |
| | 11 | 21 | 6.42 | 21 |
| | 17 | 26 | 9.92 | 26 |
| | 25 | 26 | 14.59 | 26 |
| | 36 | 38 | 21 | 38 |
| | 后运行时间: | 5 min | 后运行时间: | 3 min |
| 柱温 | 35 °C | | | |
| 检测器 | 327 nm (4 nm), Ref: off, 采样频率: 40 Hz | | | |
| 进样量 | 1 μl | | | |
| 对照品 | 绿原酸由诗丹德提供 | | | |

系统适用性

原方法

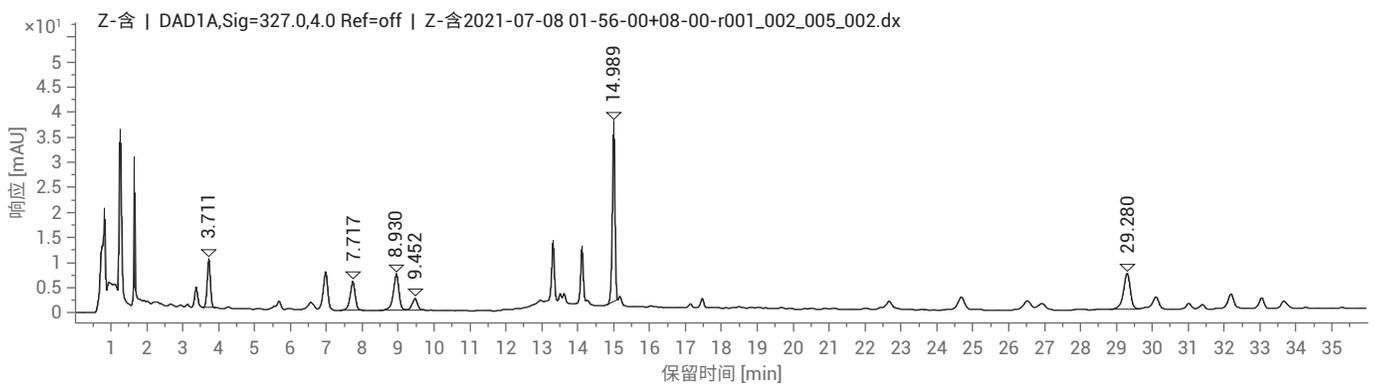
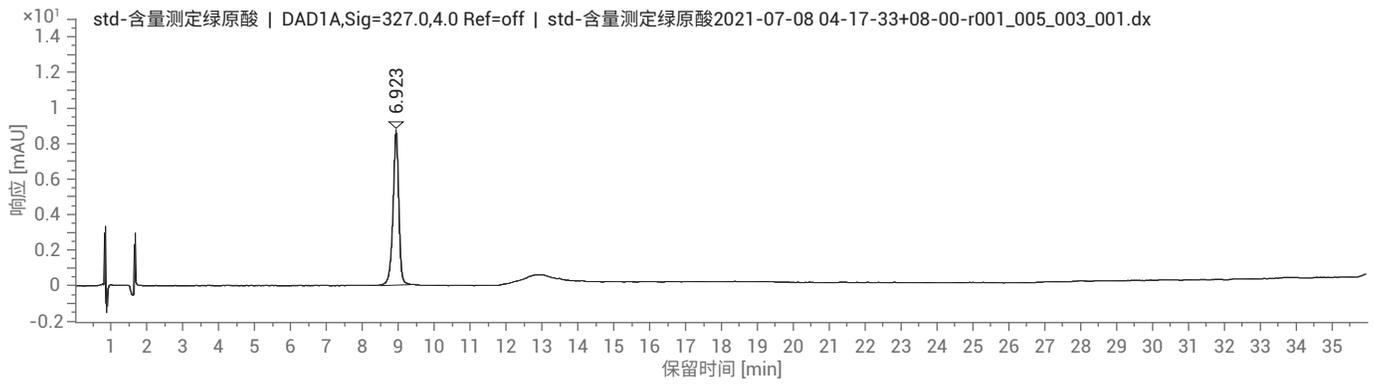
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|---------------|------------|----------|------------|-----------|
| 新绿酸 | 3.711 | 9077 | 0.99 | 0.404 |
| 隐绿酸 | 7.717 | 15473 | 0.88 | 0.433 |
| 绿原酸 | 8.930 | 17080 | 0.85 | 0.556 |
| 咖啡酸 | 9.452 | 18864 | 0.99 | 0.098 |
| 1,3-O-二咖啡酰奎宁酸 | 14.989 | 220291 | 0.91 | 1.129 |
| 1,5-O-二咖啡酰奎宁酸 | 29.280 | 122506 | 0.86 | 0.517 |
| 总量 | | | | 3.137 |

