

Nexera LC-40 在 HPLC 和 UHPLC 方法转换中的应用

LC-489

摘要：本文介绍了 Nexera LC-40 液相色谱结合 LabSolutions 工作站的方法转换组件（Method Transfer），在血塞通片中的三七总皂苷分析中进行 HPLC 法与 UHPLC 法互相转换的案例。HPLC 法转换成 UHPLC 法后，整个分析时长缩短了一半，分析效率得到明显提高。在 UHPLC 条件下，人参皂苷 Rg1 峰理论板数大于 6000，人参皂苷 Rg1 与人参皂苷 Re 的分离度大于 1.8，符合标准要求。同时分别验证了在二元和四元液相系统上的转换效果，连续进样 500 针测试各目标峰峰面积的相对标准偏差在 0.595%~3.007% 之间，保留时间的相对标准偏差在 0.075%~1.446% 之间，提示系统稳定、方法可靠。

关键词：超高效液相色谱 方法转换 血塞通片 三七总皂苷

技术特点：

- ❖ 本例基于 LC-40 四元和二元系统进行转换的方法，完全满足中国药典通则 0512 中规定的色谱参数允许调整范围。
- ❖ 使用岛津 MethodTransfer 方法转换软件快速将 HPLC 法转换成 UHPLC 法，操作简单。

近年来，超高效液相色谱（UHPLC/UPLC）逐步进入分析市场，相比传统的 HPLC，UHPLC/UPLC 具有更快分析速度、更好分离度和灵敏度以及更低的溶剂和时间成本等优势。

中药具有化学成分复杂，性质差异大，分离难度大等特点，常规 HPLC 方法在应对此类复杂体系时，往往需要牺牲分析效率以换取分离度，难以兼顾中药质控的“快”与“准”。随着 UHPLC/UPLC 技术日渐成熟并广泛应用于中药分析，行业对更小粒径填料、

细内径色谱柱的合规使用需求持续提升。在此背景下，《中国药典》通则 0512《高效液相色谱法》中对色谱柱内径和填充剂粒径范围的调整呈放宽趋势，为 UHPLC/UPLC 的日常应用提供了法规依据。

本文以血塞通片为例，利用岛津 MethodTransfer 方法转换软件快速将 HPLC 法转换成 UHPLC 法，在 LC-40 二元和四元系统上分别进行了验证，转换前后各目标峰分析结果均符合标准要求，可供相关检验人员参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，具体配置为：

二元系统：

输 液 泵：LC-40B X3
柱 温 箱：CTO-40S
自 动 进 样 器：SIL-40C X3

系 统 控 制 器：CBM-40Lite
检 测 器：SPD-40
色 谱 工 作 站：LabSolutions Ver. 5.120

四元系统：

输 液 泵：LC-40D XR
柱 温 箱：CTO-40C
自 动 进 样 器：SIL-40C XR

系 统 控 制 器：SCL-40
检 测 器：SPD-40
色 谱 工 作 站：LabSolutions Ver. 5.135

1.2 分析条件

二元、四元系统：

色 谱 柱： ShimNex HE C18-AQ (150 mm x 2.1 mm I.D., 3 μ m),
P/N:380-01238-04, 岛津(上海)实验器材有限公司

流 动 相： A- 水; B- 乙腈 检 测 波 长： 203 nm

■ 样品前处理

参照物溶液的制备：取三七总皂苷对照提取物适量，加 70% 甲醇制成每 1 ml 含 2.5 mg 的溶液，即得。

对照品溶液的制备：取人参皂苷 Re 对照品适量，精密称定，加 70% 甲醇制成每 1 ml 含 0.2 mg 的溶液，即得。

供试品溶液的制备：取本品 20 片，除去包衣，精密称定，研细，混匀，精密称取适量（约相当于含三七总皂苷 25 mg），置具塞锥形瓶中，精密加入 70% 甲醇 10 ml，密塞，称定重量，超声处理（功率 250W，频率 33kHz）10 分钟，取出，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。

