

# Labsolutions MD 用于经典名方当归建中汤含量测定的分析方法开发

LC-387

**摘要：** 本实验使用岛津 HPLC 方法开发系统结合 LabSolutions MD 对经典名方当归建中汤含量测定进行了方法开发，展示了 Labsolutions MD 软件在 HPLC 方法开发中自动和智能化的功能与特点。Labsolutions MD 软件是基于 AQBd 理念的方法开发软件，支持方法开发的整个流程。该软件可根据实验设计（DoE）分析样品，并利用分析结果构建设计空间，开发出稳健可靠的综合分析方法，界面直观可视，即使缺乏经验的分析人员也同样能够轻松驾驭，是高效进行分析方法开发的利器。

**关键词：** Labsolutions MD 经典名方 当归建中汤 方法开发

## 技术特点：

- ❖ 使用 LabSolutions MD 开发出经典名方当归建中汤含量测定的稳健可靠分析方法。
- ❖ 根据各峰的分离度绘制设计空间，使分析条件和分离效果的关系可视化。

当归建中汤出自《千金翼方》（唐·孙思邈），由当归、桂心、甘草、芍药、生姜、大枣六味药组成，具有温补气血，缓急止痛的功效。2018年4月，国家中医药管理局发布了《古代经典名方目录（第一批）》的通知，当归建中汤被收录其中。然而，当归建中汤的检测方法未收录于药典或相关药品标准检验方法中。因此，目前缺乏对当归建中汤更为综合全面的质量控制方法研究。

本文利用岛津 HPLC 方法开发系统结合 LabSolutions MD 软件，对经典名方当归建中汤含量测定进行方法开发。Labsolutions MD 软件可帮助分析工作者“轻松高效”“科学系统”的实现稳健的分析方法开发，包括根据实验设计分析样品，利用分析结果构建设计空间，以及在确定最佳分析条件后评估其稳健性。使用 Labsolutions MD 开发软件，即使缺乏经验的分析人员也同样能够得到稳健的分析方法。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津高效液相色谱仪，具体配置为：

系统控制器：CBM-20Alite  
脱气机：DGU-20A5R×2  
柱温箱：CTO-20AC  
质谱检测器：LCMS-2050

输液泵：LC-30AD × 2 (含 LPGE)  
自动进样器：SIL-30AC  
检测器：SPD-M20A  
色谱工作站：Labsolutions Ver.5.118  
Labsolutions MD Ver.2.01



图1 Labsolutions MD 软件的特点

## 1.2 混合对照品溶液的配制

精密称取芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸、甘草苷、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵对照品适量，置于容量瓶中，加入甲醇定容至刻度，制得浓度为 200 µg/mL 的混合对照品溶液。

## 1.3 供试品溶液的制备

按处方量准确称取当归 55.2 g、肉桂 41.4 g、炙甘草 27.6 g、白芍 82.8 g、生姜 41.4 g、大枣 30 g；粉碎，置于煎药壶中，加入 2000 mL 水，武火煮沸后文火煎煮至药液得量为 600 mL。将药液用纱布过滤后，减压浓缩至 1 g/mL，为生药量。取适量药液以 12000 r/min 离心处理 5 min，取上清液过 0.22 µm 微孔滤膜，即得。

## 1.4 Labsolutions MD 软件分析方法开发流程

LabSolutions MD 为提高基于 AQB<sub>D</sub> 的一系列分析方法开发工作流程效率提供支持。该软件可对流动相、色谱柱等分析条件参数进行设置、使用实验设计法进行分析，并自动生成综合计划表。解析功能方面，具有针对所得数据绘制设计空间、预测色谱图、通过谱峰跟踪功能自动鉴定目标化合物解析功能。本实验将通过“初筛”、“优化”等阶段，利用 Labsolutions MD 软件对经典名方当归建中汤含量测定进行方法开发。

