

超高效液相色谱在中药配方颗粒中应用合集

裴波

(安徽皖仪科技股份有限公司, 安徽 合肥 230088)

摘要: 超高效液相色谱仪在中药研究领域的应用越来越普遍, 2021 年国家药监局相继颁布了 196 个中药配方颗粒国家标准, 其中将近 90% 的品种都采用了超高效液相色谱仪进行分析。中药的组分复杂且分离困难等问题都可以通过超高效液相色谱仪来逐渐解决。

关键词: 超高效液相色谱仪;中药配方颗粒

1 中药配方颗粒应用图集

1.1 独活

《本草汇言》有记载: 独活, 善行血分, 祛风行湿散寒之药也。凡病风之证, 如头项不能俯仰, 腰膝不能屈伸, 或痹痛难行, 麻木不用, 皆风与寒之所致, 暑与湿之所伤也;必用独活之苦辛而温, 活动气血, 祛散寒邪, 故《本草》言能散脚气, 化奔豚, 疗疝瘕, 消痈肿, 治贼风百节攻痛, 定少阴寒郁头疼, 意在此矣。

仪器配置:

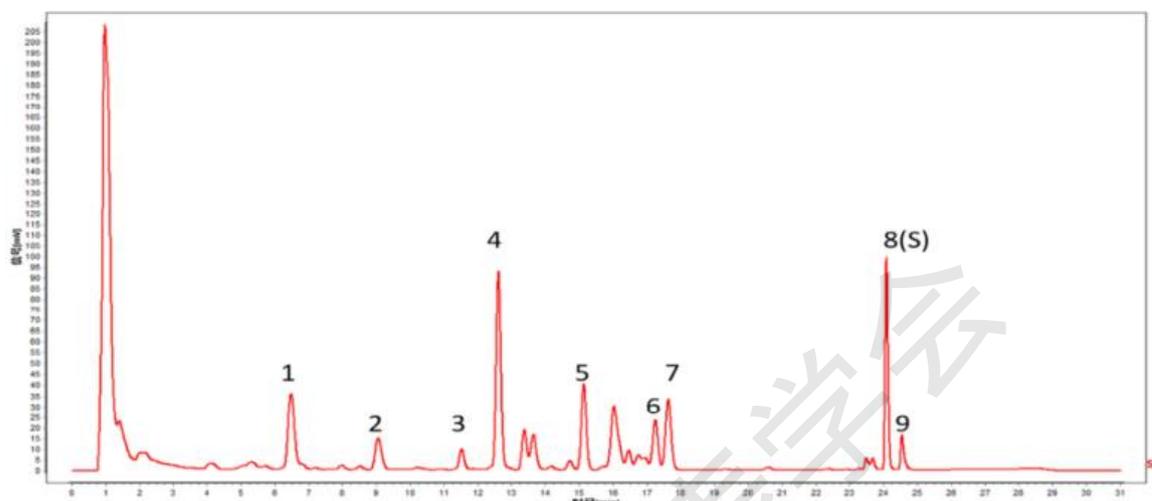
名称	型号
超高效液相色谱仪	LC3600 系列
色谱泵	二元高压泵 P3600B 系列
色谱柱	C18,2.1*100mm,1.8 μ m
柱温箱	CT3600 系列
检测器	DAD3600 系列
自动进样器	AS3600 系列

色谱条件:

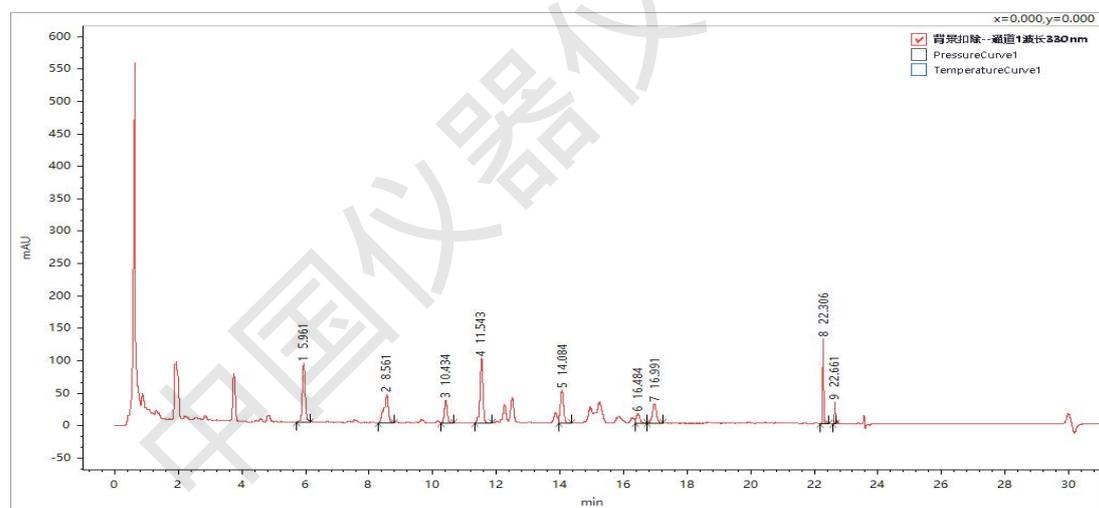
色谱柱	C18,2.1*100mm,1.8 μ m		
波长	330nm	柱温	35 $^{\circ}$ C
进样量	2 μ L	流速	0.3mL/min
洗脱条件	时间	A-甲醇	B-纯水
	0-2	30 \rightarrow 35	70 \rightarrow 65
	2-10	35 \rightarrow 45	65 \rightarrow 55
	10-18	45 \rightarrow 51	55 \rightarrow 49
	18-23	51 \rightarrow 90	49 \rightarrow 10
23-25	90	10	

前处理：供试品溶液的制备：取本品适量，精密称定，置锥形瓶中，精密加入 70%甲醇 20mL，称定质量（116.4617g），超声处理 20min，放冷，再称定质量，用 70%甲醇补足减失的质量，摇匀，0.22 μ m 滤头滤过，取续滤液，即得。

参考谱图：



药典参考谱图—峰 8 (S)：蛇床子素；峰 9：二氢欧山芹醇当归酸酯。



供试品测试谱图—峰 8 (S)：蛇床子素；峰 9：二氢欧山芹醇当归酸酯。

1.2 杜仲

杜仲，中药材名。本品为杜仲科植物杜仲的树皮。为了保护资源，一般采用局部剥皮法。在清明至夏至间，选取生长 15~20 年以上的植株，按药材规格大小，剥下树皮，刨去粗皮，晒干。置通风干燥处。功能主治为：补肝肾，强筋骨，安胎。治腰脊酸疼，足膝痿弱，小便余沥，阴下湿痒，胎漏欲堕，胎动不安，高血压。

