

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
燀桃仁（桃）配方颗粒	35
燀桃仁（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

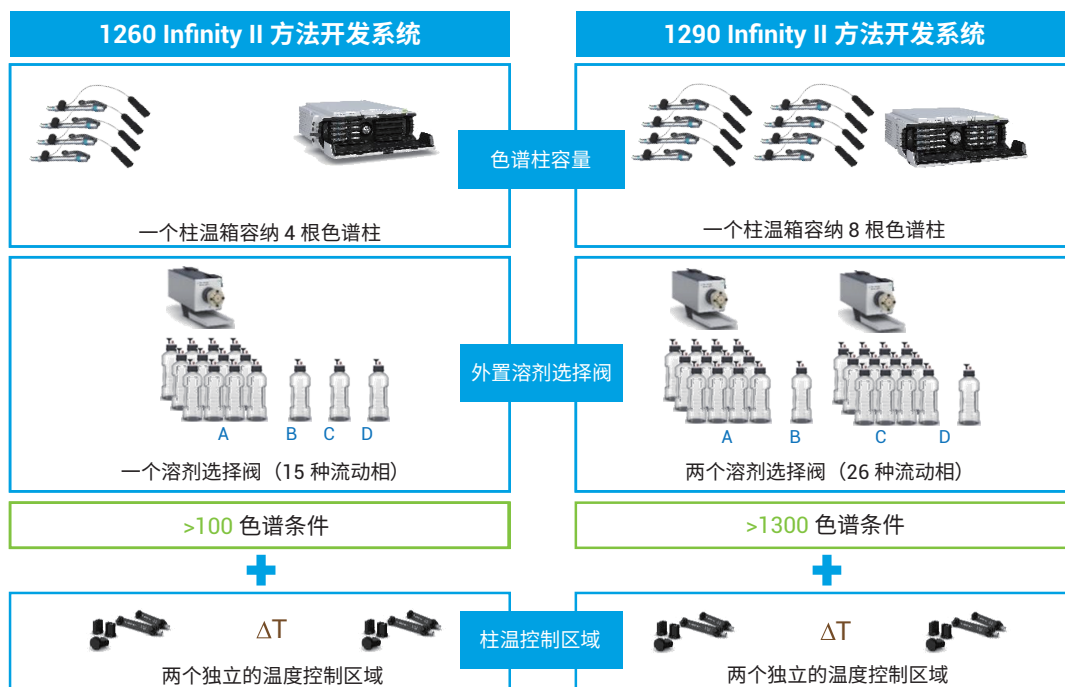
中药配方颗粒作为传统中药饮片的一种补充形式，经过一系列提取、分离、浓缩、干燥、制粒工艺后，其性状已经发生根本变化。因此，对中药配方颗粒质量标准的研究尤为重要。2021年2月10日发布的《关于结束中药配方颗粒试点工作的公告》中明确要求：“中药配方颗粒生产企业应当履行药品全生命周期的主体责任和相关义务，实施生产全过程管理，建立追溯体系，逐步实现来源可查、去向可追，加强风险管理。”其中，以整体质量控制为目的的特征图谱/指纹图谱分析需要涵盖中药材、中药饮片、中间体和成品，是“实施生产全过程管理”的至关重要的环节。液相色谱法以其适用范围广、分离能力强、自动化程度高，已经成为特征图谱/指纹图谱分析的首选分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

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。

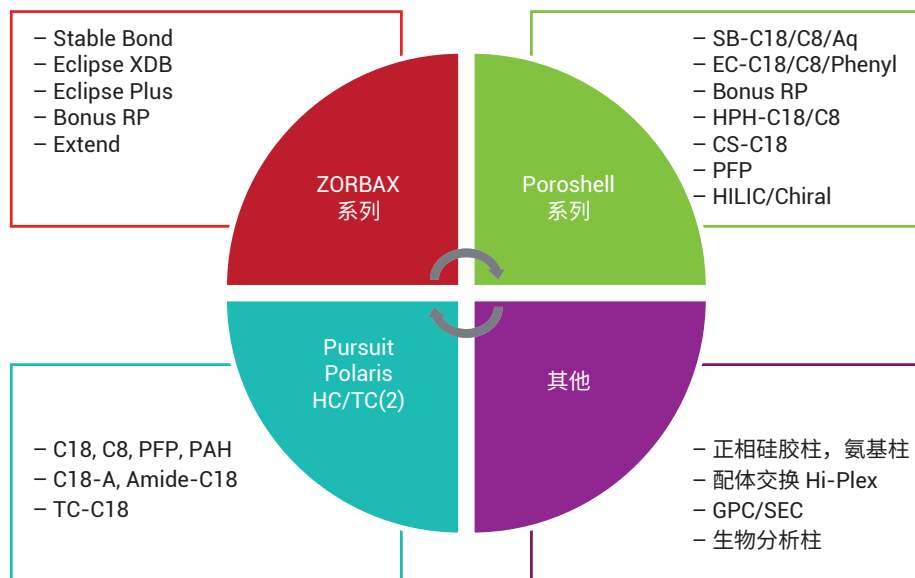
另外，集成了向导式方法开发插件的液相色谱软件，可以根据项目设定实现多因素、多水平正交实验，轻松完成各种色谱条件的组合，并根据实验结果以智能化报告形式提供最佳色谱分离条件。智能化软件与高性能硬件相结合，使用户能够以最少的干预完成系统冲洗、色谱柱平衡、正交实验和色谱柱保存等一系列步骤，完全模拟传统意义上的手动方法开发过程。同时，智能化报告包含详细的文件名、色谱柱、流动相、温度和梯度等信息，可完全实现无纸化操作，为研发人员节省大量时间和精力。



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

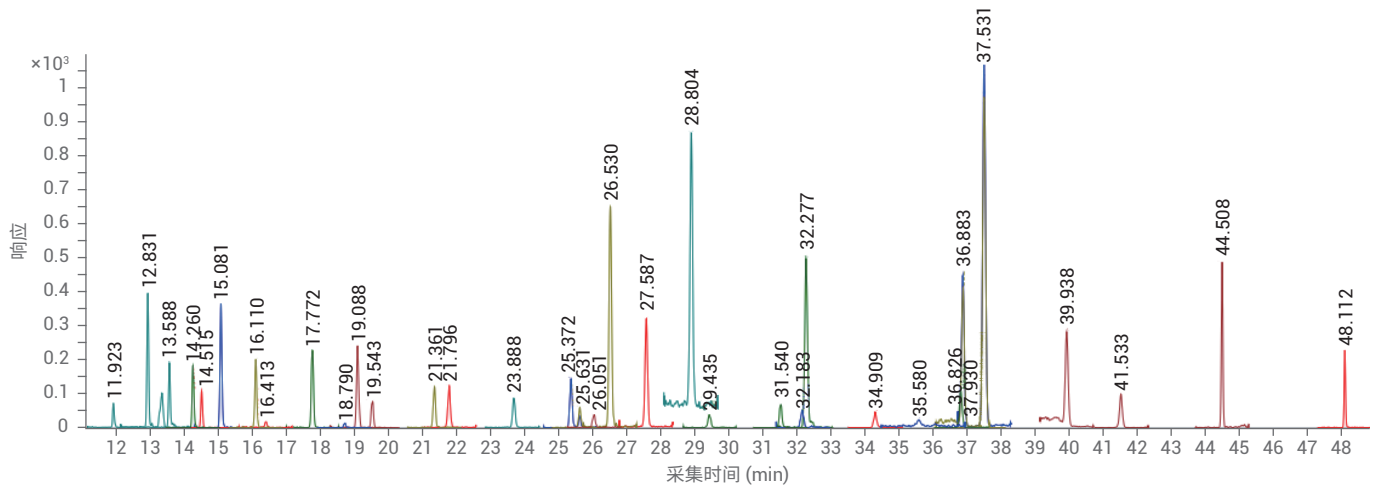
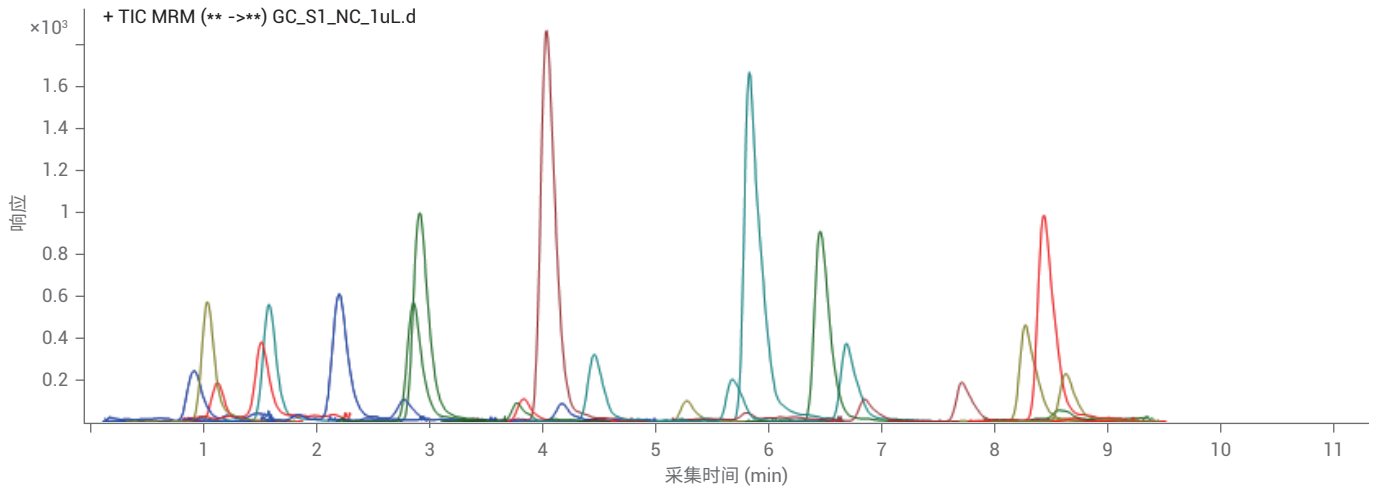


课堂培训

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

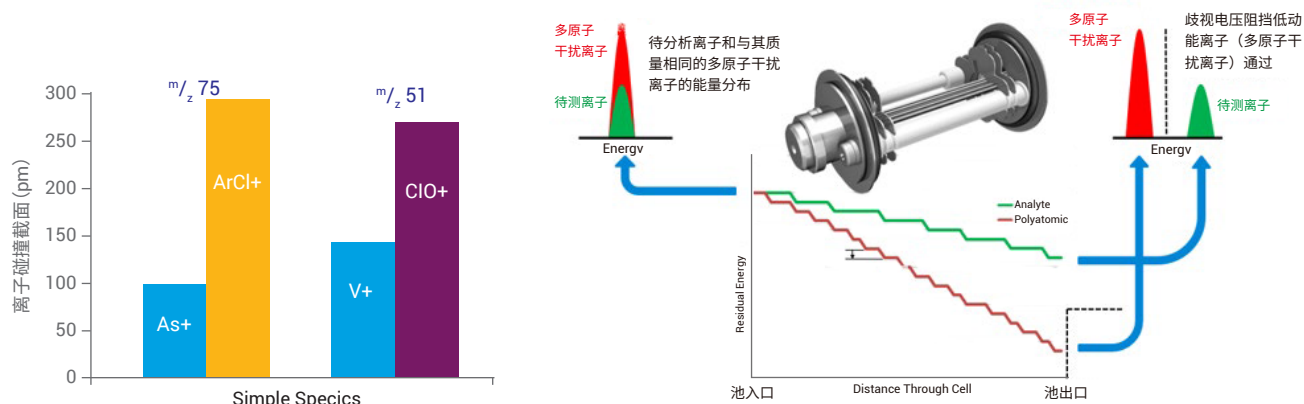
002. 白芍	004. 白芷 (白芷)	005. 白芷 (杭白芷)
035. 丹参	037. 当归	049. 甘草 (甘草)
051. 葛根	065. 黄芪 (蒙古黄芪)	073. 金银花
079. 酒女贞子	110. 山萸肉	111. 山楂 (山里红)
150. 栀子		

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	梣酮 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

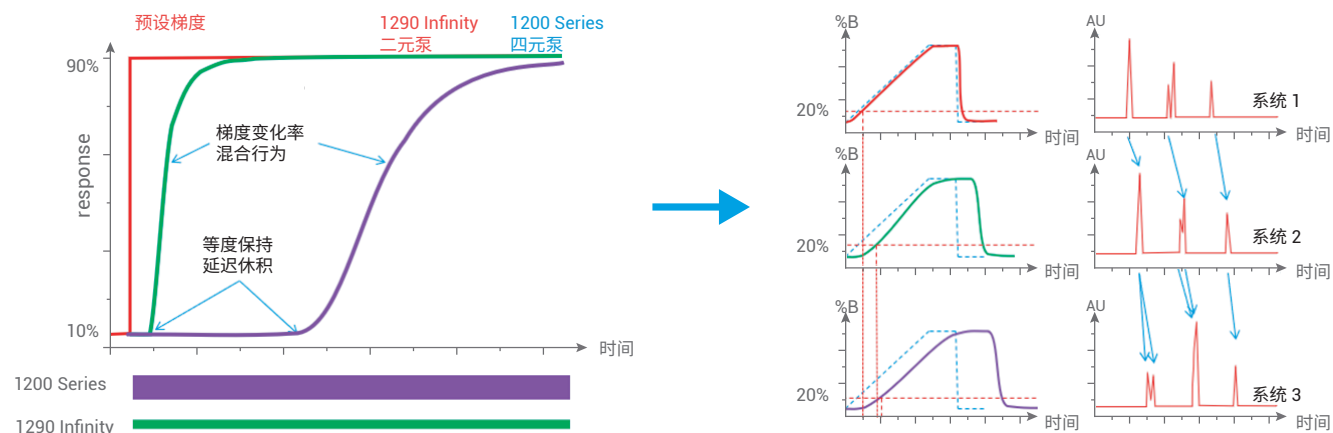
序号	名称	规格	部件号	规格	部件号	备注
1	ZORBAX SB-C18	4.6 × 250 mm, 5 μm	880975-902	4.6 × 150 mm, 3.5 μm	863953-902	全多孔, 未封端
2	ZORBAX Eclipse Plus C18		959990-902		959963-902	全多孔, 封端
3	ZORBAX XDB-C18		990967-902		963967-902	全多孔, 封端
4	ZORBAX SB-Aq		880975-914		863953-914	
5	Agilent TC-C18		518925-902			全多孔, 封端
6	Agilent 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

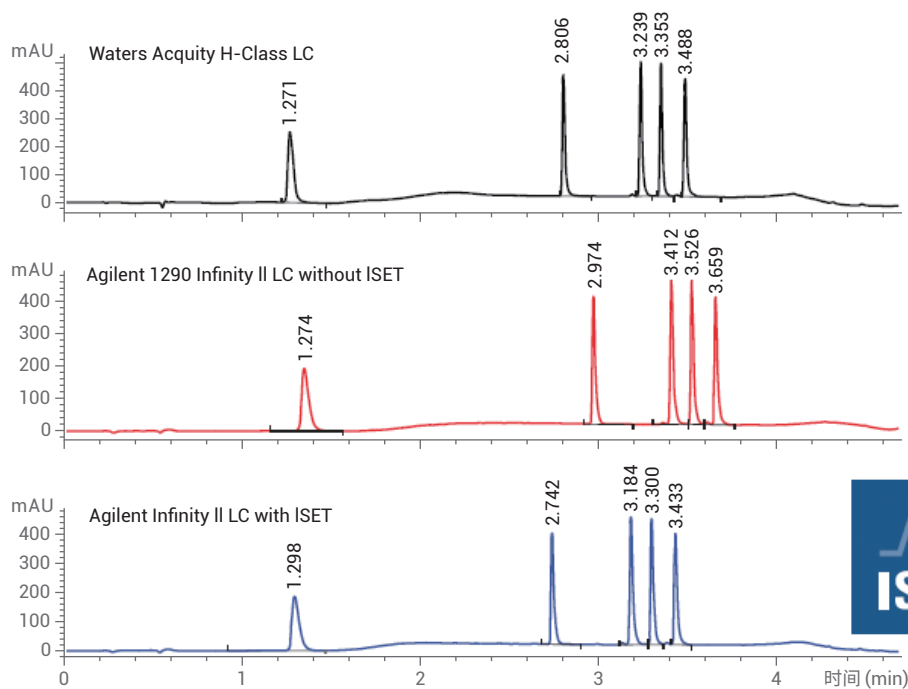
在配方颗粒标准方法中，某些 HPLC 方法运行时间过长。因此，在灵敏度、相对保留时间 (RRT)、含量测定等方面符合要求的前提下，从 HPLC 转换到 UHPLC 可大大节省时间和溶剂消耗，提高分析通量和效率。另外，对于流速较低、耗时较长的 UHPLC 方法，还可通过提高流速，实现更高效、快速的特征图谱分析或含量测定。此文集中，安捷伦科技（中国）有限公司联合上海诗丹德标准技术服务有限公司开展了大量方法转换工作。有关方法转换中的粒径改变或要求，可参考 2020 版《中国药典》0512 通则中有关粒径和柱长的变化范围进行调整 (L/dp 或柱效范围在 -25% 至 +50% 之间)。

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

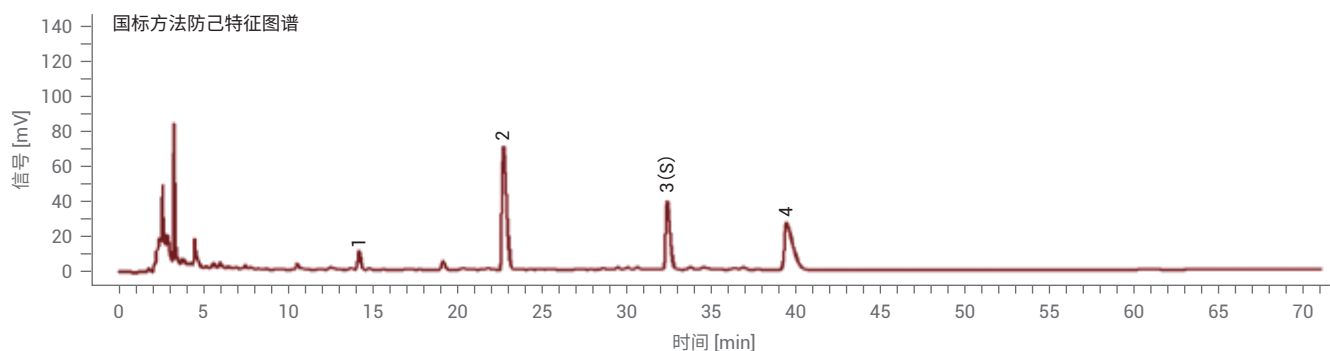
延迟体积是指液相色谱系统中不同流动相接触位置到色谱柱头的体积。该参数会影响梯度方法中色谱峰之间的分离度和保留时间，进而影响峰与峰之间的相对保留时间。在 HPLC 仪器与 UHPLC 仪器之间、不同品牌仪器之间，延迟体积差异所带来的影响尤为明显。利用安捷伦智能模拟技术 (ISET) 可以解决不同系统之间延迟体积和混合方式的差异问题。经过 10 年多的发展，ISET 已经非常成熟并已发展到 4.0 版。可以在 Agilent 1260 Prime、1290 四元系统和 1290 二元系统上，利用 ISET 模拟不同品牌液相色谱系统运行并重现其结果。该技术对于在配方颗粒特征图谱中重现相对保留时间至关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



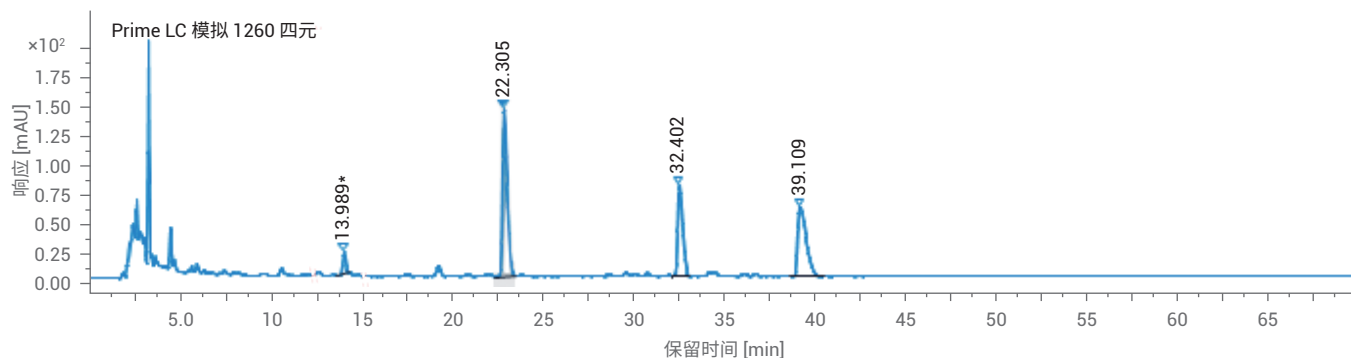
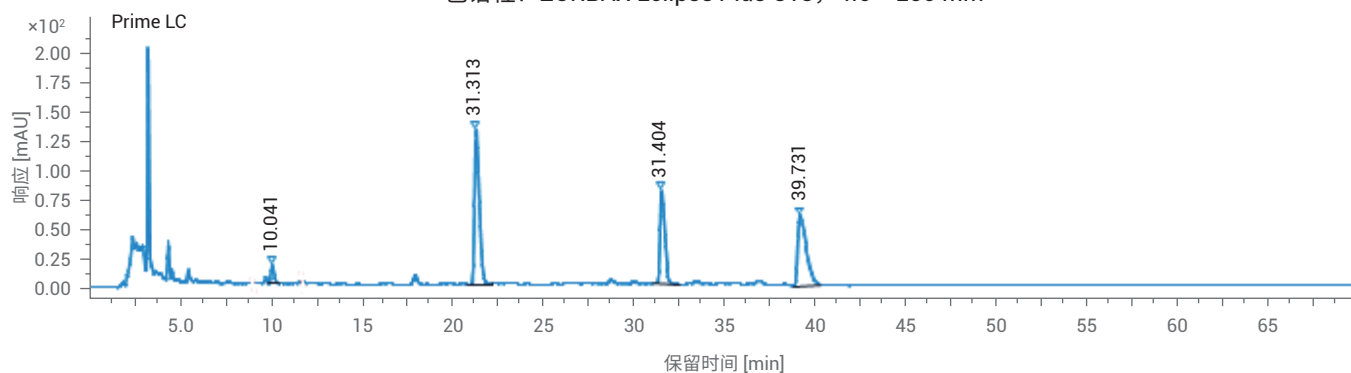
1290 四元系统模拟 Waters H-Class 所得到的结果



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

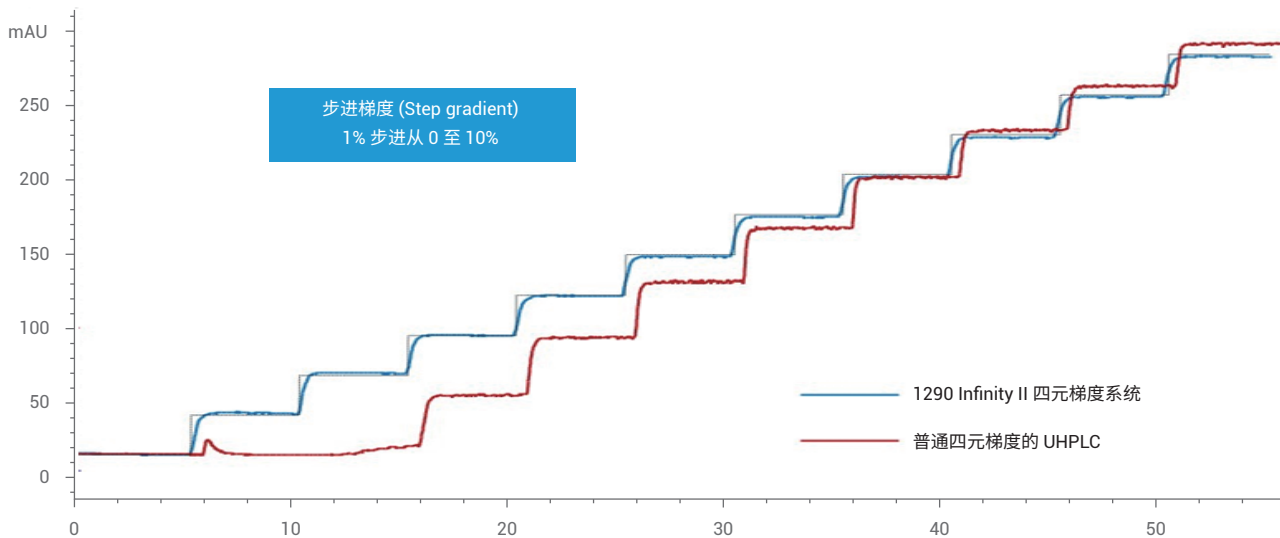
专利混合技术保障极端比例和缓梯度方法的重现性

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

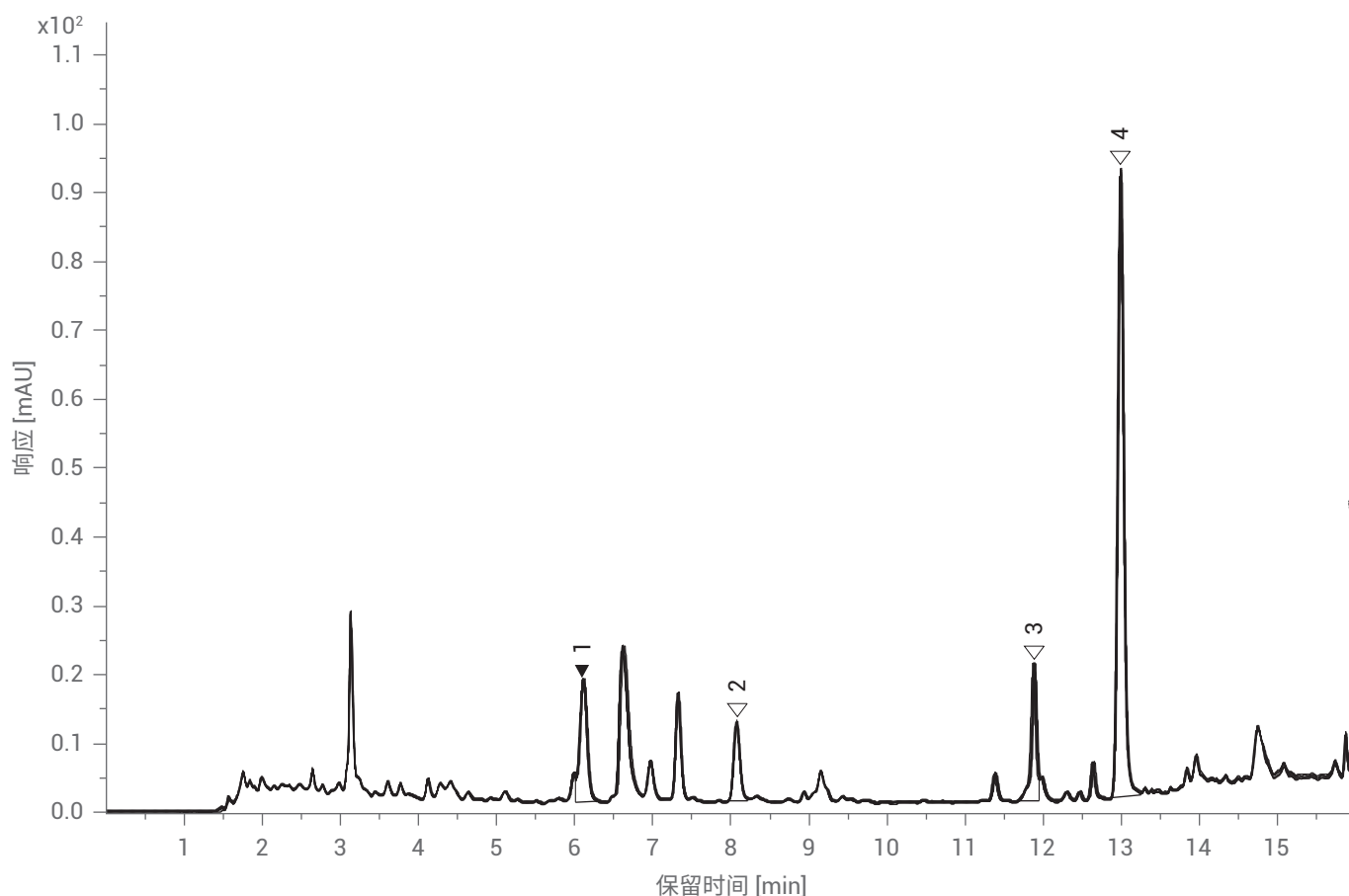


1290 Infinity II 液相色谱系统在极端流动相比例下的准确性 (1-10%, 1% 步进变化)

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

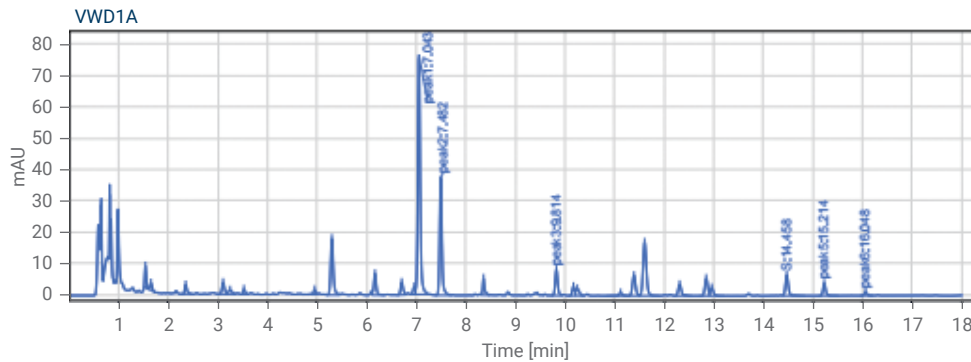
采用智能报告缩短数据处理时间

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: Baiz_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

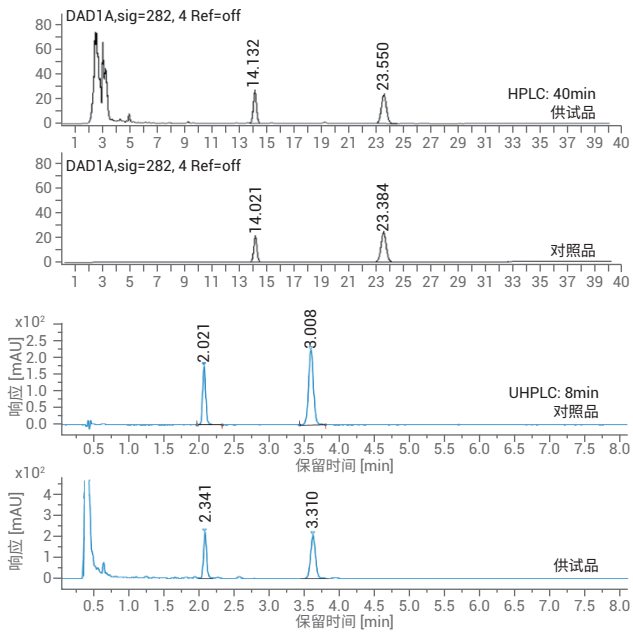
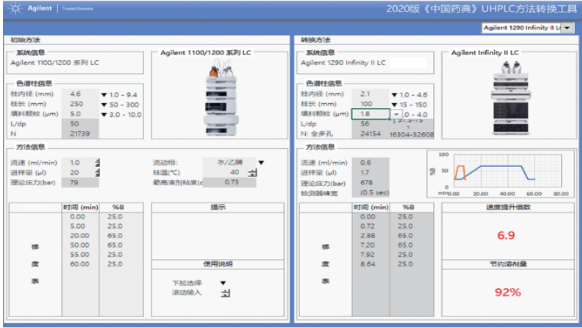
含量测定

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。

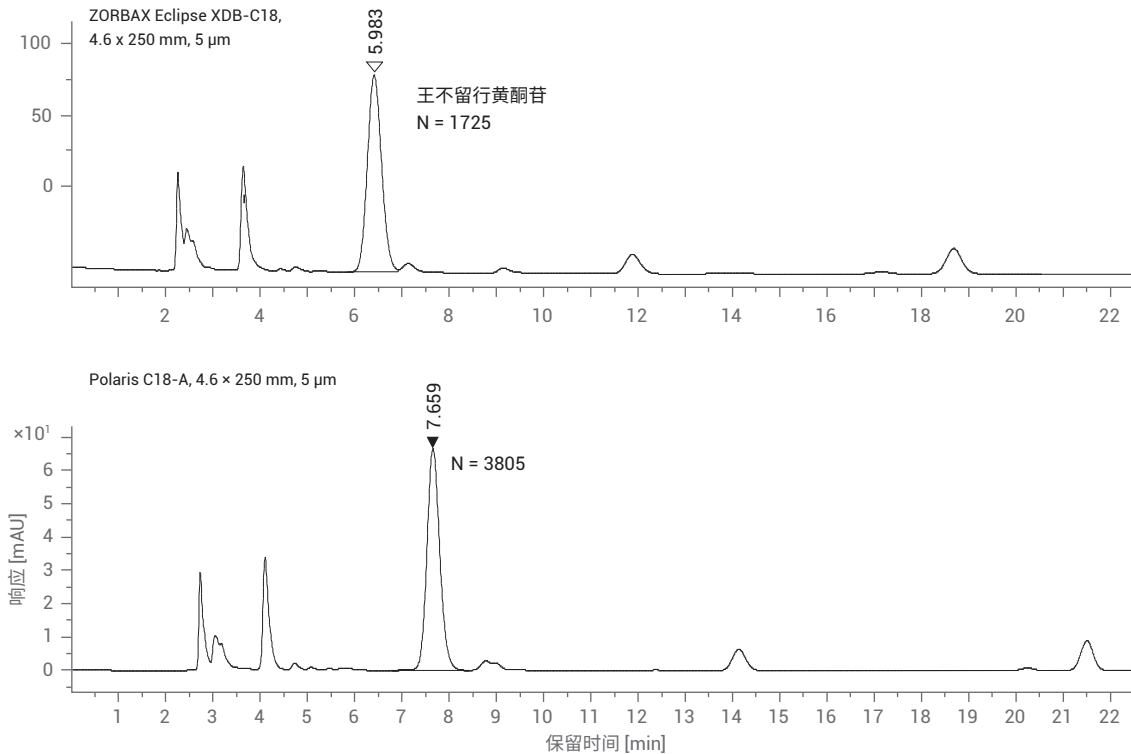
【含量测定】 照高效液相色谱法(中国药典2020年版通则0512)测定。
色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-甲醇-0.03 mol/L磷酸二氢钠水溶液-三乙胺(40:30:30:0.1)为流动相;检测波长为282 nm。理论板数按防己碱峰计算应不低于4000。
对照品溶液的制备 取防己碱对照品、防己诺林碱对照品适量,精密称定,加甲醇分别制成每1 ml 含粉防己碱0.1 mg、防己诺林碱0.05 mg的混合溶液,即得。
供试品溶液的制备 取本品适量,研细,取约0.1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇25 ml,称定重量,加热回流30分钟,放冷,再称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

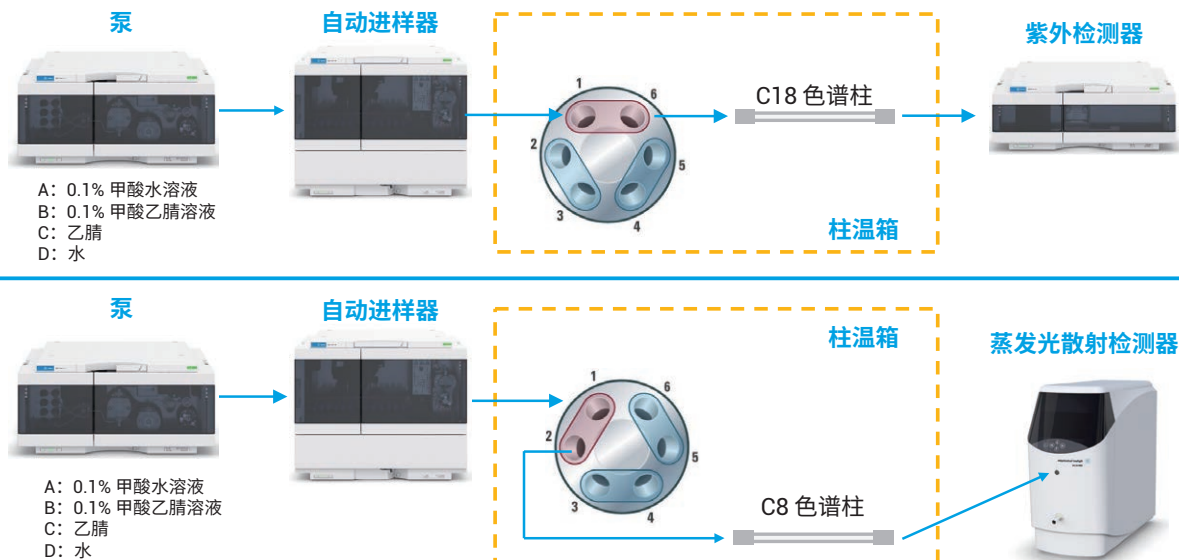
与特征图谱分析方法不同,配方颗粒含量测定项下未指定色谱柱具体品牌或者规格。对某些品种而言,为达到柱效和分离度的要求,也需要对色谱柱进行筛选。借助安捷伦多柱切换技术,可轻松筛选采用多种不同键合工艺的十八烷基硅烷键合相,并确定最佳色谱柱。王不留行配方颗粒含量测定以王不留行黄酮苷为指标成分,要求理论塔板数不低于3000。由于王不留行黄酮苷在含量测定条件下保留较弱,很难达到标准要求的理论塔板数。通过自动筛选采用4种不同键合工艺的色谱柱,发现Agilent Polaris C18-A(4.6 × 250 mm, 5 μm)可以在不改变国家标准所规定的色谱条件下满足理论塔板数要求。



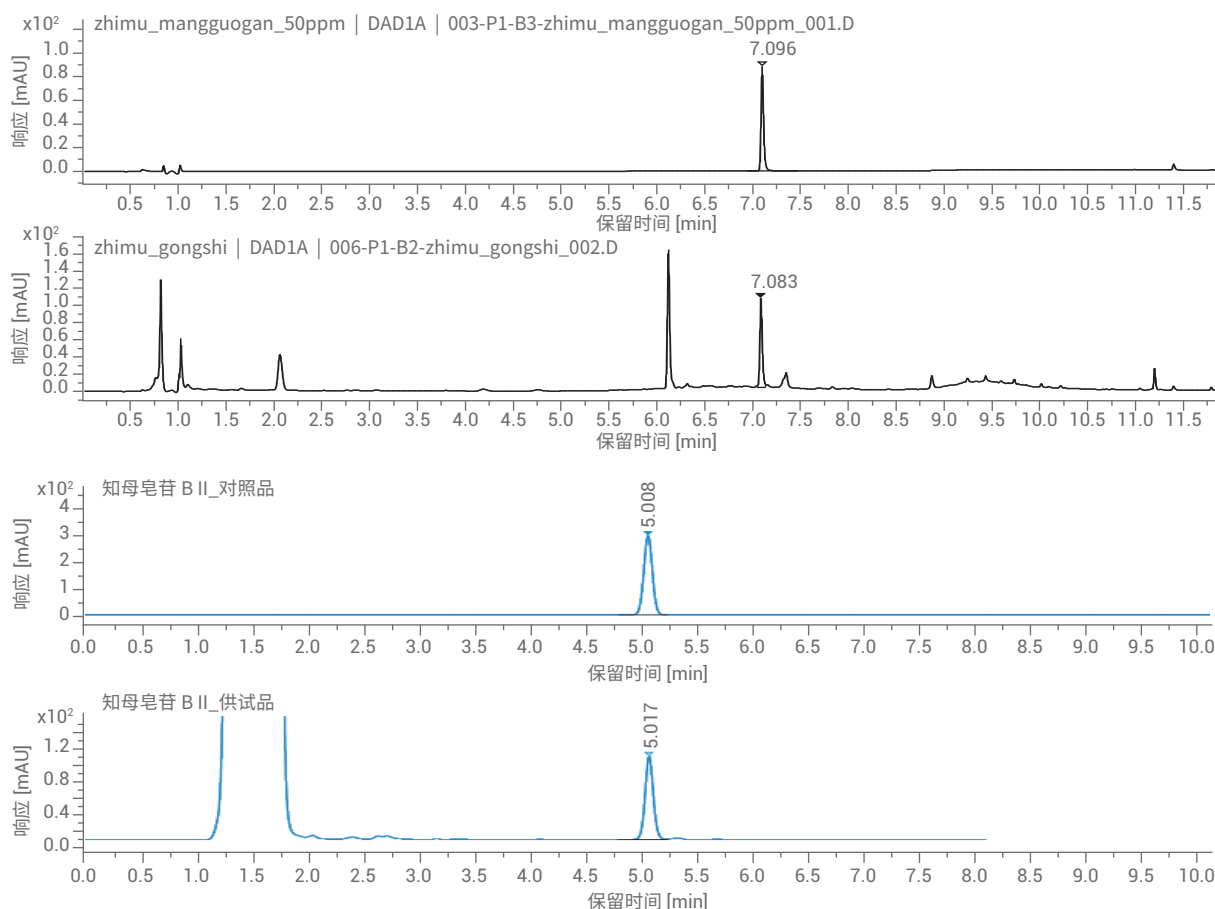
王不留行黄酮苷在不同C18色谱柱上的保留及理论塔板数

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

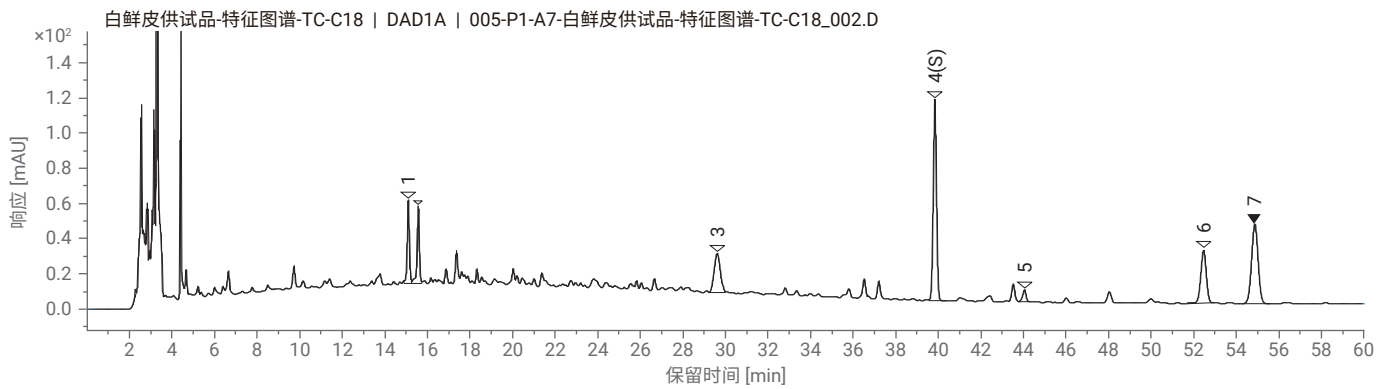
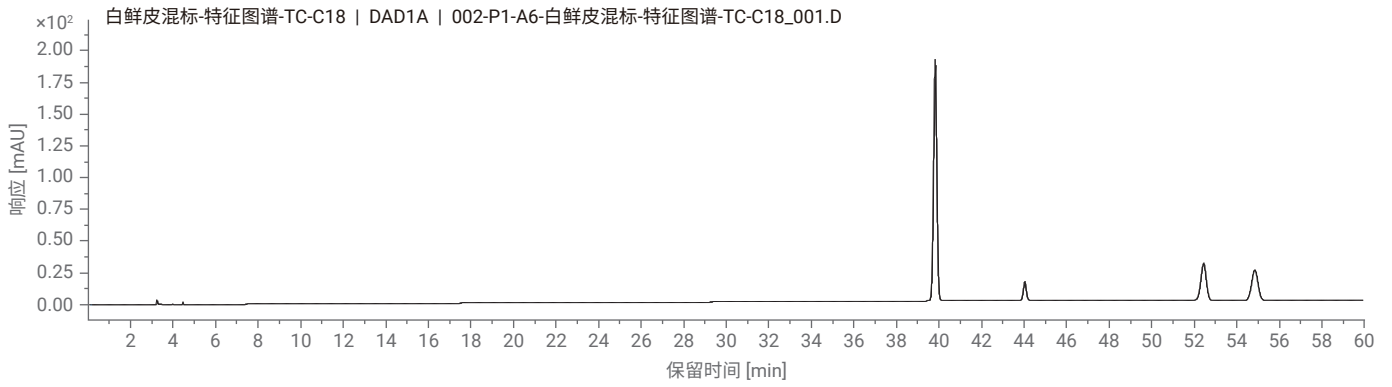
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.029		0.369	0.341~0.401			85436
2	2.09		0.380	0.351~0.411			96529
3	3.958		0.719	0.670~0.786			1081028
4 (S)	5.502	白鲜碱					287208
5	6.149	柠檬苦素					371377
6	7.235	黄柏酮					231191
7	7.541	枳酮					188938

小结及注意事项

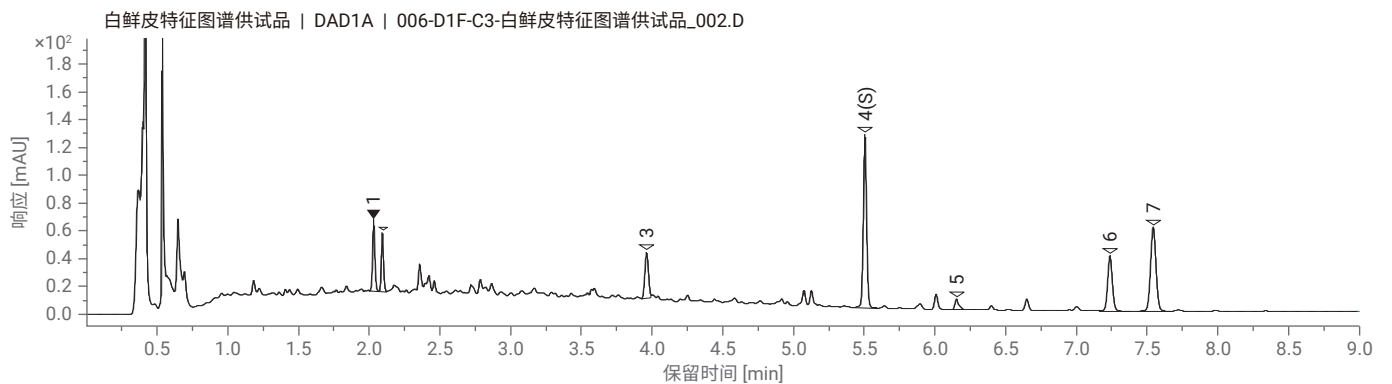
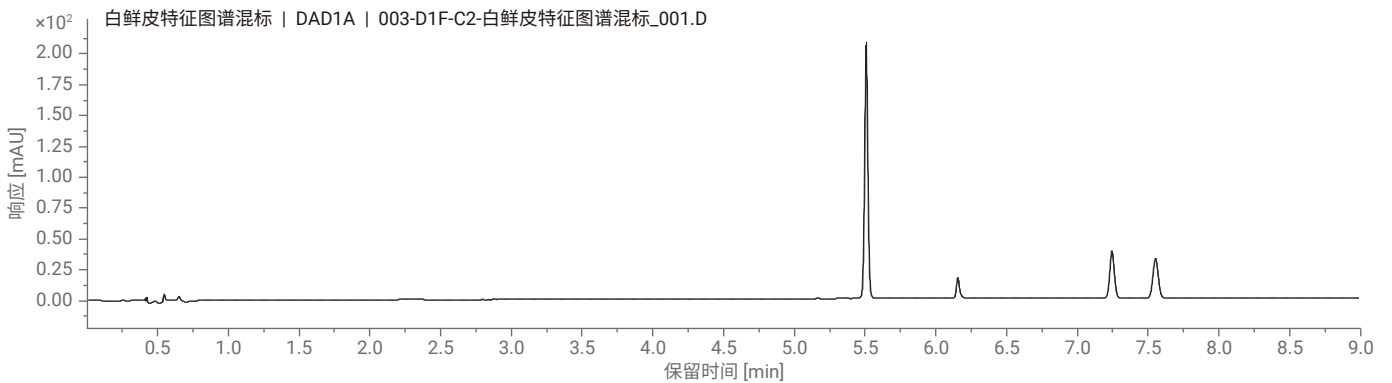
- 原始方法压力最高 152 bar, UHPLC 方法压力最高 648 bar
- 转换成 UHPLC 方法后分析时间由 60 分钟缩短至 9 分钟

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

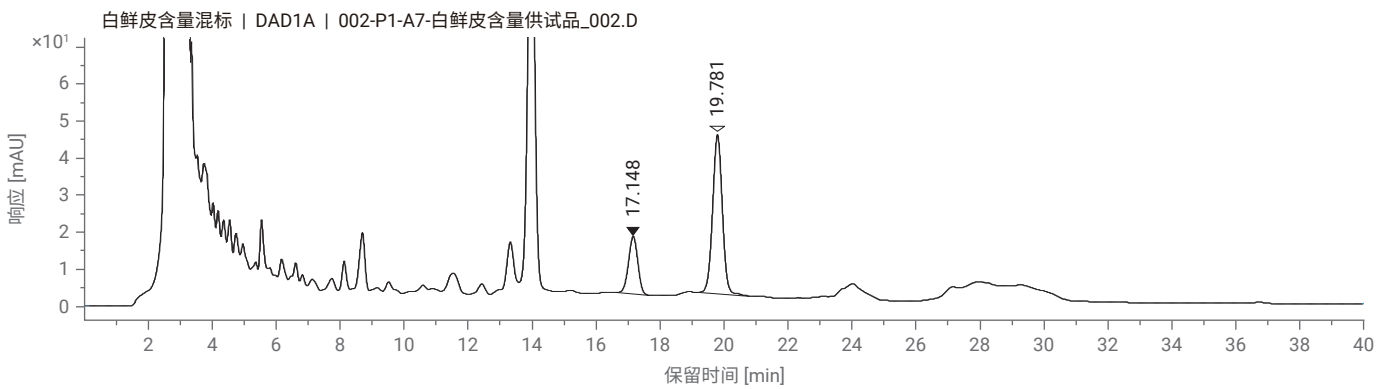
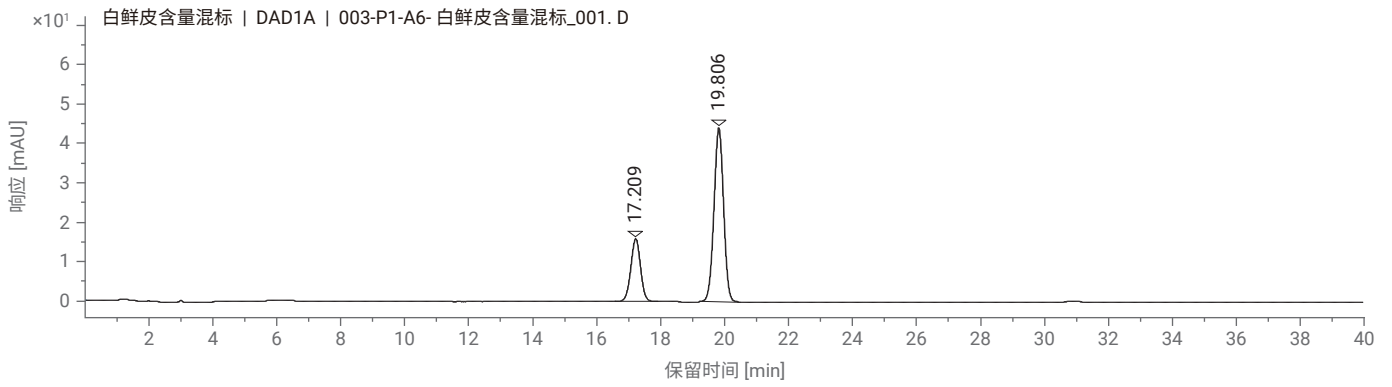
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
黄柏酮	2.132	7296	1.41	4.7
栲酮	2.38	9495	1.51	2.9

小结及注意事项

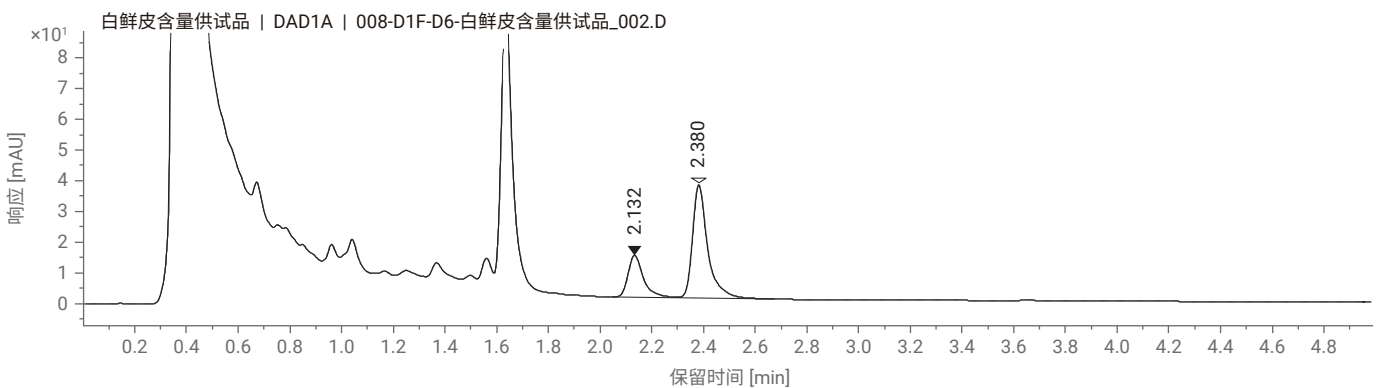
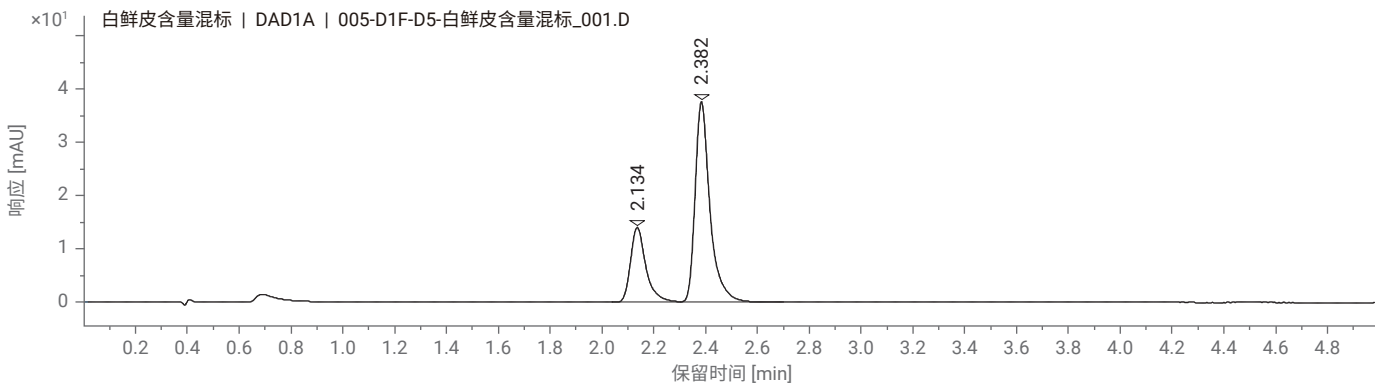
- 原方法转换成 UHPLC 方法后分析时间由 40 分钟缩短至 5 分钟

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		300 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 Hz	
进样量	1 μl		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

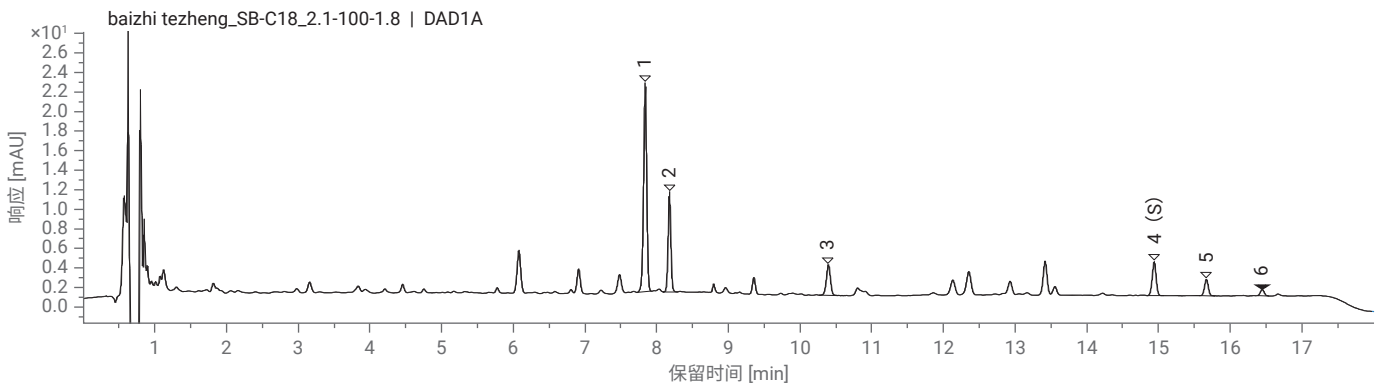
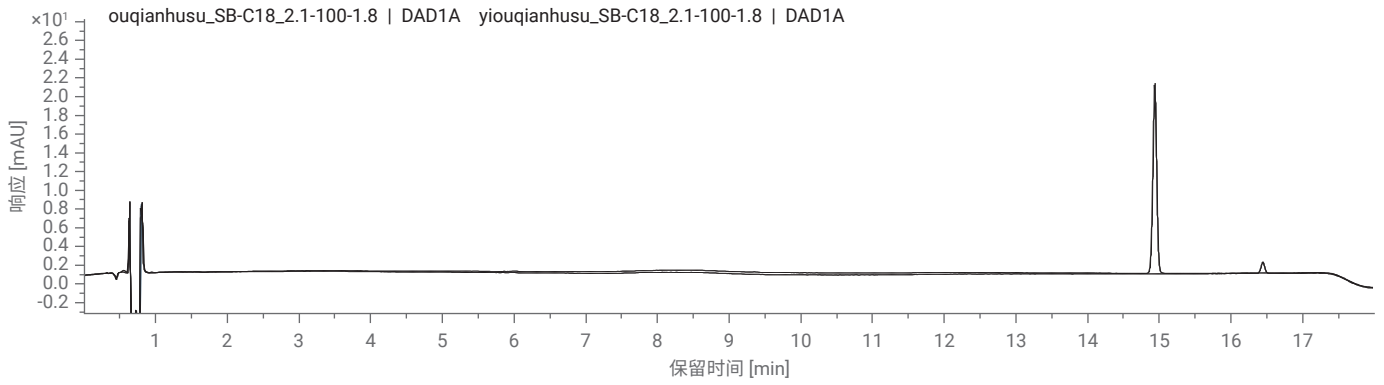
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	3.045	水合氧化前胡素	0.480	0.441-0.539	10.101	≥0.713	149350
2	3.175	白当归素	0.501	0.468-0.572			206088
3	4.038	佛手苷内酯	0.637	0.603-0.737	1.960	≥0.338	141351
4 (S)	6.343	欧前胡素					381614
5	6.663	珊瑚菜素	1.050	0.945-1.155	0.399	≥0.220	421092
6	6.766	异欧前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

小结及注意事项

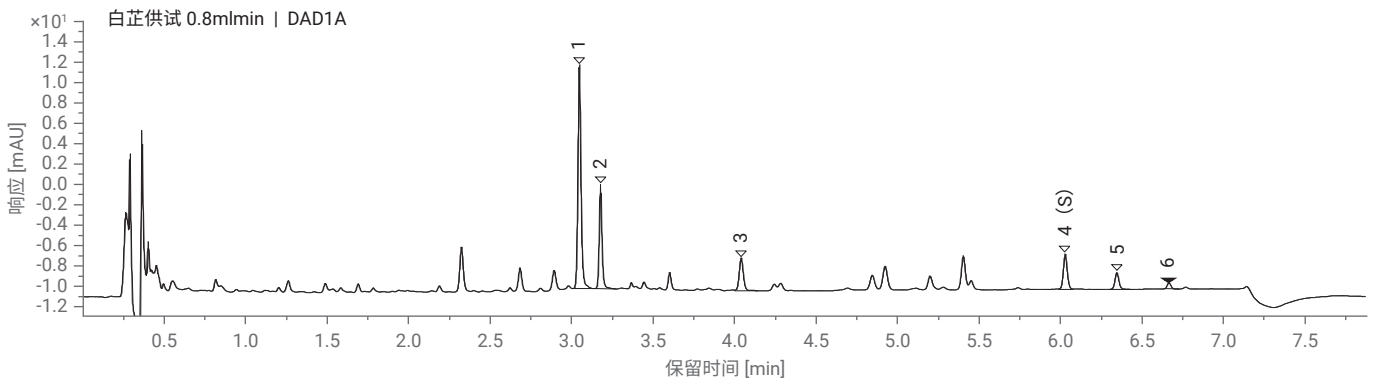
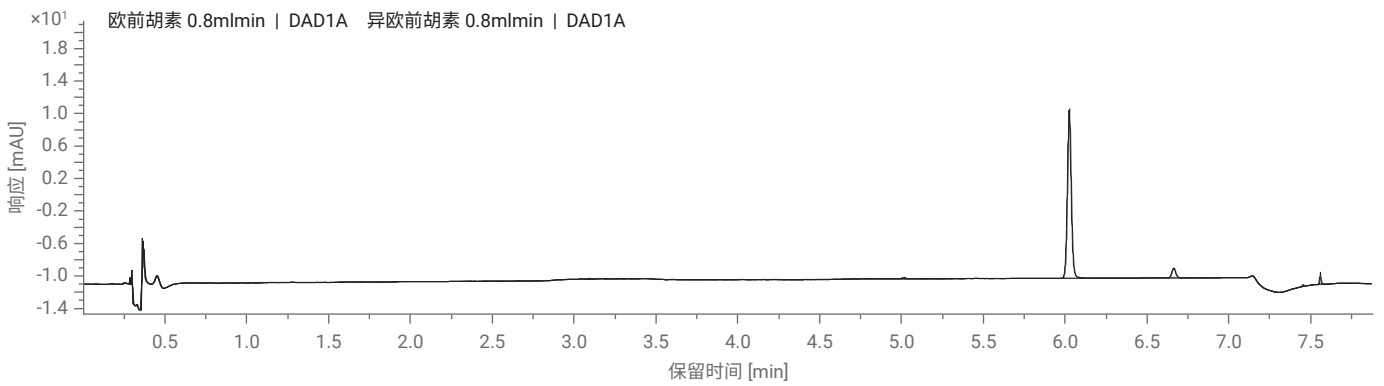
- 原始方法压力最高 415 bar, 加速方法压力最高 890 bar
- 加速后分析时间缩短 10 分钟

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	

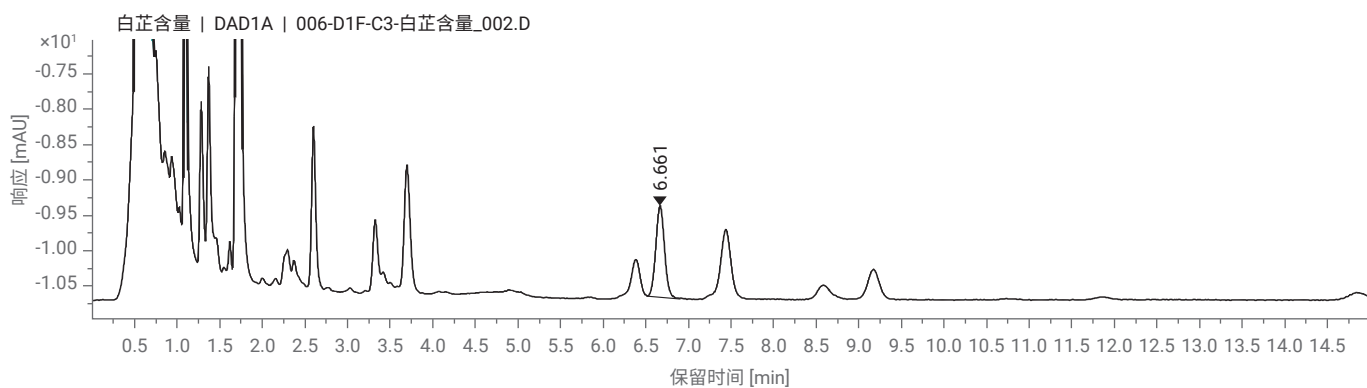
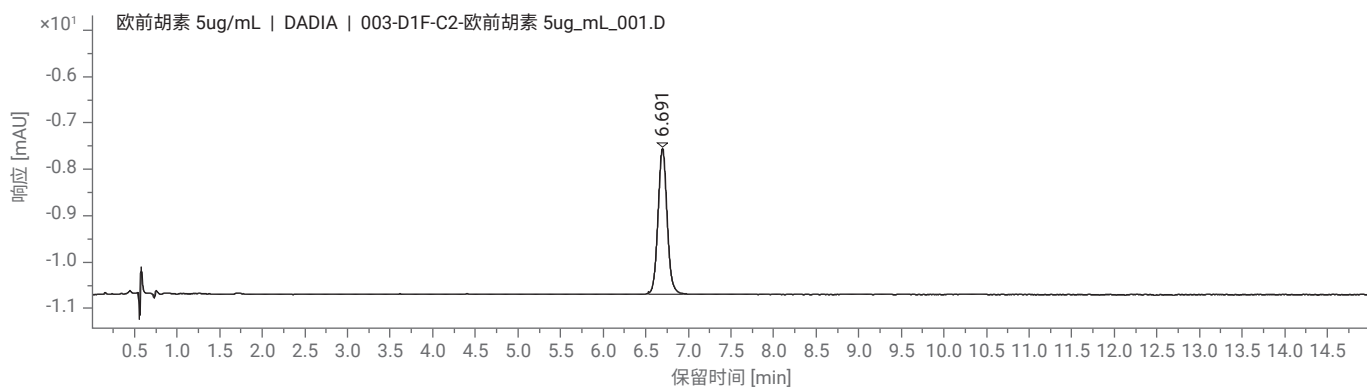
系统适用性

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

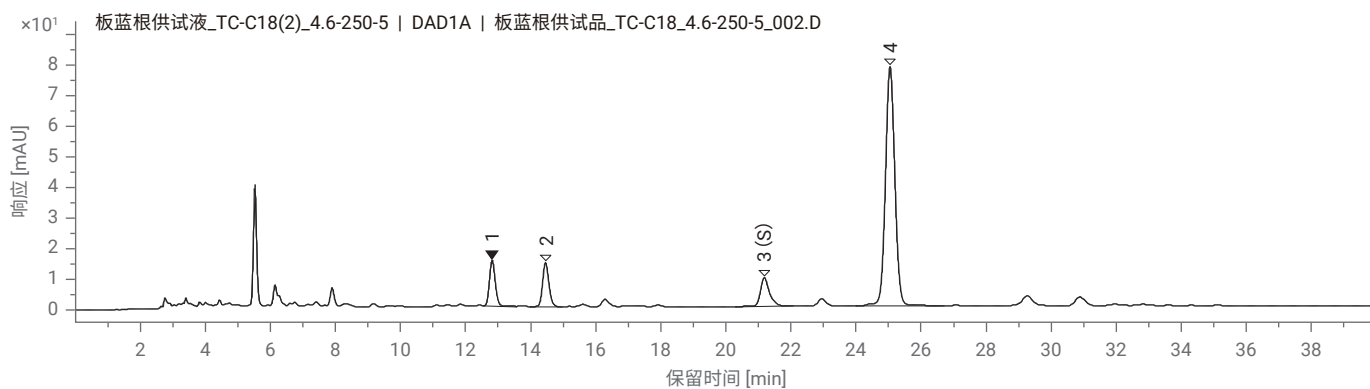
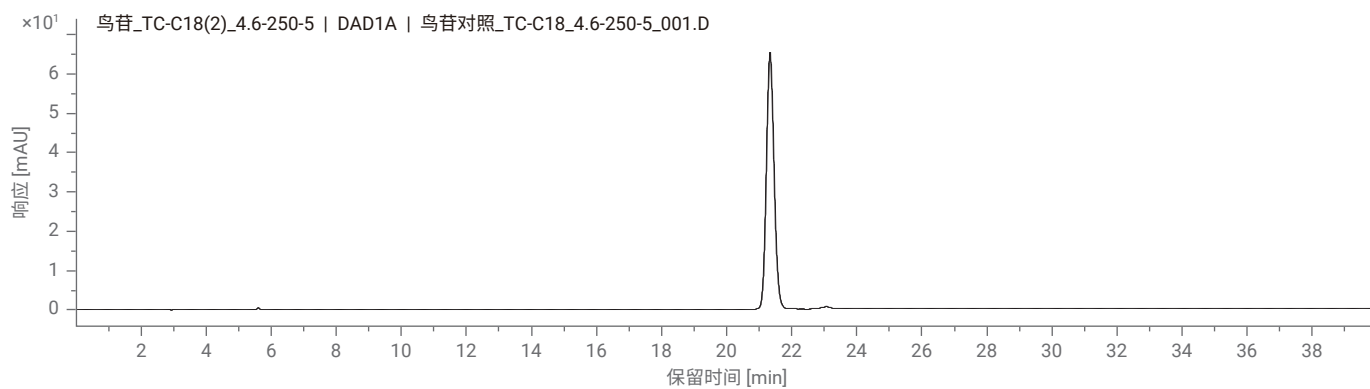
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	1.283	尿苷	0.539	0.558 - 0.682			9859
2	1.559	腺苷	0.655	0.610 - 0.746			10740
3 (S)	2.380	乌苷					14673
4	3.071	(R,S)-告依春	1.29	1.049 - 1.283			15799

小结及注意事项

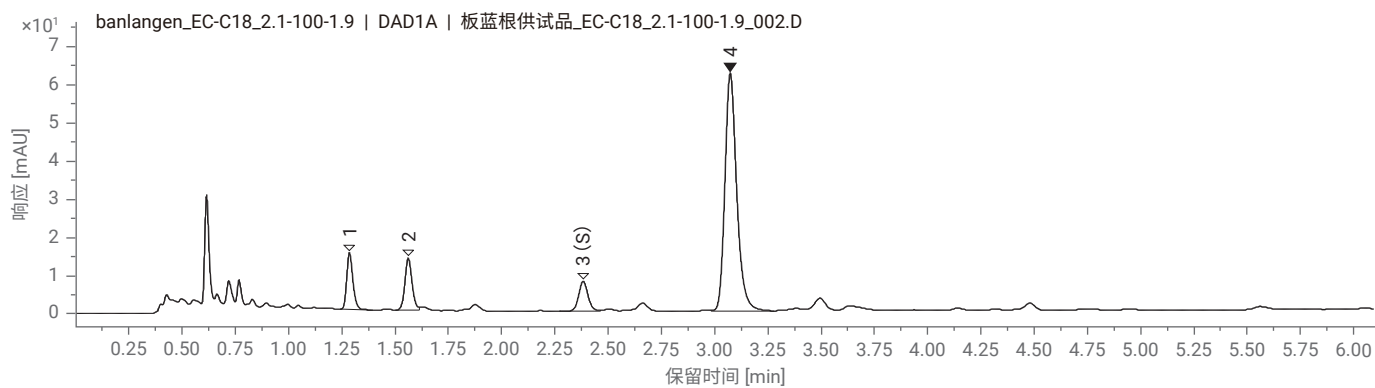
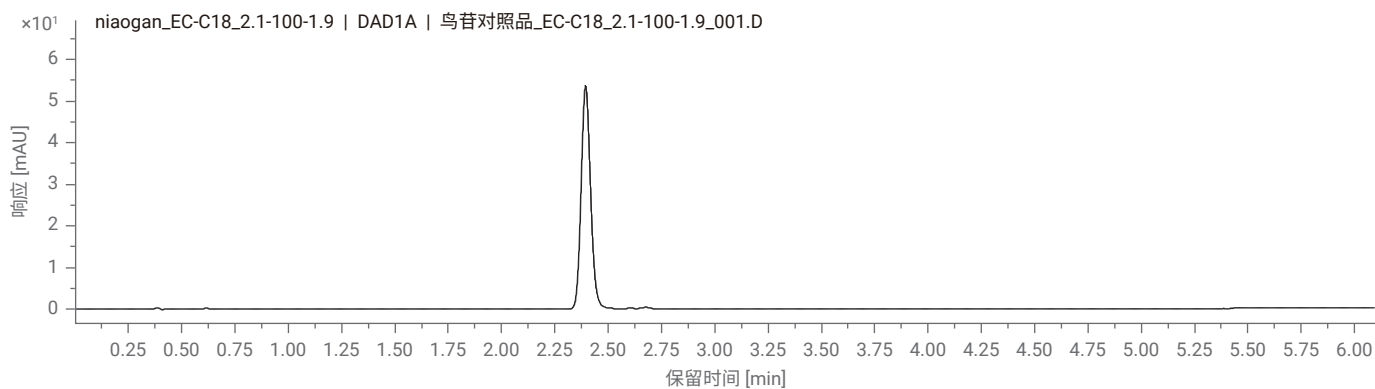
- 转换成 UHPLC 方法后分析时间由 47 分钟缩短至 9 分钟

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

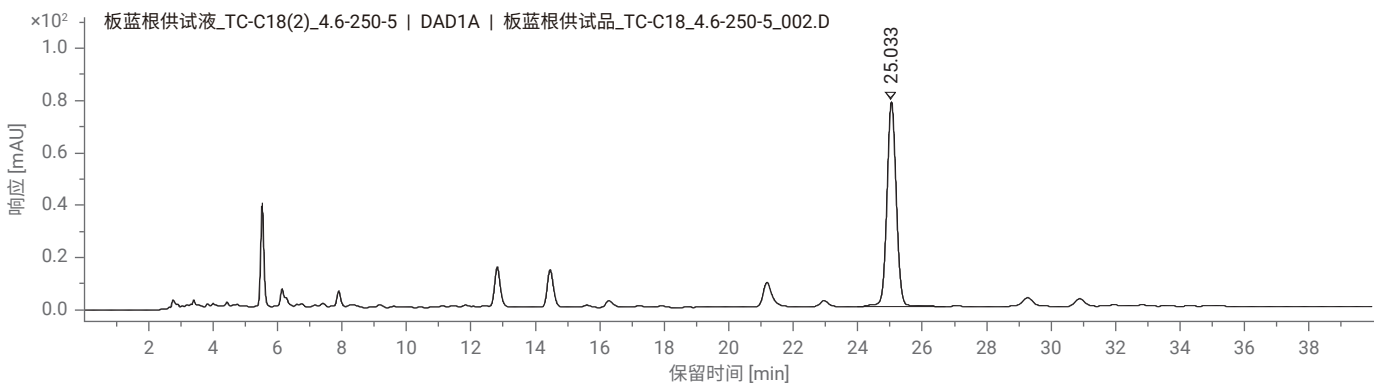
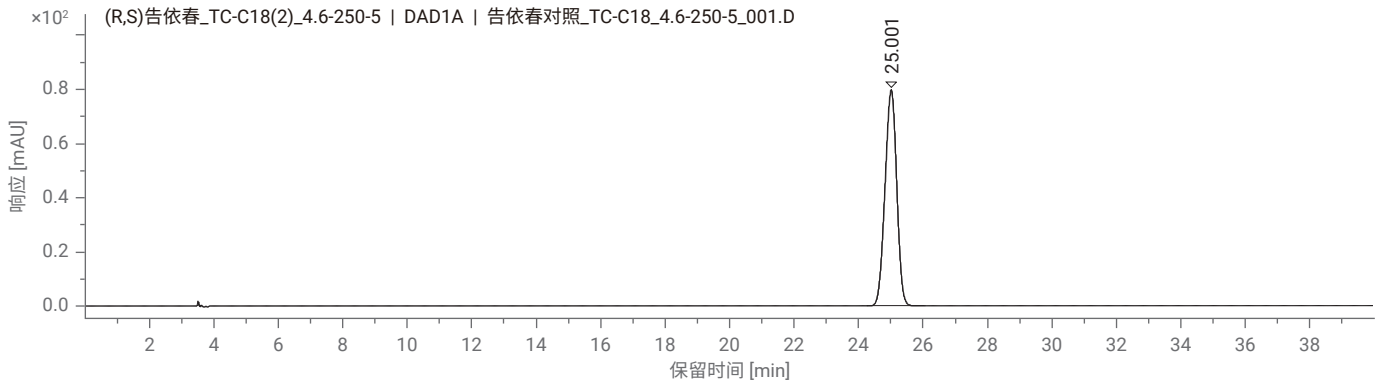
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
(R,S)-告依春	25.033	37729	1.05	1.51

UHPLC 方法

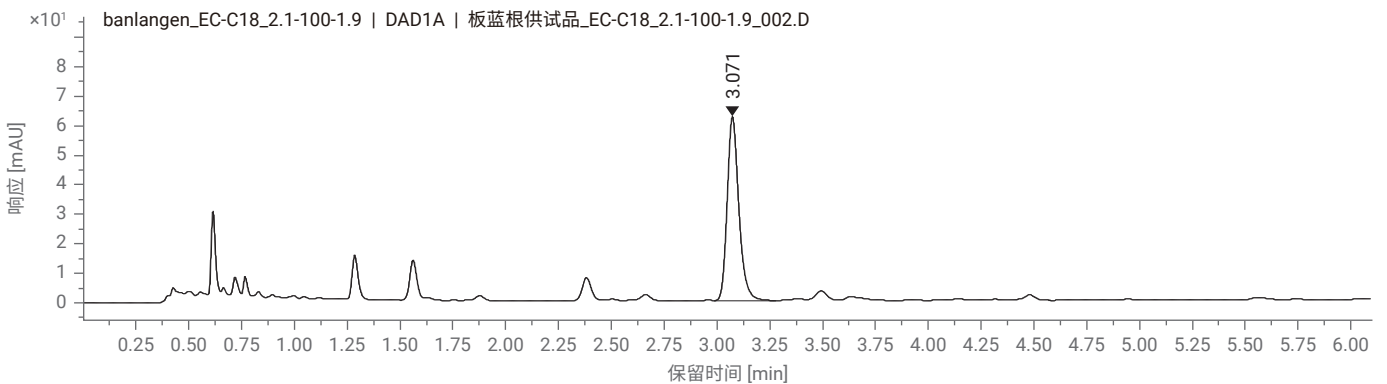
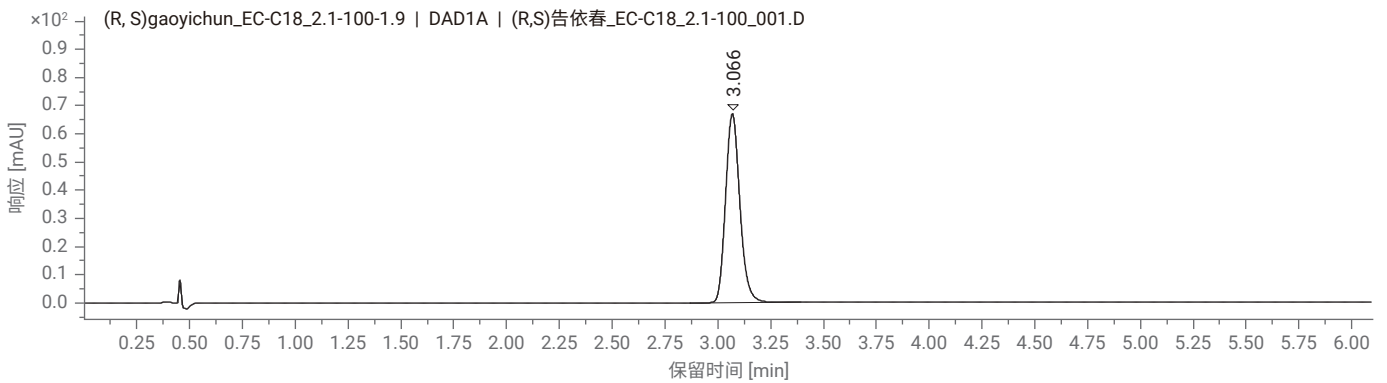
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
(R,S)-告依春	3.071	15799	1.28	1.52

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

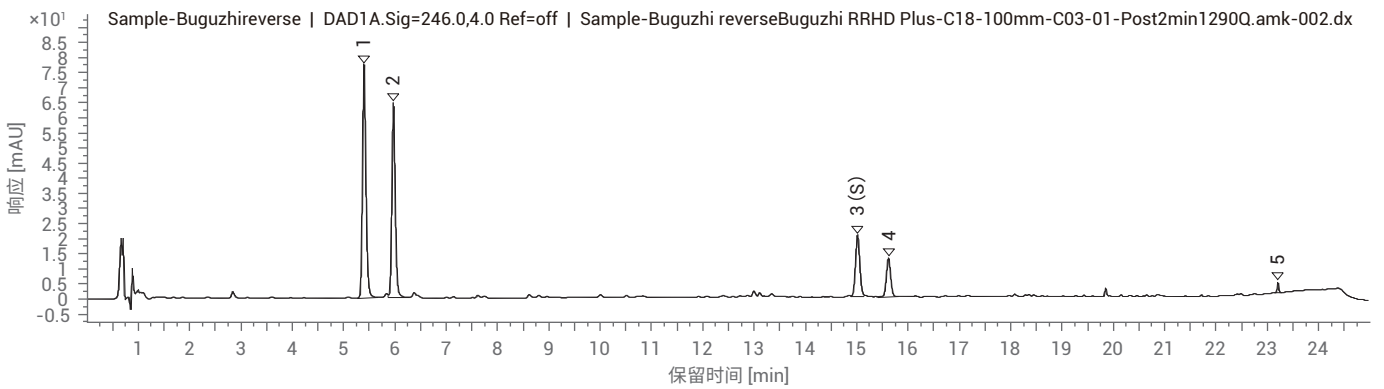
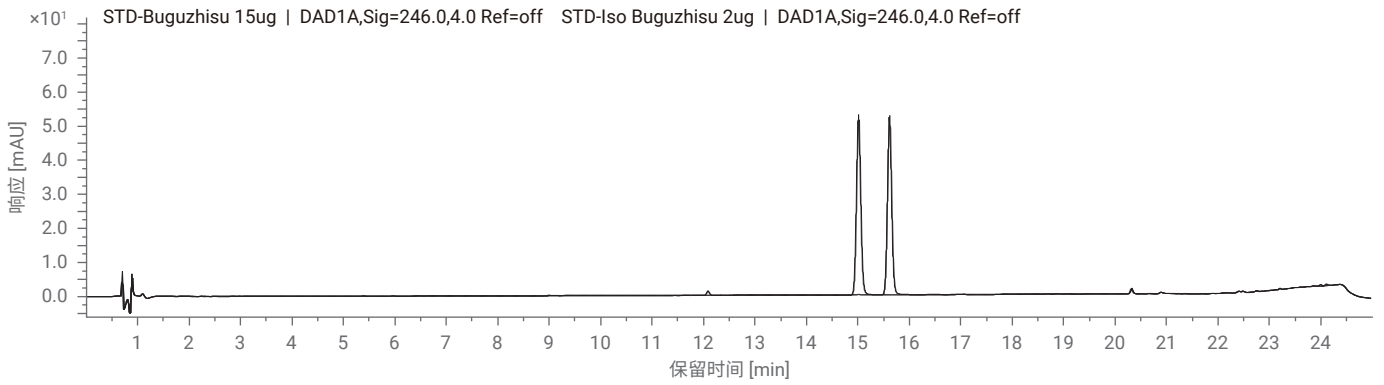
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.833	补骨脂苷	0.37	0.31-0.37			29368
2	3.136	异补骨脂苷	0.41	0.33-0.41			37272
3 (S)	7.569	补骨脂素					171373
4	7.875	异补骨脂素	1.04	0.94-1.14			192313
5	11.602	补骨脂酚					3562811

小结及注意事项

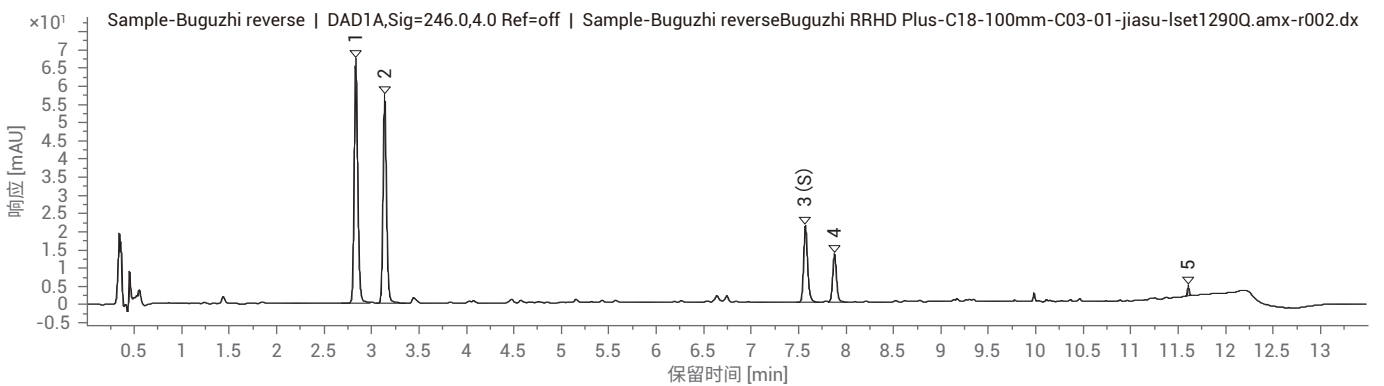
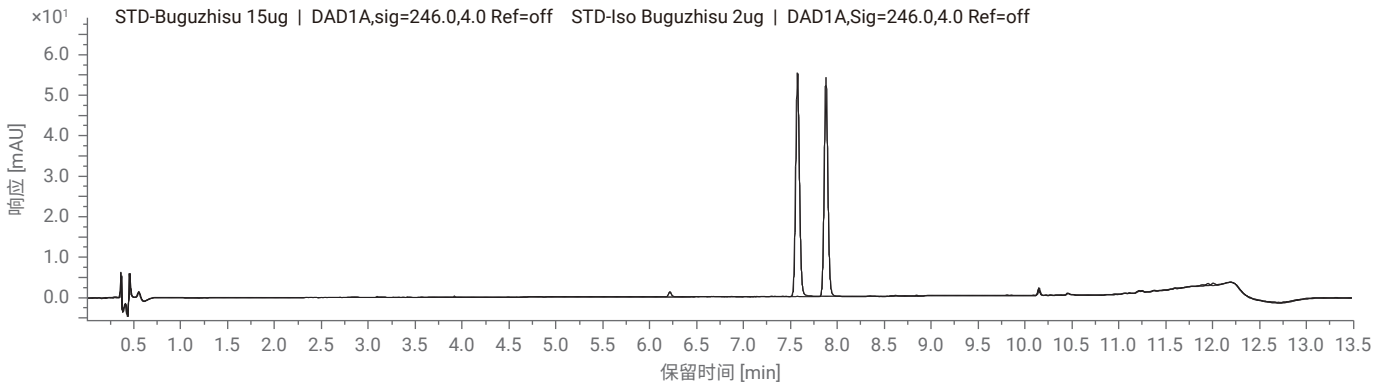
- 原始方法压力最高 381 bar, 加速方法压力最高 705Bar
- 原始方法与加速方法的图谱轮廓保持一致, 均能满足系统适用性及相对保留时间要求

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

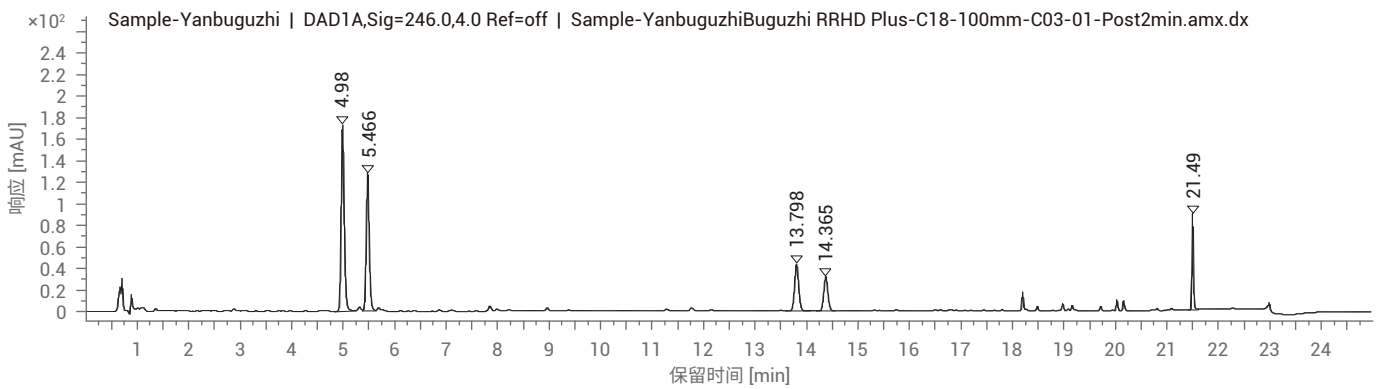
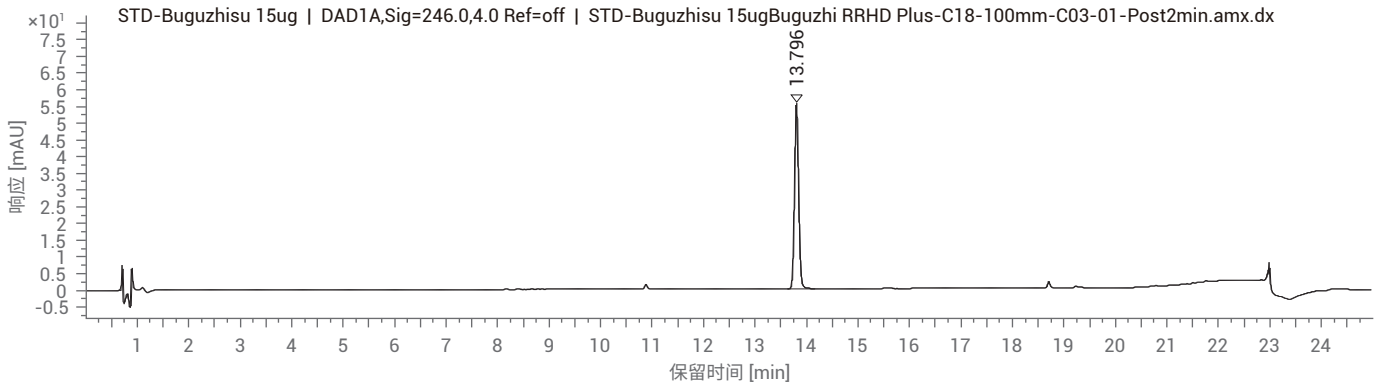
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
补骨脂苷	4.98	37698	1.21	6.75
异补骨脂苷	5.466	46198	1.19	4.52
补骨脂素	13.798	147144	1.08	5.94
异补骨脂素	14.365	163606	1.08	4.20
补骨脂酚	21.49	3875959	1.28	

