

UHPLC 方法快速进行川射干中药配方颗粒的特征图谱分析

LC-297

摘要： 本文以《川射干配方颗粒》国家标准特征图谱分析为例，介绍了采用 HPLC 方法转换工具 Method Transfer 进行 HPLC 法到 UHPLC 法的快速转换的过程和方式并对相关结果进行验证。实验结果表明，该功能无需经过繁琐的计算即可在满足《中国药典》相关要求的情况下进行方法的一键转换。转换成 UHPLC 法后，系统适用性实验和样品测定结果均符合标准要求，且 UHPLC 法分析时长较原来 HPLC 方法的 60 min 缩短至 15 min，分析效率得到明显提高，可为相关检验人员提供参考。

关键词： 中药配方颗粒 特征图谱 川射干 UHPLC HPLC 方法转换

超高效液相色谱 (UHPLC) 与高效液相色谱 (HPLC) 技术具有相同的分离原理，它的理论基础为 Van Deemeter 方程，即填料粒度越小柱效越高，且每种填料粒度尺寸均有自身最佳柱效的流速。相比 HPLC 法，UHPLC 法具有更高的分离度和灵敏度，同时色谱峰容量和分析效率均有显著地提升。

中药具有化学成分复杂，性质差异大，分离难度大等特点，给中药分析带来了巨大的挑战。目前，UHPLC 技术在中药化学成分识别、指纹图谱及代谢组学等分析

领域逐步得到了应用，极大地促进了中药研究领域的发展。中药配方颗粒是一种特殊的中药饮片。在已颁布的中药配方颗粒国家标准中，特征图谱分析是其关键的分析项目之一。在该分析项目中，UHPLC 和 HPLC 方法均有被采用，且采用 UHPLC 法的占比更高。

本文以川射干配方颗粒为例，利用岛津 Method Transfer 方法转换软件快速将标准中特征图谱分析的 HPLC 法转换成 UHPLC 法，转换后特征图谱分析结果均符合标准要求，供相关检验人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验 UHPLC 方法采用岛津 Nexera XS 高效液相色谱仪，具体配置为：

系统控制器：CBM-40

脱气机：DGU-405

输液泵：LC-40D XS × 2

自动进样器：SIL-40C XS

柱温箱：CTO-40C

检测器：SPD-M40

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99

1.2 分析条件

对在 HPLC 上采用的特征图谱分析条件进行方法转换，HPLC 法分析条件详见岛津《中药配方颗粒液相色谱图谱集》

https://support.shimadzu.com.cn/an/literature/AP_NOTES/SGCOE-22-01.html



色谱柱：Shim-pack GIST C18-AQ (100 mm× 2.1 mm I.D., 1.9 μm) ，
(P/N: 227-30807-02, 岛津 (上海) 实验器材有限公司)

流动相 A: 乙腈

流动相 B: 0.2% 磷酸

流速: 0.4 mL/min

柱温: 40°C

进样量: 0.8 μL

梯度起点调整: 进样后 800 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 18%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
5.21	Pumps	Pump B Conc.	82
7.29	Pumps	Pump B Conc.	64
15	Controller	Stop	