仪器配置：

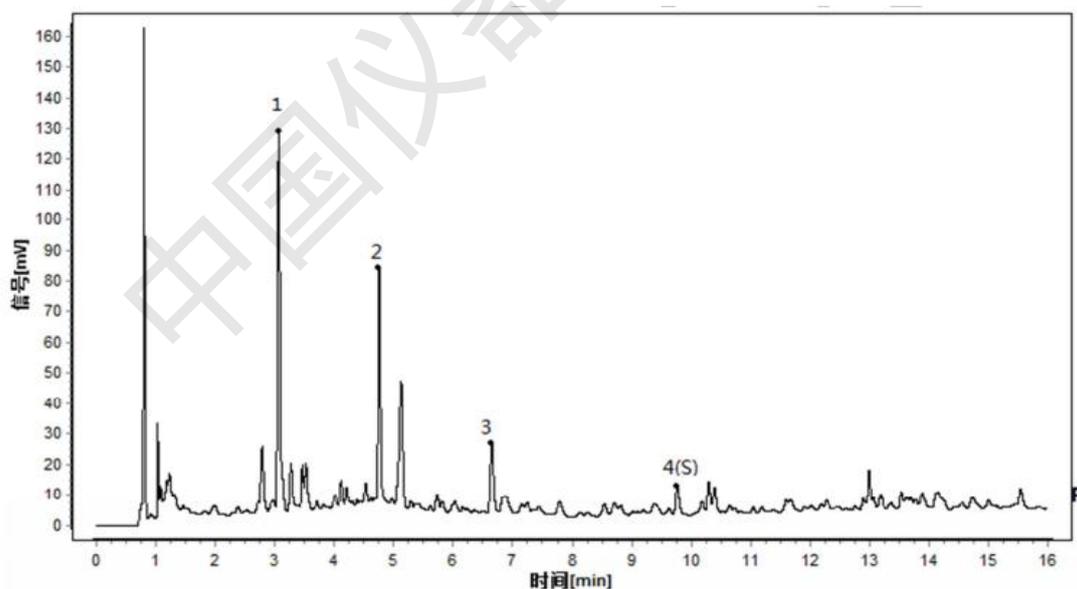
名称	型号
超高效液相色谱仪	LC3600 系列
色谱泵	二元高压泵 P3600B 系列
色谱柱	C18,2.1*100mm,1.7 μ m
柱温箱	CT3600 系列
检测器	DAD3600 系列
自动进样器	AS3600 系列

色谱条件:

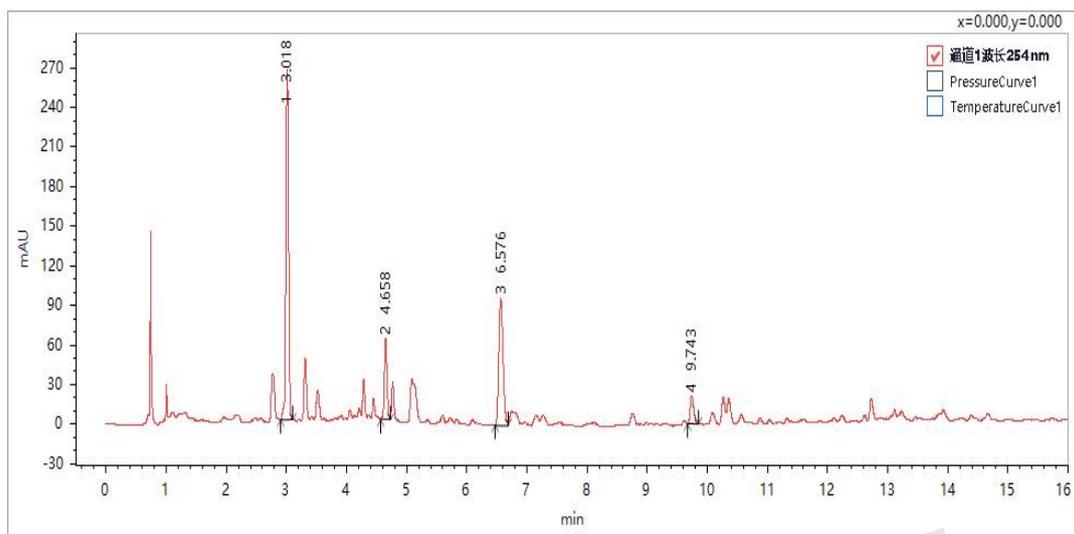
色谱柱	C18,2.1*100mm,1.7 μ m		
波长	254nm	柱温	40 $^{\circ}$ C
进样量	1 μ L	流速	0.3mL/min
洗脱条件	时间	A-甲醇	B-纯水
	0-3	3 \rightarrow 10	97 \rightarrow 90
	3-6	10	90
	6-15	10 \rightarrow 20	90 \rightarrow 80
	15-17	20 \rightarrow 55	80 \rightarrow 45
	17.1-20	3	97

前处理: 取本品适量, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加 70%甲醇 25ml, 超声处理 (功率 250W, 频率 40kHz) 30 分钟, 放冷, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

参考谱图:



药典参考谱图—峰 1: 京尼平苷酸; 峰 2: 绿原酸; 峰 4 (S): 松脂醇二葡萄糖苷。



供试品测试谱图—峰 1: 京尼平苷酸峰; 2: 绿原酸; 峰 4 (S): 松脂醇二葡萄糖苷。

1.3 升麻

升麻，中药名。别名：龙眼根、周麻、窟窿牙根，为毛茛科、升麻属植物大三叶升麻、兴安升麻或升麻的根茎。多年生草本，高1~2m。根茎为不规则块状，多分枝，呈结节状，有洞状茎痕，表面黑褐色，须根多而细。茎直立，有疏柔毛。主治时气疫疔，头痛寒热，喉痛，口疮，斑疹不透；中气下陷，久泻久痢，脱肛，妇女崩、带，子宫下坠；痈肿疮毒。

仪器配置：

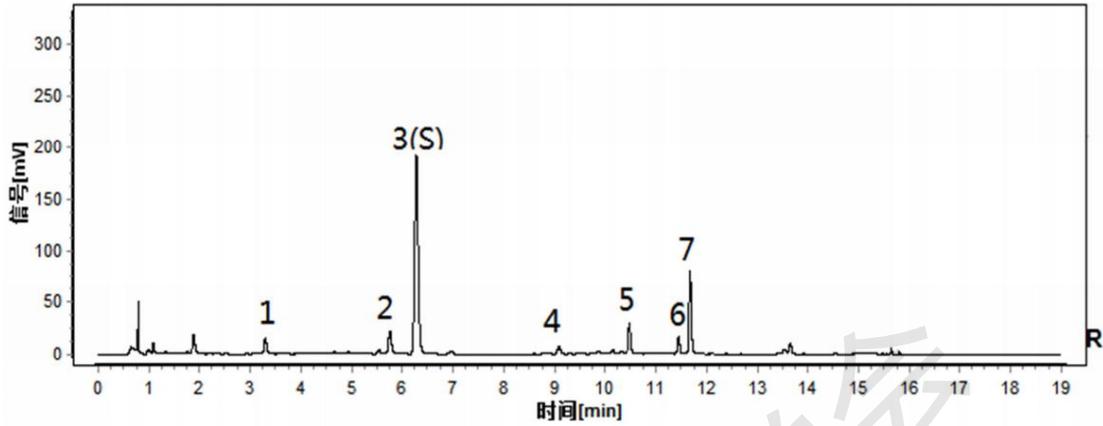
名称	型号
超高效液相色谱仪	LC3600 系列
色谱泵	二元高压泵 P3600B 系列
色谱柱	C18,2.1*100mm,1.7 μ m
柱温箱	CT3600 系列
检测器	DAD3600 系列
自动进样器	AS3600 系列