UHPLC-四元-加速方法

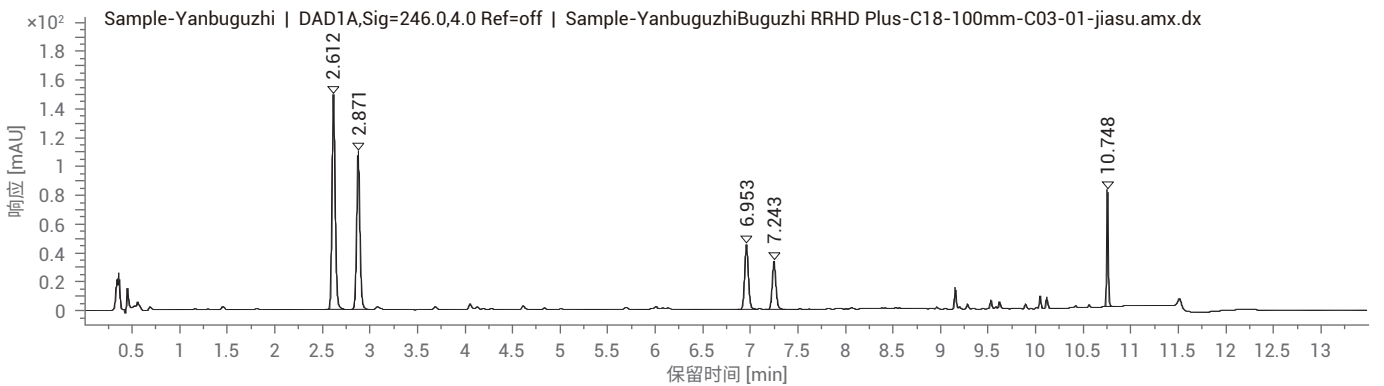
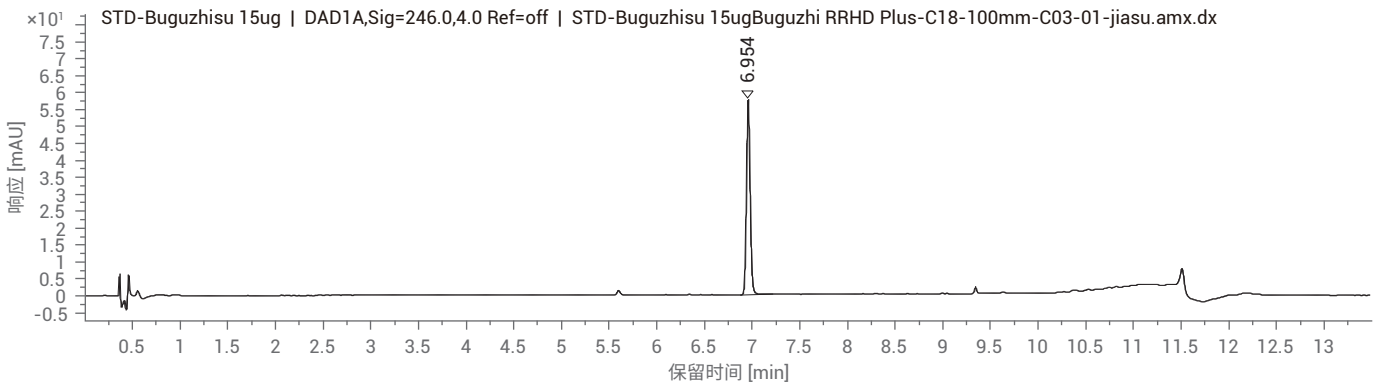
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
补骨脂苷	2.612	31836	1.18	6.62
异补骨脂苷	2.871	36733	1.13	4.63
补骨脂素	6.953	158972	1.10	5.90
异补骨脂素	7.243	177407	1.12	4.17
补骨脂酚	10.748	3185383	1.23	

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)



燂桃仁（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

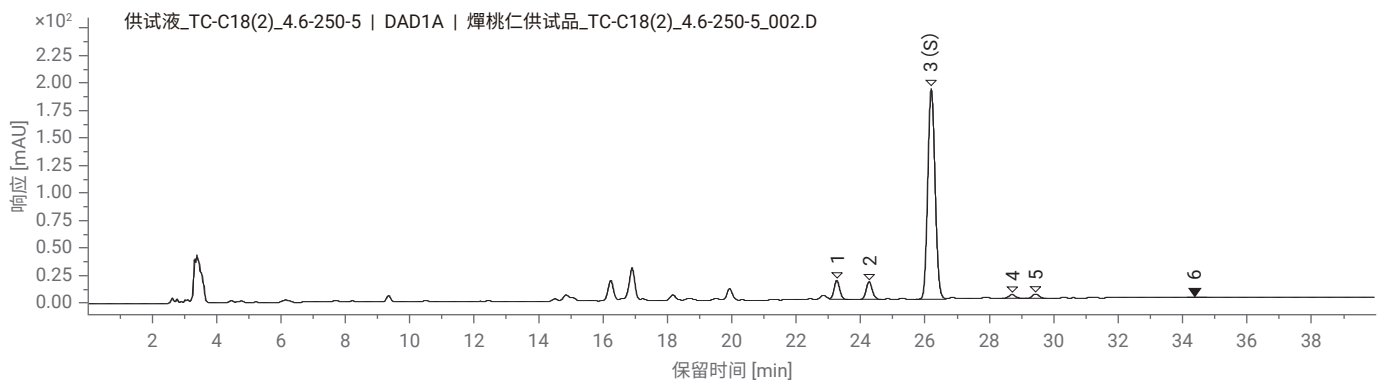
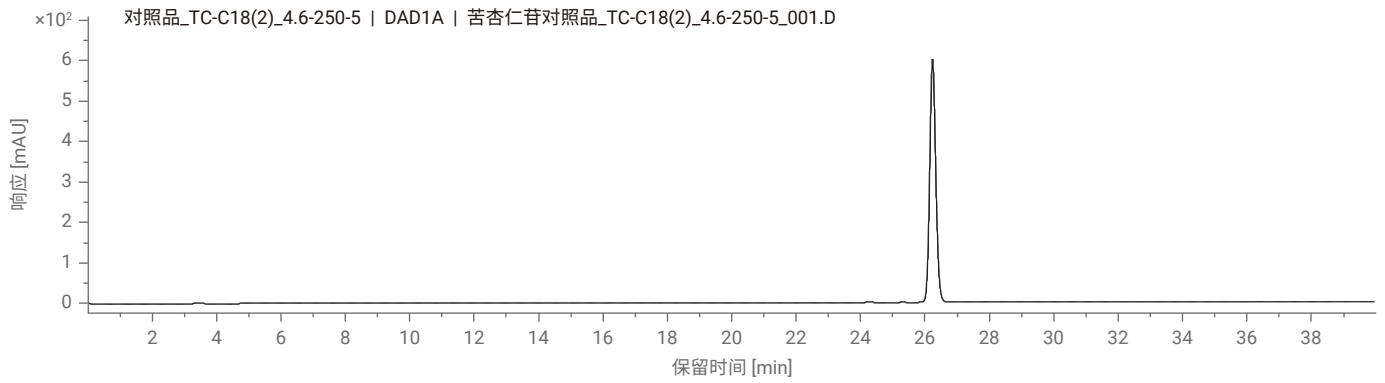
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	4.671		0.844	0.799-0.937			94129
2	5.015	色氨酸	0.906	0.809-0.949			142676
3 (S)	5.534	苦杏仁苷					38177
4	5.911		1.068	1.029-1.209			12097
5	6.034		1.090	1.058-1.242			118549
6	7.766		1.403	1.292-1.516			148049

小结及注意事项

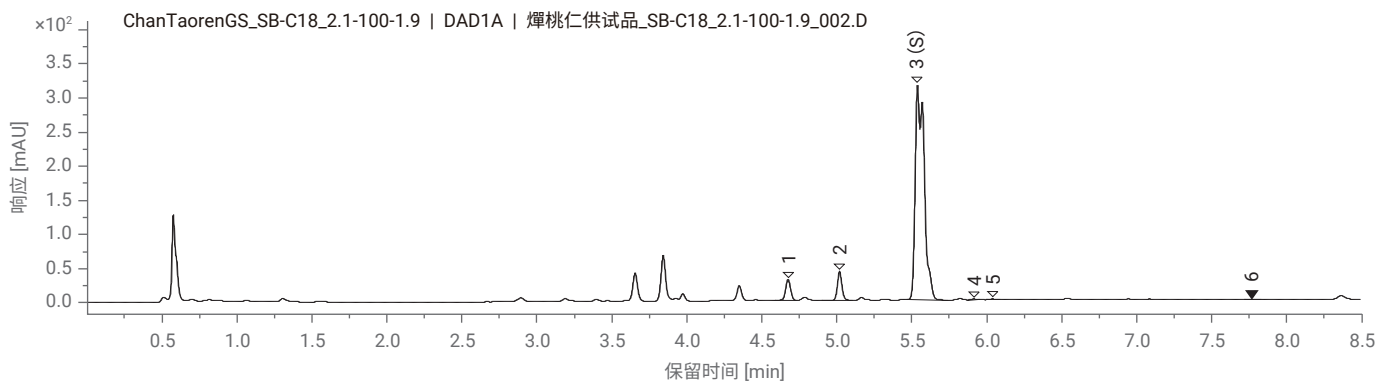
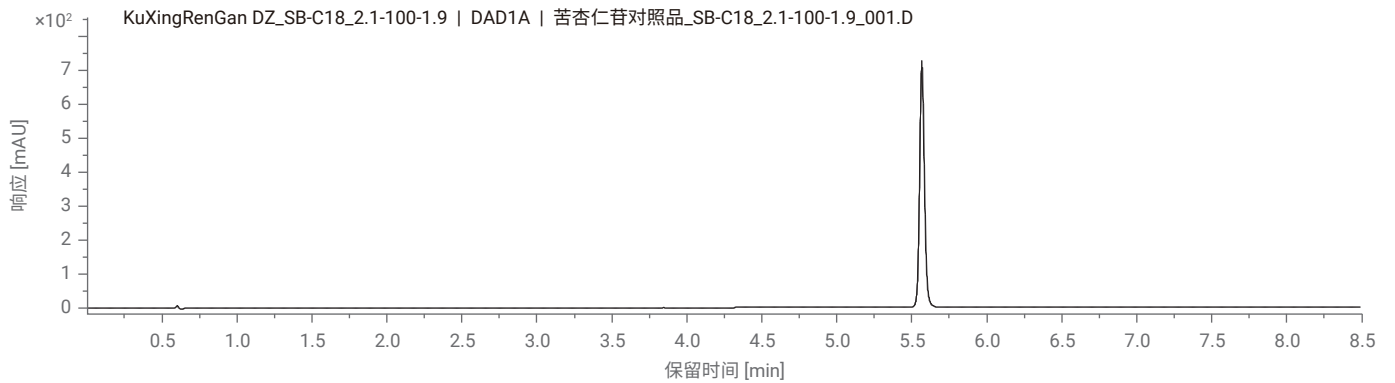
- 原始方法压力最高 320 bar, UHPLC 方法压力最高 888 bar; 加速分析方法比原方法时间缩短 36.4 min
- 苦杏仁苷存在异构体, UHPLC 方法采用 Poroshell 120 SB-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm 色谱柱时, 由于选择性差异导致苦杏仁苷异构体略有分离
- 苦杏仁苷存在异构体, 并且在溶液中会相互转化, 对照品溶液建议临用新制

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

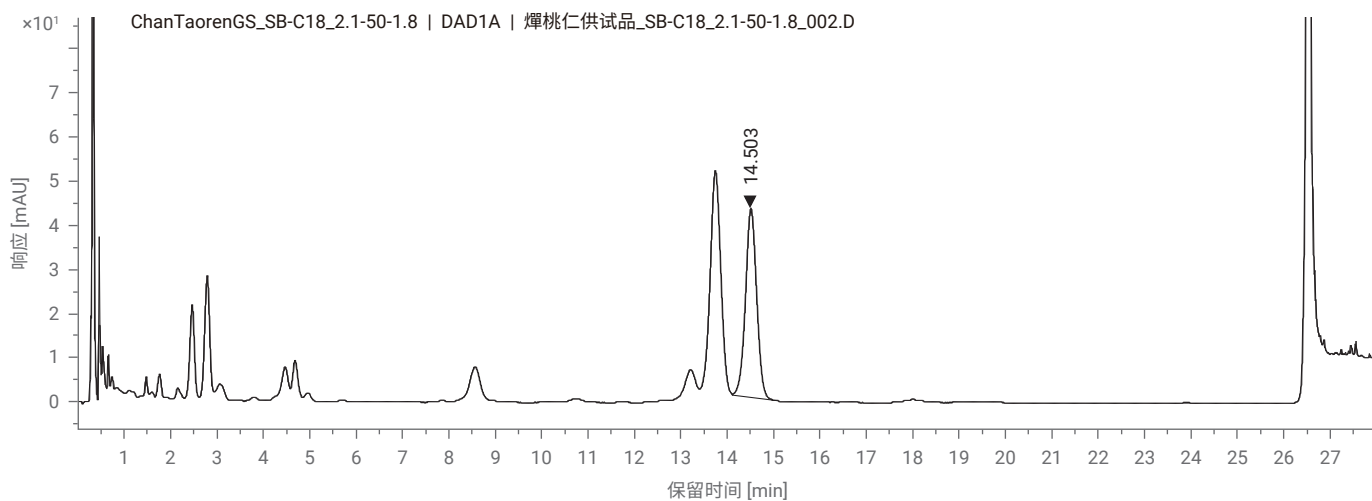
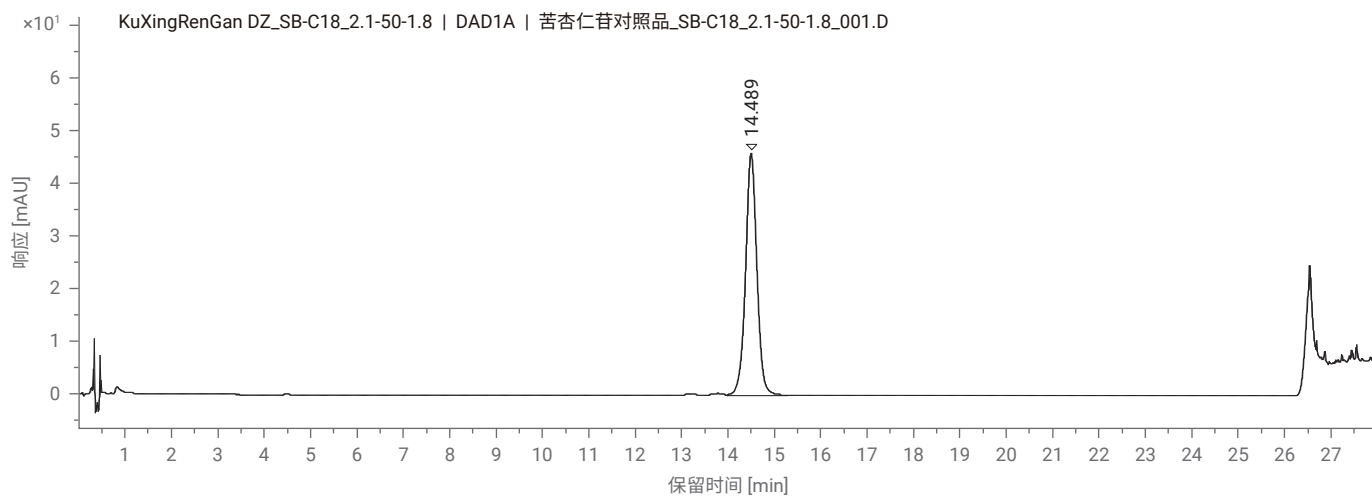
峰	化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
1	苦杏仁苷	14.489	18608	1.00	49.46

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

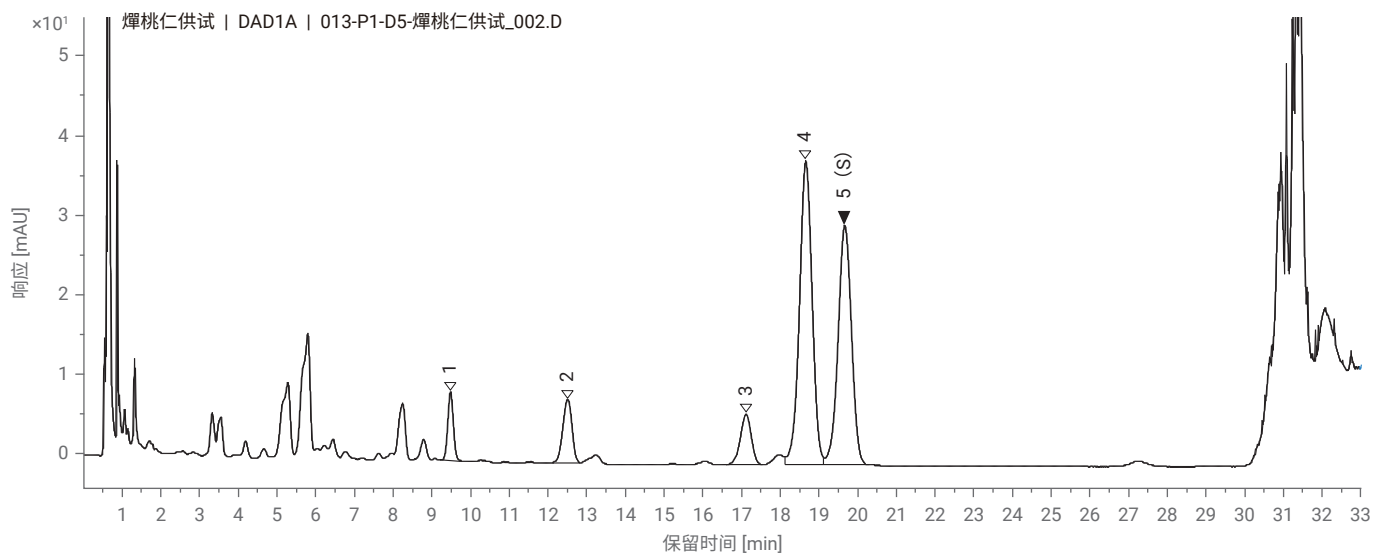
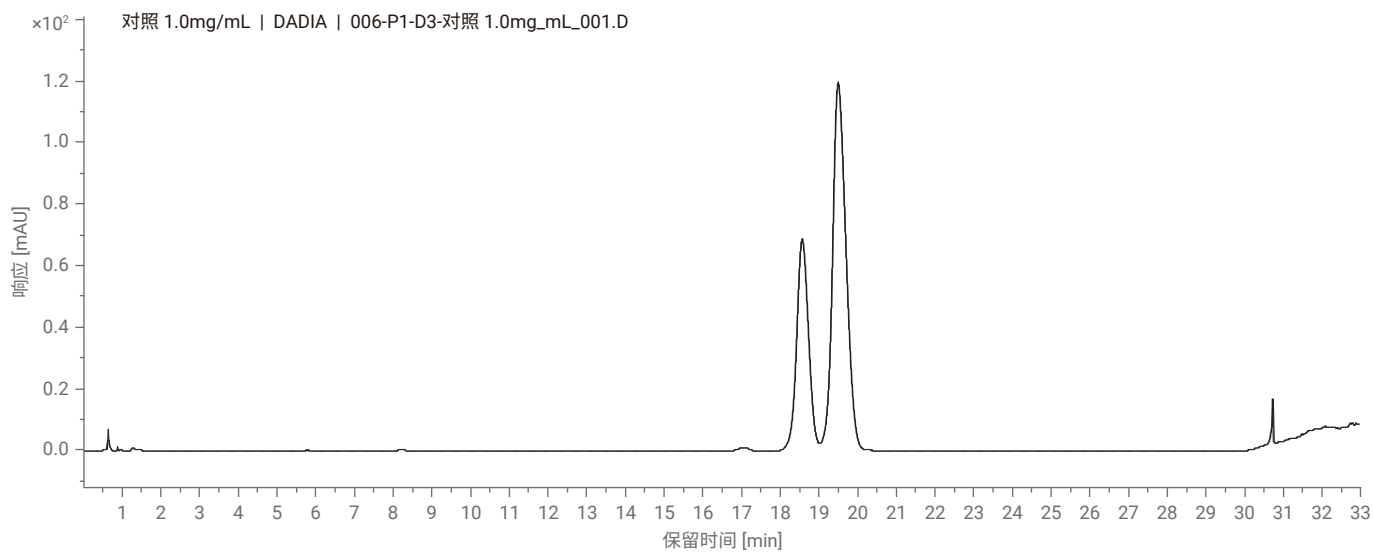
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	9.476	色氨酸					20938
2	12.502		0.636	0.540~0.660			12973
3	17.104		0.870	0.774~0.946			18311
4	18.638		0.949	0.855~1.045			16895
5(S)	19.649	苦杏仁苷					15981

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

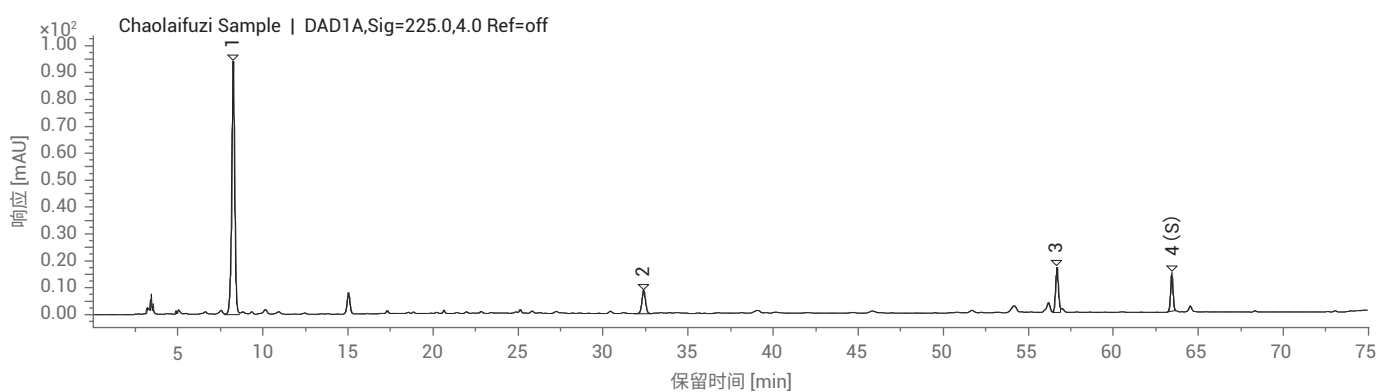
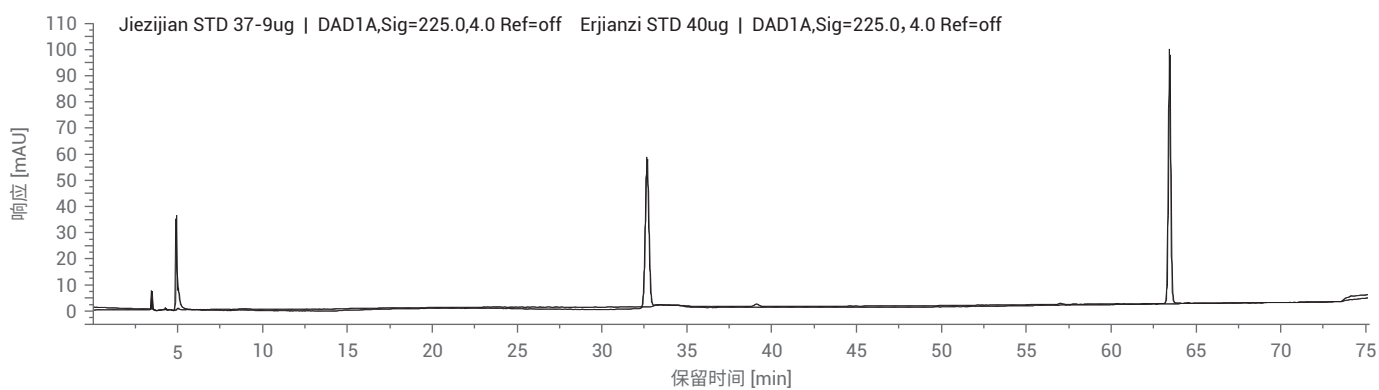
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	3.754						55741
2	7.666	芥子碱硫酸盐					85930
3	11.892		0.86	0.8-0.98			349516
4 (S)	13.888	3,6-二芥子酰基蔗糖					817748

小结及注意事项

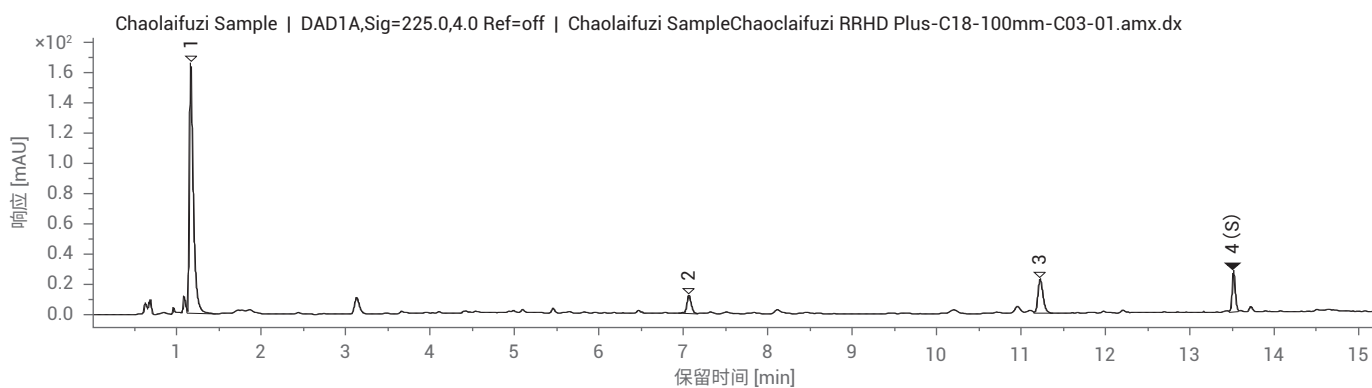
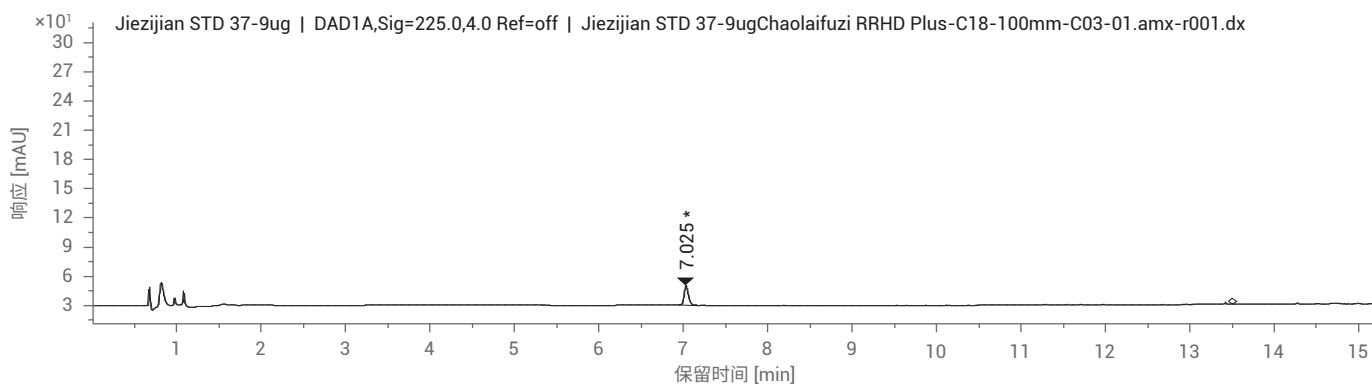
- 原方法增加后运行时间 10 分钟, UHPLC 增加后运行时间 4 分钟
- 转换成 UHPLC 色谱方法, 时间从 77 分钟缩短到 16.2 分钟, 时间节省 60 分钟 (77% 时间节省)

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

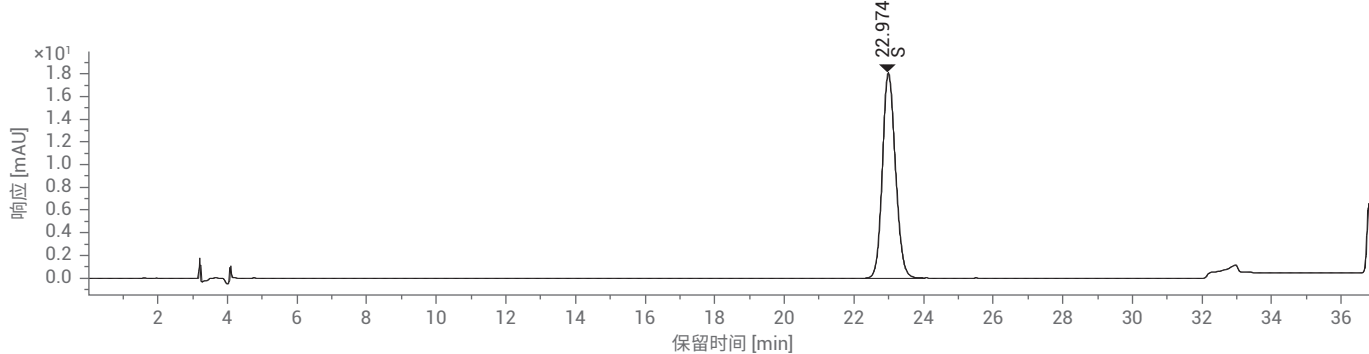
小结及注意事项

- 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

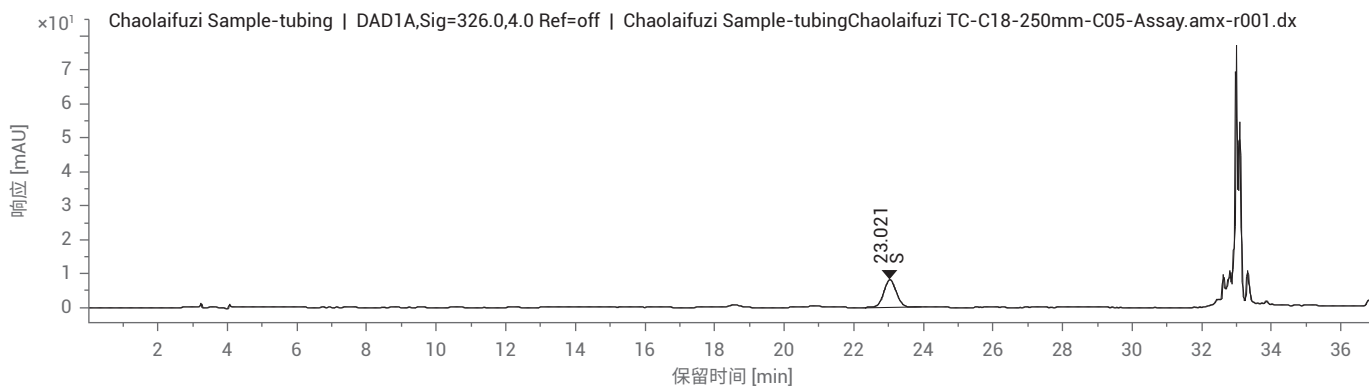
典型图谱

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

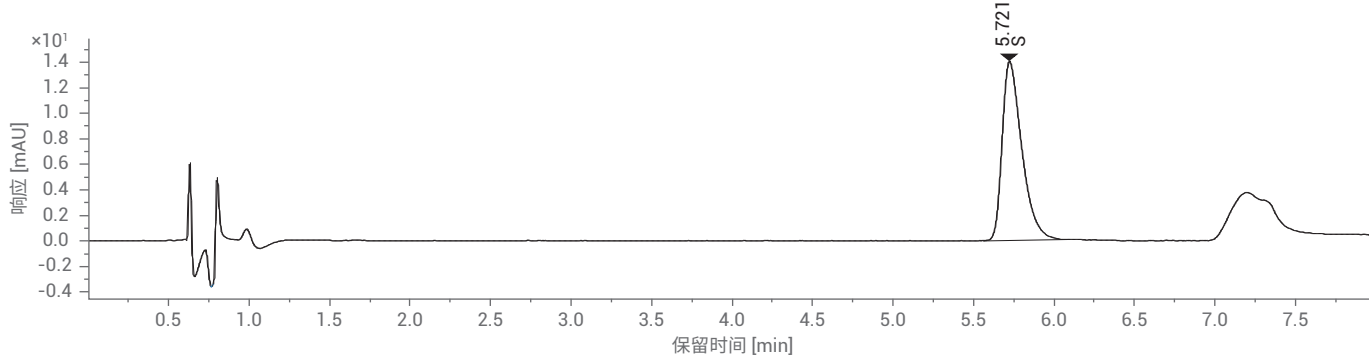


Chaolaifuzi Sample-tubing | DAD1A,Sig=326.0,4.0 Ref=off | Chaolaifuzi Sample-tubingChaolaifuzi TC-C18-250mm-C05-Assay.amx-r001.dx

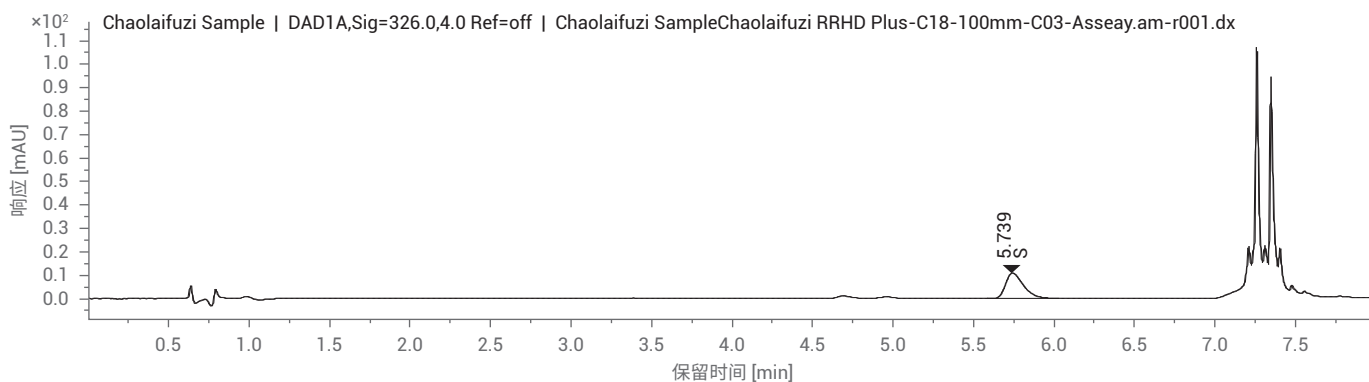


UHPLC 方法（上图为对照品，下图为供试品）

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_3PO_4 ; MPB: MeOH	MPA: 0.1% H_3PO_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

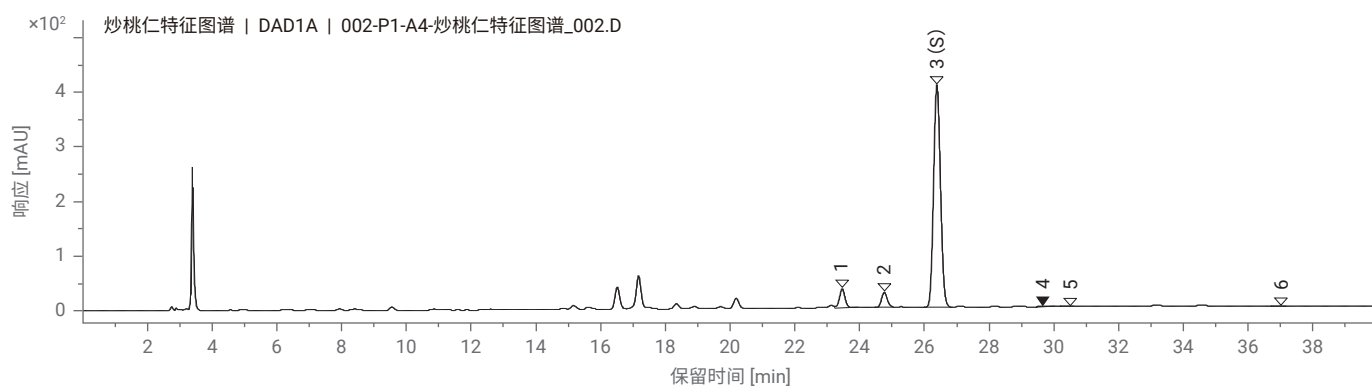
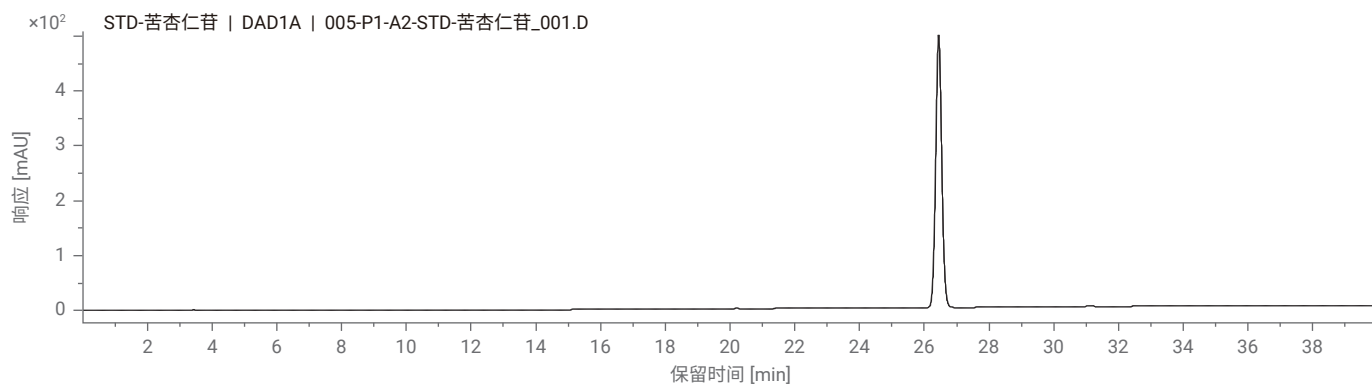
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	4.666		0.843	0.798~0.936			150222
2	5.012	色氨酸	0.906	0.807~0.947			142522
3 (S)	5.533	苦杏仁苷					38162
4	5.910		1.068	1.029~1.207			124360
5	6.032		1.090	1.059~1.243			120871
6	7.760		1.402	1.308~1.536			145290

小结及注意事项

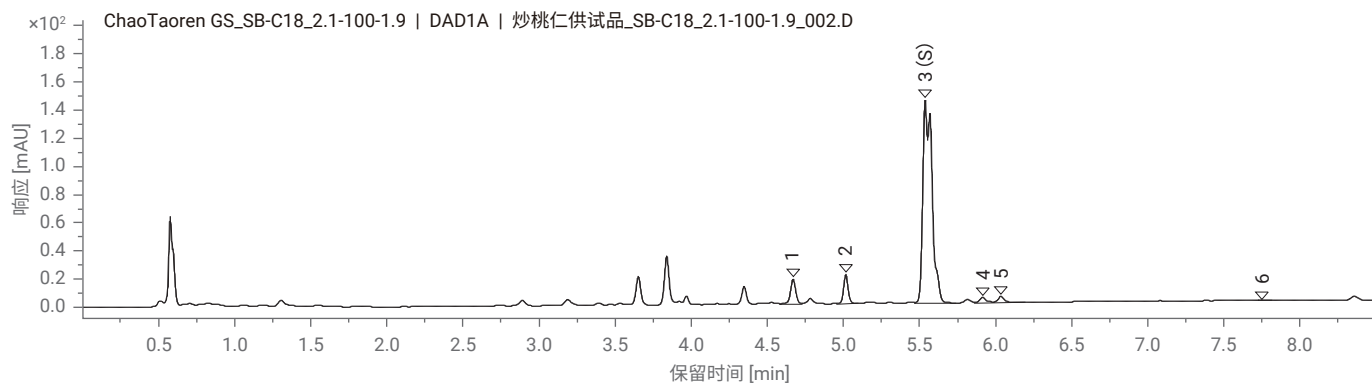
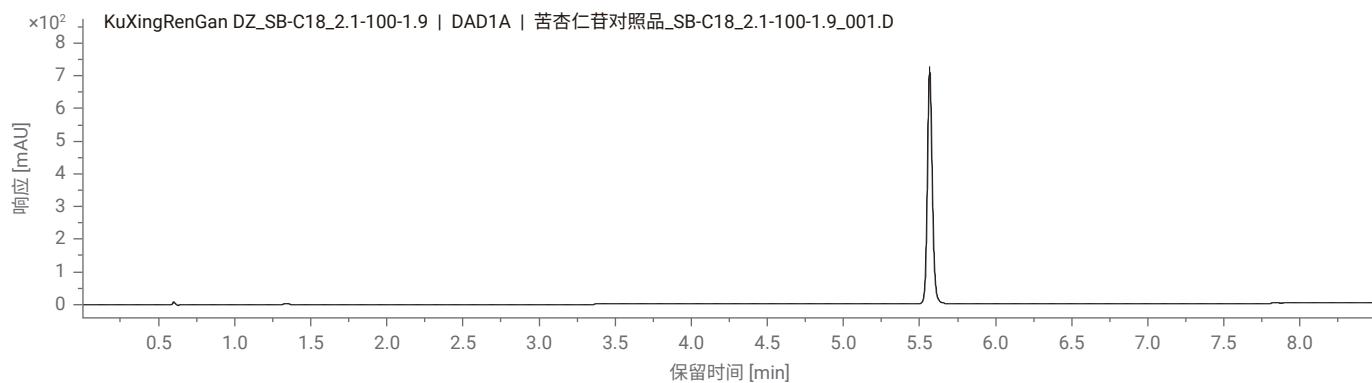
- 苦杏仁苷存在异构体, UHPLC 方法采用 Poroshell 120 SB-C18, 2.1 x 100 mm, 1.9 μm 色谱柱时, 由于选择性差异导致苦杏仁苷异构体略有分离
- 苦杏仁苷存在异构体, 并且在溶液中会相互转化, 对照品溶液须临用新制

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

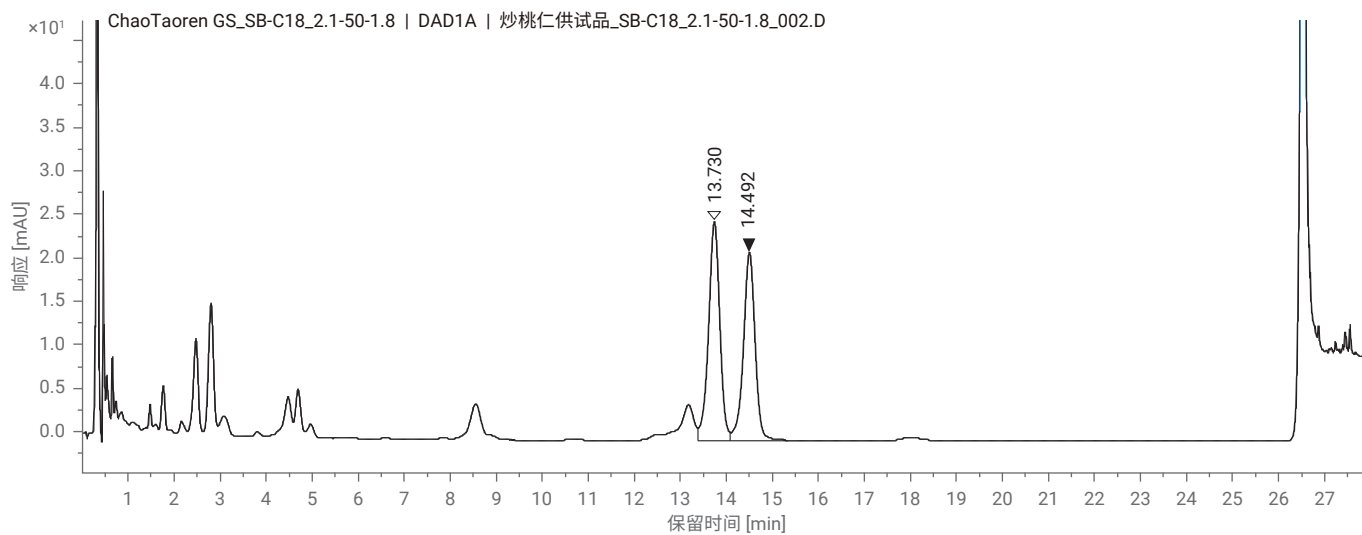
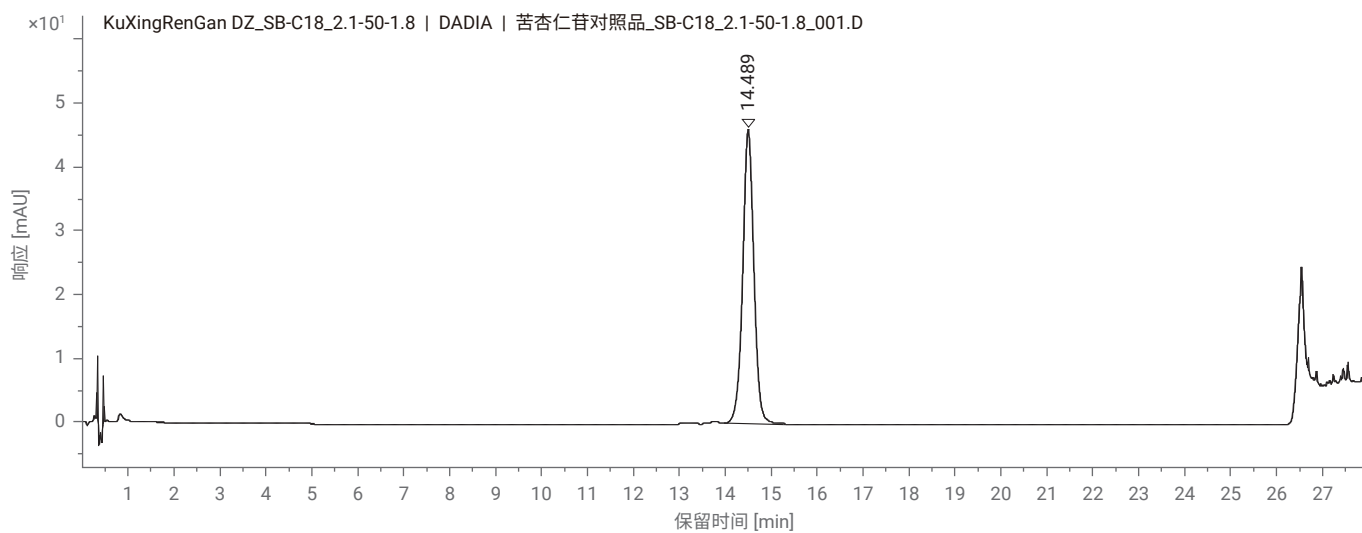
峰	化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
1	苦杏仁苷	14.492	18493	0.94	22.34

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_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

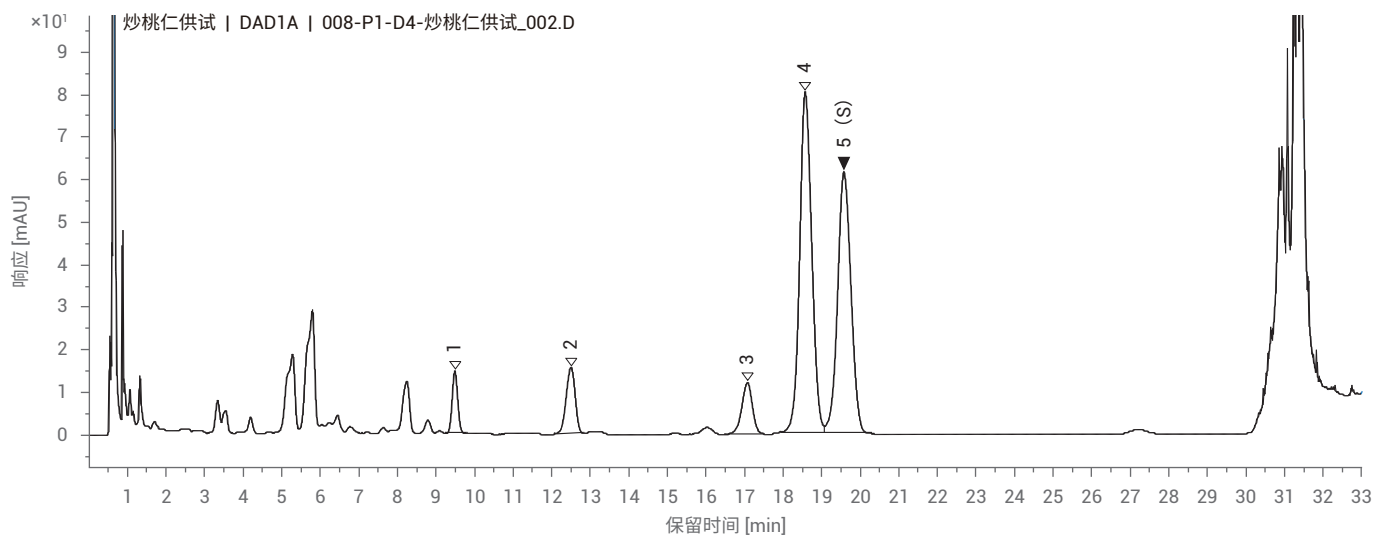
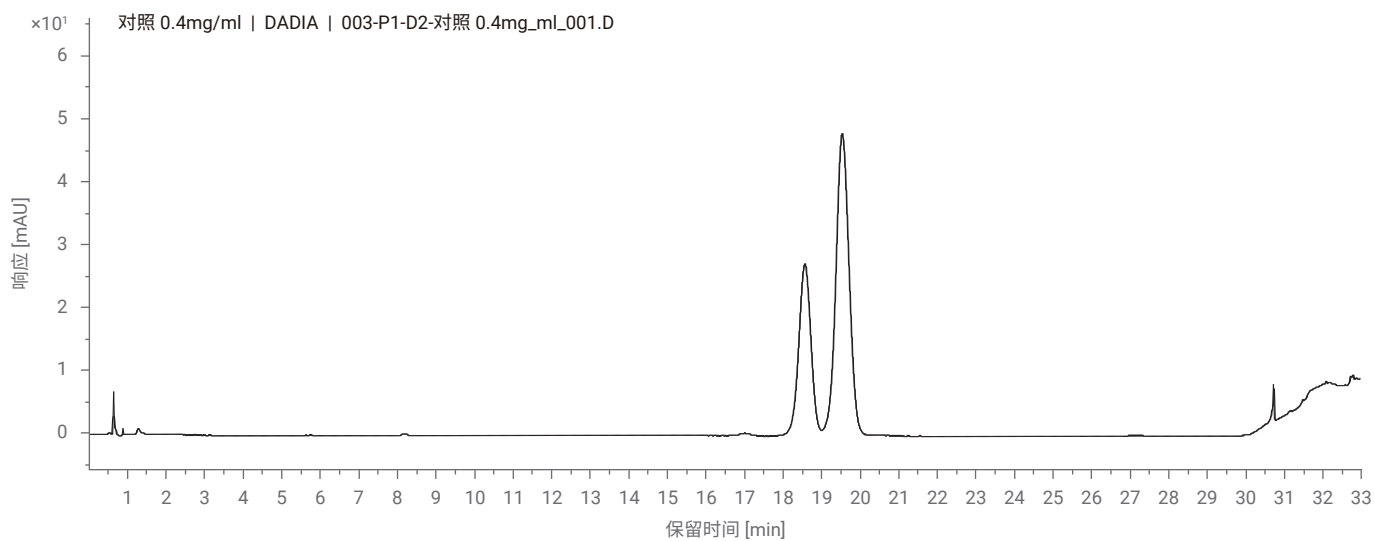
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	9.457	色氨酸					20695
2	12.488		0.638	0.540~0.660			13373
3	17.058		0.872	0.774~0.946			19057
4	18.562		0.949	0.855~1.045			17352
5 (S)	19.565	苦杏仁苷					15490

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 (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（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

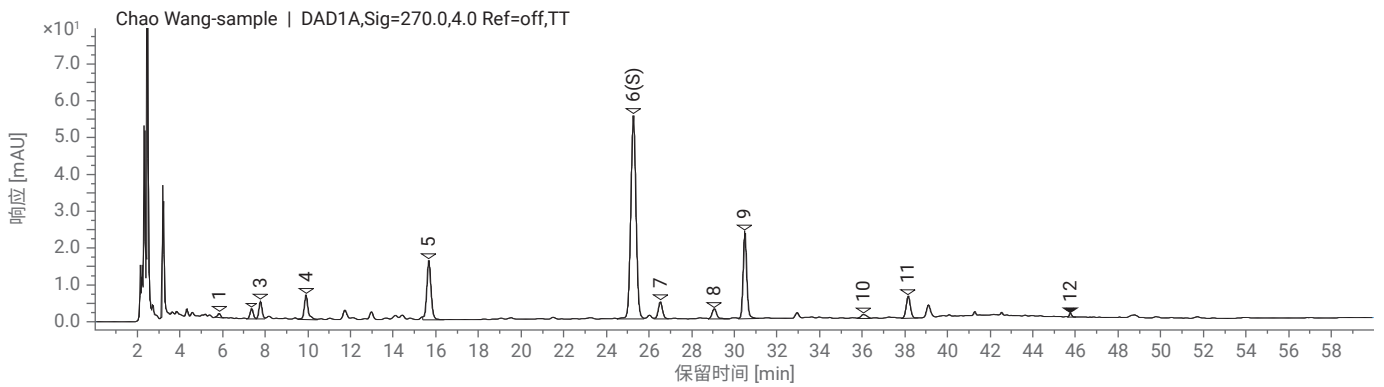
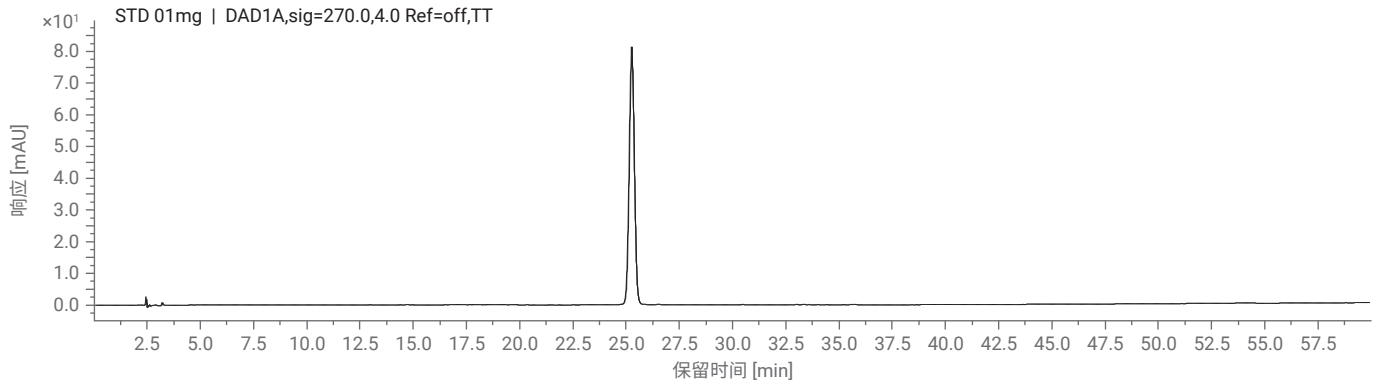
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	5.819		0.23	0.20-0.24			27483
2	7.343		0.29	0.27-0.33			12170
3	7.754		0.31	0.29-0.35			15519
4	9.89	原儿茶酸	0.39	0.37-0.45			20358
5	15.65	刺桐碱	0.62	0.58-0.71			31632
6 (S)	25.248	王不留行黄酮苷					51654
7	26.51	肥皂草苷	1.05	0.95-1.16			89930
8	29.039		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

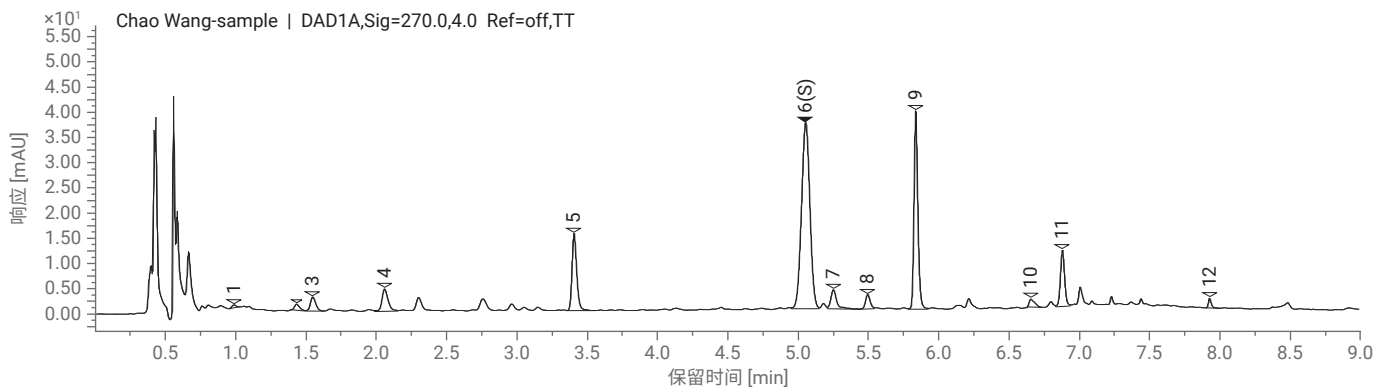
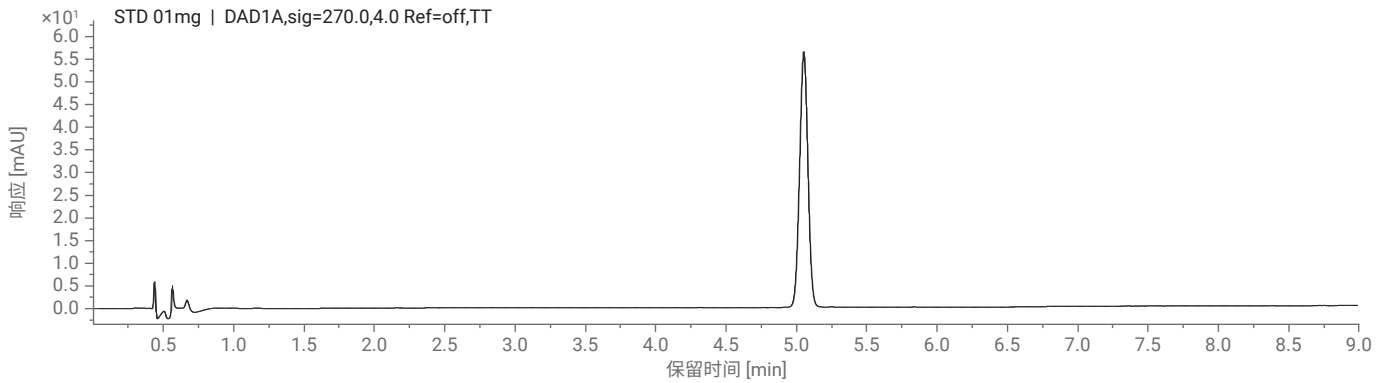
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	0.986		0.20	0.20-0.24			5583
2	1.429		0.28	0.27-0.33			8549
3	1.545		0.30	0.29-0.35			11612
4	2.298	原儿茶酸	0.46	0.37-0.45			17090
5	3.403	刺桐碱	0.67	0.58-0.71			52654
6 (S)	5.051	王不留行黄酮苷					33552
7	5.248	肥皂草苷	1.04	0.95-1.16			93435
8	5.492		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

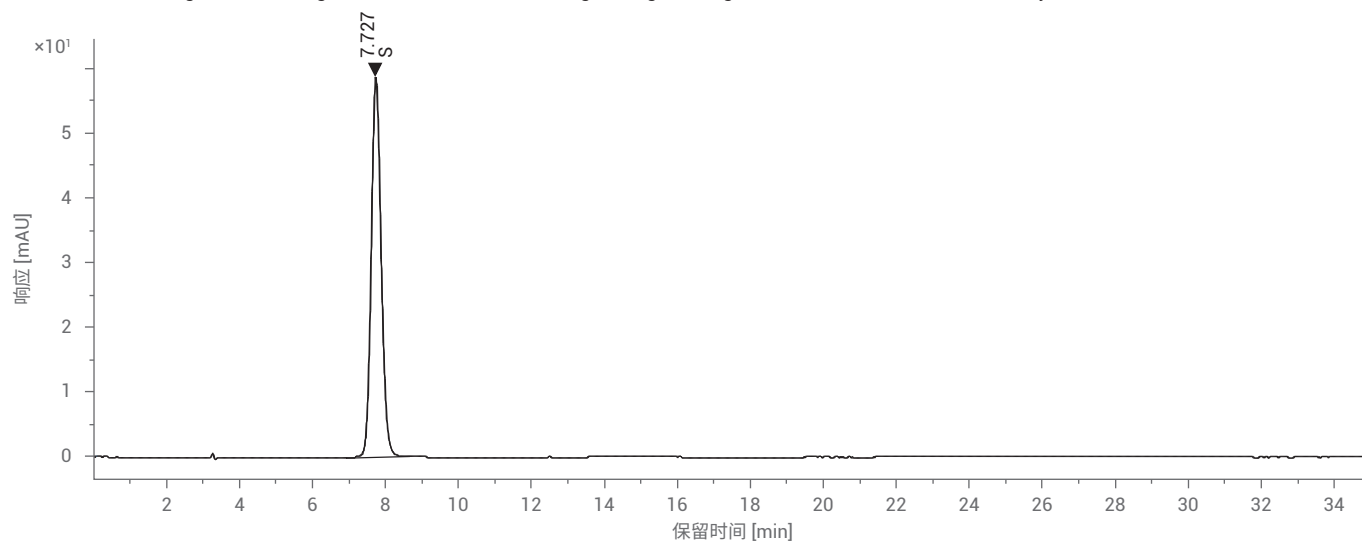
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
王不留行黄酮苷	7.729	4061	1.12	6.43

小结及注意事项

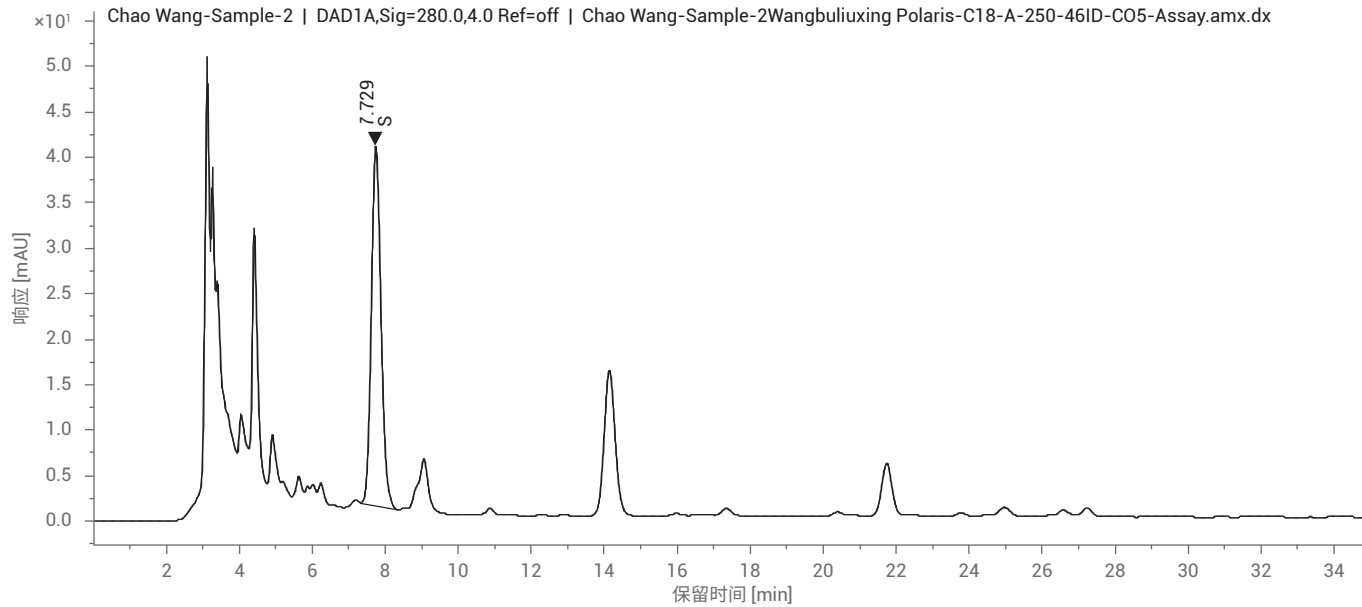
- 自动进样器到柱温箱之间连接管线换成 0.5 mm (内径) × 400 mm (长度) 的不锈钢管线 (G2260-87301), 以克服溶剂效应
- 色谱柱 Polaris C18-A 选择性最佳, 可以保证王不留行黄酮苷理论塔板数达到系统适用性要求

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

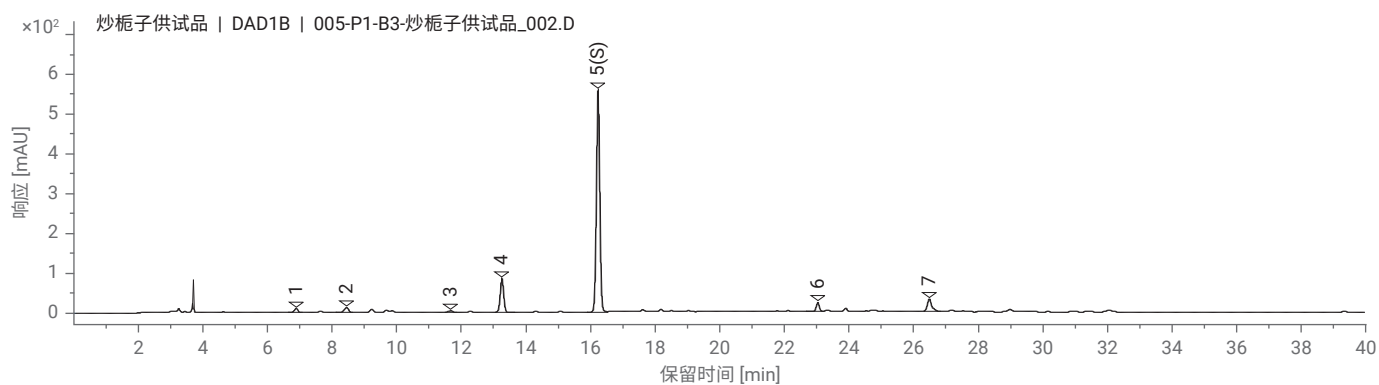
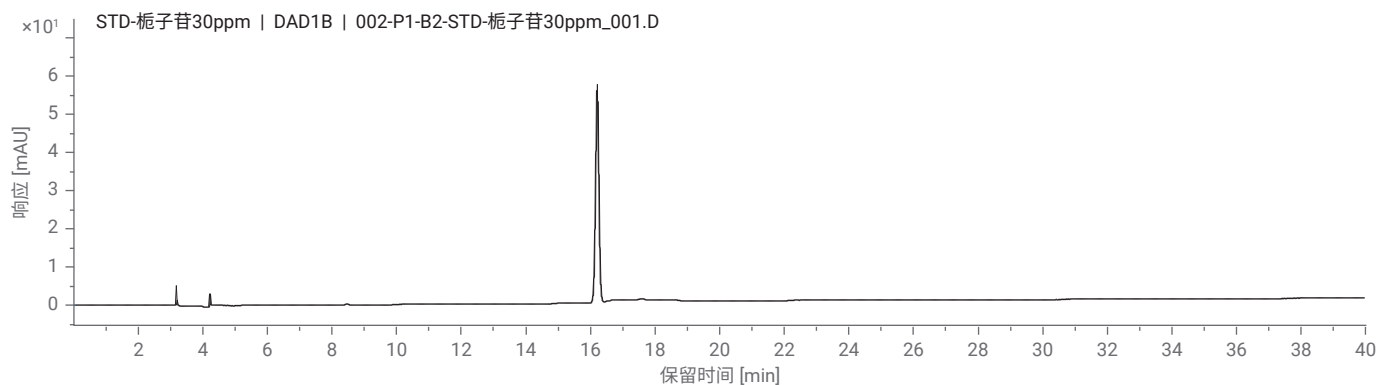
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	1.017		0.435	0.377~0.443			3900
2	1.246		0.533	0.510~0.598			14733
3	1.618		0.693	0.649~0.761			19176
4	1.908	京尼平-1-β-D-龙单双糖苷	0.817	0.742~0.870			46463
5 (S)	2.336	栀子苷					69668
6	3.346		1.432	1.339~1.571			188858
7	3.958	西红花苷 I	1.694	1.574~1.848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

小结及注意事项

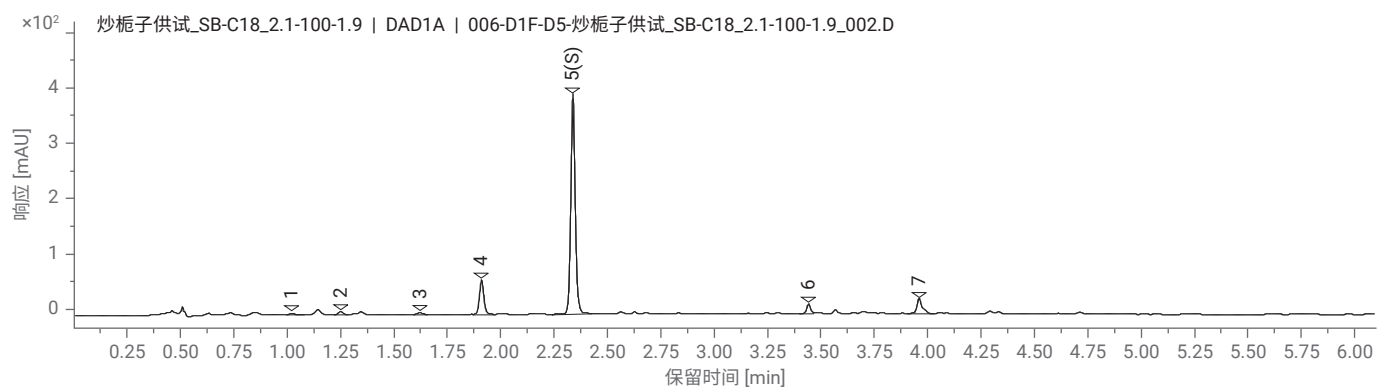
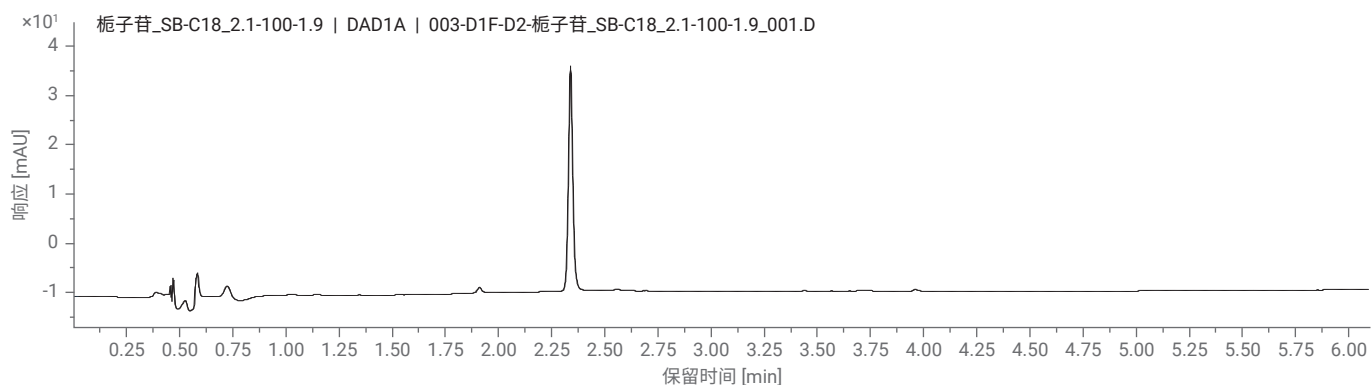
- 原始方法压力最高 146 bar, UHPLC 方法压力最高 502 bar
- UHPLC 分析时间缩短 34 分钟

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

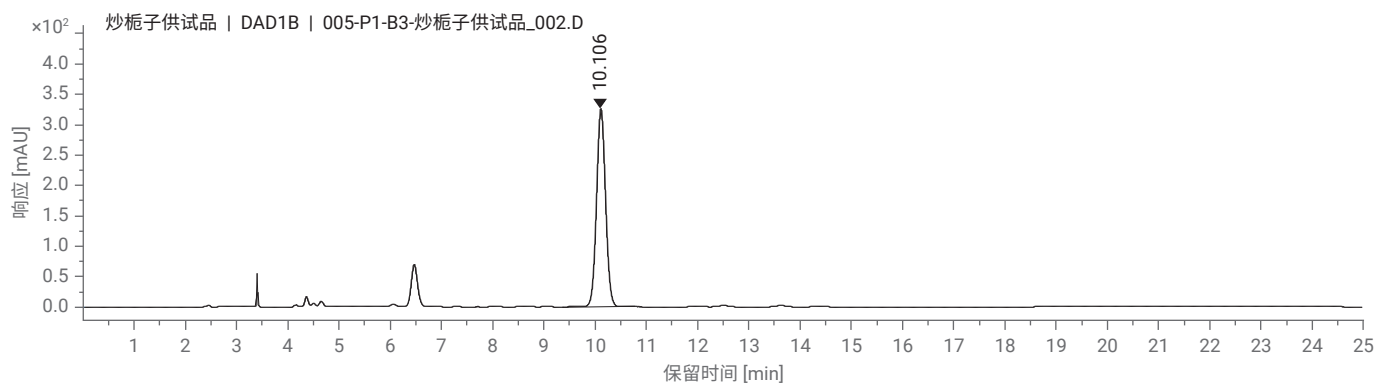
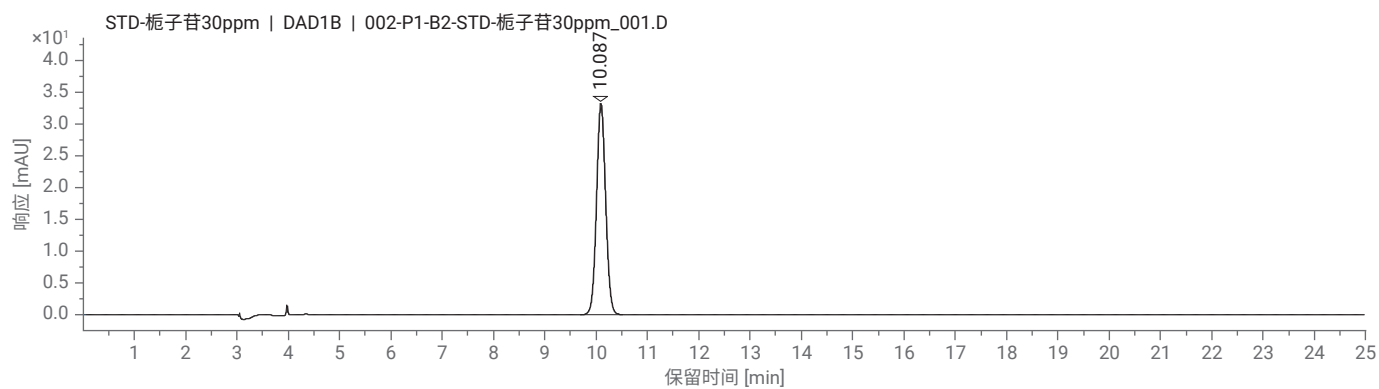
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
栀子苷	1.209	3336	1.03	132.1

小结及注意事项

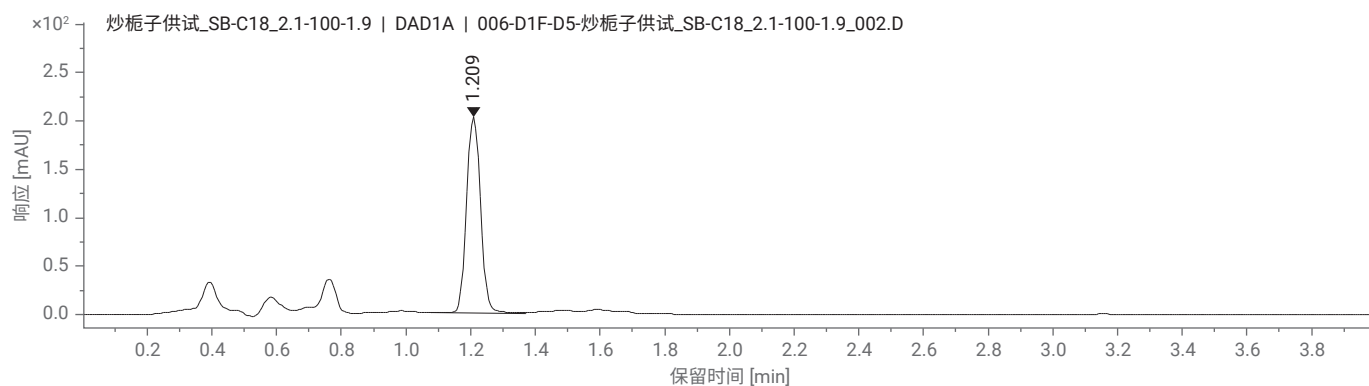
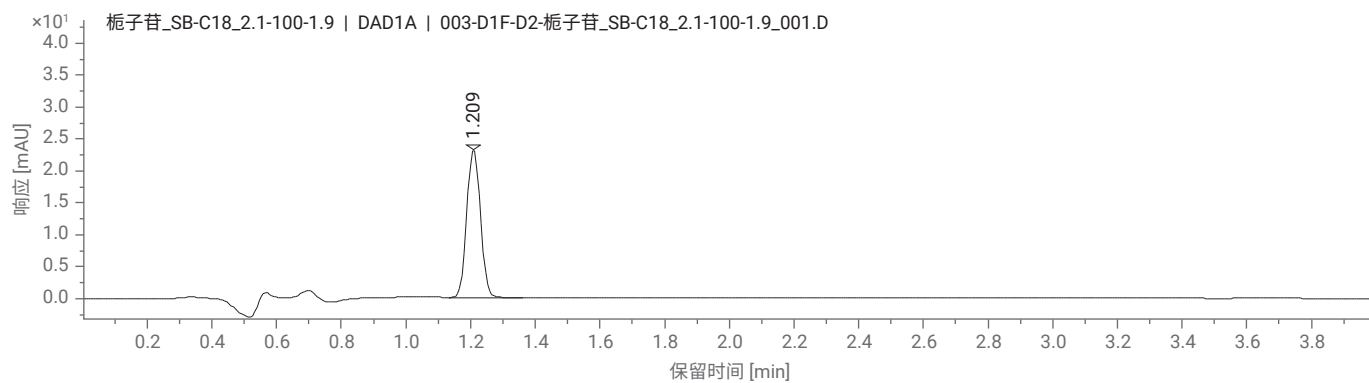
- 使用 UHPLC 方法后分析时间由 40 分钟缩短至 4 分钟

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	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

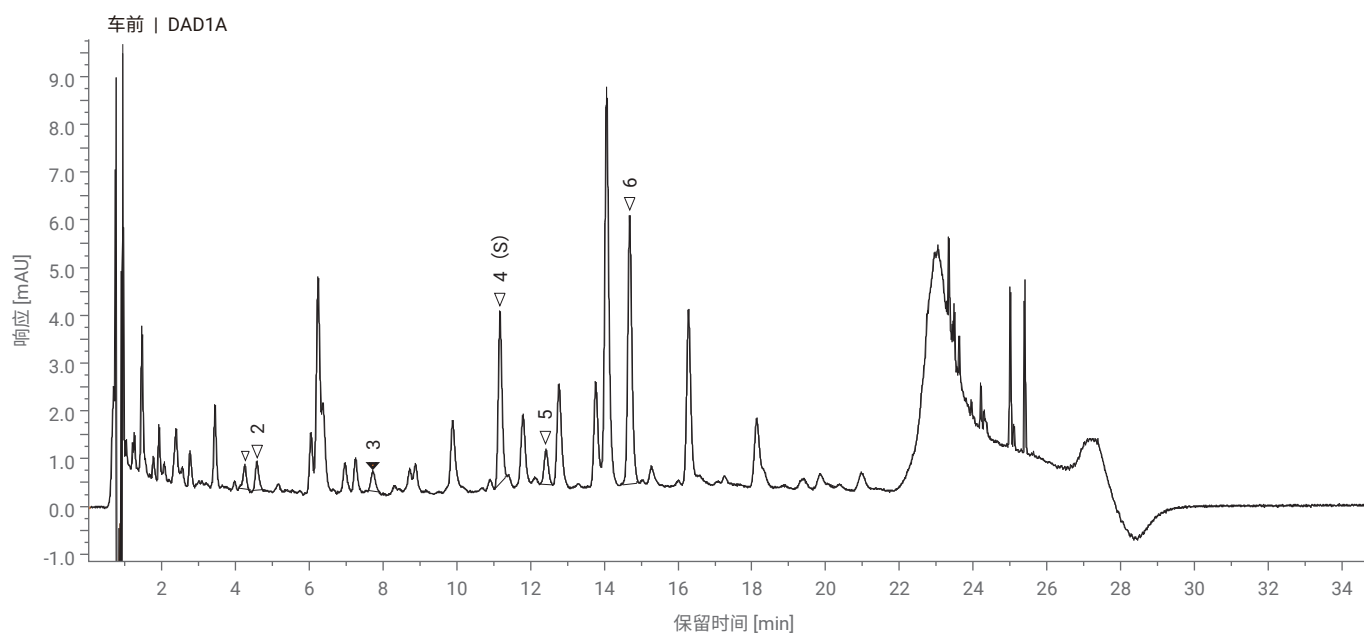
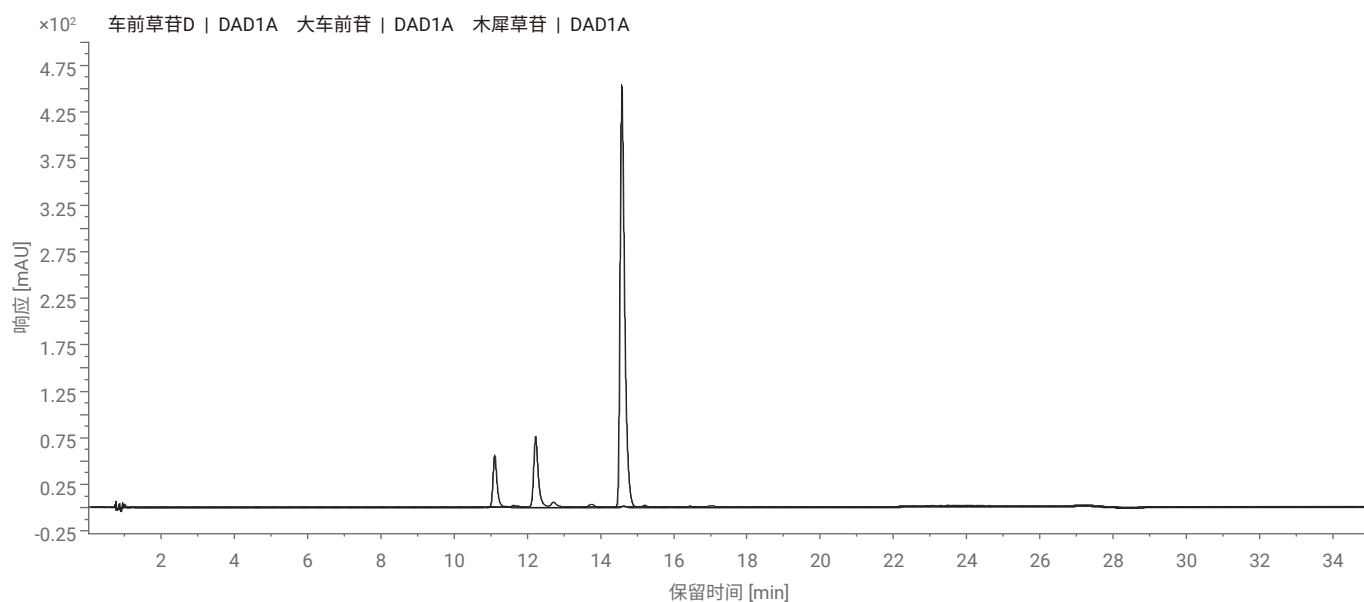
峰	化合物	保留时间 (min)	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1		4.24	0.38	0.351 ~ 0.429			13061
2		4.56	0.41	0.369 ~ 0.451			12239
3		7.70	0.69	0.63 ~ 0.77			19107
4 (S)	大车前苷	11.16					59022
5	木犀草苷	12.41	1.11	0.963 ~ 1.177			56273
6	车前草苷 D	14.67	1.31	1.179 ~ 1.441			86993

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

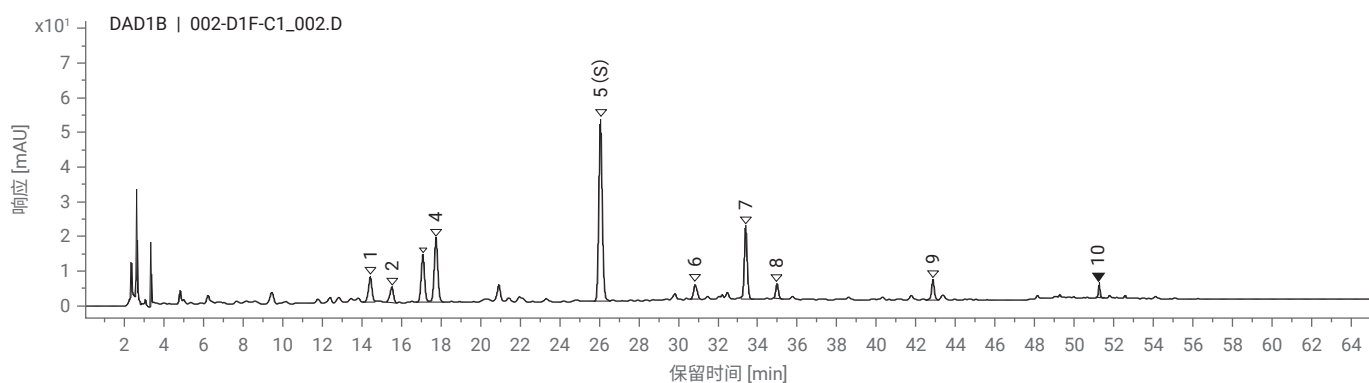
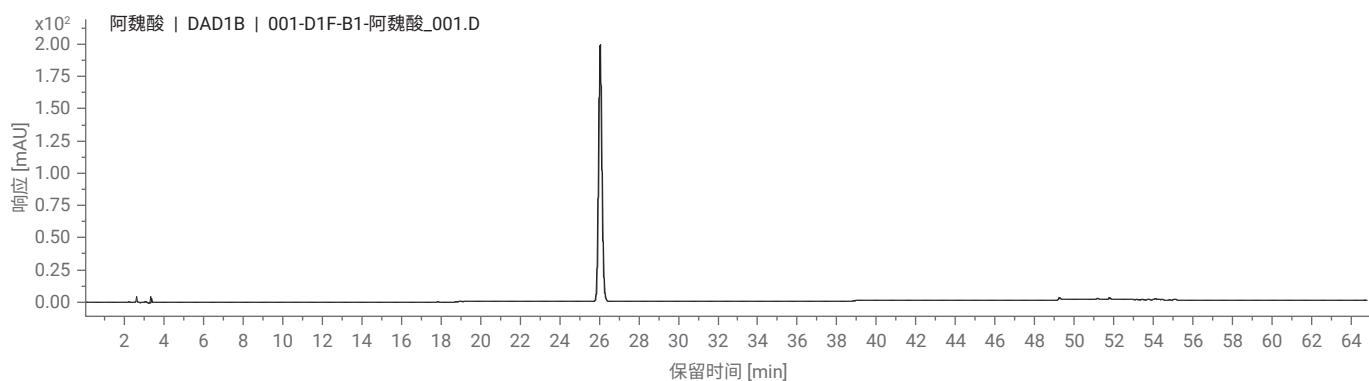
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.379	绿原酸	0.577	0.518~0.634			41459
2	2.595	隐绿原酸	0.629	0.563~0.689			52454
3	2.774	咖啡酸	0.672	0.610~0.746			57233
4	2.921		0.708	0.658~0.804			55550
5 (S)	4.125	阿魏酸					117413
6	4.785		1.160	1.021~1.247			70195
7	5.170	洋川芎内酯 I	1.253	1.130~1.382			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

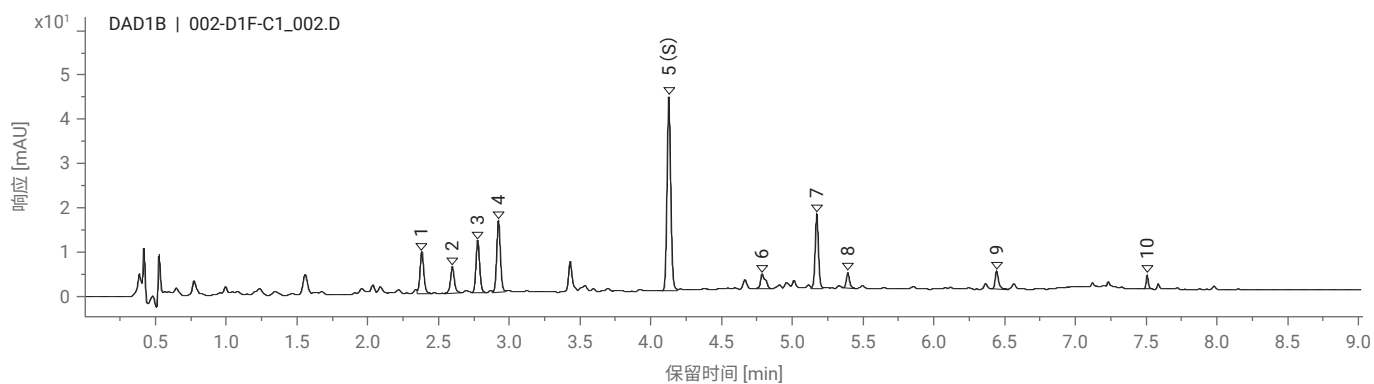
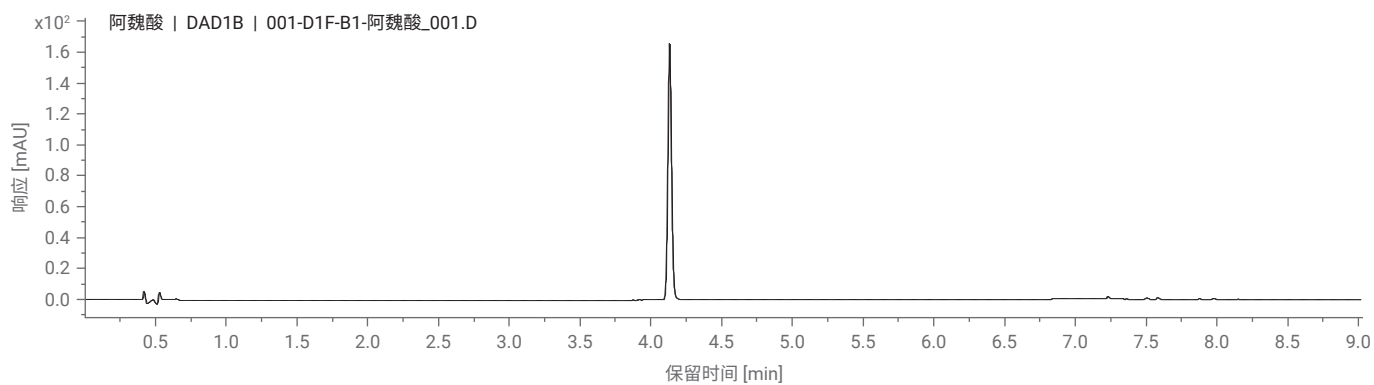
- 采用原始 HPLC 方法压力最高约 200 bar, 根据 2020 版药典(四部)通则 0512 高效液相色谱法中色谱参数允许调整范围表, 转化为 UHPLC 方法后压力最高约 600 bar
- 转换成 UHPLC 后分析时间由 65 min 缩短至 9 min, 既节省了时间又节省了溶剂消耗量