1.3 样品前处理

空白溶剂的制备: 取 (0.2% 磷酸: 乙腈 =82:18) 的水溶液即得。

对照品、对照药材参照物溶液及供试品溶液的制备: 同《川射干配方颗粒》国家标准, 编号 YBZ-PFKL-2021028

■ 结果与讨论

2.1 色谱图

按照 1.2 中色谱分析条件, 取上述溶液分别上机分析, 色谱图如图 1-2, 空白溶剂在目标物出峰处无干扰。

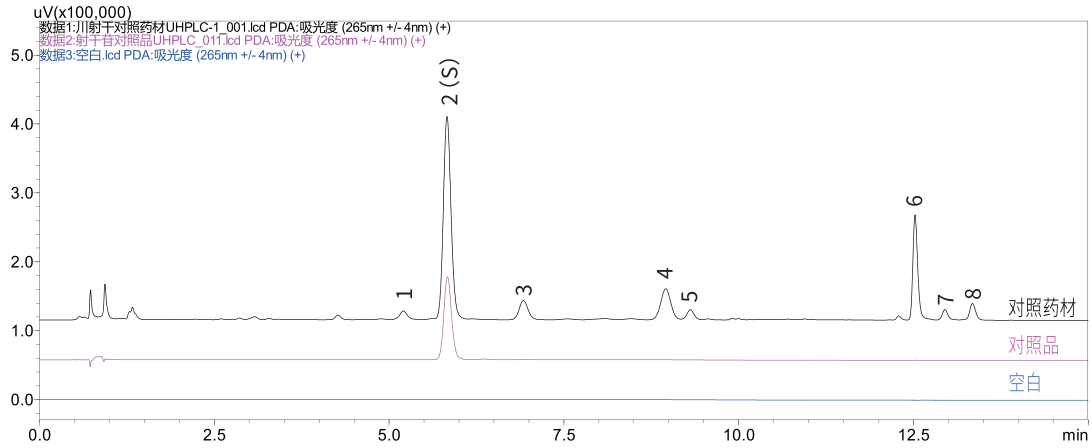


图 1 对照药材参照物溶液、对照品溶液及空白溶剂色谱图

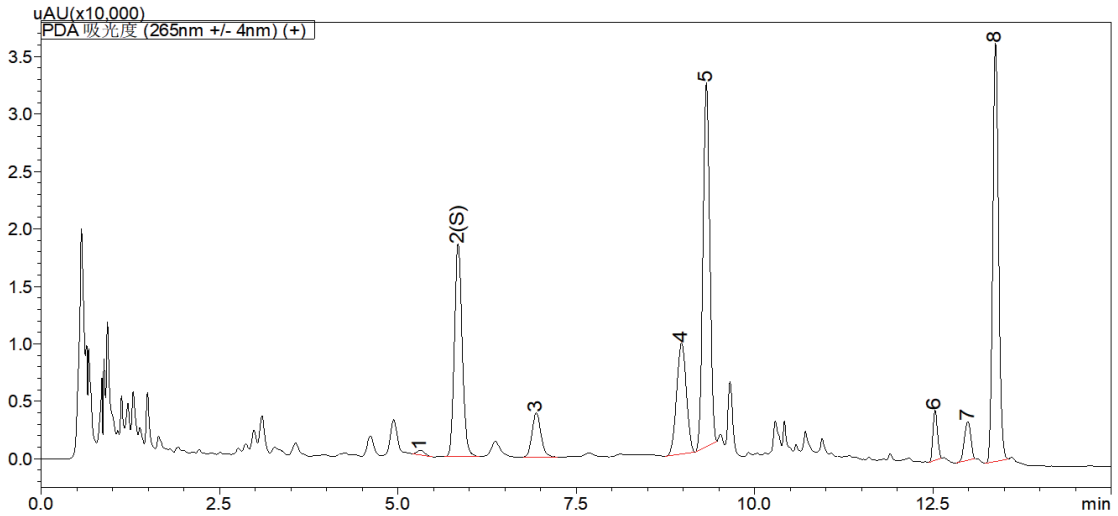


图 2 供试品溶液色谱图

峰 2 (S) : 射干苷; 峰 5: 野鸢尾苷; 峰 6: 鸢尾黄素; 峰 7: 鸢尾甲黄素 A; 峰 8: 鸢尾甲黄素 B

2.2 系统适用性

以射干苷特征峰的理论塔板数为考察指标, 系统适用性结果如下表所示:

表 2 系统适用性结果

名称	对照品参照物	对照药材参照物	供试品
理论塔板数	13108	13410	13818

结果表明, 转换为 UHPLC 法后, 各溶液中射干苷的理论塔板数均大于 8000, 符合标准规定。

2.3 精密度

取对照药材参照物溶液连续进样 6 次, 考察仪器精密度。8 个特征峰的保留时间和峰面积 RSD 值分别在 0.027%~0.074% 和 0.113%~0.331% 之间, 表明仪器精密度良好, 详见图 3 和表 3。