加速方法

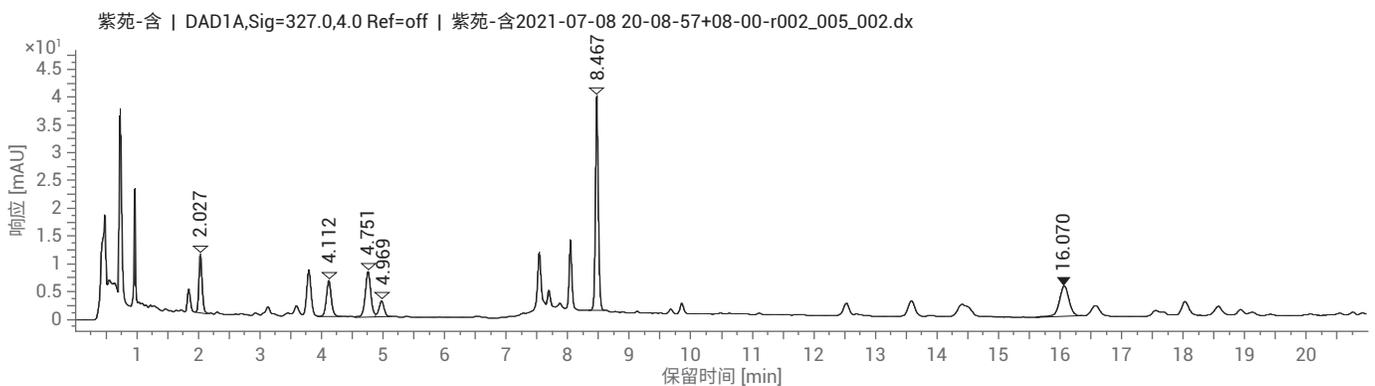
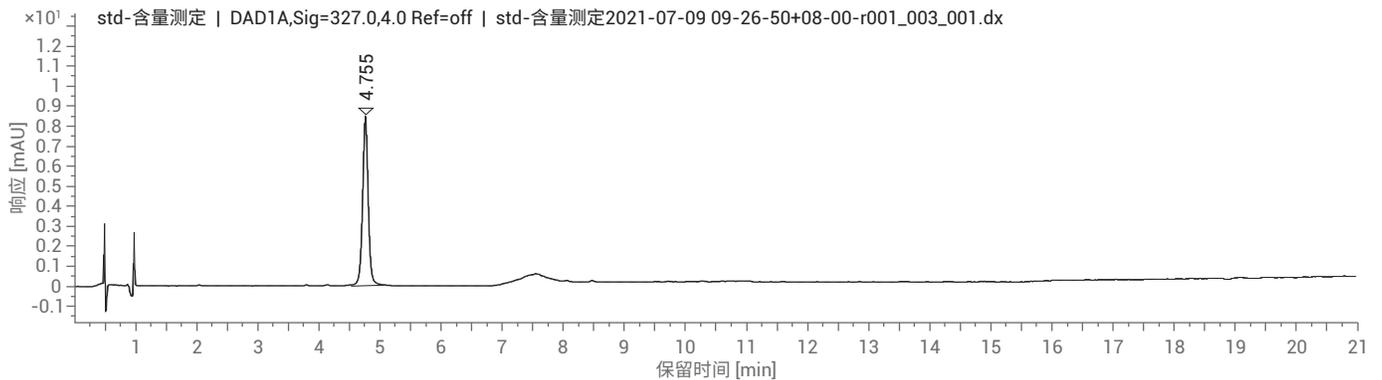
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (mg/g) |
|---------------|------------|----------|------------|-----------|
| 新绿酸 | 2.027 | 8038 | 1.12 | 0.407 |
| 隐绿酸 | 4.112 | 14141 | 1.07 | 0.436 |
| 绿原酸 | 4.751 | 14785 | 1.06 | 0.571 |
| 咖啡酸 | 4.969 | 18325 | 1.05 | 0.098 |
| 1,3-O-二咖啡酰奎宁酸 | 8.467 | 172228 | 1.12 | 1.211 |
| 1,5-O-二咖啡酰奎宁酸 | 16.070 | 55582 | 1.05 | 0.551 |
| 总量 | | | | 3.274 |

典型图谱

原方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



加速方法 (上图为对照品, 下图为供试品)



知母配方颗粒



特征图谱及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| 仪器 | 1260 Prime UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104C), 自动进样器 (G7129C), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 二元 UHPLC 系统, 包括: 高速泵(G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|---|----|---|---|---|---|---|----|---|----|---|----|-----|-----|------|-----|------|---|----|---|--|----------|----|---|---|---|---|---|----|---|----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|---|---|---|
| 色谱柱 | BEH C18, 2.1 × 100 mm, 1.7 μm | 柱温 35°C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1%FA H ₂ O; MPB: 0.1%FA MeCN | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/ min | 加速方法: 0.6 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <tr><th>时间 (min)</th><th>B%</th></tr> <tr><td>0</td><td>5</td></tr> <tr><td>2</td><td>5</td></tr> <tr><td>4</td><td>15</td></tr> <tr><td>6</td><td>15</td></tr> <tr><td>9</td><td>80</td></tr> <tr><td>9.1</td><td>100</td></tr> <tr><td>10.6</td><td>100</td></tr> <tr><td>10.7</td><td>5</td></tr> <tr><td>12</td><td>5</td></tr> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 5 | 2 | 5 | 4 | 15 | 6 | 15 | 9 | 80 | 9.1 | 100 | 10.6 | 100 | 10.7 | 5 | 12 | 5 | <table border="1"> <tr><th>时间 (min)</th><th>B%</th></tr> <tr><td>0</td><td>5</td></tr> <tr><td>1</td><td>5</td></tr> <tr><td>2</td><td>15</td></tr> <tr><td>3</td><td>15</td></tr> <tr><td>4.5</td><td>80</td></tr> <tr><td>4.6</td><td>100</td></tr> <tr><td>5.3</td><td>100</td></tr> <tr><td>5.4</td><td>5</td></tr> <tr><td>6</td><td>5</td></tr> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 5 | 1 | 5 | 2 | 15 | 3 | 15 | 4.5 | 80 | 4.6 | 100 | 5.3 | 100 | 5.4 | 5 | 6 | 5 |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | 80 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9.1 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10.6 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10.7 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4.5 | 80 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4.6 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5.3 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5.4 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 275 nm (4 nm), Ref: 460 nm (100 nm); 采样频率: 40 Hz | 进样量 2 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 芒果苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