色谱条件：

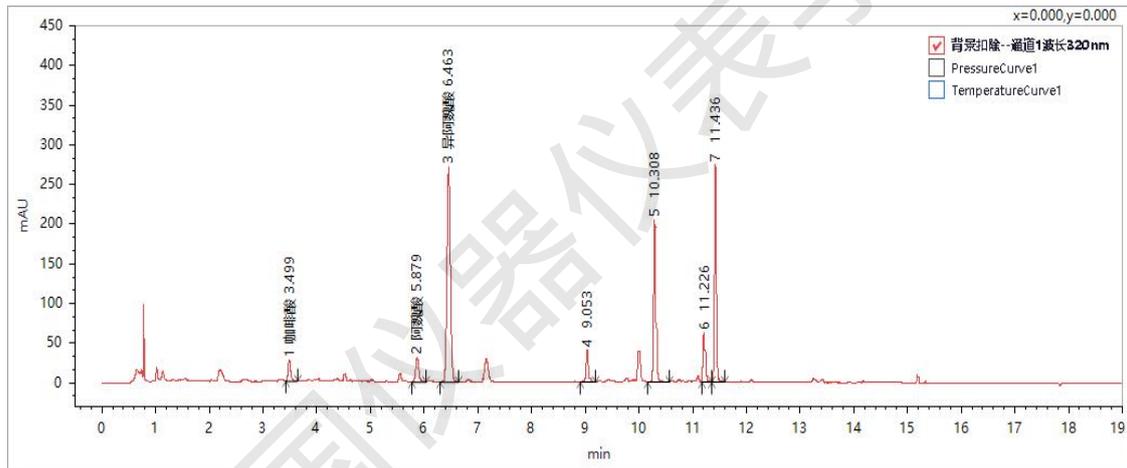
色谱柱		C18,2.1*100mm,1.8 μ m	
波长	320nm	柱温	35 $^{\circ}$ C
进样量	1 μ L	流速	0.3mL/min
洗脱条件	时间	A-甲醇	B-纯水
	0-1	12	88
	1-3	12 \rightarrow 18	88 \rightarrow 82
	3-6	18	82
	6-13	18 \rightarrow 35	82 \rightarrow 65
	13-15	35 \rightarrow 90	65 \rightarrow 10
15-19	90	10	

前处理：取本品适量，研细，取约 0.1g，置具塞锥形瓶中，加稀乙醇 25ml，超声处理（功率 250W，频率 40kHz）30 分钟，放冷，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

参考谱图：



药典参考谱图—峰 1：咖啡酸；峰 2：阿魏酸；峰 3 (S)：异阿魏酸。



供试品测试谱图—峰 1：咖啡酸；峰 2：阿魏酸；峰 3 (S)：异阿魏酸；

1.4 天麻

天麻，中药名。为兰科植物天麻的干燥块茎。具有息风止痉，平抑肝阳，祛风通络的功效。主治肝风内动，惊痫抽搐，眩晕，头痛，肢体麻木，手足不遂，风湿痹痛等。

仪器配置：

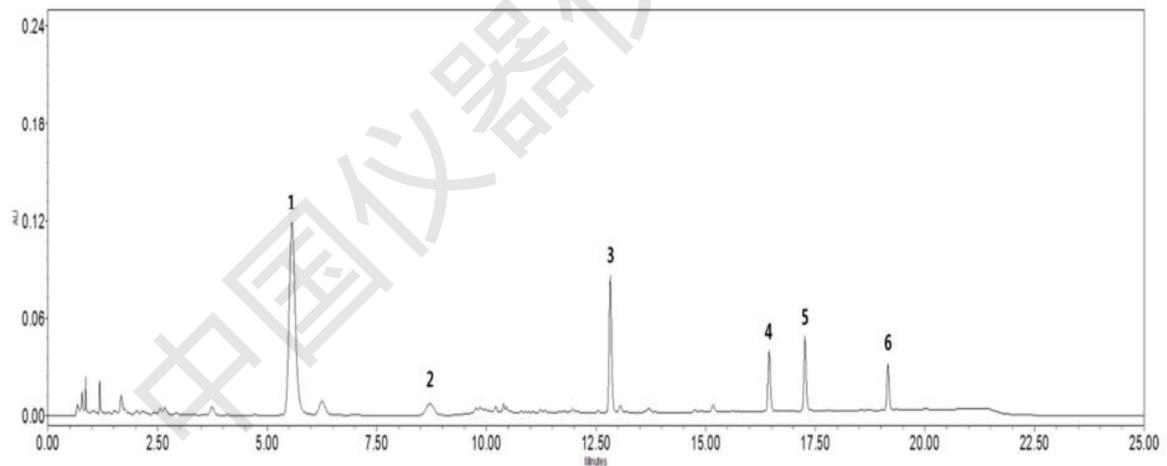
名称	型号
超高效液相色谱仪	LC3600 系列
色谱泵	二元高压泵 P3600B 系列
色谱柱	C18,2.1*100mm,1.7 μ m
柱温箱	CT3600 系列
检测器	DAD3600 系列
自动进样器	AS3600 系列

色谱条件:

色谱柱	T3 2.1*100mm,1.8 μ m		
波长	220nm	柱温	30 $^{\circ}$ C
进样量	1 μ L	流速	0.3mL/min
时间	A-乙腈	B-0.05%磷酸水溶液	
0-0.5	2	98	
0.5-1	2 \rightarrow 1	98 \rightarrow 99	
1-7	1	99	
洗脱条件	7-8	1 \rightarrow 7	99 \rightarrow 93
	8-12	7 \rightarrow 9	93 \rightarrow 91
	12-18	9 \rightarrow 20	91 \rightarrow 80
	18-20	20 \rightarrow 23	80 \rightarrow 77
	20.1-25	2	98