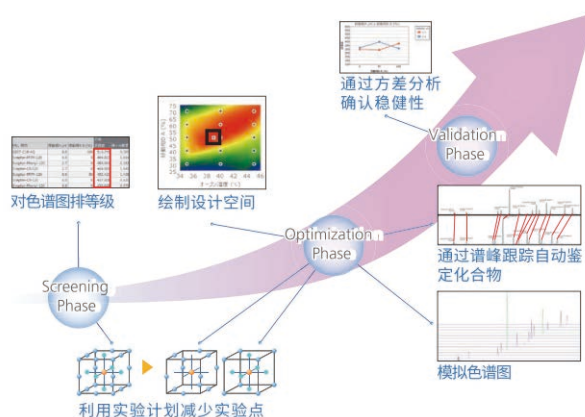


图 2 Labsolutions MD 软件分析方法开发流程

## ■ 结果与讨论

### 2.1 筛选阶段

#### 2.1.1 筛选阶段实验设计

本实验中，流动相、色谱柱对色谱峰的分离起到关键性作用，因此在筛选阶段采用全因子实验对流动相、色谱柱进行了实验设计。

表 1 筛选阶段实验设计表（液相条件）

流 动 相:	
A 相 :	A1—0.1% 甲酸水溶液                      A2—0.5% 乙酸水溶液
B 相 :	B—乙腈
色 谱 柱:	
1	Shim-pack Velox SP-C18 (100 mm × 2.1 mm I.D., 1.8 µm) , P/N: 227-32001-03
2	Shim-pack Scepter C18-I20 (100 mm × 2.1 mm I.D., 1.9 µm) , P/N: 227-31012-05
3	ShimNex UP C18 (100 mm × 2.1 mm I.D., 1.8 µm) , P/N: 380-01231-02
分析条件:	
流 速 :	0.3 mL/min                                      进 样 量 : 2 µL
柱 温 :	30°C                                                  检 测 波 长 : PDA (254 nm)
洗脱方式 :	梯度洗脱, B 相初始浓度为 12%, 洗脱程序见表 2

表 2 梯度洗脱程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
10.00	泵	B.Conc	16
16.10	泵	B.Conc	18
23.60	泵	B.Conc	55
25.00	泵	B.Conc	70
25.10	泵	B.Conc	12
20.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子化模式： DUIS (±)

脱溶剂温度： 450°C

雾化气流速： 2 L/min

D L 温度： 200°C

加热气流速： 7 L/min

扫描模式： SIM

干燥气流速： 5 L/min

2.1.2 筛选阶段的综合评估

在筛选阶段采用全因子设计总共筛选 3 种流动相和 3 种色谱柱，对结果进行评估来确定哪种分析条件所获得的色谱图是最优的。LabSolutions MD 软件可以自动计算出评估值\*，从而快速轻松地找到最佳色谱分析条件。

$$\text{分离状态的综合评估值}^* = \text{检测到的峰数 } P \times [\text{分离度 (Rsn) 的和}]$$

由于经典名方当归建中汤供试品成分较为复杂，色谱图中除有效成分色谱峰以外，有较多未知化合物色谱峰，供试品溶液相较于对照品溶液的出峰数量及峰分离度结果更具有参考意义，因此筛选阶段选择使用 1.3 制备得到的供试品溶液进行测试。所获得的全部色谱图按照综合评估值从最高到最低的顺序排列，结果如图 3 所示。结果表明，使用色谱柱型号为 Shim-pack Velox SP-C18，以 0.1% 甲酸水溶液 - 乙腈作为流动相，其评估值最高，分离效果最好，具体实验参数如表 4 所示。



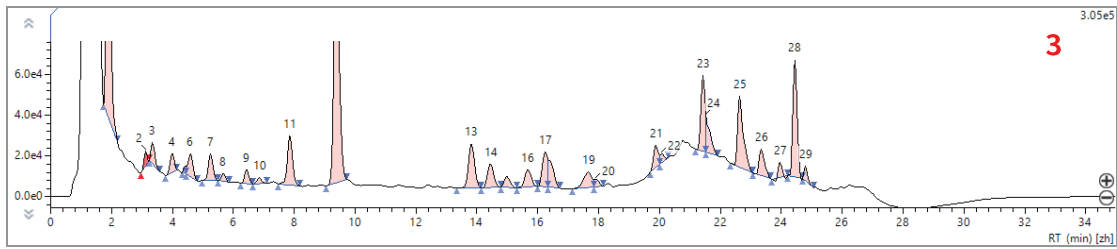


图3 筛选阶段流动相、色谱柱的综合评估值

表4 筛选阶段最佳分析条件（液相条件）

流动相:

A 相 : A1—0.1% 甲酸水溶液

B 相 : B—乙腈

色谱柱:

1 Shim-pack Velox SP-C18 (100 mm × 2.1 mm I.D., 1.8 μm), P/N: 227-32001-03

分析条件:

流 速 : 0.3 mL/min

进 样 量 : 2 μL

柱 温 : 30°C

检 测 波 长 : PDA (254 nm)

洗脱方式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 12%, 洗脱程序见表 2。

### 2.1.3 供试品溶液有效成分定性确证

为排除供试品溶液出现假阳性问题, 按照 2.1.2 最终评估值最高分的分析条件 (见表 4) 采集对照品溶液色谱图。使用目标峰保留时间一致性、UV 光谱、MS 质谱参数对各色谱峰定性鉴别, 结果如图 4 所示。

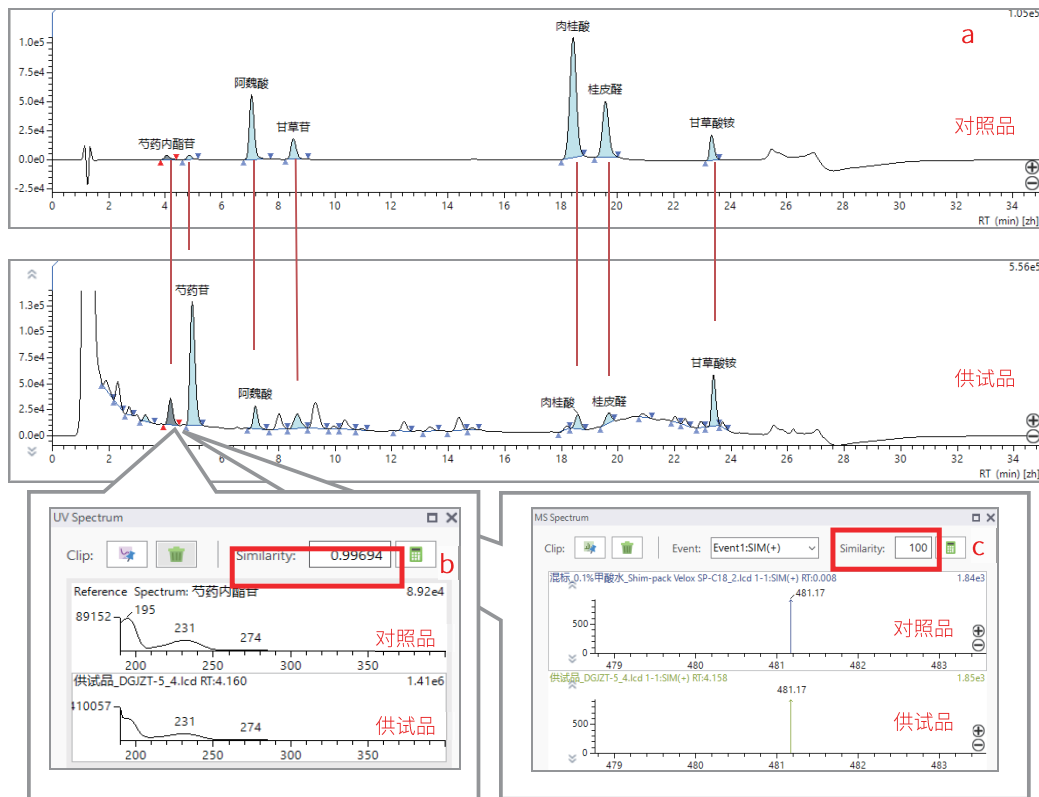


图4 对照品溶液和供试品溶液比较色谱图 (a) ; 对照品溶液和供试品溶液芍药内酯苷比较 UV 光谱图 (b) ; 对照品溶液和供试品溶液芍药内酯苷比较质谱图 (c)