原始方法

| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|------|------------|------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 2.03 | | | | | | 9936 |
| 2 | 6.08 | 新芒果苷 | 0.86 | 0.78-0.96 | | | 329784 |
| 3(S) | 7.04 | 芒果苷 | | | | | 395634 |
| 4 | 7.30 | 异芒果苷 | 1.04 | 0.94-1.14 | | | 294928 |
| 5 | 11.19 | | 1.59 | 1.36-1.66 | | | 2416403 |

加速方法

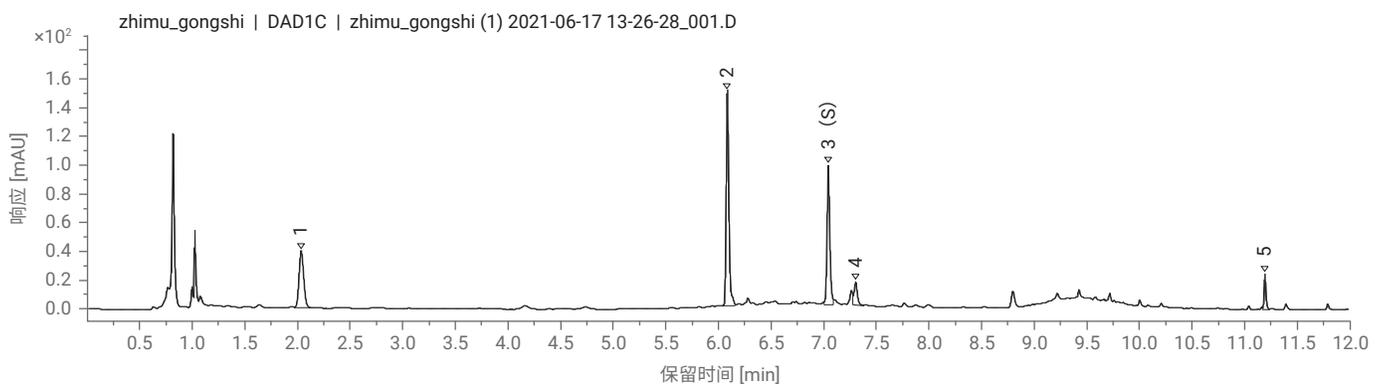
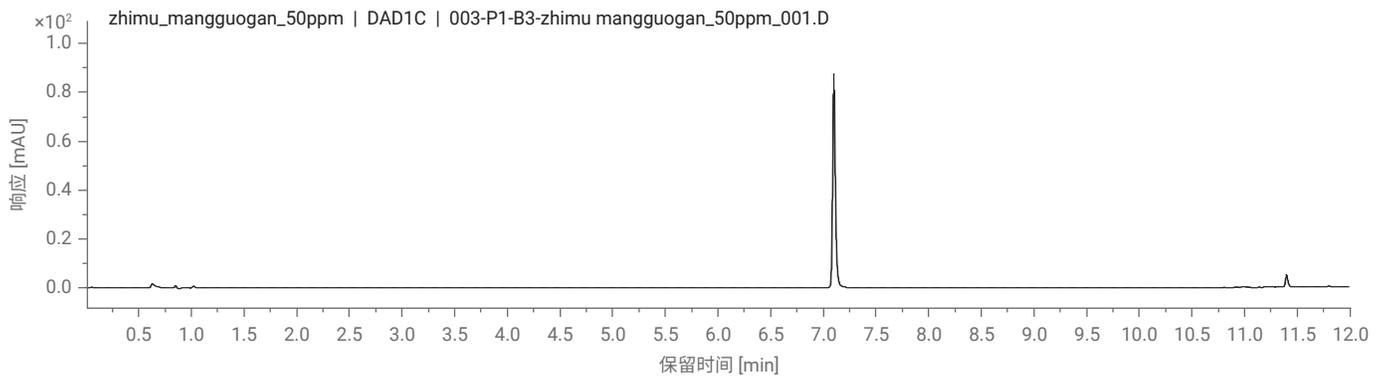
| 峰 | 保留时间 (min) | 化合物 | 相对保留时间 | | 相对峰面积 | | 柱效 (USP) |
|------|------------|------|--------|-----------|-------|------|----------|
| | | | 实测值 | 规定范围 | 实测值 | 规定范围 | |
| 1 | 1.07 | | | | | | 10807 |
| 2 | 2.29 | 新芒果苷 | 0.85 | 0.78-0.96 | | | 285509 |
| 3(S) | 2.70 | 芒果苷 | | | | | 269825 |
| 4 | 2.82 | 异芒果苷 | 1.04 | 0.94-1.14 | | | 205431 |
| 5 | 4.71 | | 1.74 | 1.36-1.66 | | | 2206311 |