■ 结果与讨论

3.1 传统 HPLC 分析结果

参照 2025 年版《中国药典》中规定的血塞通片检测方法进行常规 HPLC 法检测，色谱图结果如图 1 所示。因为药典方法中使用的色谱柱规格为 250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μ m，且流速为 1.3 mL/min，完成一针分析整个过程需要 70 min 耗时较长，导致分析效率低而且需要的流动相也比较多。

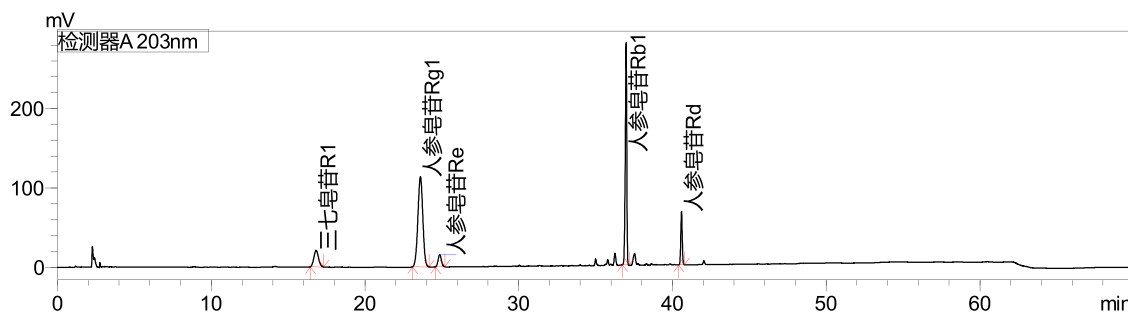


图 1 HPLC 各目标物色谱图

3.2 方法转换的要求

2025 年版《中国药典》通则 0512《高效液相色谱法》关于色谱条件的要求中指出除填充剂种类、流动相组分、检测器类型不得改变外，其余如色谱柱内径与长度、填充剂粒径、流动相流速、流动相组分比例等，均可适当调整。对于梯度洗脱方式，调整后系统适用性应符合要求，且色谱峰出峰顺序不变。另外，流动相的组成和梯度洗脱程序应使第一个峰被充分保留，最后一个峰被完全洗脱。

对于 HPLC 和 UHPLC 方法转换需要调整的参数主要有流速、进样体积和梯度洗脱程序。本实验采用梯度洗脱分析，由于采用不同规格的色谱柱，为保证洗脱体积倍数相同，需调整梯度洗脱程序，不同系统的延迟体积可能不同，在进行方法转换时还需考虑此因素。

3.3 方法的快速转换

岛津 LabSolutions 软件自带方法转换利器 MethodTransfer，可轻松实现 HPLC 和 UHPLC 方法的互换。只需在 MethodTransfer 中选择好方法转换前后的液相色谱系统并输入相应的色谱柱信息，在左侧界面输入当前方法

的梯度洗脱程序、停止时间、流速及进样体积等，点击转换键，软件则自动计算转换后对应的液相条件参数，无需实验人员进行繁琐的计算。若方法转换前后系统的延迟体积不同，可在软件中设置调整梯度起点。



本实验参照药典中规定的 HPLC 方法，在岛津 LC-40 四元和二元系统分别进行方法转换，MethodTransfer 工具中转换参数设置如上图所示，两套系统转换后的梯度程序见表 1、表 2。