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

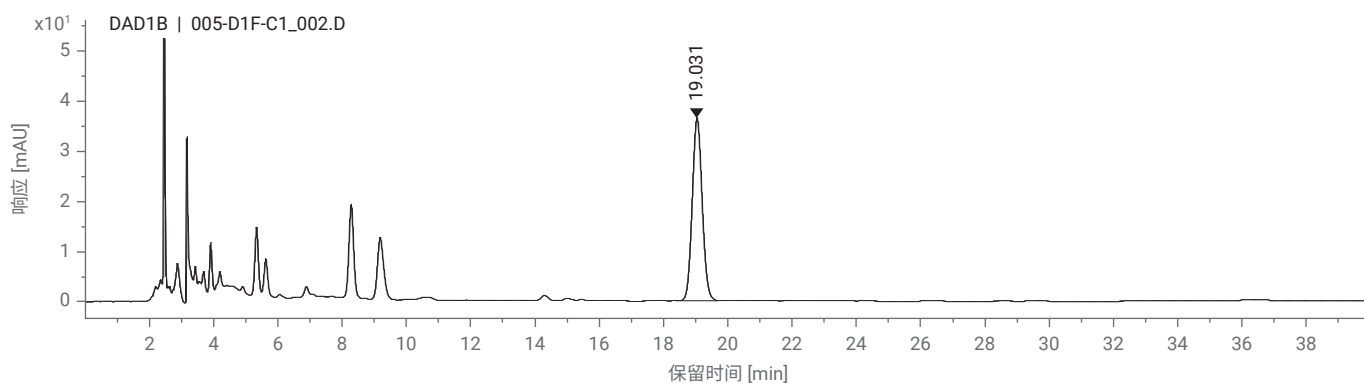
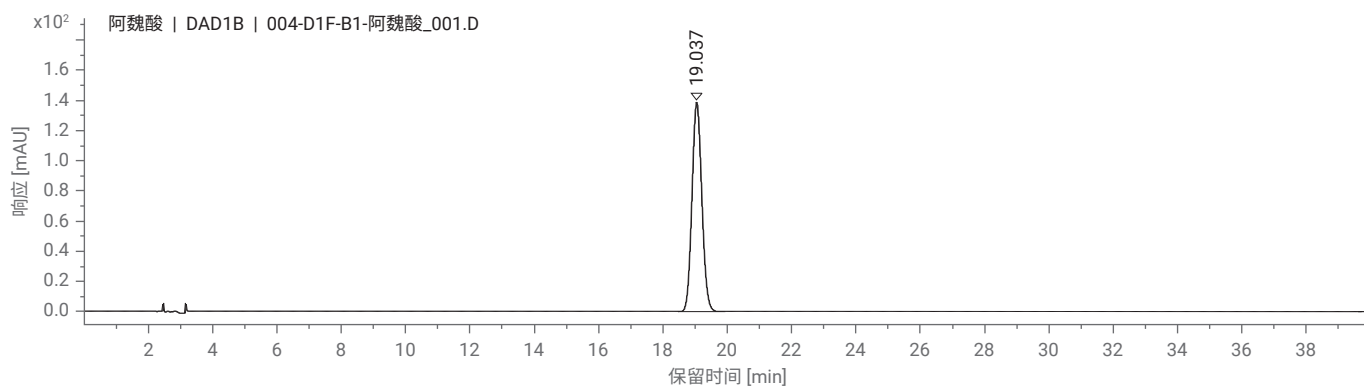
峰	化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (%)
1	阿魏酸	3.012	18831	1.051	0.132

小结及注意事项

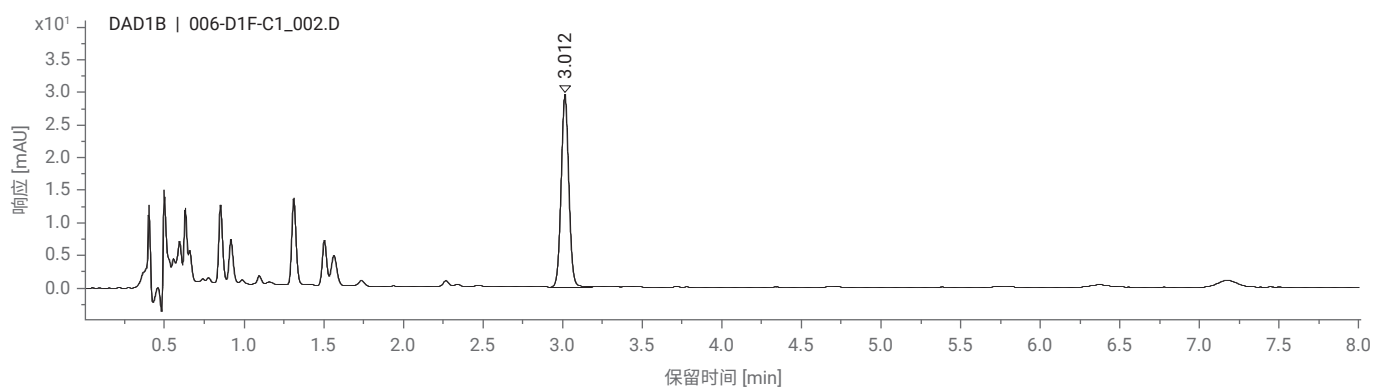
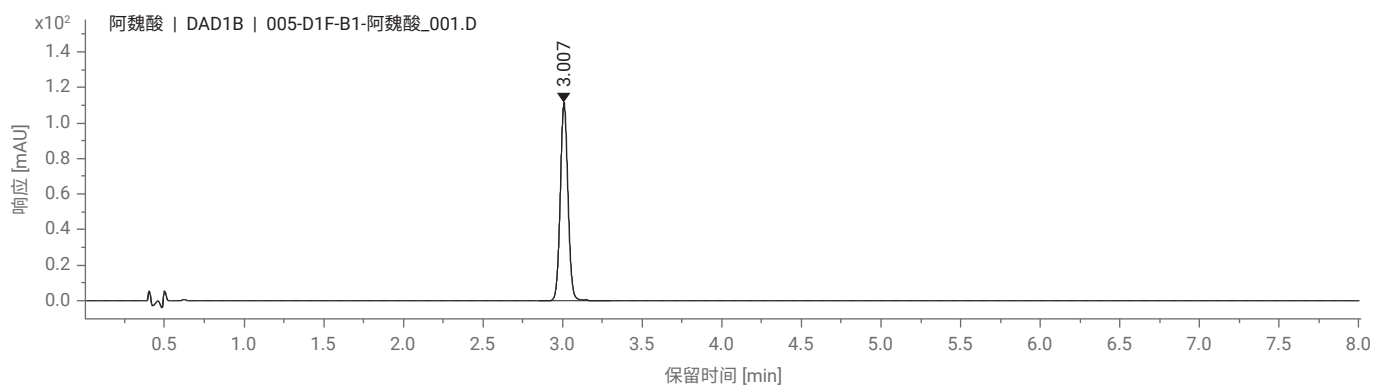
- 转换成 UHPLC 后, 分析时间由 40 分钟缩短至 8 分钟
- HPLC 和 UHPLC 含量测定结果一致

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	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0~20</td> <td>0→2</td> </tr> <tr> <td>20~40</td> <td>2→20</td> </tr> <tr> <td>40~80</td> <td>20→45</td> </tr> <tr> <td>80~100</td> <td>45→70</td> </tr> <tr> <td>后运行时间:</td> <td>10 min</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0~20	0→2	20~40	2→20	40~80	20→45	80~100	45→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>0~4.32</td> <td>0→2</td> </tr> <tr> <td>4.32~8.64</td> <td>2→20</td> </tr> <tr> <td>8.64~17.28</td> <td>20→45</td> </tr> <tr> <td>17.28~21.60</td> <td>45→70</td> </tr> <tr> <td>后运行时间:</td> <td>3 min</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0~4.32	0→2	4.32~8.64	2→20	8.64~17.28	20→45	17.28~21.60	45→70	后运行时间:	3 min
时间 (min)	B%																									
0~20	0→2																									
20~40	2→20																									
40~80	20→45																									
80~100	45→70																									
后运行时间:	10 min																									
时间 (min)	B%																									
0~4.32	0→2																									
4.32~8.64	2→20																									
8.64~17.28	20→45																									
17.28~21.60	45→70																									
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

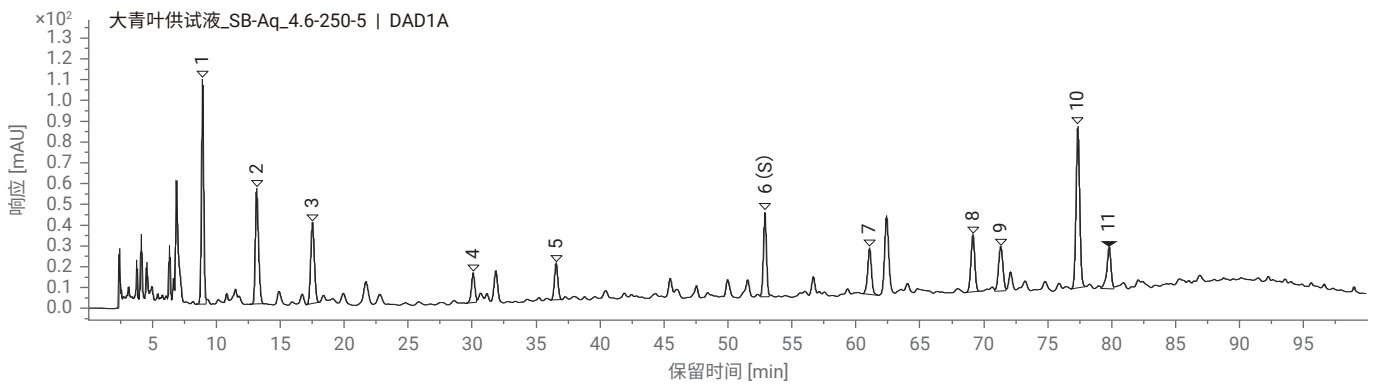
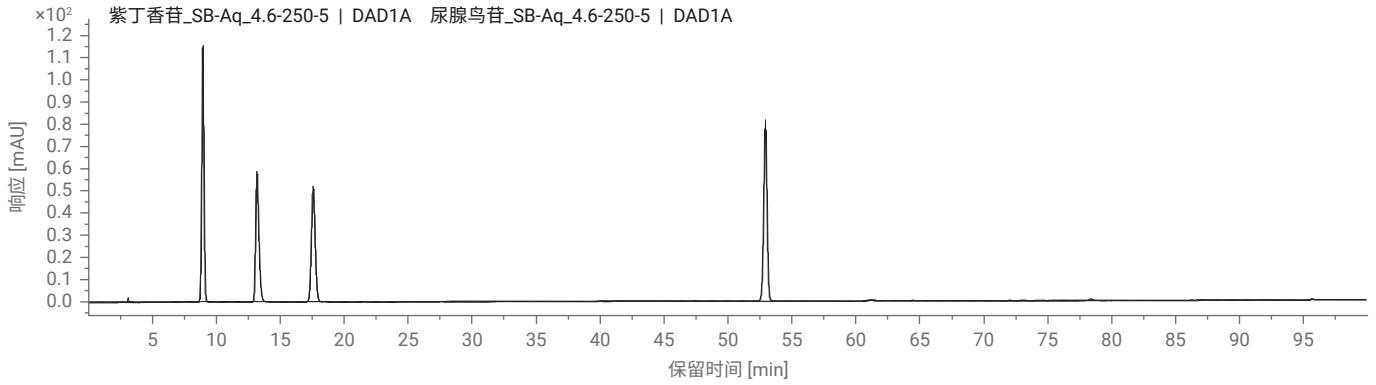
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	8.901	尿苷					14062
2	13.120	腺苷					13412
3	17.486	鸟苷					17256
4	30.046		0.568	0.510 - 0.624			66949
5	36.529		0.691	0.617 - 0.755			92094
6 (S)	52.852	紫丁香苷					244322
7	61.030		1.155	1.043 - 1.275			214726
8	69.106		1.308	1.177 - 1.439			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

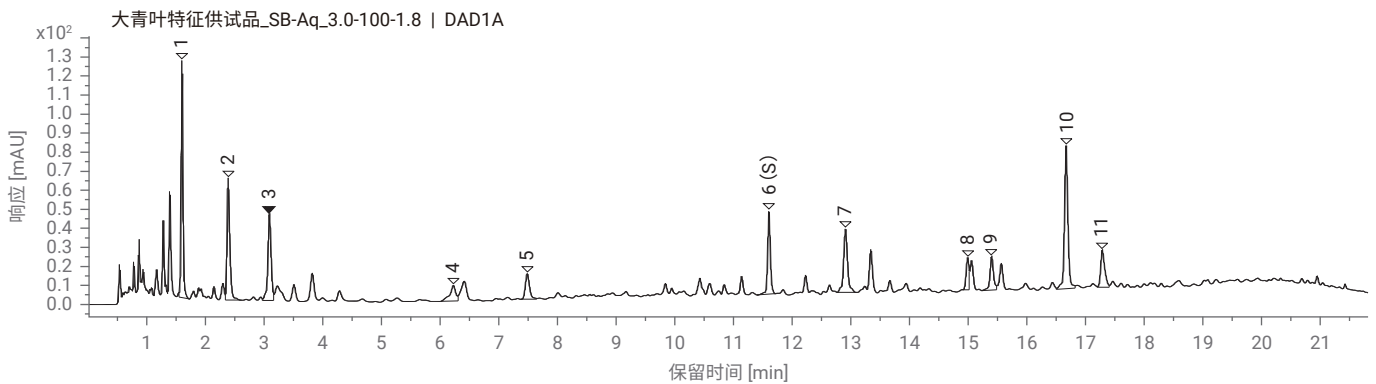
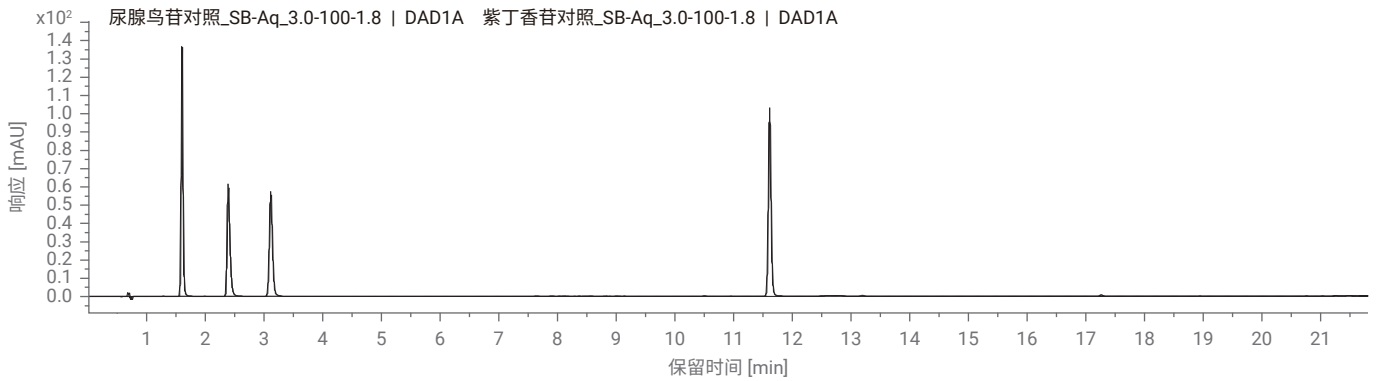
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	1.578	尿苷					15330
2	2.377	腺苷					13712
3	3.078	鸟苷					16923
4	6.193		0.536	0.510 - 0.624			27583
5	7.453		0.644	0.617 - 0.755			57849
6 (S)	11.576	紫丁香苷					345154
7	12.890		1.112	1.043 - 1.275			211007
8	14.953		1.292	1.177 - 1.439			311898
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

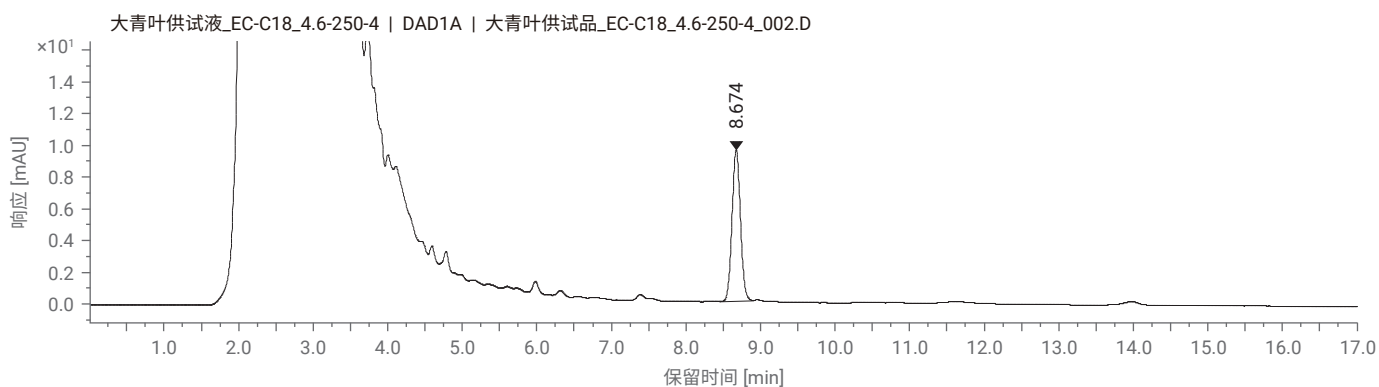
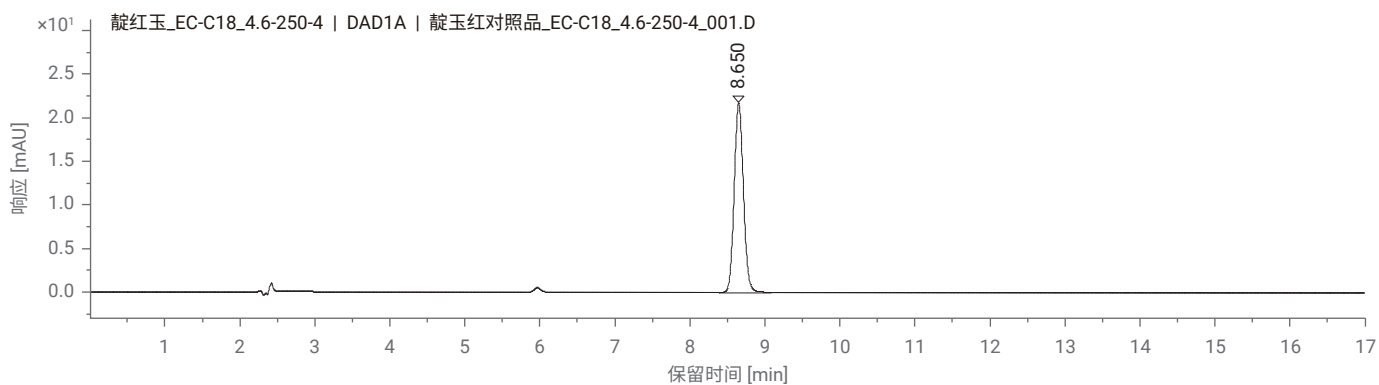
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (%)
靛玉红	1.907	8058	1.26	21.0

小结及注意事项

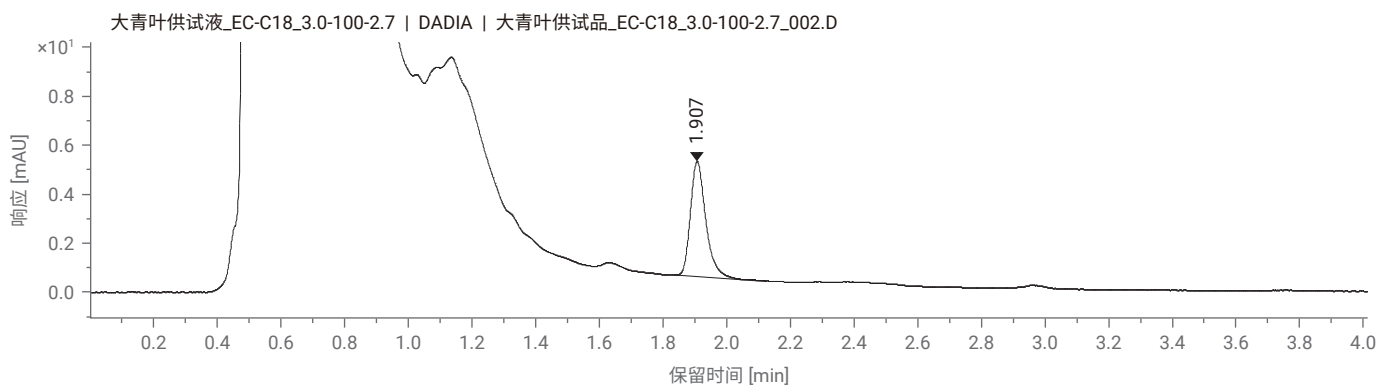
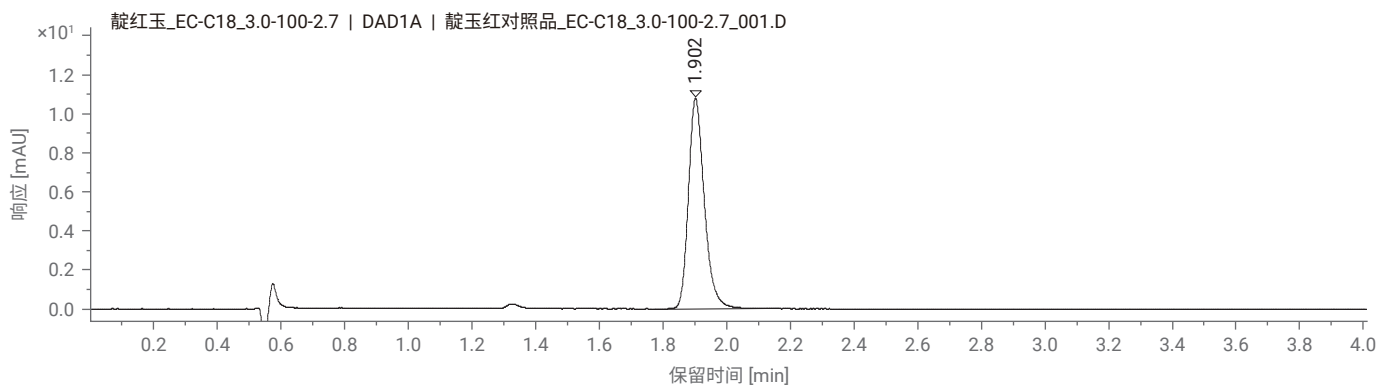
- 含量测定使用特征图相同的色谱柱时存在基线干扰, 使用表面多孔填料的 Poroshell 120 EC-C18 柱可显著改善基线干扰情况, 以获得更准确的结果

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

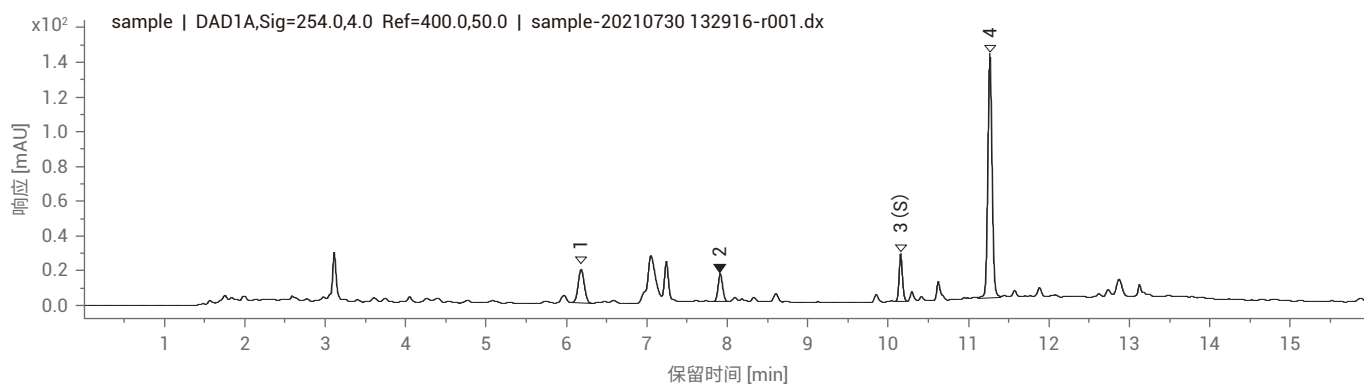
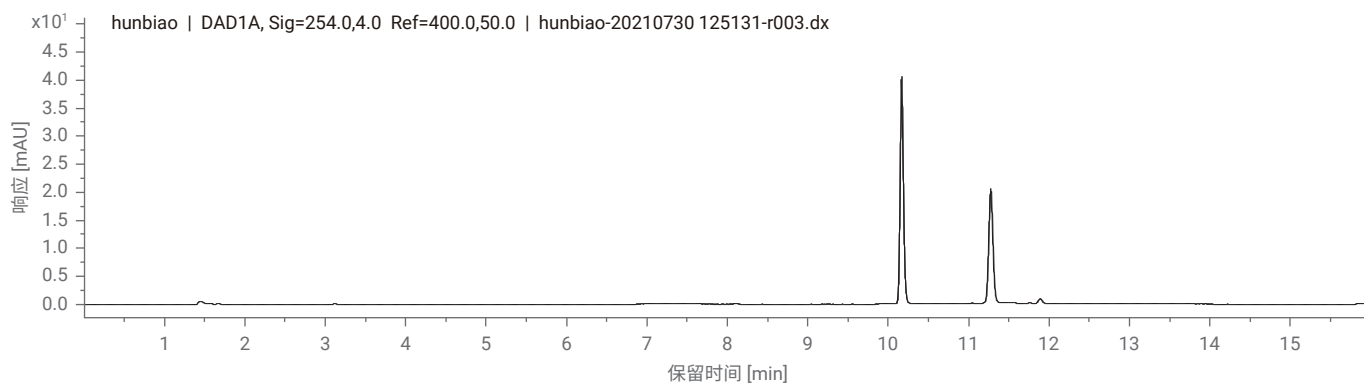
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	6.177						30788
2	7.907						97552
3 (S)	10.151	环磷腺苷					304320
4	11.260	5-羟甲基糠醛					226147

小结及注意事项

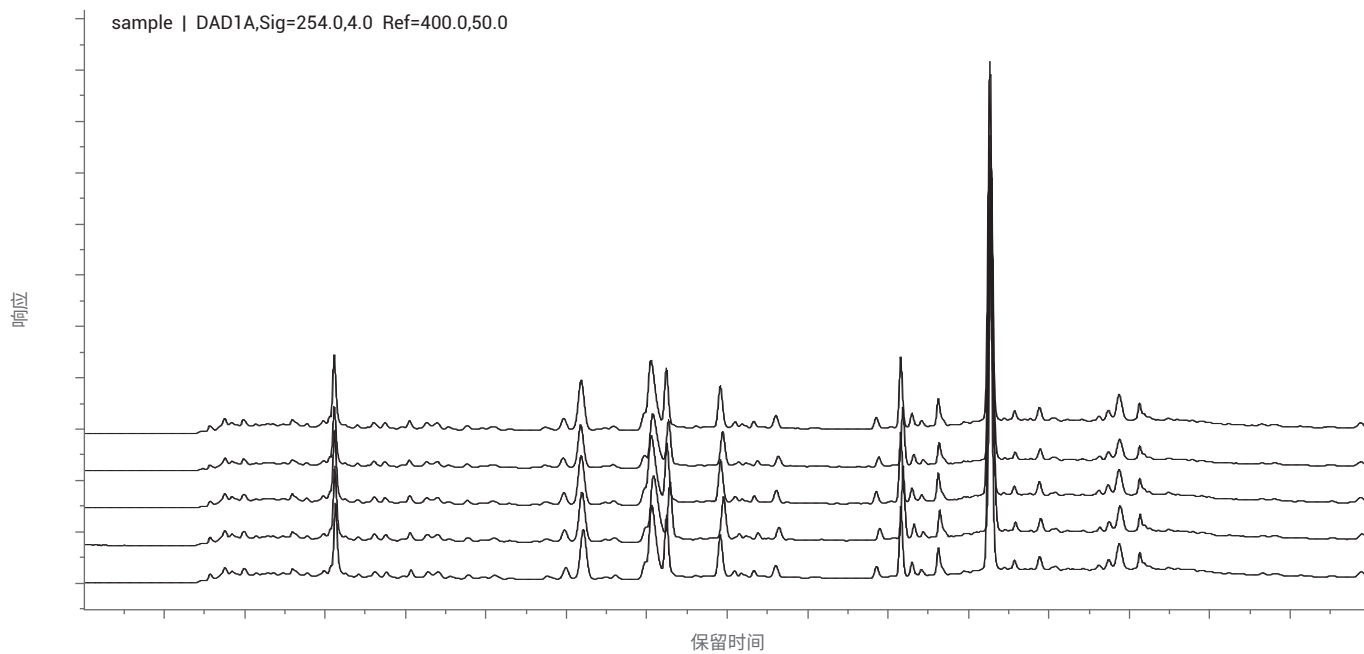
- 方法需设定 8 分钟后运行时间
- 国标方法有机相洗脱强度不够, 样品分析结束需尽快冲洗

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

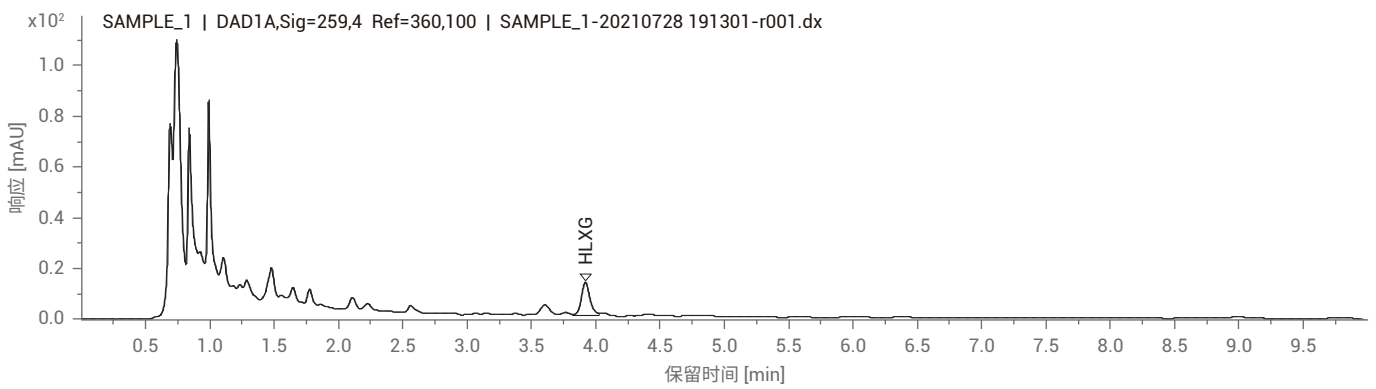
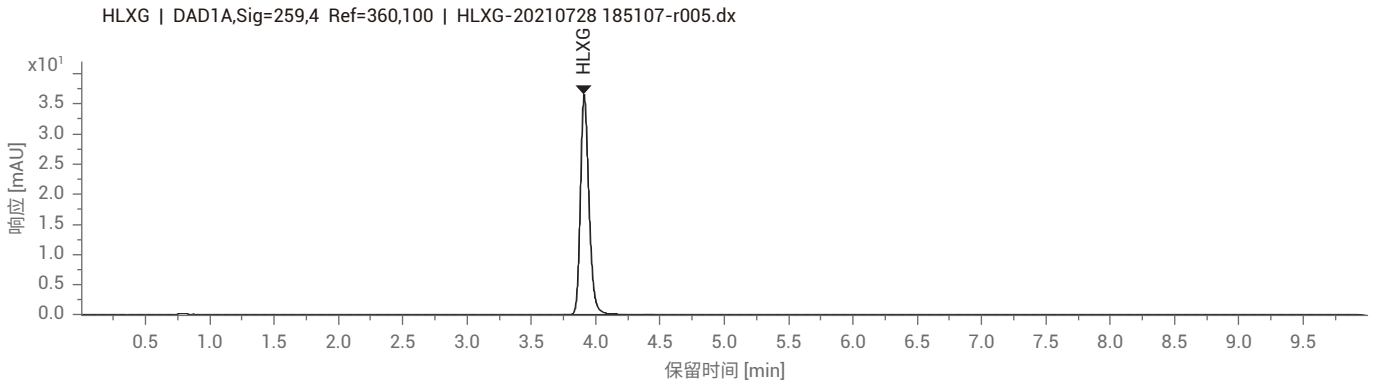
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
环磷腺苷	3.906	17643	1.25	0.24

小结及注意事项

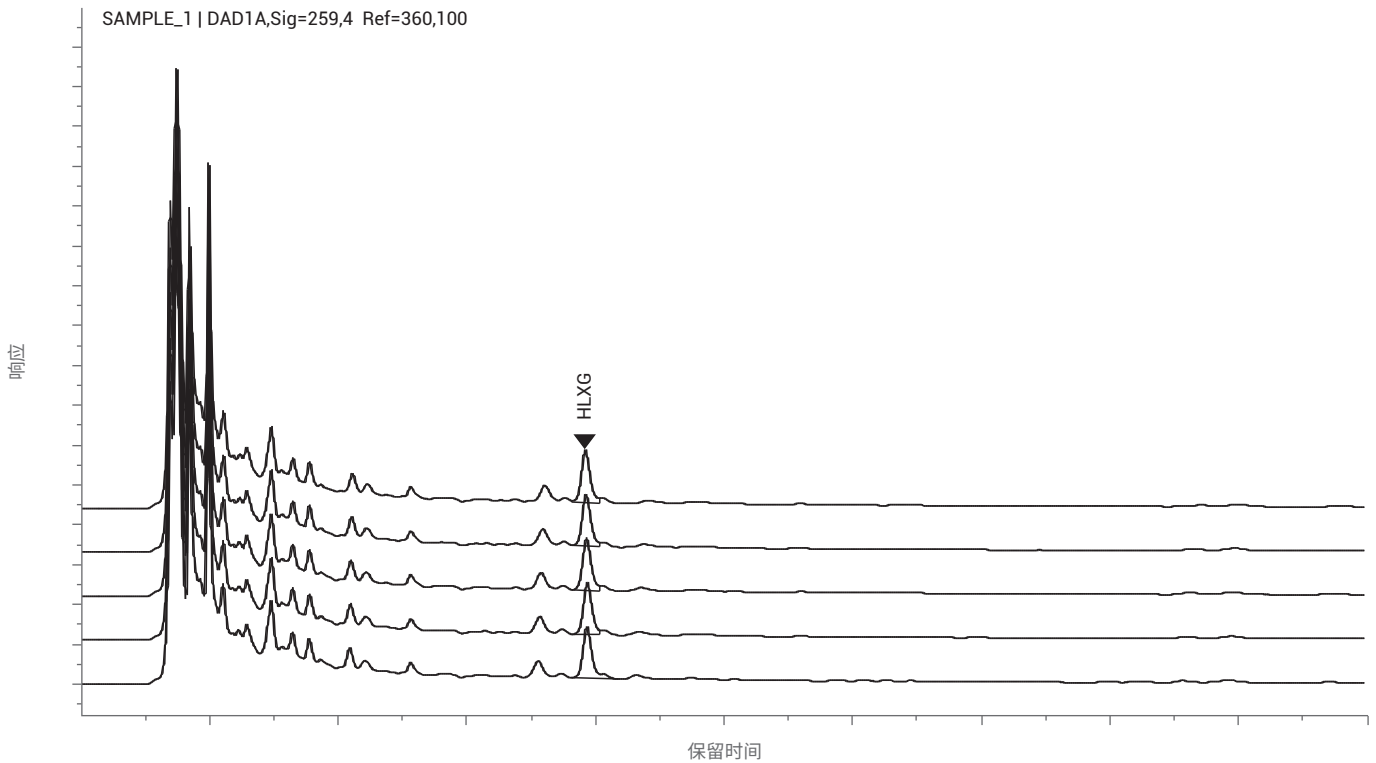
- 采用 Zorbax Eclipse Plus C18 (2.1 × 100 mm, 1.8 μm) 可满足含量测定系统适用性要求, 理论板数按环磷腺苷峰计算可达 17643
- 建议方法结束时间延长至环磷腺苷出峰时间的 2 倍以尽可能将供试品中的组分洗脱干净

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

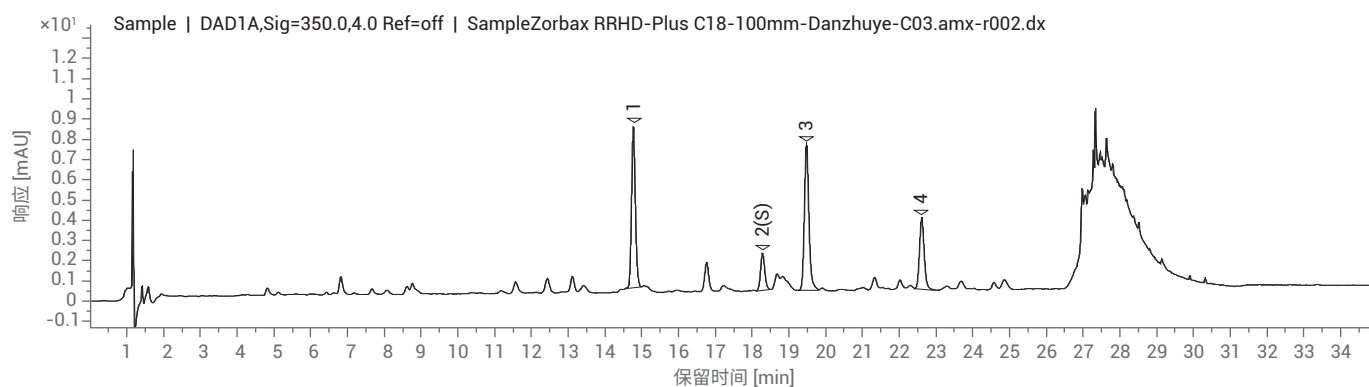
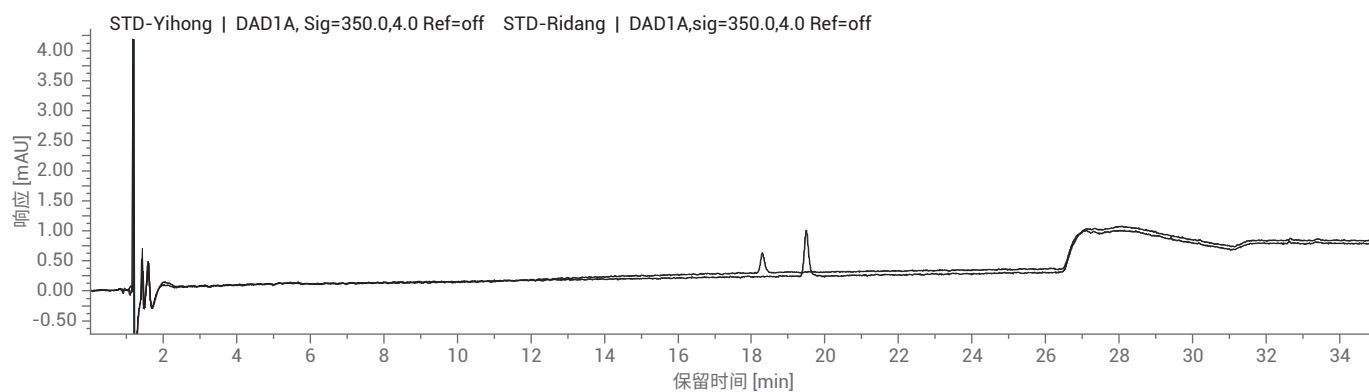
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	7.471		0.81	0.71-0.87			67018
2 (S)	9.25	异荭草苷					94893
3	9.894	日当药黄素	1.07	0.99-1.21			102712
4	11.459		1.24	1.14-1.40			115373

小结及注意事项

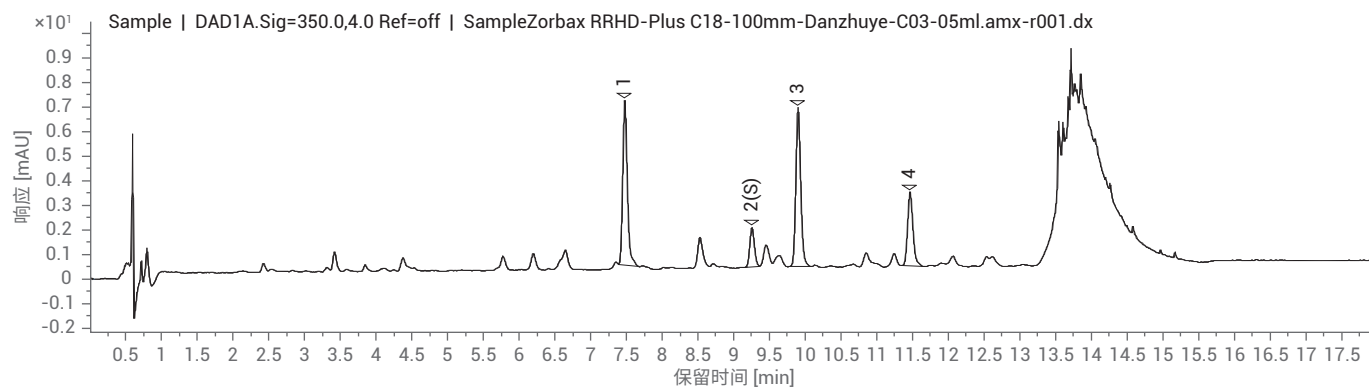
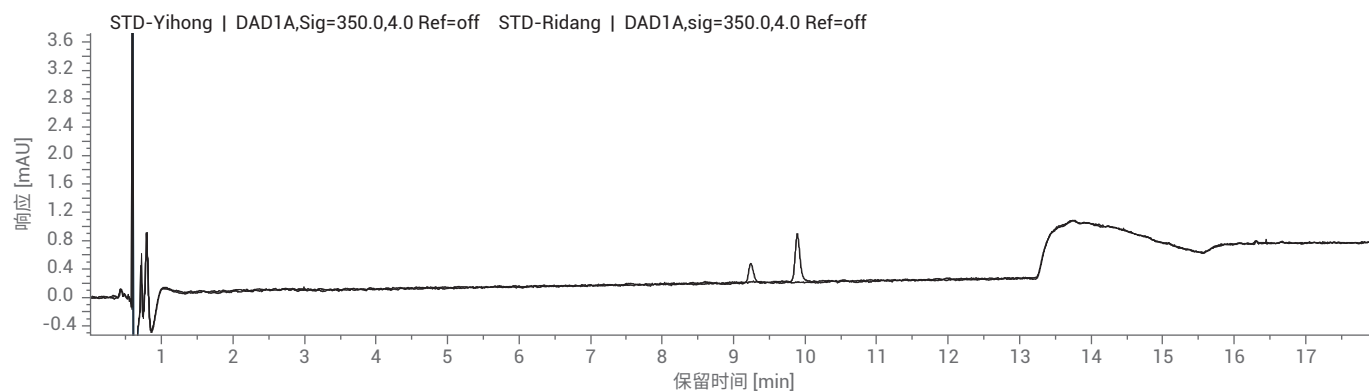
- 原始方法压力最高 240 bar, 加速方法压力最高 455 bar
- 加速后分析时间缩短 15 分钟 (50% 时间节省)

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

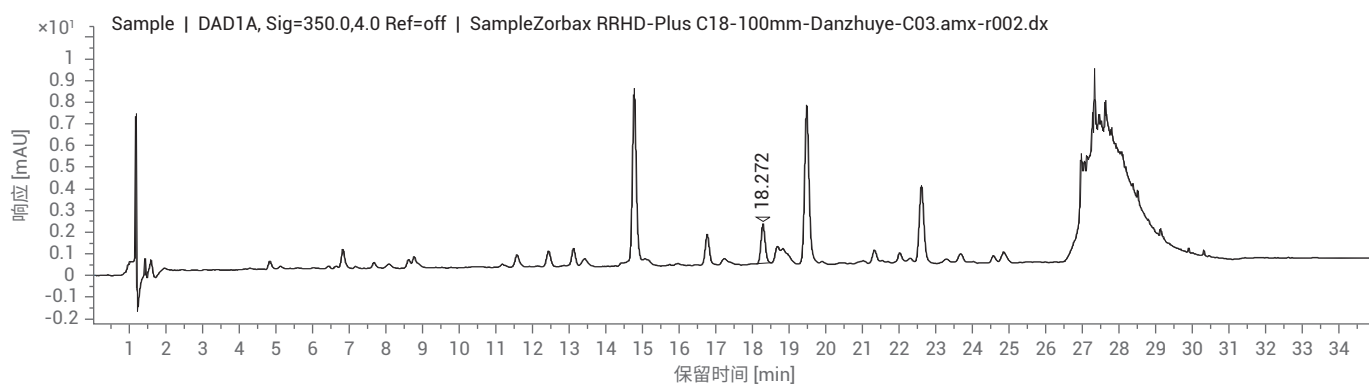
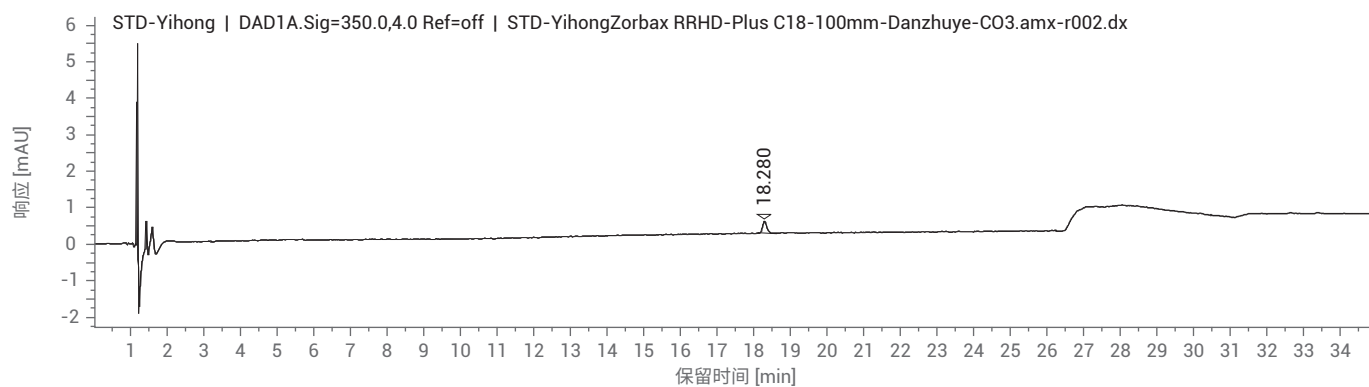
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
异荭草苷	9.25	94893	1.18	0.48

小结及注意事项

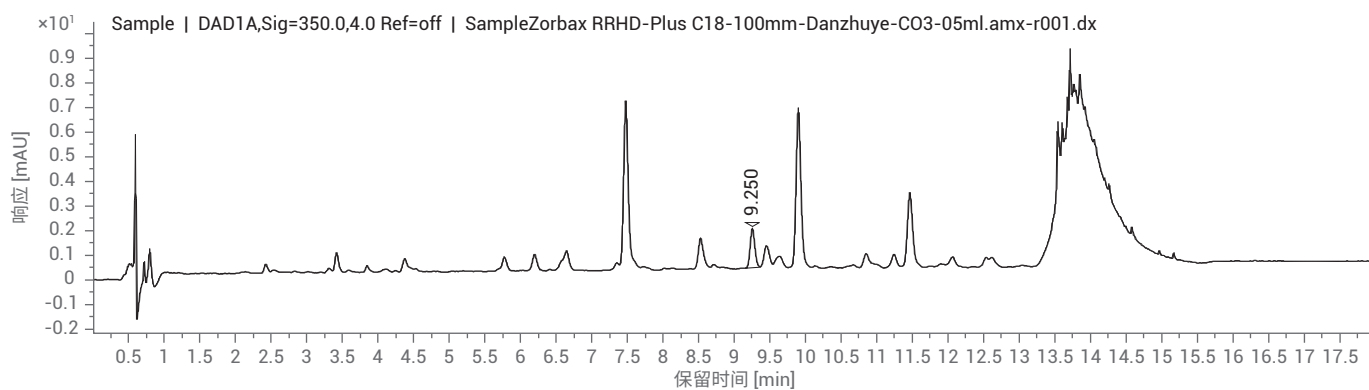
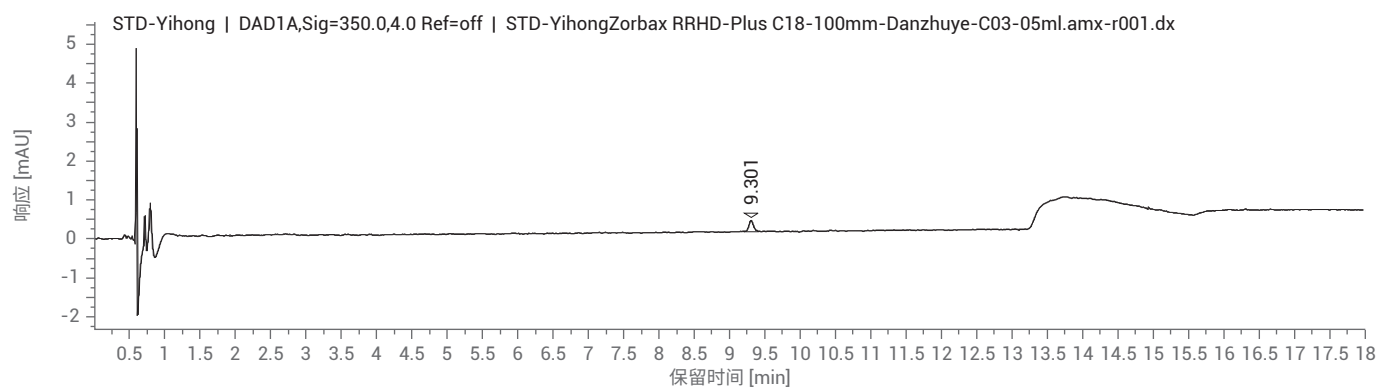
- 国标方法中没有列出回梯度的时间, 需要增加后运行的时间, 或在梯度表中设置

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	尿苷	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

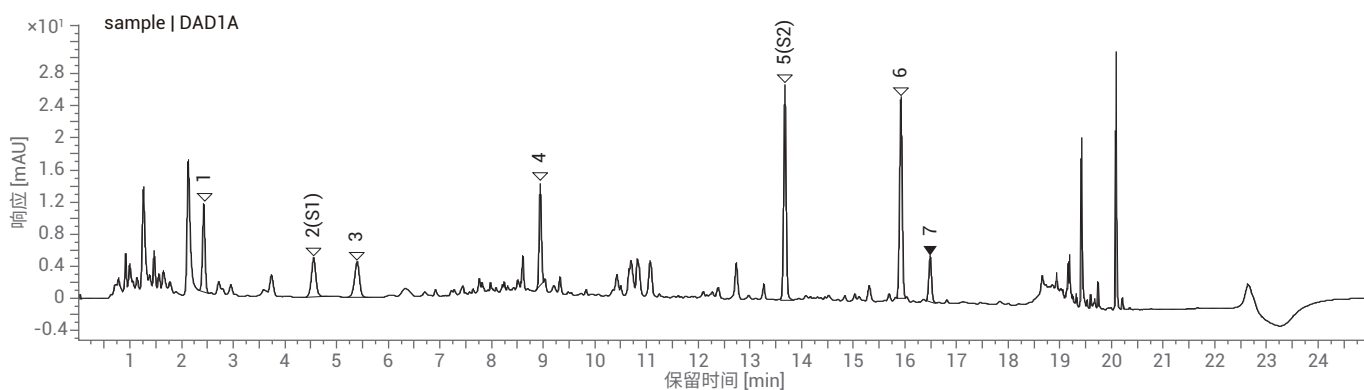
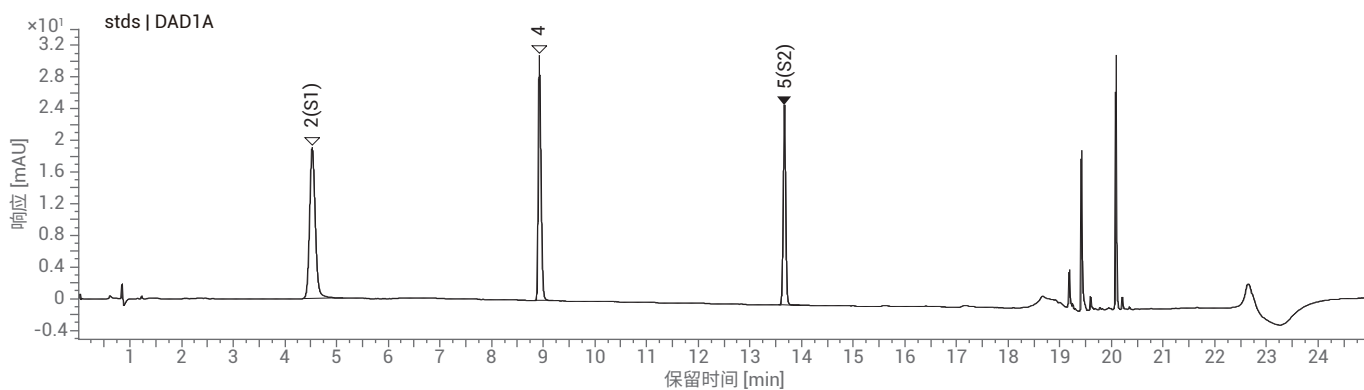
峰	化合物	保留时间 (min)	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	尿苷	1.239	0.54	0.504-0.616			11766
2 (S1)	腺苷	2.294					13883
3	尿苷	2.692	1.173	1.08-1.32			16606
4	色氨酸	4.488					194377
5 (S2)	阿魏酸	6.877					474648
6	洋川芎内酯 I	8.043	1.17	1.044-1.276			522750
7	洋川芎内酯 H	8.333	1.212	1.089-1.331			524417

小结及注意事项

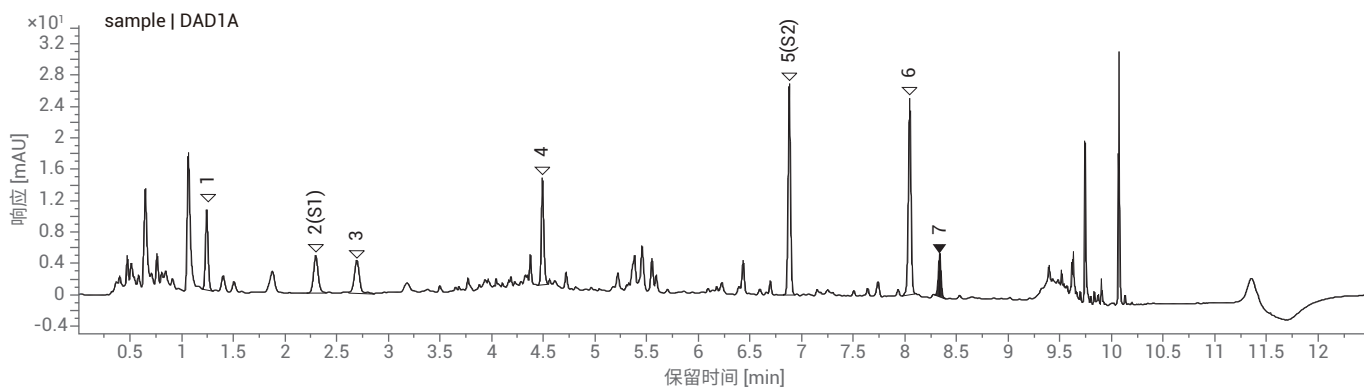
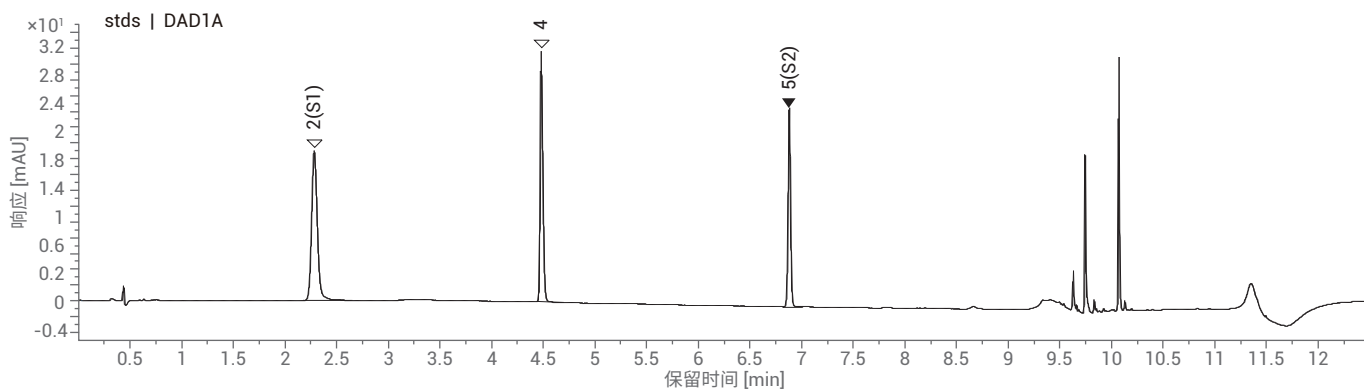
- 原始方法压力最高 332 bar, 加速方法压力最高 628 bar; 加速后分析时间缩短 12.5 分钟 (50%)
- 标品中腺苷峰溶剂效应严重, 采用 30% 甲醇作为对照品溶剂来代替原来 70% 甲醇溶剂, 结果能消除腺苷峰的溶剂效应

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

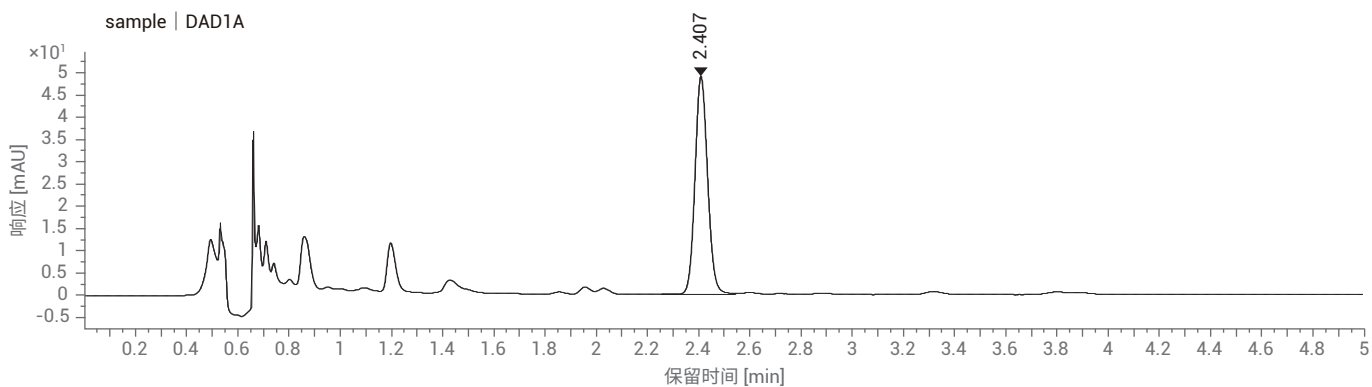
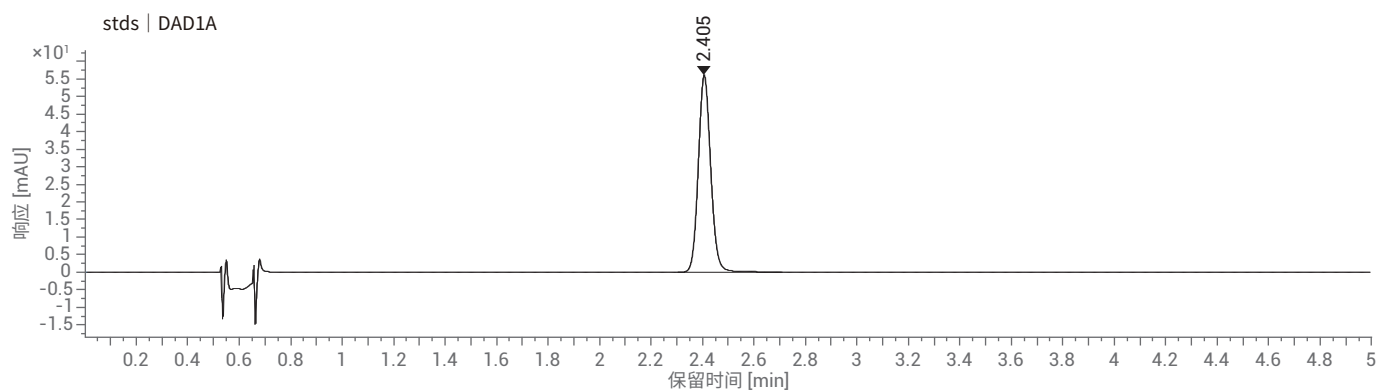
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
阿魏酸	1.224	10419	1.1	0.66

小结及注意事项

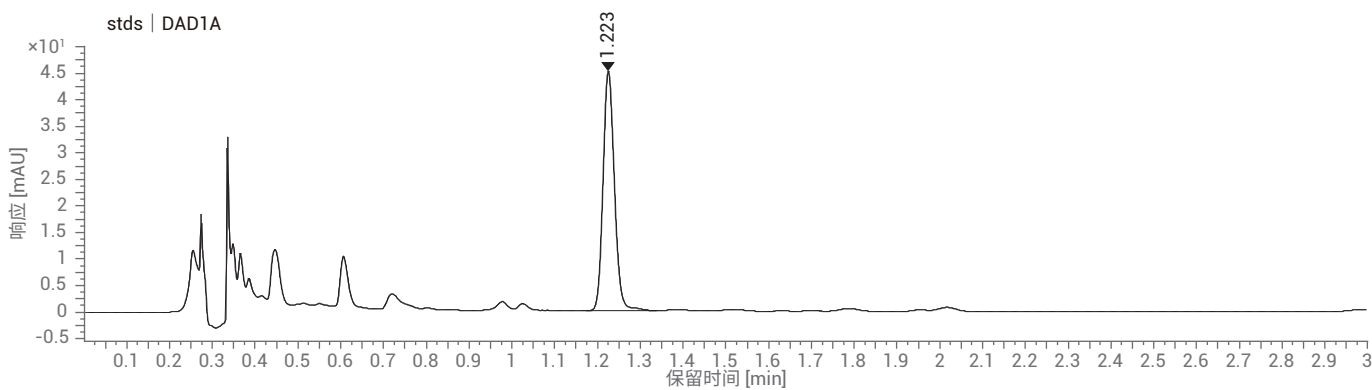
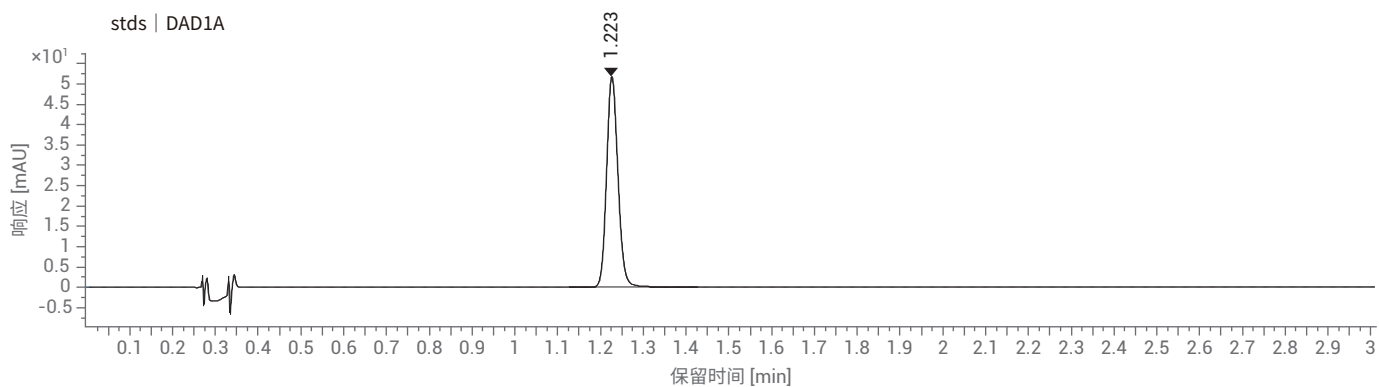
- 原始方法压力最高 437 bar, 加速方法压力最高 808 bar
- 加速后分析时间缩短 2.5 分钟 (50%)

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

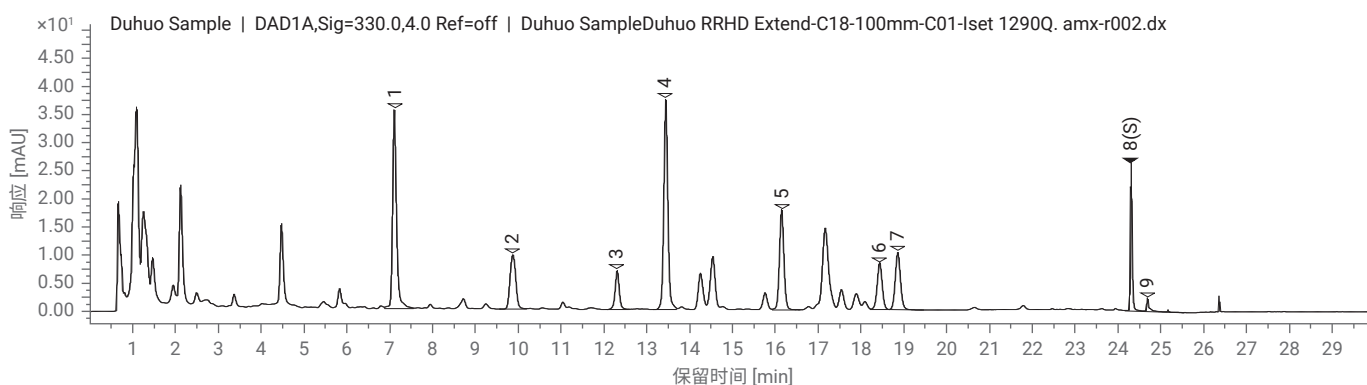
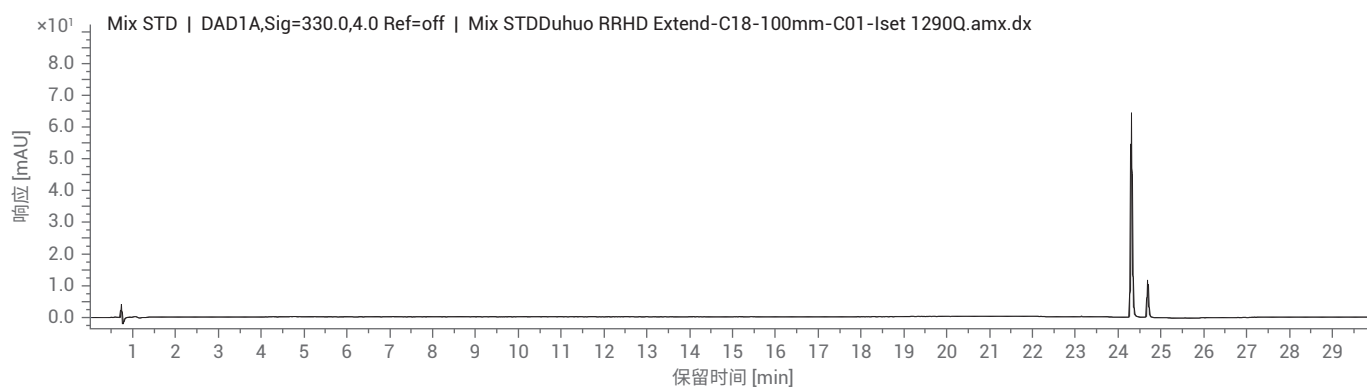
峰	化合物	保留时间 (min)	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1		7.096					34048
2		9.864	0.41	0.34-0.42			26885
3		12.299	0.51	0.43-0.53			89178
4		13.434	0.55	0.48-0.58			104282
5		16.138	0.66	0.57-0.69			120844
6		18.427	0.76	0.65-0.79			123221
7		18.849	0.78	0.67-0.81			117369
8 (S)	蛇床子素	24.298					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

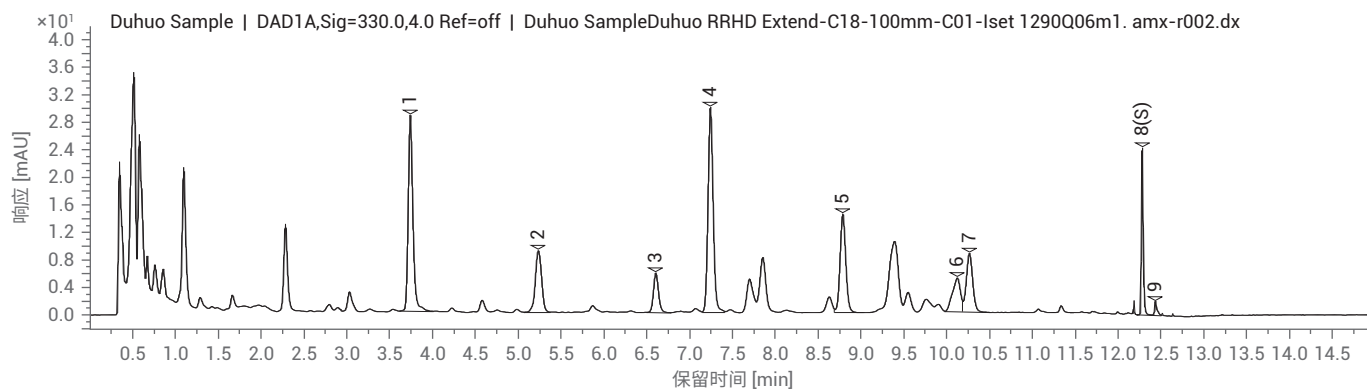
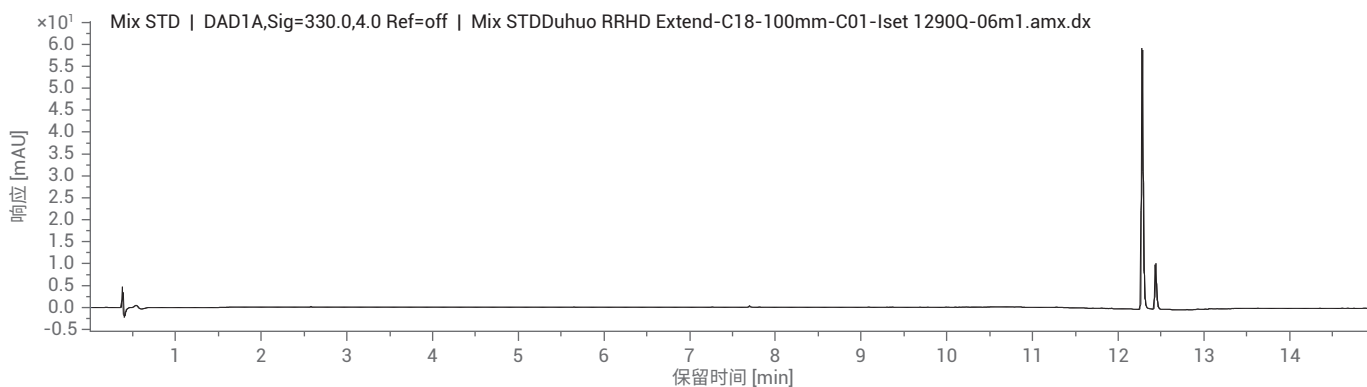
峰	化合物	保留时间 (min)	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1		3.736					24629
2		5.23	0.43	0.34-0.42			26030
3		6.601	0.54	0.43-0.53			63323
4		7.239	0.59	0.48-0.58			72316
5		8.783	0.72	0.57-0.69			85898
6		10.119	0.82	0.65-0.79			46960
7		10.26	0.84	0.67-0.81			92567
8 (S)	蛇床子素	12.277					1911441
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	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>49</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>49</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0	49	40	49	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>49</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>49</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0	49	10	49
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

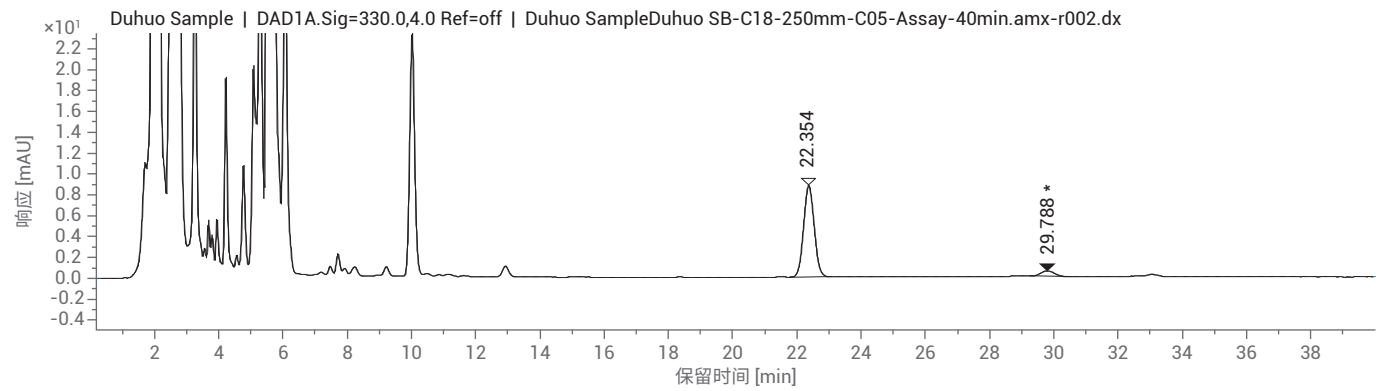
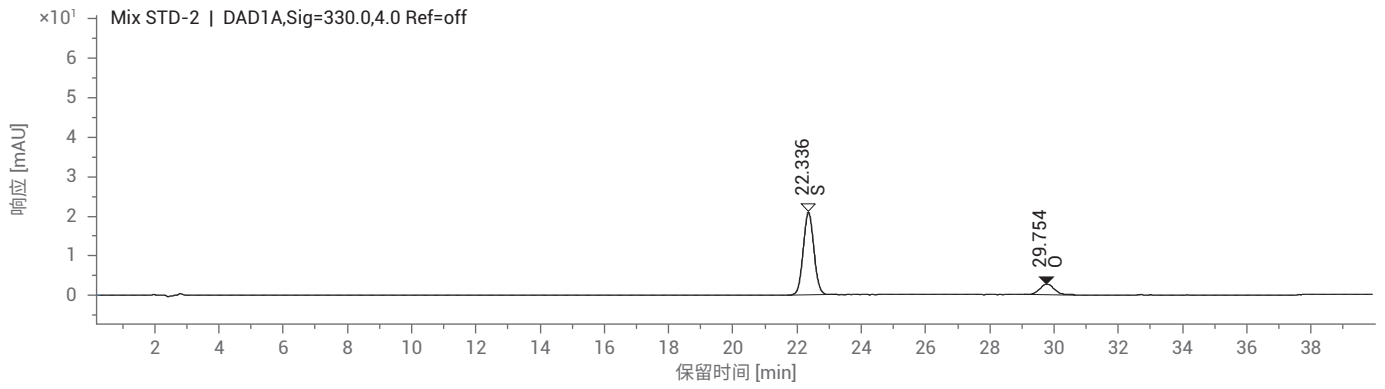
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
蛇床子素	6.399	18430	1.22	0.938
二氢欧山芹醇当归酸酯	8.691	20420	1.04	0.037

小结及注意事项

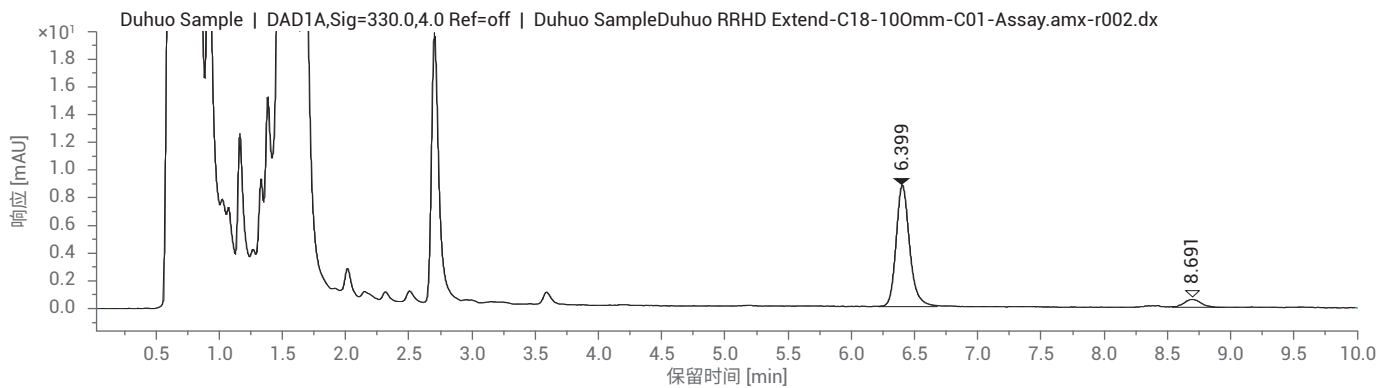
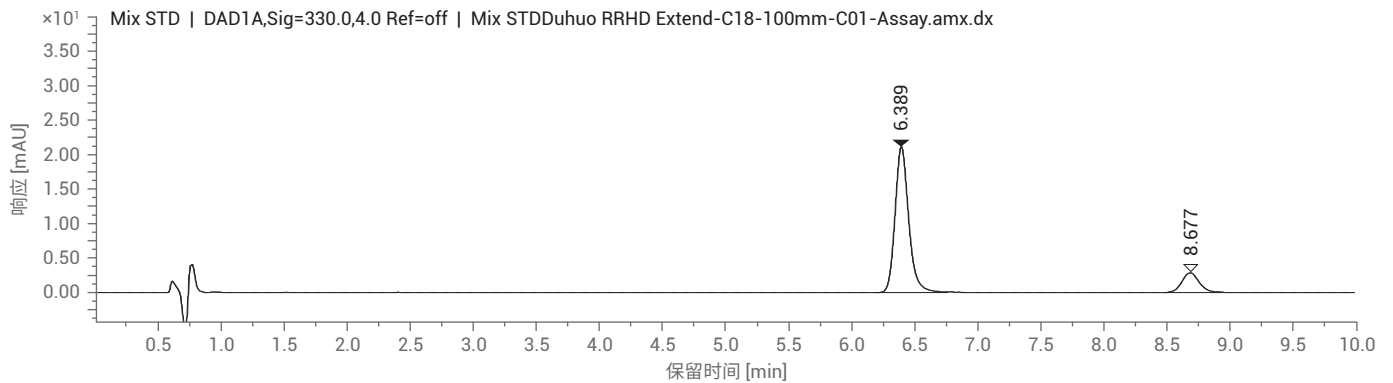
- 按标准方法选择 ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm 色谱柱可以满足含量测定要求
- 使用特征图谱中 UHPLC 色谱柱 (ZORBAX RRHD Extend-C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm) 测试结果与 HPLC 方法测试结果一致, 时间从 40 min 缩短到 10 min

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

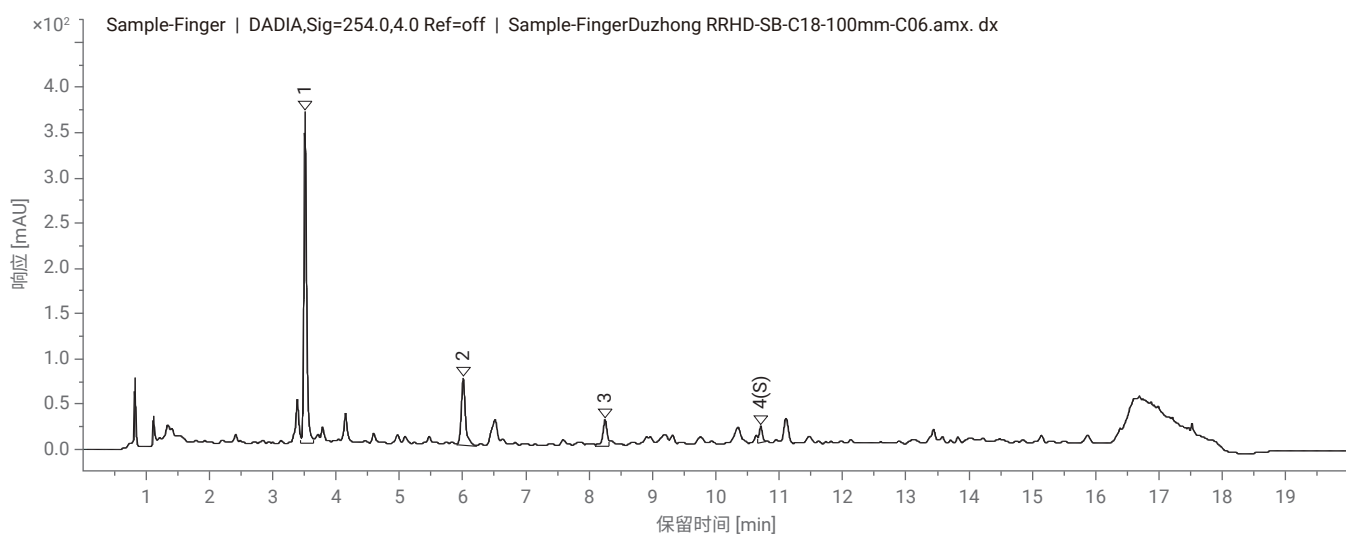
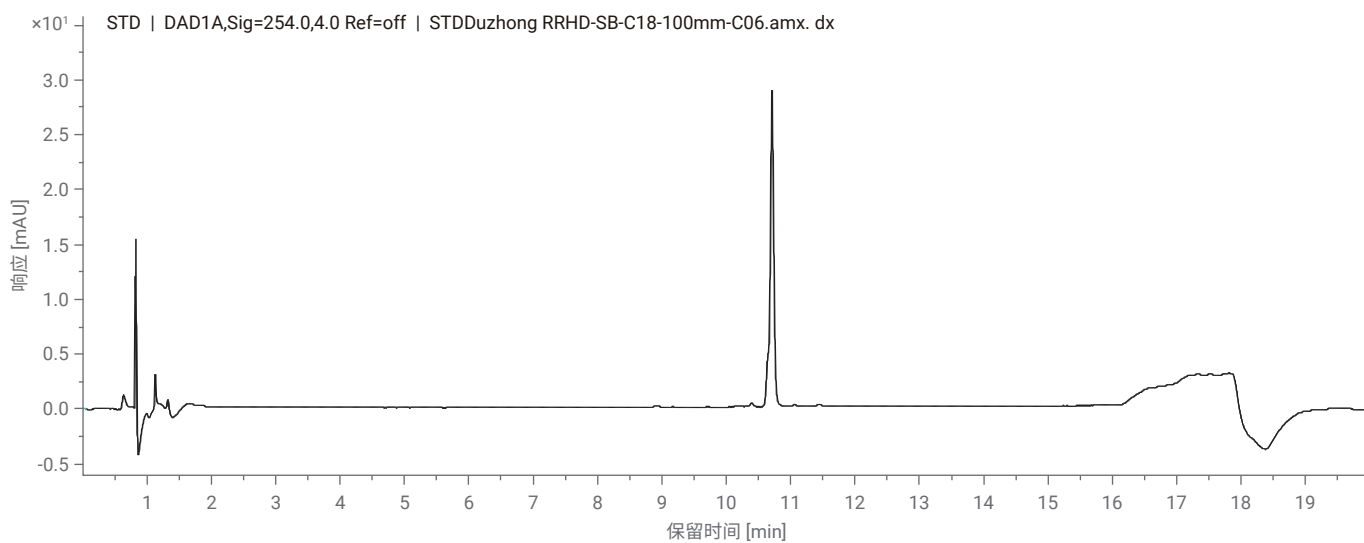
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	3.506	京尼平苷酸			11.1	2.1-26	39065
2	6.003	绿原酸	0.56	0.44-0.54	3.4	1.8-8.0	50812
3	8.243		0.77	0.62-0.76			89605
4 (S)	10.702	松脂醇二葡萄糖苷					215914

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

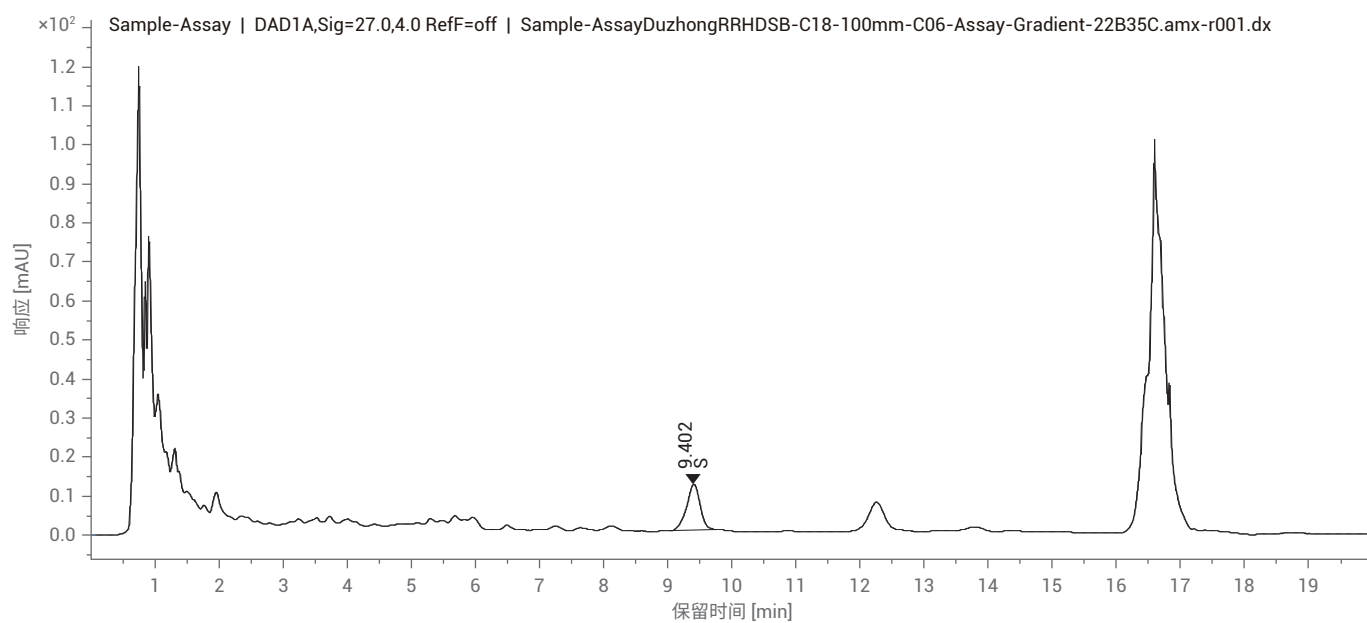
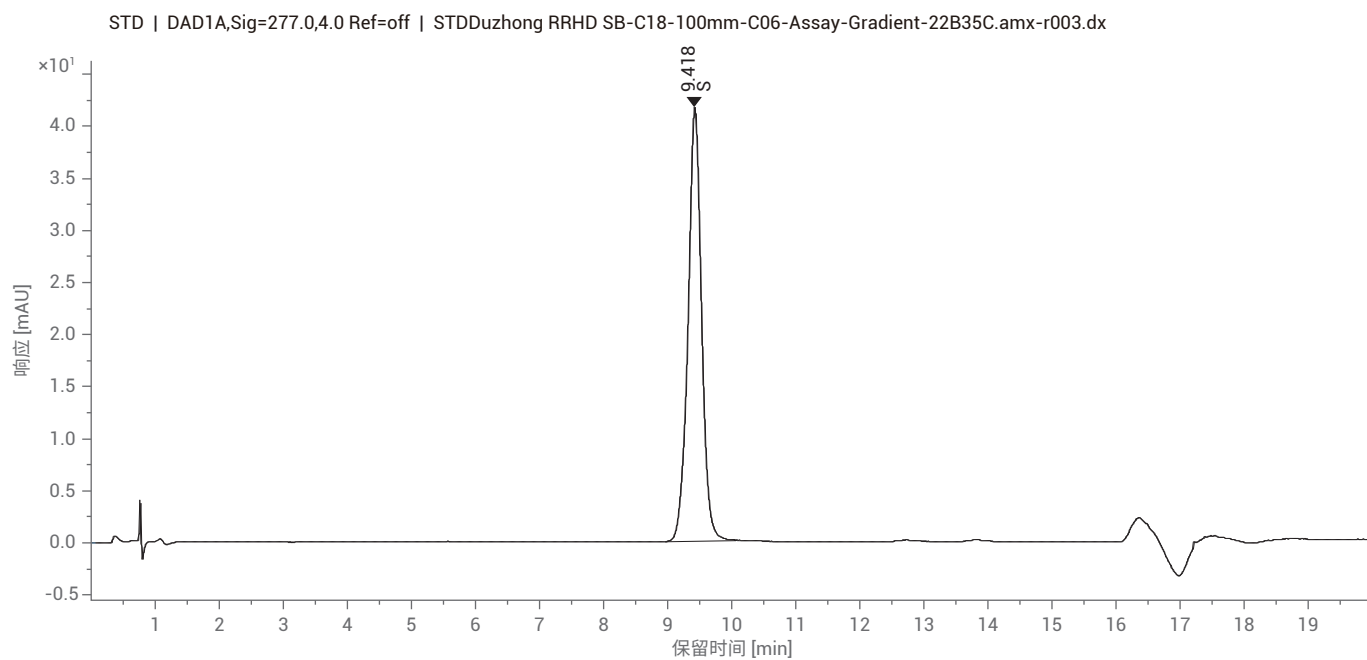
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
松脂醇二葡萄糖苷	9.402	10224	0.95	5.3