小结及注意事项

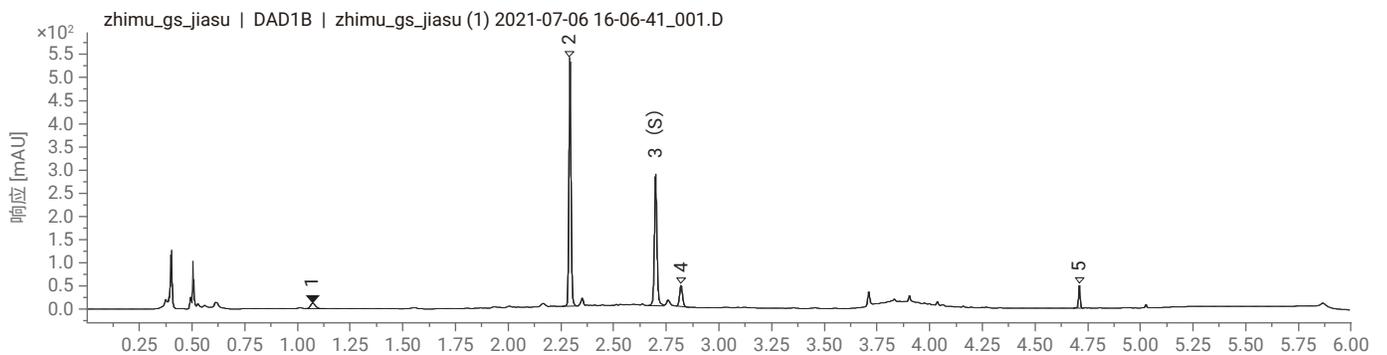
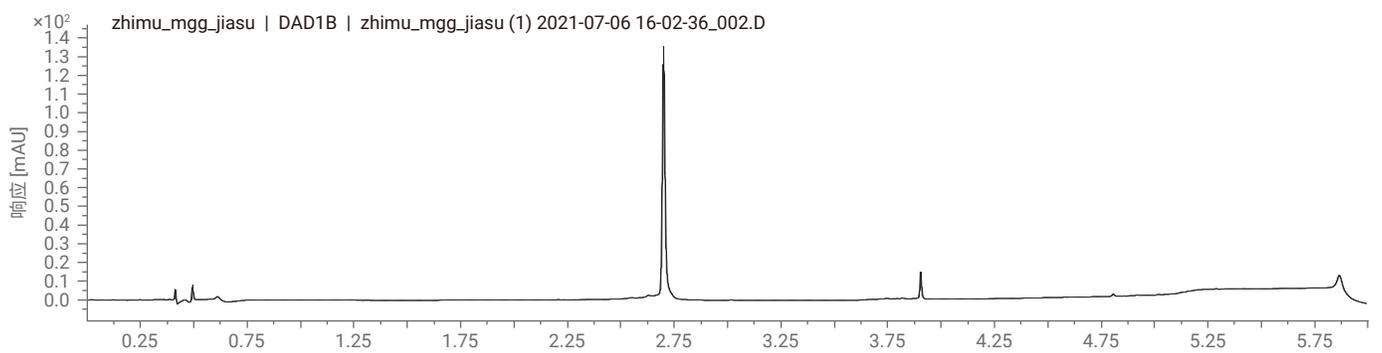
- 原始方法压力最高 420 bar, 加速方法压力 860 bar
- 原方法平衡时间不够, 需要再增加 5 min 后运行; 加速方法增加 2 min
- 原方法下, 本次实验用供试品中峰 4 左侧有一杂质未能达到基线分离; 加速方法分离度得到提高, 该杂质能够很好分离