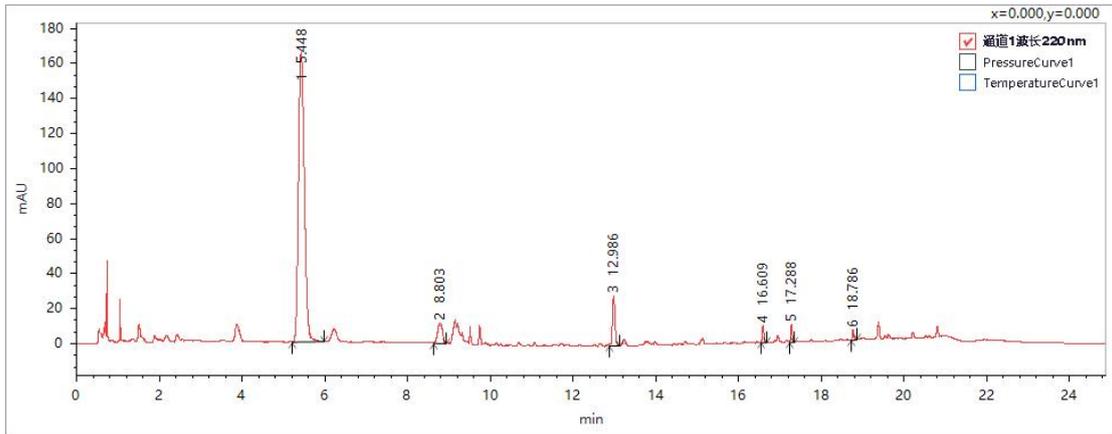
前处理: 取本品适量, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 30% 甲醇 25mL, 称定质量, 超声处理 30min, 放冷, 再称定质量, 用 30% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.22 μ m 滤头滤过, 取续滤液, 即得。

参考谱图:



药典参考谱图—峰 1: 天麻素; 峰 2: 对羟基苯甲醇; 峰 3: 巴利森苷 E;

峰 4: 巴利森苷 B; 峰 5: 巴利森苷 C; 峰 6: 巴利森苷。



供试品测试谱图—峰 1：天麻素；峰 2：对羟基苯甲醇；峰 3：巴利森苷 E；
峰 4：巴利森苷 B；峰 5：巴利森苷 C；峰 6：巴利森苷。

1.5 泽兰

露蕊乌头是毛茛科、乌头属一年生草本植物，别名泽兰，根近圆柱形，茎高可达 100 厘米，被疏或密的短柔毛，等距地生叶，常分枝。露蕊乌头的叶、花、根皆可入药，味辛，性温，具祛风镇静、驱虫杀蛆的功效，可用于治疗关节疼痛、风湿等症，全草有毒。

仪器配置：

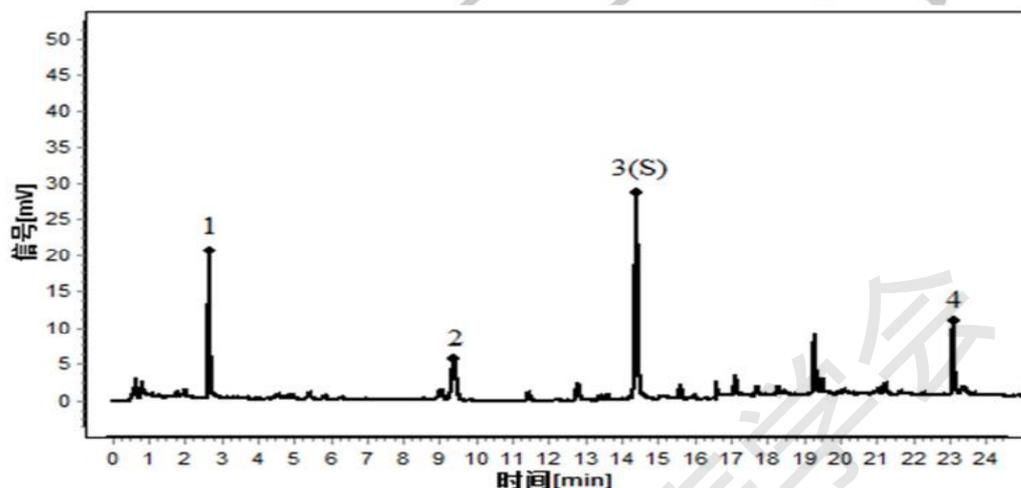
名称	型号
超高效液相色谱仪	LC3600 系列
色谱泵	二元高压泵 P3600B 系列
色谱柱	C18,2.1*100mm,1.7 μ m
柱温箱	CT3600 系列
检测器	DAD3600 系列
自动进样器	AS3600 系列

色谱条件：

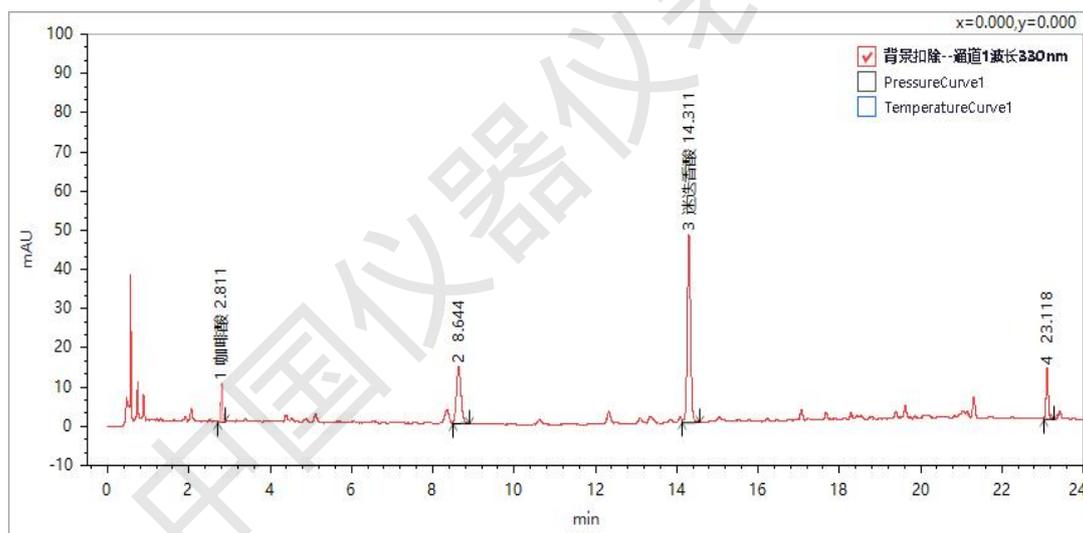
色谱柱	C18 2.1*100mm,1.8 μ m		
波长	330nm	柱温	40 $^{\circ}$ C
进样量	1 μ L	流速	0.4mL/min
时间		A-乙腈	B-0.05%磷酸水溶液
	0-3	10 \rightarrow 14	90 \rightarrow 86
	3-9	14	86
洗脱条件	9-10	14 \rightarrow 15	86 \rightarrow 85
	10-15	15 \rightarrow 20	85 \rightarrow 80
	15-24	20 \rightarrow 30	80 \rightarrow 70
	24-26	30 \rightarrow 90	70 \rightarrow 10
	26.1-30	10	90

前处理：取本品适量，研细，取约 0.1g，置具塞锥形瓶中，加稀乙醇 20ml，超声处理（功率 250W，频率 40kHz）30 分钟，放冷，摇匀，摇匀，0.22 μ m 滤头滤过，取续滤液，即得。