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

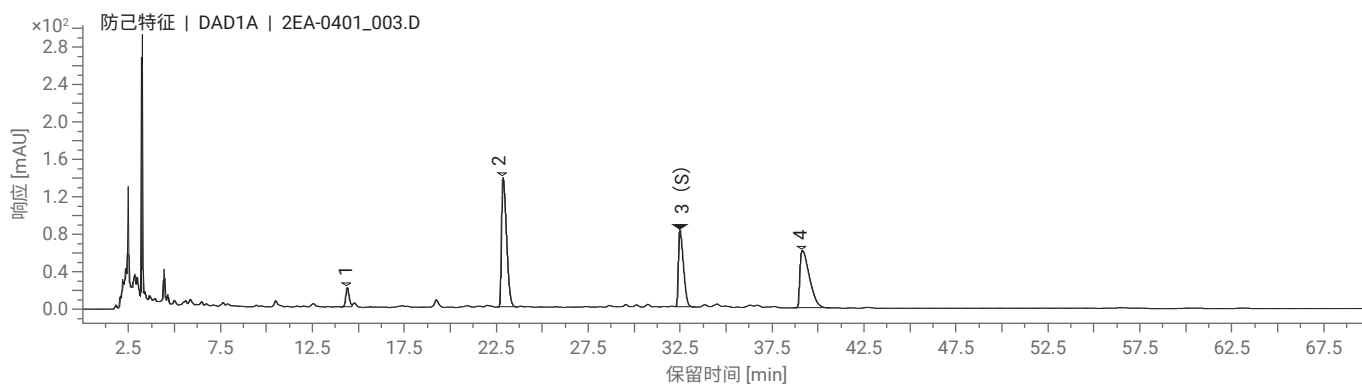
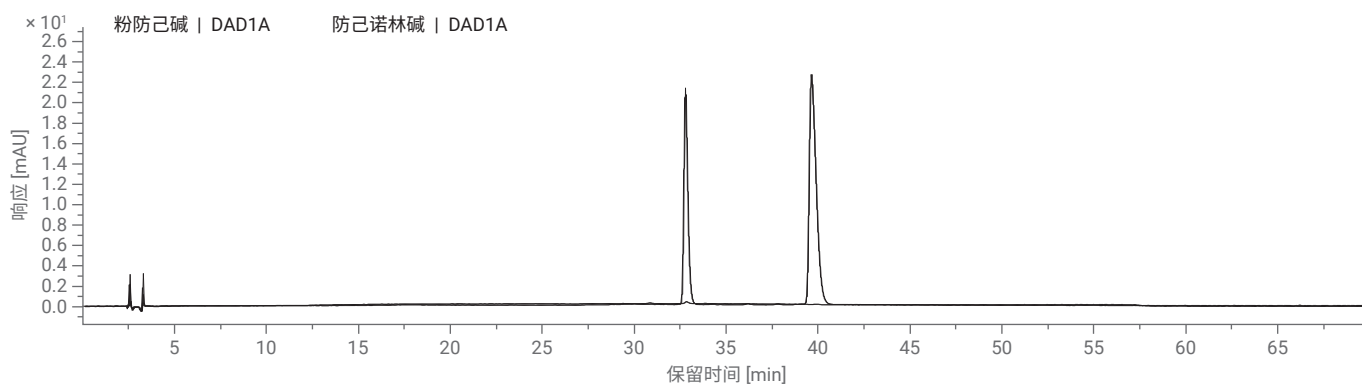
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.652		0.461	0.389 ~ 0.475			35968
2	4.094		0.712	0.626 ~ 0.765			49858
3 (S)	5.752	防己诺林碱					82667
4	6.991	粉防己碱					29888

小结及注意事项

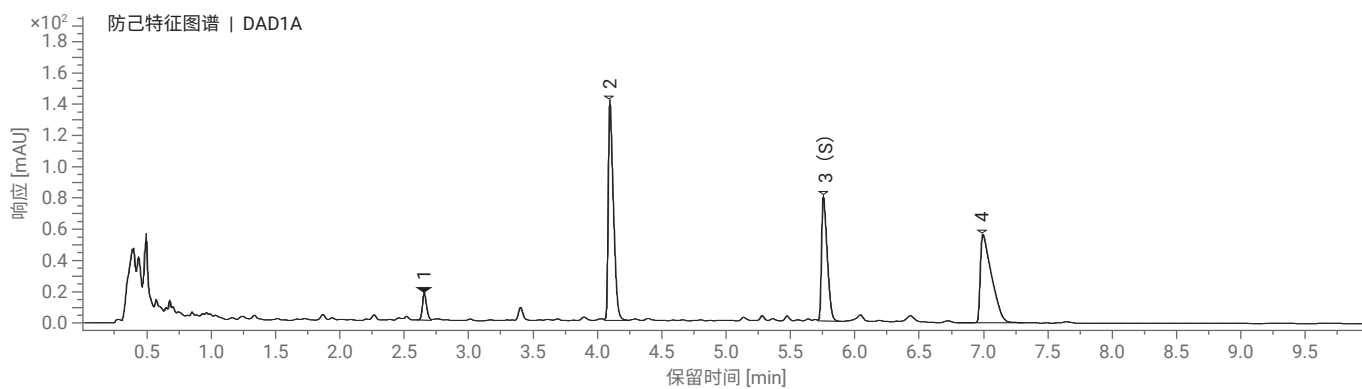
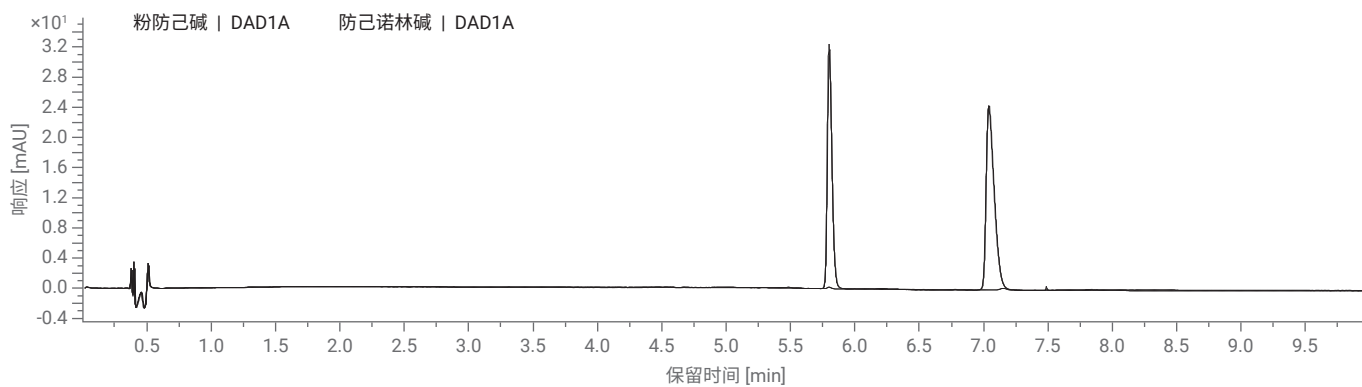
- 国标方法无后平衡时间, 建议 HPLC 后平衡 15 min, UHPLC 方法后平衡 3 min
- HPLC 方法转换成 UHPLC 方法, 分析时间由 70 分钟缩短至 10 分钟
- 转换后的 UHPLC 仍然能够满足标准特征图谱系统适用性及 RRT 要求

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

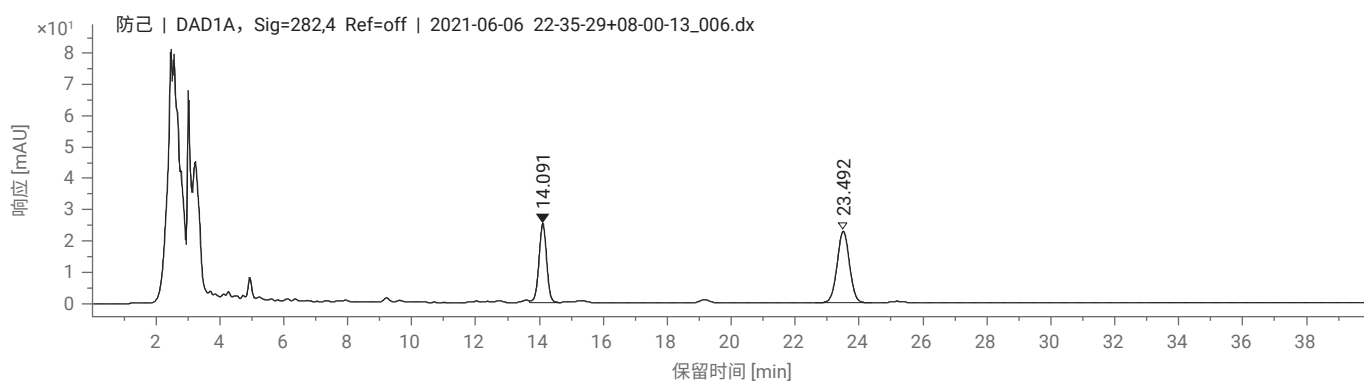
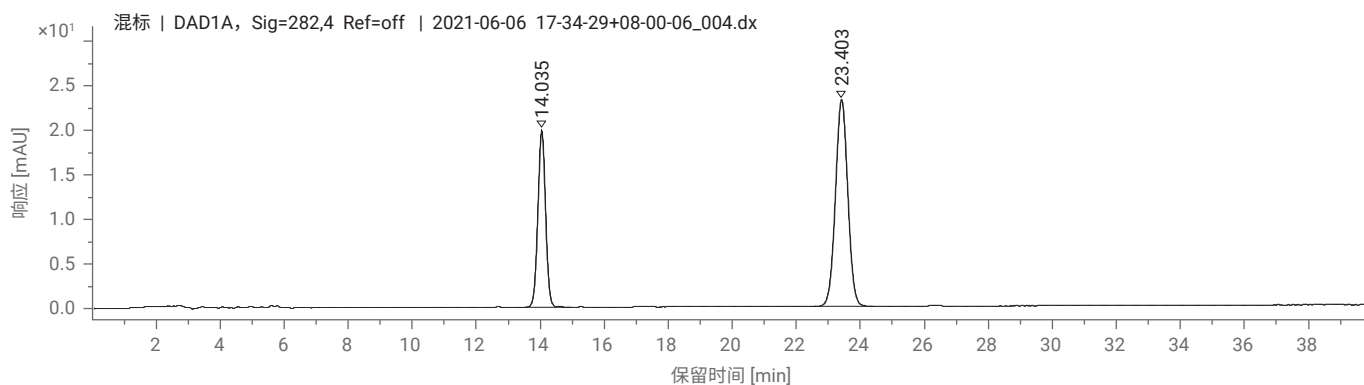
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (%)
防己诺林碱	2.031	11285	0.89	1.409
粉防己碱	3.553	14223	0.93	2.213

小结及注意事项

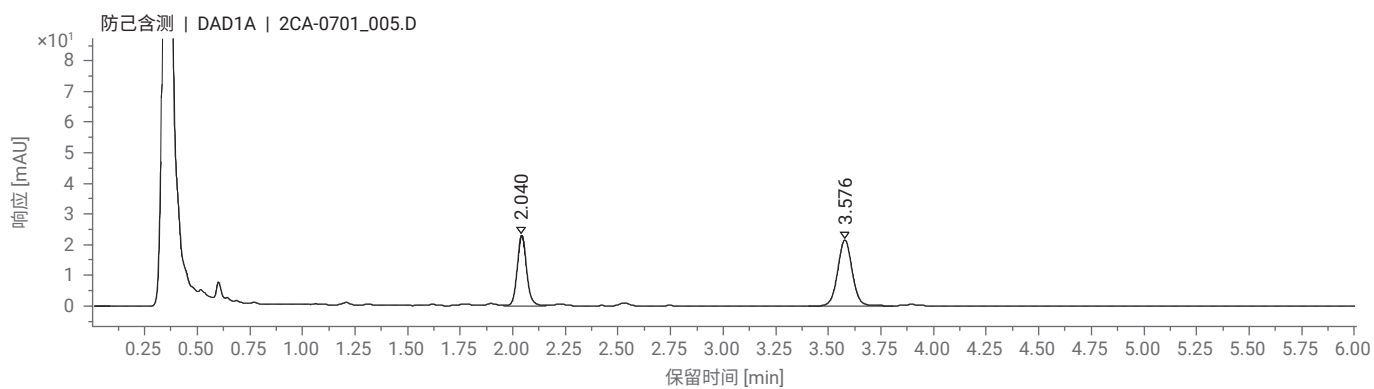
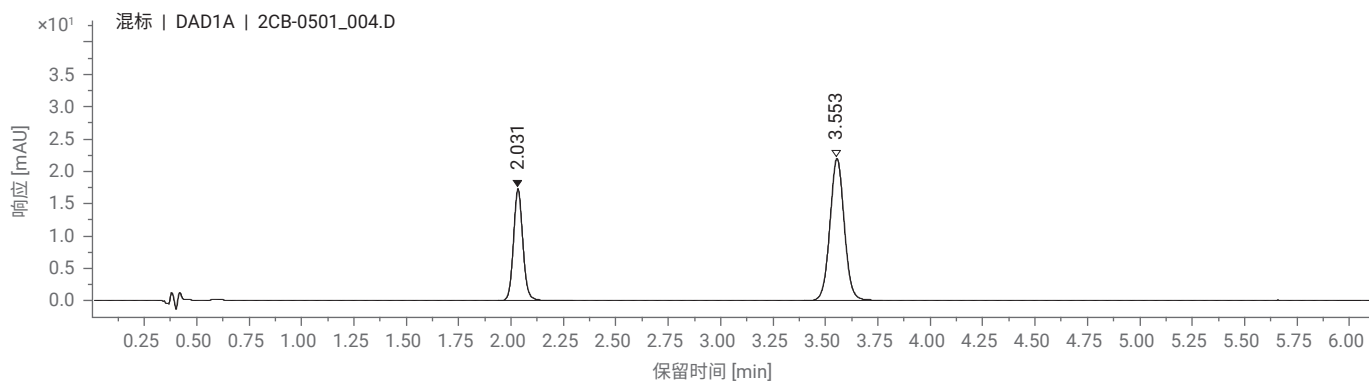
- 将 HPLC 方法转换为 UHPLC, 时间由 40 分钟缩短至 6 分钟
- HPLC 和 UHPLC 方法含量测定结果无明显差异
- 转换后的 UHPLC 方法仍然能够满足含量测定系统适用性要求

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	30 °C																				
检测器	250 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 2.5 Hz	250 nm (4 nm), Ref: off; 采样频率: 20 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

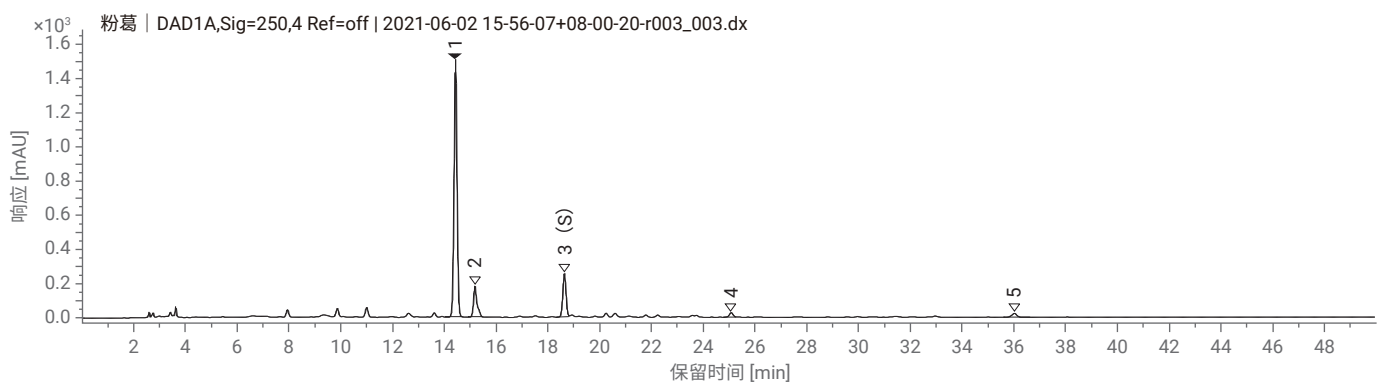
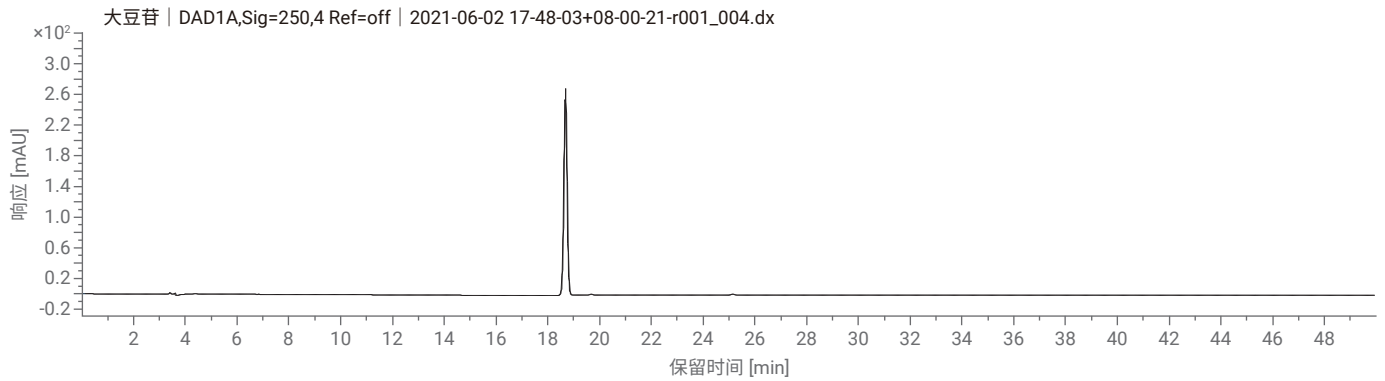
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.368	葛根素	0.798	0.723 ~ 0.849			62606
2	2.557		0.862	0.764 ~ 0.897			77890
3 (S)	2.967	大豆苷					95486
4	3.870		1.304	1.218 ~ 1.430			144975
5	5.401	大豆苷元	1.820	1.715 ~ 2.013			210387

小结及注意事项

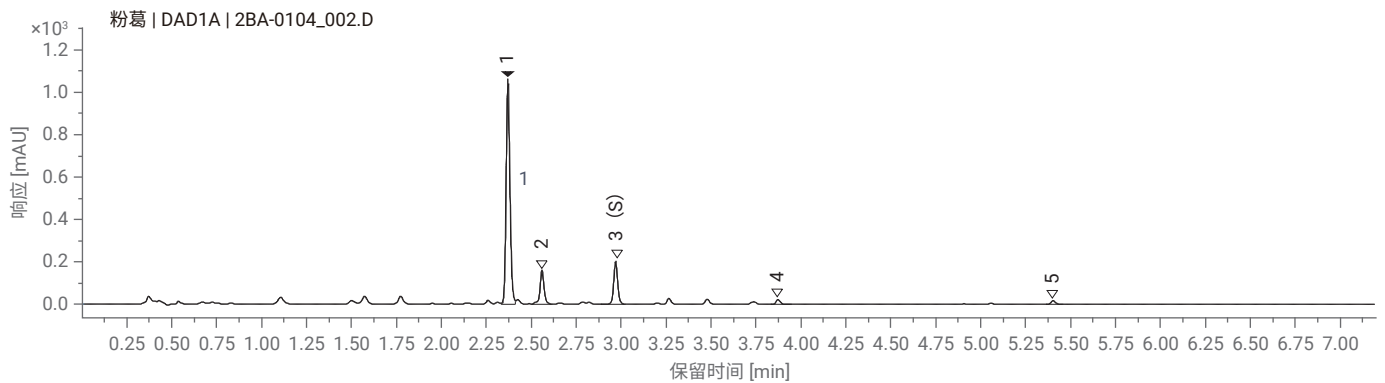
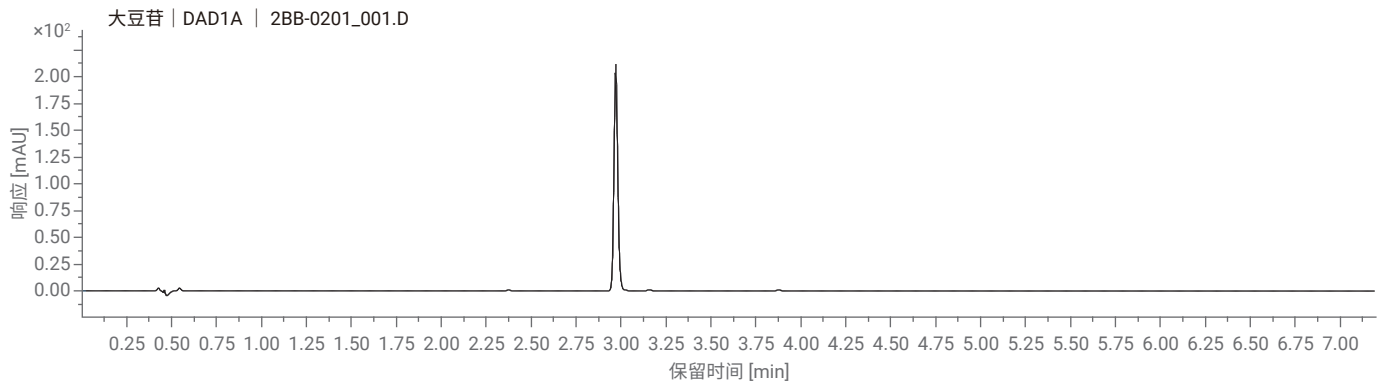
- 原始方法增加后平衡时间 15 分钟, 转换后的 UHPLC 增加 3 分钟后平衡时间

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

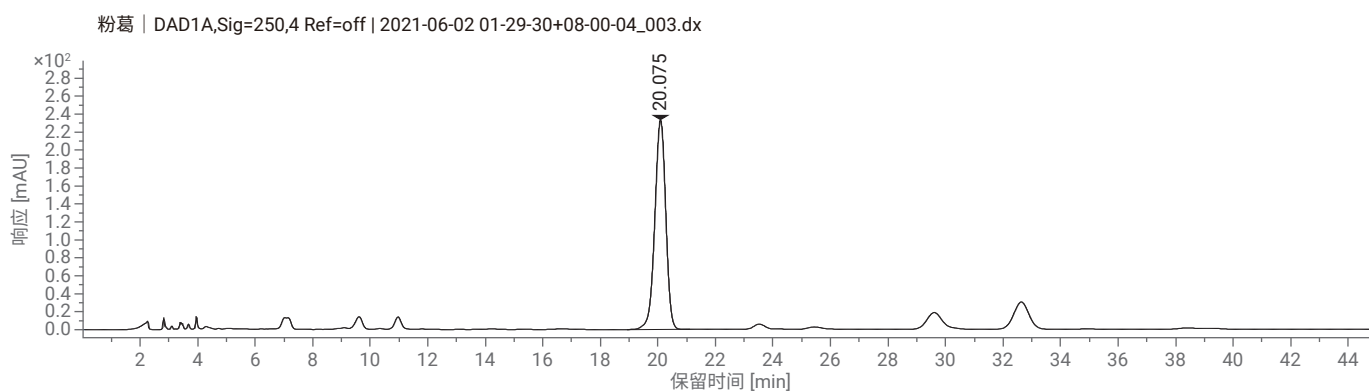
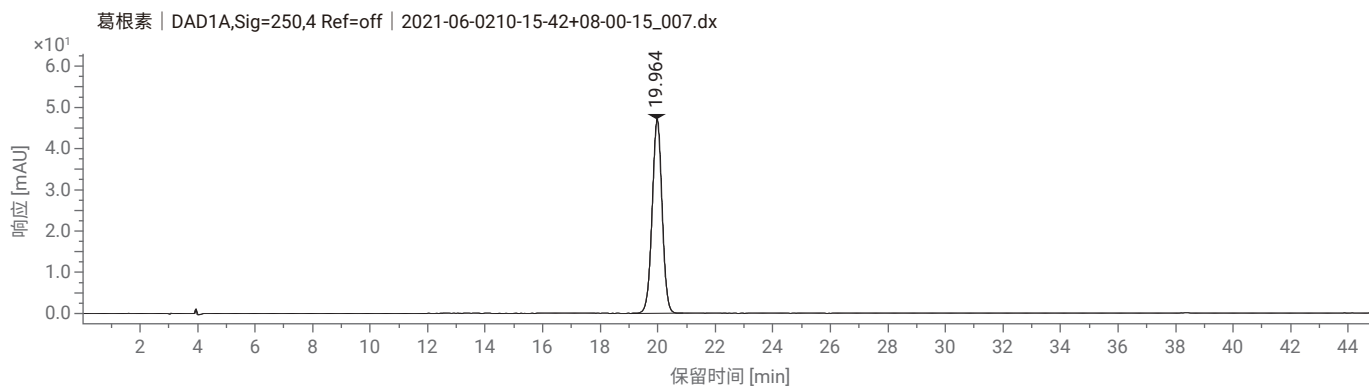
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (%)
葛根素	2.707	8984	0.95	4.24

小结及注意事项

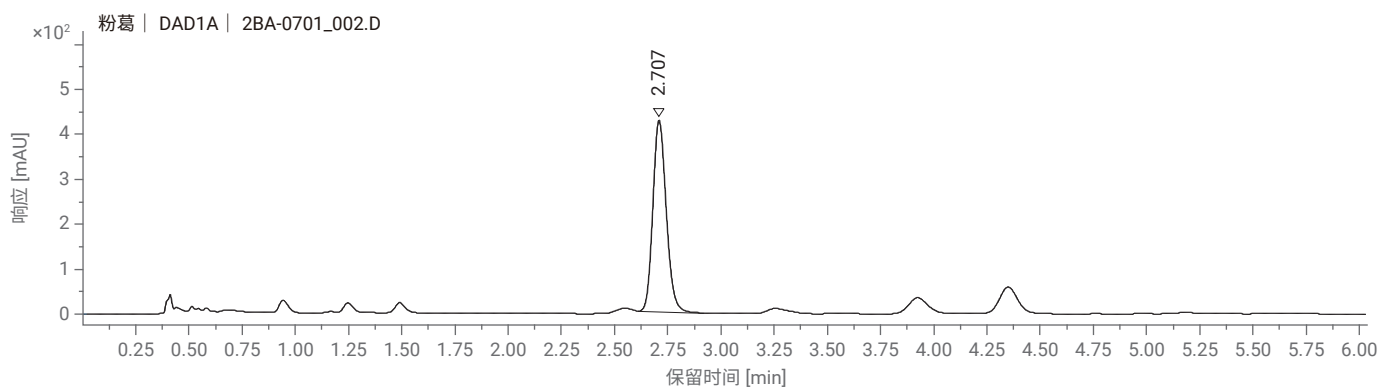
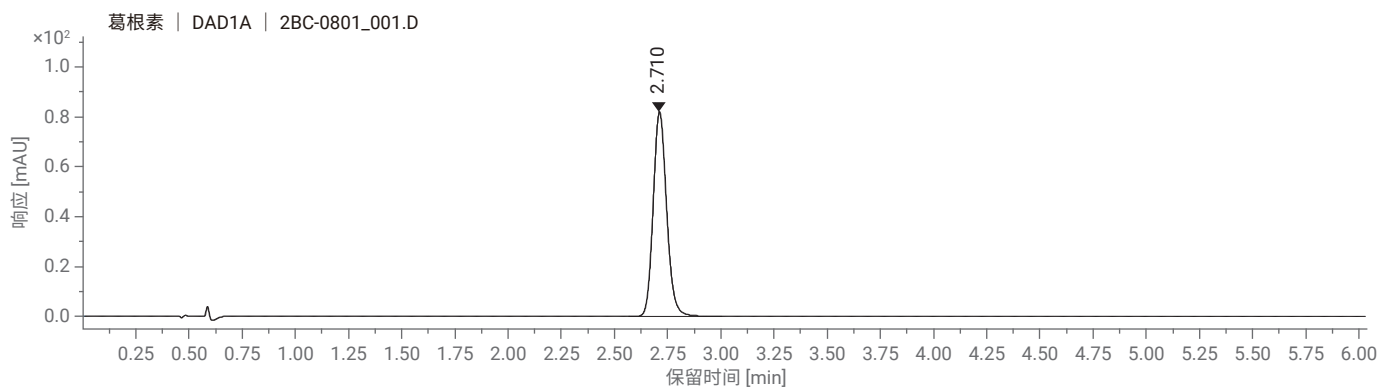
- HPLC 含量测定方法, 需更换自动进样器到柱温箱管线为, 以克服溶剂效应

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

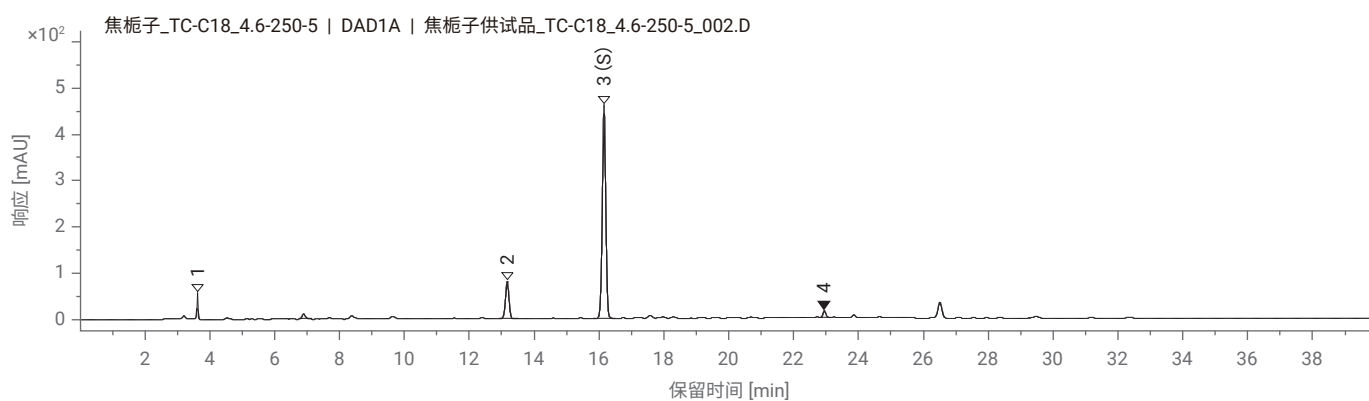
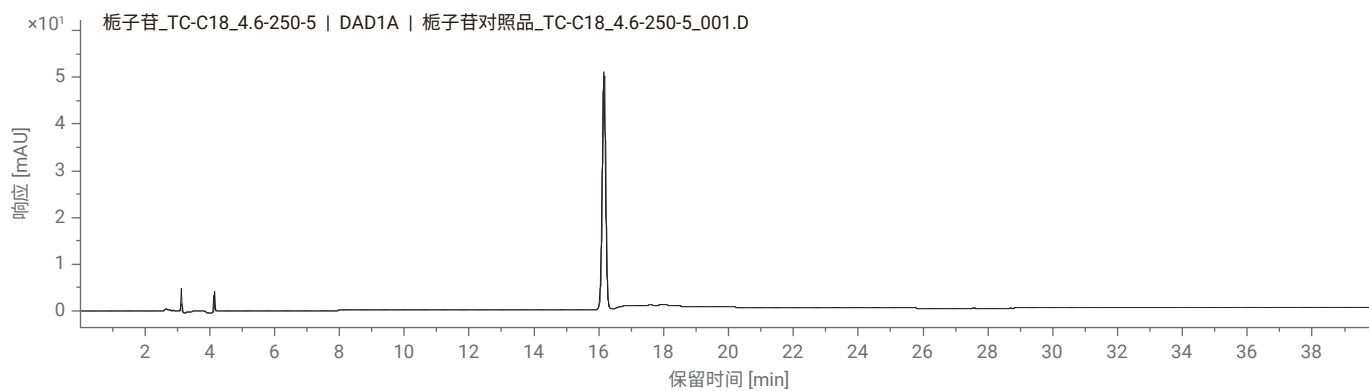
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	1.019		0.437	0.369 - 0.451			4697
2	1.908		0.817	0.725 - 0.887			44640
3 (S)	2.334	栀子苷					64297
4	3.437		1.472	1.310 - 1.601			199172

小结及注意事项

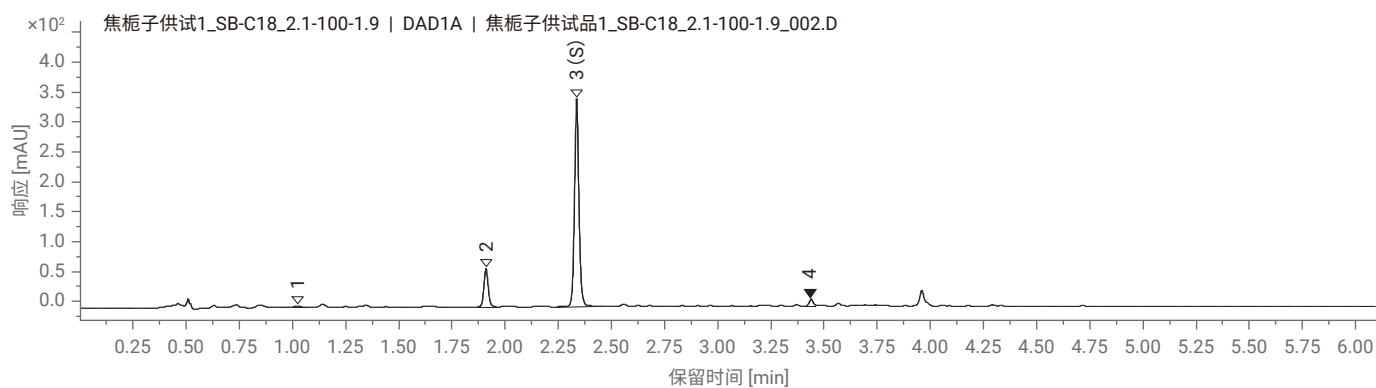
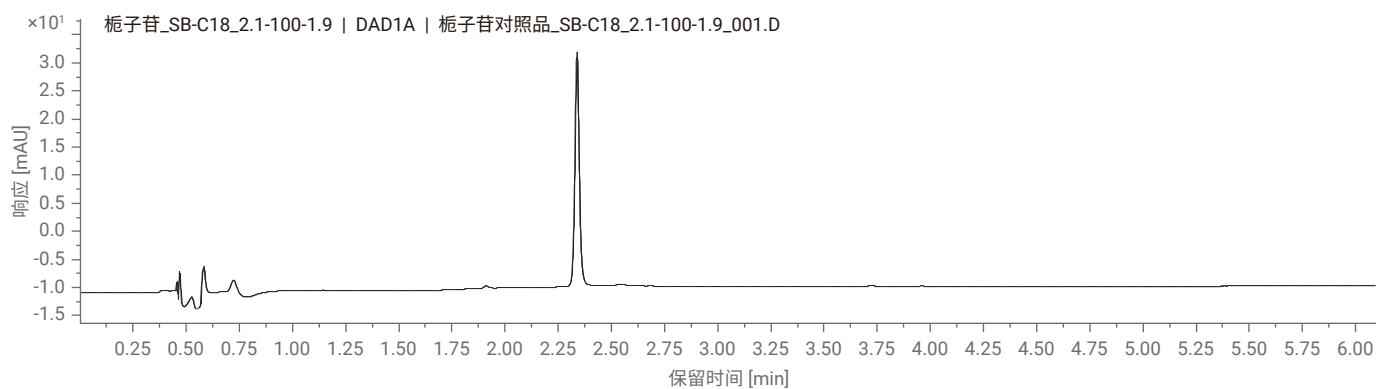
- 转换成 UHPLC 后分析时间由 47 分钟缩短至 8 分钟; 转换后的 UHPLC 可以满足系统适用性及相对保留时间要求
- 由于 0.4% 磷酸 pH 较低, 建议采用耐低 pH 的色谱柱以提高色谱柱寿命

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

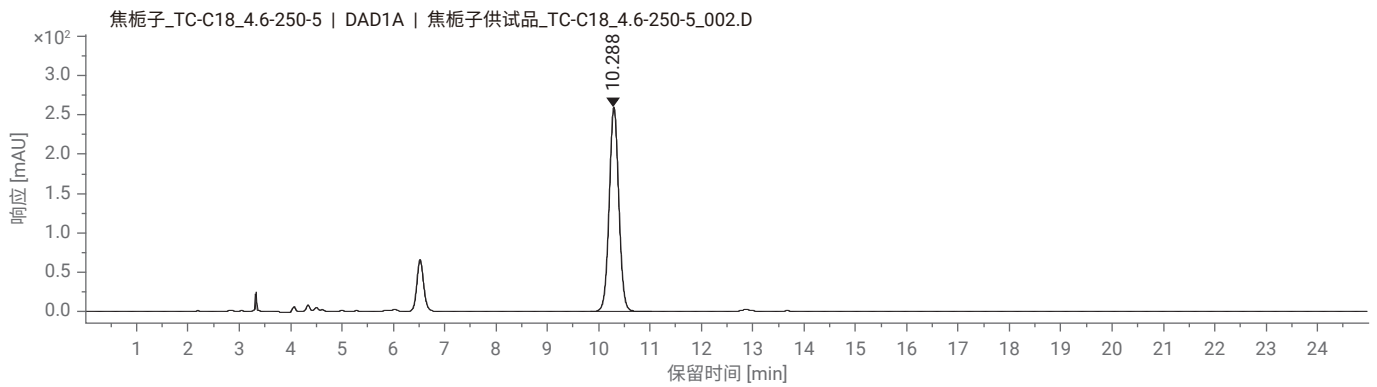
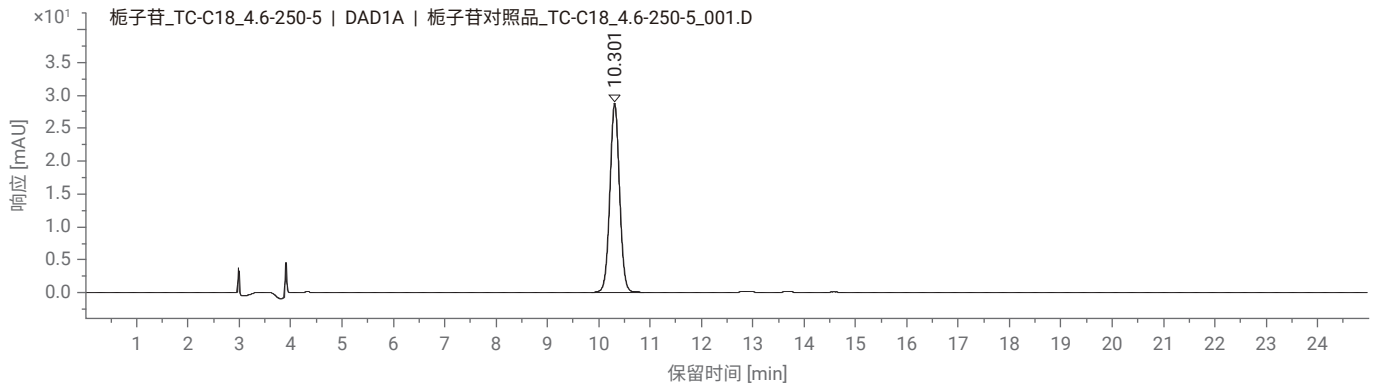
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
栀子苷	1.208	3371	0.98	123.14

小结及注意事项

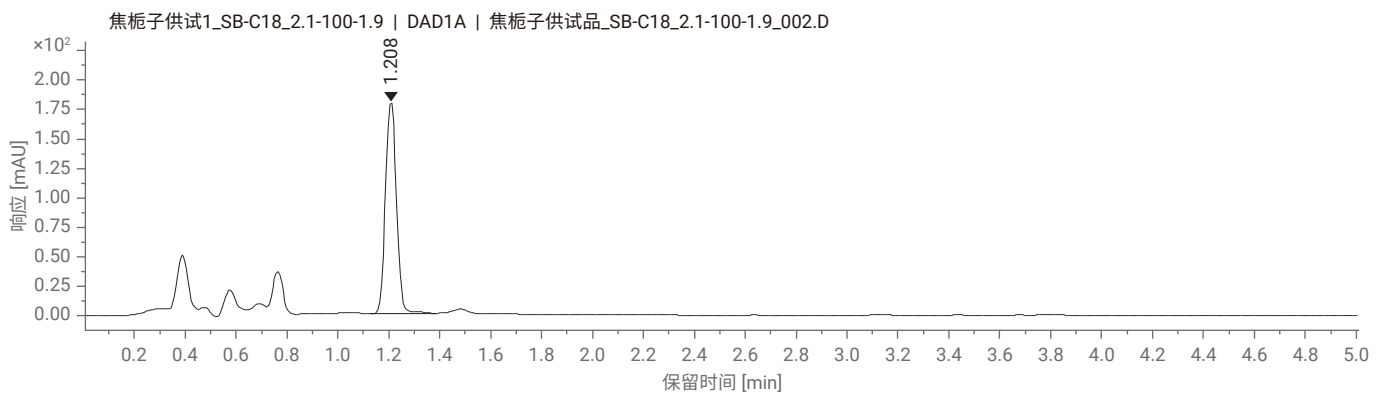
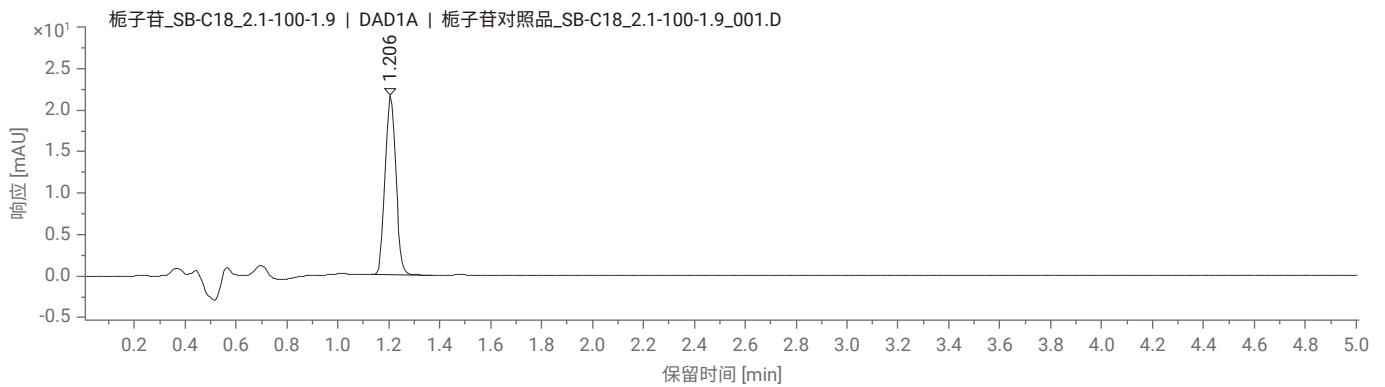
- 特征图谱检测波长切换时间需要根据 4 号峰的实际出峰情况确定, 待 4 号峰出峰后检测波长由 238 nm 切换到 440 nm

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

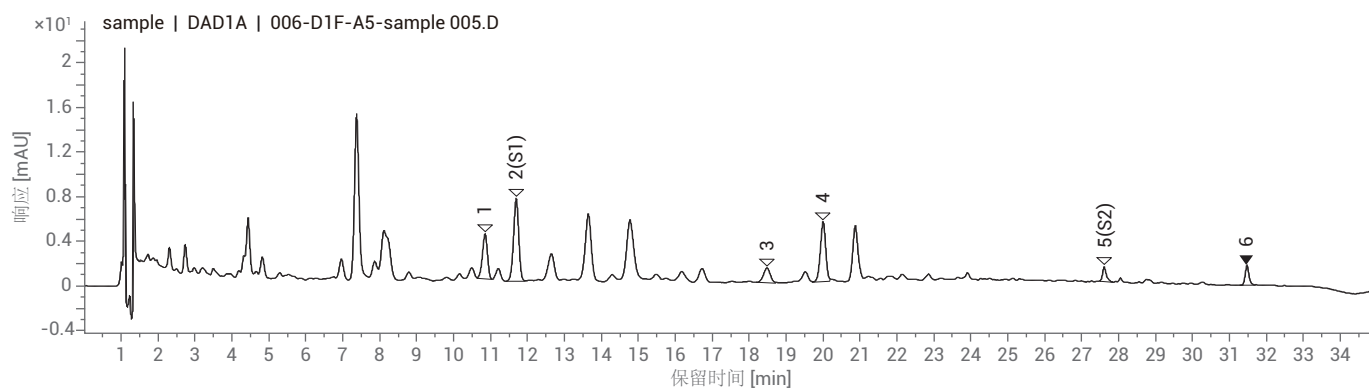
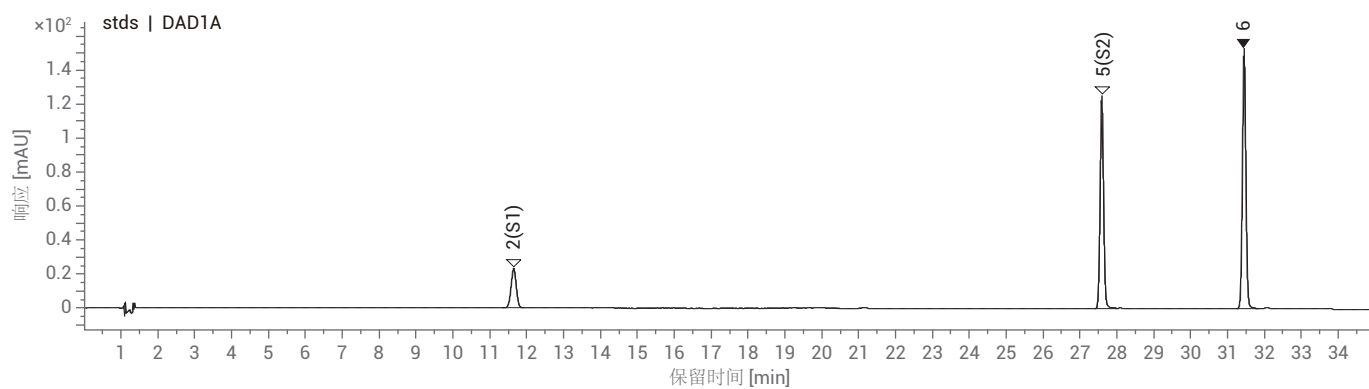
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	5.420		0.93	0.84-1.02			22090
2 (S1)	5.852	山奈酚-3-O-(2,6-α-L-二吡喃鼠李糖基-β-D-吡喃葡萄糖苷)			6.0	>=0.96	23860
3	9.104		0.68	0.64-0.78			36315
4	9.839	山奈酚-3-O-芸香糖苷	0.73	0.68-0.83	7.27	>=1.1	93262
5 (S2)	13.435	槲皮素			1	1	346680
6	15.361	山奈酚					438752

小结及注意事项

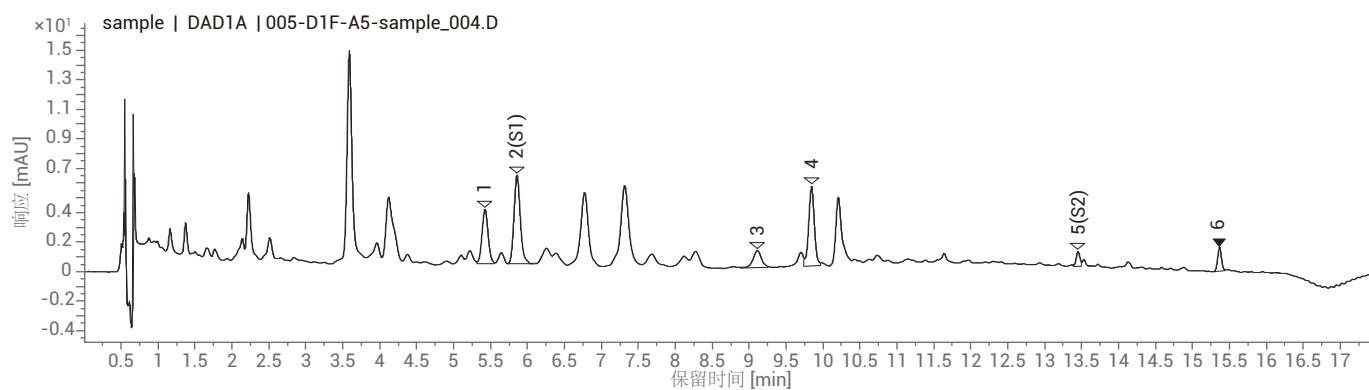
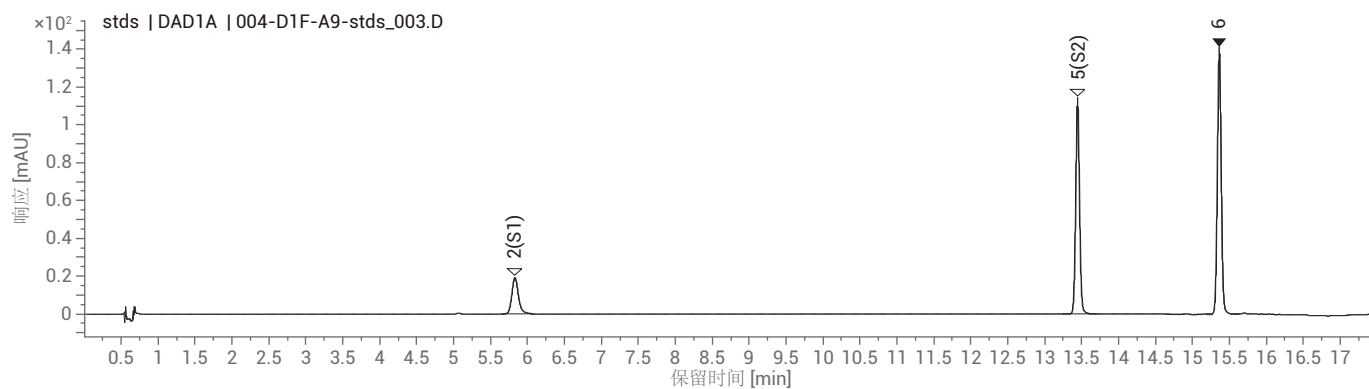
- 原始方法压力最高 246 bar, 加速方法压力最高 470 bar; 加速后分析时间缩短 17.5 分钟 (50%)

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

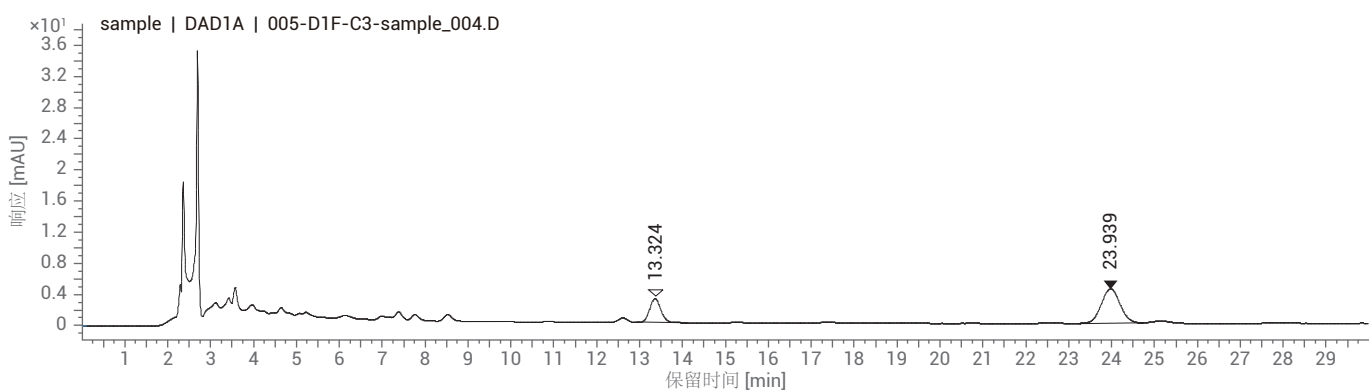
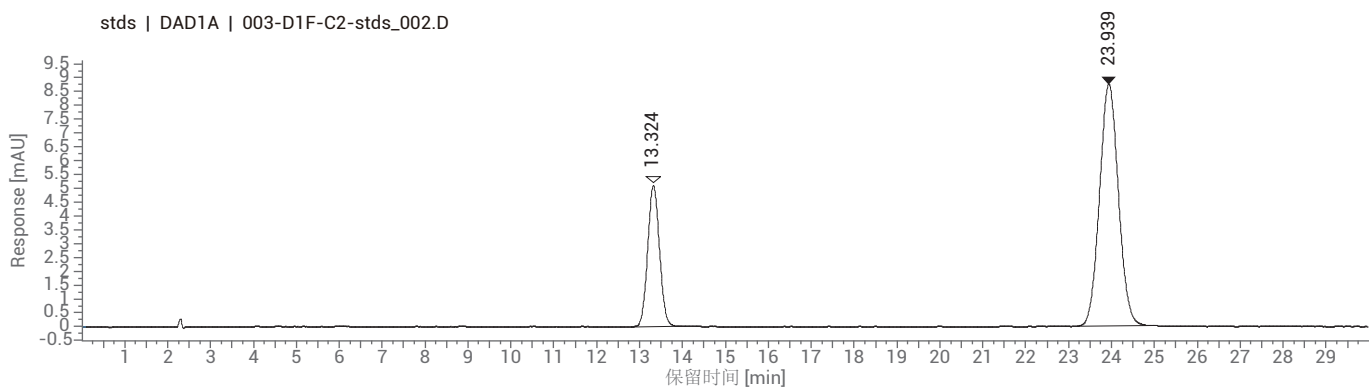
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	总含量 (mg/g)
槲皮素	2.694	8011	1.28	2.10
山柰酚	4.841	11067	1.15	

小结及注意事项

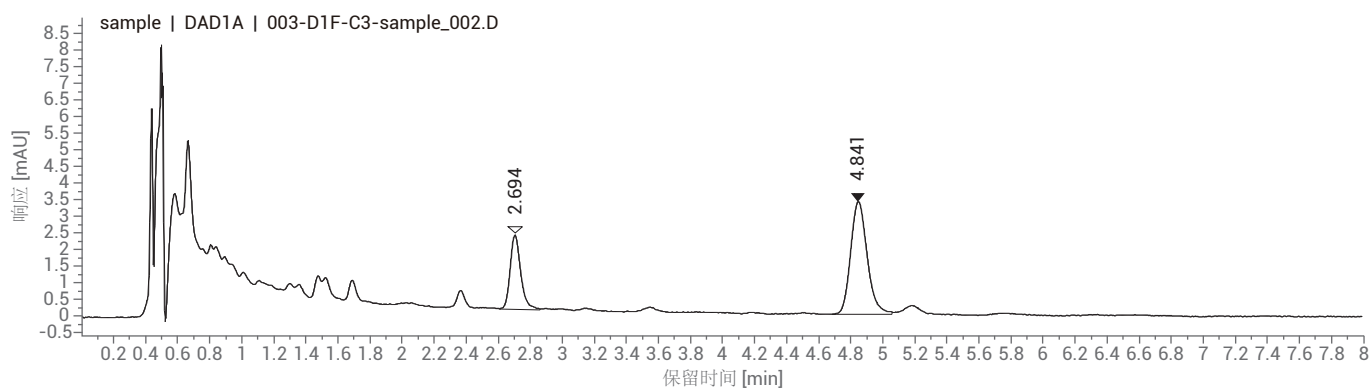
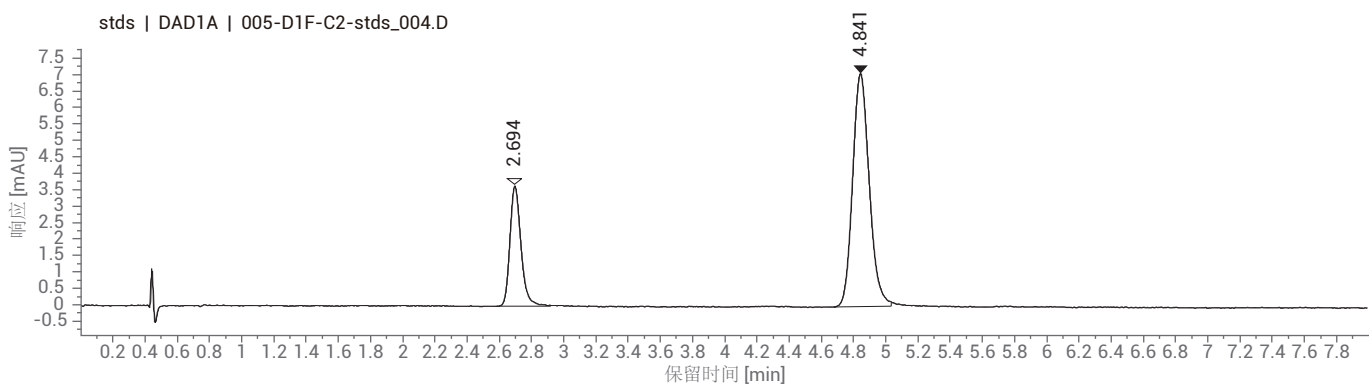
- 按照原方法的 50% 甲醇的流动相, 样品中的含测成分槲皮素和山柰酚都有干扰峰未分开, HPLC 方法降低甲醇比例至 48%, 能使俩成分完全和杂质峰分离, 满足定量需求; 转成 UHPLC 方法后, 甲醇比例调整至 45%, 能使俩成分完全和杂质峰分离, 满足定量需求

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

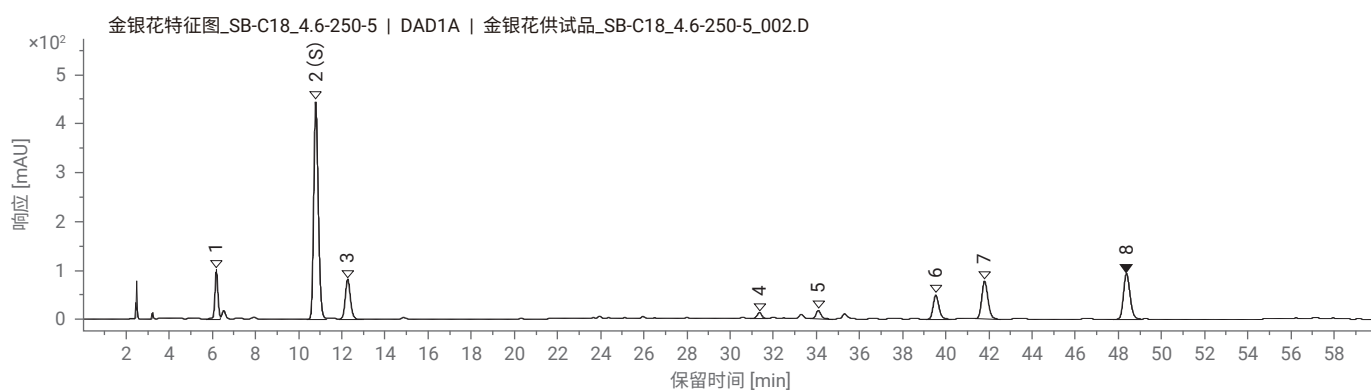
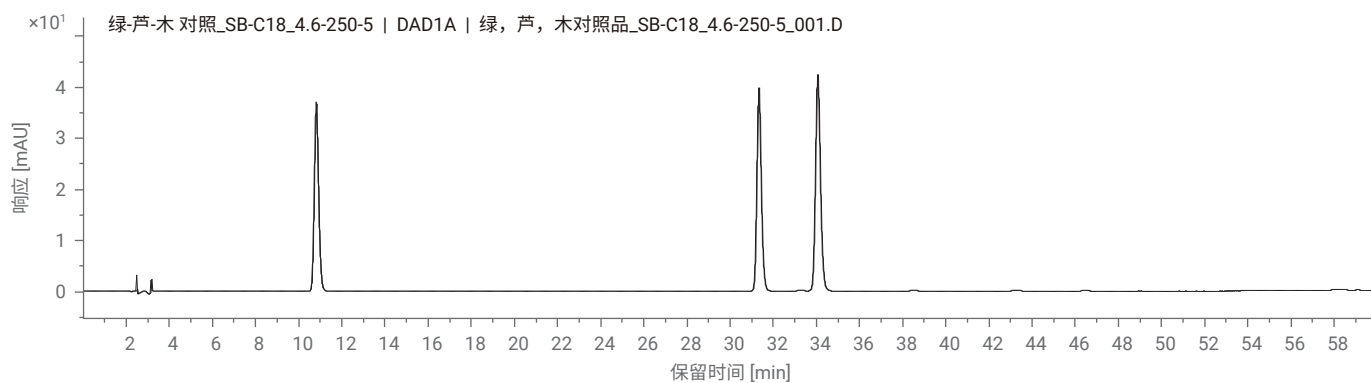
峰	化合物	保留时间 (min)	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1		1.377					7810
2 (S)	绿原酸	2.384	0.578	0.522-0.638			11721
3		2.691	1.128	1.035-1.265			12132
4	芦丁	8.049					138904
5	木犀草苷	8.605					131590
6		9.823	4.119	3.420-4.180			140557
7		10.224	4.288	3.618-4.422			1133621
8		11.788	4.943	4.176-5.104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

小结及注意事项

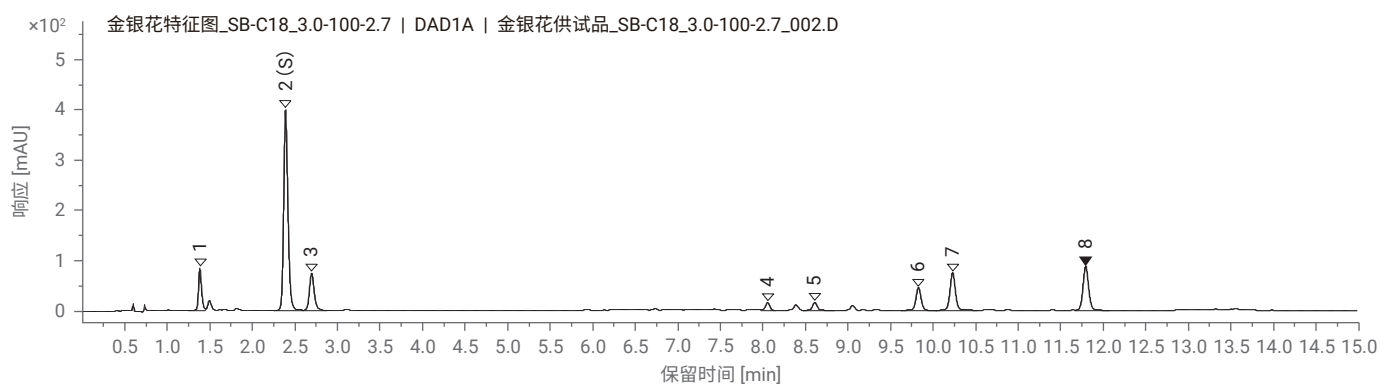
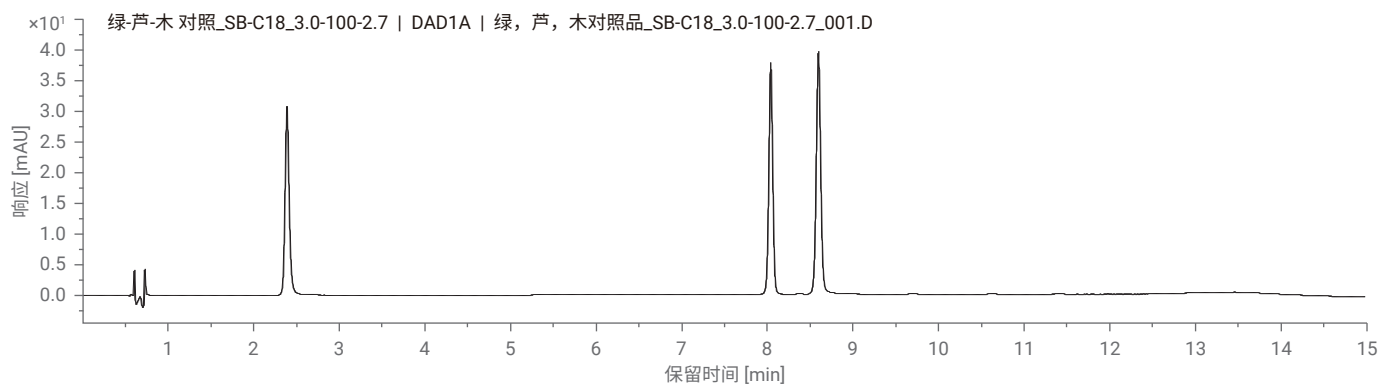
- 原始方法压力最高 130 bar, UHPLC 方法压力最高 306 bar
- 使用 UHPLC 方法后分析时间缩短 52 分钟

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

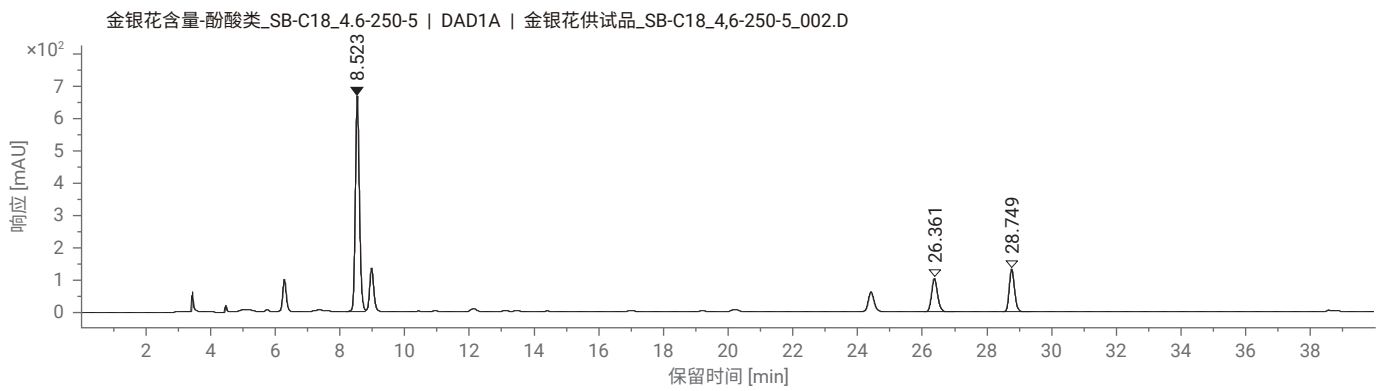
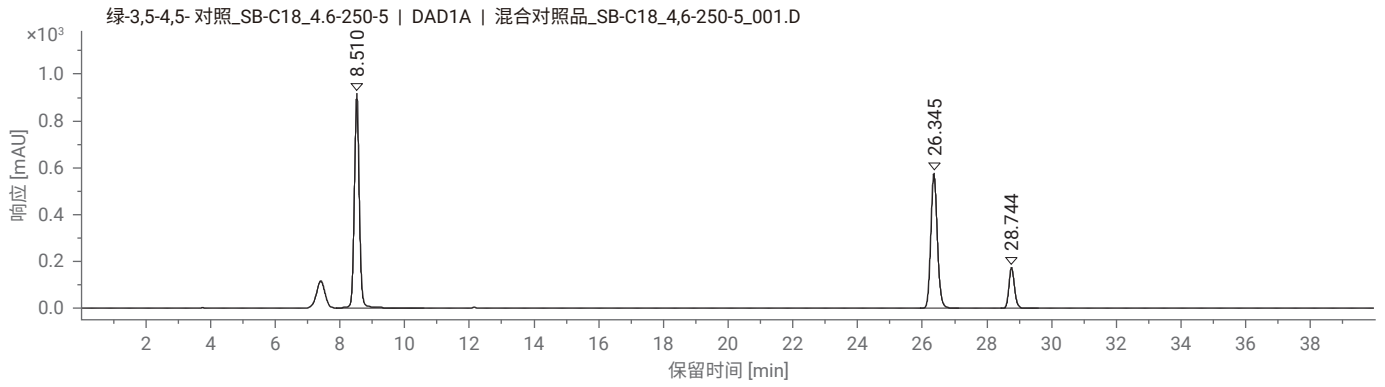
峰	化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
1	绿原酸	2.027	9452	1.29	36.20
2	3,5-二-O-咖啡酰奎宁酸	7.164	140407	1.02	11.18
3	4,5-二-O-咖啡酰奎宁酸	7.803	206218	1.08	8.47
总量					55.85

小结及注意事项

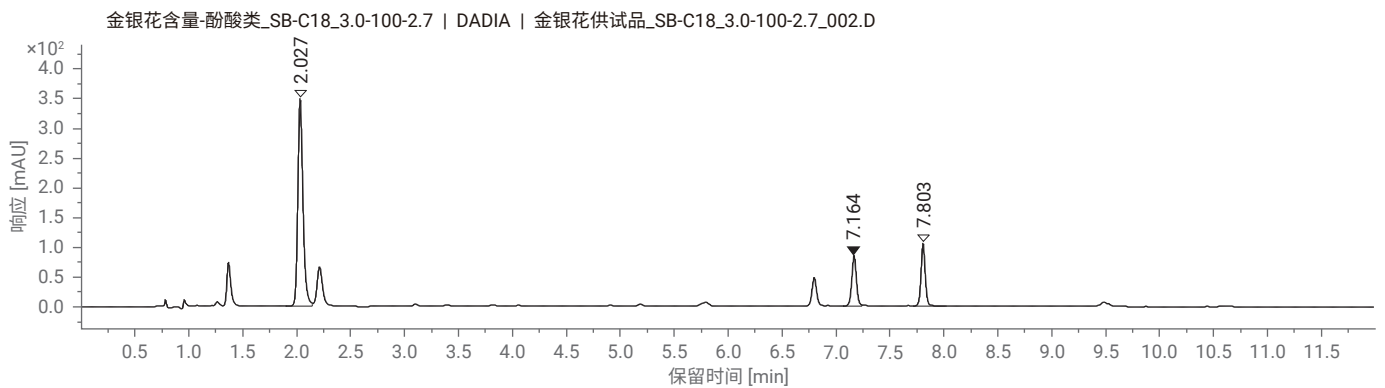
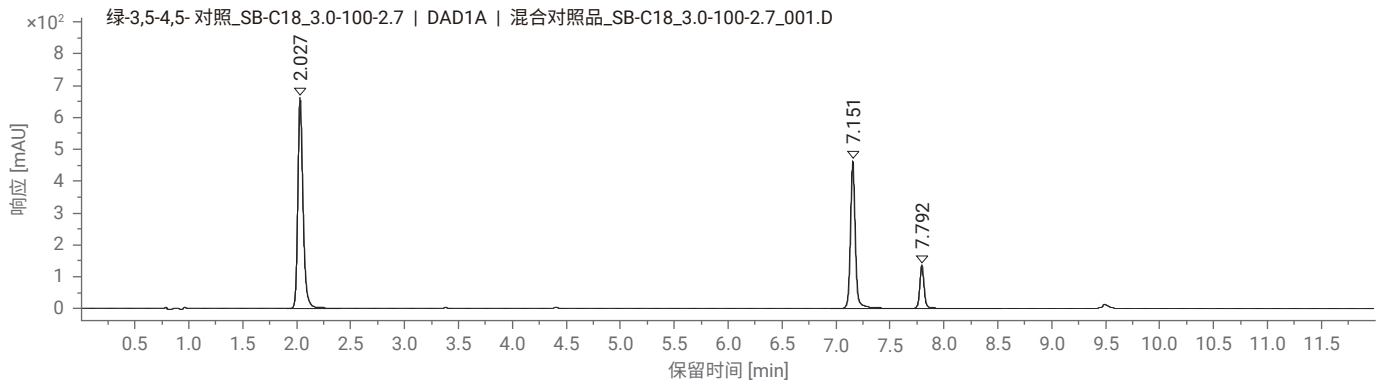
- 转换成 UHPLC 方法后分析时间由 47 分钟缩短至 12 分钟

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

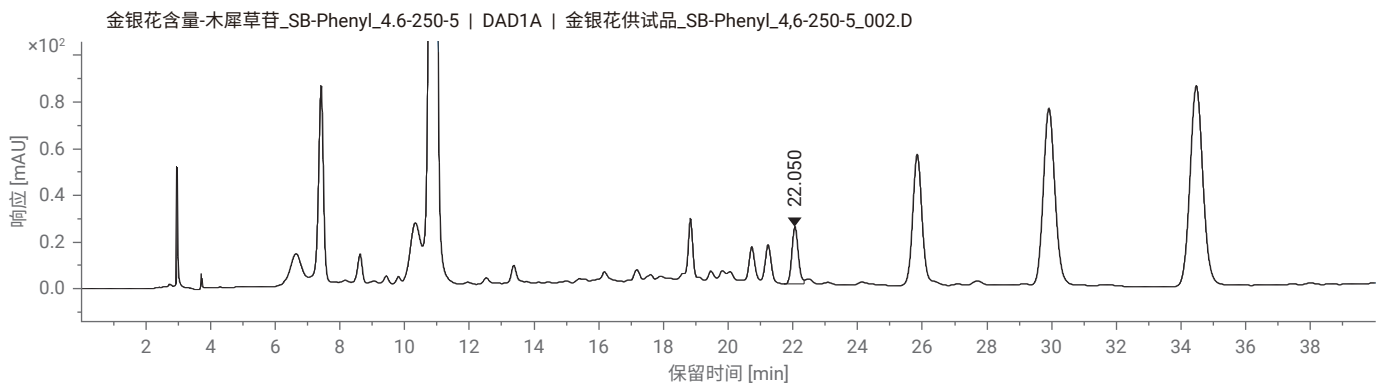
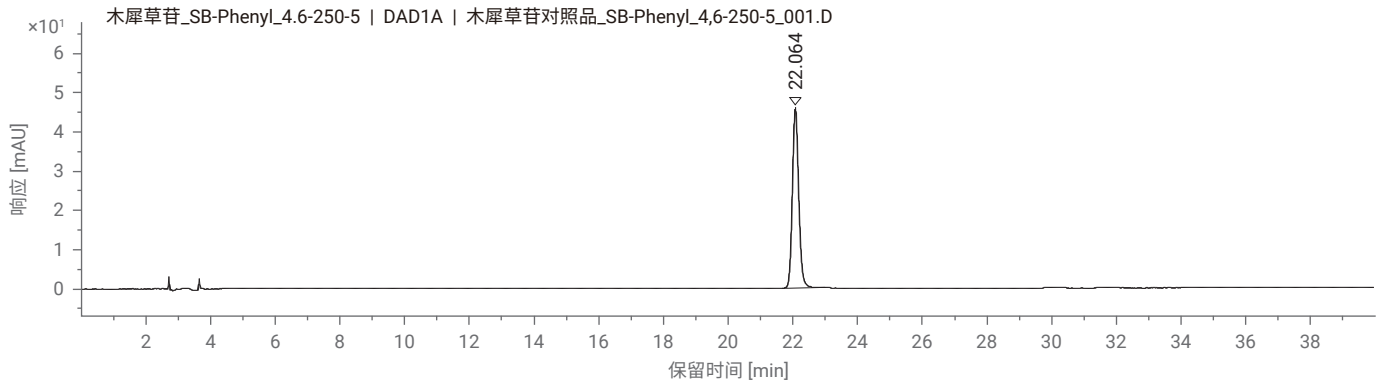
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
木犀草苷	8.622	86075	1.04	0.63

小结及注意事项

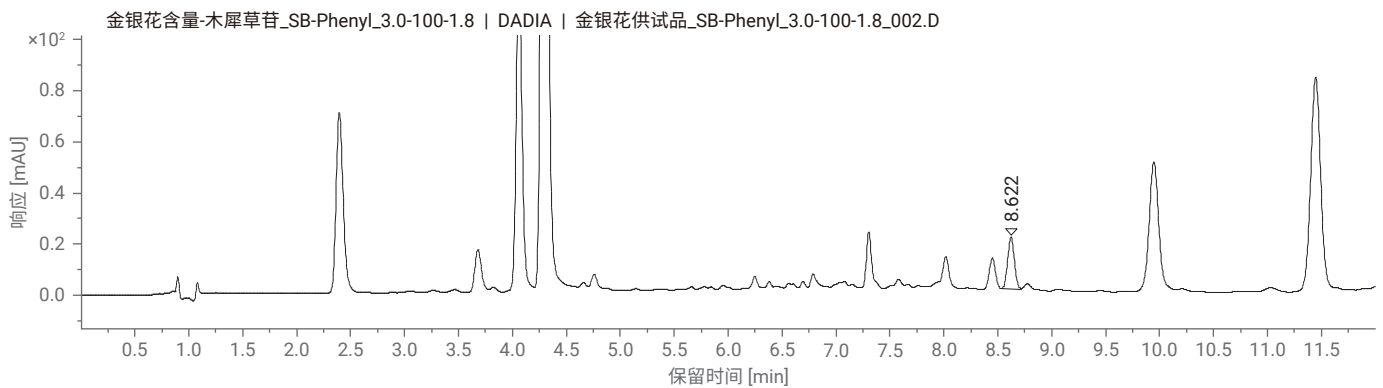
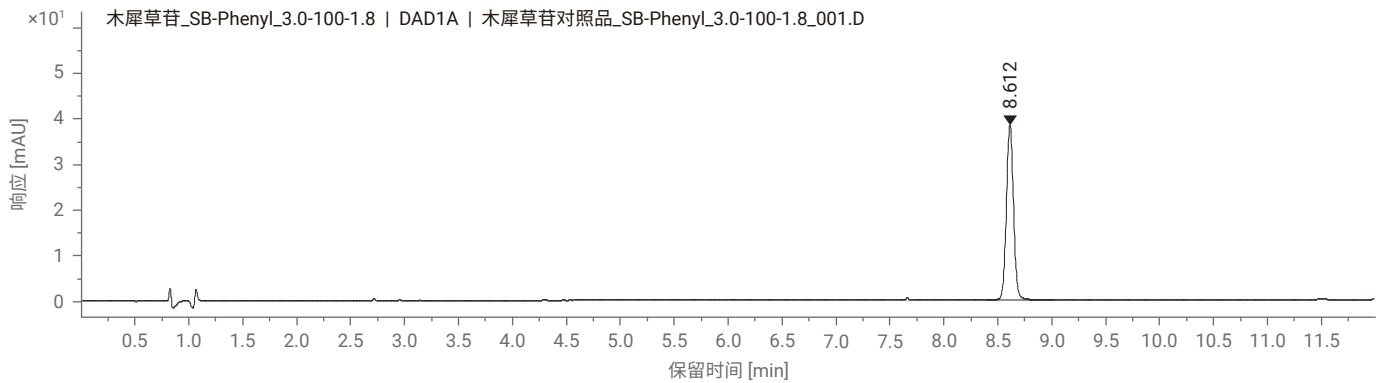
- 转换成 UHPLC 方法分析时间由 47 分钟缩短至 15 分钟

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 ₃ PO 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

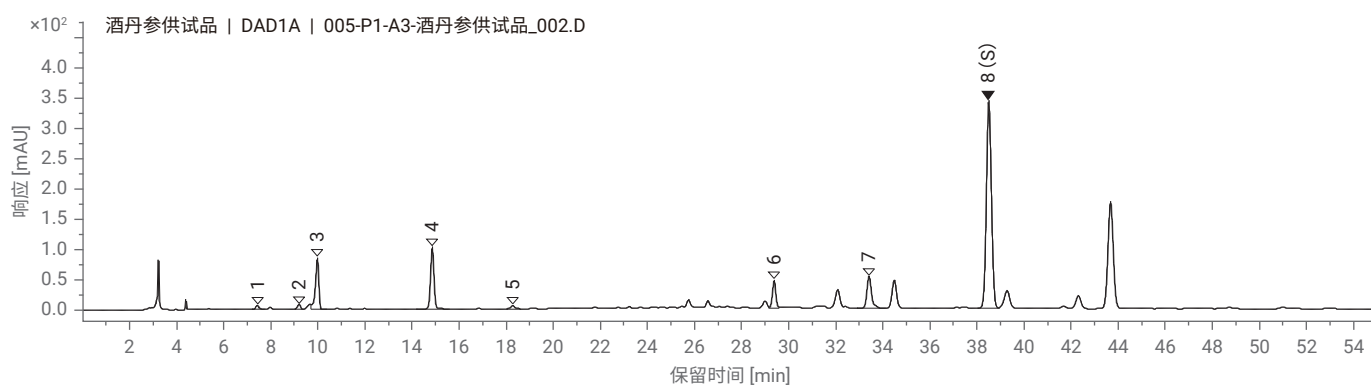
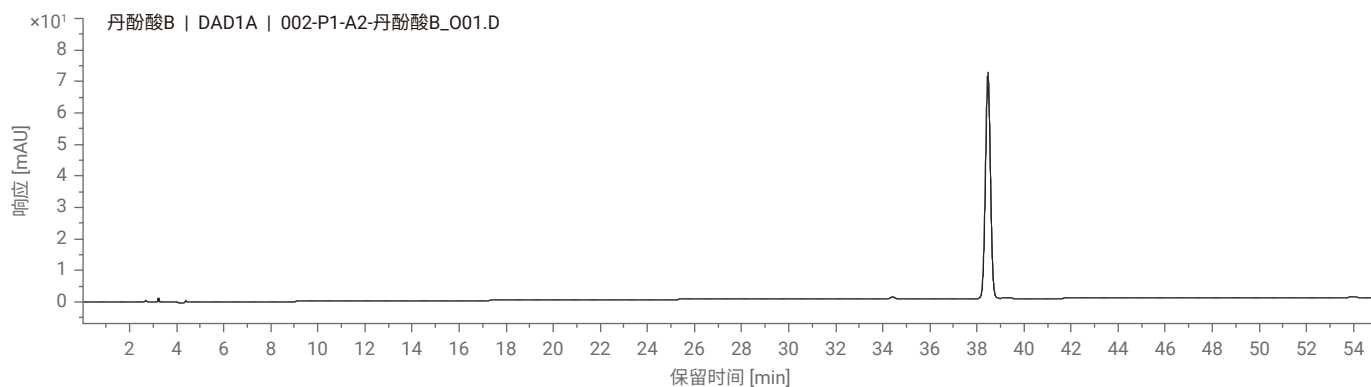
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	0.843		0.164	0.160~0.188			0.72
2	1.053		0.205	0.211~0.247			1.19
3	1.161	丹参素钠	0.226	0.240~0.282			1.34
4	1.756	原儿茶醛	0.341	0.347~0.407			1.16
5	2.254		0.438	0.453~0.531			0.99
6	3.954		0.769	0.713~0.837			1.05
7	4.404	迷迭香酸	0.856	0.803~0.943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

小结及注意事项

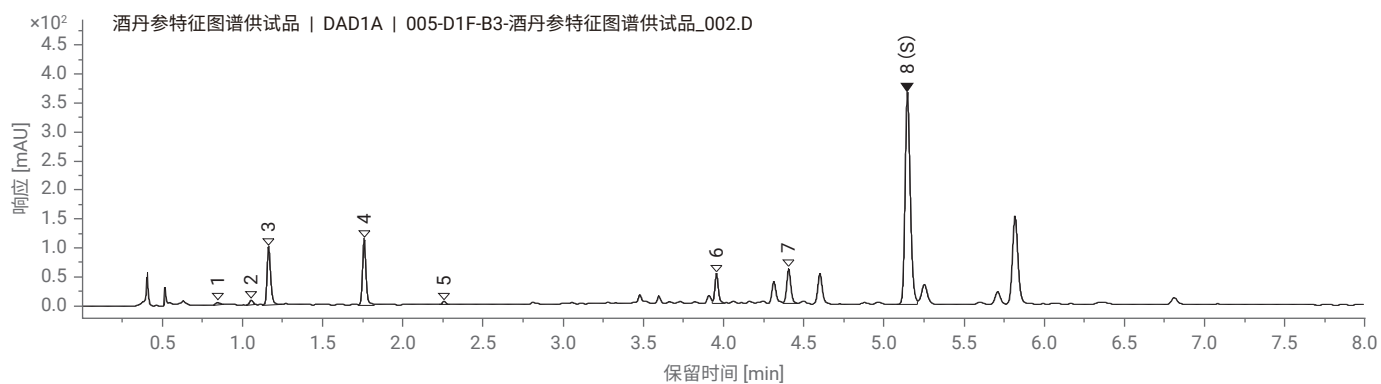
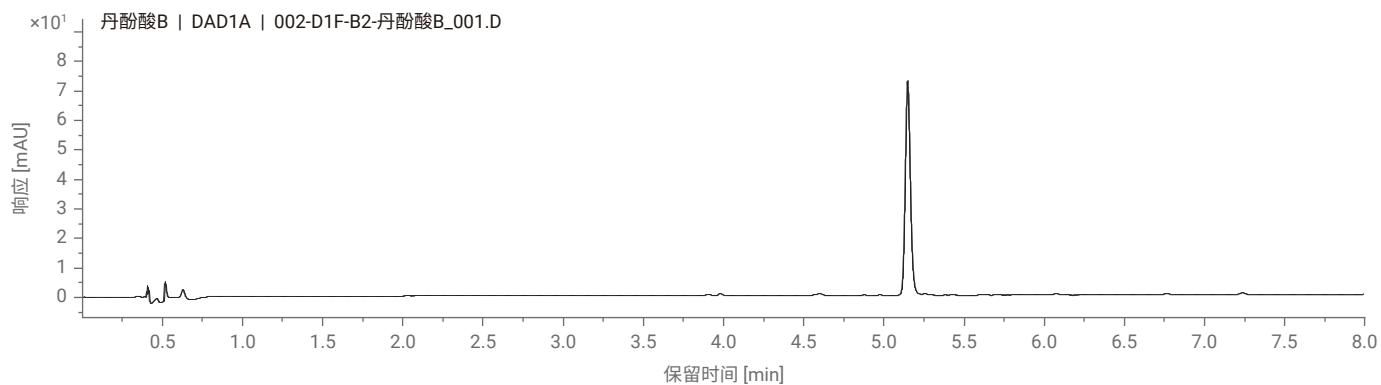
- 原始方法压力最高 120 bar, UHPLC 方法压力最高 675 bar; 使用 UHPLC 方法后分析时间缩短 47 分钟

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	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>22</td> </tr> <tr> <td>45</td> <td>22</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0	22	45	22	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>22</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>22</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0	22	5	22
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

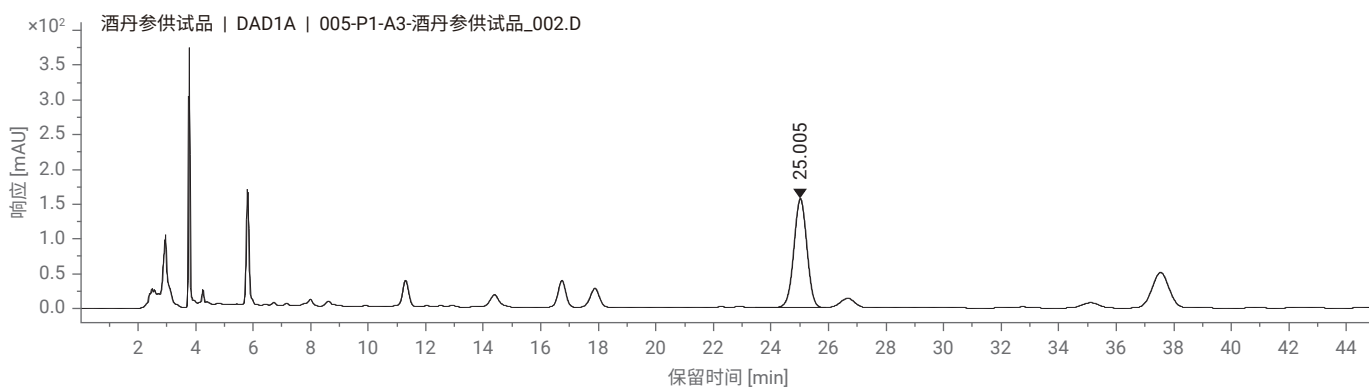
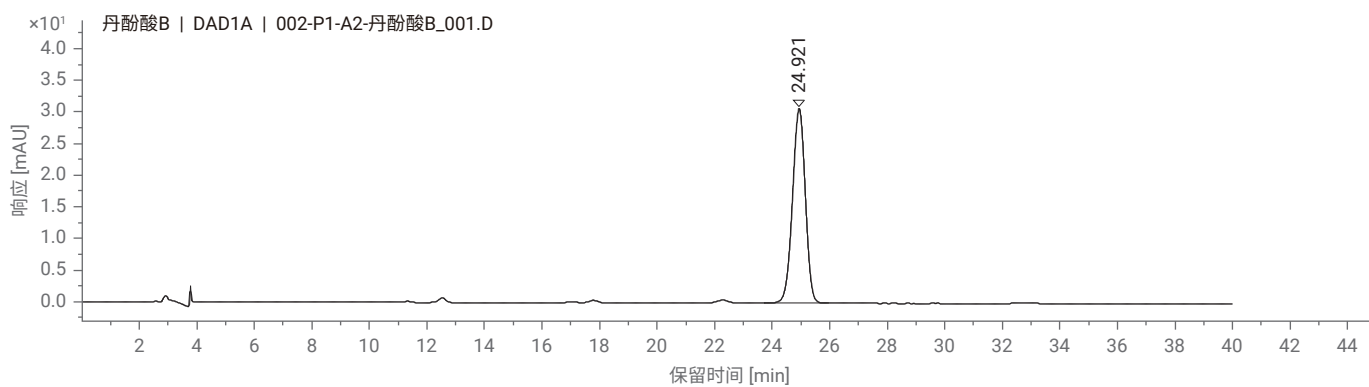
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
丹酚酸 B	3.166	12995	1	25.3

小结及注意事项

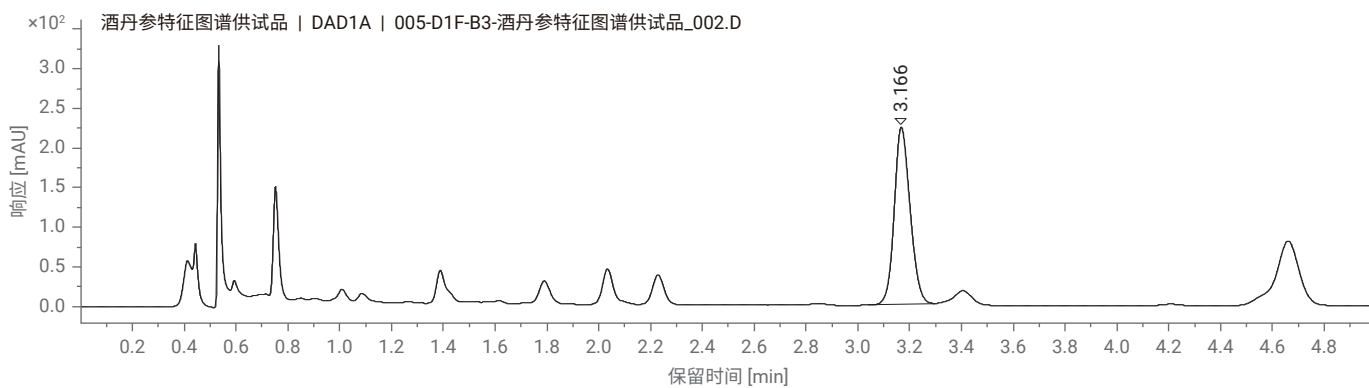
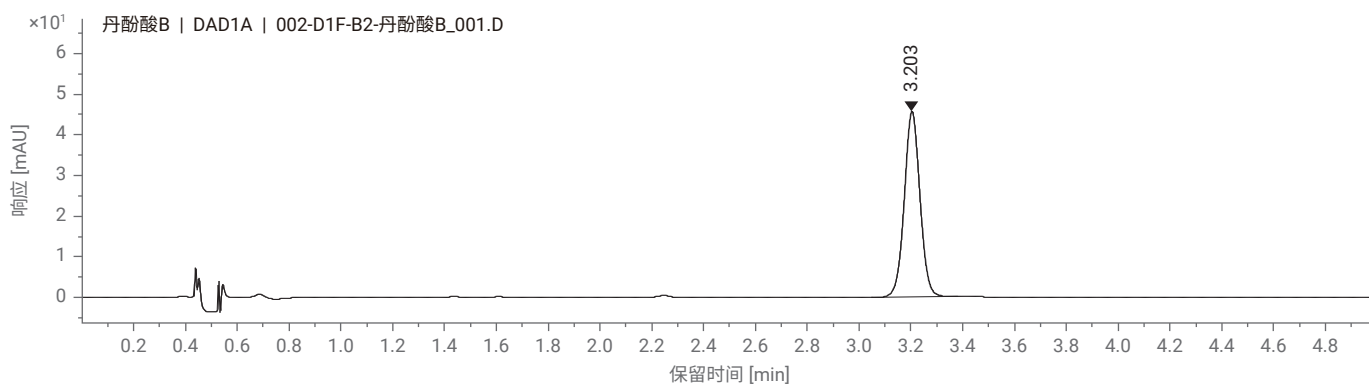
- 原始方法压力最高 120 bar, UHPLC 方法压力最高 642 bar
- 转换成 UHPLC 方法后, 分析时间由 45 分钟缩短至 5 分钟