特征图谱

原始方法图谱（上图是对照品，下图是供试品）



加速方法图谱（上图是对照品，下图是供试品）



含量测定及色谱条件

仪器配置及色谱条件

| 仪器 | 1260 Prime UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104C), 自动进样器 (G7129C), 柱温箱 (G7116A), DAD (G7117C) | 1290 Binary UHPLC 系统, 包括: 高速泵(G7120A), 自动进样器 (G7167B), 柱温箱 (G7116B), DAD (G7117A) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--|---|----|---|---|---|---|---|----|---|----|---|----|-----|-----|------|-----|------|---|----|---|---|----------|----|---|---|---|---|---|----|---|----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|---|---|---|
| 色谱柱 | BEH C18, 2.1 × 100 mm, 1.7 μm | 柱温 35°C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相 | MPA: 0.1%FA H ₂ O; MPB: 0.1%FA MeCN | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流速 | 原始方法: 0.3 ml/ min (原标准流速) | 加速方法: 0.6 ml/ min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 流动相比例 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>5</td></tr> <tr><td>2</td><td>5</td></tr> <tr><td>4</td><td>15</td></tr> <tr><td>6</td><td>15</td></tr> <tr><td>9</td><td>80</td></tr> <tr><td>9.1</td><td>100</td></tr> <tr><td>10.6</td><td>100</td></tr> <tr><td>10.7</td><td>5</td></tr> <tr><td>12</td><td>5</td></tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 5 | 2 | 5 | 4 | 15 | 6 | 15 | 9 | 80 | 9.1 | 100 | 10.6 | 100 | 10.7 | 5 | 12 | 5 | <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>5</td></tr> <tr><td>1</td><td>5</td></tr> <tr><td>2</td><td>15</td></tr> <tr><td>3</td><td>15</td></tr> <tr><td>4.5</td><td>80</td></tr> <tr><td>4.6</td><td>100</td></tr> <tr><td>5.3</td><td>100</td></tr> <tr><td>5.4</td><td>5</td></tr> <tr><td>6</td><td>5</td></tr> </tbody> </table> | 时间 (min) | B% | 0 | 5 | 1 | 5 | 2 | 15 | 3 | 15 | 4.5 | 80 | 4.6 | 100 | 5.3 | 100 | 5.4 | 5 | 6 | 5 |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | 80 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9.1 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10.6 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10.7 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 时间 (min) | B% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4.5 | 80 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4.6 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5.3 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5.4 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 检测器 | 275 nm (4 nm), Ref: 460 nm (100 nm); 采样频率: 40 Hz | 进样量 2 μl | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 对照品 | 芒果苷, 由诗丹德提供 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

系统适用性

原方法

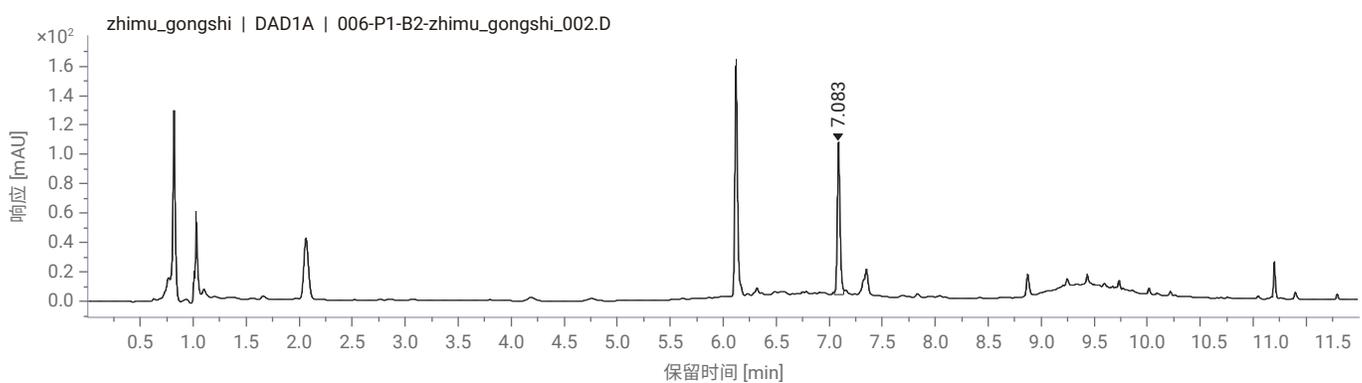
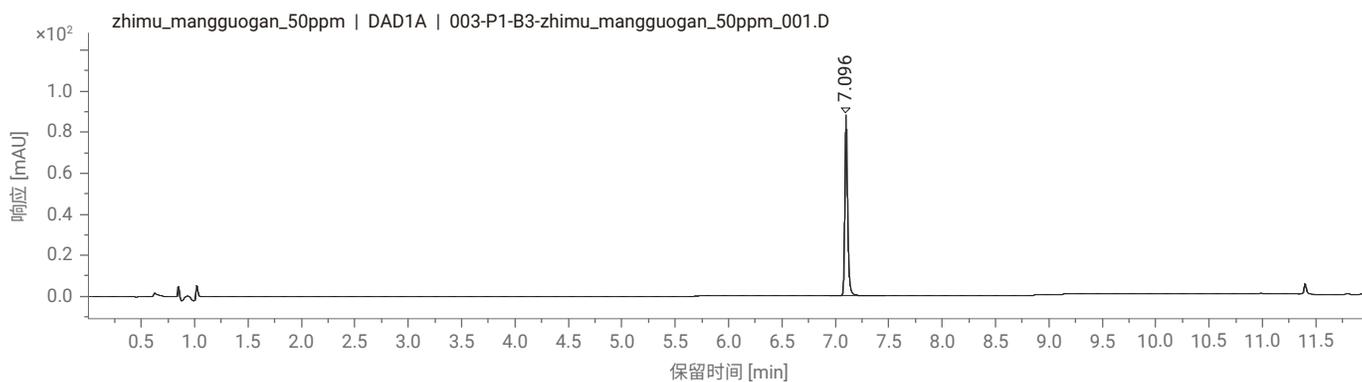
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 |
|-----|------------|----------|------------|------|
| 芒果苷 | 7.04 | 398424 | 1.27 | 14mg |