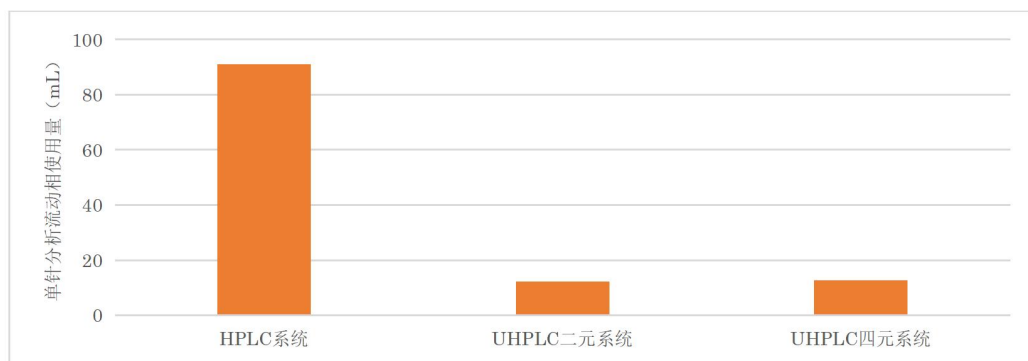
表 1 二元系统梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
9.29	Pumps	Pump B Conc.	20
20.90	Pumps	Pump B Conc.	46
25.55	Pumps	Pump B Conc.	55
27.87	Pumps	Pump B Conc.	55
27.92	Pumps	Pump B Conc.	20
35	Controller	Stop	

表 2 四元系统梯度洗脱时间程序

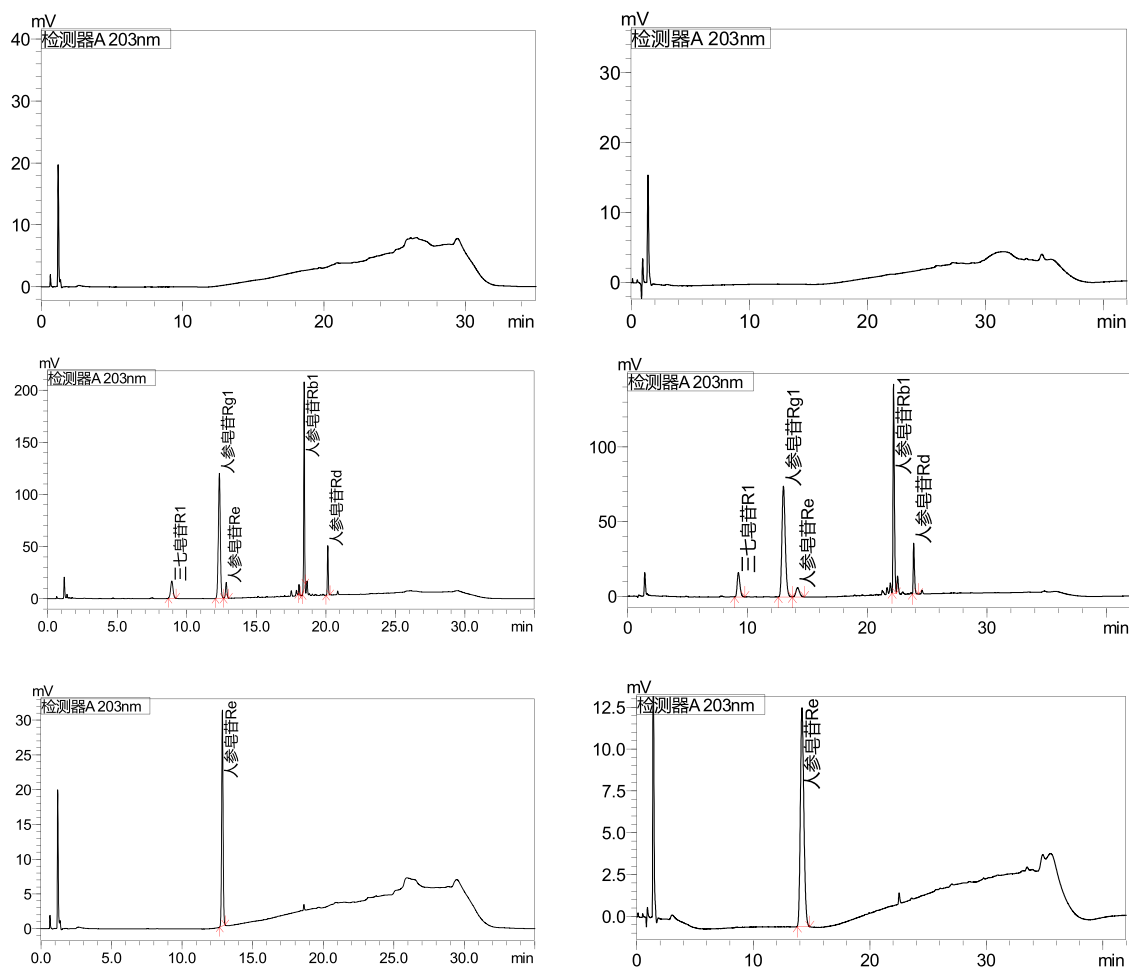
Time(min)	Module	Command	Value
10.84	Pumps	Pump B Conc.	20
22.38	Pumps	Pump B Conc.	46
29.80	Pumps	Pump B Conc.	55
32.51	Pumps	Pump B Conc.	55
32.57	Pumps	Pump B Conc.	20
42.00	Controller	Stop	