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

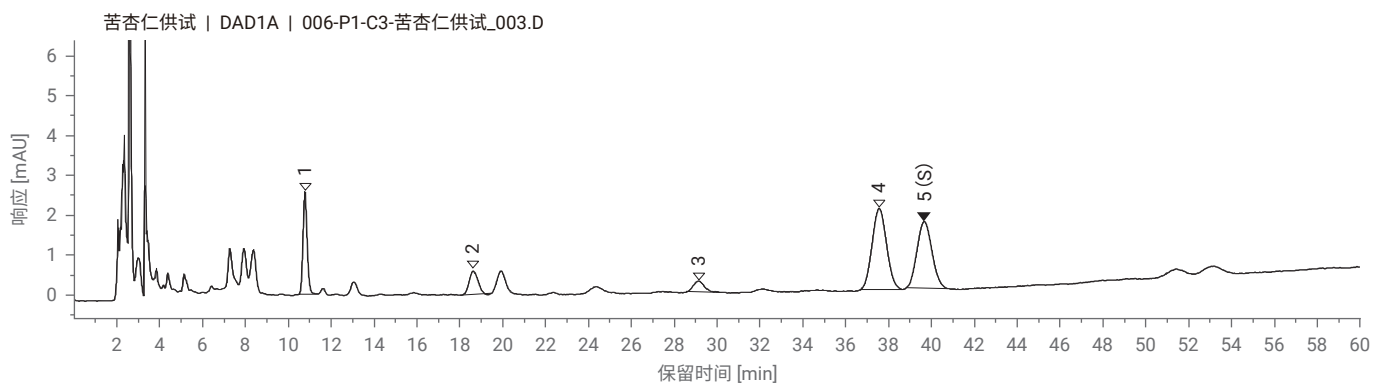
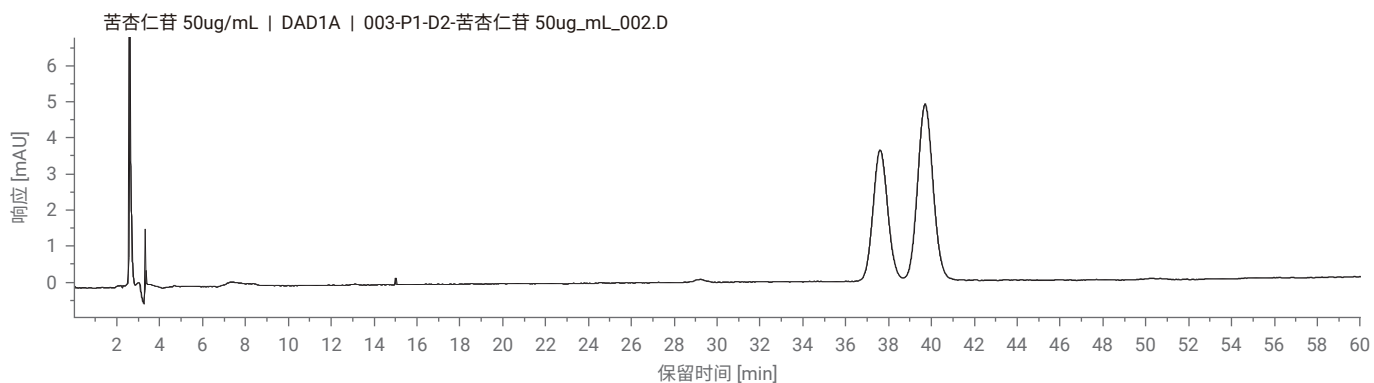
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.055		0.269		0.38	≥0.080	14316
2	3.532		0.462	0.045-0.550			14809
3	5.788		0.757	0.639-0.781			14879
4	7.256	L-苦杏仁苷	0.949	0.855-1.045	1.13	0.40~1.50	16404
5 (S)	7.646	苦杏仁苷					16926

小结及注意事项

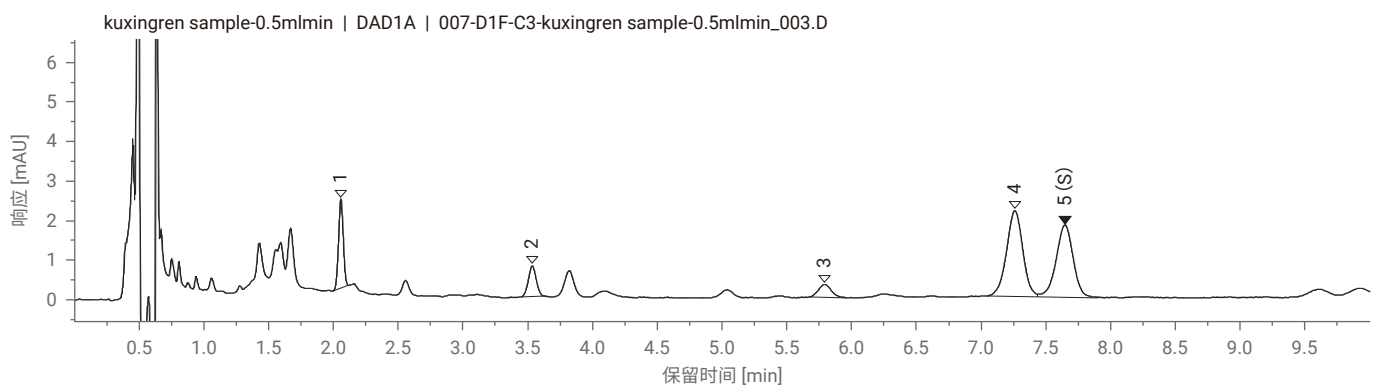
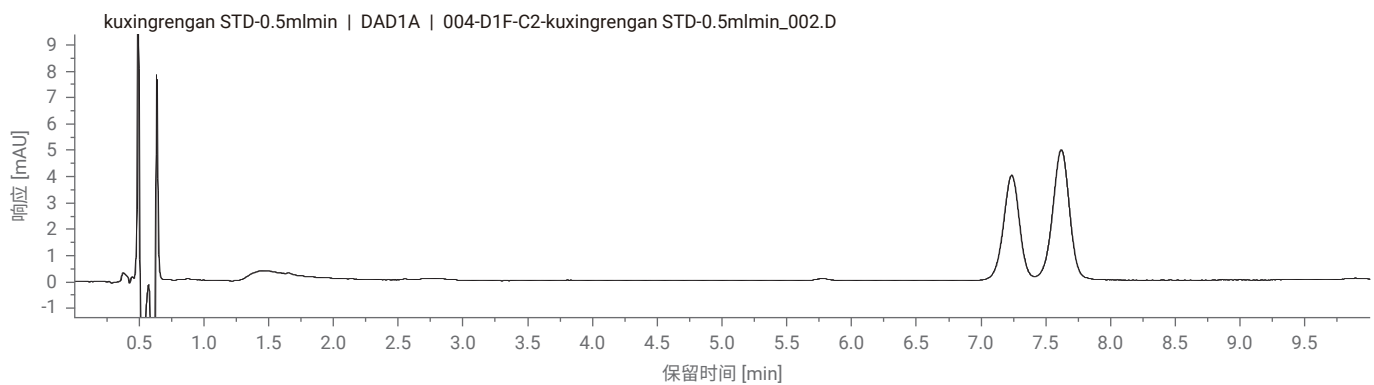
- UHPLC 方法压力最高 740 bar
- 苦杏仁苷溶液放置久后发生构型转换, 注意溶液保存时间

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

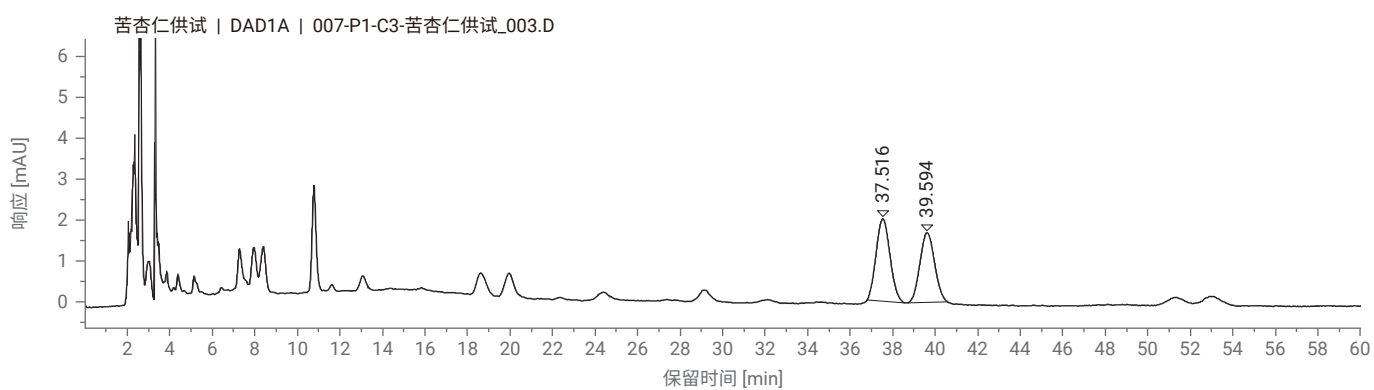
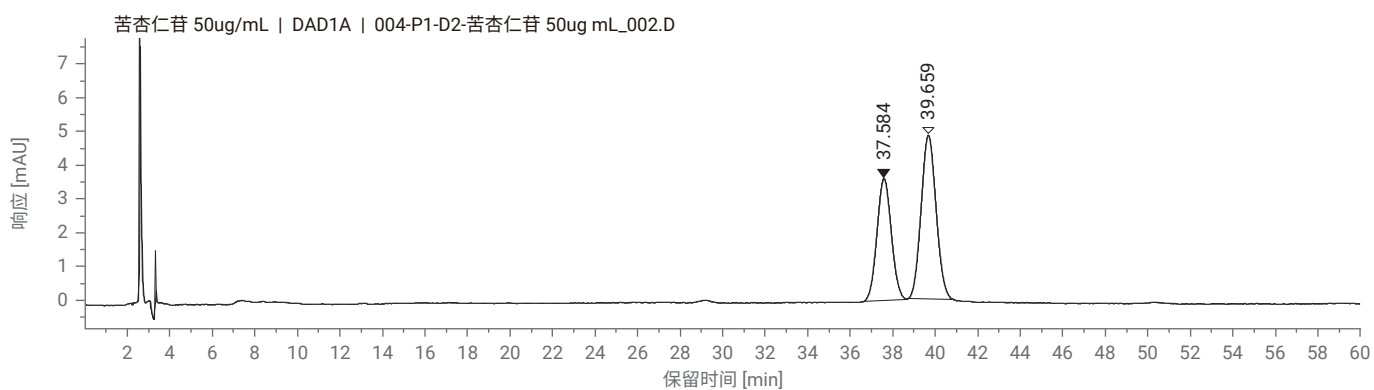
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
苦杏仁苷	7.646	16724	0.93	29.18

小结及注意事项

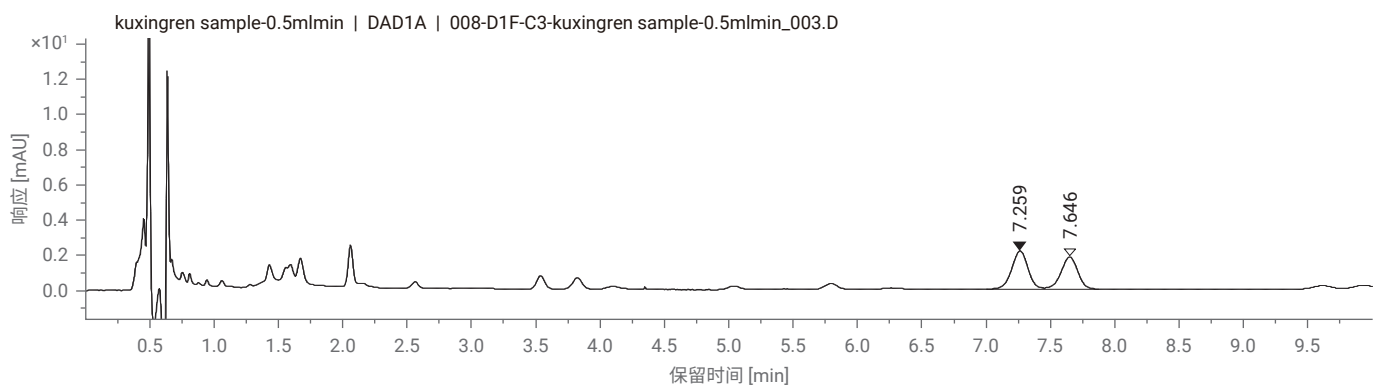
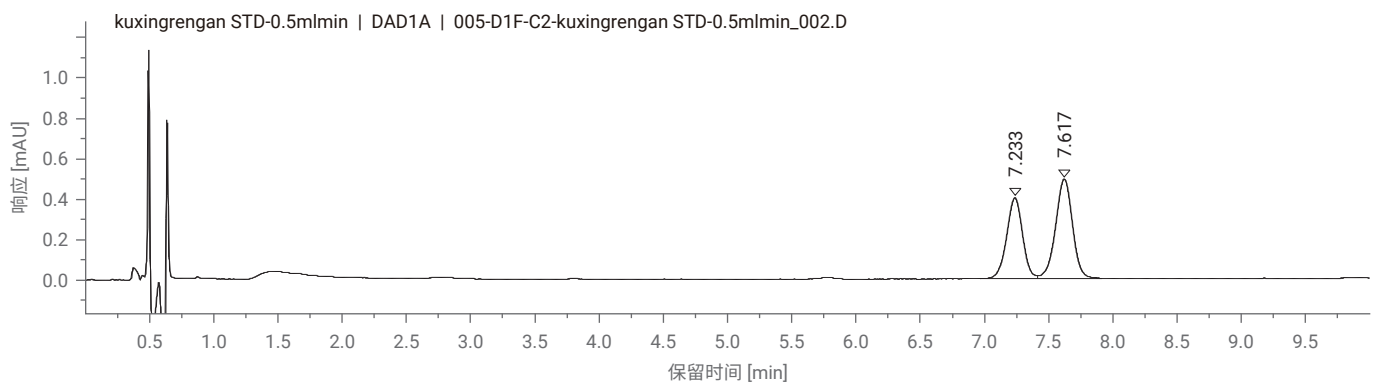
- UPLC 方法压力最高 740 bar
- HPLC 转换到 UPLC 方法后, 分析时间缩短 50 分钟

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

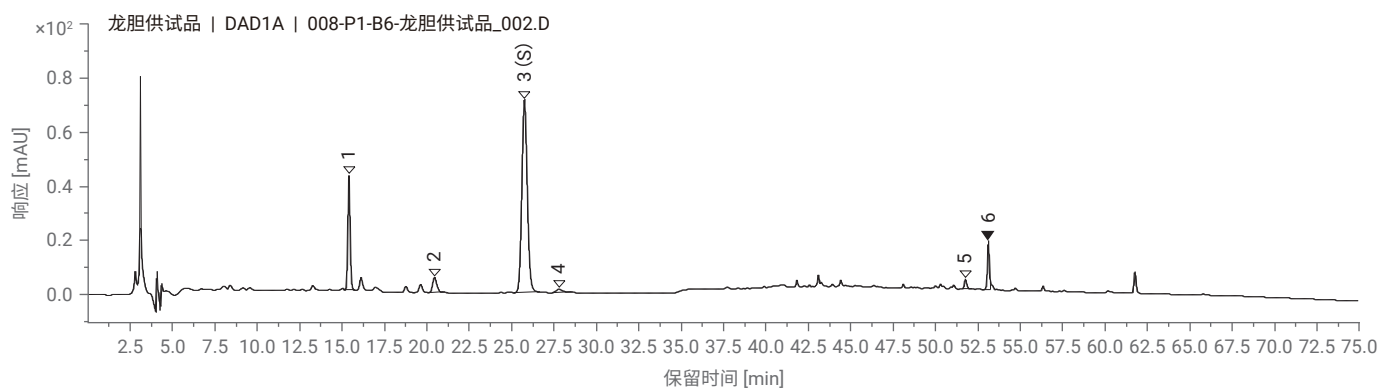
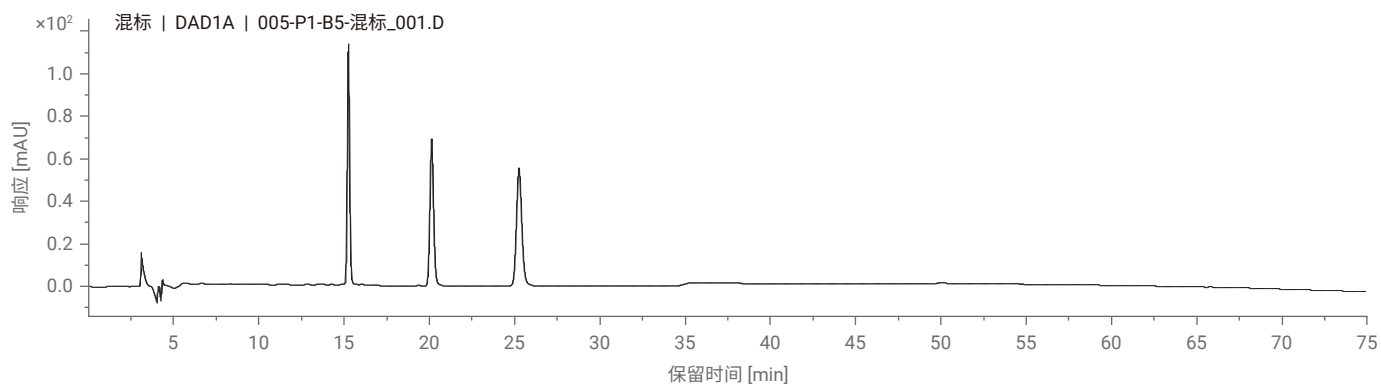
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.285				0.245	0.105~0.429	55741
2	3.057						29827
3 (S)	3.808						32965
4	4.123		1.083	0.963-1.177			17513
5	7.604		1.997	1.962-2.398			682345
6	7.807		2.050	2.016-2.464	0.094	0.039-0.156	844208

小结及注意事项

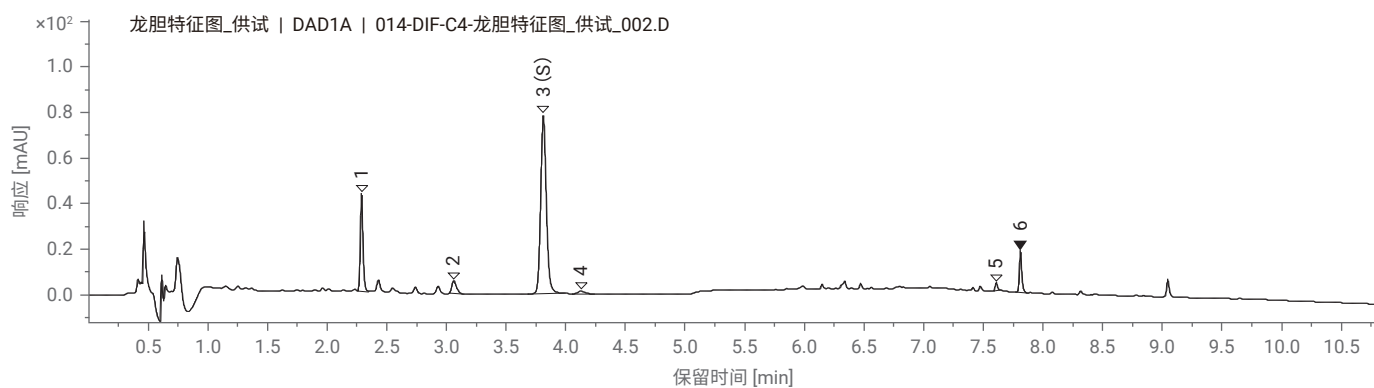
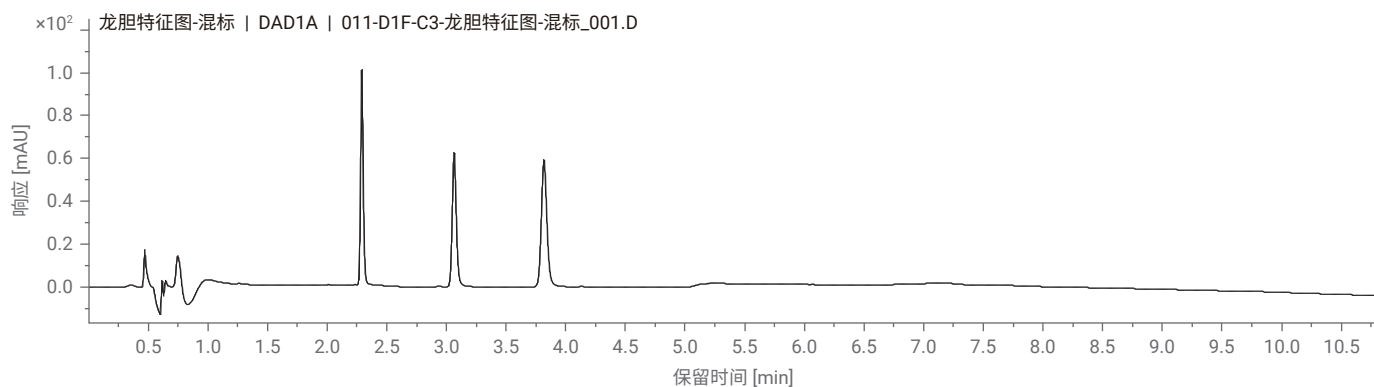
- UPLC 方法压力最高 590 bar
- HPLC 转换到 UPLC 方法后, 分析时间由 75 分钟缩短 12 分钟

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

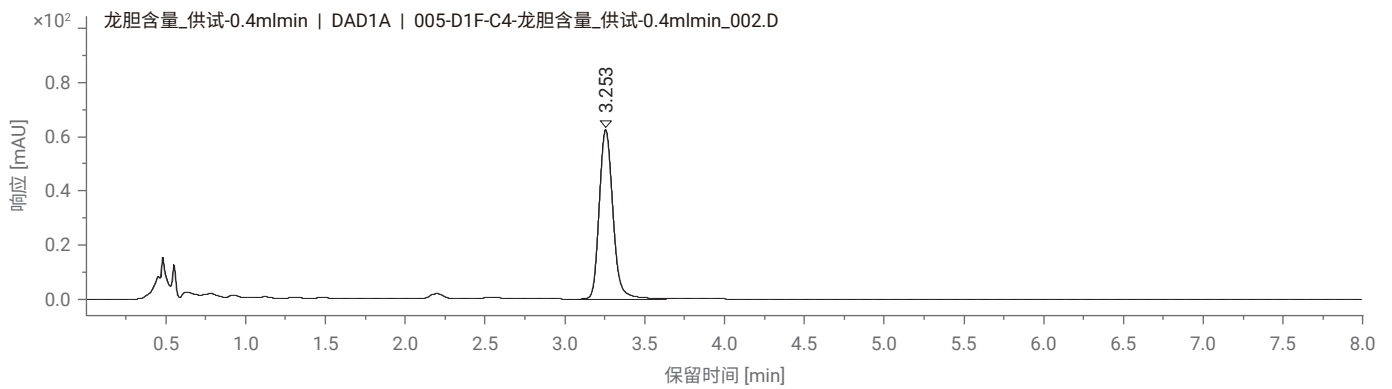
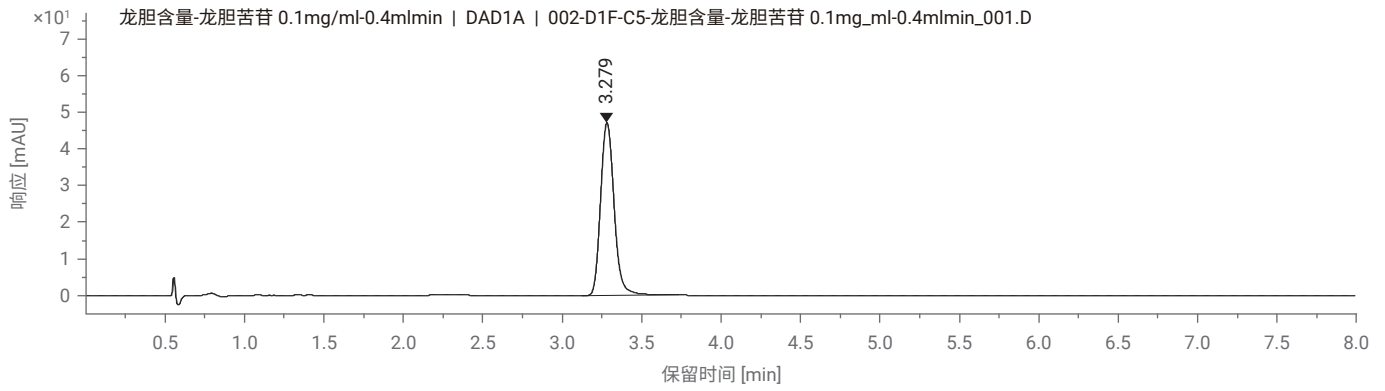
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
龙胆苦苷	2.173	6539	1.18	65.71

小结及注意事项

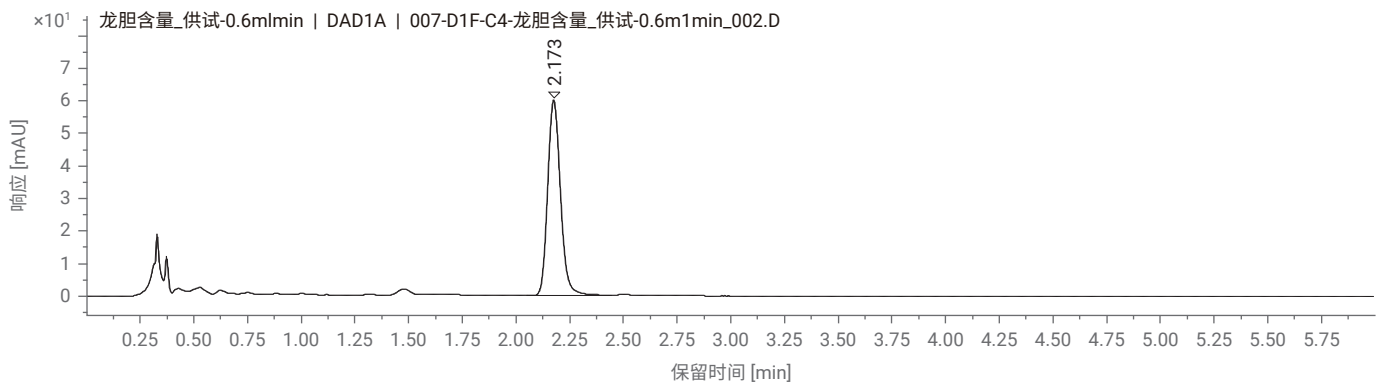
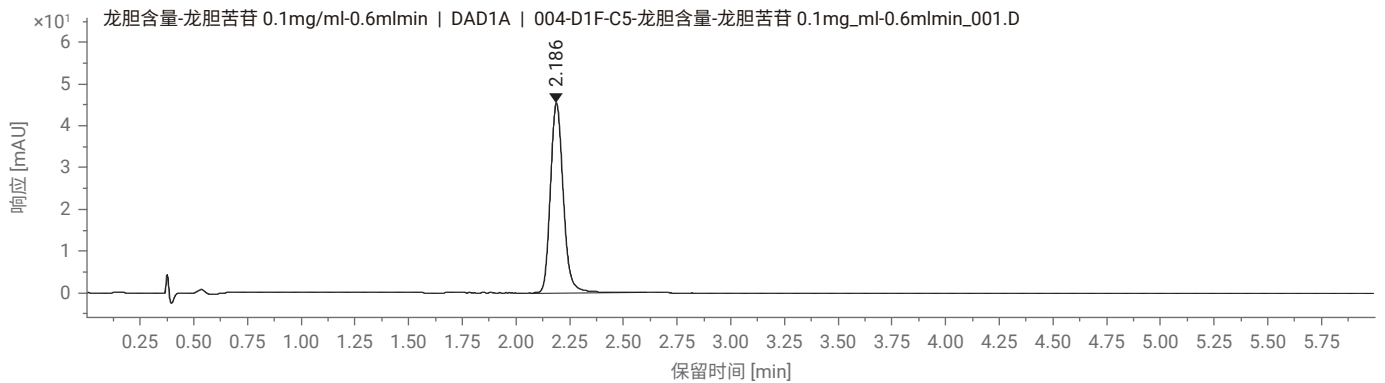
- 原始方法压力最高 614 bar, 加速方法压力最高 884 bar
- 加速后分析时间缩短 2 分钟, 分析速度提升 25%

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

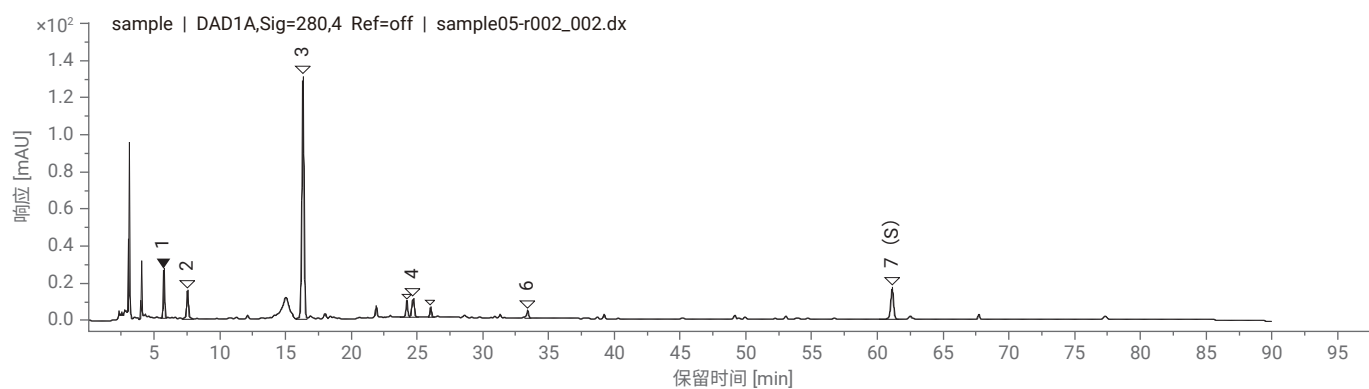
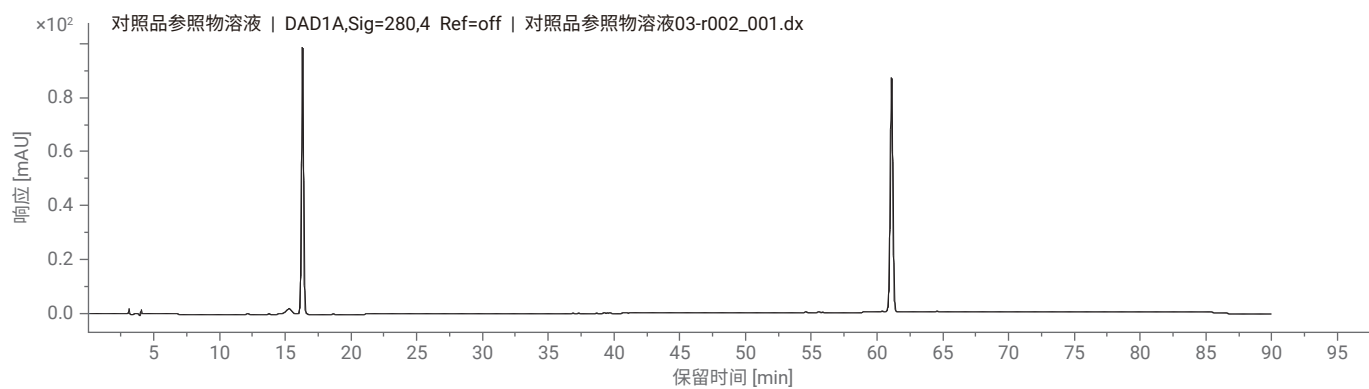
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	0.690		0.079	0.09-0.11			6582
2	0.898		0.103	0.117-0.143			6499
3	1.998	桑皮苷 A	0.228				18883
4	3.327		0.380	0.378-0.462			28850
5	3.549		0.406	0.396-0.484			139859
6	4.632		0.530	0.495-0.605			228822
7(S)	8.745	桑黄酮 G					313545

小结及注意事项

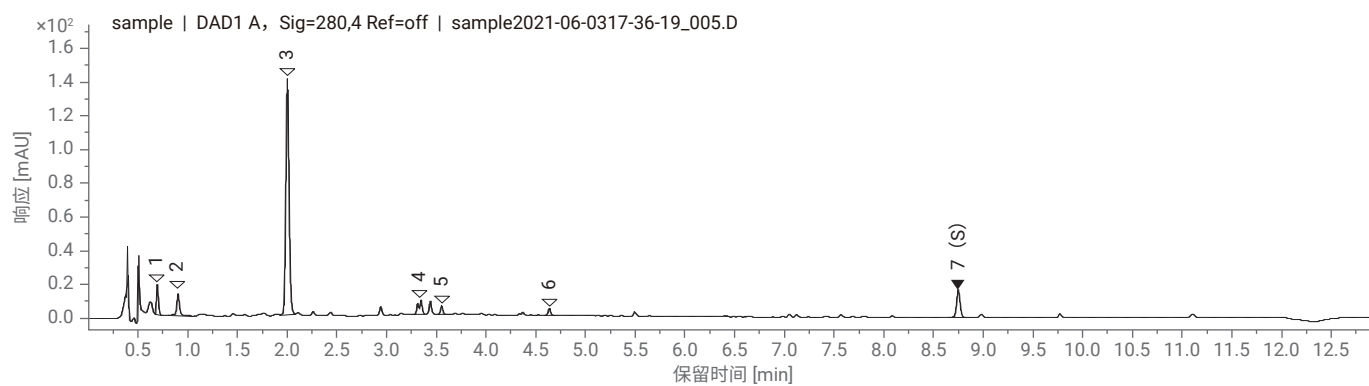
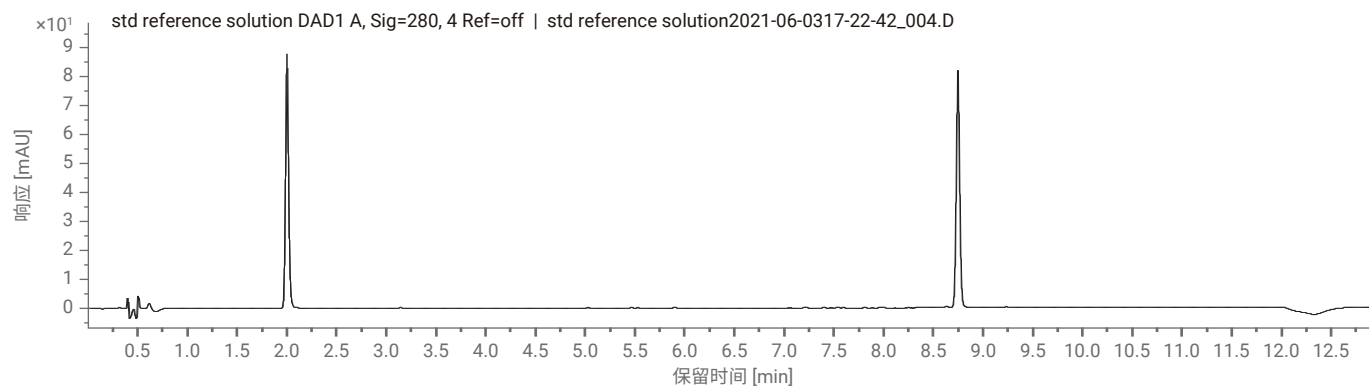
- 原始方法压力最高 162 bar, UHPLC 方法压力最高 607 bar; 方法转换后由 90 分钟缩短至 13 分钟
- UHPLC 色谱柱与 HPLC 填料类型不同, 导致色谱峰 4 与前面峰出峰顺序发生变化

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

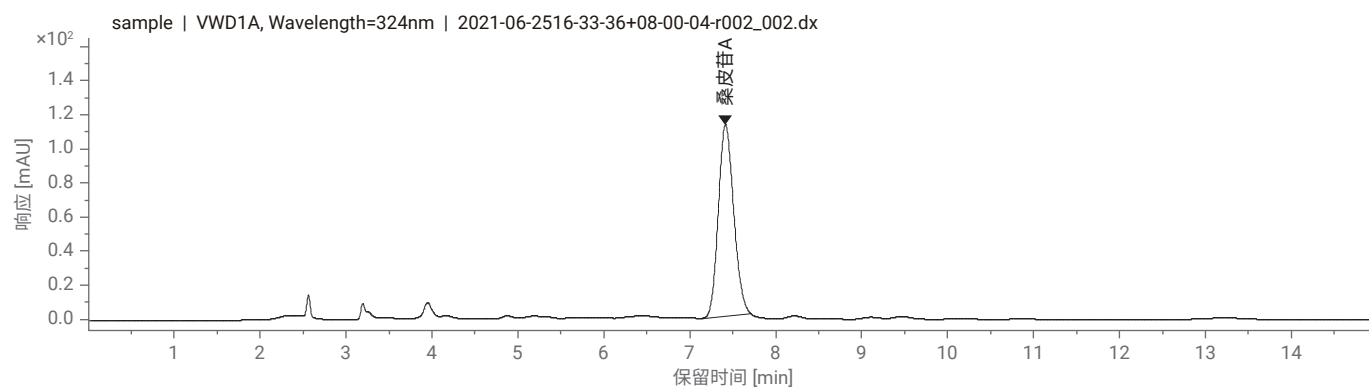
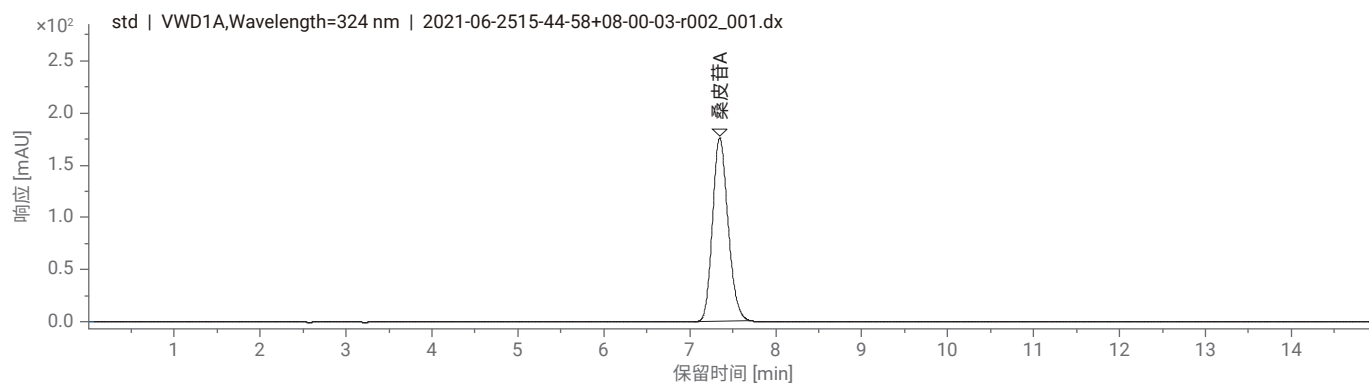
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
桑皮苷 A	1.867	8690	1.210	27.2

小结及注意事项

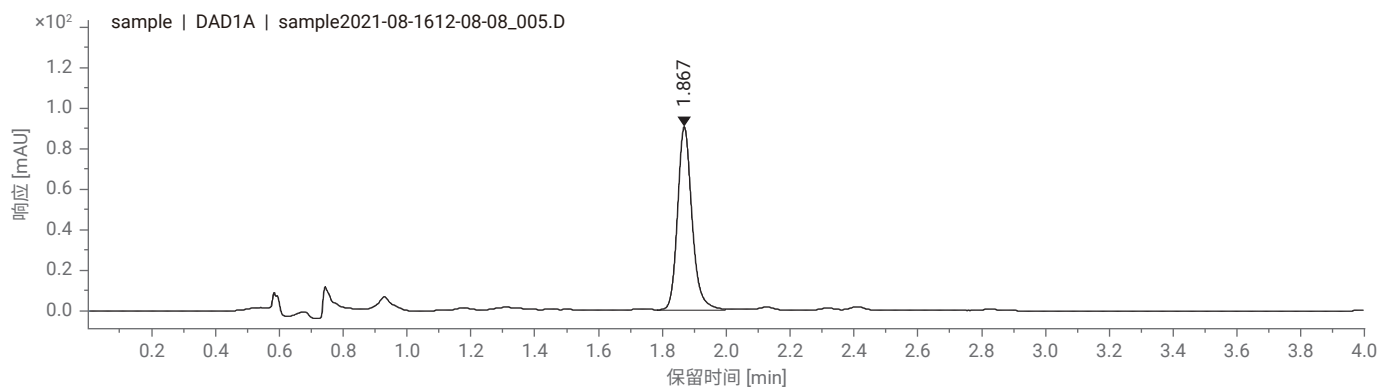
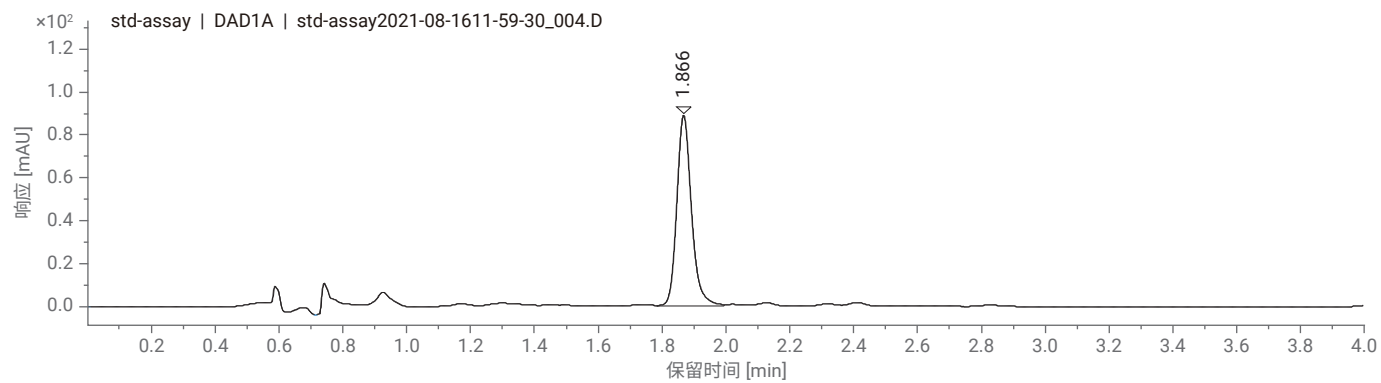
- HPLC 的特征图谱和含量方法, 都存在溶剂效应, 其中, 含量方法进行了进样器至色谱柱之间的管路加粗, 可以明显改善
- HPLC 方法转换为 UHPLC 后, 分析时间由 15 分钟可以缩短至 4 分钟; 柱效由 8054 提高到 8690

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

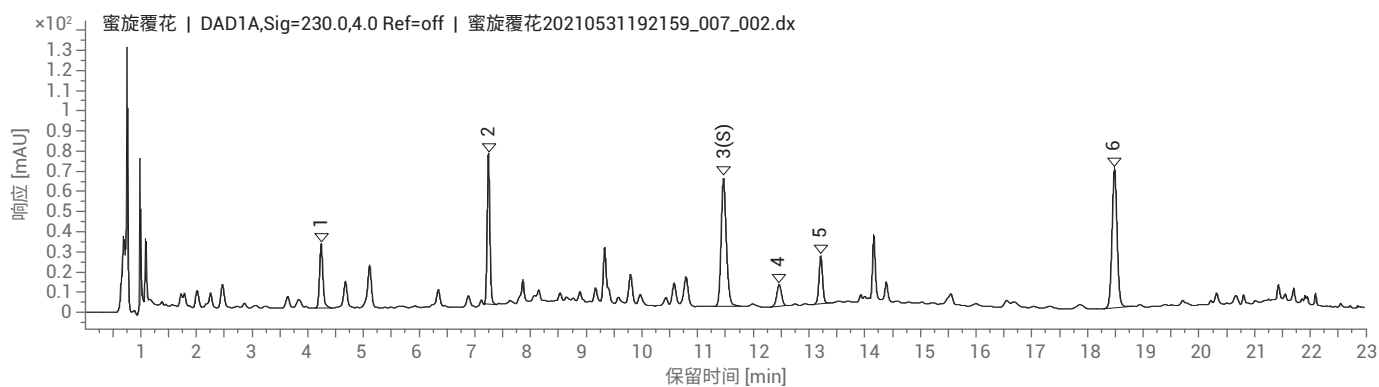
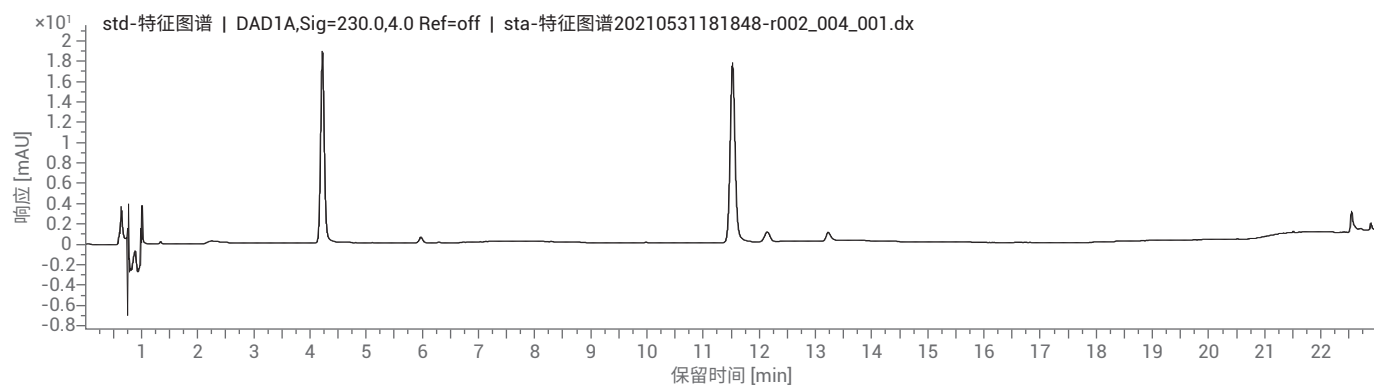
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.149	绿原酸	0.368				21001
2	3.688	1,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	0.632	0.549-0.671			94947
3 (S)	5.840	3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸					56338
4	6.284		1.076	0.981-1.199			77203
5	6.698	4,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	1.147	1.035-1.265			186554
6	9.304		1.593	1.476-1.804			159856

小结及注意事项

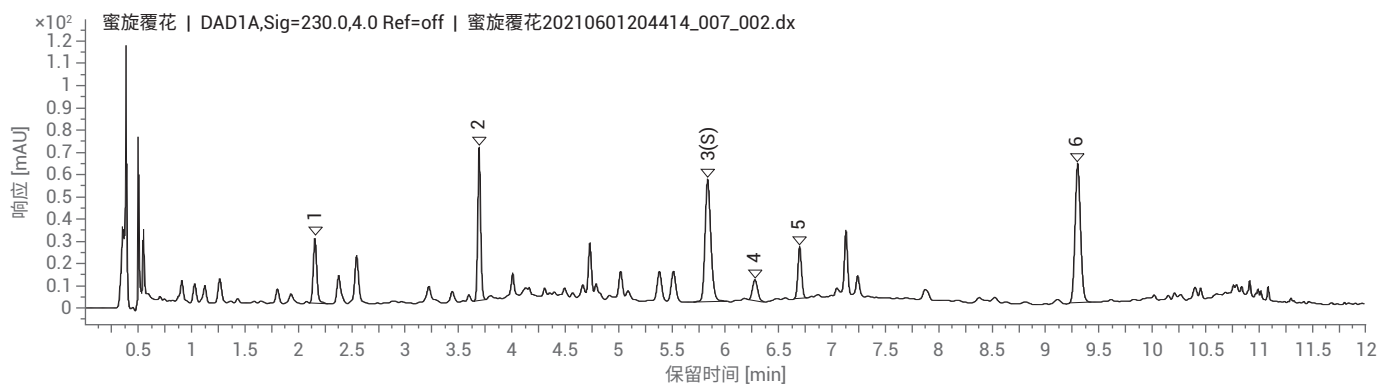
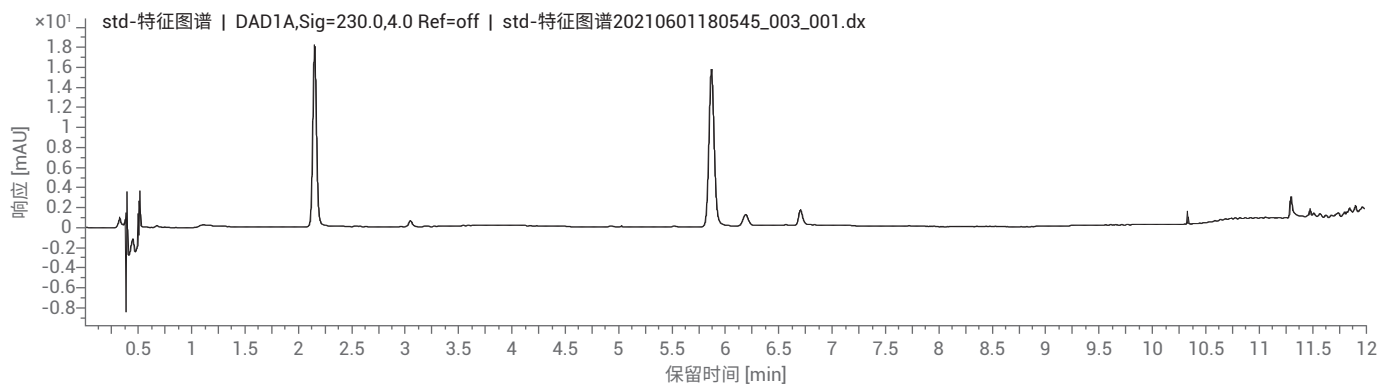
- 蜜旋覆花和旋覆花样品加速实验后运行时间由 3 分钟改为 5 分钟后重现性更好。如遇到类似现象, 建议调整后运行时间

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

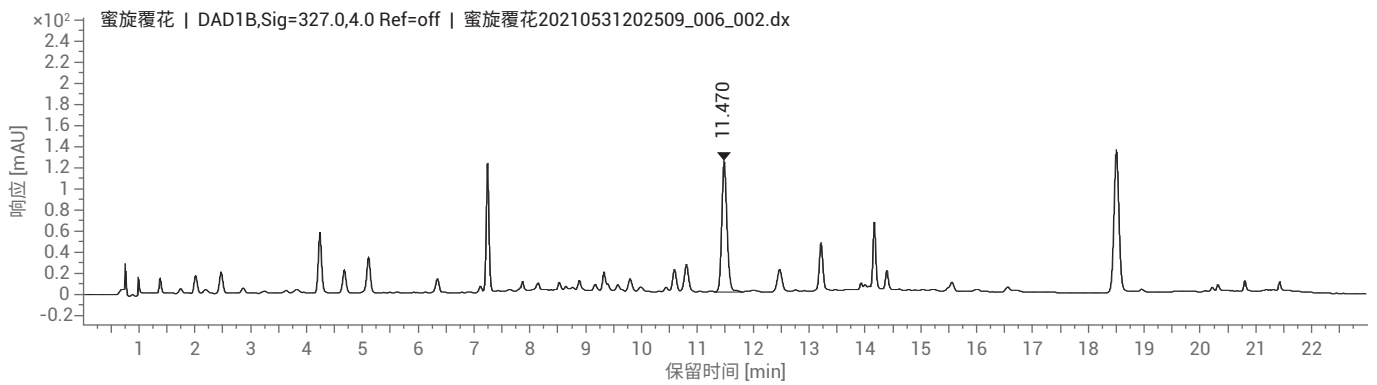
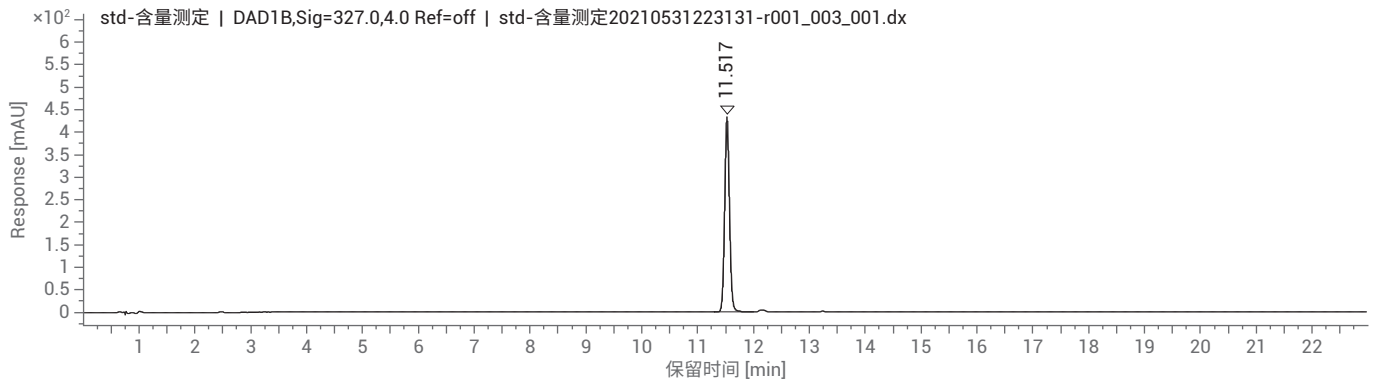
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	11.470	76593	0.79	7.834

加速方法

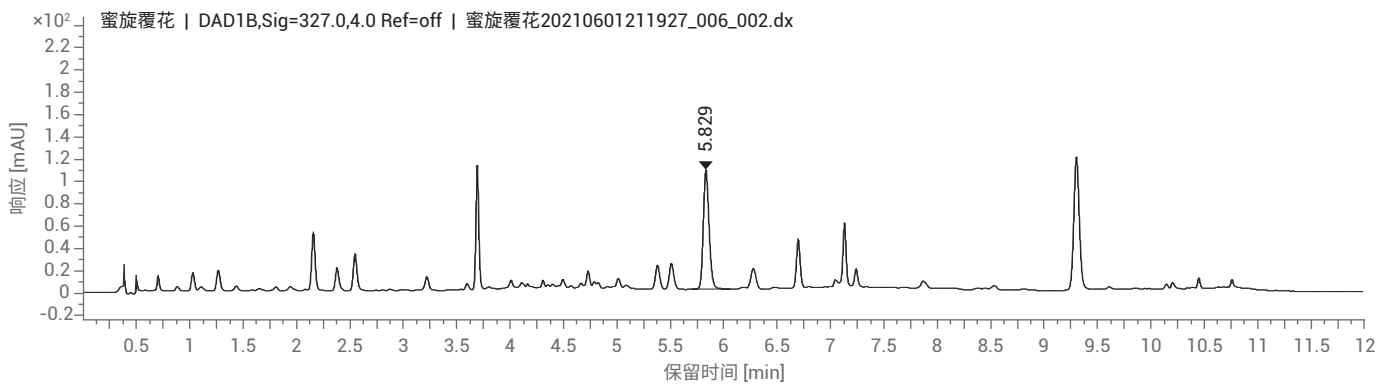
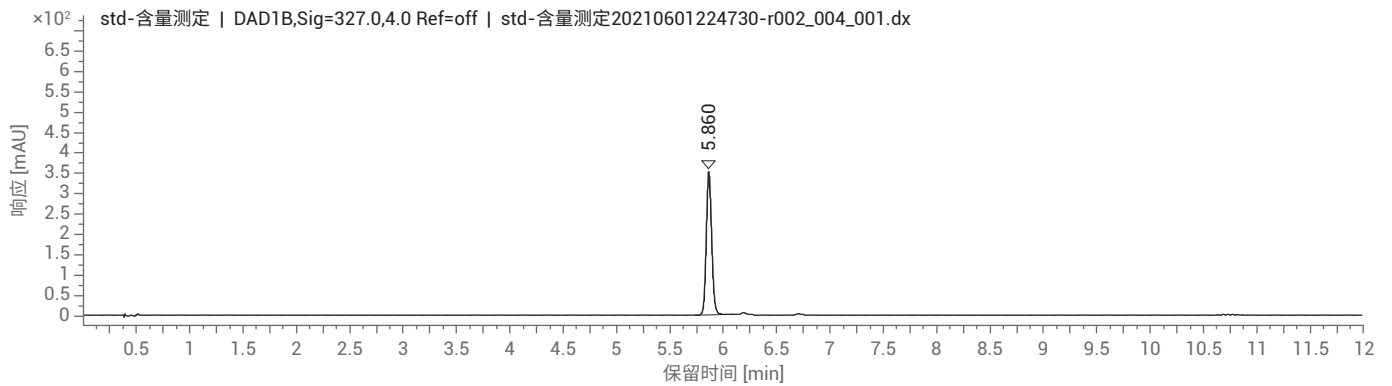
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	5.829	56739	0.78	8.041

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

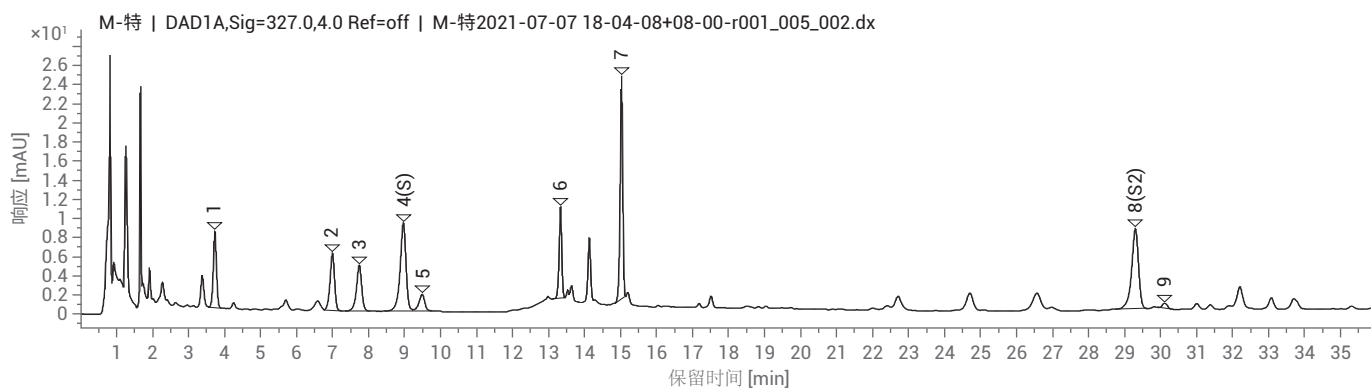
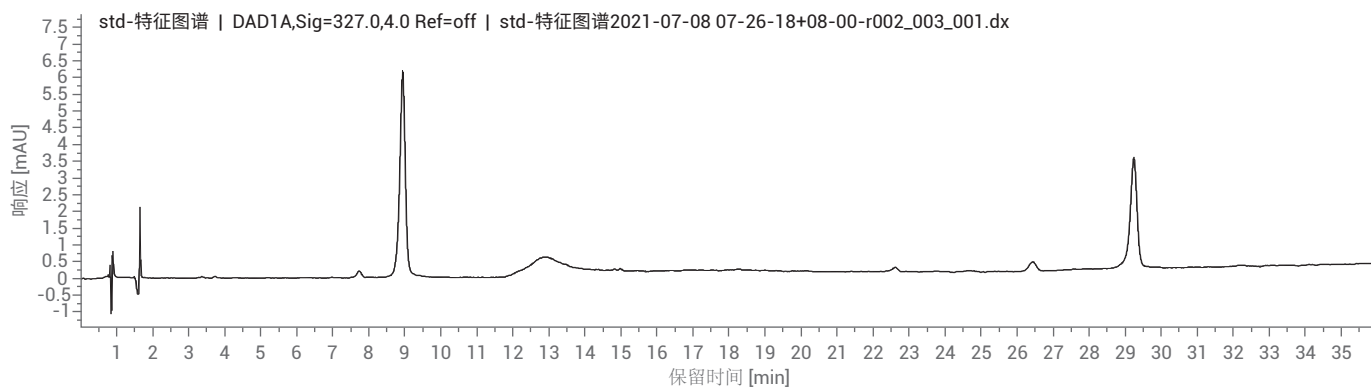
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	3.724	新绿原酸	0.415	0.378~0.462			8686
2	6.989		0.780	0.729~0.891			15473
3	7.741	隐绿原酸	0.864	0.828~1.012			15001
4 (S1)	8.963	绿原酸					16419
5	9.481	咖啡酸	1.058	1.017~1.243			18559
6	13.313		1.485	1.269~1.551			177675
7	15.015	1,3-O二咖啡酰奎宁酸	1.675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

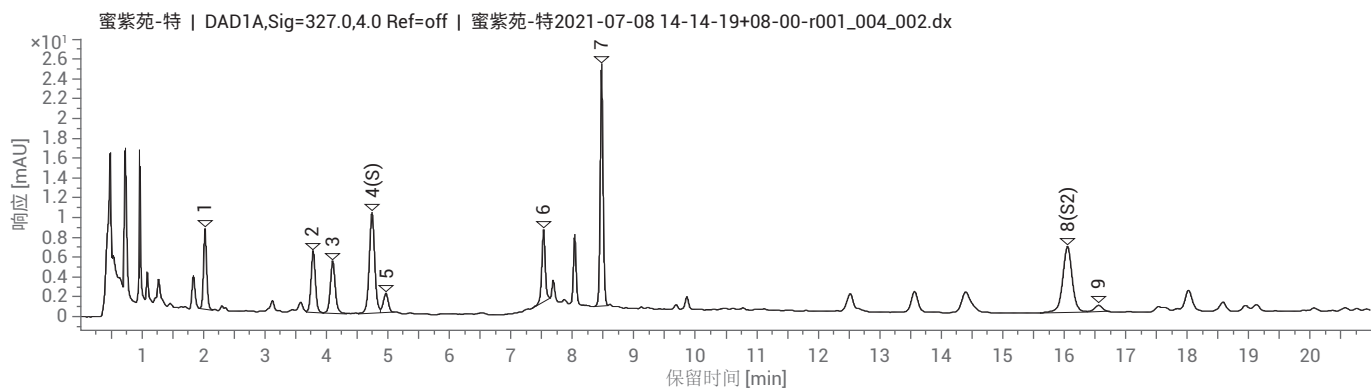
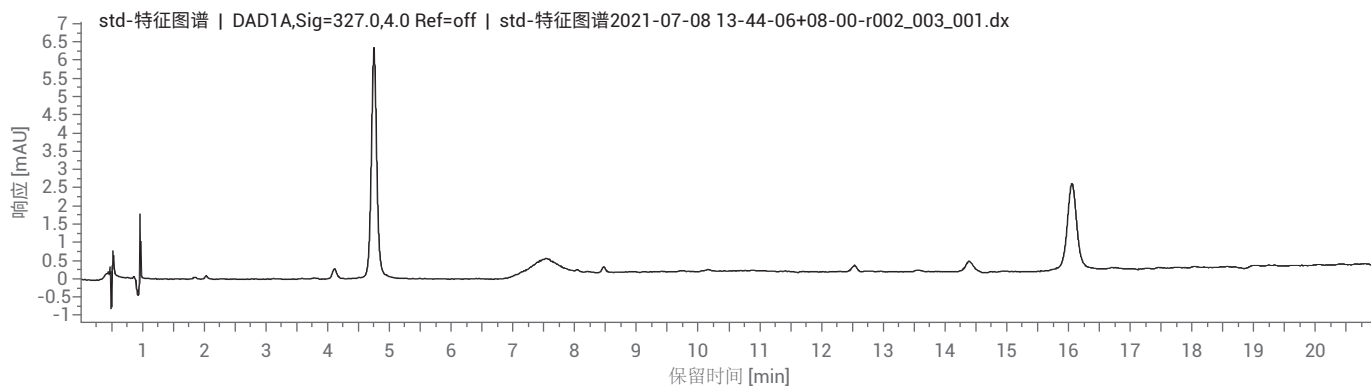
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.019	新绿原酸	0.426	0.378~0.462			7928
2	3.779		0.798	0.729~0.891			14472
3	4.096	隐绿原酸	0.865	0.828~1.012			13828
4 (S1)	4.735	绿原酸					14654
5	4.960	咖啡酸	1.048	1.017~1.243			17771
6	7.526		1.589	1.269~1.551			89208
7	8.469	1,3-O二咖啡酰奎宁酸	1.789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

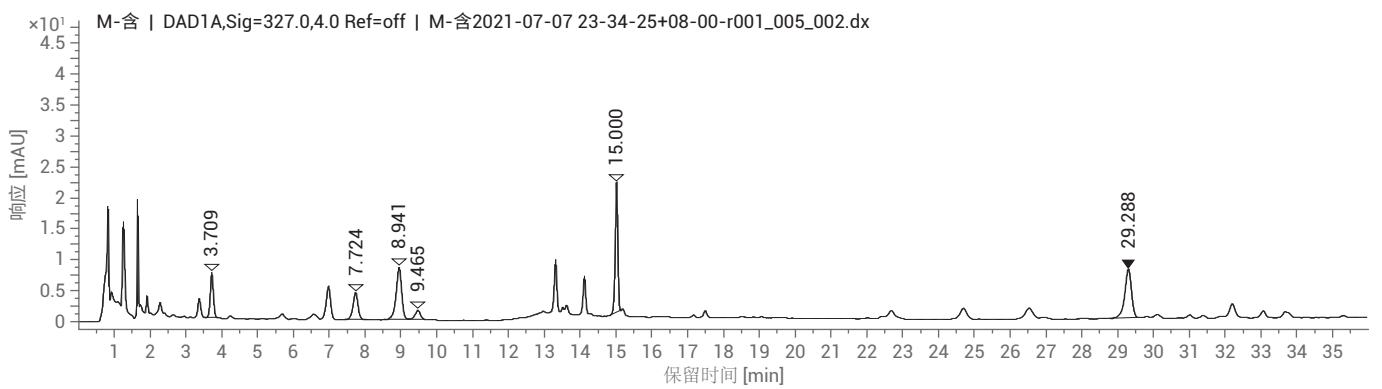
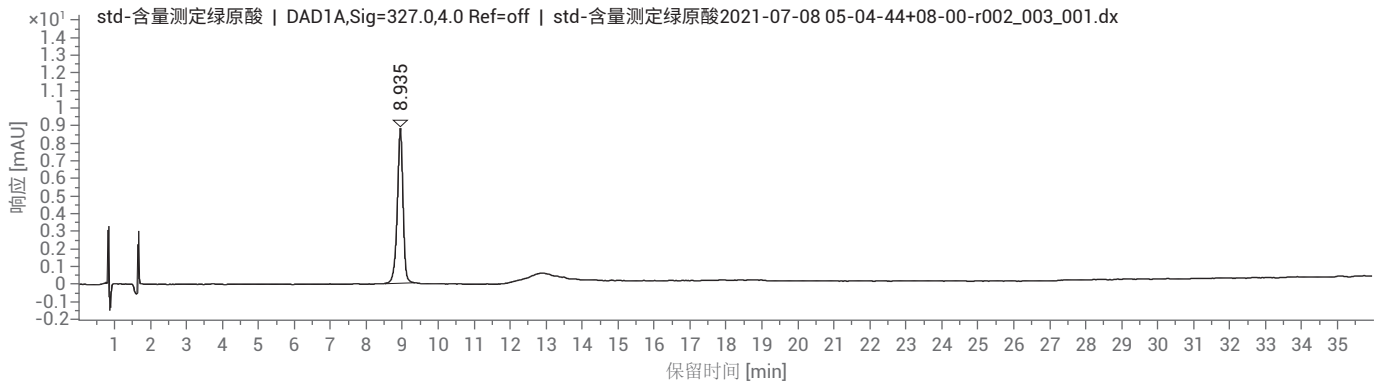
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
新绿酸	3.709	9151	1.00	0.312
隐绿酸	7.724	15397	0.89	0.345
绿原酸 (S)	8.941	17128	0.87	0.671
咖啡酸	9.465	19955	0.87	0.061
1,3-O-二咖啡酰奎宁酸	15.000	222009	0.92	0.707
1,5-O-二咖啡酰奎宁酸	29.283	127694	0.87	0.605
总量				2.701

加速方法

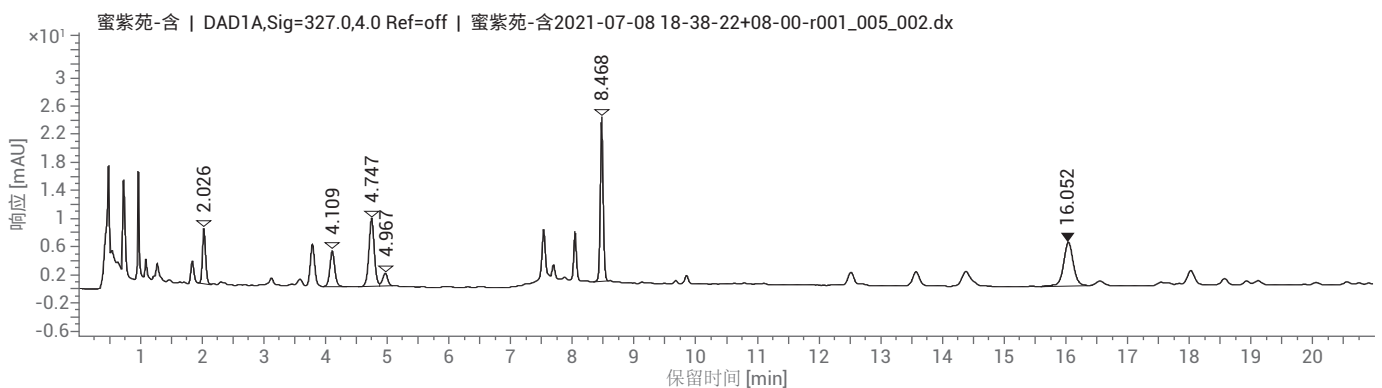
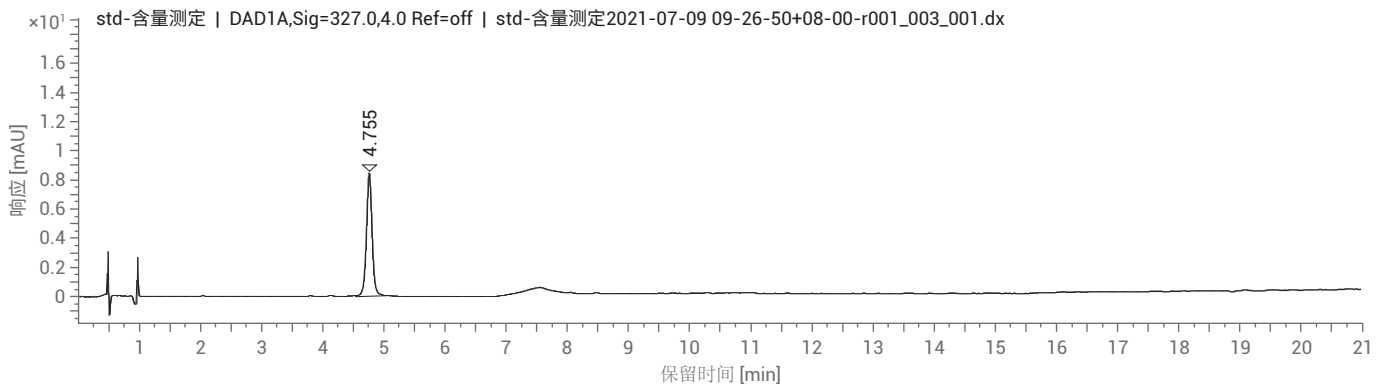
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
新绿酸	2.026	7839	1.13	0.315
隐绿酸	4.109	13886	1.05	0.349
绿原酸 (S)	4.747	14822	1.06	0.678
咖啡酸	4.967	17740	1.07	0.067
1,3-O-二咖啡酰奎宁酸	8.468	170596	1.11	0.749
1,5-O-二咖啡酰奎宁酸	16.052	53772	1.06	0.639
总量				2.797

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

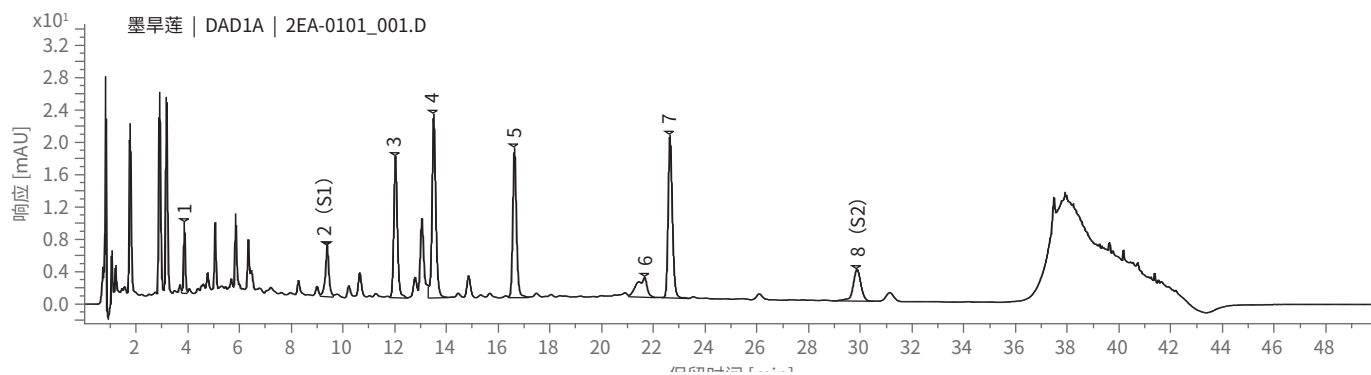
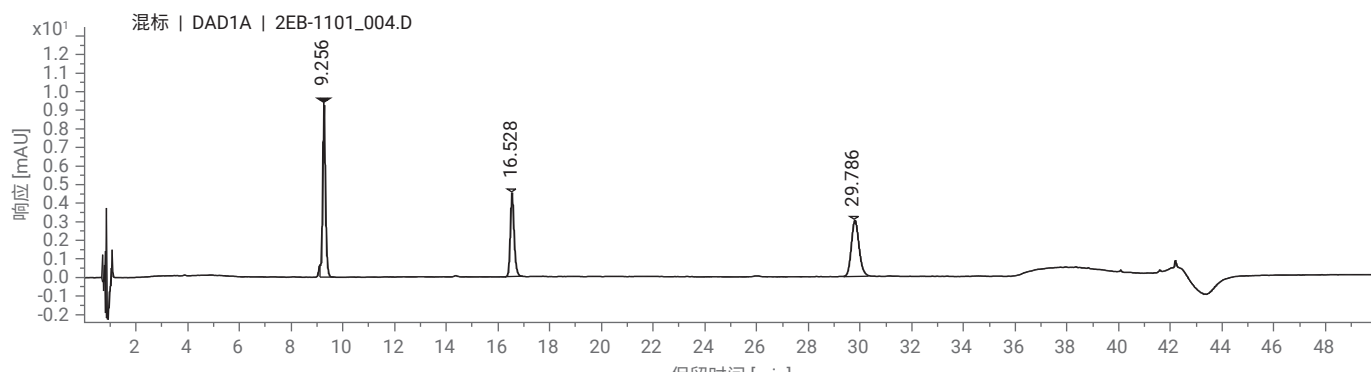
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	1.884	咖啡酸	0.40	0.40 ~ 0.50			14632
2(S1)	4.655	木犀草苷			0.67	≥0.26	21343
3	5.943	异绿原酸 B	1.28	1.16 ~ 1.42			27079
4	6.795		1.46	1.35 ~ 1.65			34057
5	8.268	4,5-二-O-咖啡酰奎宁酸					49471
6	10.901		0.73	0.66 ~ 0.80			29596
7	11.329		0.76	0.68 ~ 0.87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

小结及注意事项

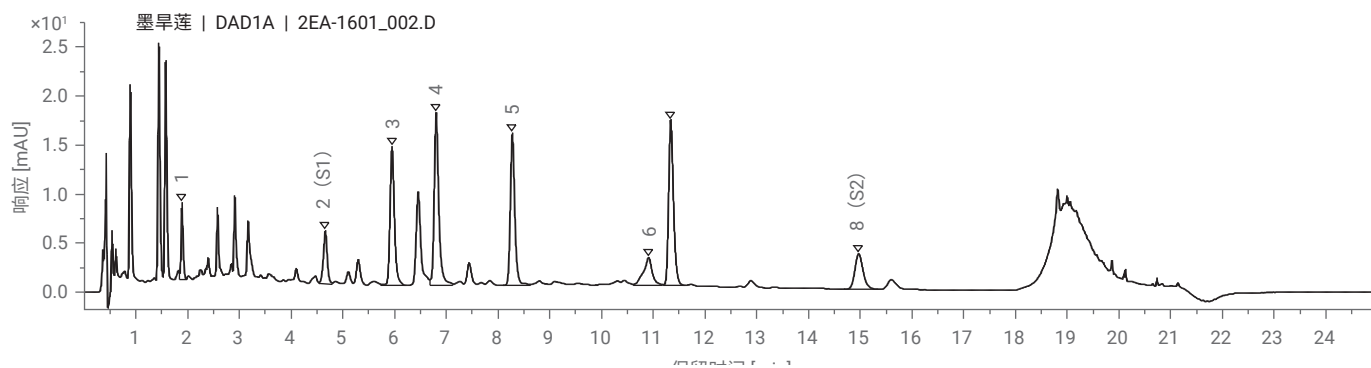
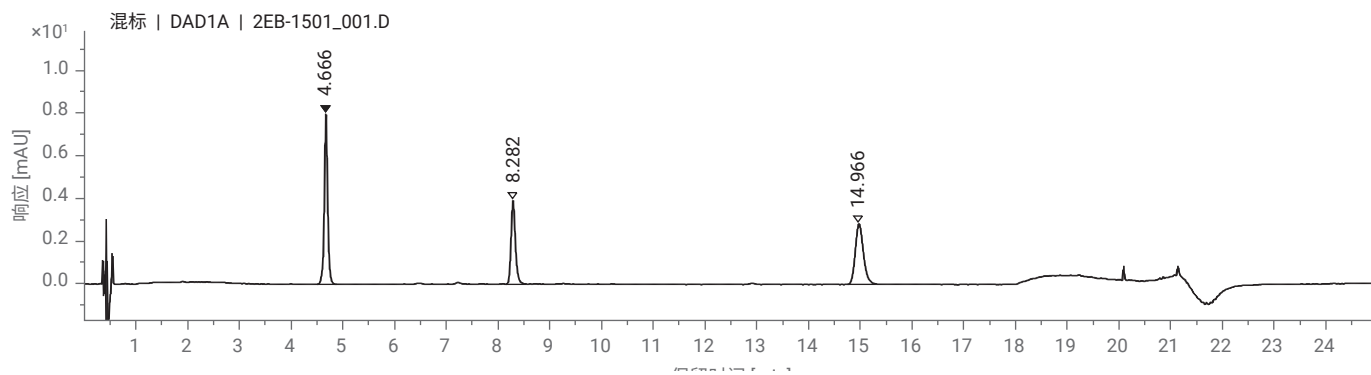
- 6 号特征峰有干扰
- 加速后分析时间由 50 分钟缩短至 25 分钟
- 加速后的 UHPLC 方法仍然能够满足标准特征图谱系统适用性及 RRT 要求

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

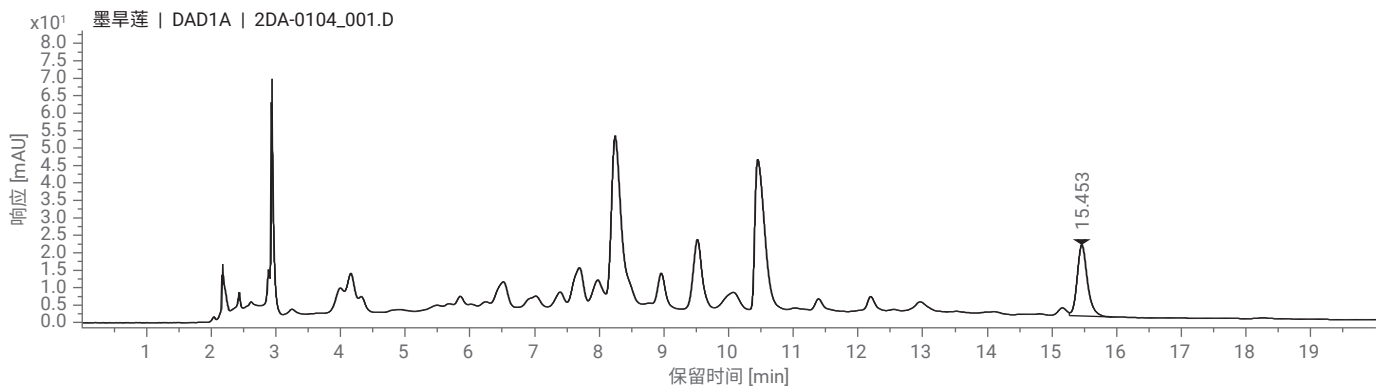
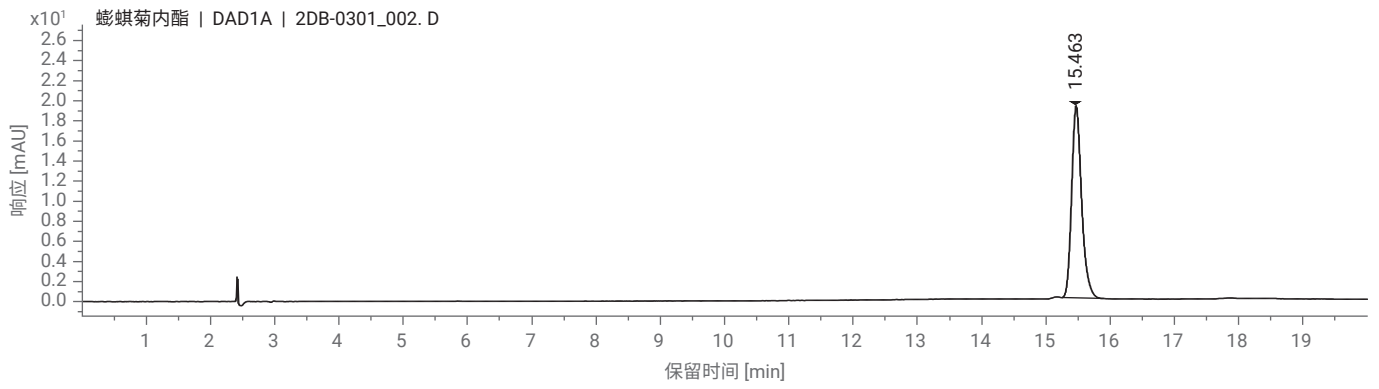
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (%)
蟛蜞菊内酯	3.431	76644	1.23	0.12

小结及注意事项

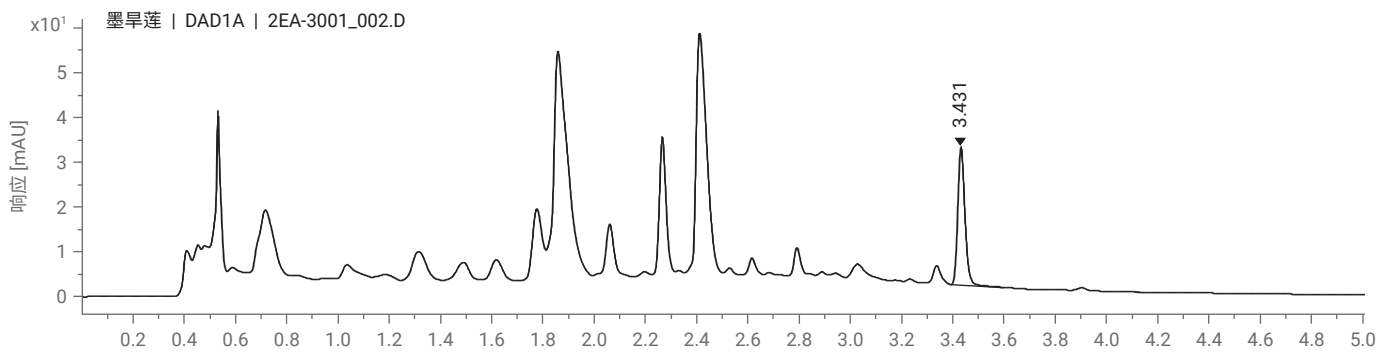
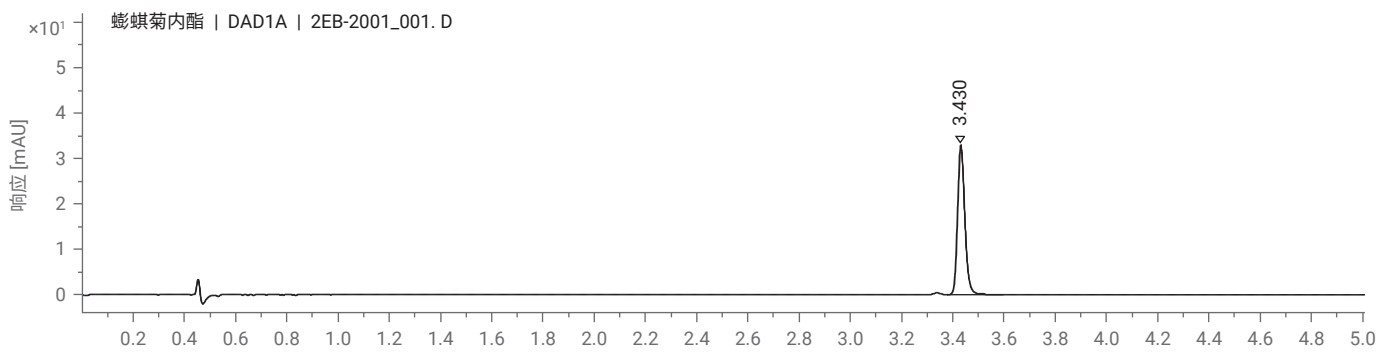
- 国标方法无后平衡时间, 建议 HPLC 后平衡 15 min, UHPLC 方法后平衡 3 min
- 将 HPLC 方法转化成 UHPLC, 分析时间由 20 分钟缩短至 5 分钟
- 转换后的 UHPLC, 供试品中蟛蜞菊内酯峰与前面的干扰峰分离度提高

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

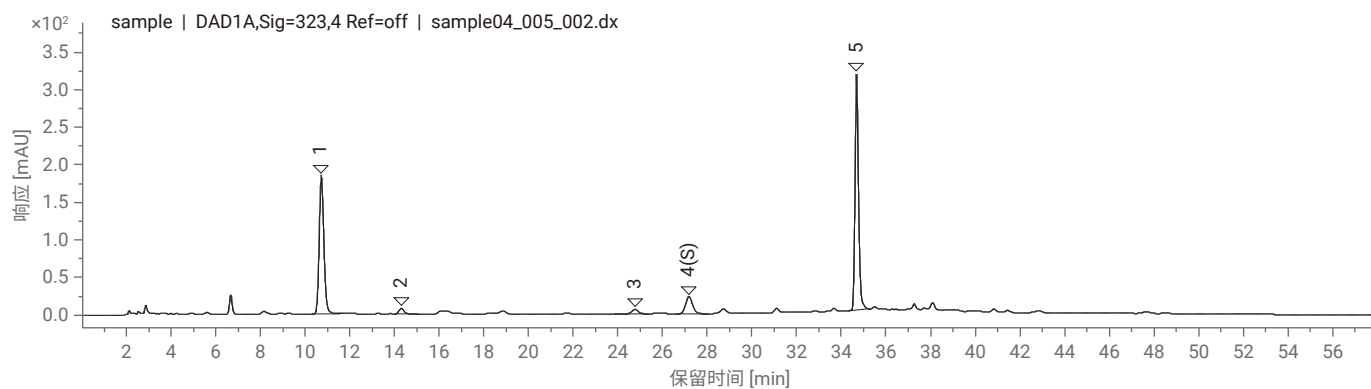
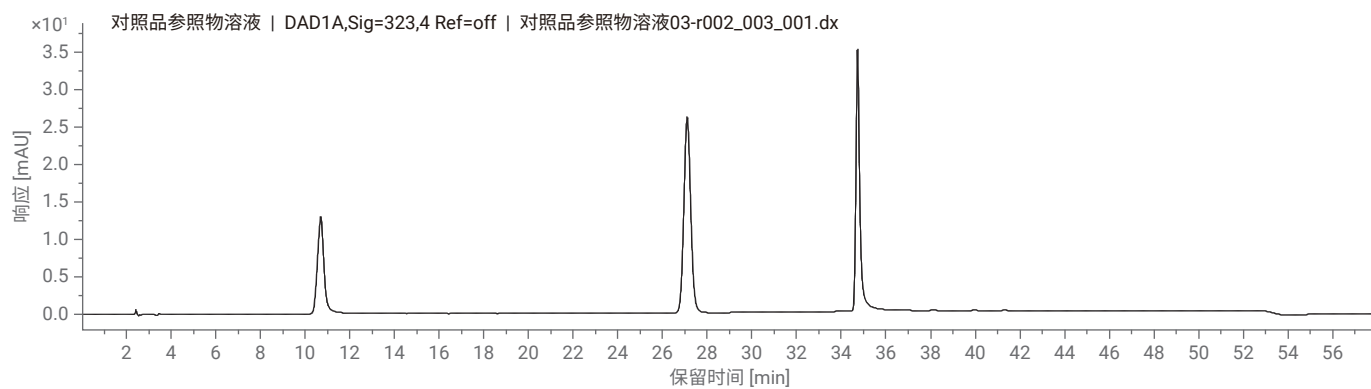
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.835	单咖啡酰酒石酸	0.434				19683
2	3.734	新绿原酸	0.572	0.491-0.600			35633
3	6.120	绿原酸	0.937	0.830-1.014			93654
4(S)	6.530	咖啡酸					118687
5	7.562	菊苣酸	1.158				276290