加速方法

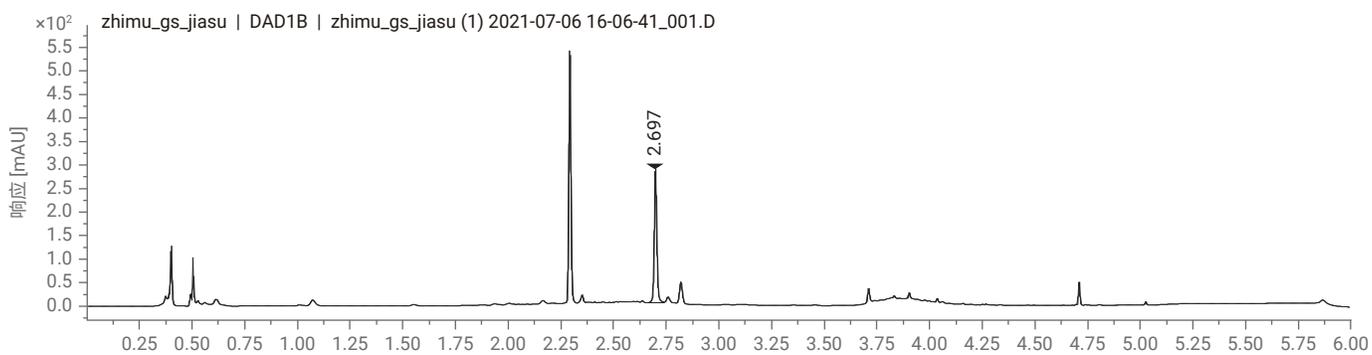
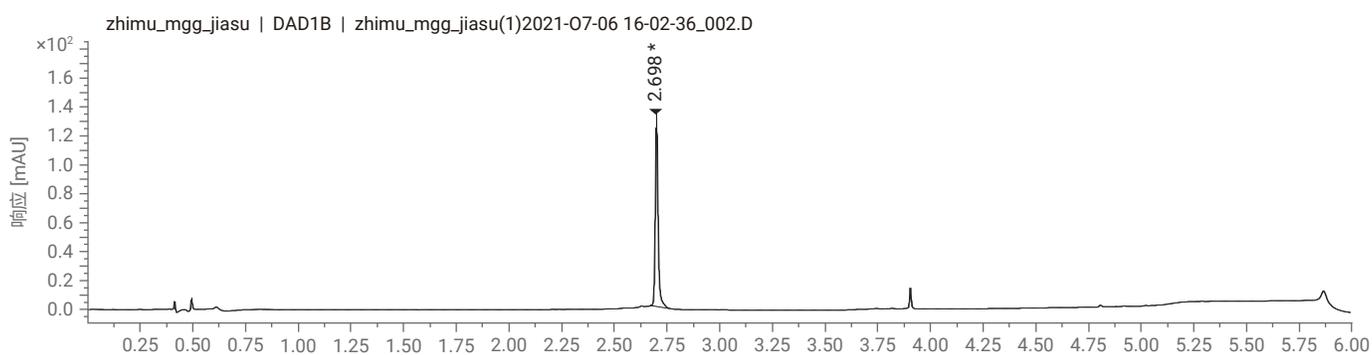
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|-----|------------|----------|------------|--------|
| 芒果苷 | 2.7 | 275477 | 1.1 | 15mg |

典型图谱

原方法（上图是对照品，下图是供试品）



加速方法（上图为对照品，下图为供试品）



含量测定及色谱条件

知母皂苷 II

仪器配置及色谱条件

| | HPLC 方法 | UHPLC 方法 |
|-------|---|---|
| 仪器 | 1260 Prime UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104C), 自动进样器 (G7129C), 柱温箱 (G7116A), 1290 ELSD (G7102A) | 1260 Prime UHPLC 系统, 包括: 全能泵 (G7104C), 自动进样器 (G7129C), 柱温箱 (G7116A), 1290 ELSD (G7102A) |
| 色谱柱 | ZORBAX SB-C8, 4.6 × 250 mm, 5 μm PN: 880975-906 | Poroshell 120 SB-C8, 3.0 × 150 mm, 2.7 μm; PN: 683975-306 |
| 流动相 | MPA: 水; MPB: 乙腈 | |
| 流速 | 1 ml/ min | 0.8 ml/ min |
| 流动相比例 | 时间 (min) B% 0 25 10 25 | 时间 (min) B% 0 25 5 25 |
| 柱温 | 30 °C | 30 °C |
| 检测器 | ELSD: 雾化温度: 40 °C; 蒸发温度: 40 °C; 气体流速: 1.6SLM | ELSD: 雾化温度: 40 °C; 蒸发温度: 40 °C; 气体流速: 1.6SLM |
| 进样量 | 5uL/10uL | 1.3uL/2.6uL |
| 对照品 | 知母皂苷 BII, 由诗丹德提供 | |