## 2.2 优化阶段

### 2.2.1 色谱峰追踪功能

峰追踪功能可以使用峰洗脱顺序、UV 光谱、MS 质谱相似度、峰面积及峰面积百分比、峰高度及峰高度百分比等多种参数对色谱峰进行自动追踪鉴定，从而实现优化阶段的设计空间模型图精确构建，大大减少手动识别的繁琐程度，提高工作效率。本实验采用峰洗脱顺序、UV 光谱、MS 质谱相似度对色谱峰进行追踪，结果如图 5 所示。

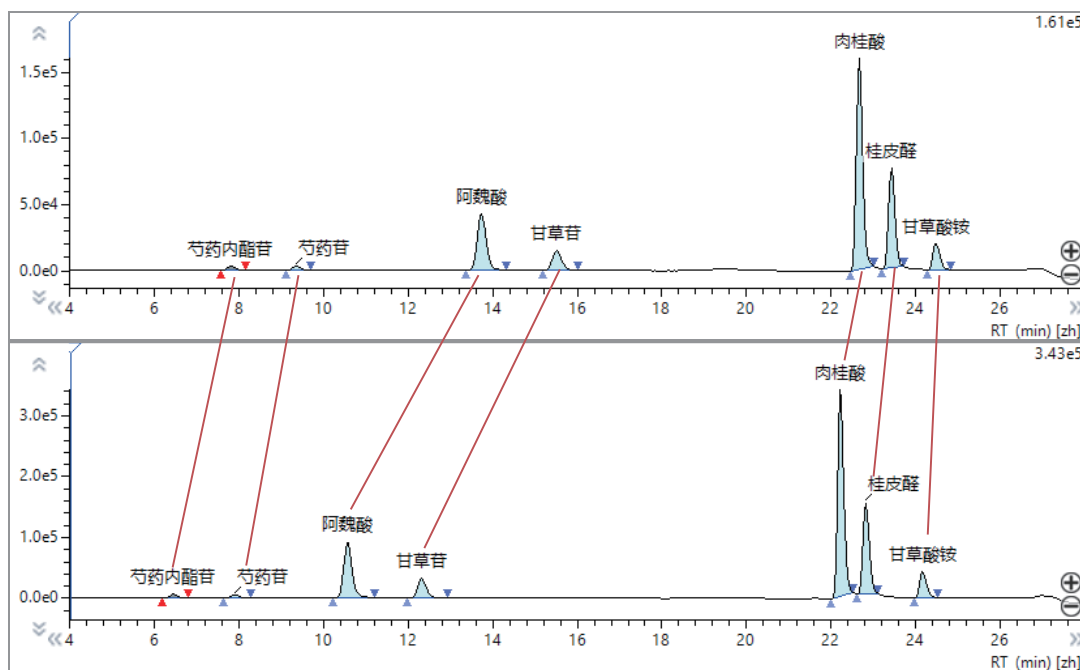


图 5 色谱峰追踪功能

### 2.2.2 模型解析

在筛选阶段选择最佳流动相和色谱柱种类后，进一步考虑流速及柱温对色谱峰分离的影响，在优化阶段的实验设计中采用全因子设计（Full Factorial Design）设计探索流速（0.2 mL/min、0.25 mL/min、0.3 mL/min）和柱温（30°C、35°C、40°C）的最佳组合。

在 LabSolutions MD 软件 Postrun 功能下创建化合物表并对所有色谱峰进行正确识别，使用 [Model Analysis] 项下的 [Regression using Identified RT] 预测每个色谱峰的保留时间，进行更加正确的模型解析。创建得到的模型图热图如图 5 所示，其可以同时研究流速及柱温对色谱峰分离度的影响。热图中橙红色区域代表色谱峰分离度良好，蓝绿色代表色谱峰分离度较差。根据设计空间，Labsolutions MD 可模拟出不同分析条件下的色谱图（见图 6），并可预测出最佳的分析条件，具体参数表 5。