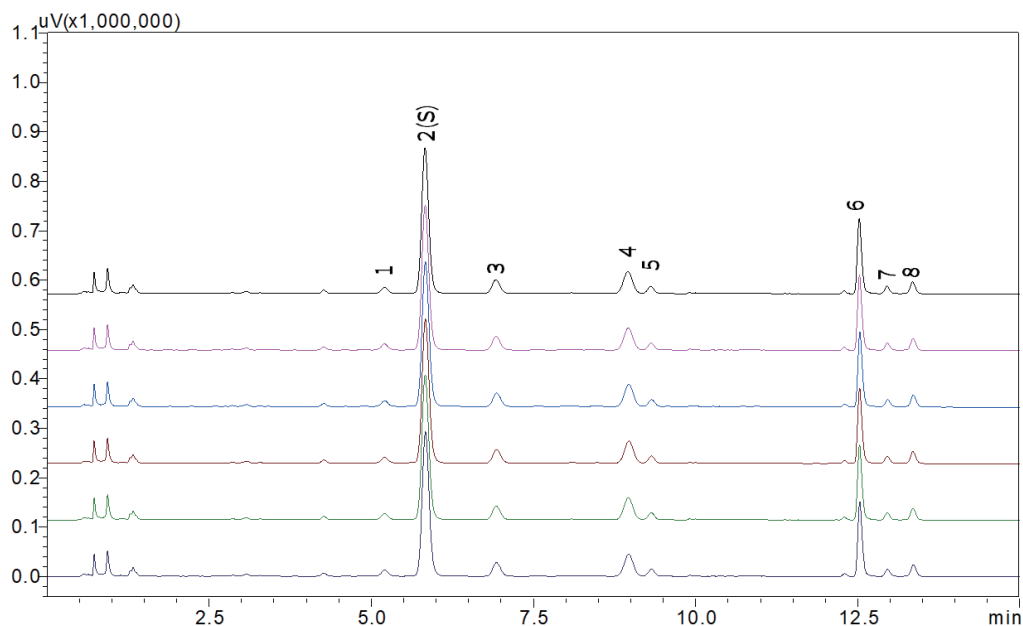


图3 对照药材参照物溶液精密度测试色谱图 (n=6)

表3 对照药材参照物溶液精密度测试结果 (n=6)

组分编号	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)
1	0.034	0.113
2(S)	0.049	0.239
3	0.074	0.228
4	0.067	0.186
5	0.051	0.317
6	0.027	0.145
7	0.028	0.331
8	0.031	0.258

2.4 供试品特征图谱分析结果

在UHPLC法分析条件下,川射干配方颗粒供试品溶液呈现8个特征峰;7个指定特征峰的相对保留时间均在标准规定范围内,且各特征峰相对保留时间与标准规定值的相对偏差不超过3%,与HPLC法测试结果无明显差异,满足《川射干配方颗粒》国家标准中特征图谱的分析要求。

表 4 供试品特征图谱特征峰参数列表

组分编号	相对保留时间标准规定值 (限度: $\pm 10\%$)	相对保留时间		与标准规定值的相对偏差 (%)	
		UHPLC 法	HPLC 法	UHPLC 法	HPLC 法
1	0.896 (0.806~0.986)	0.909	0.880	1.45	-1.82
2 (S)	--	--	--	--	--
3	1.183 (1.065~1.301)	1.188	1.176	0.42	-0.56
4	1.561 (1.405~1.717)	1.536	1.488	-1.60	-4.69
5	1.620 (1.458~1.782)	1.596	1.523	-1.48	-5.96
6	2.201 (1.981~2.421)	2.145	2.131	-2.54	-3.20
7	2.271 (2.044~2.498)	2.223	2.208	-2.11	-2.78
8	2.347 (2.112~2.582)	2.290	2.275	-2.43	-3.07

■ 结论

本文以川射干配方颗粒特征图谱分析为例, 介绍采用岛津方法转换工具 Method Transfer 对国家标准中的 HPLC 法转换成 UHPLC 法的过程, 该功能无需经过繁琐的计算即可在满足《中国药典》相关要求的情况下进行方法一键转换。转换成 UHPLC 法后, 系统适用性和样品测定结果均符合《川射干配方颗粒》标准要求; 且 UHPLC 法一针样品的测试时长较原来 HPLC 法 60 min 的时间缩短至 15 min, 极大地提高了分析效率, 该方法可为相关检验人员提供参考。

岛津应用云