参考谱图：



药典参考谱图—峰 1：咖啡酸；峰 3（S）：迷迭香酸。



供试品测试谱图—峰 1：咖啡酸；峰 3（S）：迷迭香酸。

1.6 制何首乌

何首乌为蓼科植物何首乌的干燥块根。叶枯萎时采挖，削去两端，洗净，个大的切成块，干燥，称何首乌；炮制加工品，称制何首乌。棕褐色或黑色。气微，味微甘而苦涩。苦、甘、涩，温。归肝、心、肾经。具有补肝肾，益精血，乌须发，强筋骨功效。用于血虚萎黄，眩晕耳鸣，须发早白，腰膝酸软，肢体麻木，崩漏带下，久疟体虚；高血脂。主要适宜人群是脂肪肝，三高，肥胖症，失眠，脱发，少白头及亚健康人群。

仪器配置：

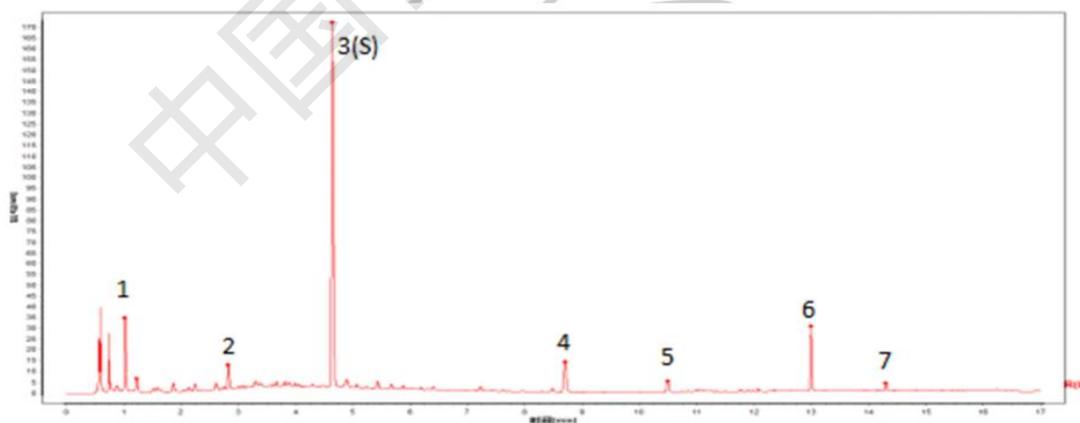
名称	型号
超高效液相色谱仪	LC3600 系列
色谱泵	二元高压泵 P3600B 系列
色谱柱	C18,2.1*100mm,1.7 μ m
柱温箱	CT3600 系列
检测器	DAD3600 系列
自动进样器	AS3600 系列

色谱条件:

色谱柱	C18 2.1*100mm,1.7 μ m		
波长	254nm	柱温	35 $^{\circ}$ C
进样量	1 μ L	流速	0.4mL/min
时间		A-乙腈	B-0.1%磷酸水溶液
洗脱条件	0-2.5	5 \rightarrow 15	95 \rightarrow 85
	2.5-6	15 \rightarrow 25	85 \rightarrow 75
	6-9	25 \rightarrow 30	75 \rightarrow 70
	9-15	30 \rightarrow 95	70 \rightarrow 5
	15-17	95 \rightarrow 5	5 \rightarrow 95
	17.1-20	5	95

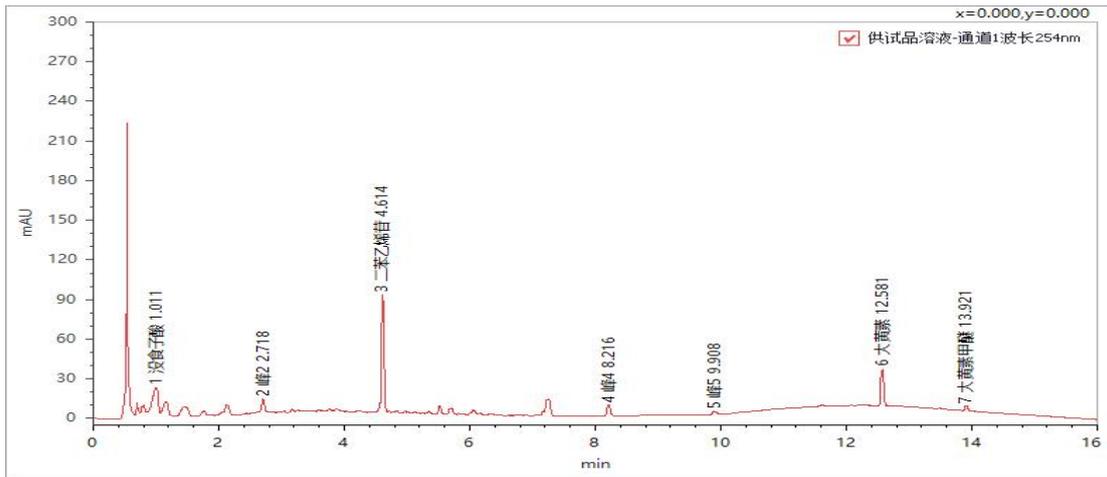
前处理: 取本品适量, 研细, 取约 0.2g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 25ml, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 250W, 频率 40kHz) 20 分钟, 放冷, 再称定重量, 用 70% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

参考谱图:



药典参考谱图—峰 1: 没食子酸; 峰 3: 二苯乙烯苷 (S);

峰 6: 大黄素; 峰 7: 大黄素甲醚。



供试品测试谱图—峰 1：没食子酸；峰 3：二苯乙烯苷（S）；峰 6：大黄素；峰 7：大黄素甲醚。

1.7 瓜蒌

瓜蒌，中药材名。本品为葫芦科植物栝楼的果实。秋末果实变为淡黄时采收，悬挂通风处阴干。功能主治为：清热涤痰，宽胸散结，润肠。用于肺热咳嗽，痰浊黄稠，胸痹心痛，乳痈、肺痈、肠痈肿痛。

仪器配置：

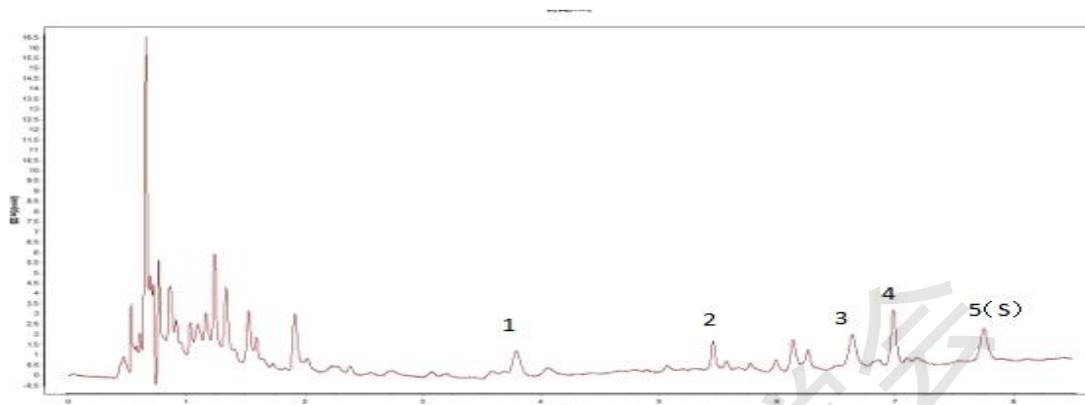
名称	型号
超高效液相色谱仪	LC3600 系列
色谱泵	二元高压泵 P3600B 系列
色谱柱	C18,2.1*100mm,1.7 μ m
柱温箱	CT3600 系列
检测器	DAD3600 系列
自动进样器	AS3600 系列