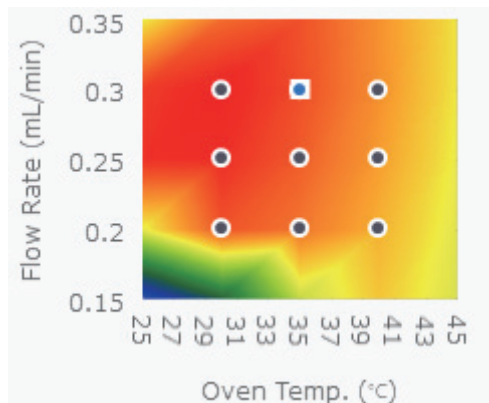


图 5 色谱峰追踪功能

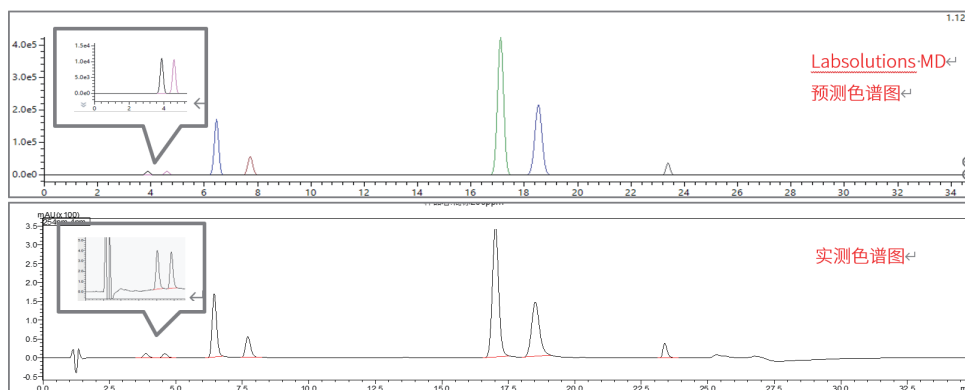


图 6 最佳分析条件的色谱图

表 5 最佳分析条件

流动相:

- A 相 : A1—0.1% 甲酸水溶液  
B 相 : B—乙腈

色谱柱:

Shim-pack Velox SP-C18 (100 mm × 2.1 mm I.D., 1.8 μm), P/N: 227-32001-03

分析条件:

- 流 速 : 0.3 mL/min  
柱 温 : 35°C  
进 样 量 : 2 μL  
洗脱方式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 12%, 洗脱程序见表 2。

### 2.3 重复性考察

取混合对照品溶液, 按照 2.2.2 中的分析条件进行上机分析, 连续进样 6 针, 计算重复性。结果表明, 混合对照品溶液 7 个组分的保留时间 RSD% 为 0.02~0.19%, 峰面积 RSD% 为 0.33%~0.57%, 方法重复性良好, 仪器精密度良好。结果见表 6。

表 6 混合对照品溶液 7 个组分重复性结果 (n=6)

No.	化合物名称	保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)
1	芍药内酯苷	0.19	0.57
2	芍药苷	0.18	0.54
3	阿魏酸	0.11	0.39
4	甘草苷	0.10	0.55
5	肉桂酸	0.08	0.33
6	桂皮醛	0.08	0.42
7	甘草酸铵	0.02	0.51

### ■ 结论

本文使用岛津 HPLC 方法开发系统结合 LabSolutions MD 对经典名方当归建中汤含量测定进行了方法开发。在 LabSolutions MD 软件的“筛选”、“优化”阶段使用了峰追踪、模型解析等功能, 获得最佳分析条件。Labsolutions MD 软件为分析方法开发的工作流程提供支持, 确保方法稳定、数据可靠。

岛津应用云



**岛津企业管理(中国)有限公司 – 分析中心**  
Shimadzu (China) Co., LTD. – Analytical Applications Center