小结及注意事项

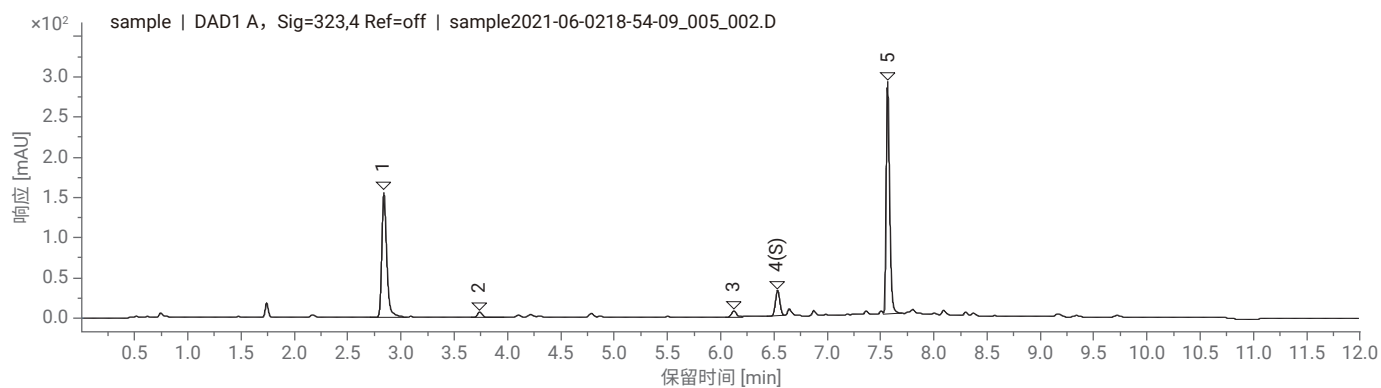
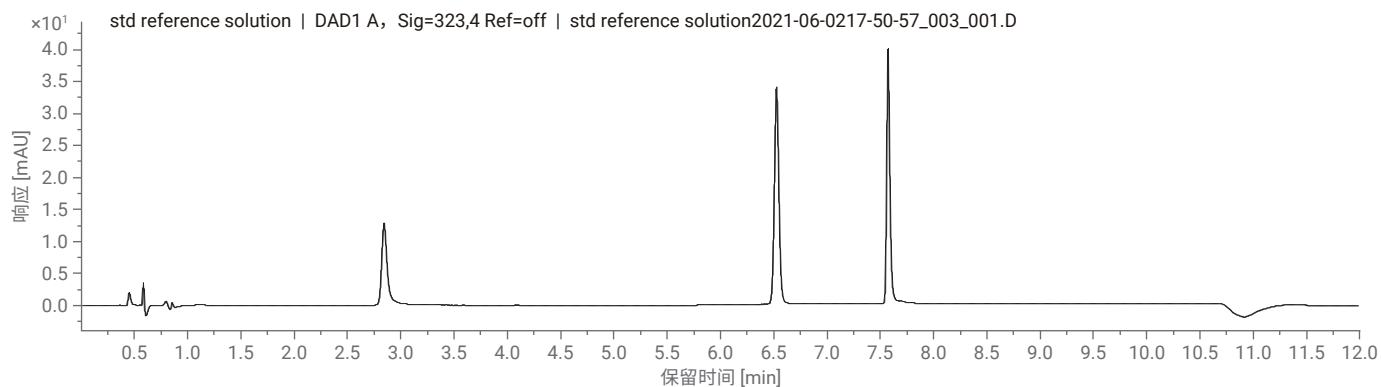
- 原始方法压力最高 165 bar, UHPLC 方法压力最高 607 bar

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	<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、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

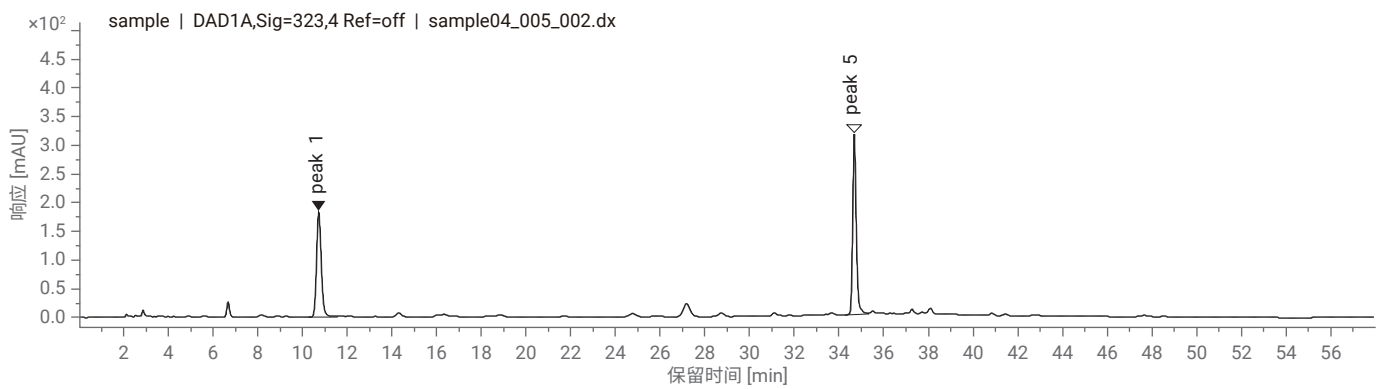
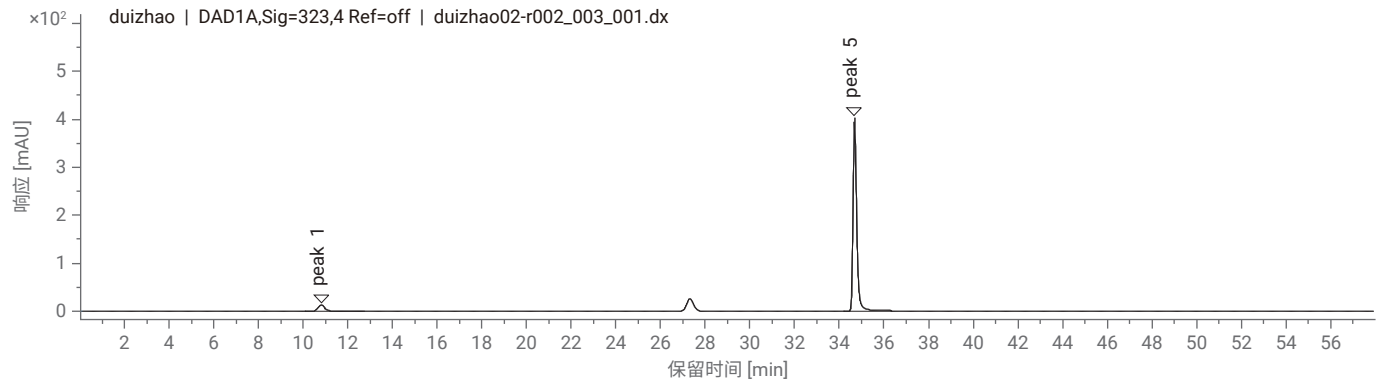
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
单咖啡酰酒石酸	2.835	19683	1.364	10.4
菊苣酸	7.562	276291	1.460	7.9

小结及注意事项

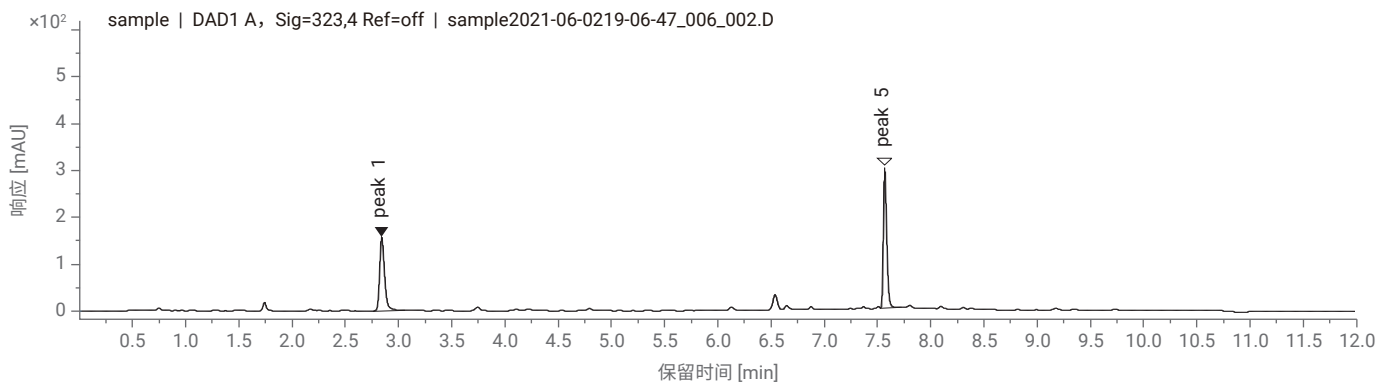
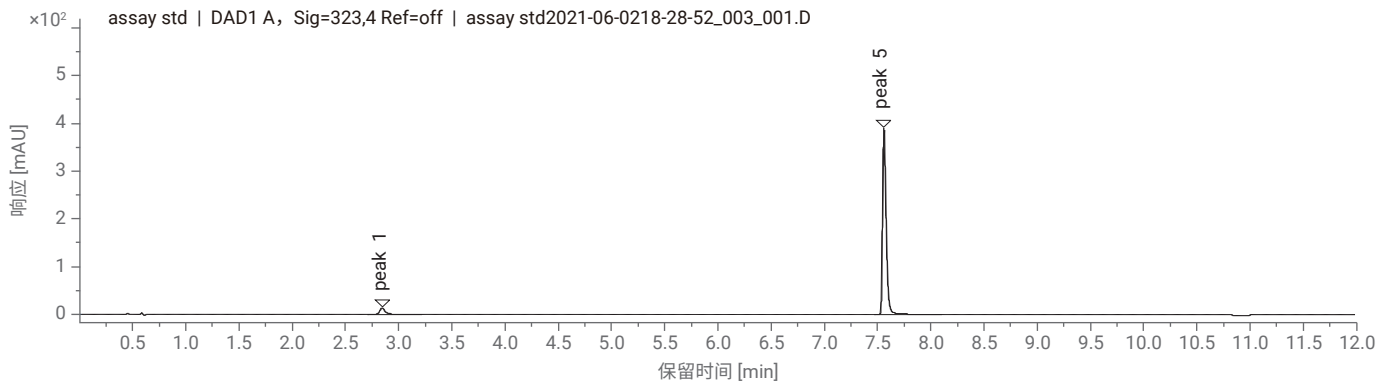
- 菊苣酸易残留, 洗针要用强溶剂清洗
- 含量方法和特征图谱方法一致, 从 HPLC 转至 UHPLC, 方法由 50 分钟可缩短至 10 分钟

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

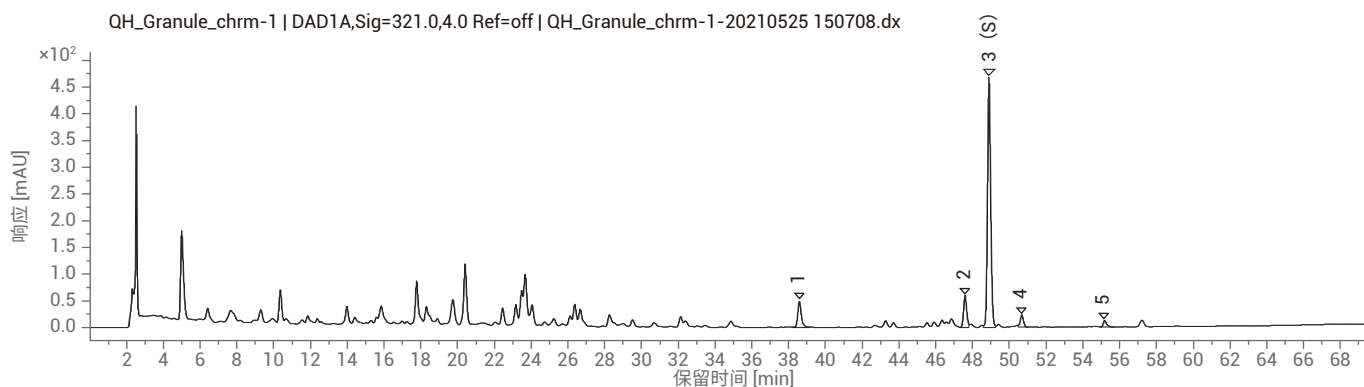
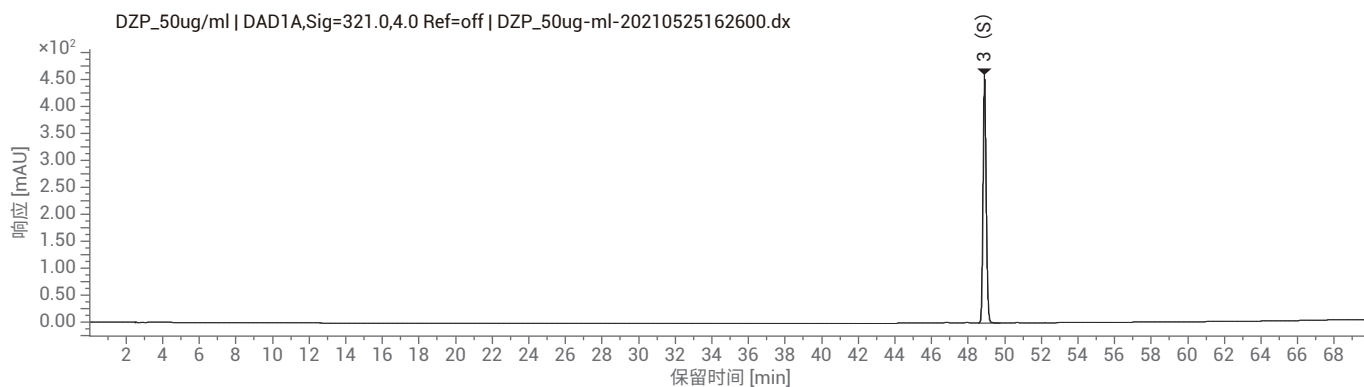
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	6.54		0.810	0.729~0.891			278738
2	7.885		0.976	0.878~1.074			436442
3 (S)	8.078	白花前胡甲素					461302
4	8.329		1.031	0.931~1.137			467422
5	9.01	白花前胡乙素	1.115	1.007~1.231			543671

小结及注意事项

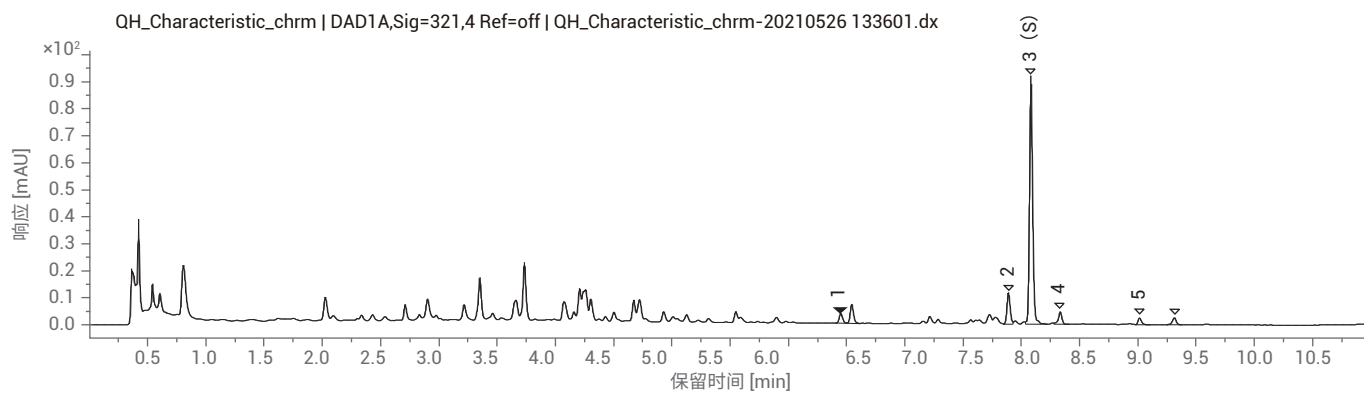
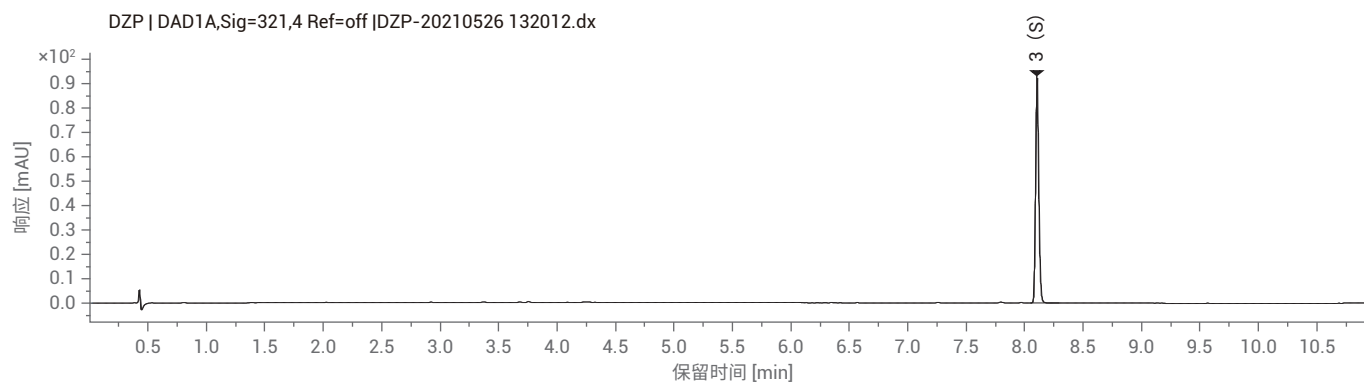
- 由于常规分析方法梯度表中未包含平衡过程, 因此设置了后运行时间 8 min
- 原始方法压力最高 191 bar, UHPLC 方法压力最高 780 bar, 方法转换后特征谱图中各特征峰完全满足标准要求
- 方法转换后分析时间缩短约 59 分钟
- 方法转换后, 原特征图谱中色谱峰 1 被分成两个峰, 两个峰的 UV 光谱图类似

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

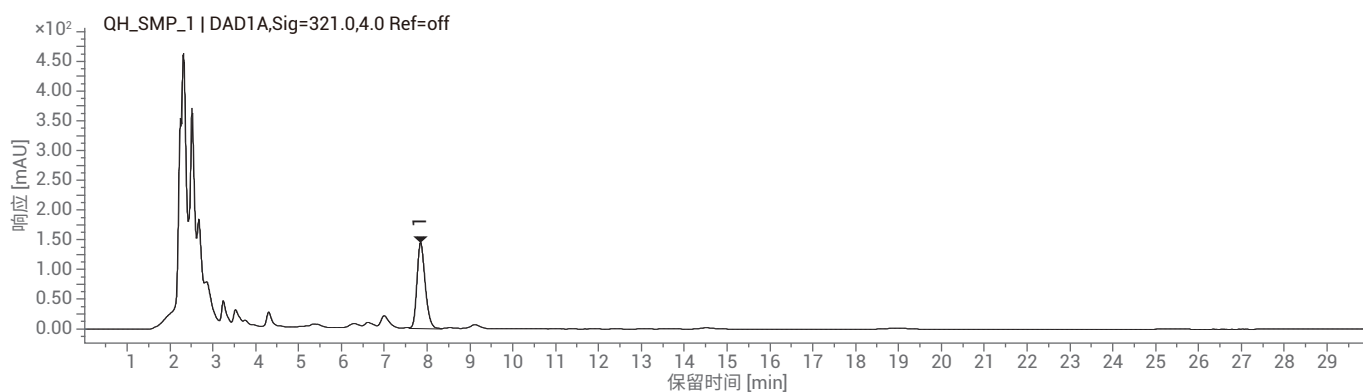
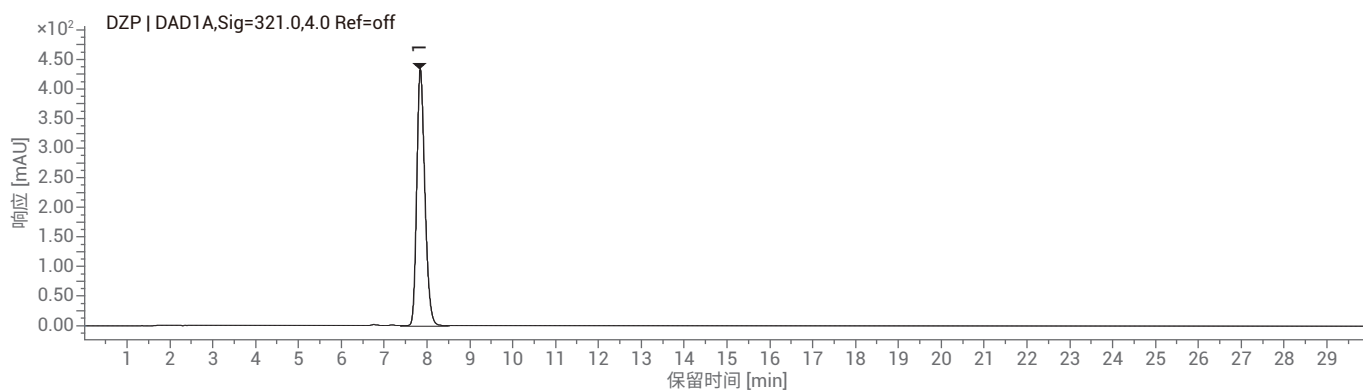
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
白花前胡甲素	1.816	8296	1.30	2.13

小结及注意事项

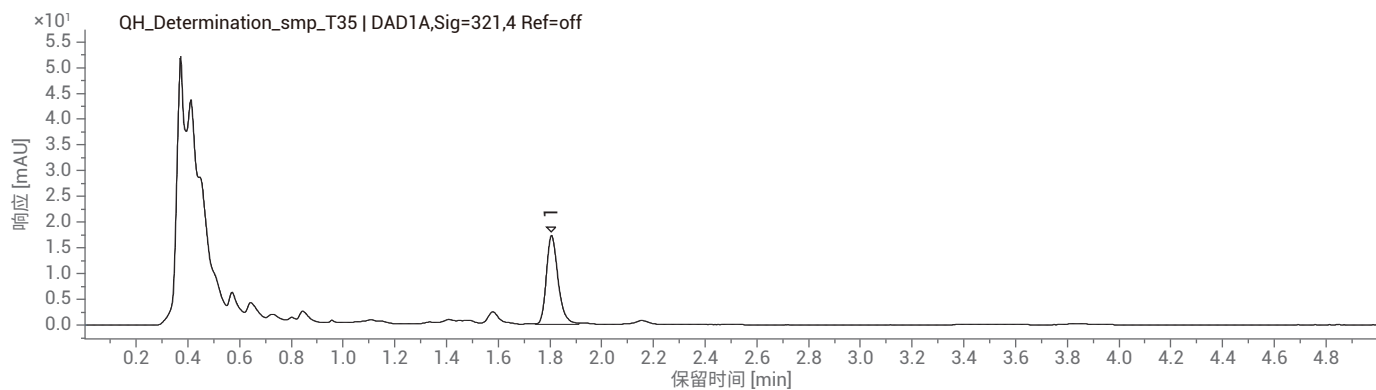
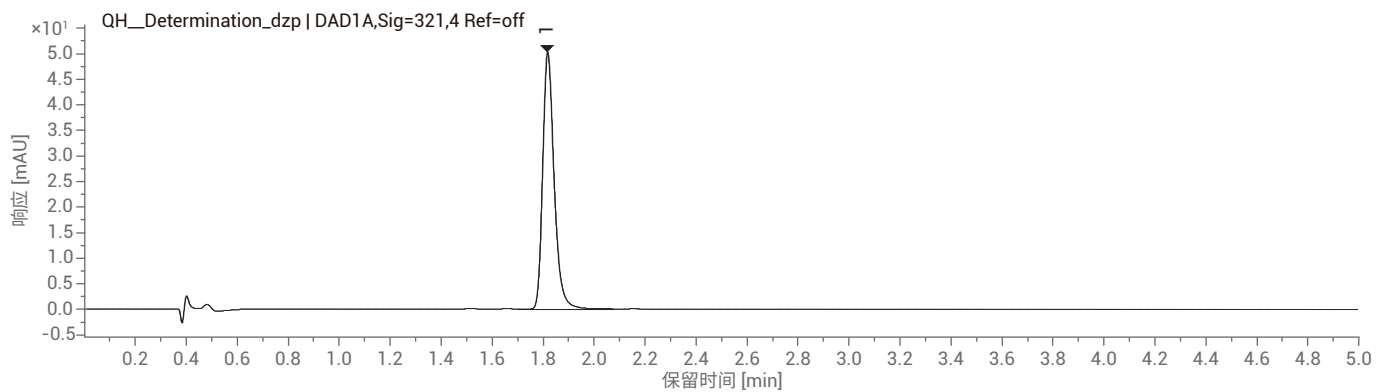
- 采用标准色谱条件, 目标峰分离良好; 理论板数和含量测定结果完全满足标准要求
- 采用 UHPLC 方法, 样品分离结果能匹配采用常规标准色谱条件的分离结果, 且目标峰保留时间缩短约 6 min, 含量测定结果仍在标准要求范围内
- 原始方法压力最高 158 bar, UHPLC 方法压力为 770 bar

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

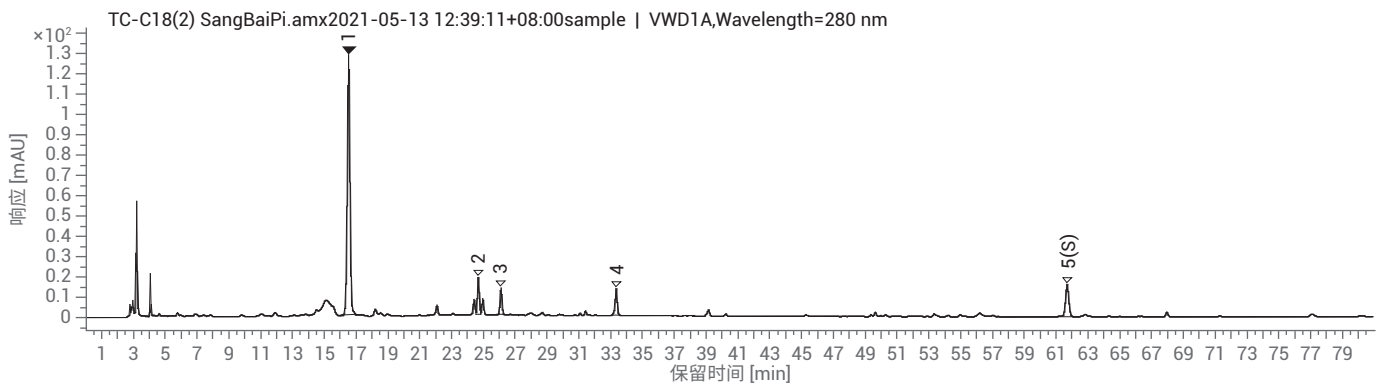
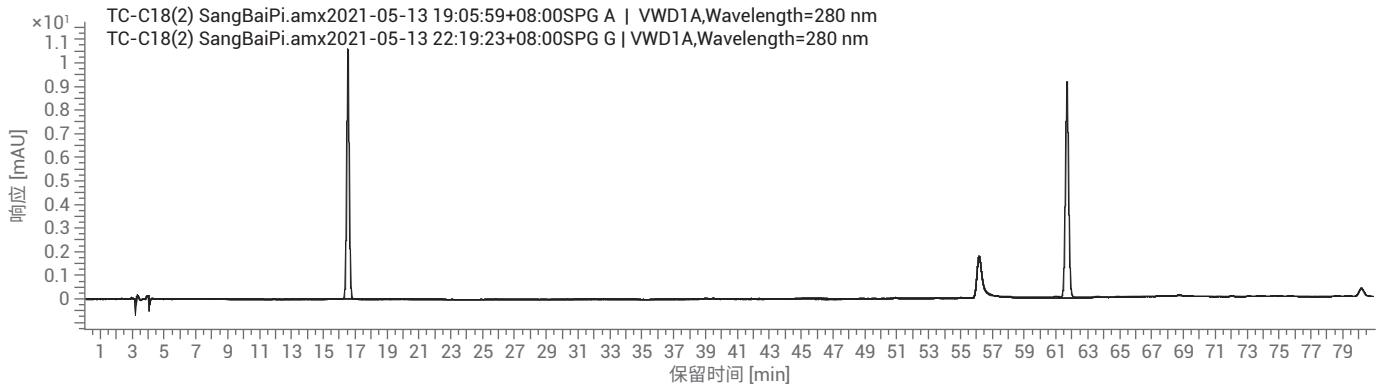
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.390	桑皮苷 A					6130.08
2	4.627		0.432	0.378~0.462			126426.59
3	4.770		0.445	0.394~0.482			181534.93
4	6.199		0.579	0.495~0.605			396299.50
5 (S)	10.710	桑黄酮 G					473799.60

小结及注意事项

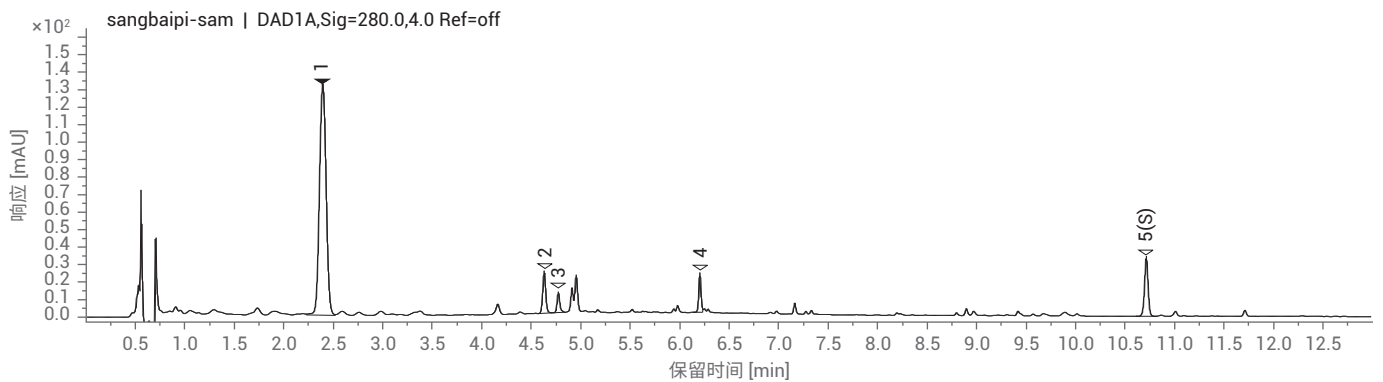
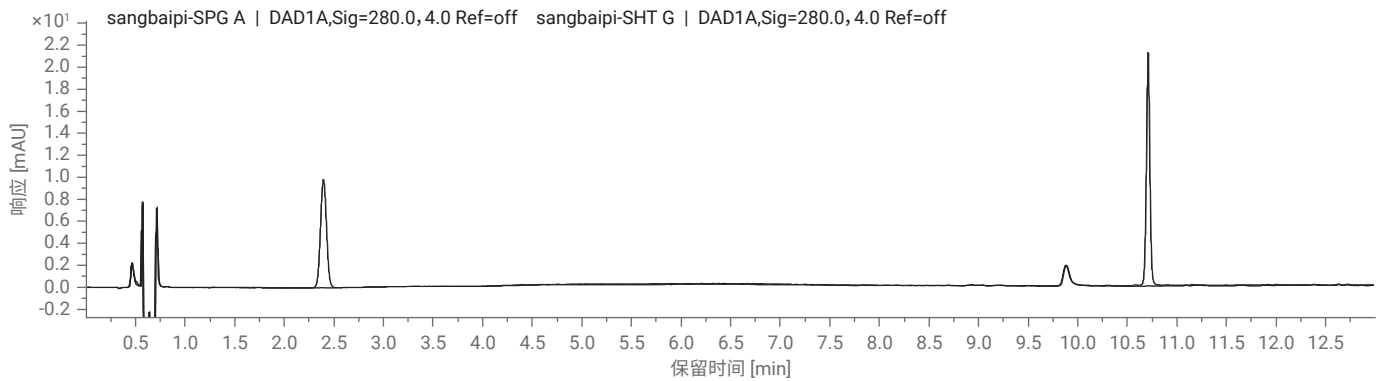
- 原始方法压力最高 144 bar, 转换后的 UHPLC 方法压力最高 400 bar
- 用 UHPLC 方法分析时间缩短 55 分钟
- 国标中无后运行方法, 建议 HPLC 方法后运行时间 10 min, UHPLC 方法后运行时间 6 min

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

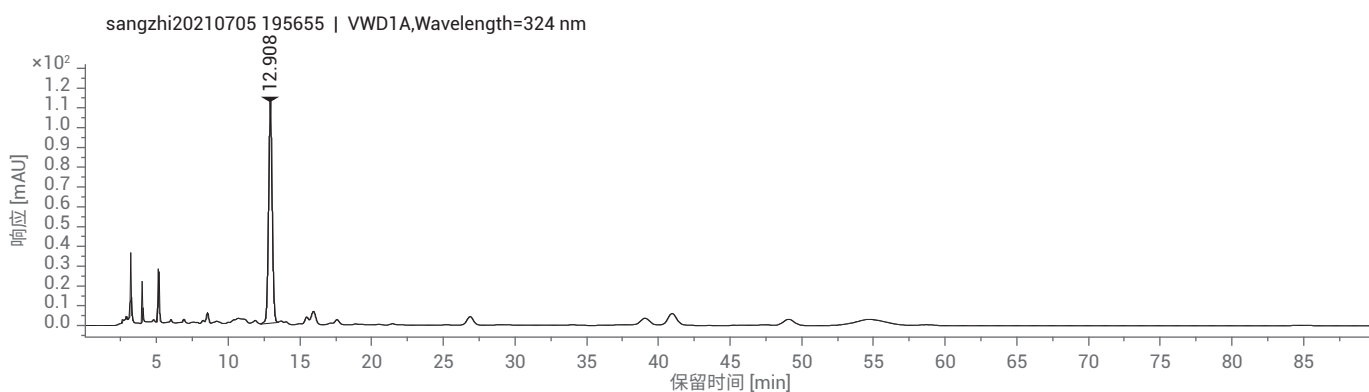
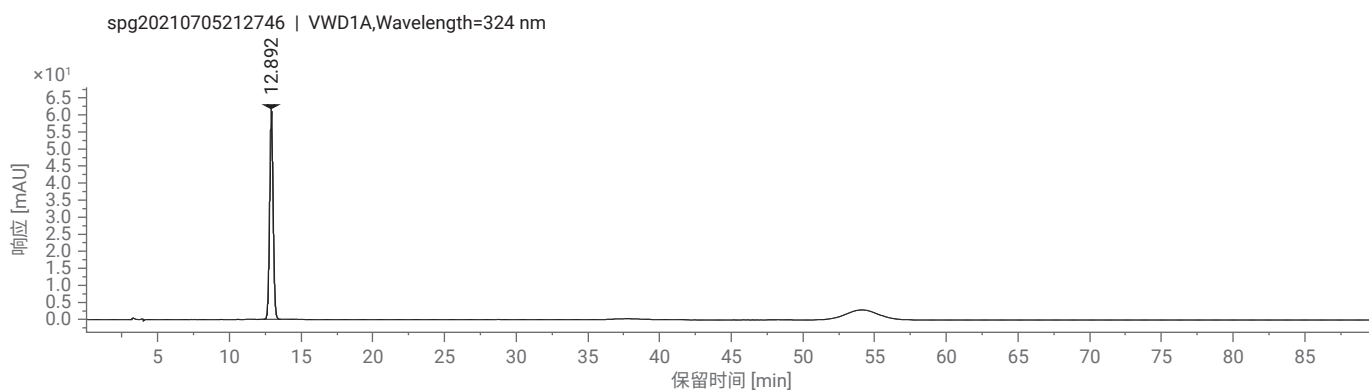
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
桑皮苷 A	2.489	13631	1.06	48.39

小结及注意事项

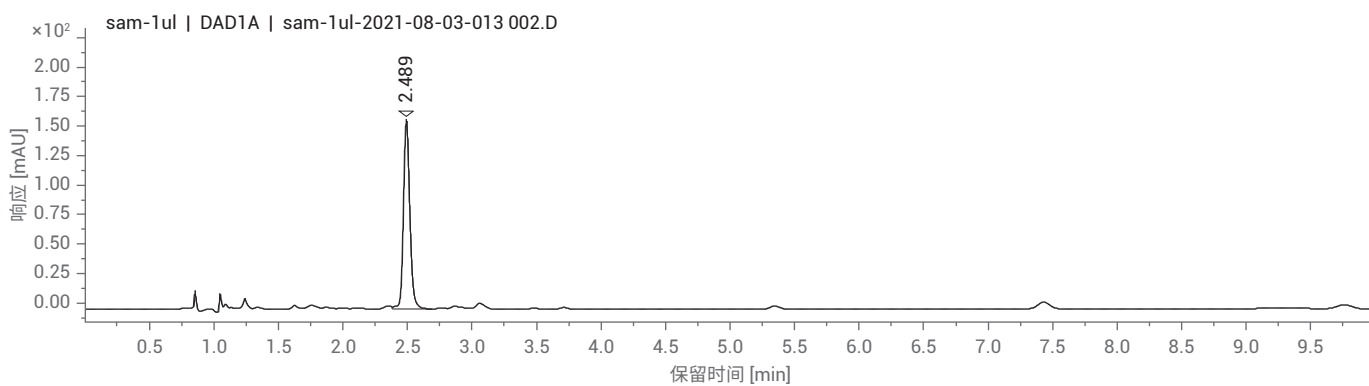
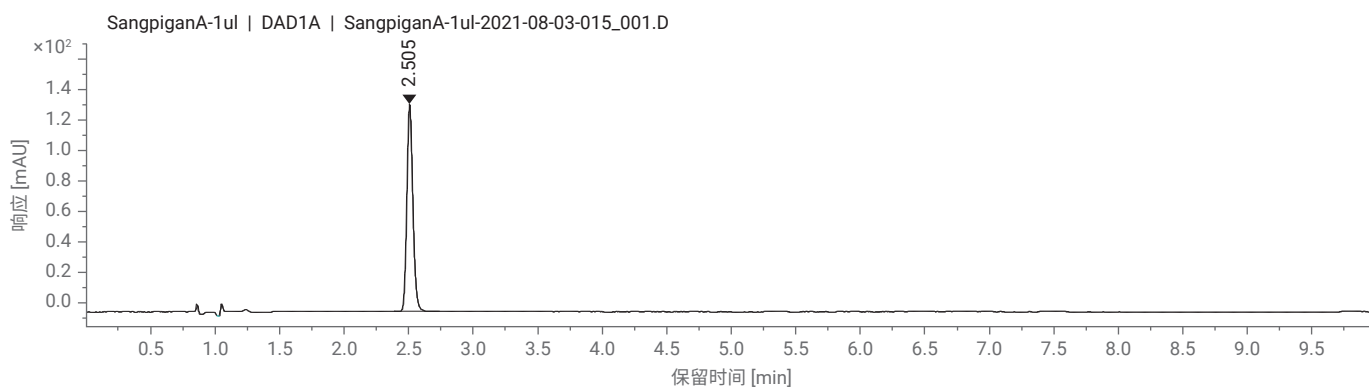
- HPLC 等度条件下, 供试品中桑皮苷 A 出峰 12.35 分钟, 但是样品中一直有组分被洗脱出来, 所以建议方法结束时间为 60 分钟或者在 20 分钟后改为梯度洗脱方法
- 等度条件下, 分析时间由 60 分钟缩短至 10 分钟

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

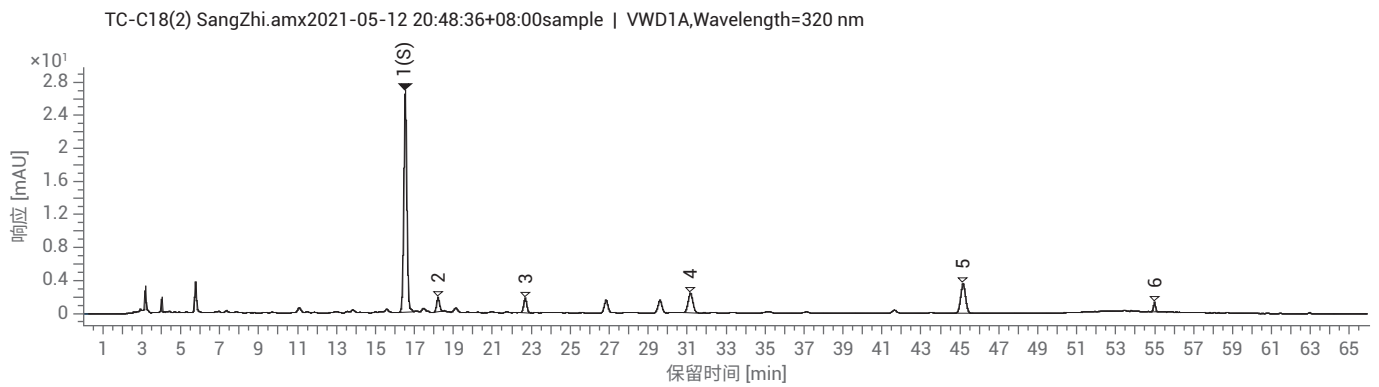
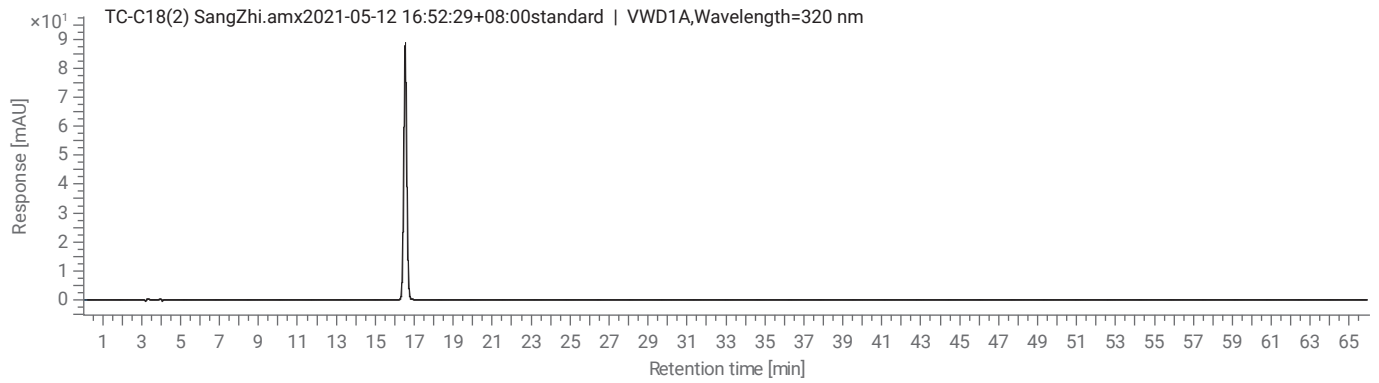
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1 (S)	1.555	桑皮苷 A					6055.36
2	1.937		1.246	0.993~1.213			7648.16
3	3.196		2.055	1.230~1.504			34667.71
4	4.133		2.658	1.653~2.021			80989.31
5	6.305		4.055	2.405~2.939			137263.92
6	8.705		5.598	2.954~3.610			478258.42

小结及注意事项

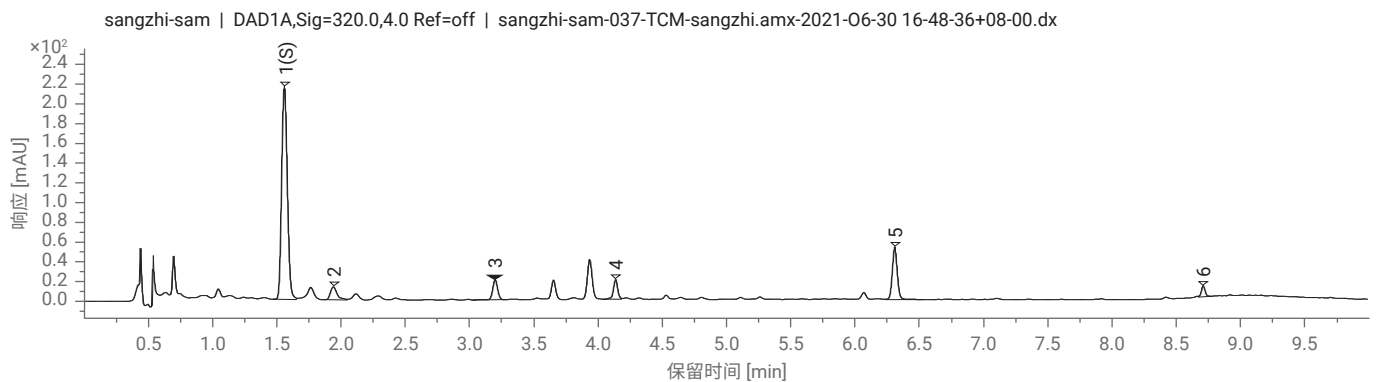
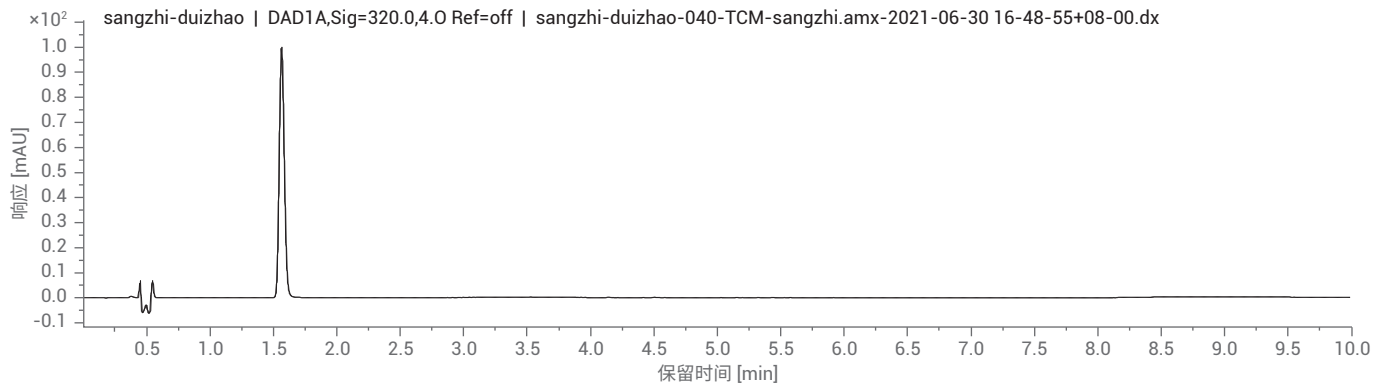
- 原始方法压力最高 142 bar, 转换后的 UHPLC 方法压力最高 565 bar
- 方法转换后, 分析时间由 65 分钟缩短至 10 分钟
- 按照方法转换用 Poroshell 的色谱柱, 相对保留时间有偏差, 仅供参考
- 国标中无后运行方法, 建议 HPLC 方法后运行时间 10 min, UHPLC 方法后运行时间 6 min

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

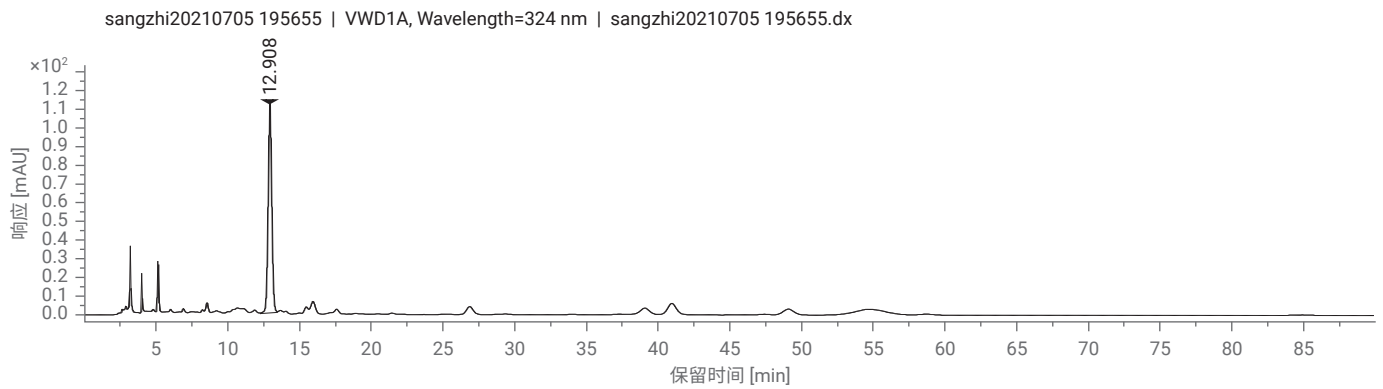
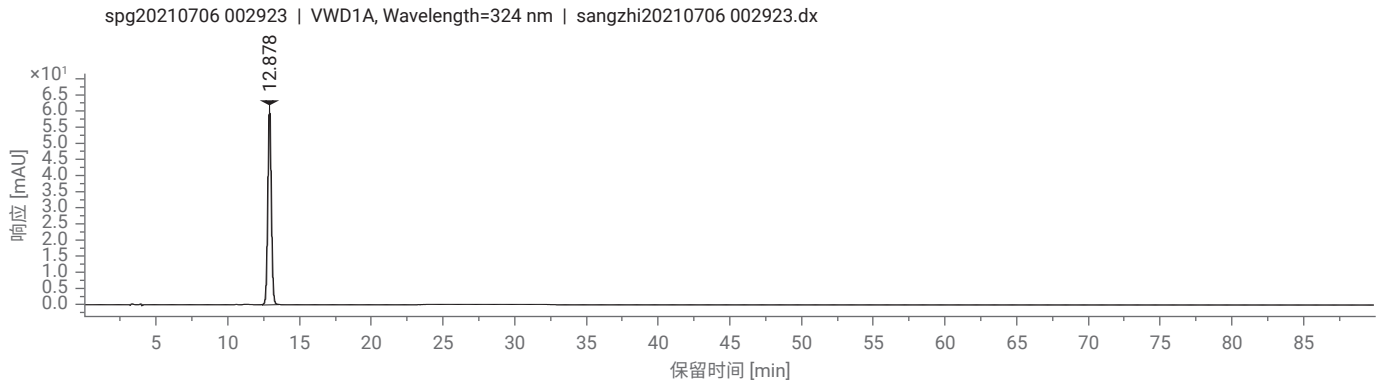
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
桑皮苷 A	1.559	4957	1.4779	16.956

小结及注意事项

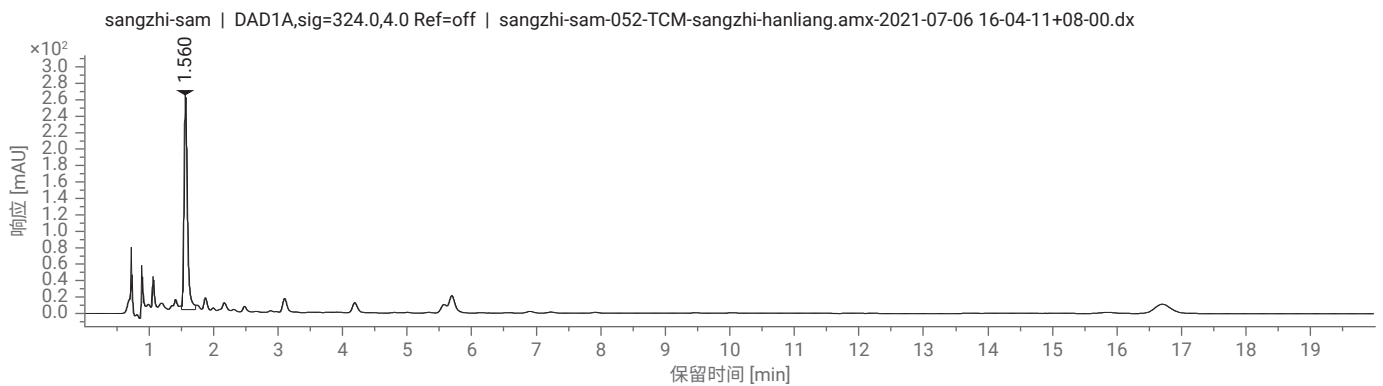
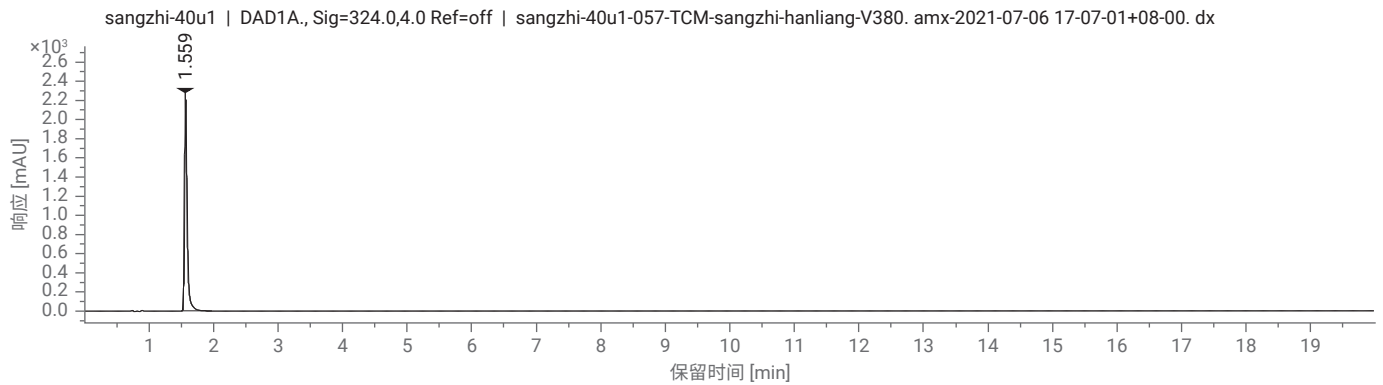
- HPLC 等度条件下, 供试品中桑皮苷 A 出峰 12.96 分钟, 但是样品中一直有组分被洗脱出来, 所以建议方法结束时间为 90 分钟或者在 20 分钟后改为梯度洗脱方法
- 等度条件下, 分析时间由 90 分钟缩短至 20 分钟

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

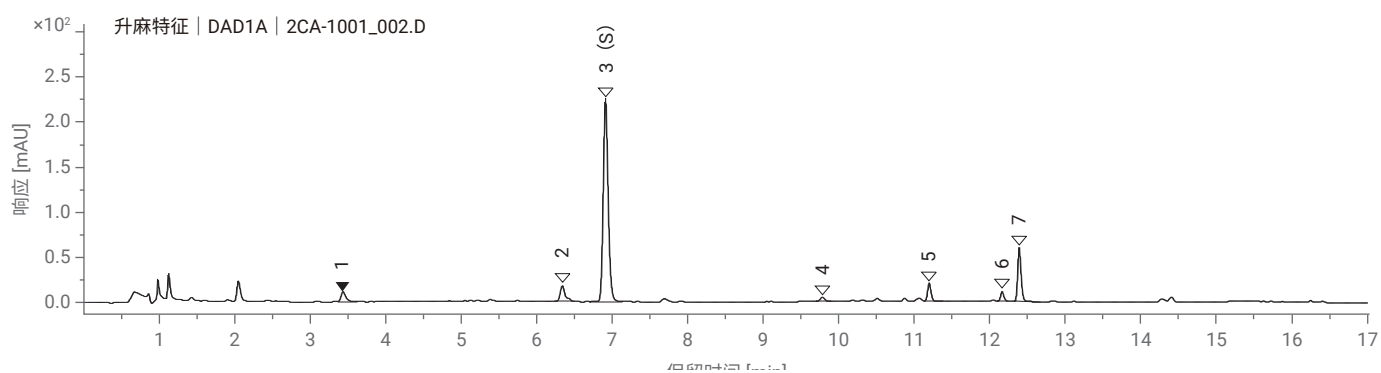
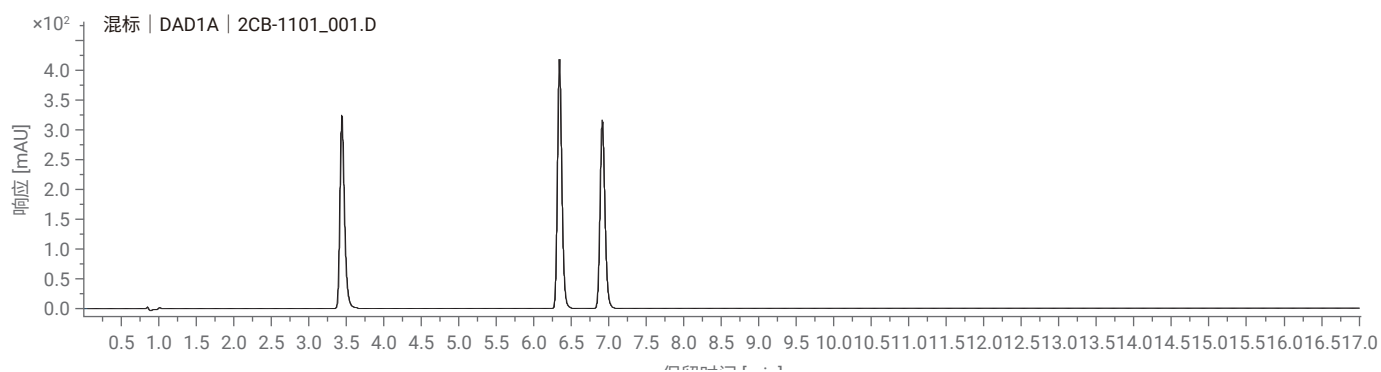
峰	化合物	保留时间 (min)	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	咖啡酸	1.698					12736
2	阿魏酸	3.158					49729
3 (S)	异阿魏酸	3.444					48363
4		4.894	1.42	1.30 ~ 1.58			98727
5		5.640	1.64	1.51 ~ 1.85			215325
6		6.132	1.78	1.66 ~ 2.02			259442
7		6.252	1.82	1.69 ~ 2.07			277808

小结及注意事项

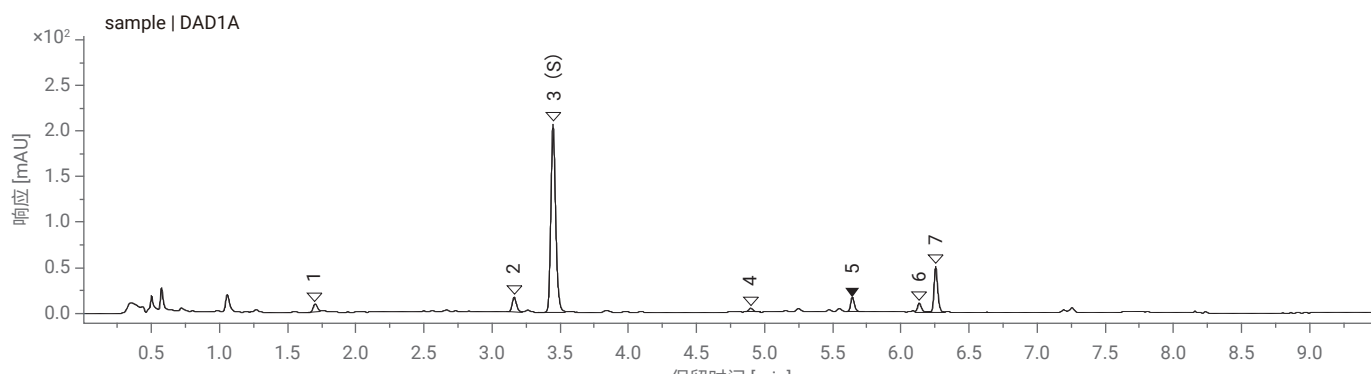
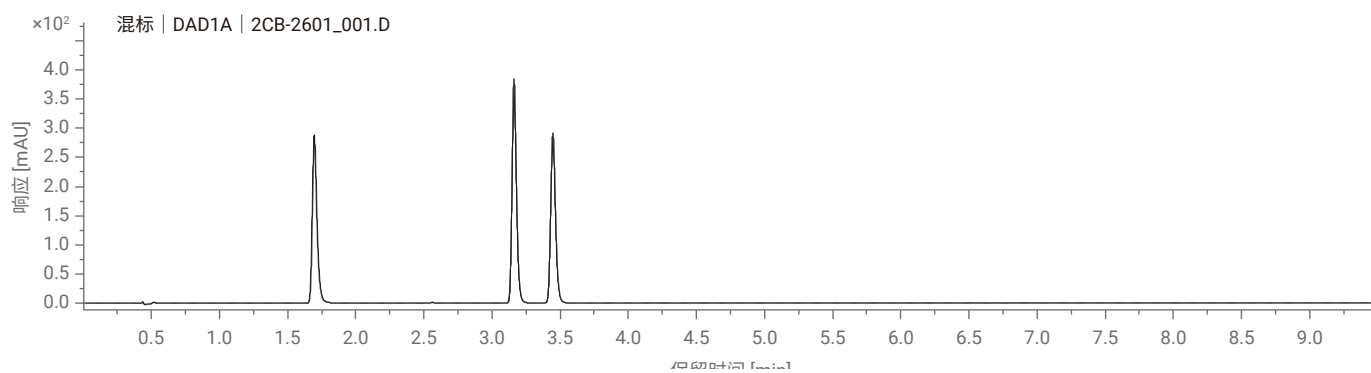
- 加速方法时间由原来 19 分钟缩短至 9.5 分钟,
- 加速后方法系统适用性及特征峰相对保留时间仍满足需求

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

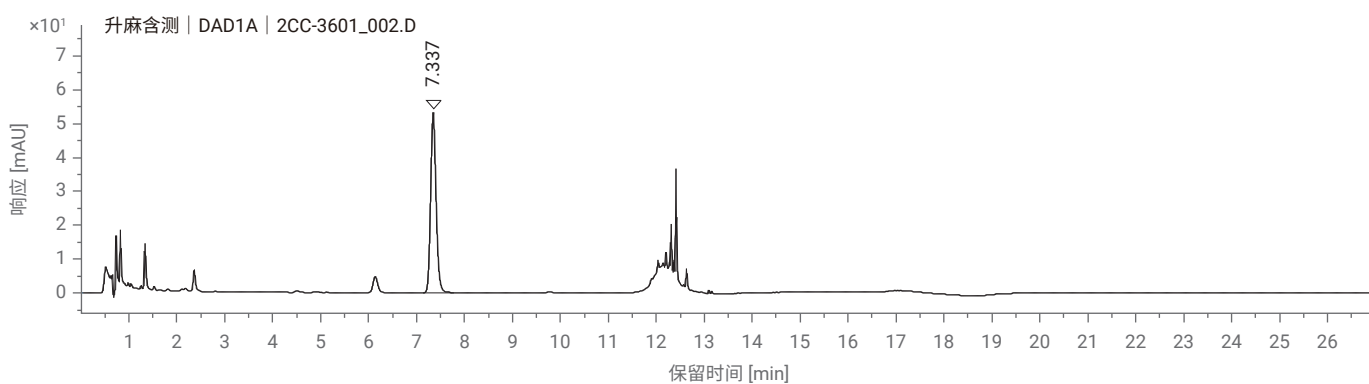
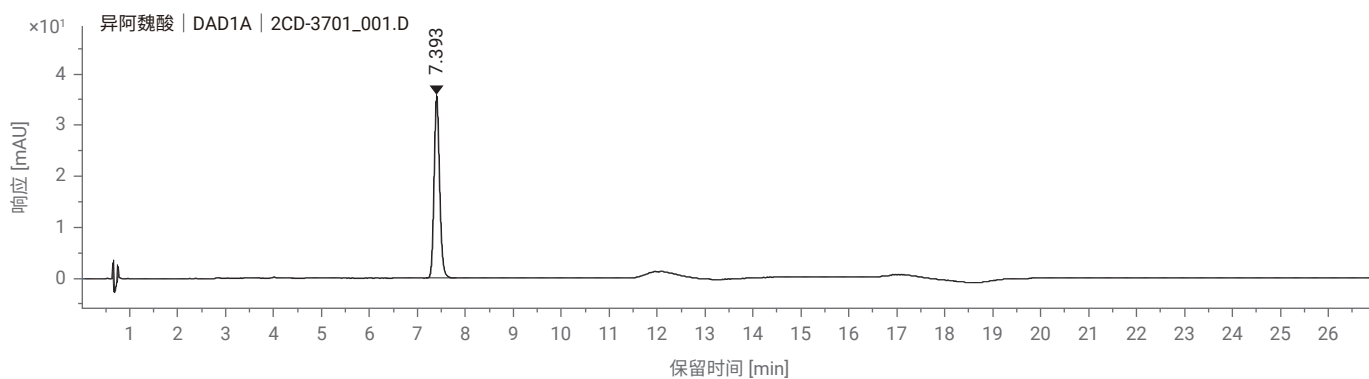
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (%)
异阿魏酸	7.337	21041	0.82	1.81

UHPLC 方法

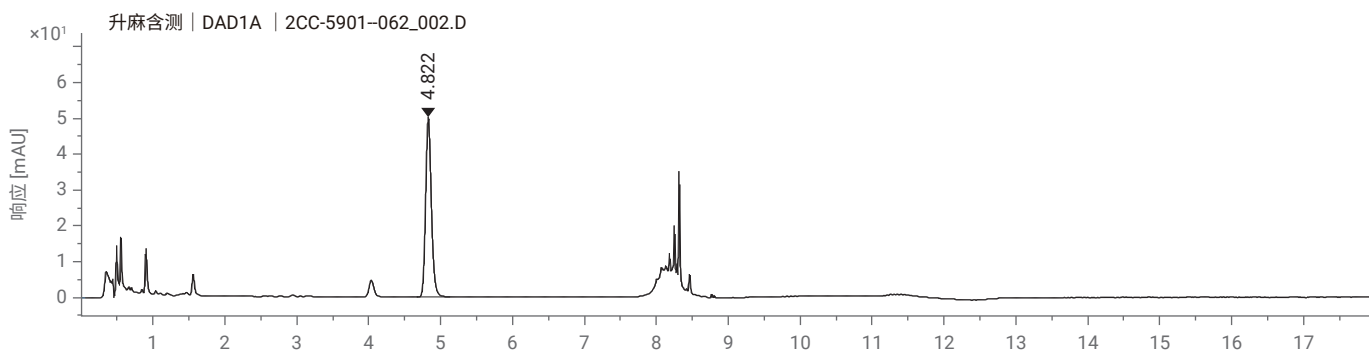
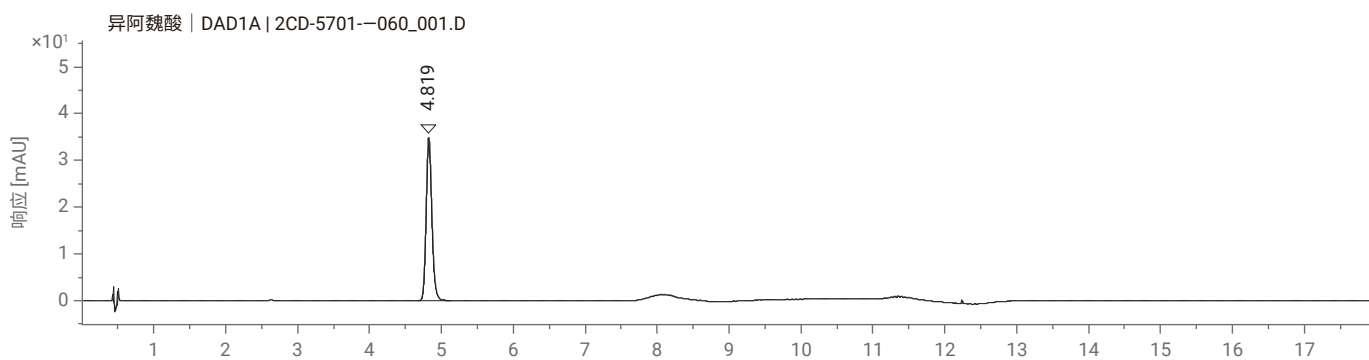
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (%)
异阿魏酸	4.823	18641	0.82	1.78

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

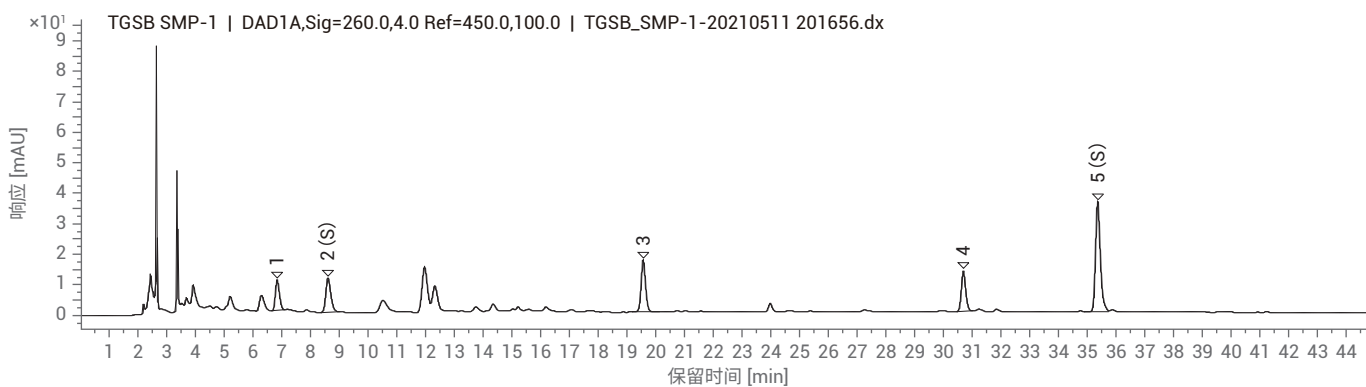
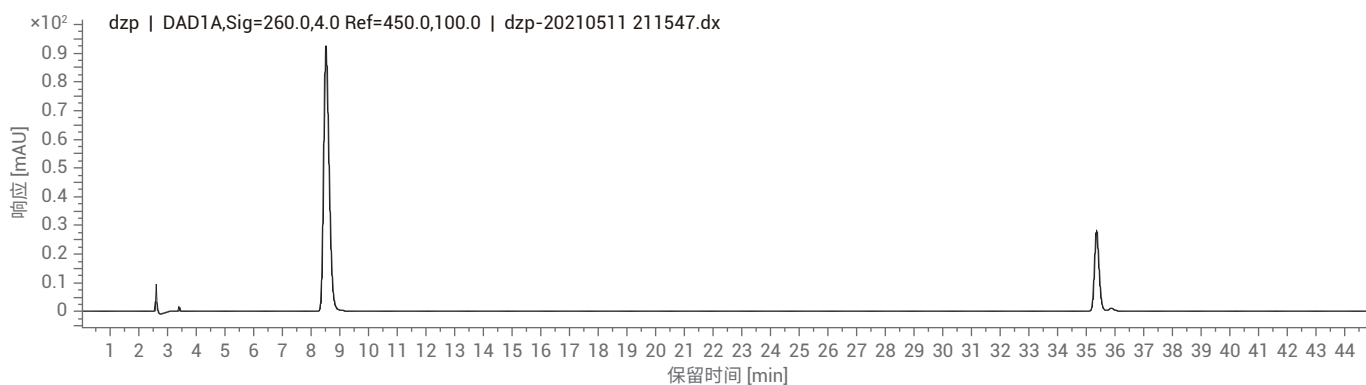
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	1.024		0.821	0.714~0.872			7219
2(S1)	1.248	原儿茶酸	1.000				8931
3	3.548		0.595	0.519~0.635			99413
4	5.275		0.885	0.788~0.964			205517
5(S2)	5.963	柚皮苷	1.000				253470

小结及注意事项

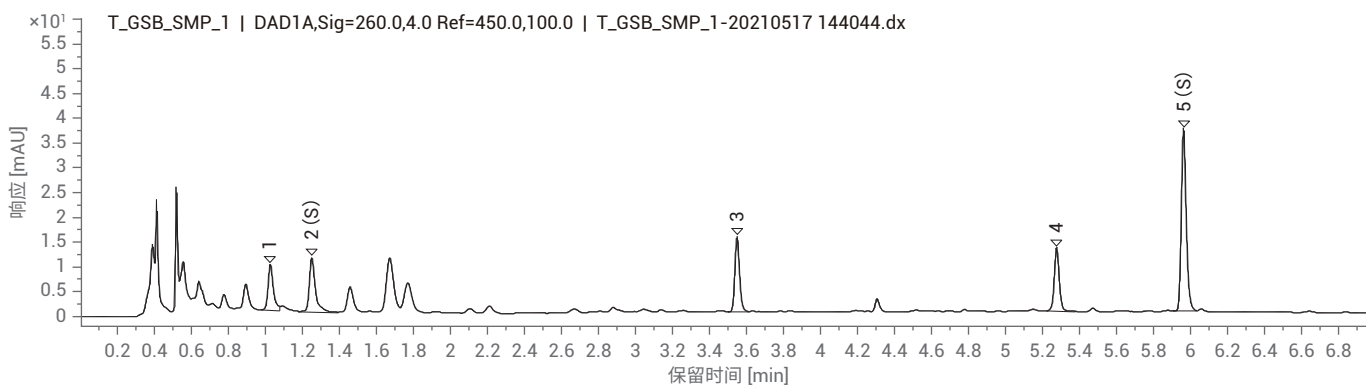
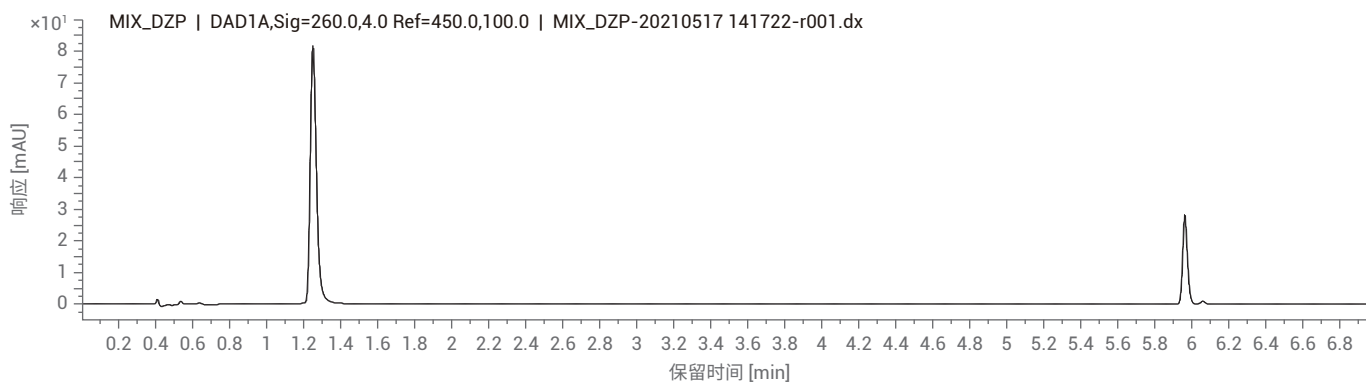
- 常规分析方法中设置了后运行时间 12 min, UHPLC 方法后运行时间为 4 min
- 原始方法分析时可在自动进样器到色谱柱中间加粗管路 (0.5 mmID × 400 mm) 以避免溶剂效应
- 原始方法压力最高 100 bar, UHPLC 方法压力最高 563 bar; 使用 UHPLC 方法后分析时间缩短 38 分钟

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

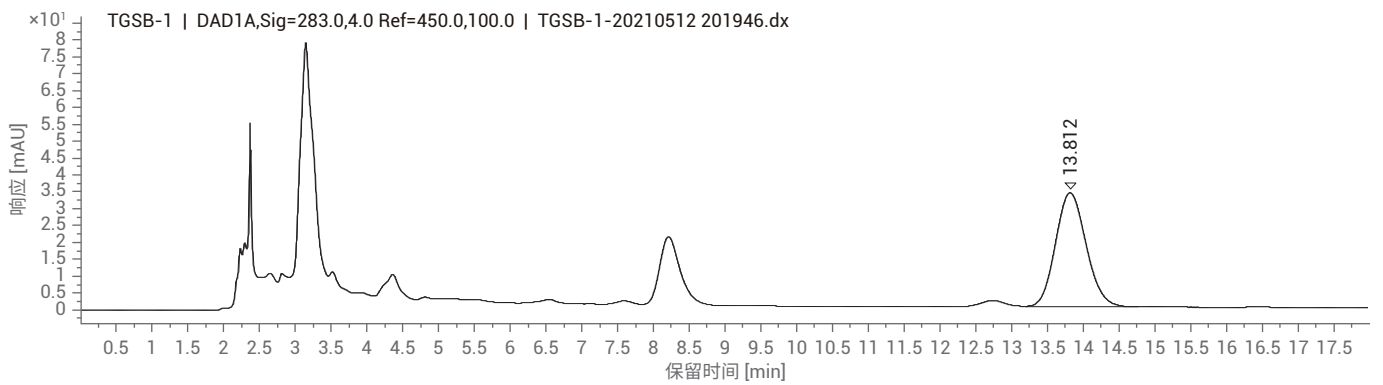
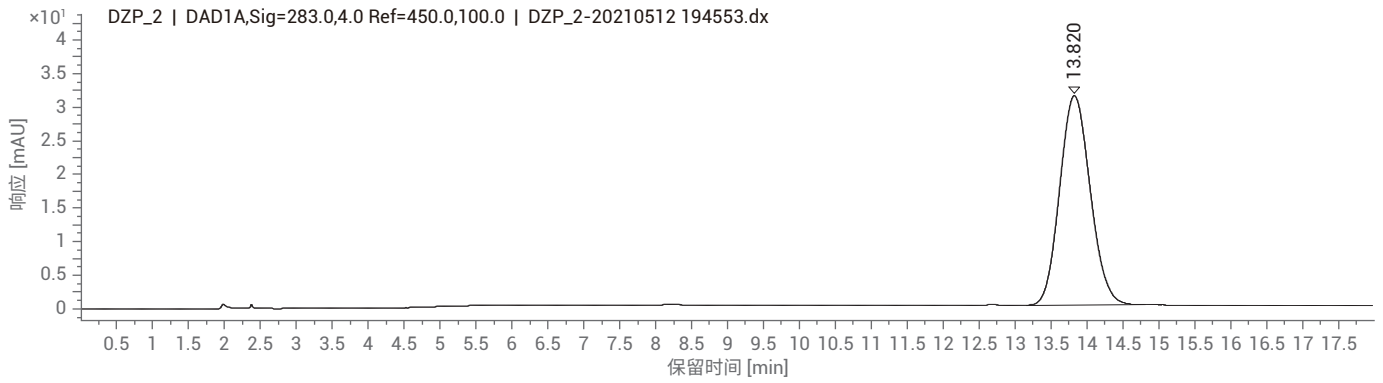
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
柚皮苷	1.949	3988.52	1.12	14.59

小结及注意事项

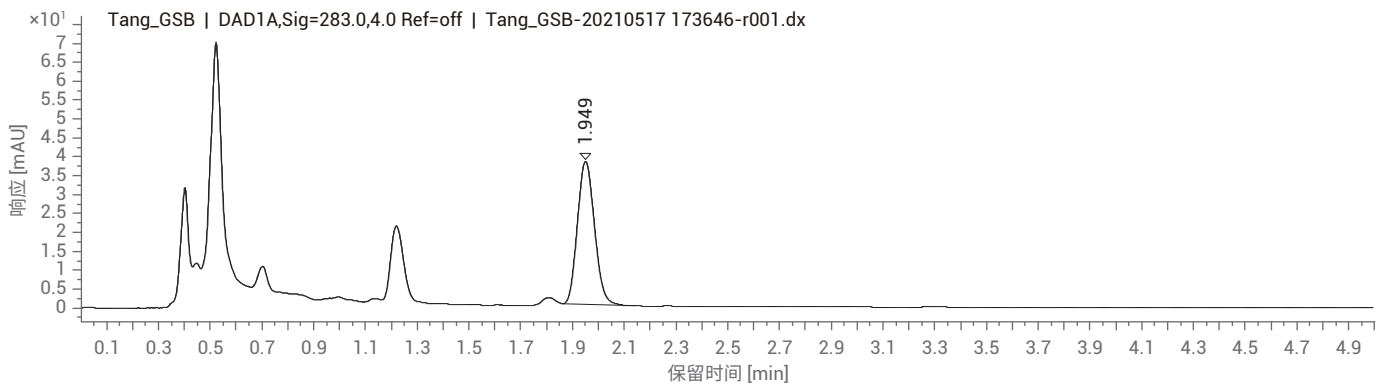
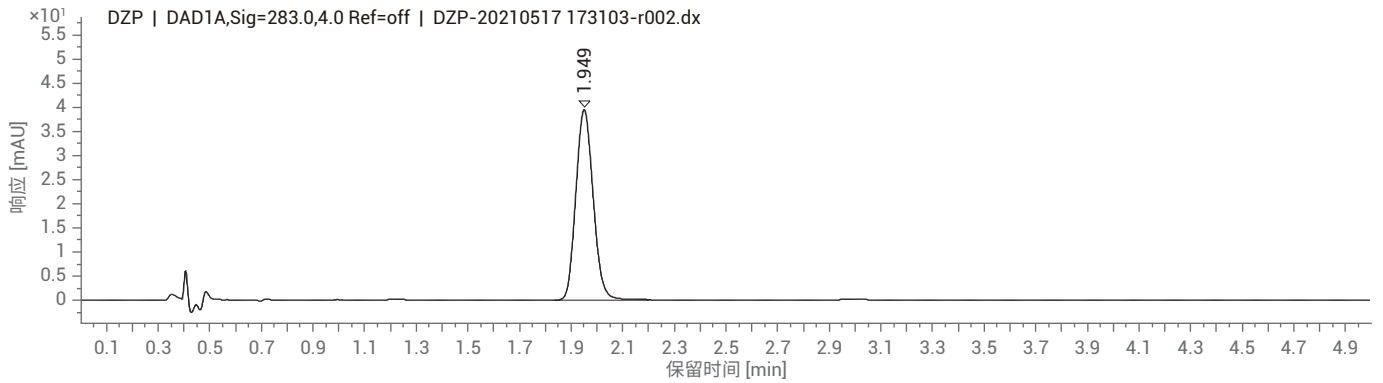
- 原始方法压力最高 176 bar, UHPLC 方法压力最高 740 bar
- 使用 UHPLC 方法后分析时间缩短约 15 分钟

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> <tr> <td>后运行时间:</td> <td>15 min</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0	95	10	85	20	75	30	65	后运行时间:	15 min	<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> <tr> <td>后运行时间:</td> <td>5 min</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0	95	1.52	85	3.04	75	4.56	65	后运行时间:	5 min
时间 (min)	B%																									
0	95																									
10	85																									
20	75																									
30	65																									
后运行时间:	15 min																									
时间 (min)	B%																									
0	95																									
1.52	85																									
3.04	75																									
4.56	65																									
后运行时间:	5 min																									
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

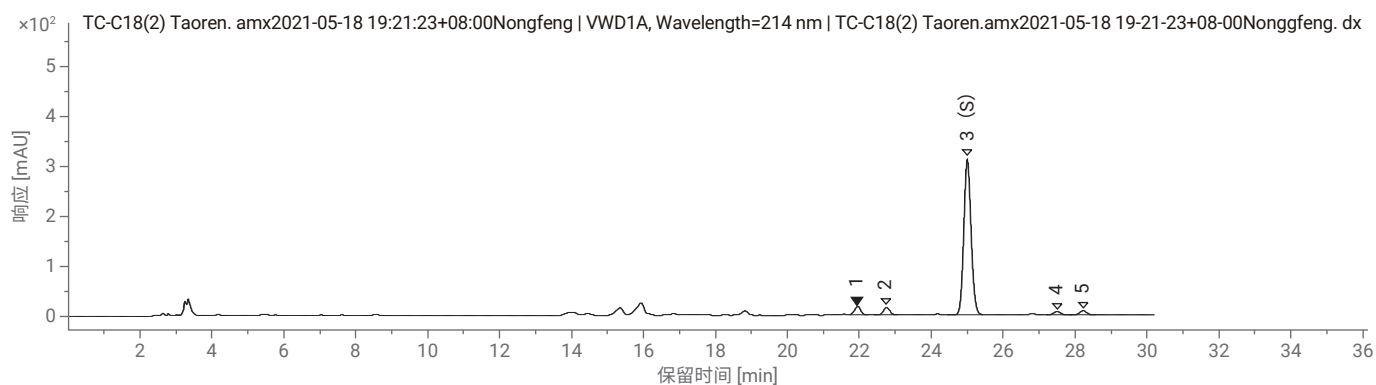
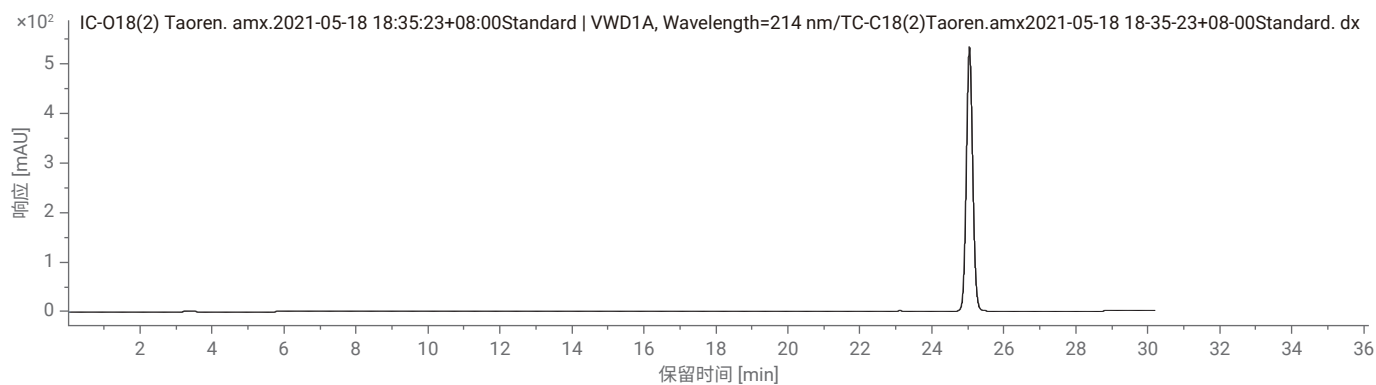
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	3.873		0.849	0.811~0.951			84841
2	4.143	色氨酸	0.908	0.829~0.973			112605
3 (S)	4.564	苦杏仁苷					28555
4	4.876		1.068	1.024~1.202			105099
5	4.975		1.090	1.052~1.236			168479

小结及注意事项

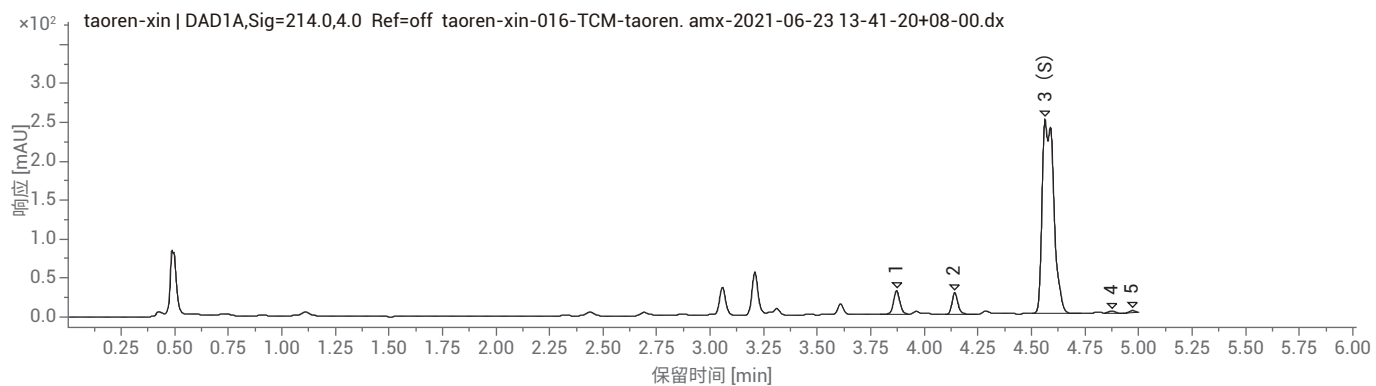
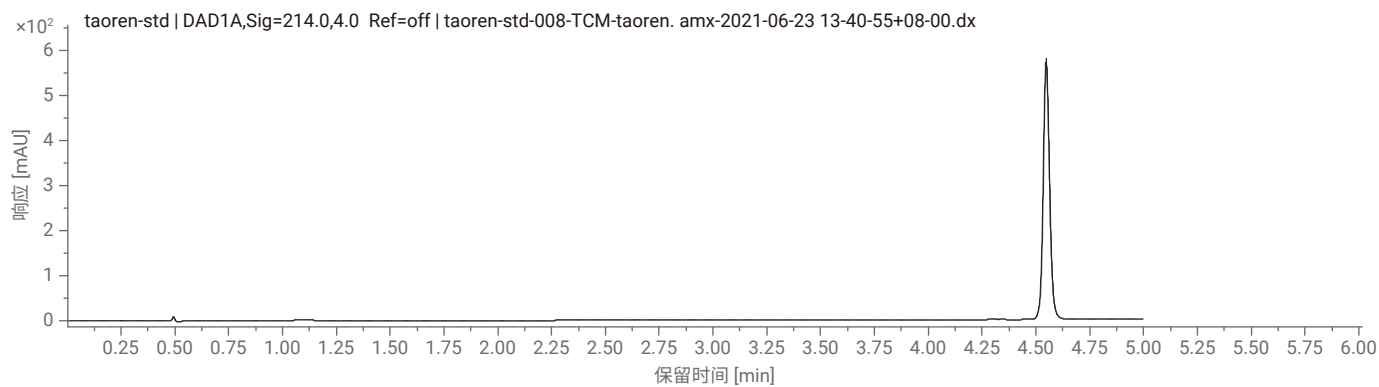
- 原始方法压力最高 220 bar, UHPLC 方法压力最高 915 bar
- 原方法增加后平衡时间 15 分钟, UHPLC 增加后平衡时间 5 分钟
- 转换后的 UHPLC 方法由于柱效提高可以将供试品中 D/L-苦杏仁苷分离成肩峰, 原 HPLC 方法无法分离
- 国标中无后运行方法, 建议 HPLC 方法后运行时间 10 min, UHPLC 方法后运行时间 6 min