色谱条件：

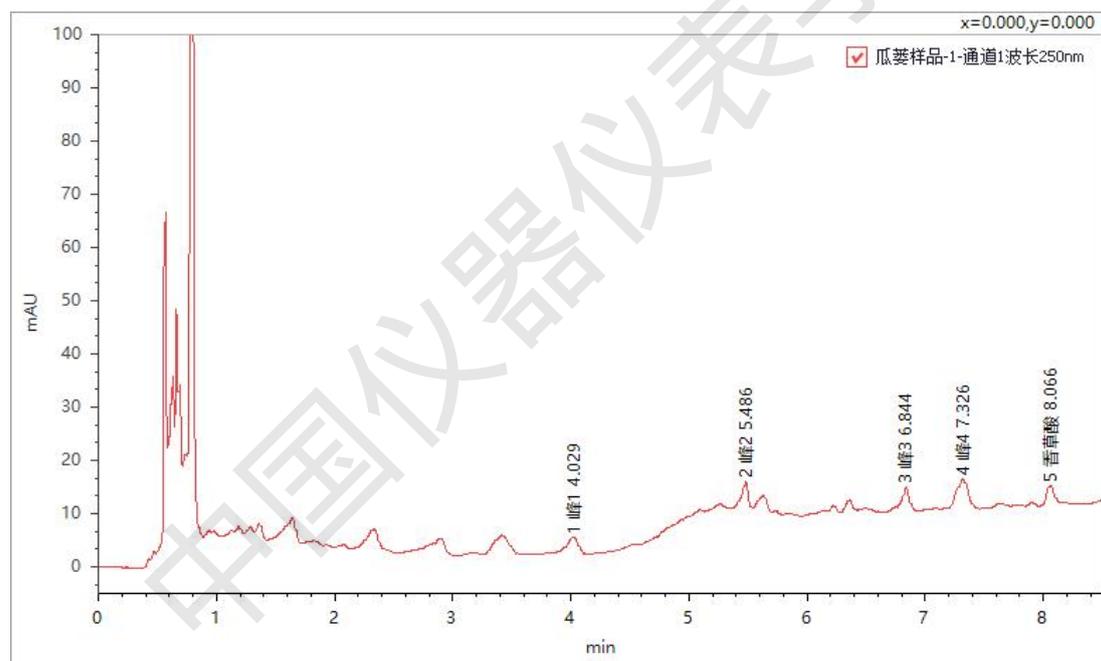
色谱柱		RP18 2.1*100mm,1.7 μ m	
波长	250nm	柱温	35 $^{\circ}$ C
进样量	1 μ L	流速	0.35mL/min
时间		A-甲醇	B-0.1%甲酸水溶液
	0-2.5	2	98
	2.5-4	2 \rightarrow 15	98 \rightarrow 85
洗脱条件	4-4.5	15	85
	4.5-7.5	15 \rightarrow 25	85 \rightarrow 75
	7.5-8.5	25 \rightarrow 35	75 \rightarrow 65
	8.5-10	35 \rightarrow 2	65 \rightarrow 98
	10-12	2	98

前处理：取本品适量，研细，取约 0.2g，置具塞锥形瓶中，加水 10ml，称定重量，超声处理（功率 250W，频率 40kHz）30 分钟，放冷，再称定重量，用水补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

参考谱图：



药典参考谱图—峰 5 (S)：香草酸。



供试品测试谱图—峰 5 (S)：香草酸。

1.8 炒苍耳子

苍耳子，中药名。别名：虱马头、苍耳子、老苍子、道人头、刺八裸、苍浪子、绵苍浪子、羌子裸子、青棘子、抢子、痴头婆，胡苍子、野茄、猪耳、菜耳，苍苍子，广东话又叫磁头芒(痴头芒)。属菊科、苍耳属一年生草本菊科植物苍耳的带总苞的果实，苍耳子属于常用中草药，具有散风除湿通窍等功效。

仪器配置：

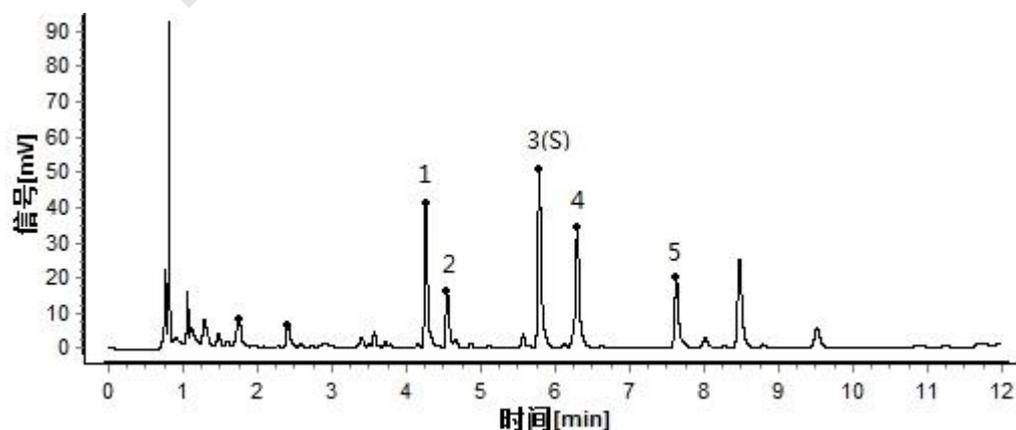
名称	型号
超高效液相色谱仪	LC3600 系列
色谱泵	二元高压泵 P3600B 系列
色谱柱	C18,2.1*100mm,1.7 μ m
柱温箱	CT3600 系列
检测器	DAD3600 系列
自动进样器	AS3600 系列

色谱条件:

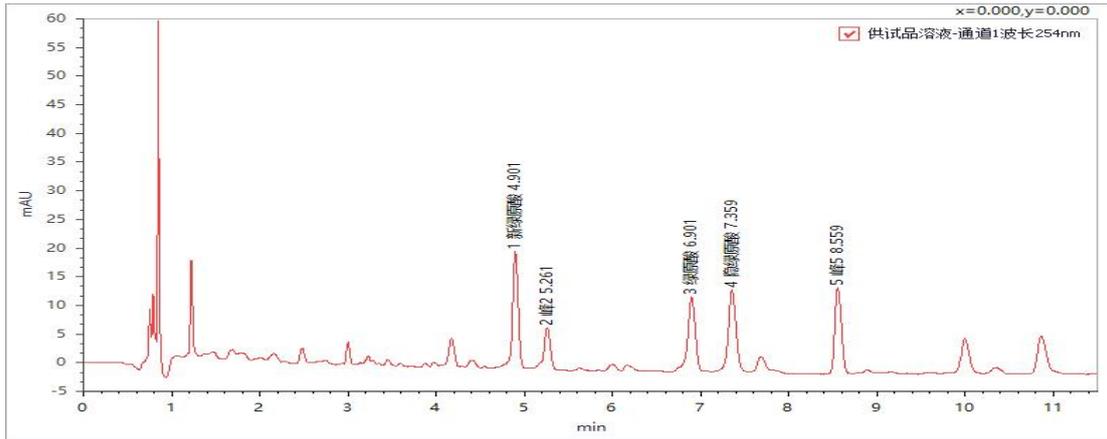
色谱柱	T3 2.1*100mm,1.8 μ m		
波长	254nm	柱温	35 $^{\circ}$ C
进样量	1 μ L	流速	0.3mL/min
时间		A-乙腈	B-0.2%甲酸水溶液
	0-2	2 \rightarrow 7	98 \rightarrow 93
	2-10	7 \rightarrow 15	93 \rightarrow 85
洗脱条件	10-13	15 \rightarrow 40	25 \rightarrow 60
	13-14	40 \rightarrow 100	60 \rightarrow 0
	14-16	100	0
	16-17	100 \rightarrow 2	0 \rightarrow 98
	17-18	2	98

前处理：取本品适量，研细，取约 0.2g，置具塞锥形瓶中，加水 10ml，称定重量，超声处理（功率 250W，频率 40kHz）30 分钟，放冷，再称定重量，用水补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

参考谱图:



药典参考谱图—峰 1: 新绿原酸; 峰 3(S): 绿原酸; 峰 4: 隐绿原酸。



供试品测试谱图—峰 1：新绿原酸；峰 3(S)：绿原酸；峰 4：隐绿原酸。

1.9 麸炒枳壳

麸炒枳壳是芸香科植物。酸橙及其栽培变种的干燥未成熟果实。7月果皮尚绿时采收，自中部横切为两半，晒干或低温干燥。主治 理气宽中，行滞消胀。用于胸胁气滞，胀满疼痛，食积不化，痰饮内停；胃下垂，脱肛，子宫脱垂。

仪器配置：

名称	型号
超高效液相色谱仪	LC3600 系列
色谱泵	二元高压泵 P3600B 系列
色谱柱	C18,2.1*100mm,1.7 μ m
柱温箱	CT3600 系列
检测器	DAD3600 系列
自动进样器	AS3600 系列

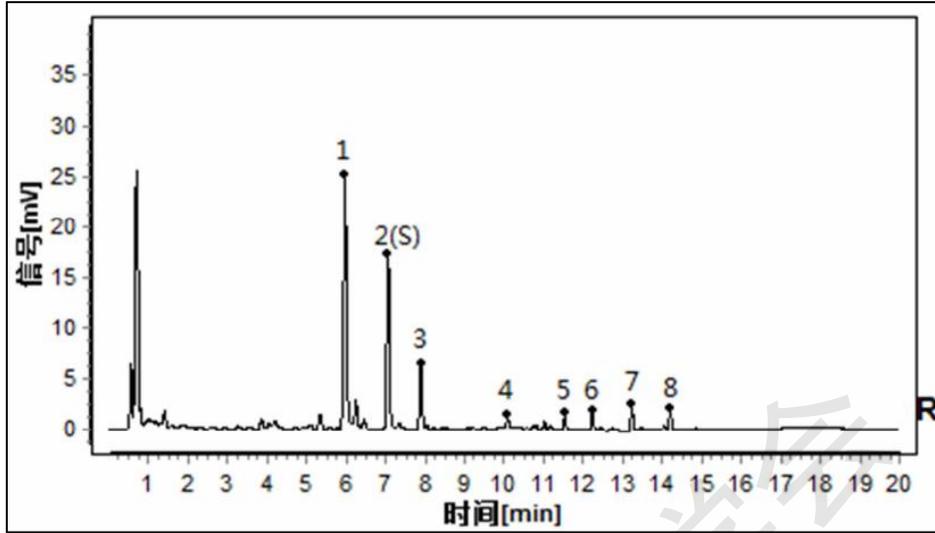
色谱条件：

色谱柱	C18 2.1*100mm,1.8 μ m		
波长	283nm	柱温	30 $^{\circ}$ C
进样量	2 μ L	流速	0.4mL/min
洗脱条件	时间	A-乙腈	B-0.05%磷酸水溶液
	0~7	15 \rightarrow 25	85 \rightarrow 75
	7~8	25 \rightarrow 40	75 \rightarrow 60
	8~10	40 \rightarrow 45	60 \rightarrow 55
	10~13	45 \rightarrow 60	55 \rightarrow 40
	13~15	60 \rightarrow 15	40 \rightarrow 85
	15~20	15	85

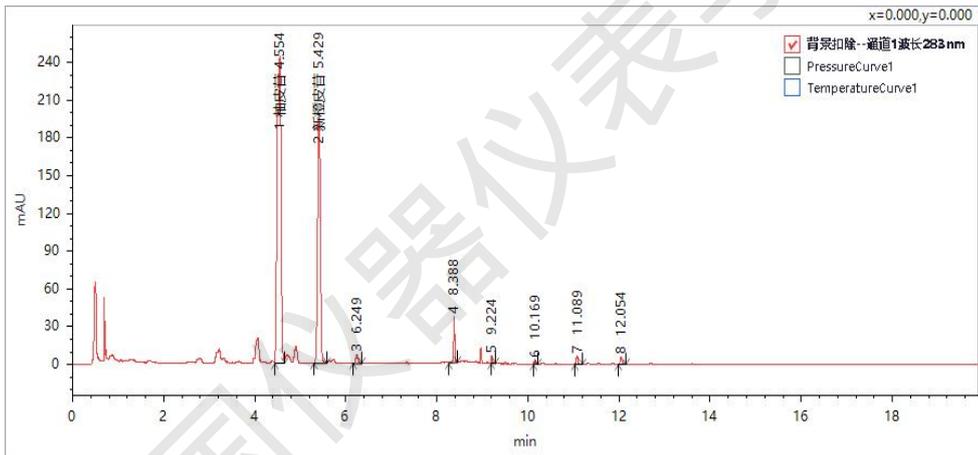
前处理：取本品适量，研细，取约 0.1g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 100ml，称定重量，超声处理（功率 250W，频率 40kHz）30 分钟，放冷，再称定重量，用

甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

参考谱图：



药典参考谱图—峰 1：柚皮苷；峰 2 (S)：新橙皮苷；峰 7：川陈皮素；峰 8：橘红素。



供试品测试谱图—峰 1：柚皮苷；峰 2 (S)：新橙皮苷；峰 7：川陈皮素；峰 8：橘红素。

2 超高效液相色谱仪

2.1 超高效液相色谱仪的仪器特点

Concultra 来自于 Conquer（征服）和 Ultra（超高效），中文名称“开拓者”。它是国内首款真正商品化的超高效液相色谱，即将为国产液相色谱开拓新的天地。