系统适用性

HPLC 方法

| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|---------|------------|----------|------------|--------|
| 知母皂苷 II | 5.008 | 20318 | 1.01 | - |

UHPLC 方法

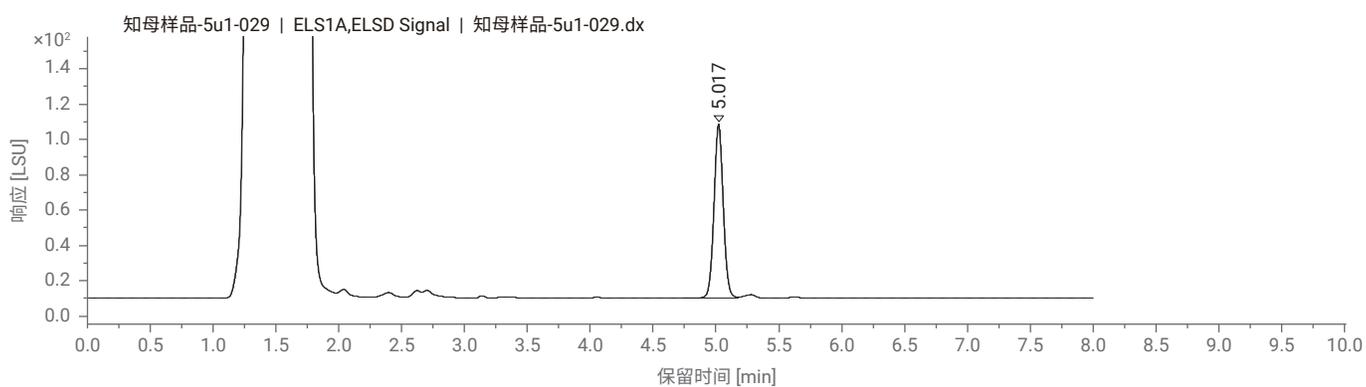
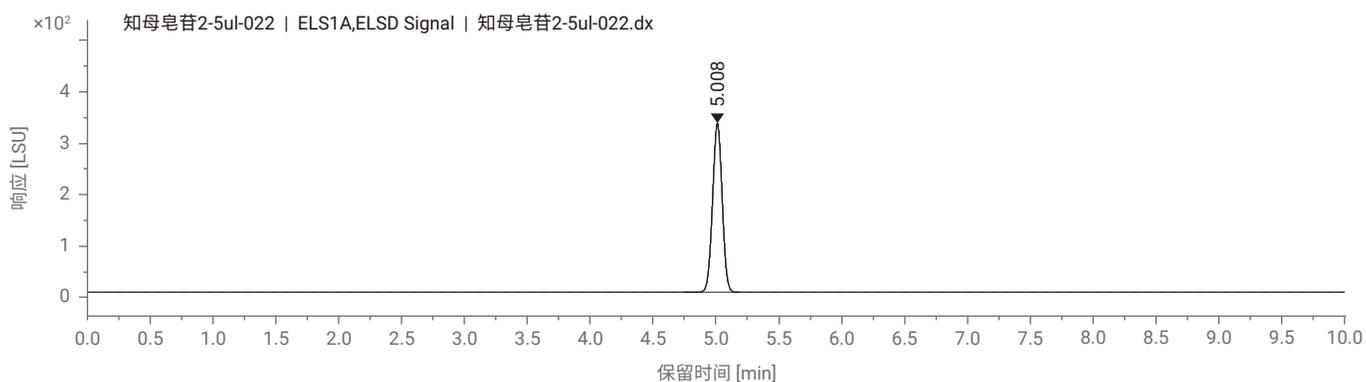
| 化合物 | 保留时间 (min) | 柱效 (USP) | 拖尾因子 (USP) | 含量 (%) |
|---------|------------|----------|------------|--------|
| 知母皂苷 II | 2.752 | 12709 | 0.96 | - |