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

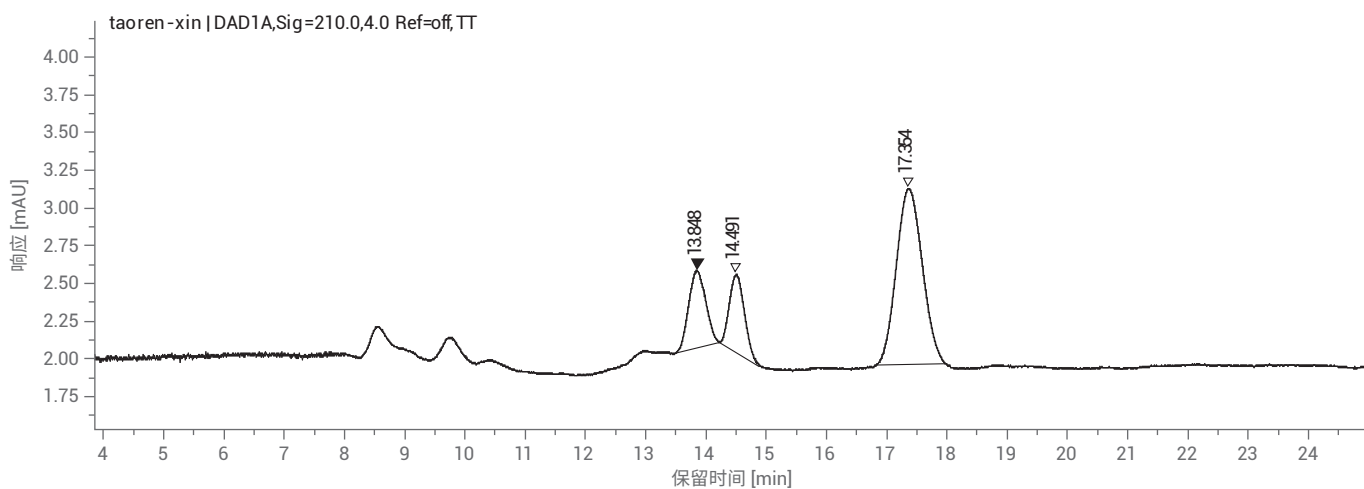
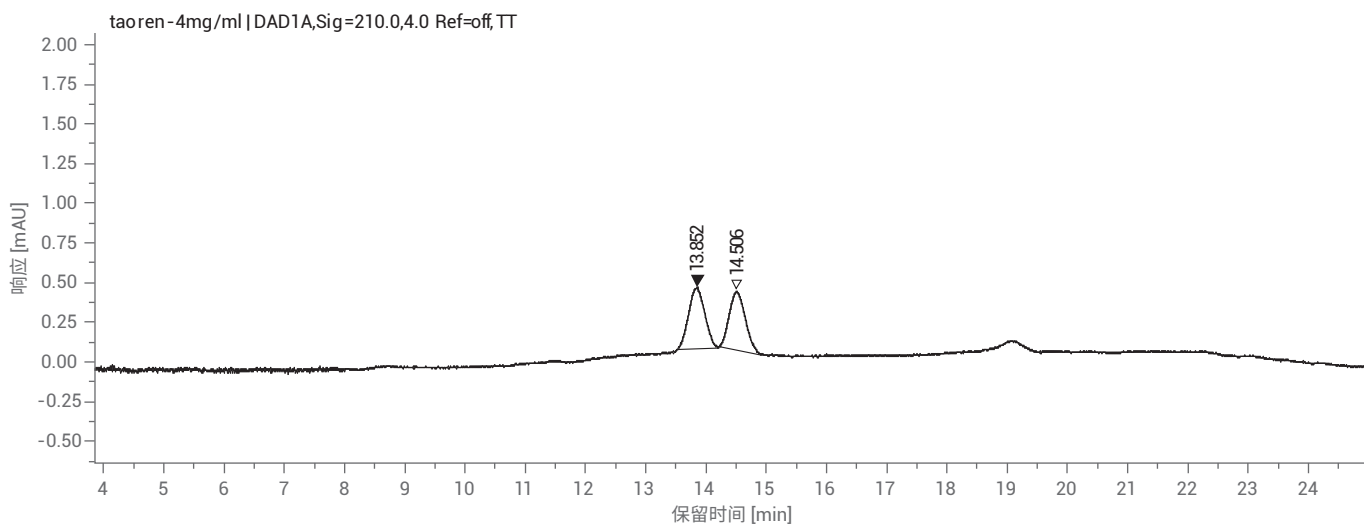
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (%)
苦杏仁苷及异构体	14.491	14681.83	0.97402	30.5

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

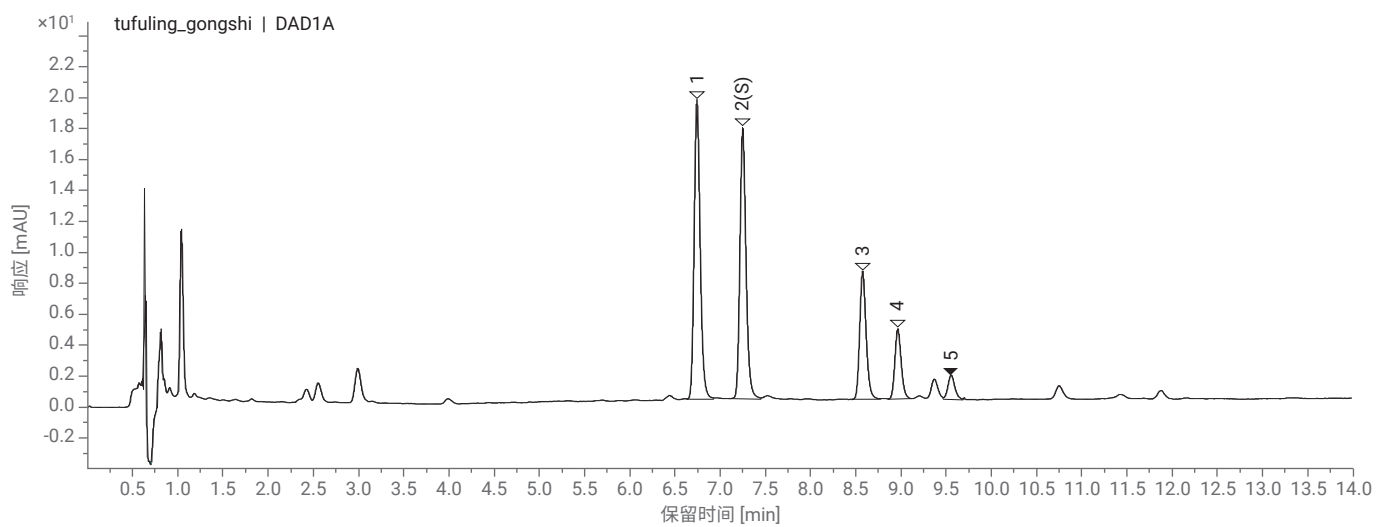
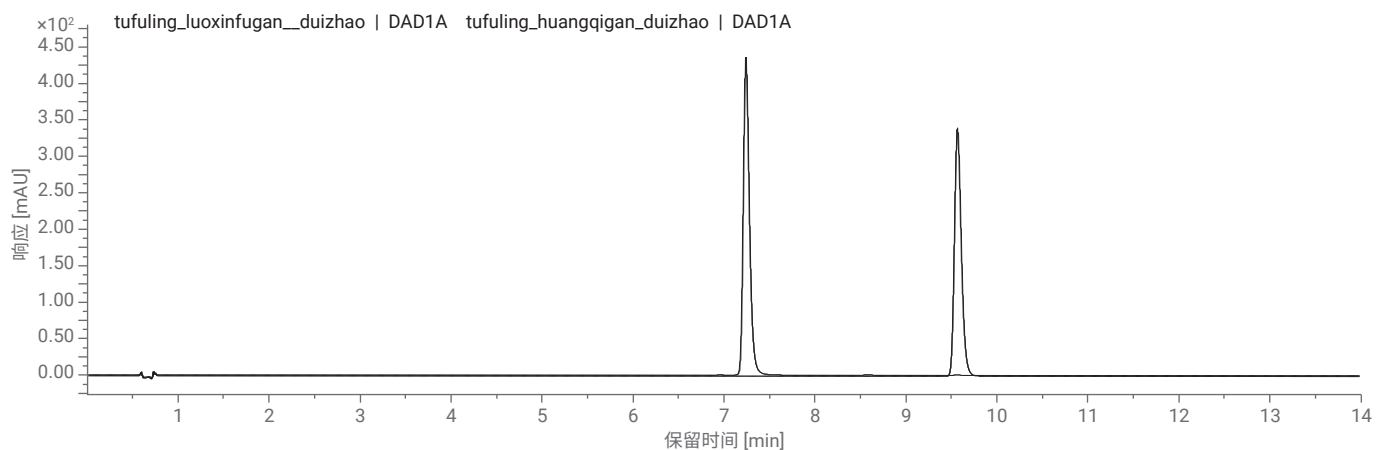
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	4.21	新落新妇苷	0.93	0.84-1.02			46049
2 (S)	4.52	落新妇苷					52712
3	5.36	新异落新妇苷	1.19	1.09-1.33	0.55	0.38-0.88	65137
4	5.62	异落新妇苷	1.24	1.13-1.39			64125
5	6.01	黄杞苷					57330

小结及注意事项

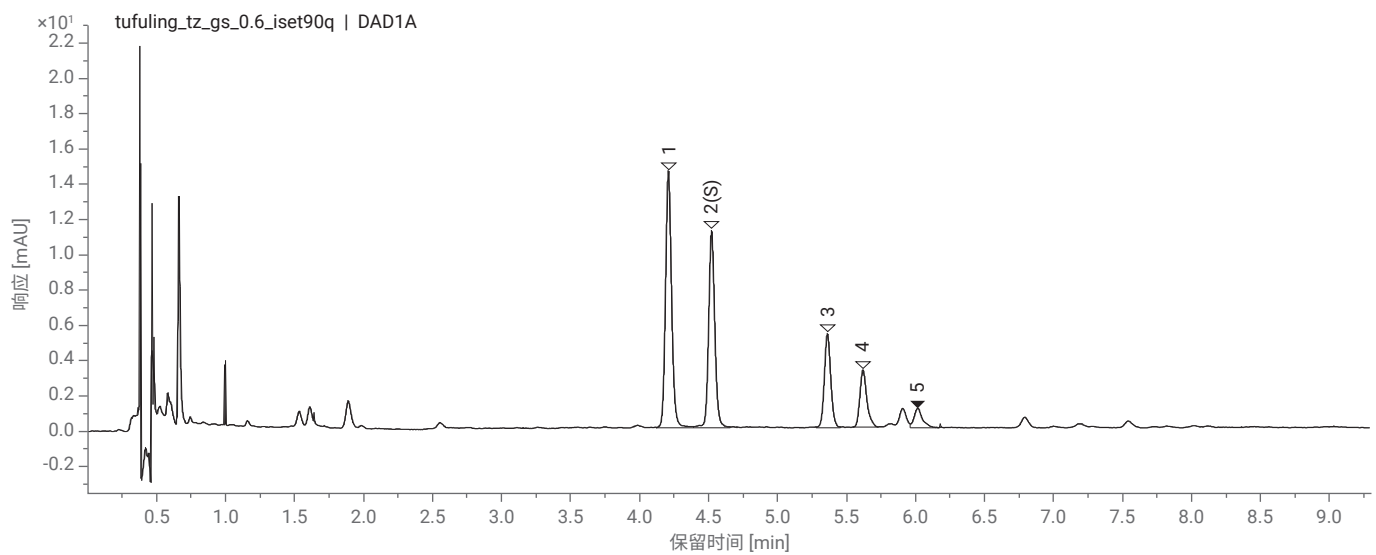
- 原始方法压力最高 495 bar, 加速方法压力理论上最高 790 bar
- 原方法无平衡时间, 需要加 5 min 后运行时间; 加速方法增加 3 min 后运行时间

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

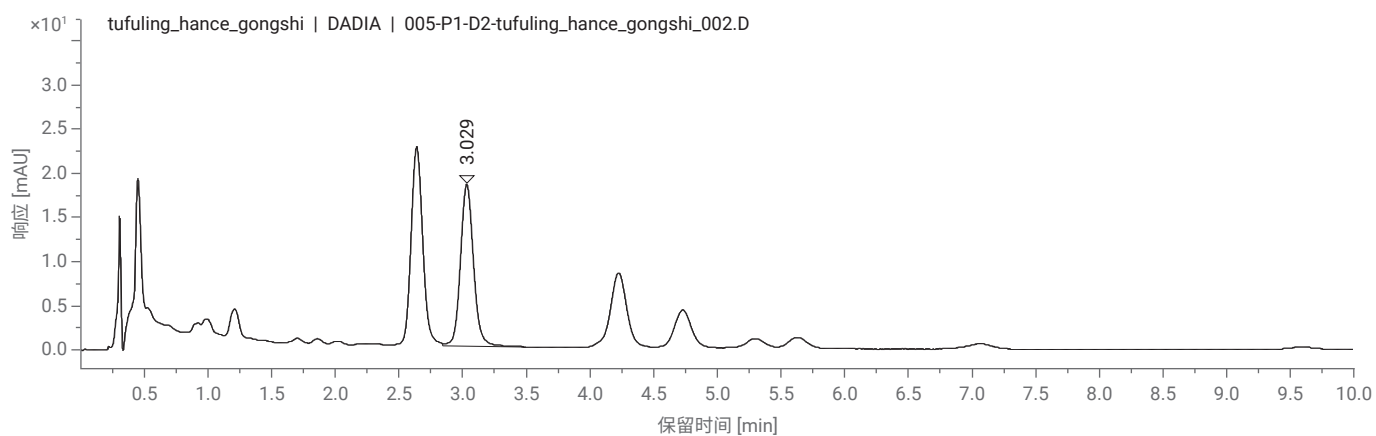
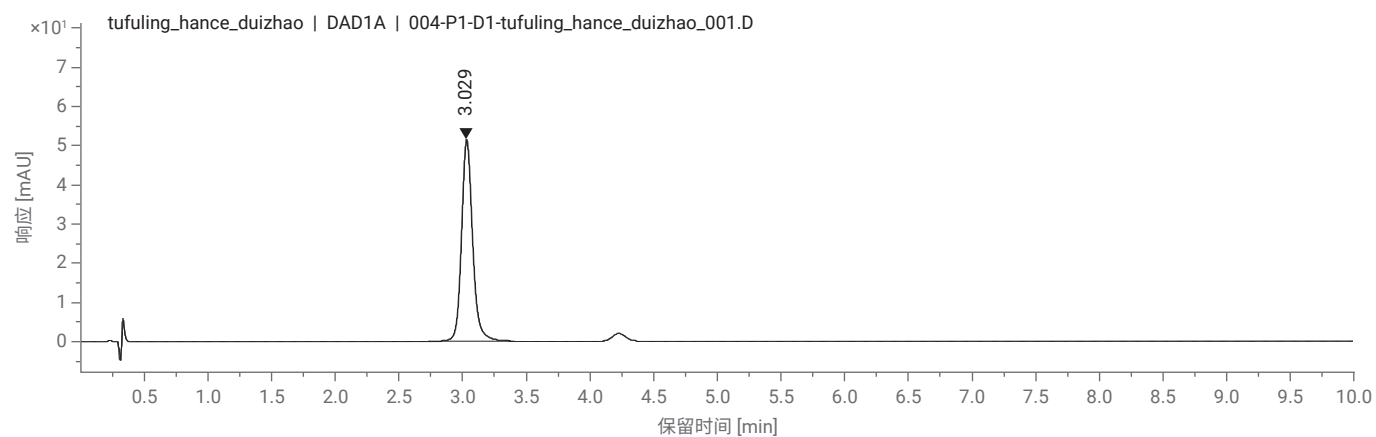
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (%)
落新妇苷	1.90	3335	1.10	21mg

小结及注意事项

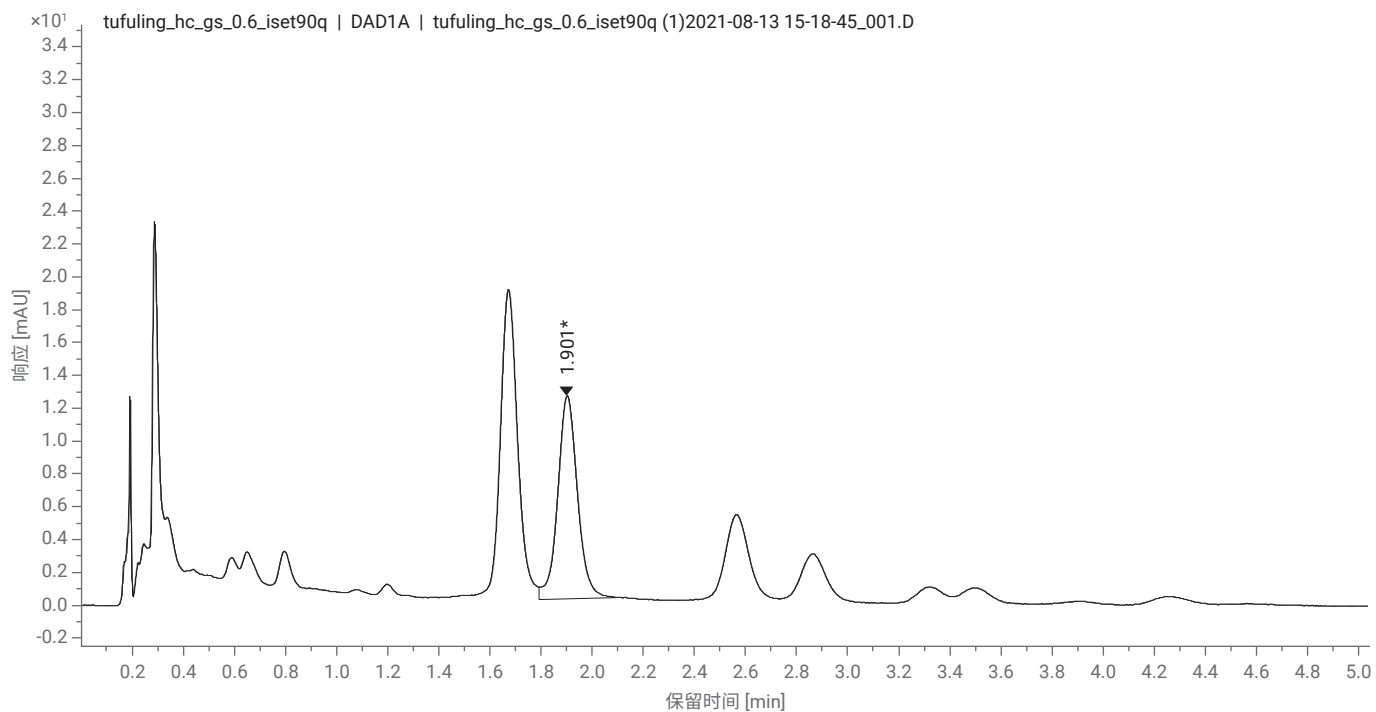
- 原方法压力为 340 bar, 加速方法压力能达到 650 bar

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

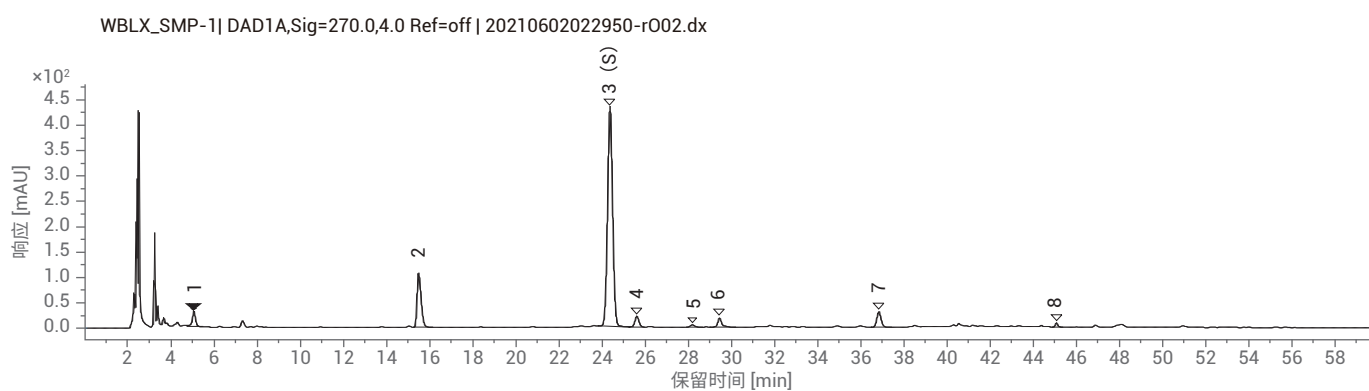
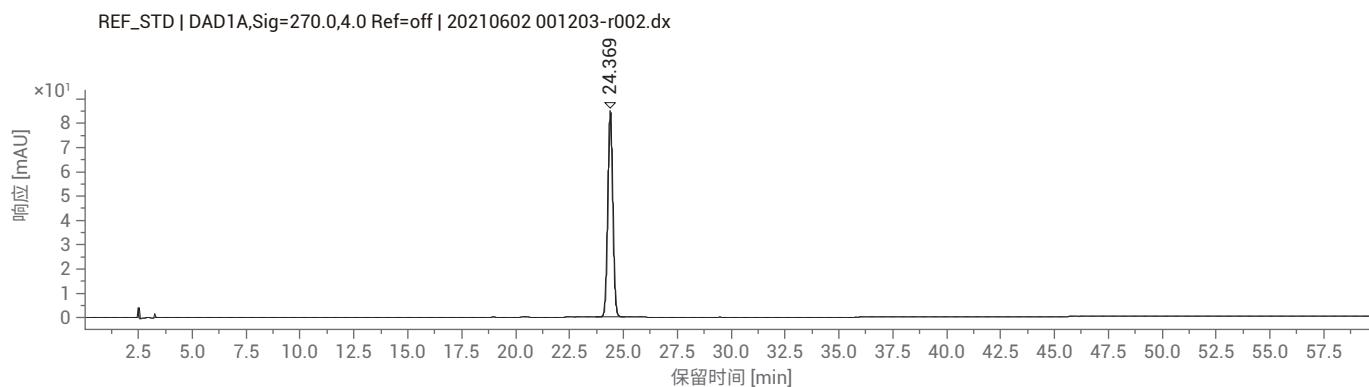
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	0.875		0.189	0.187~0.229			5238
2	2.916	刺桐碱	0.631	0.557~0.681			44716
3 (S)	4.621	王不留行黄酮苷					42024
4	4.804	肥皂草苷	1.040	0.945~1.155			105163
5	4.941		1.069	1.013~1.239			87417
6	5.401	异牡荆素-2"-O-阿拉伯糖苷	1.169	1.089~1.331			233252
7	6.529		1.413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

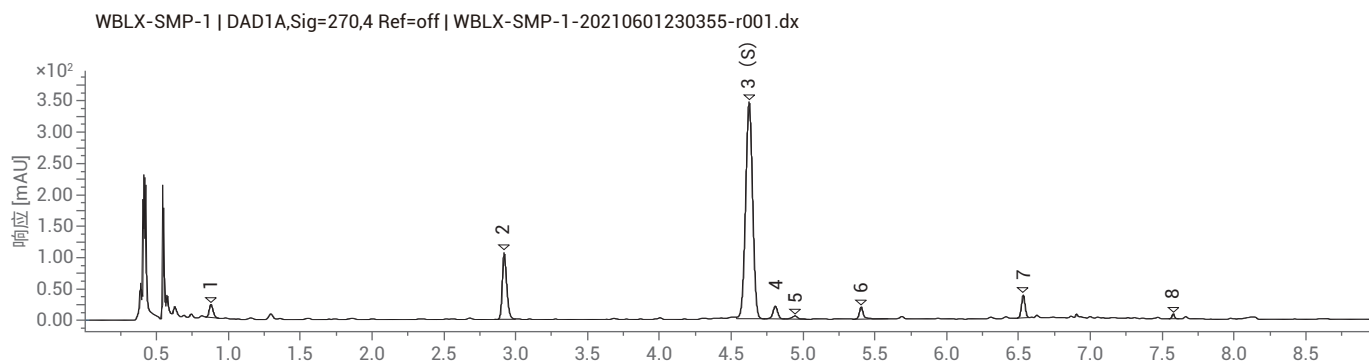
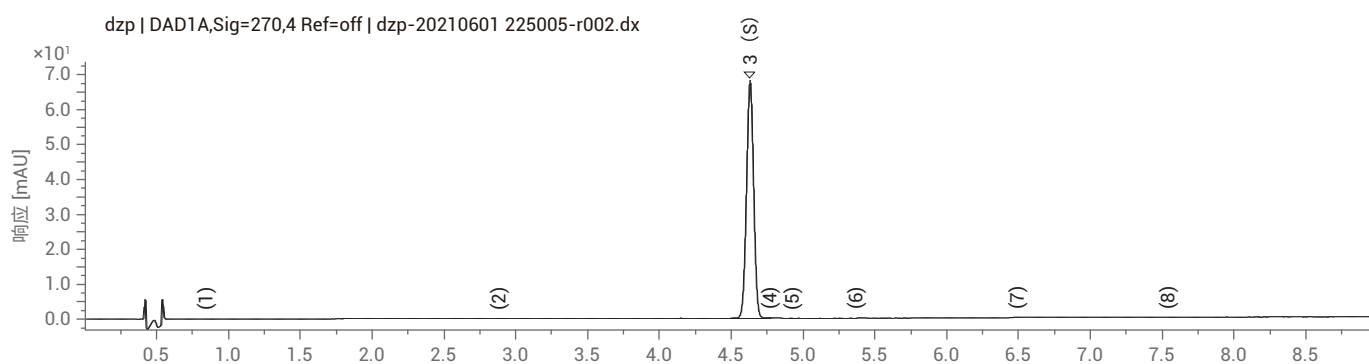
- 常规分析方法中设置了 post time 8 min; UHPLC 方法设置了 post time 3 min
- 原始方法压力最高 121 bar, UHPLC 方法压力最高 570 bar
- 采用 UHPLC 方法虽然特征峰 8 的相对保留时间不在标准规定范围内, 但利用 UV 光谱亦可对该峰进行定位

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

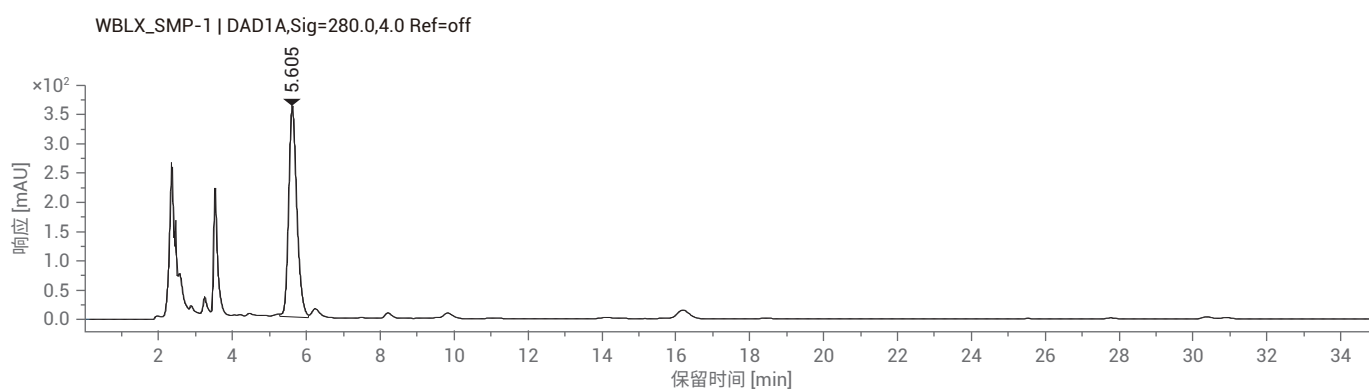
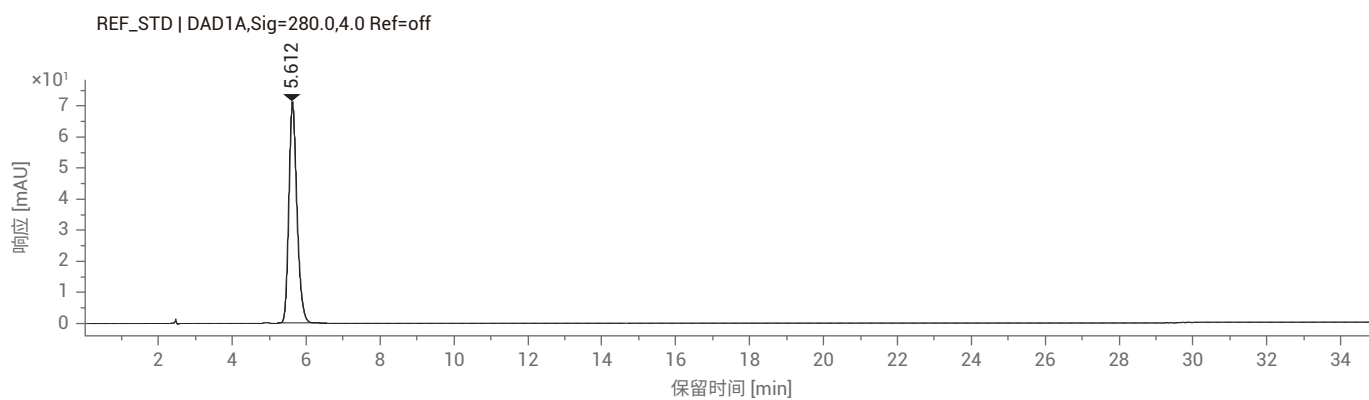
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (%)
王不留行黄酮苷	2.008	3274	1.12	25.6mg/g

小结及注意事项

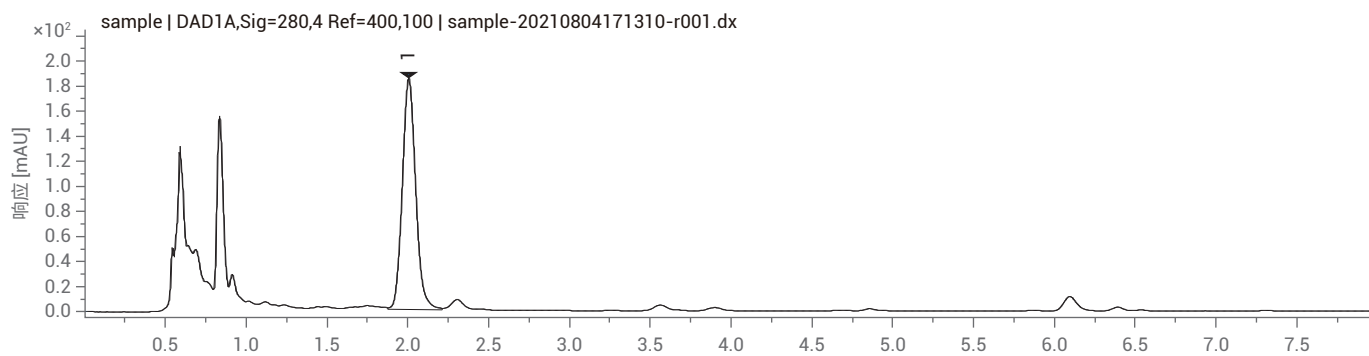
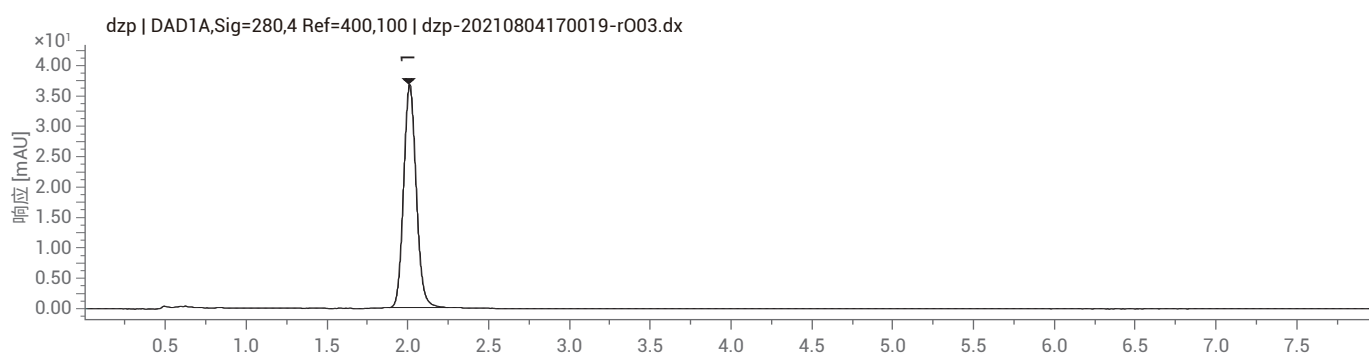
- 更换自动进样器到柱温箱管线为 G2260-87301 (溶剂效应消除管线), 以克服溶剂效应
- HPLC 方法后运行时间 15 分钟, UHPLC 方法后运行时间 4 分钟
- UHPLC 方法压力最高 625 bar; UHPLC 方法转换后分析时间由 40 分钟缩短至 8 分钟
- UHPLC 方法连续进样 (n = 6) 的精密度 RSD% 为 0.33%

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

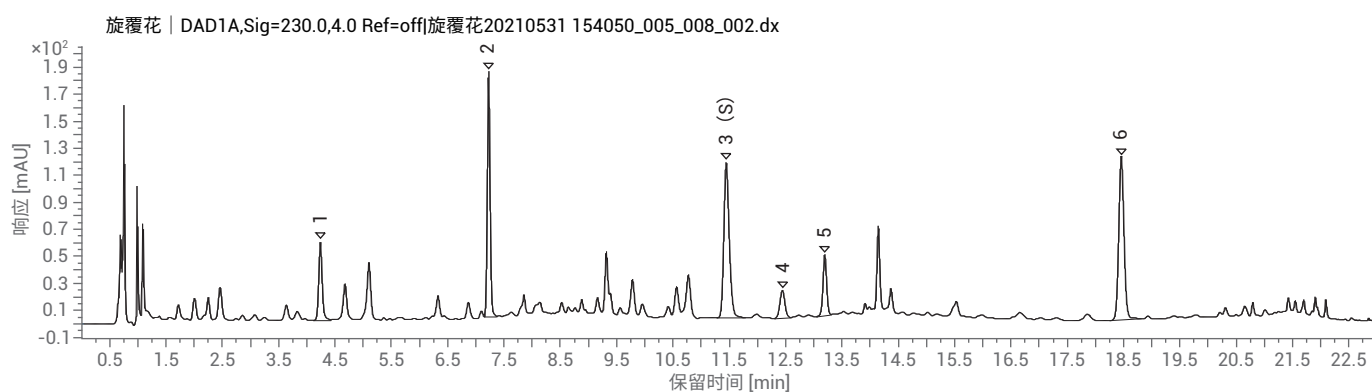
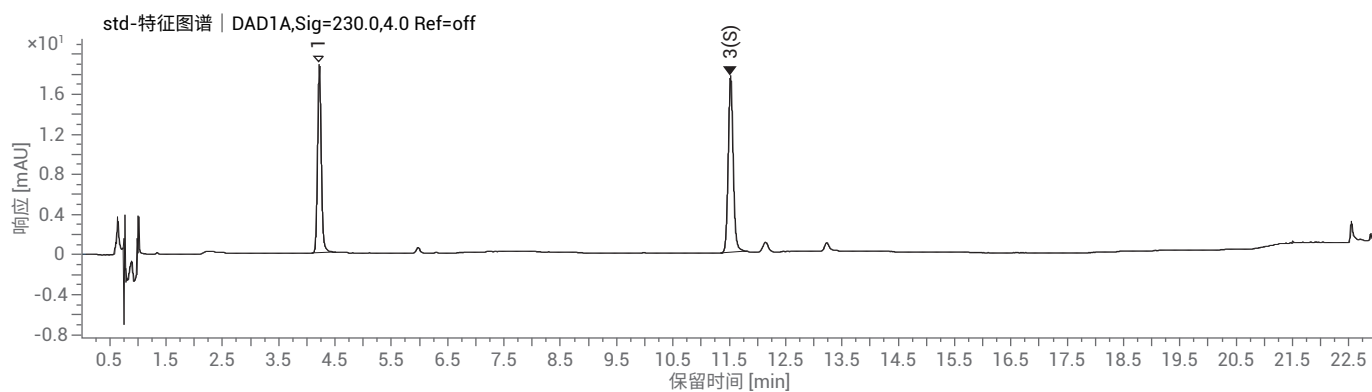
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.150	绿原酸	0.369				21341
2	3.688	1,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	0.632	0.549-0.671			98017
3 (S)	5.832	3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸					56535
4	6.276		1.076	0.981-1.199			74851
5	6.695	4,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	1.148	1.035-1.265			191089
6	9.307		1.596	1.476-1.804			161007

小结及注意事项

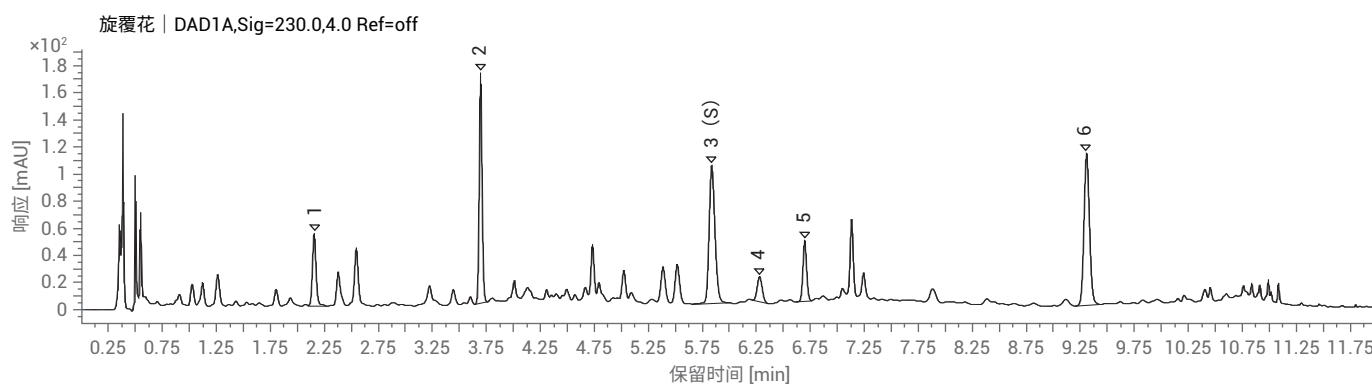
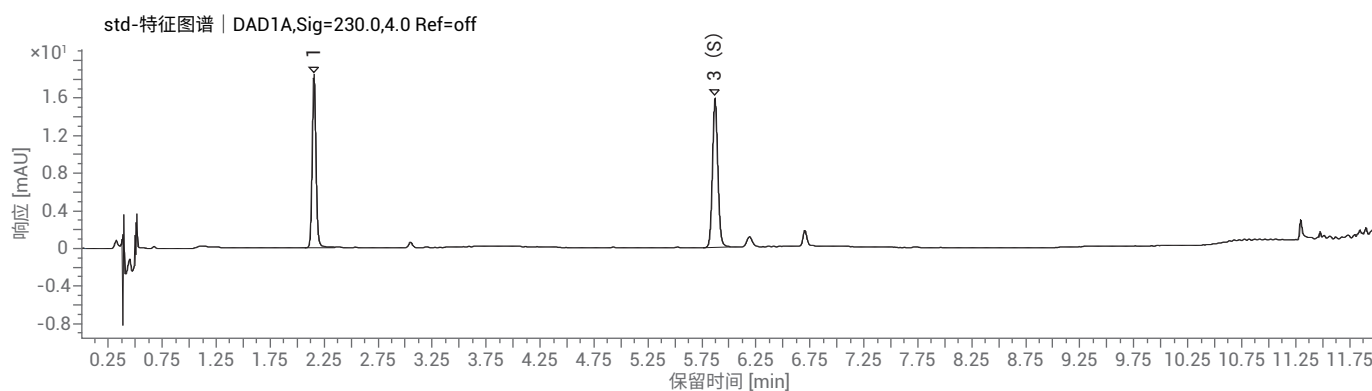
- 蜜旋覆花和旋覆花样品加速实验后运行时间由 3 分钟改为 5 分钟后重现性更好

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

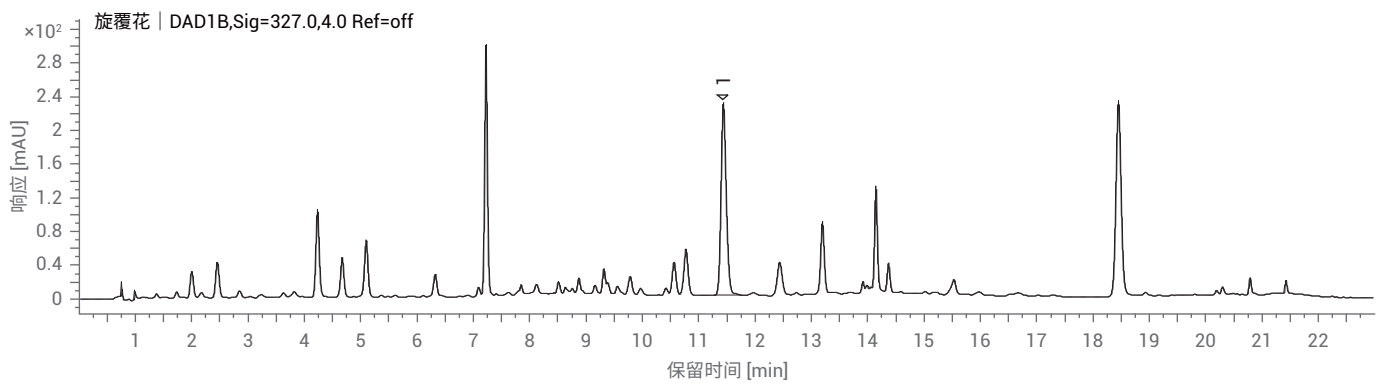
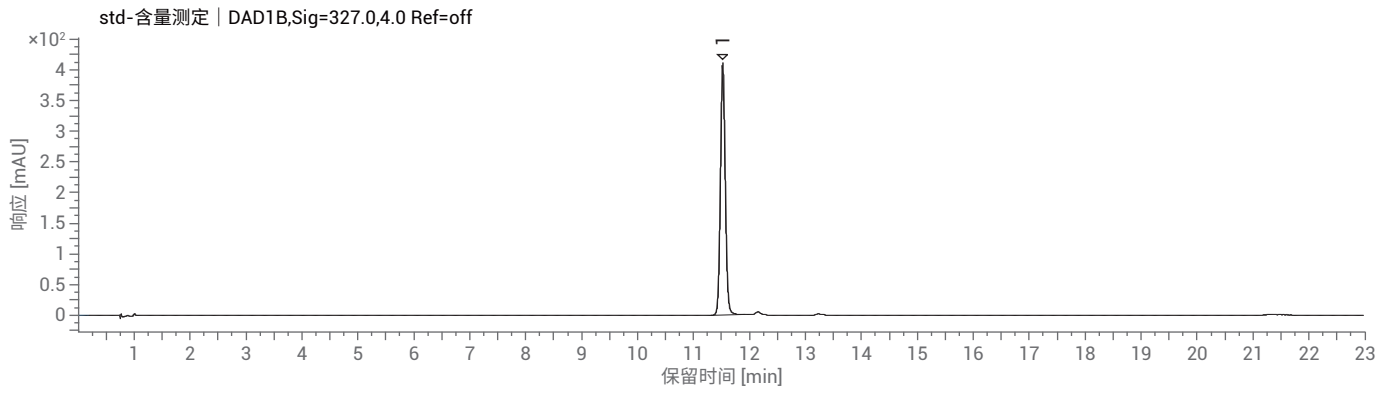
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	11.431	75253	0.77	14.667

加速方法

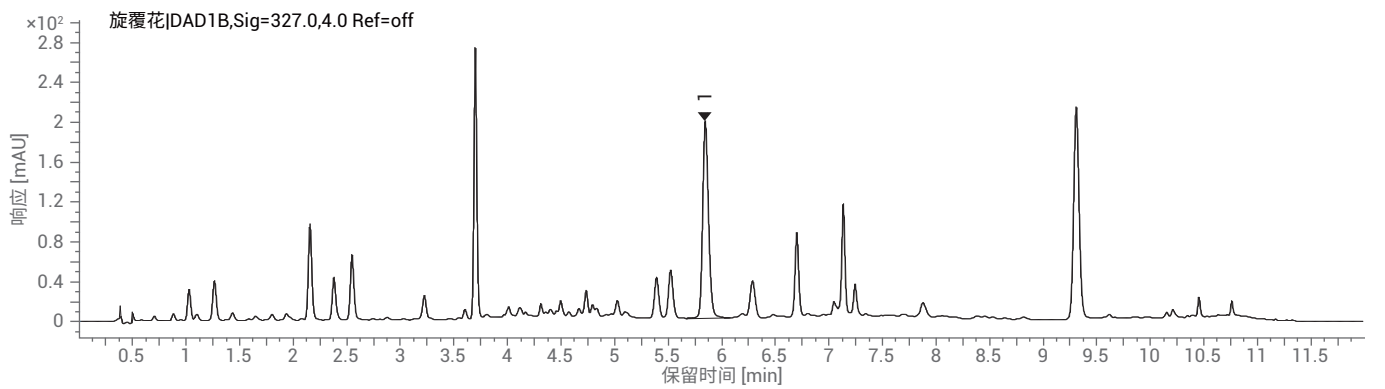
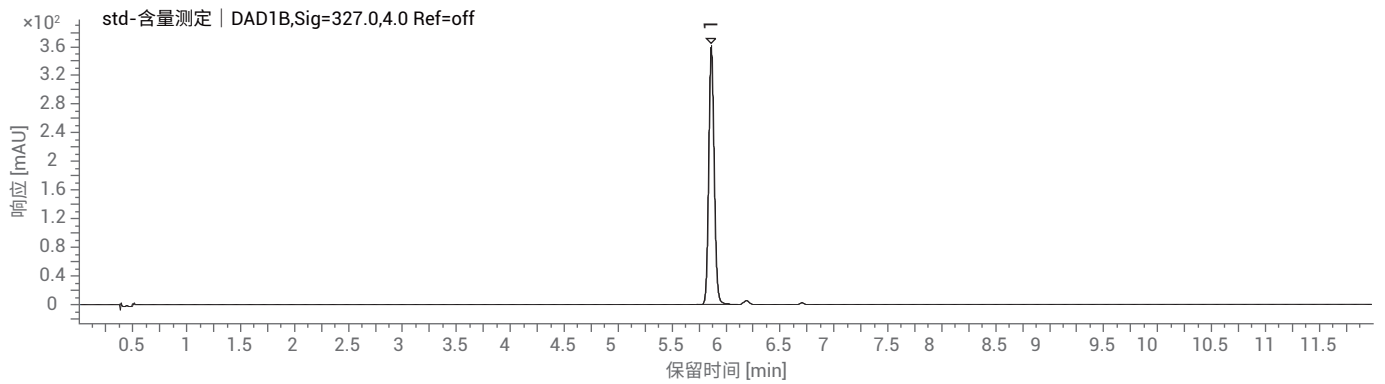
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	5.842	56677	0.76	14.913

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

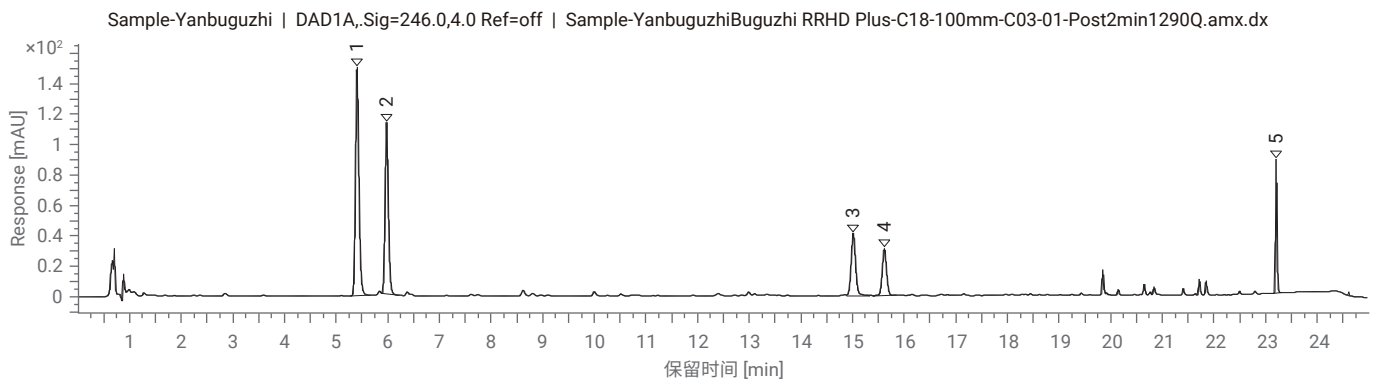
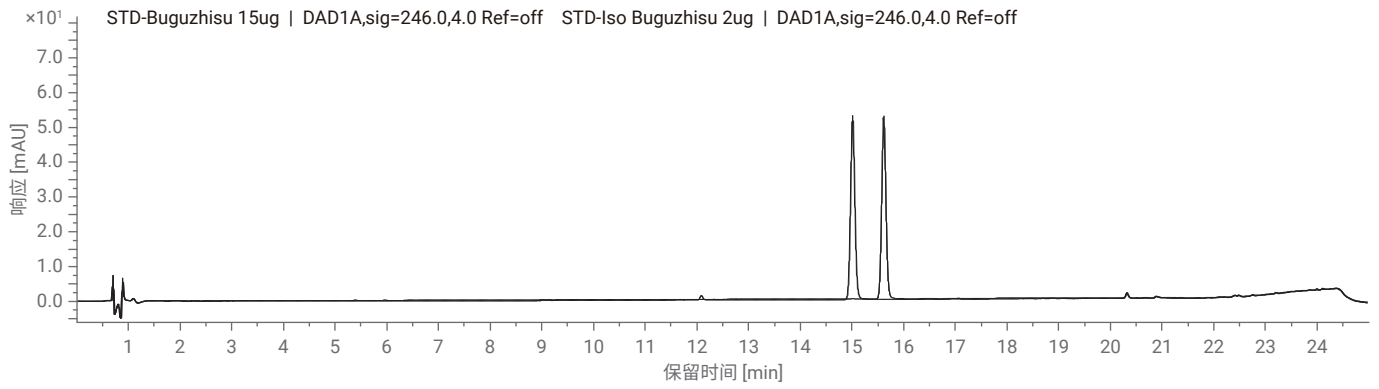
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.835	补骨脂苷	0.37	0.31-0.37			29368
2	3.141	异补骨脂苷	0.41	0.33-0.41			37272
3 (S)	7.571	补骨脂素					171373
4	7.878	异补骨脂素	1.04	0.94-1.14			192313
5	11.612	补骨脂酚	1.53				3562811

小结及注意事项

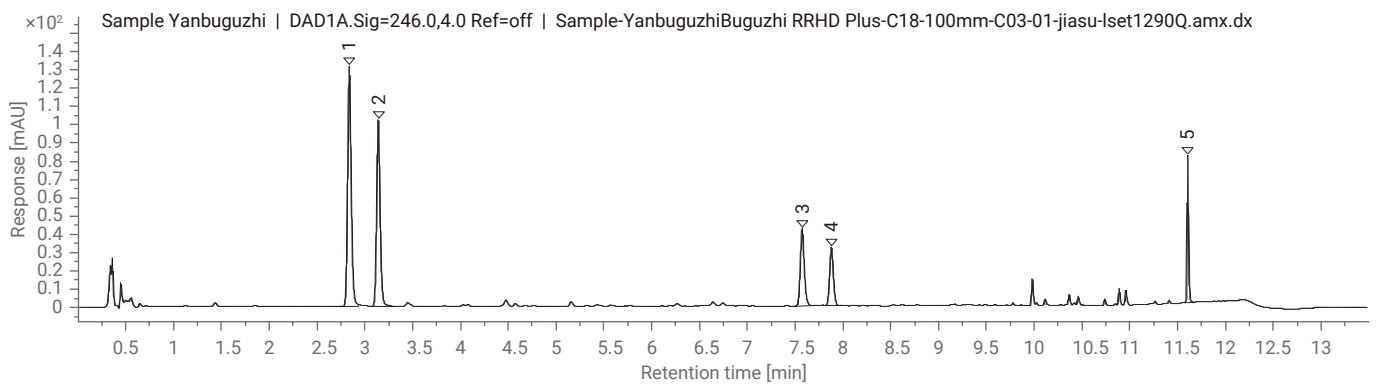
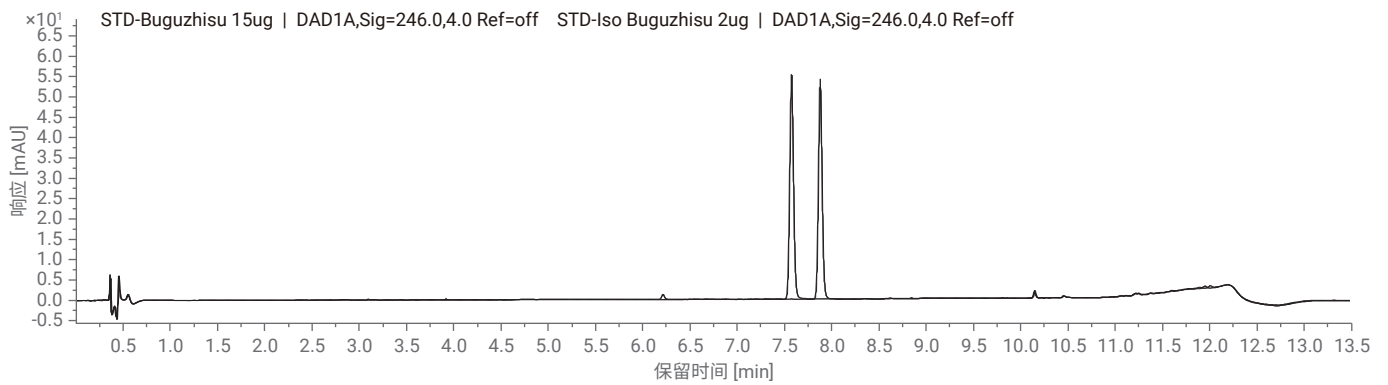
- 原始方法压力最高 383 bar , 加速方法压力最高 707Bar
- 原始方法与加速方法的图谱轮廓保持一致, 均能满足系统适用性及相对保留时间要求

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

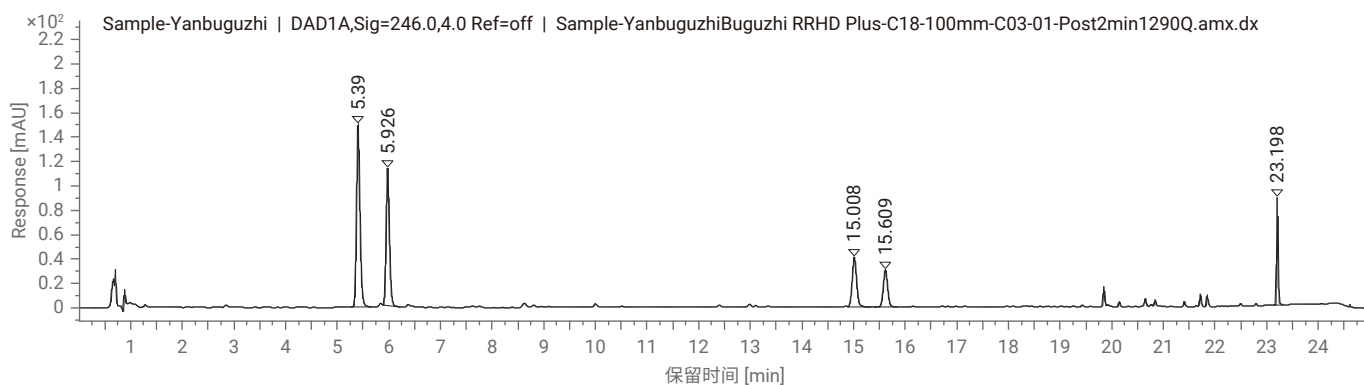
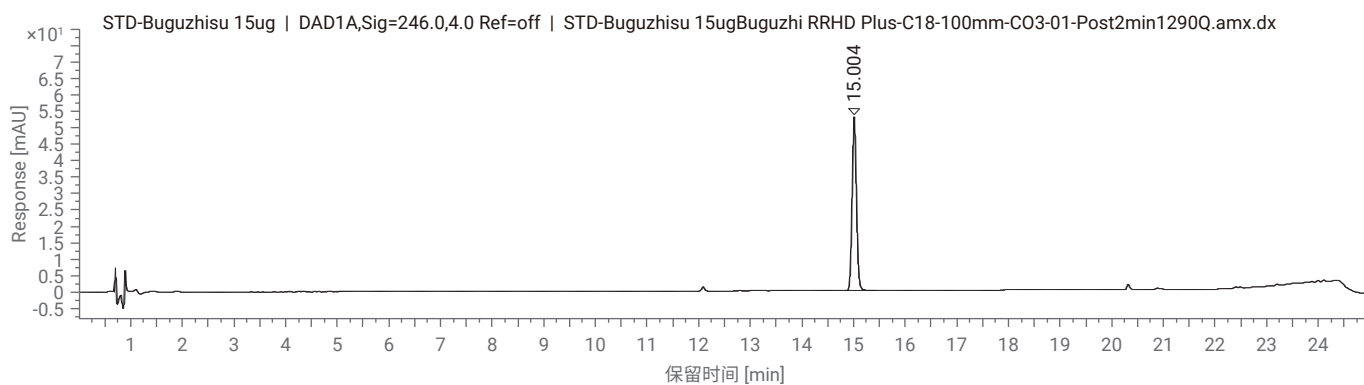
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
补骨脂苷	5.39	33477	1.24	3.45
异补骨脂苷	5.962	43236	1.20	2.59
补骨脂素	15.008	156280	1.09	2.95
异补骨脂素	15.609	174770	1.06	1.75
补骨脂酚	23.198	4179576	1.34	

UHPLC 加速方法

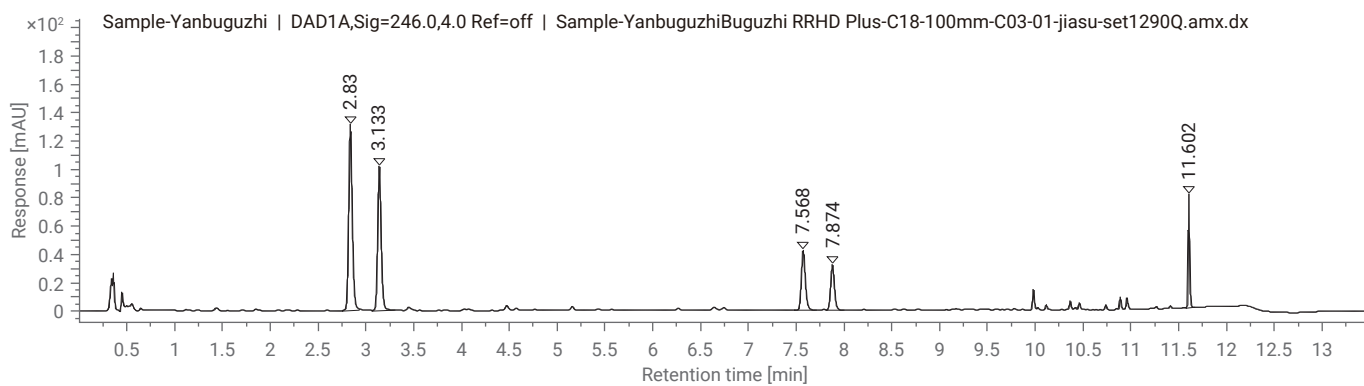
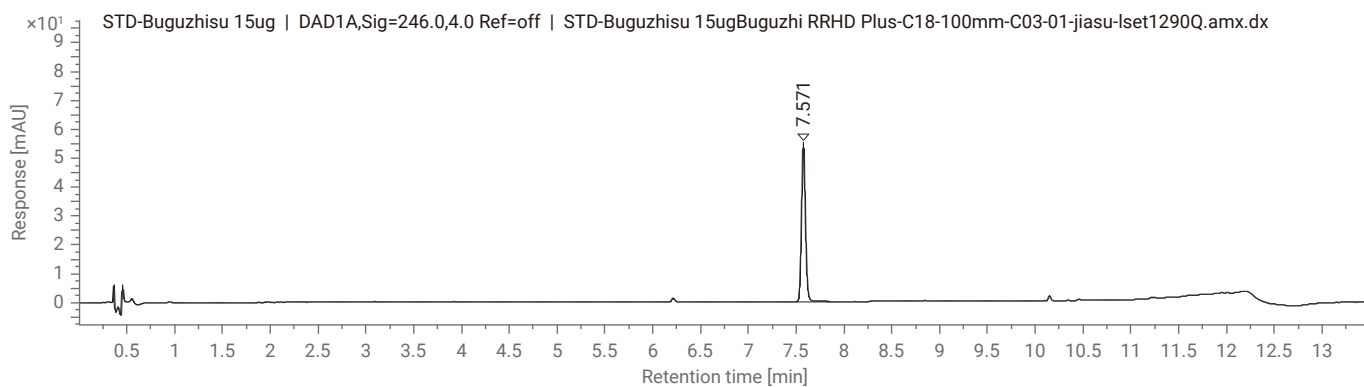
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
补骨脂苷	2.83	29078	1.19	3.42
异补骨脂苷	3.133	36936	1.18	2.62
补骨脂素	7.568	170610	1.23	2.96
异补骨脂素	7.874	192161	1.11	1.74
补骨脂酚	11.602	3467743	1.22	

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

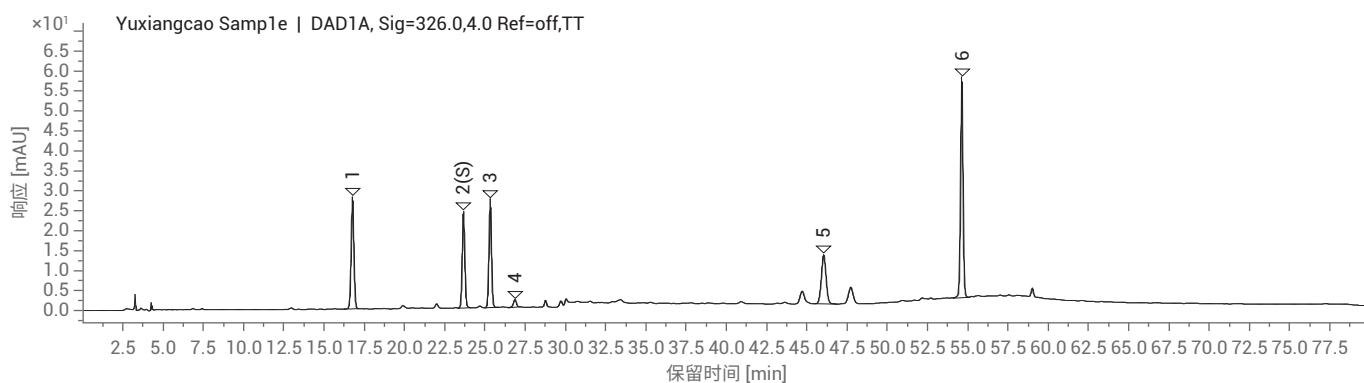
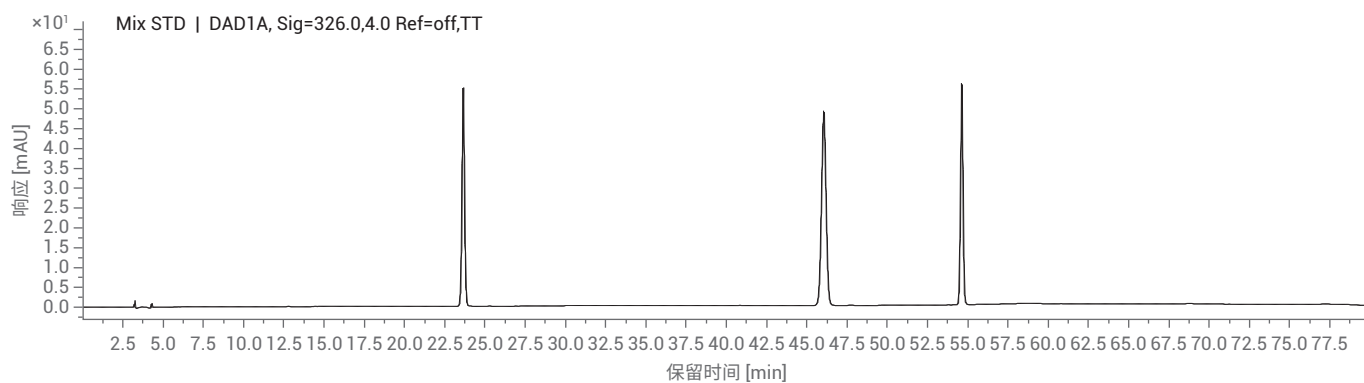
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	峰 5/峰 6	规定范围 (大于)	
1	2.347	新绿原酸	0.69	0.59-0.73			21286
2 (S)	3.423	绿原酸					65168
3	3.722	隐绿原酸	1.09	0.93-1.13			87656
4	4.39		1.28	1.02-1.24			47868
5	6.671	金丝桃苷	37.51				98523
6	8.192	槲皮苷	91.79		0.409	0.141	364761

小结及注意事项

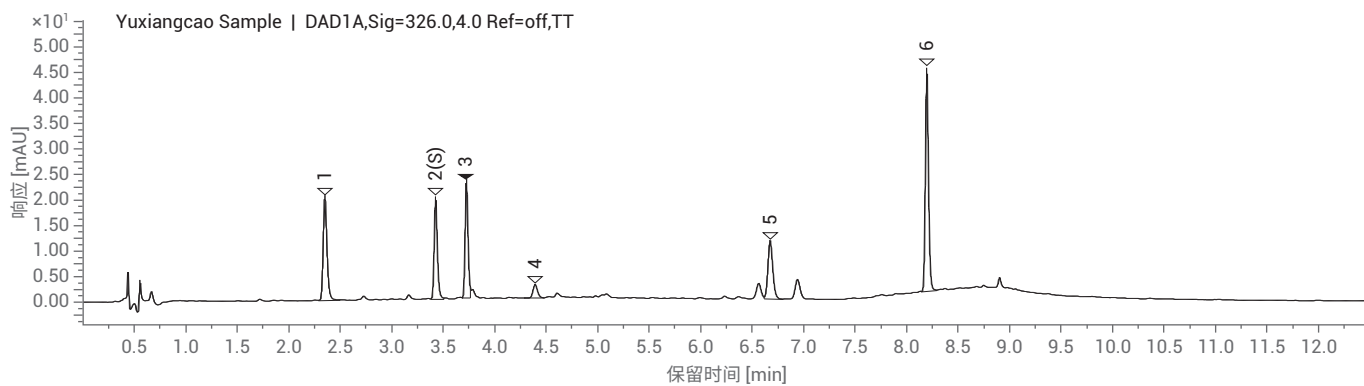
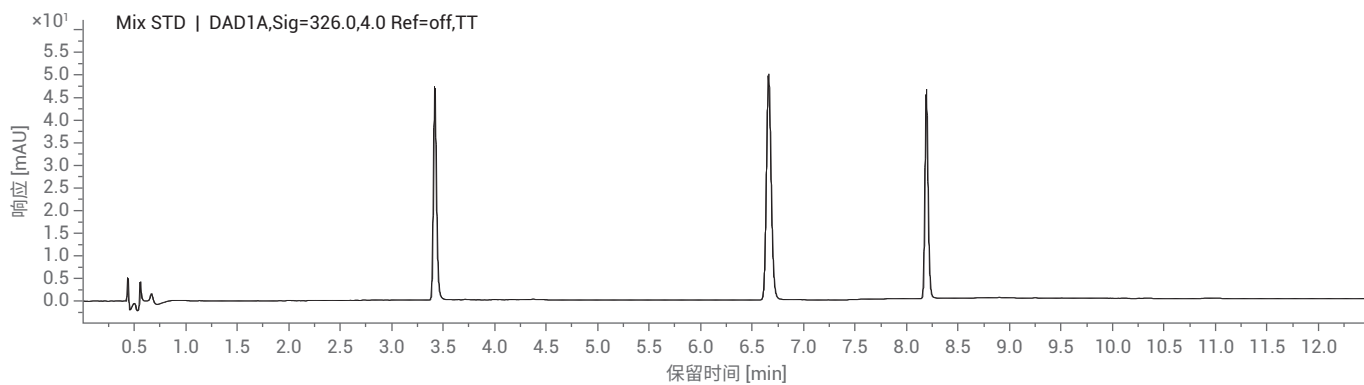
- 原始 HPLC 采用 Luna C18 柱, 转换到 TC-C18 柱候可以满足特征图谱分析要求
- 从 HPLC 方法转换到 UHPLC 方法, 分析时间从 80 分钟缩短到 12.5 分钟

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

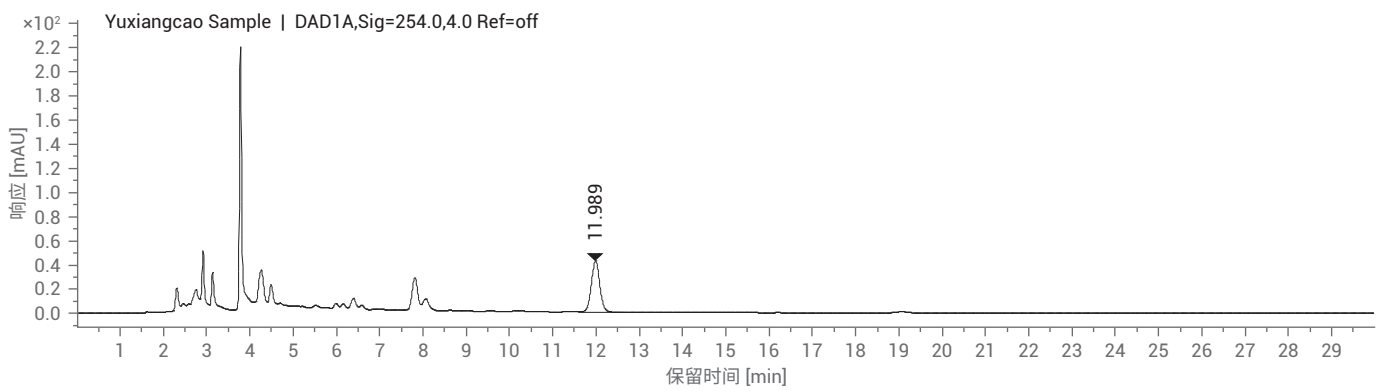
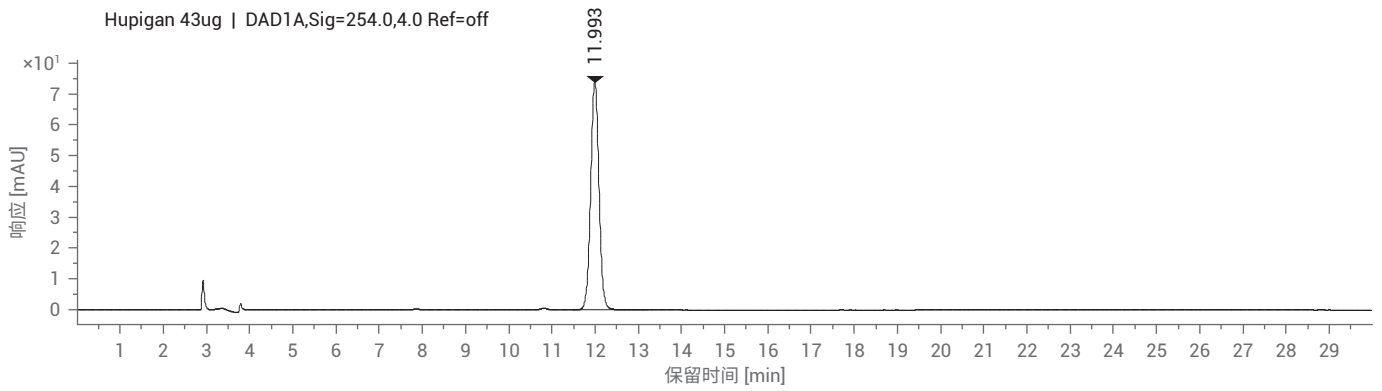
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP) N ≥ 3000 (S 峰)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
槲皮苷	1.555	8401	1.38	5.76

小结及注意事项

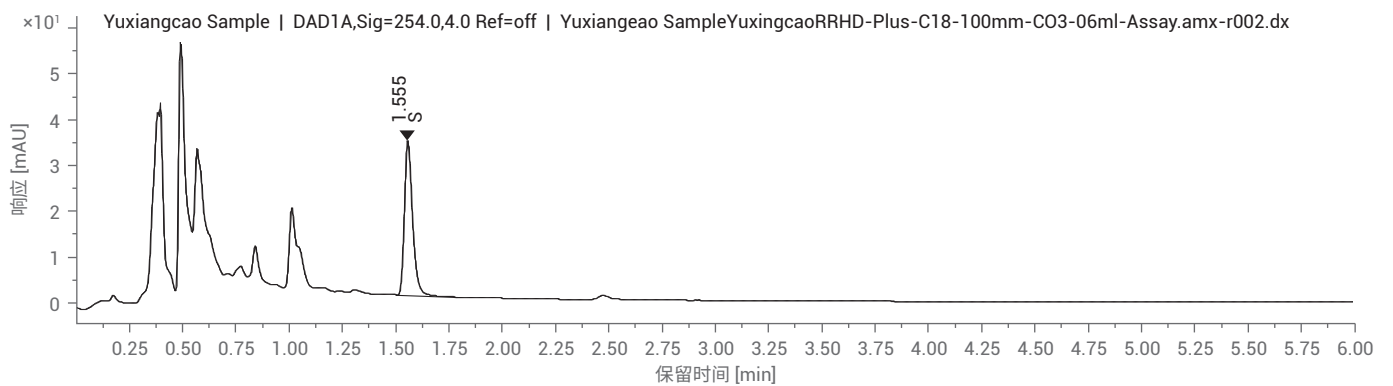
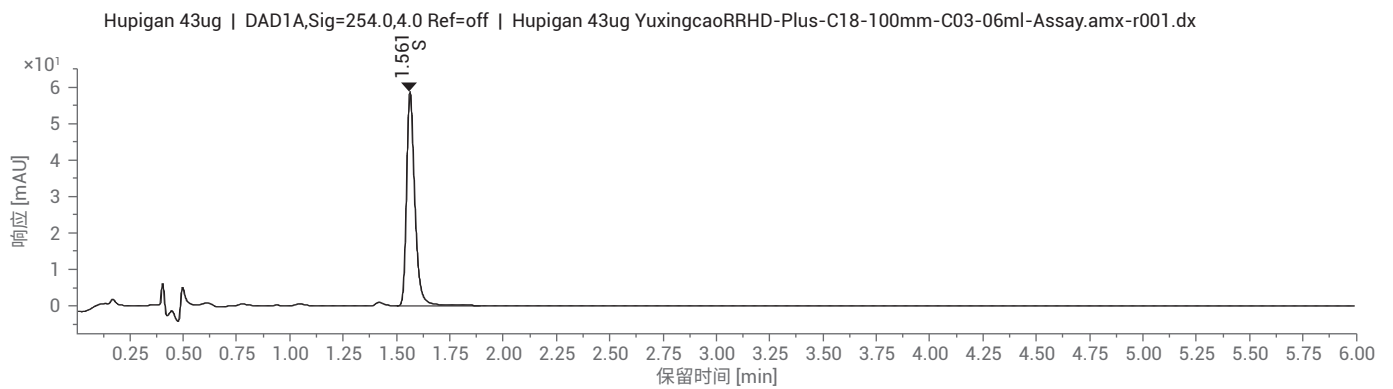
- 色谱柱 TC-C18 含量检测峰形完好
- 方法转换到 UHPLC 方法后, 时间从 30 分钟减少到 6 分钟, 效率提高 5 倍

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		

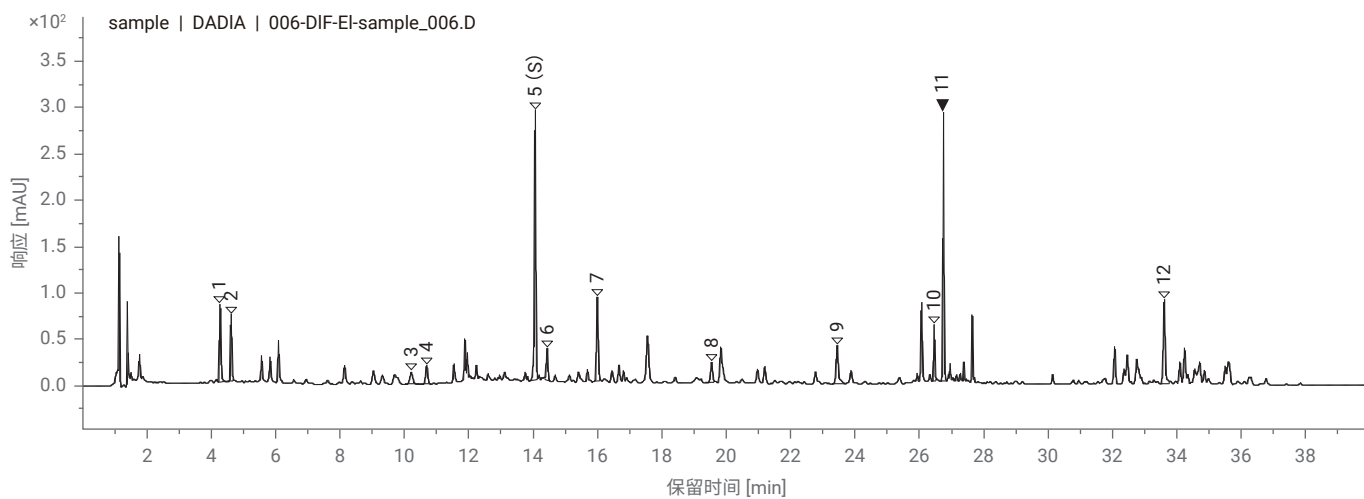
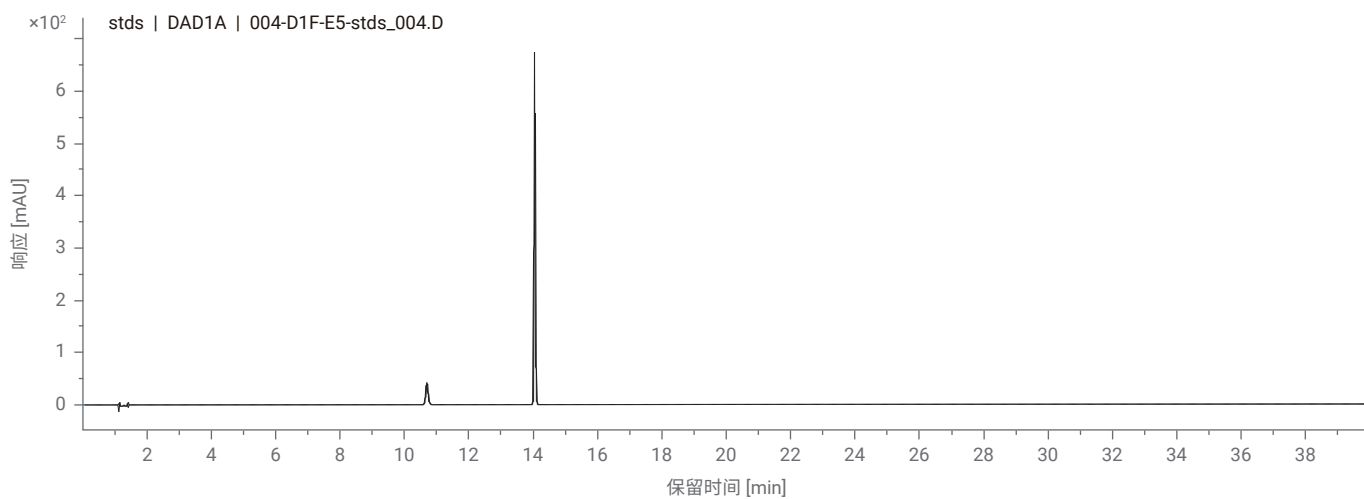
系统适用性

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

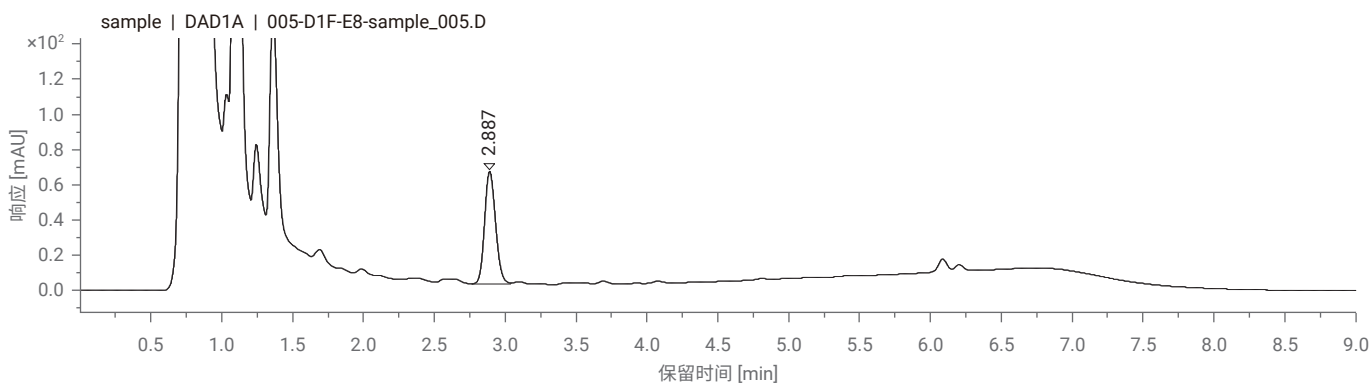
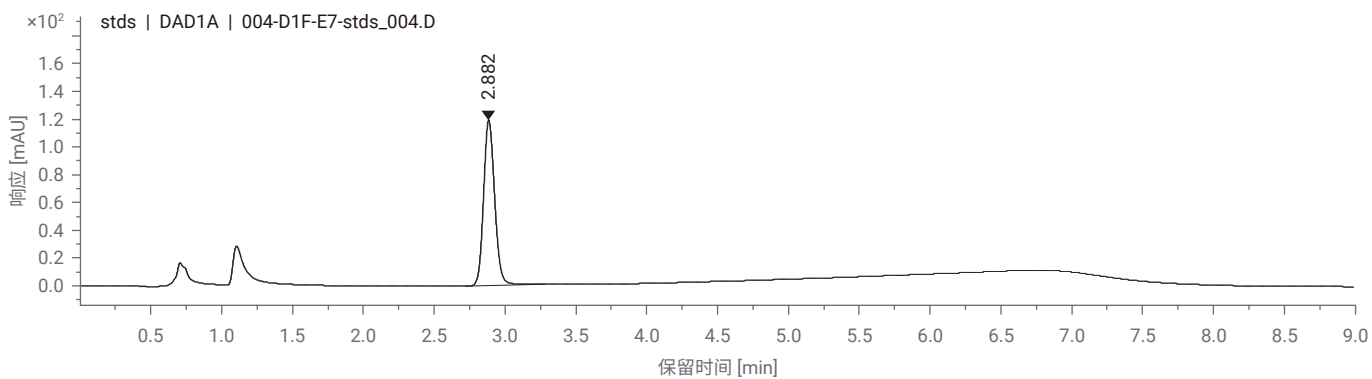
仪器配置及色谱条件

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



远志吡酮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: <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>13</td></tr> <tr><td>7</td><td>13</td></tr> <tr><td>7.1</td><td>16</td></tr> <tr><td>17</td><td>16</td></tr> <tr><td>17.1</td><td>60</td></tr> <tr><td>20</td><td>60</td></tr> <tr><td>20.1</td><td>13</td></tr> <tr><td>25</td><td>13</td></tr> </tbody> </table>	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: <table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>13</td></tr> <tr><td>4</td><td>13</td></tr> <tr><td>4.1</td><td>16</td></tr> <tr><td>9</td><td>16</td></tr> <tr><td>9.1</td><td>60</td></tr> <tr><td>11</td><td>60</td></tr> <tr><td>11.1</td><td>13</td></tr> <tr><td>14</td><td>13</td></tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0	13	4	13	4.1	16	9	16	9.1	60	11	60	11.1	13	14	13	
时间 (min)	B%																																						
0	13																																						
7	13																																						
7.1	16																																						
17	16																																						
17.1	60																																						
20	60																																						
20.1	13																																						
25	13																																						
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	远志吡酮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)
远志吡酮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

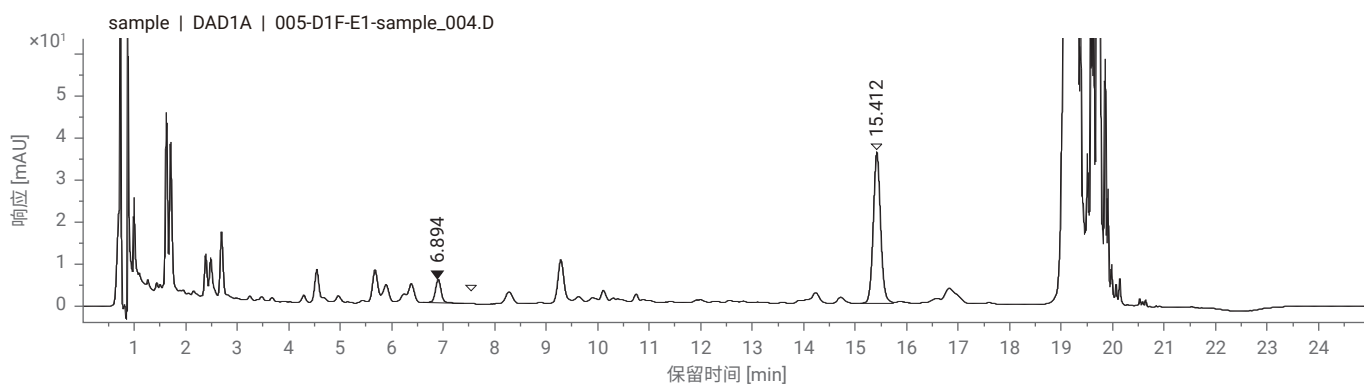
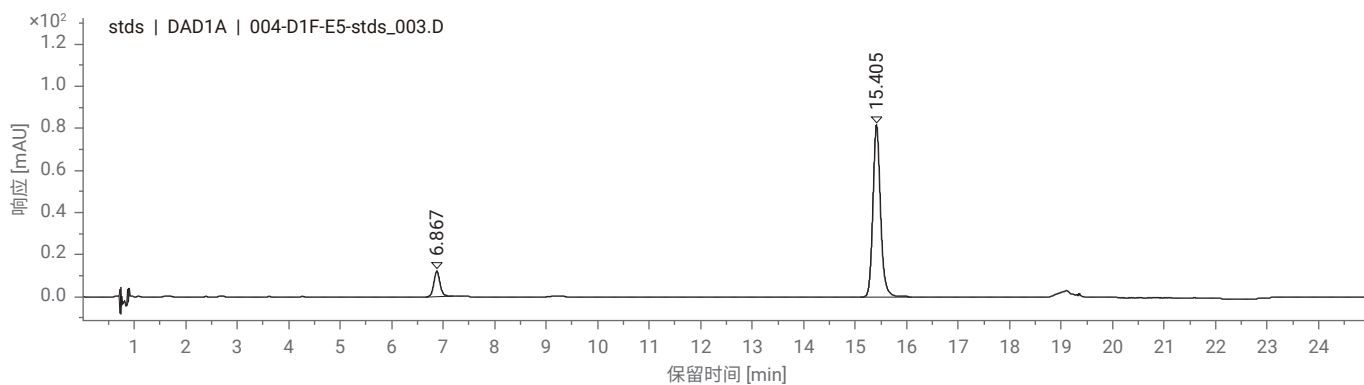
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
远志吡酮III	3.885	11691	1.04	0.94
3,6'-二芥子酰基蔗糖	8.985	39774	0.91	3.76

小结及注意事项

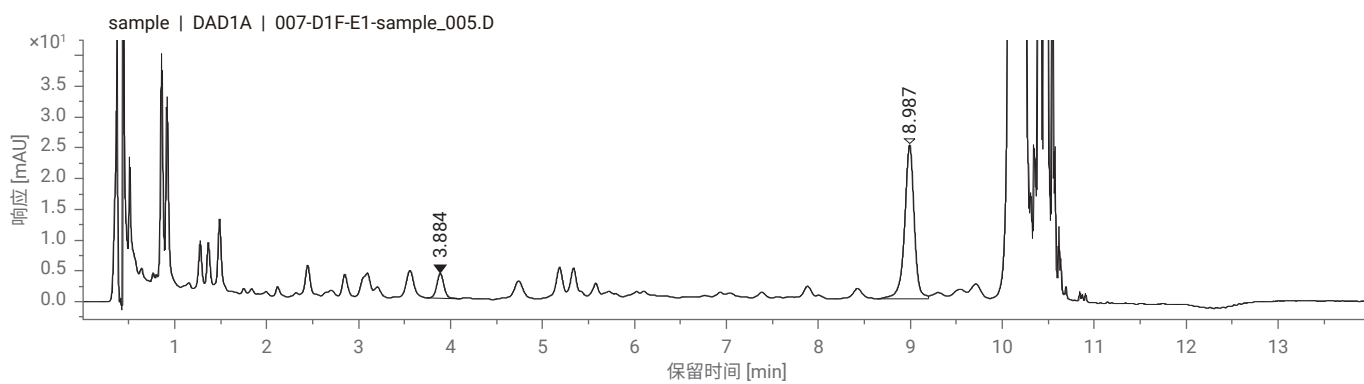
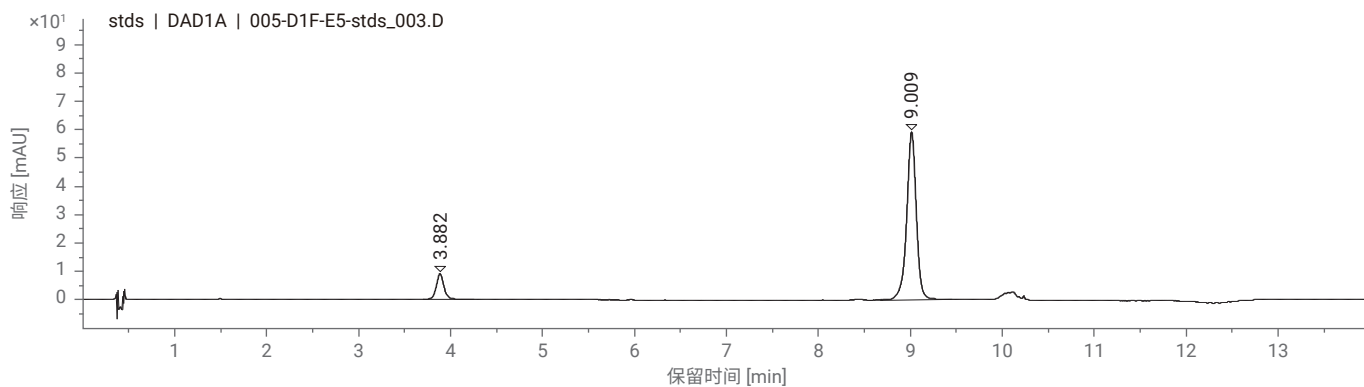
- 原始方法压力最高 454 bar, 加速方法压力最高 832 bar
- 原始方法中远志吡酮 III 和 3,6'-二芥子酰基蔗糖含量测定分别是在 16% 和 18% 的乙腈等度洗脱的, 在此条件下发现两个化合物在样品中均有干扰峰未分开。因此, 条件优化为在分别 13% 和 16% 乙腈比例下分离, 两个化合物均能获得基线分离