开拓者超高效液相色谱的革命性在于高精度的超高压输液单元，低系统扩散体积和优化的流路，针在流路自动进样器超低的进样周期，极低的交叉污染，能够充分的发挥亚二微米色谱柱的极致性能，带来更高的速度、灵敏度和分离度，同时消耗的试剂更少，极大减少了实验成本，为客户带来更高的效率。

2.2 输液泵

超高效二元高压泵是超高效液相的核心部件，它采用超高压直线电机泵，最高压力可达到 150MPa，流量范围 0-2mL/min，涵盖亚二微米色谱柱的最佳适用范围。超高效二元高压泵动态压缩补偿采用高精度实时压力更随技术实现“零波动”的效果，带来极高的流量稳定性。超高效二元高压泵作为一款高端液相泵，标配四路溶剂切换，电动放空阀，六路在线脱气，支持漏液探测等丰富功能，使用户能够摆脱手工操作。

2.3 自动进样器

超高效自动进样器，采用超高压针在流路无损进样技术，具有极低的进样循环周期和极低交叉污染。制冷的样品室，能够保存生物样品等易变质的待测物质

2.4 柱温箱

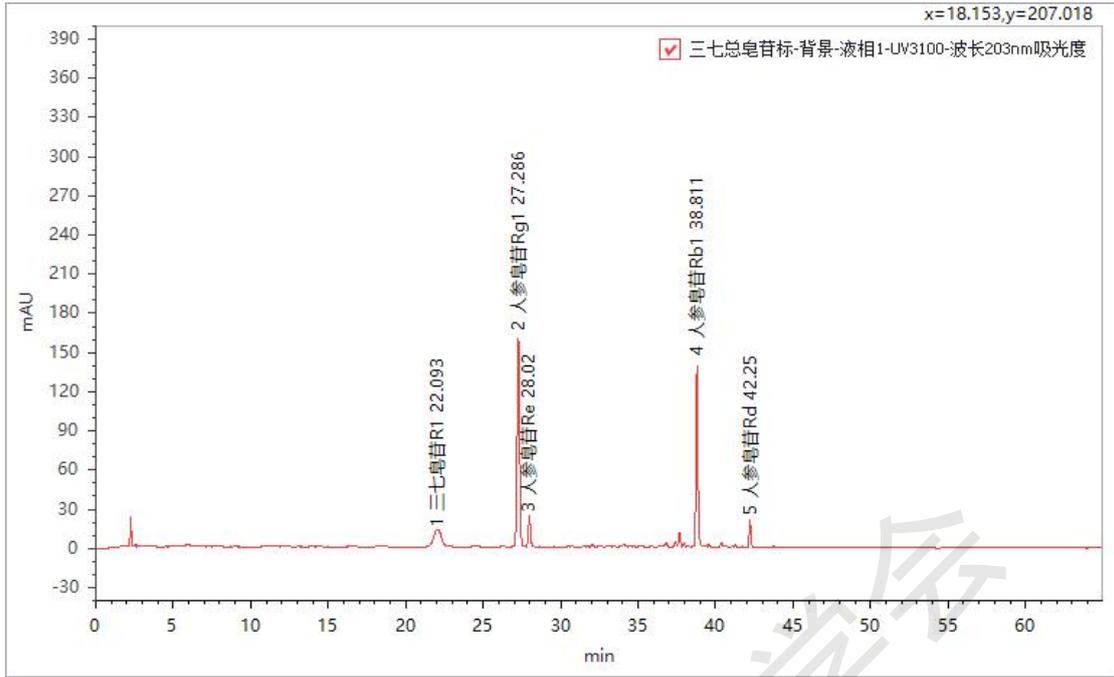
超高效柱温箱带主动预热模块功能，升温速率极快，在超高效极短的检测时间上能够充分预热流动相，带来绝佳的检测效果。

2.5 检测器

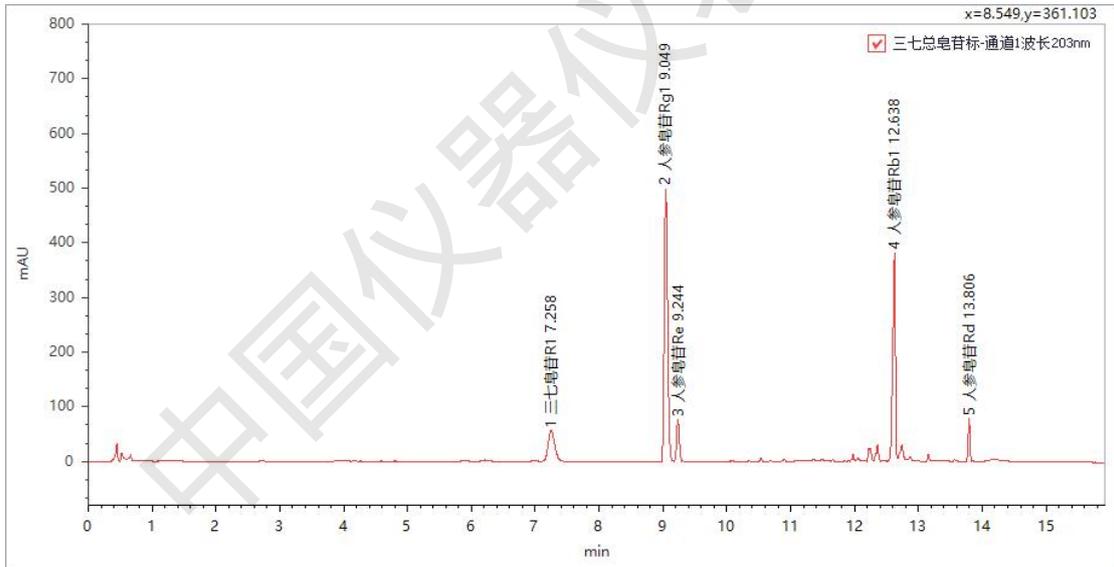
超高效二极管阵列检测器，采用专利的液芯波导流通池技术，实现光能量的无损传输，配合独有的最小化杂散光技术，带来极高的灵敏度和信噪比，同时还具有超高的检测速率，能够充分发挥超高效液相的性能。

3 超高效液相色谱仪对比高效液相色谱仪的优势

本品为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F.H.Chen 的主根或根茎经加工制成的总皂苷。药典中其测试方法为高效液相色谱法，此法分析时间一般为 70min，不仅耗时长，试剂消耗量也大，皖仪应用工程师使用开拓者开发出三七总皂苷的超高效液相色谱法，将分析时长由 70min 缩短至 15min，大大提高了测试效率，除此，超高效液相色谱法消耗的试剂量比高效液相色谱法小的多，灵敏度也高得多。



高效液相色谱法测试谱图



超高效液相色谱法测试谱图