小结及注意事项

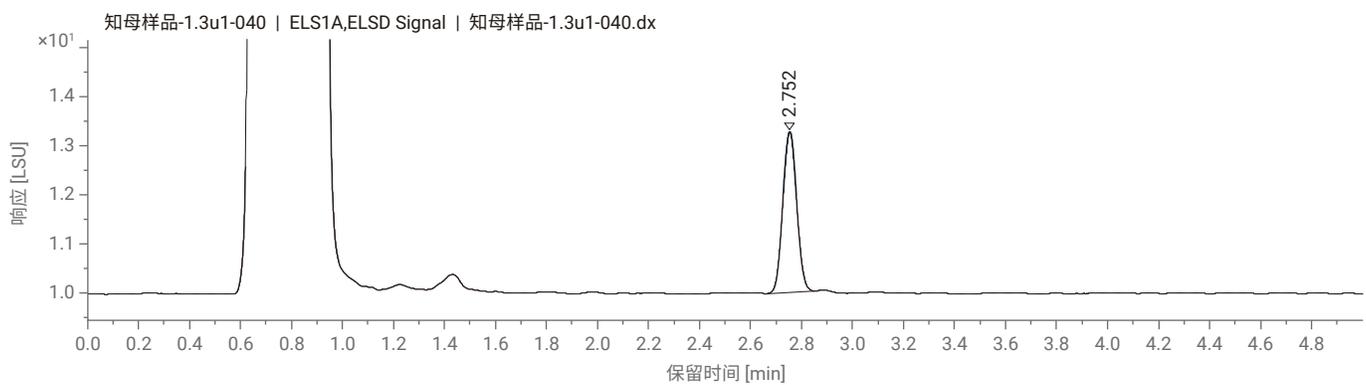
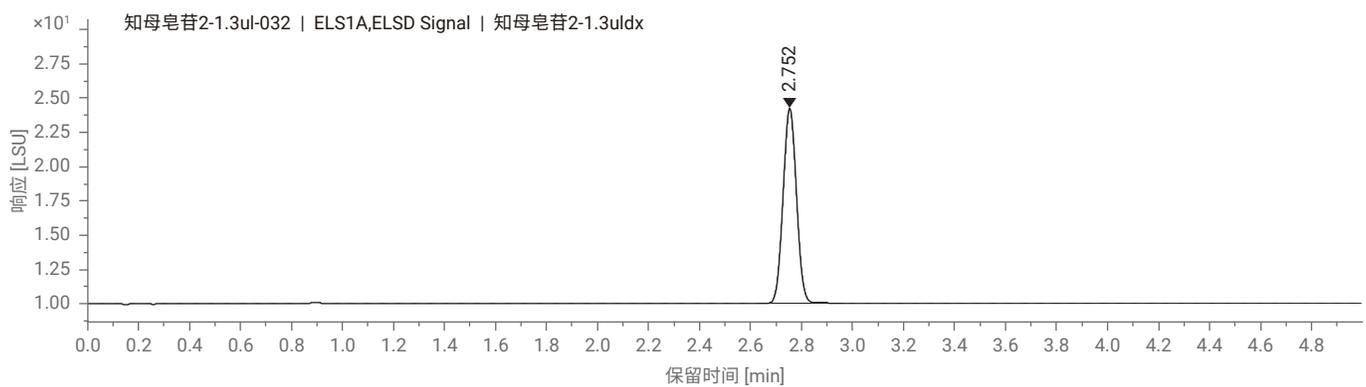
- HPLC 方法转换成 UHPLC 方法后, 分析时间可由 10 分钟缩短至 5 分钟

典型图谱

HPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）



Agilent InfinityLab 液相色谱系列 — 可靠、高效、不断创新，为您提供更出色的结果

Agilent InfinityLab 液相色谱仪器、色谱柱和备件拥有值得您信赖的坚固质量，为您提供可靠的分析结果。每一个组件均为协同工作而精心设计，能帮助您不断改善工作流程，提高分析效率，降低操作成本。

具有最全面的 HPLC 和 UHPLC 解决方案产品组合，无论是分析还是前沿研究，都可以轻松胜任，满足各种应用和预算需求。

超高效液相色谱

1220/1260/1290 Infinity II 液相色谱系统

- 宽广的工作范围，满足 HPLC/UHPLC 各类应用需求
- 模块化设计，不同系列间混搭
- 多样化检测器：紫外、二极管阵列、荧光、示差、蒸发光散射、质谱检测器



制备液相解决方案

- 多模块自由选择，定制化配置方案
- 馏分收集精度、纯度、回收率的完美结合
- 自动纯化软件，简化方法设置与优化
- 常见应用：活性成分纯化，杂质制备



基于工作流程和应用的液相色谱解决方案

二维液相色谱解决方案

- 消除手动机械式重复操作、碎片化干预时间
- 独立阀头/驱动设计，灵活性和兼容性出色
- 常见应用：工艺过程监控、自动化样品前处理



自动液相方法筛选/开发系统

- 无人值守的自动液相方法智能开发
- 色谱柱、流动相种类/梯度、柱温的自动组合
- 常见应用：方法开发，多用户间协调



基于阀的自动化解决方案

- 消除手动机械式重复操作、碎片化干预时间
- 独立阀头/驱动设计，广泛的灵活性和兼容性
- 常见应用：自动化样品前处理



单四级杆质谱解决方案

- 轻松上手，分子信息快速鉴定
- 简化维护、培训、诊断，延长正常运行时间
- 常见应用：化合物定性、峰纯度



生物液相色谱系统

- 减少生物样品与表面相互作用
- 极端溶剂、盐浓度、pH 条件下的理想选择
- 常见应用：离子形态分析，生物分子分析



分析型 SFC 系统

- 独特的分离选择性
- 正相色谱替代方法，流动相环保
- 可升级 SFC/UHPLC 混合系统，SFC 方法开发系统
- 常见应用：手性化合物/易分解及适用于正相分离的化合物



GPC/SEC 仪器与系统

- 常温到高温、常规单示差到多检测器完整软硬件方案
- 色谱柱、标准品行业金标准
- 常见应用：聚合物分子量及分布、构象、拓扑结构



在线液相

- 在线样品管理模块实现反应器的采样，样品稀释等前处理
- 在线监测软件实现直观的样品调度，设置采样，提供趋势图
- 常见应用：过程分析



查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2021
2021 年 8 月 15 日, 中国出版
5994-4143ZHCN