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

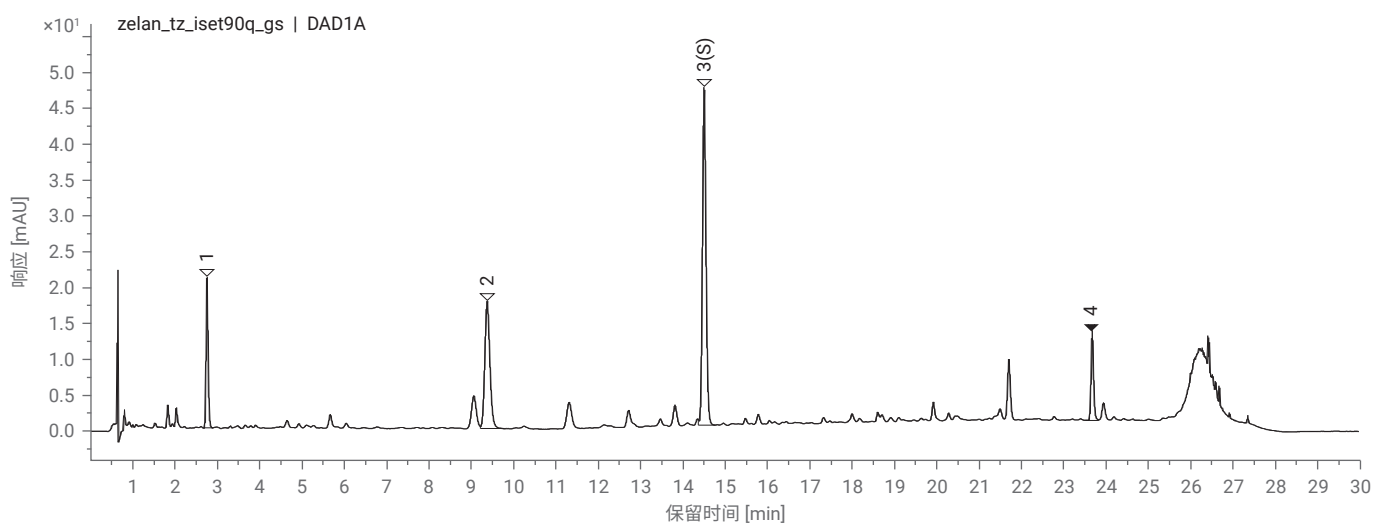
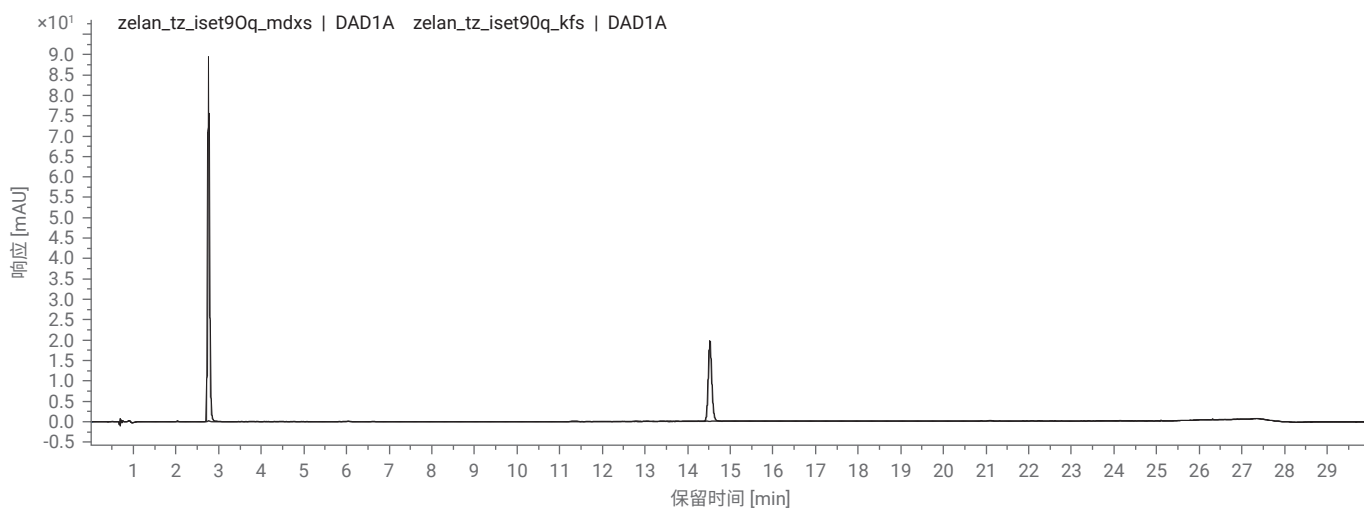
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	1.75	咖啡酸					14458
2	5.86		0.63	0.54-0.66	0.51	≥0.22	26337
3 (S)	9.31	迷迭香酸					113137
4	15.68		1.68	1.49-1.83	0.14	≥0.09	773828

小结及注意事项

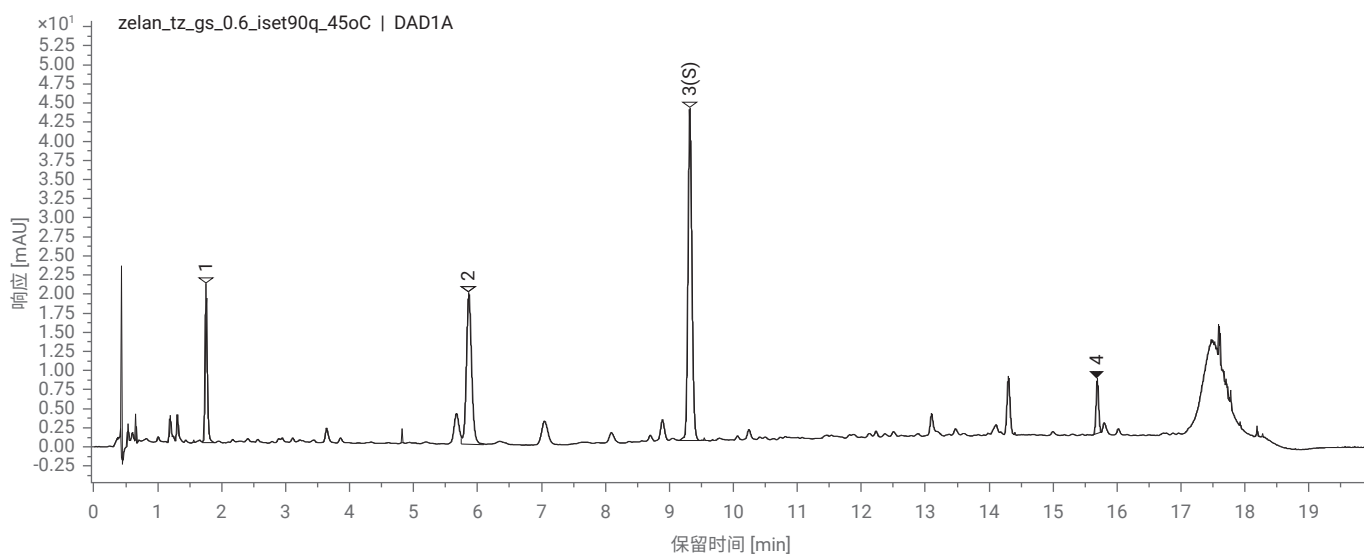
- 原始方法压力最高 420 bar, 加速方法压力最高 670 bar
- 加速 1.5 倍, 时间相应缩短, 在满足原方法要求之外提高了效率

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

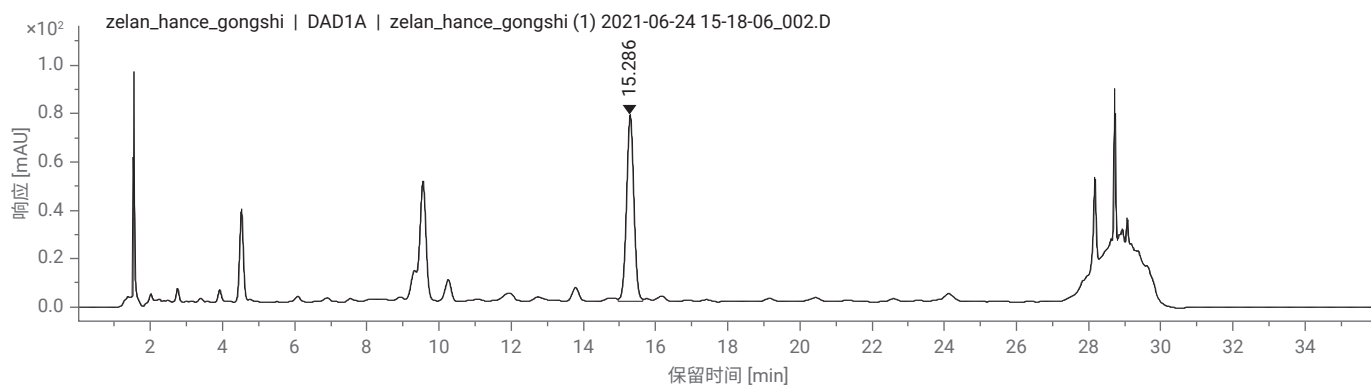
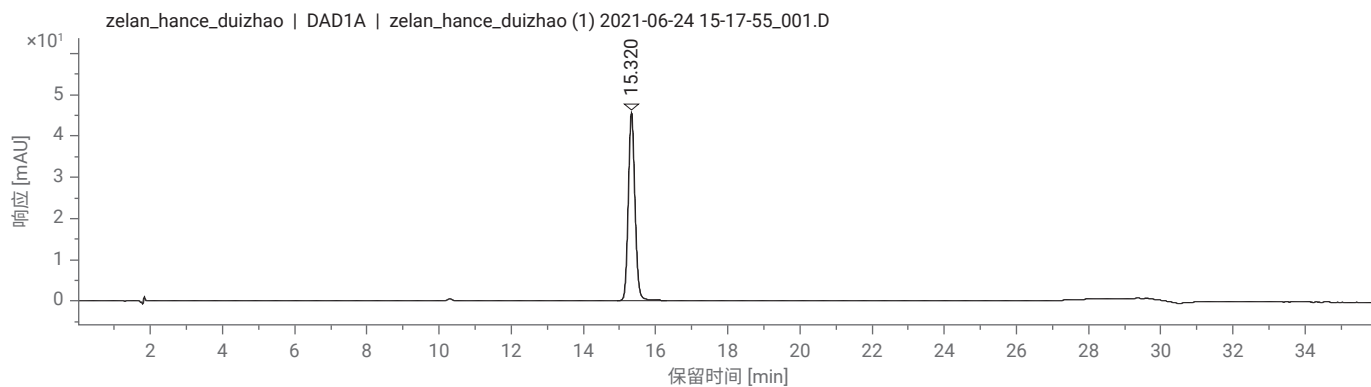
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量
迷迭香酸	2.7	38230	1.1	7.6mg

小结及注意事项

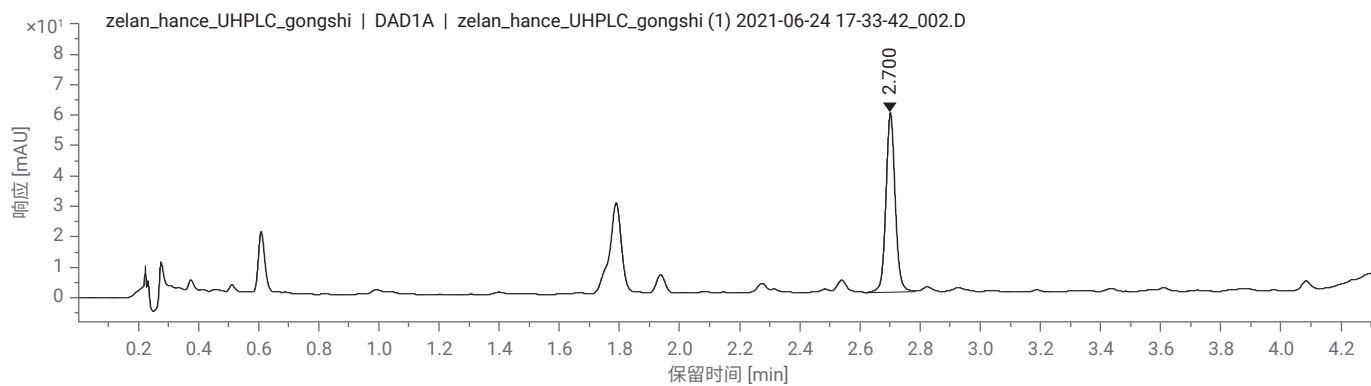
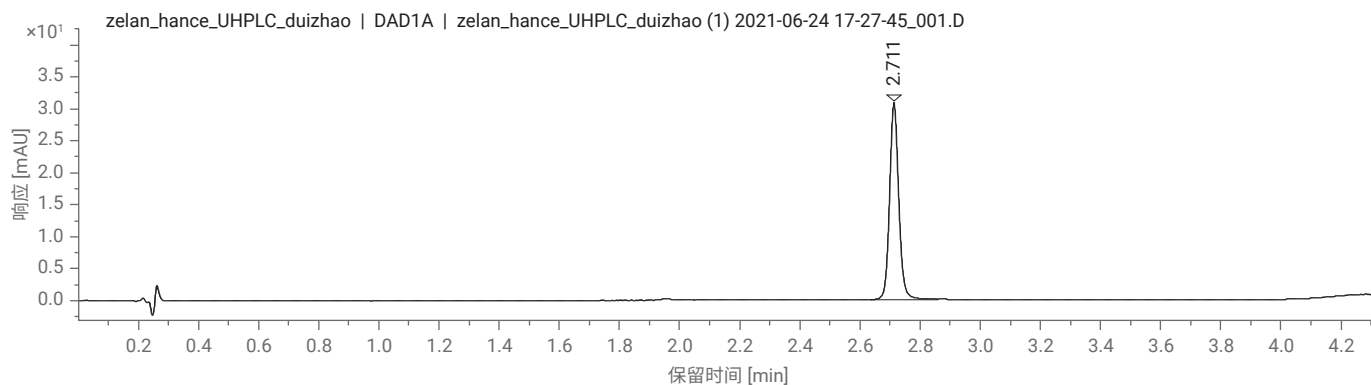
- 国标的含量测定方法需要 36 分钟分析时间, 按照 2020 版本药典 0512 通则转换成 UHPLC 方法之后只需要 4.5 分钟左右, 大大节约了时间和试剂消耗, 提高了效率

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

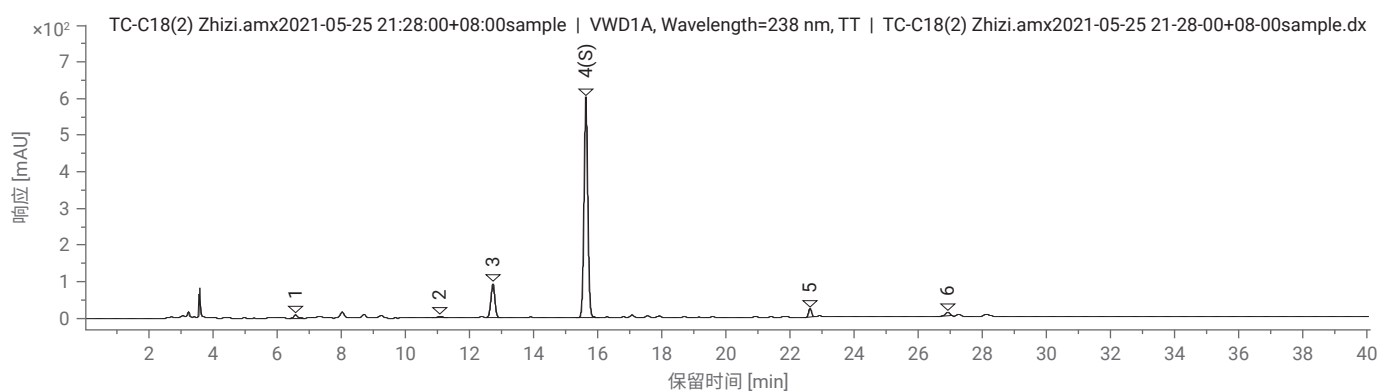
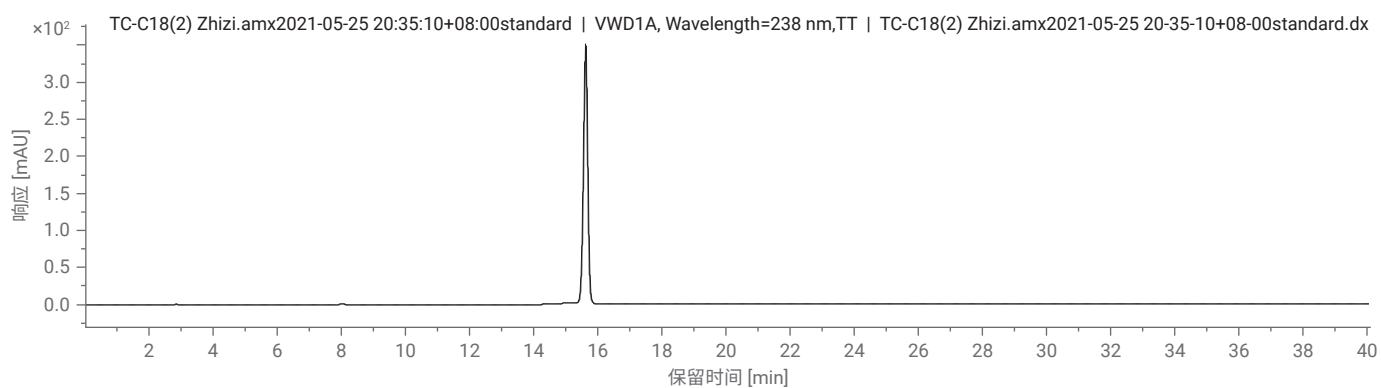
峰	化合物	保留时间 (min)	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1		0.911	0.289	0.376~0.442			5464
2		2.117	0.672	0.648~0.760			18662
3	京尼平 1-β-D龙胆双糖苷	2.662	0.845	0.742~0.870			57872
4 (S)	栀子苷	3.150					89399
5		4.40	1.397	1.339~1.571			261185
6	西红花苷 I	4.952	1.572	1.572~1.845			245639

小结及注意事项

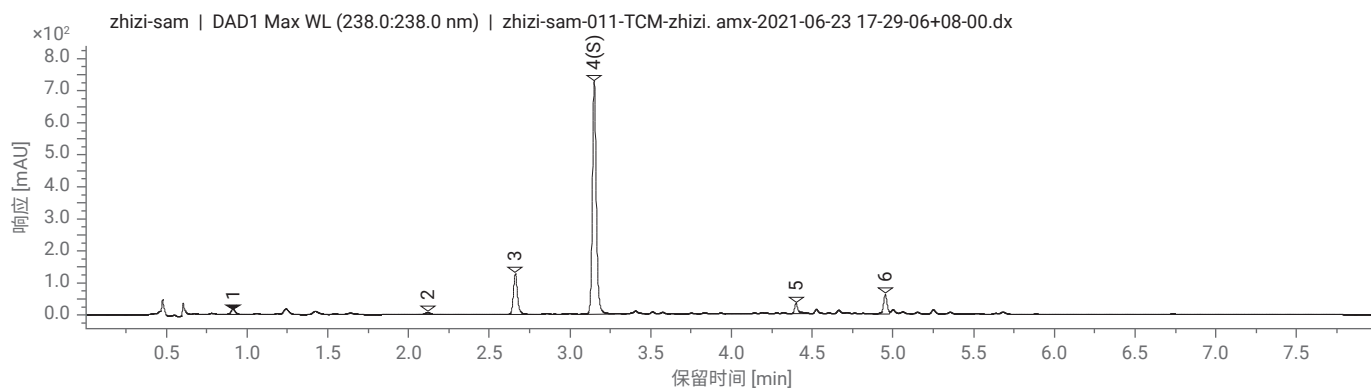
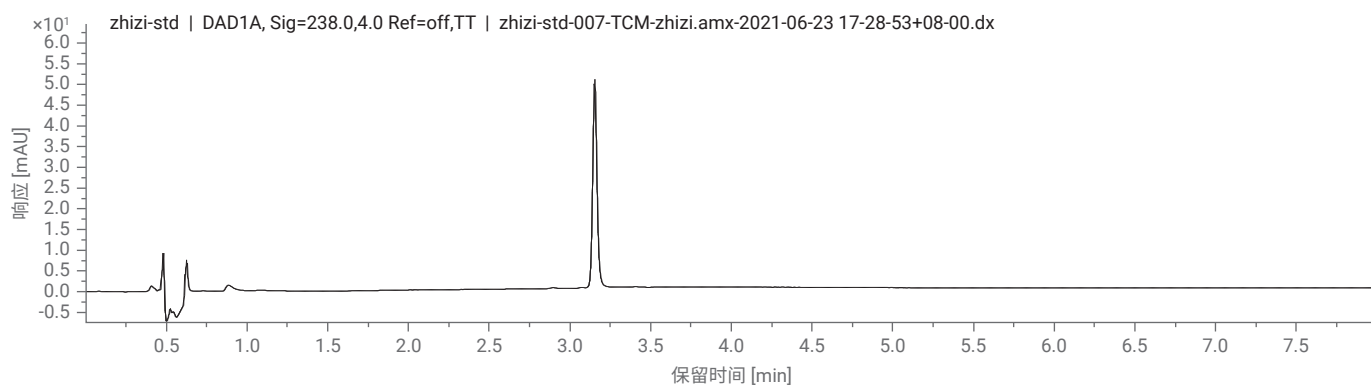
- 原始方法压力最高 145 bar, UHPLC 方法压力最高 635 bar; 使用 UHPLC 方法后分析时间缩短 34 分钟
- 按照方法转换用 poroshell 的色谱柱, 相对保留时间有偏差, 仅供参考
- 国标中无后运行方法, 建议 HPLC 方法后运行时间 10 min, UHPLC 方法后运行时间 6 min

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

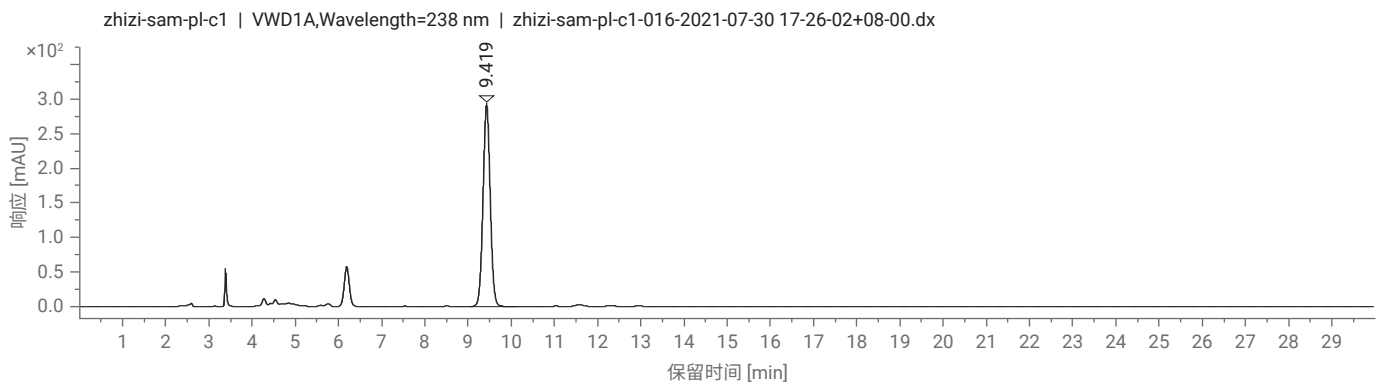
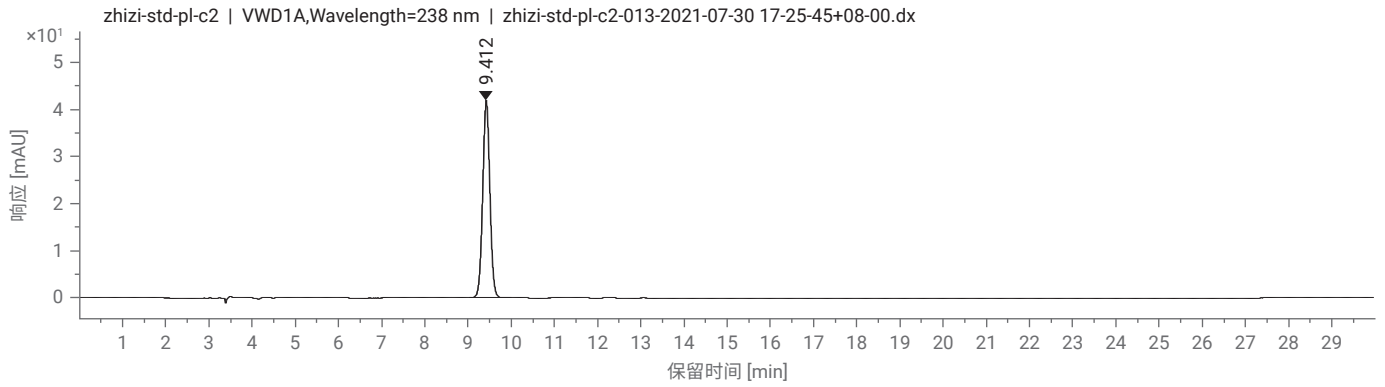
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
栀子苷	1.705	7548	1.42106	107

小结及注意事项

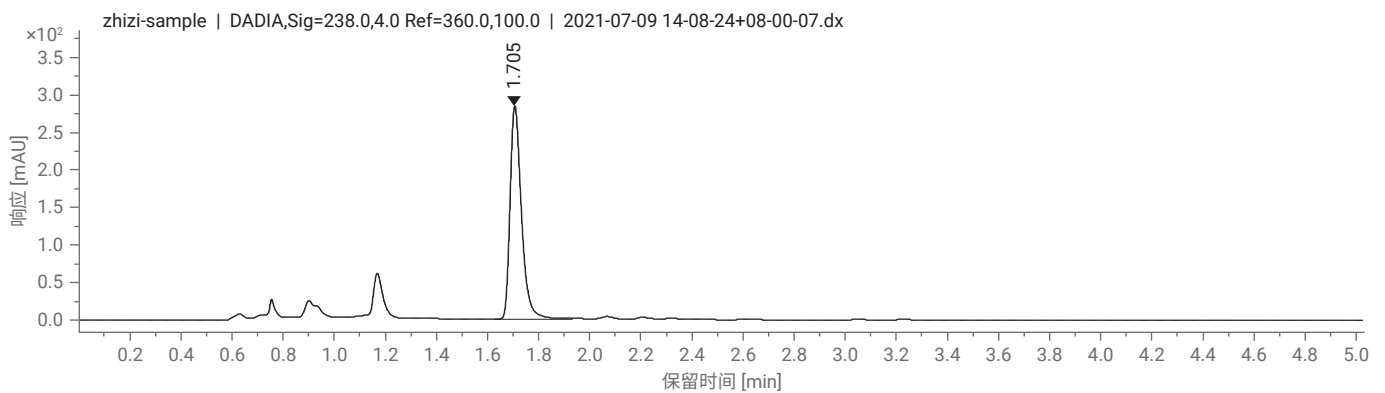
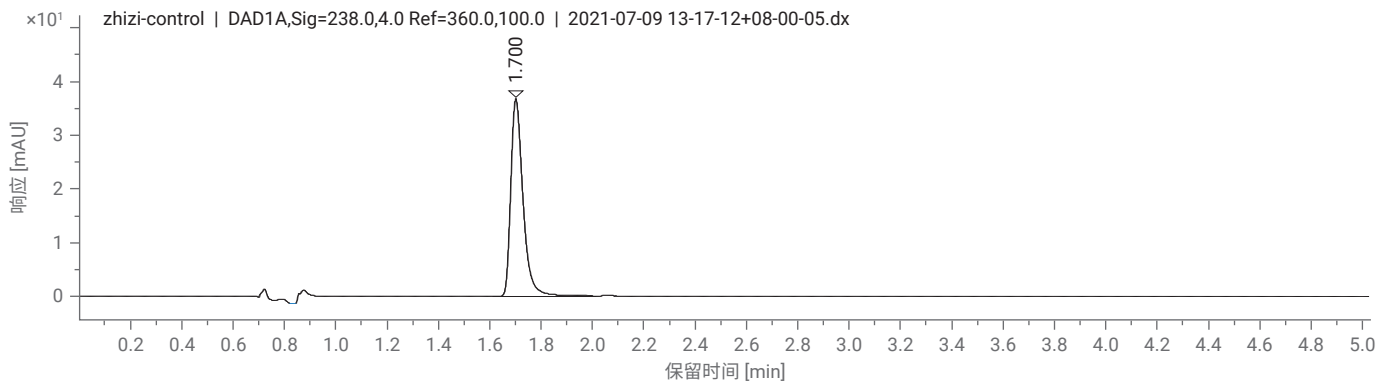
- 转换后的 UHPLC 时间由 30 分钟缩短至 5 分钟, 栀子苷柱效满足系统适用性要求

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

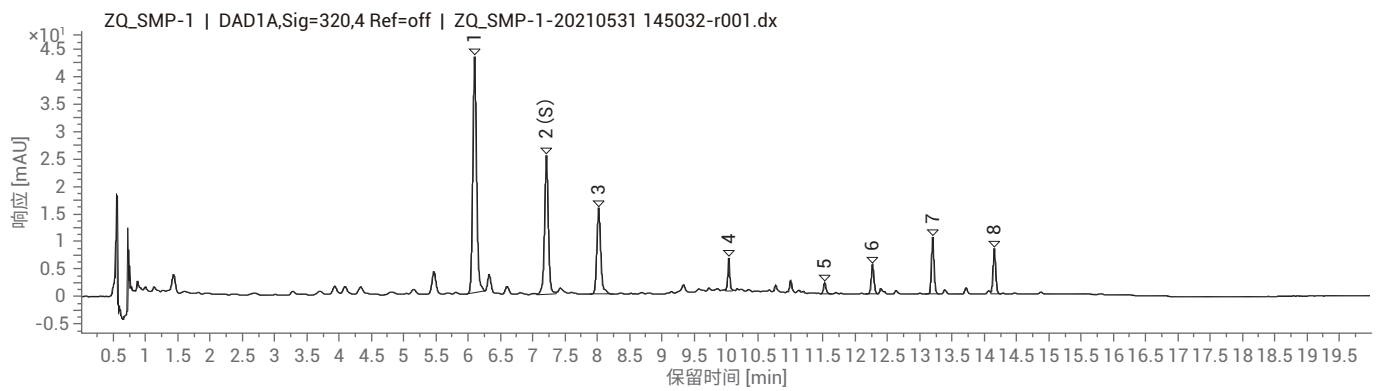
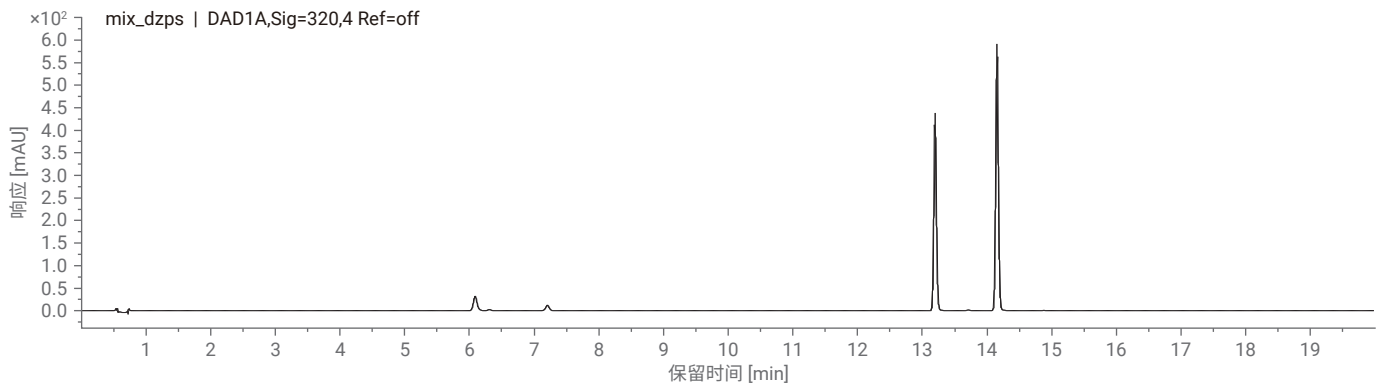
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	3.921	柚皮苷					42658
2 (S)	4.728	新橙皮苷					68914
3	5.355		1.133	1.02~1.24			86445
4	6.737		1.425	1.31~1.61			605345
5	7.786		1.647	1.49~1.82			591548
6	8.194		1.733	1.59~1.95			486729
7	8.898	川陈皮素			0.28	>0.05	598655
8	9.498	橘皮素			0.23	>0.05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

小结及注意事项

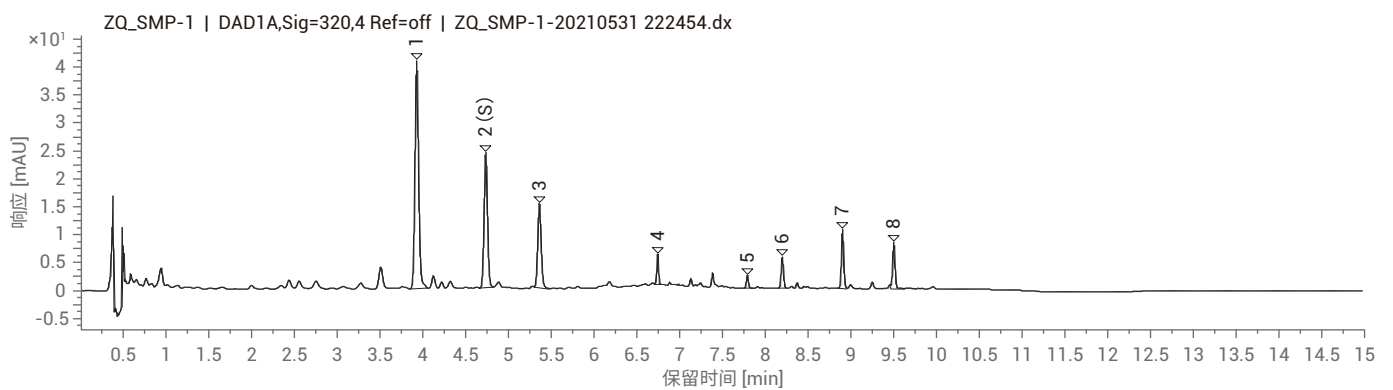
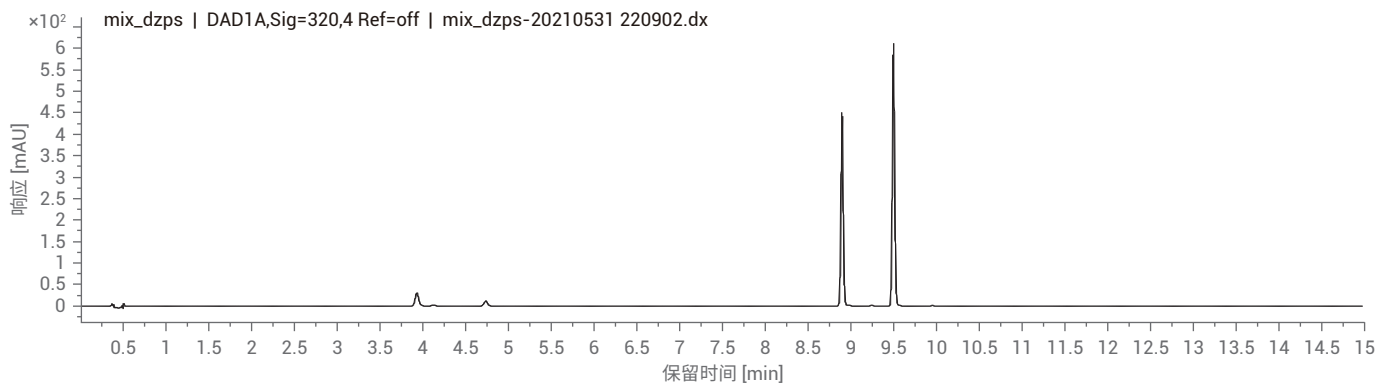
- 原始方法压力最高 450 bar, 加速方法压力最高 610 bar
- 使用 380 μl 混合器; 加速后分析时间缩短 6.5 分钟

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_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)	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

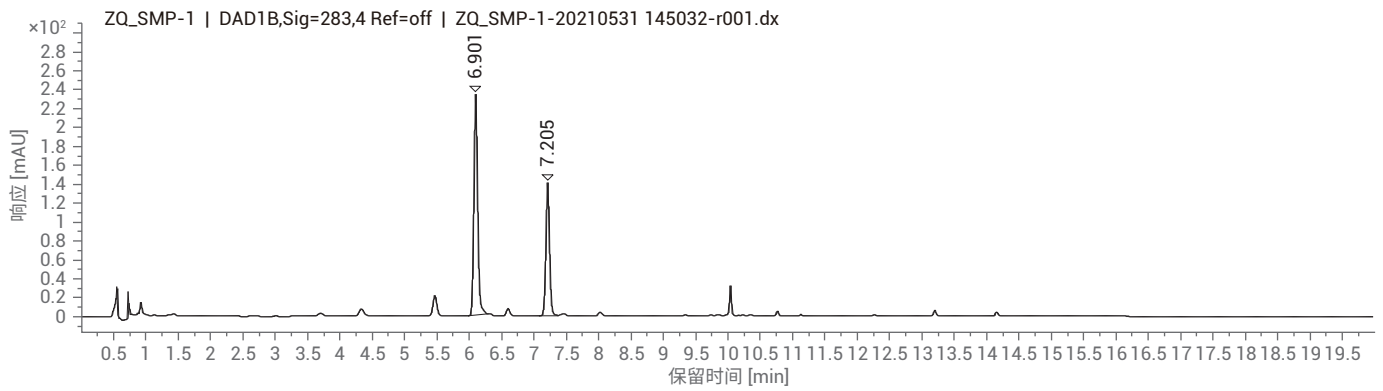
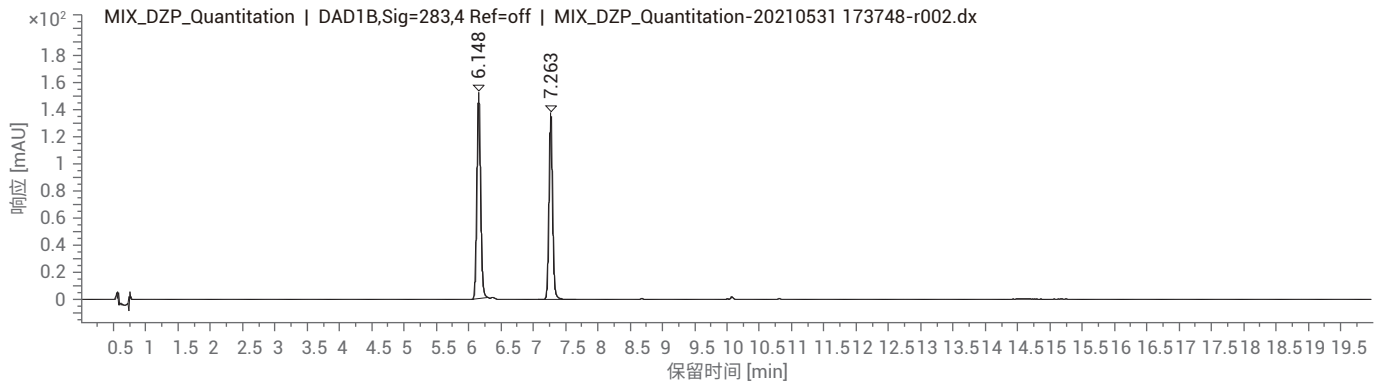
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
柚皮苷	3.923	43287	1.09	127.74
新橙皮苷	4.729	73206	1.06	86.23

小结及注意事项

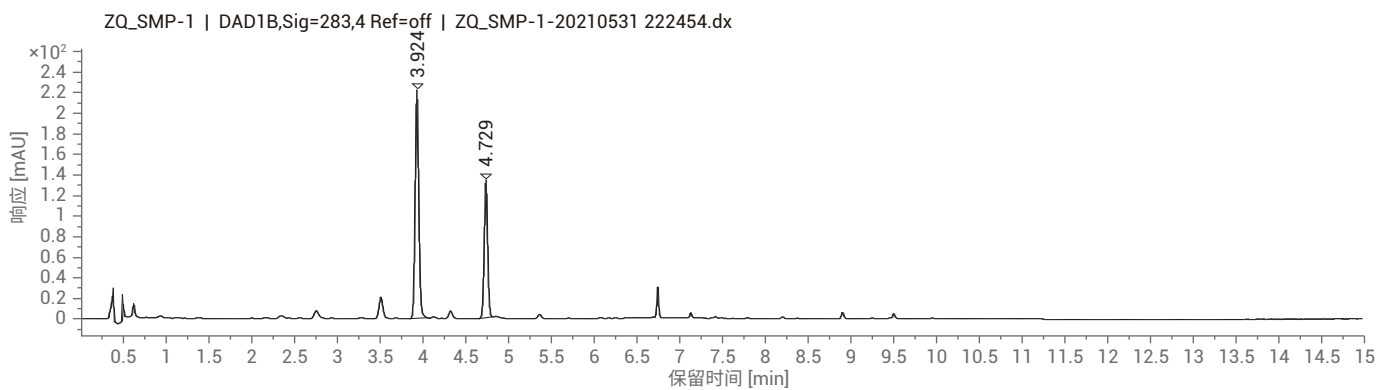
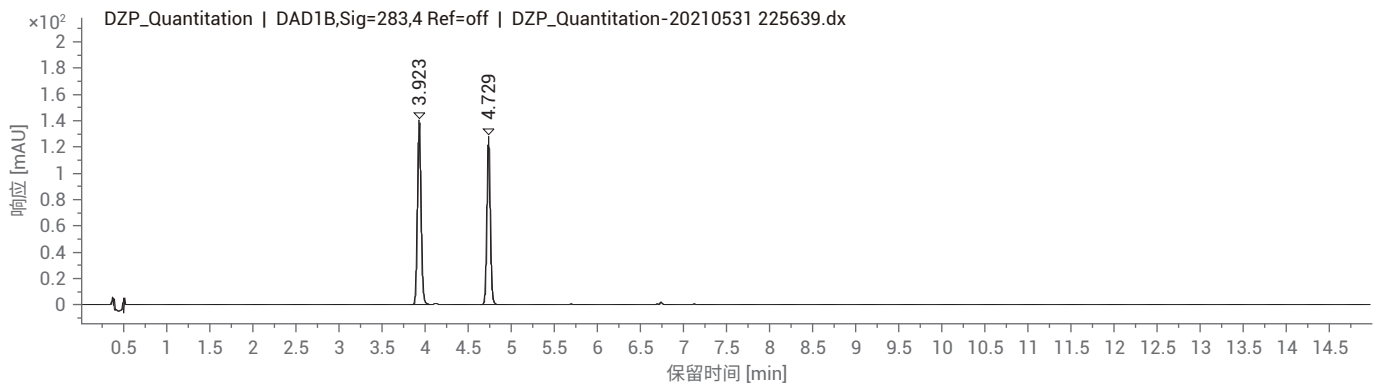
- 加速方法对柚皮苷的分离效果略好于标准方法
- 加速方法适当提高柱温利于降低流动相粘度, 降低系统反压

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

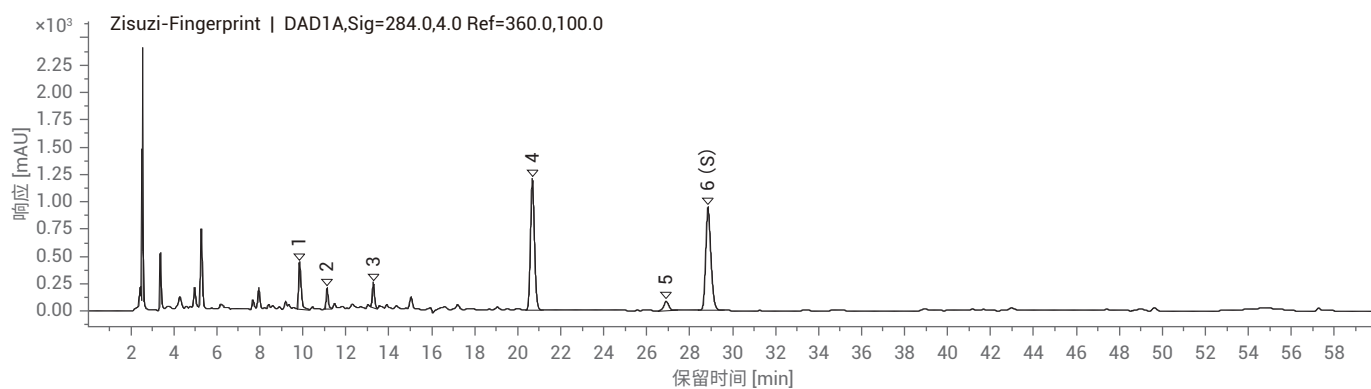
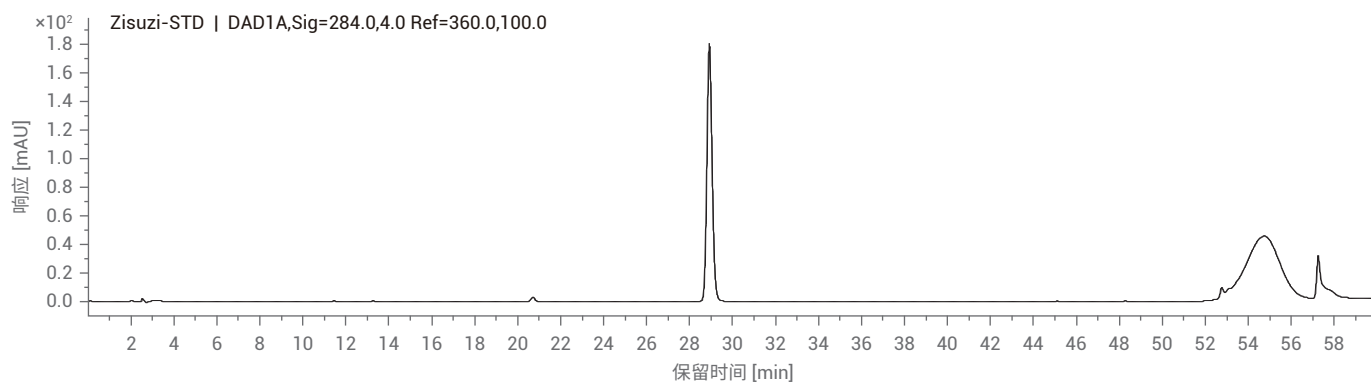
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.171		0.389	0.307~0.375			60859
2	2.465		0.442	0.343~0.419			166867
3	2.770	咖啡酸	0.497	0.411~0.503			130248
4	4.296		0.770	0.644~0.788			102069
5	5.355		0.960	0.844~1.032			104647
6(S)	5.579	迷迭香酸					90926

小结及注意事项

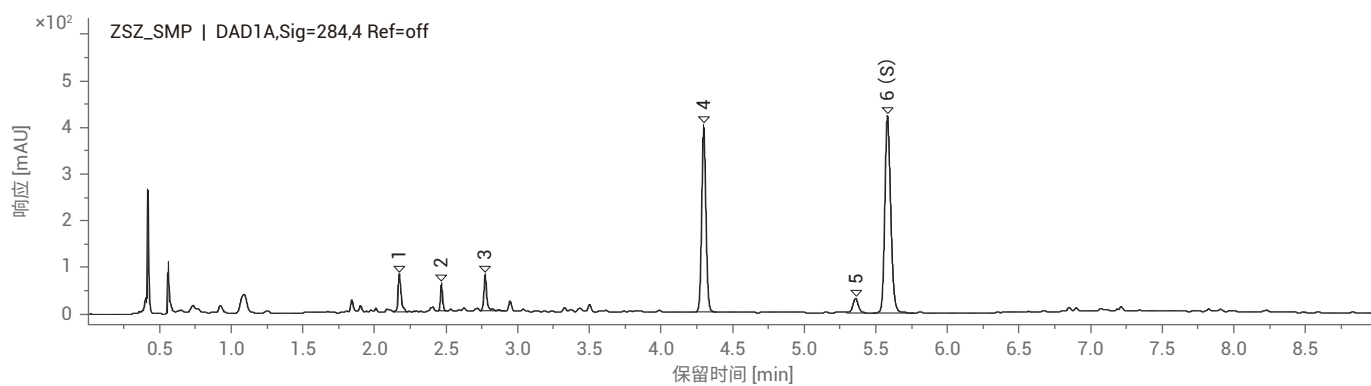
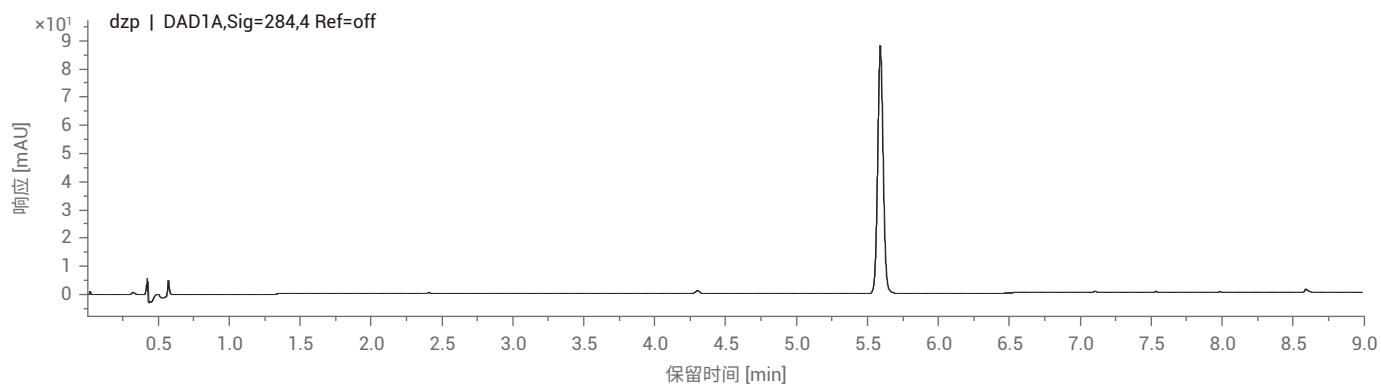
- 常规分析方法中设置了后运行时间 12 min; UHPLC 方法后运行时间设置为 4 min
- 原始方法压力最高 138 bar, UHPLC 方法压力最高 618 bar; 使用 UHPLC 方法后分析时间缩短 51 分钟

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

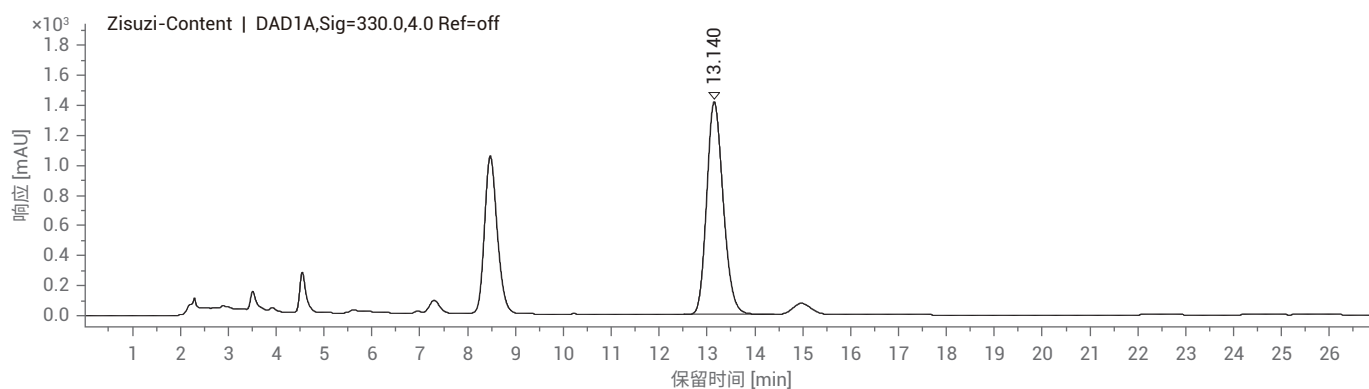
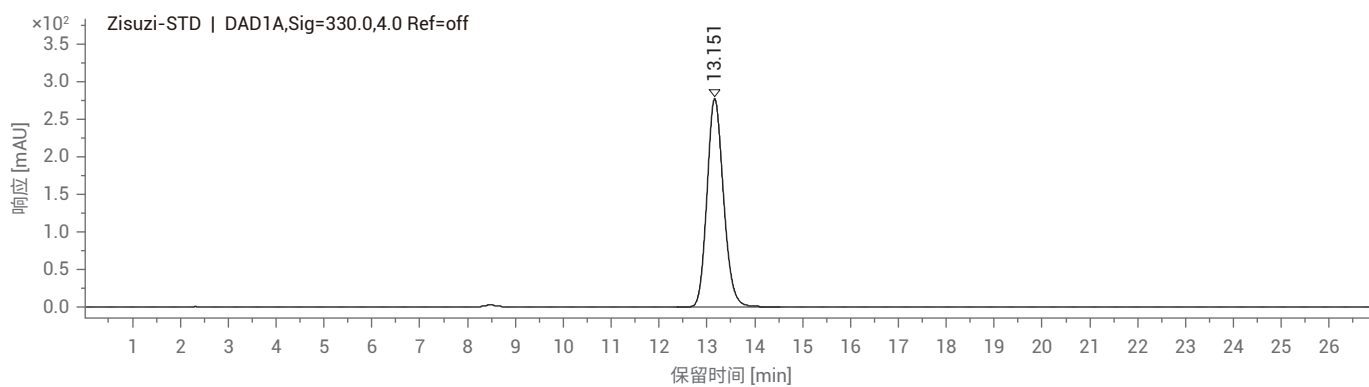
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
迷迭香酸	1.591	4939	1.20	10.14

小结及注意事项

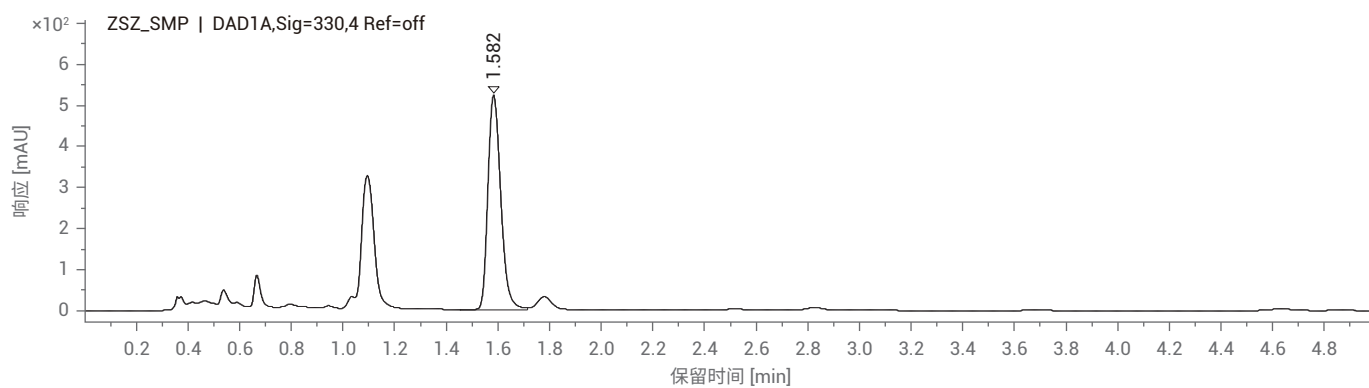
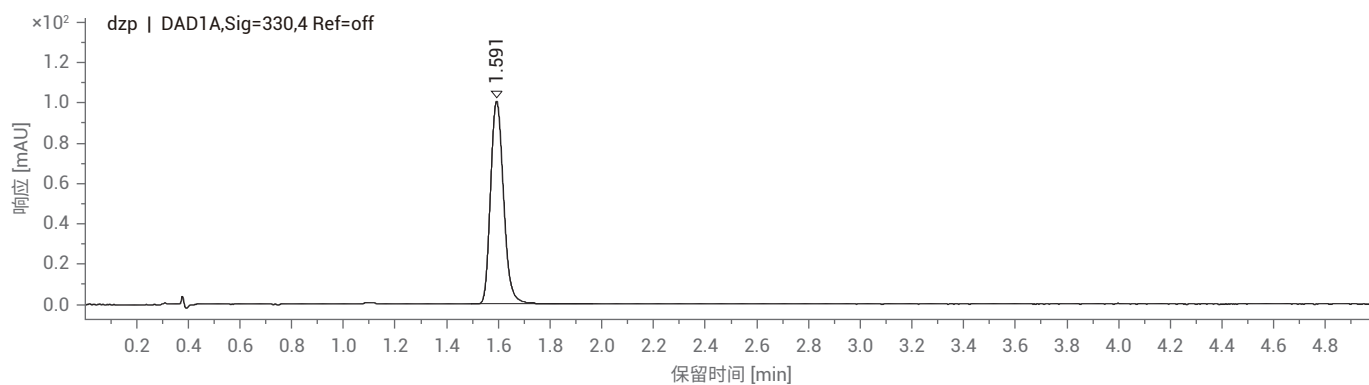
- 更换自动进样器到柱温管线为 0.25 × 400 mm 管线, 以克服溶剂效应
- HPLC 方法中使用了 60 mm 光程的流通池

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

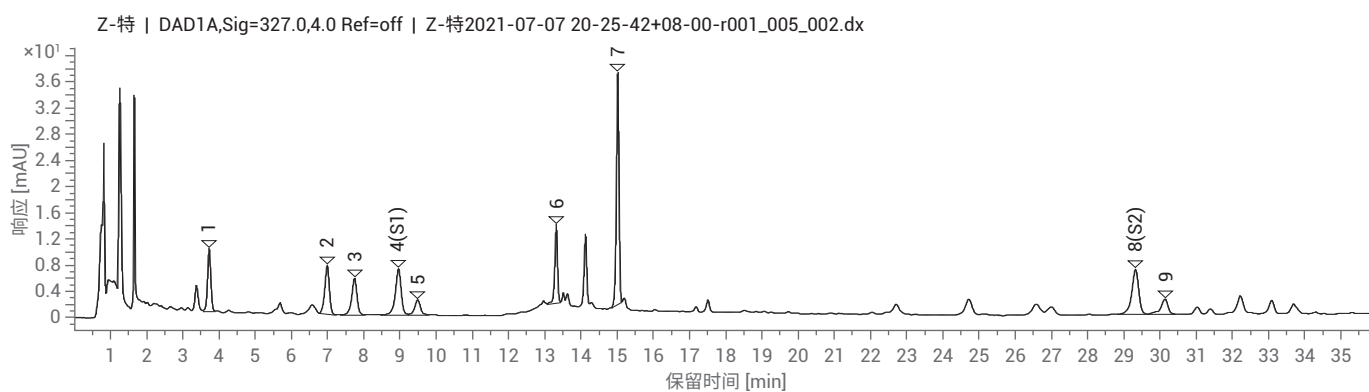
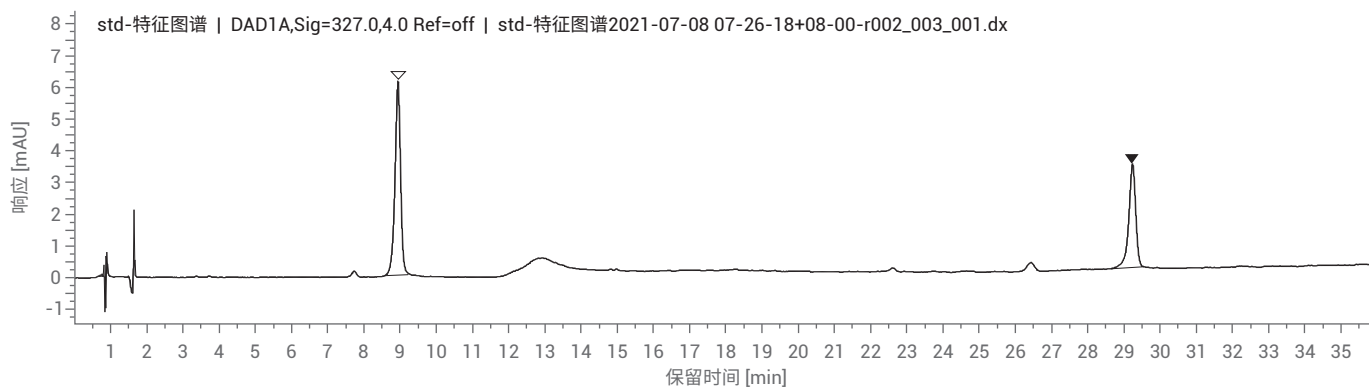
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	3.714	新绿原酸	0.415	0.378~0.462			8810
2	6.975		0.780	0.729~0.891			15291
3	7.734	隐绿原酸	0.864	0.828~1.012			15264
4 (S1)	8.948	绿原酸					16667
5	9.475	咖啡酸	1.059	1.017~1.243			18906
6	13.307		1.487	1.269~1.551			182291
7	15.008	1,3-O二咖啡酰奎宁酸	1.677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

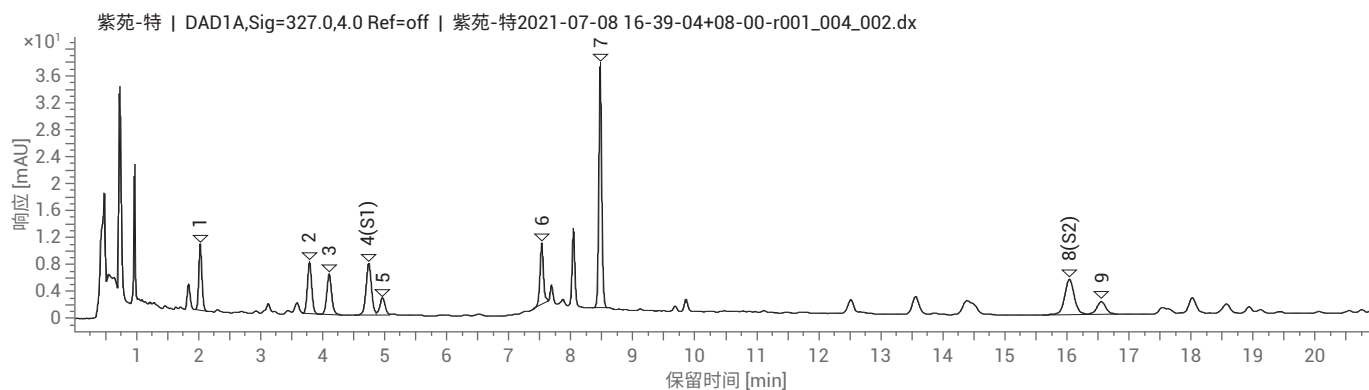
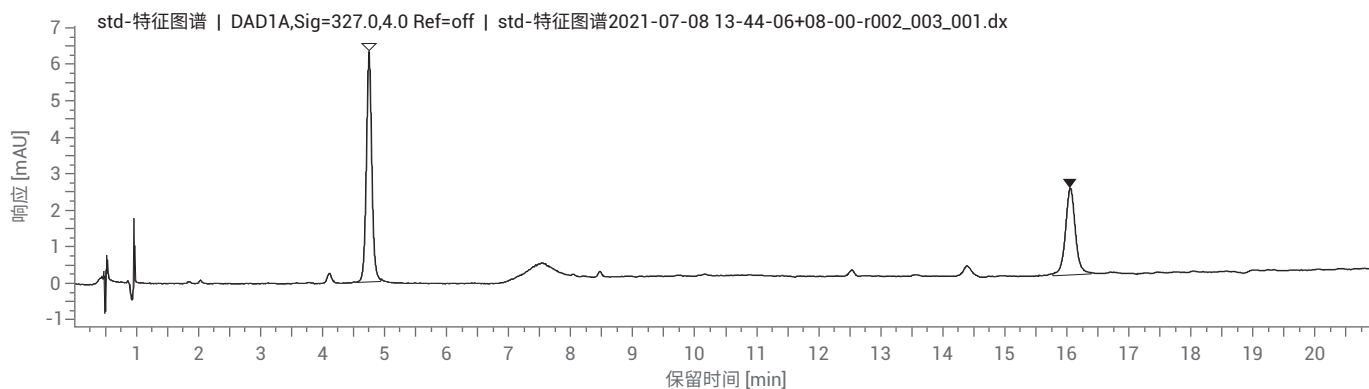
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	2.021	新绿原酸	0.427	0.378~0.462			7922
2	3.782	/	0.798	0.729~0.891			14482
3	4.098	隐绿原酸	0.865	0.828~1.012			14099
4 (S1)	4.737	绿原酸					14693
5	4.959	咖啡酸	1.047	1.017~1.243			18246
6	7.526		1.589	1.269~1.551			89073
7	8.468	1,3-O二咖啡酰奎宁酸	1.788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

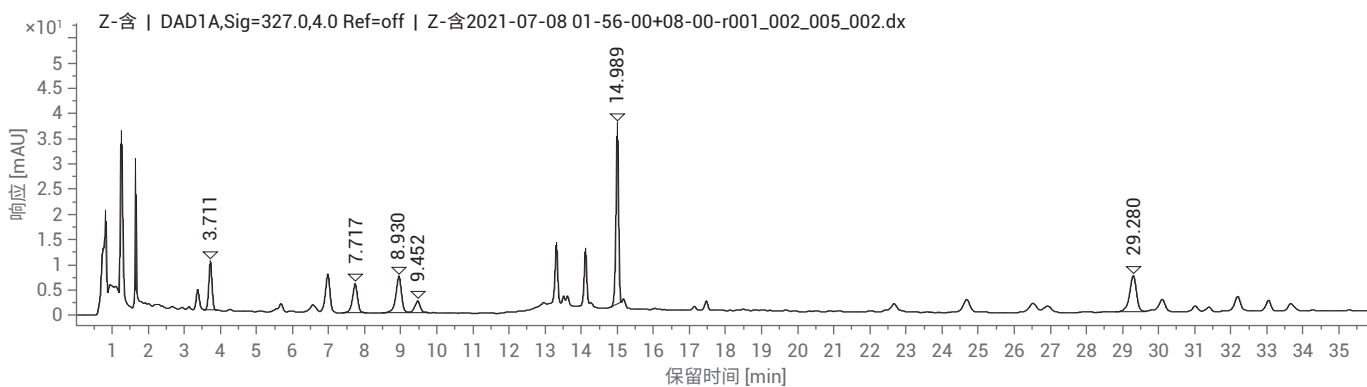
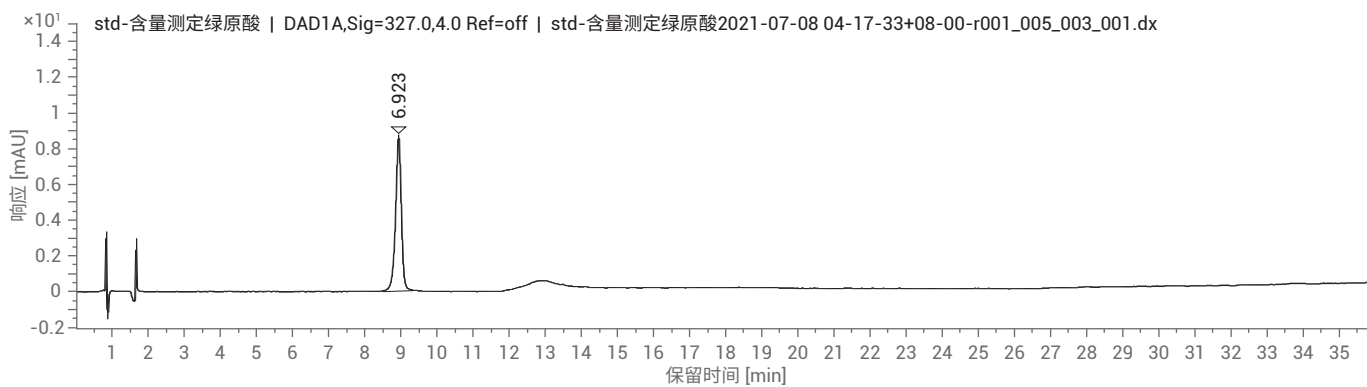
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
新绿酸	3.711	9077	0.99	0.404
隐绿酸	7.717	15473	0.88	0.433
绿原酸	8.930	17080	0.85	0.556
咖啡酸	9.452	18864	0.99	0.098
1,3-O-二咖啡酰奎宁酸	14.989	220291	0.91	1.129
1,5-O-二咖啡酰奎宁酸	29.280	122506	0.86	0.517
总量				3.137

加速方法

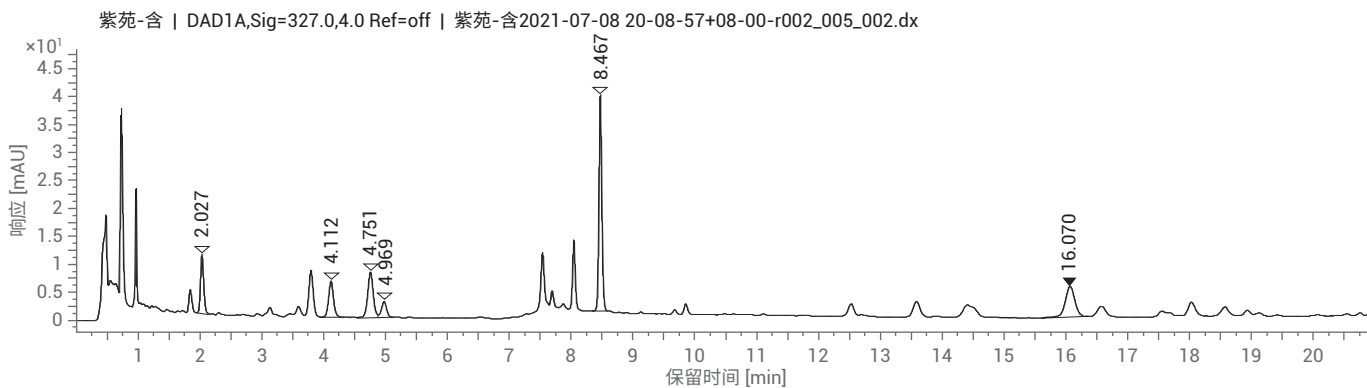
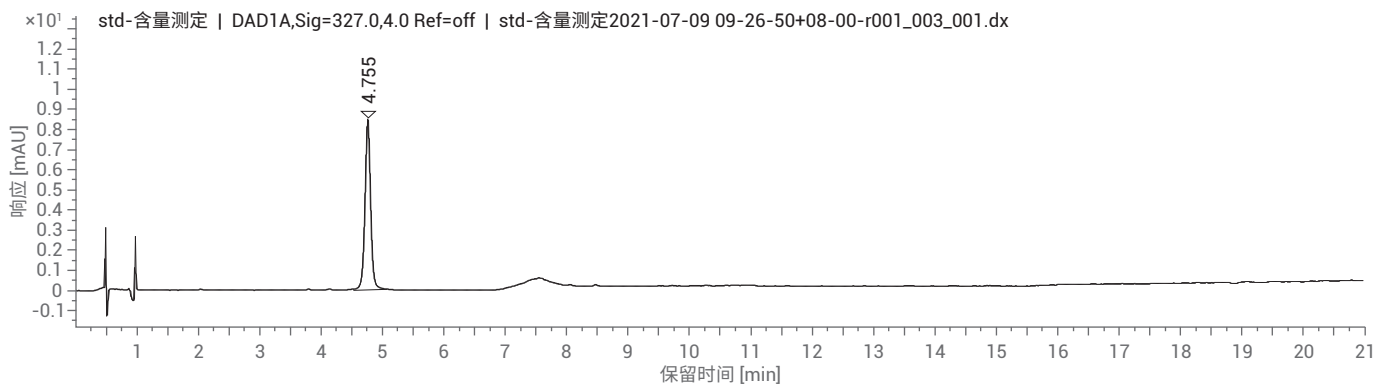
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (mg/g)
新绿酸	2.027	8038	1.12	0.407
隐绿酸	4.112	14141	1.07	0.436
绿原酸	4.751	14785	1.06	0.571
咖啡酸	4.969	18325	1.05	0.098
1,3-O-二咖啡酰奎宁酸	8.467	172228	1.12	1.211
1,5-O-二咖啡酰奎宁酸	16.070	55582	1.05	0.551
总量				3.274

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

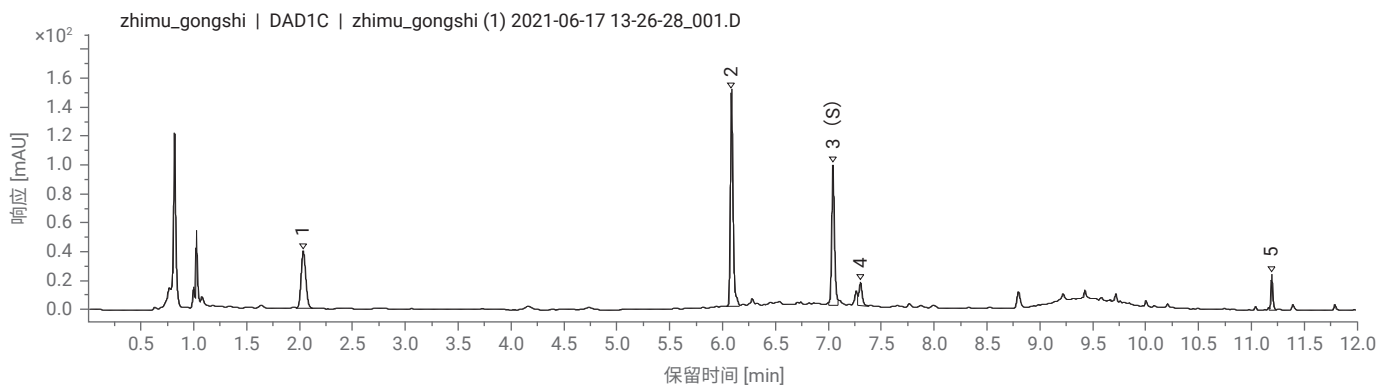
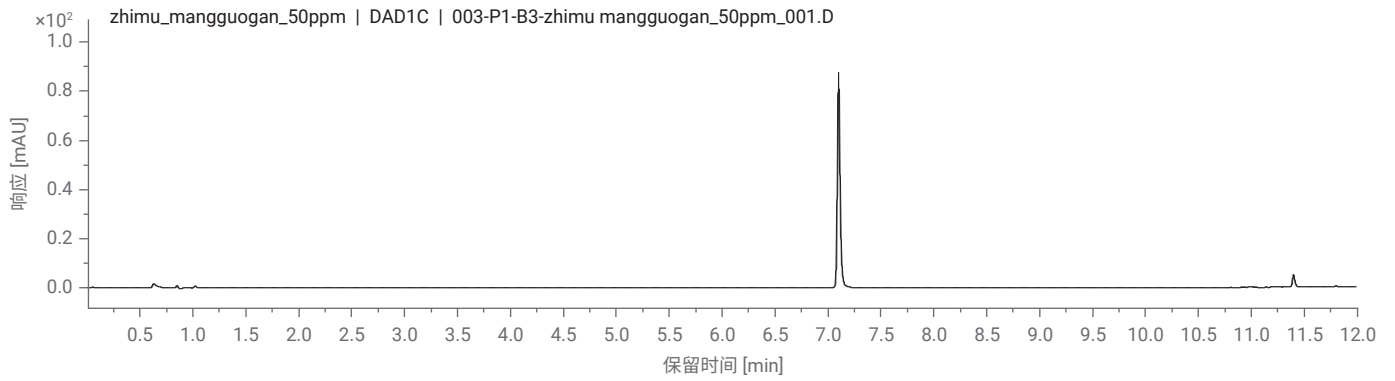
峰	保留时间 (min)	化合物	相对保留时间		相对峰面积		柱效 (USP)
			实测值	规定范围	实测值	规定范围	
1	1.07						10807
2	2.29	新芒果苷	0.85	0.78-0.96			285509
3(S)	2.70	芒果苷					269825
4	2.82	异芒果苷	1.04	0.94-1.14			205431
5	4.71		1.74	1.36-1.66			2206311

小结及注意事项

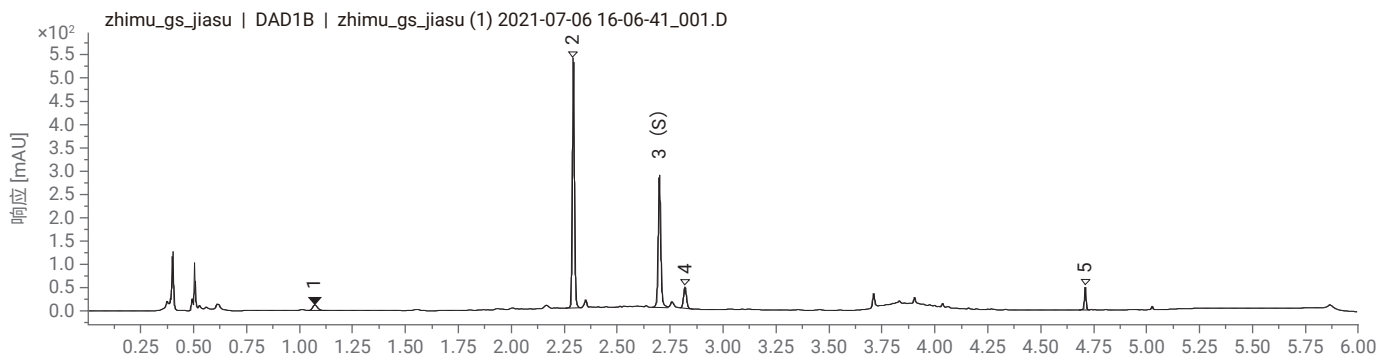
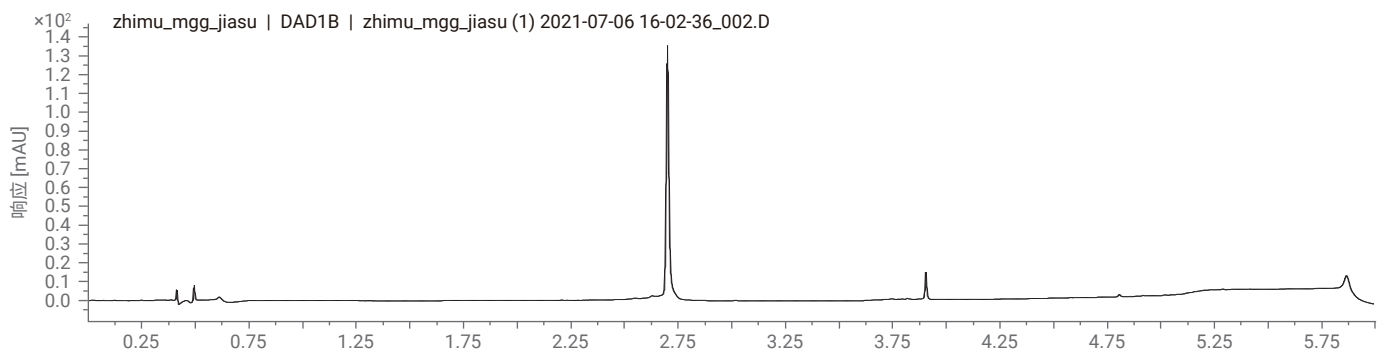
- 原始方法压力最高 420 bar, 加速方法压力 860 bar
- 原方法平衡时间不够, 需要再增加 5 min 后运行; 加速方法增加 2 min
- 原方法下, 本次实验用供试品中峰 4 左侧有一杂质未能达到基线分离; 加速方法分离度得到提高, 该杂质能够很好分离

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

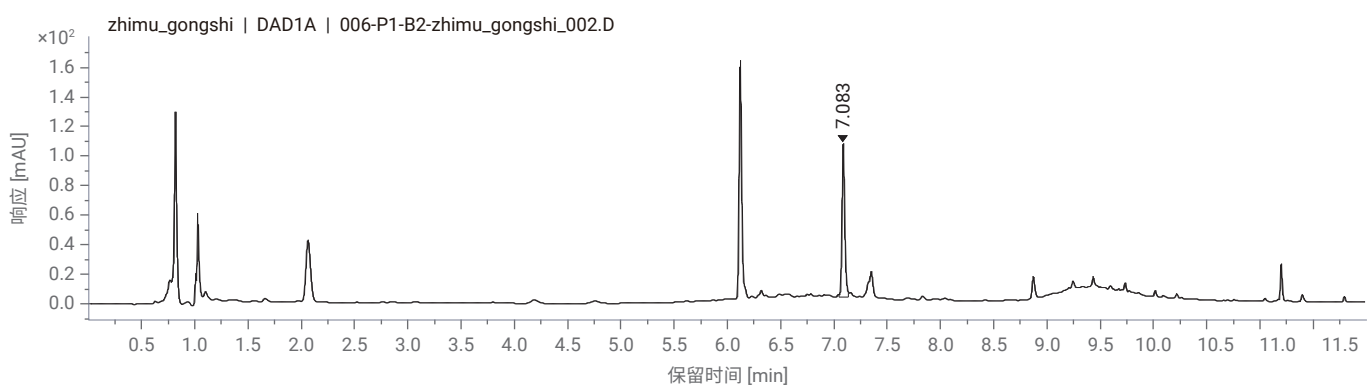
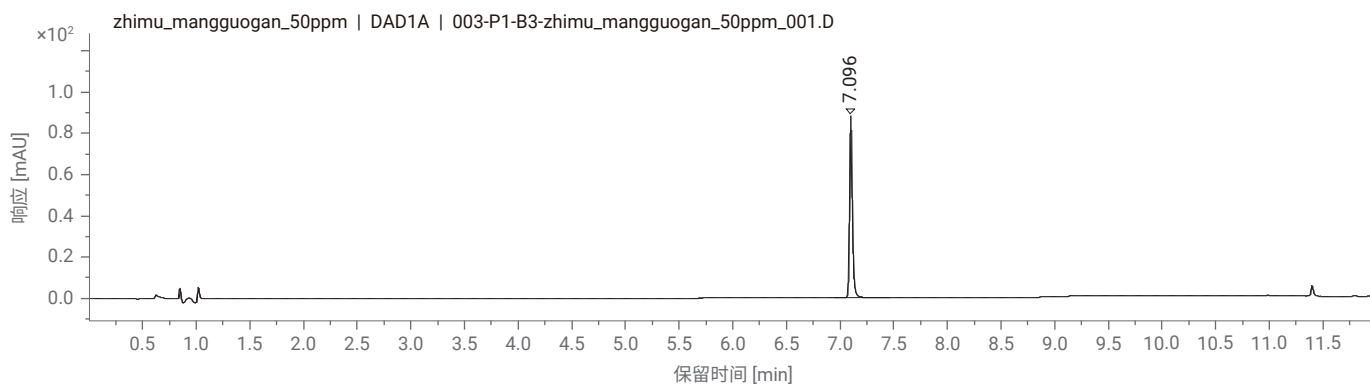
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量
芒果苷	7.04	398424	1.27	14mg

加速方法

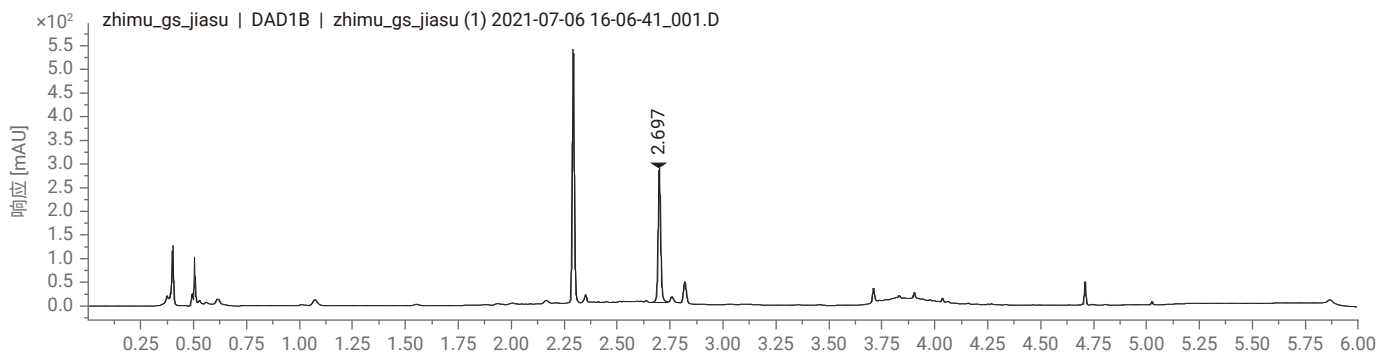
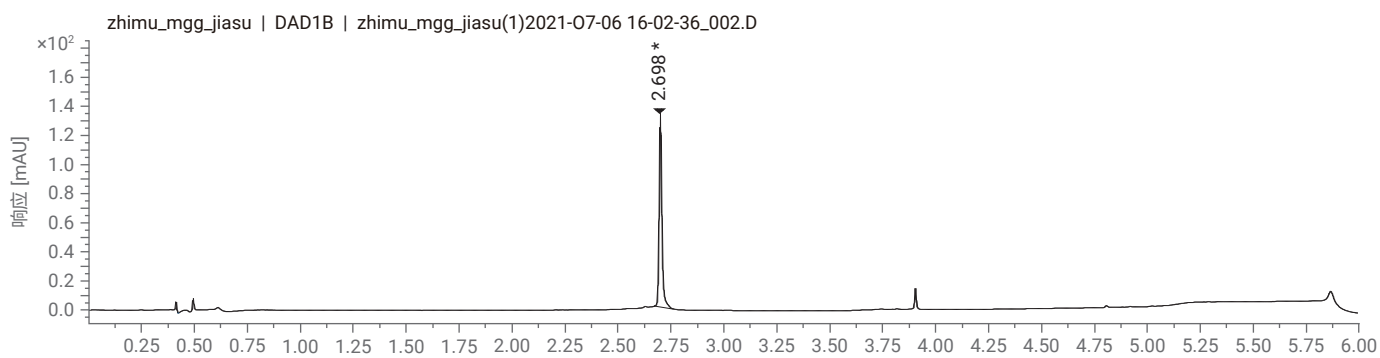
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (%)
芒果苷	2.7	275477	1.1	15mg

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

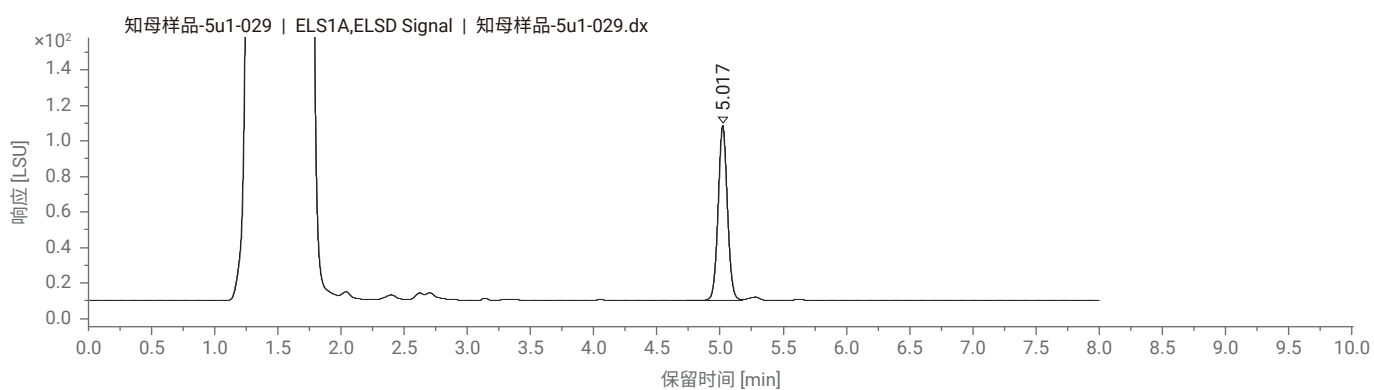
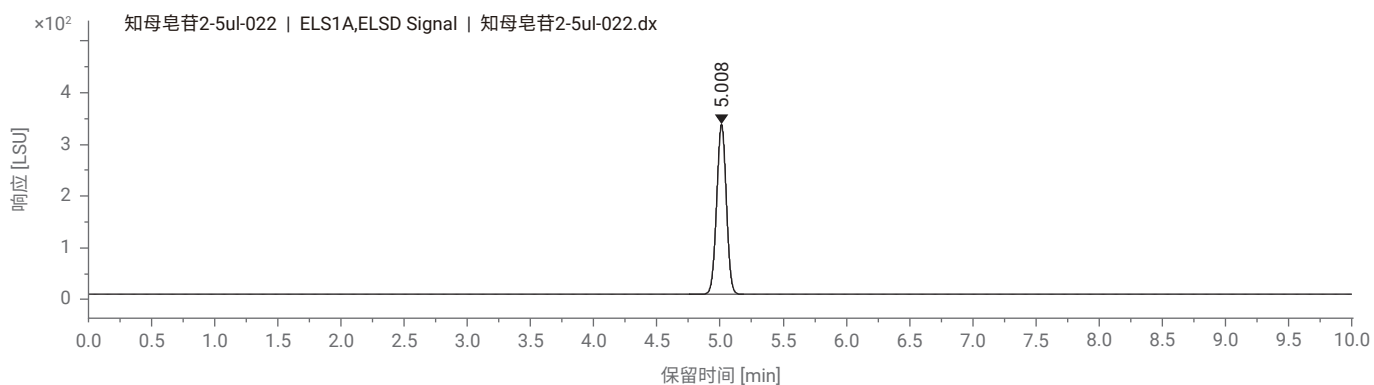
化合物	保留时间 (min)	柱效 (USP)	拖尾因子 (USP)	含量 (%)
知母皂苷 II	2.752	12709	0.96	-

小结及注意事项

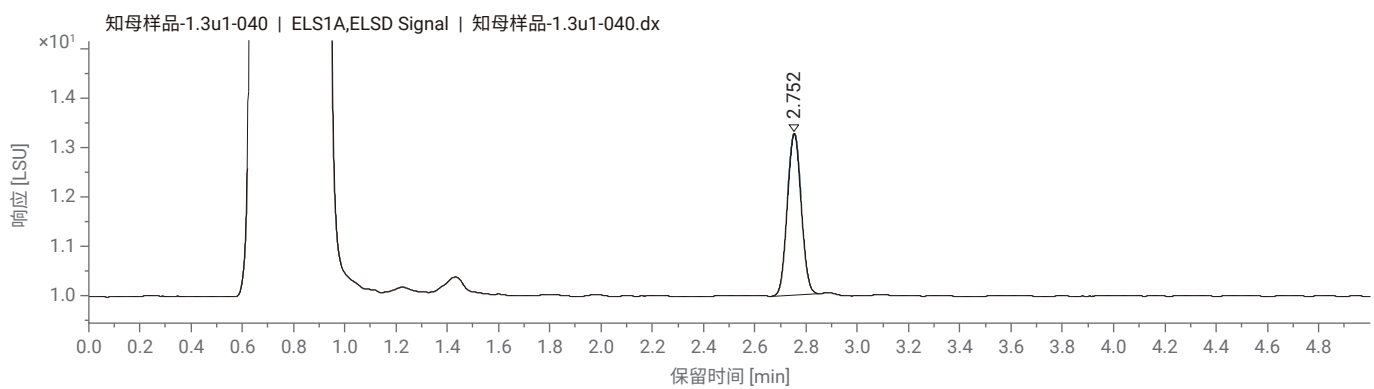
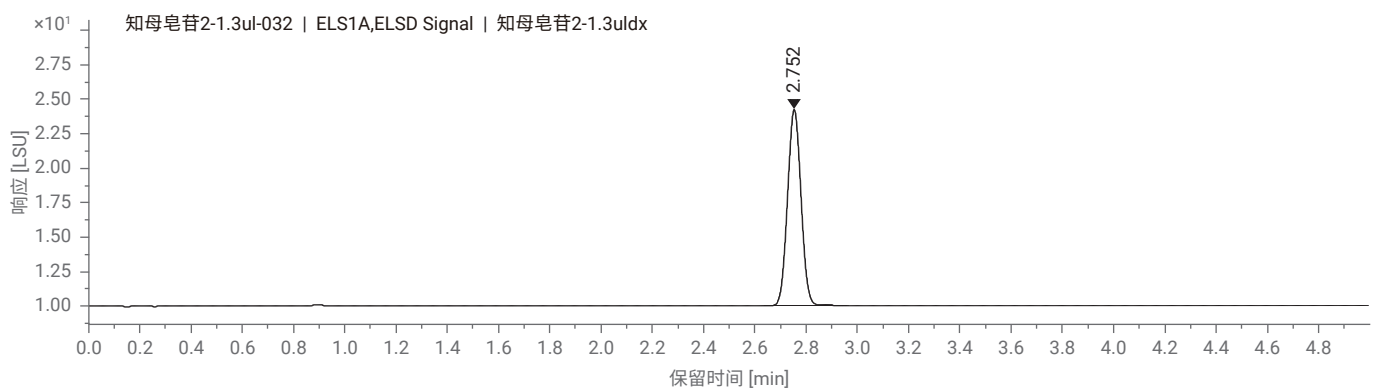
- HPLC 方法转换成 UHPLC 方法后, 分析时间可由 10 分钟缩短至 5 分钟

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