除了上面展示的梯度程序外，MethodTransfer 软件根据新的色谱柱和系统对流速和进样体积也进行了调整，调整后为了保证分离效果二元系统使用的流速为 0.35 mL/min（四元系统为 0.30 mL/min），相比原来 1.3 mL/min 的流速，可以节约大概 80% 的流动相。此外，进样量也从原来的 10 µL 降低到 1.0 µL（在软件计算基础上，根据使用习惯进行了调整），缩小了 10 倍，同样也节约了样品。



3.4 UHPLC 法标准品溶液色谱图

按照 1.2 中色谱条件，取空白溶剂、参照物溶液、对照品溶液和供试品溶液分别在二元系统和四元系统上进行分析，空白溶剂色谱图在目标物出峰处无干扰，各色谱图结果见图 2。转换后分析效率可以提升 1 倍，同时也可以节省约 80% 的流动相。



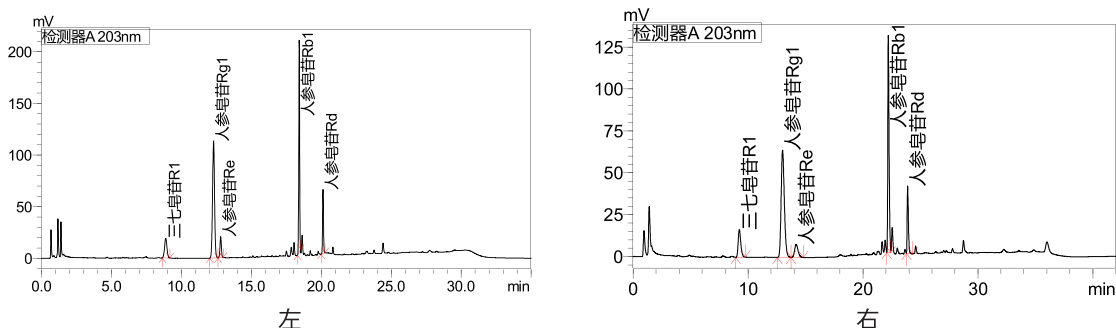


图2 UHPLC系统各目标物色谱峰（左：二元系统、右：四元系统）
（从上至下依次为：空白溶剂、参照物溶液、对照品溶液和供试品溶液）

3.5 系统适用性考察对比结果

以人参皂苷 Rg1 与 人参皂苷 Re 的分离度以及 人参皂苷 Rg1 峰理论板数为考察指标，转换前后系统适用性结果如表 3。HPLC 法转换成 UHPLC 法后，人参皂苷 Rg1 与 人参皂苷 Re 的分离度均大于 1.8，人参皂苷 Rg1 峰的理论塔板数均大于 6000，符合标准规定。

表 3 系统适用性考察结果

系统	人参皂苷 Rg1 与 人参皂苷 Re 的分离度	人参皂苷 Rg1 峰理论板数
HPLC 系统	2.543	24232
UHPLC 二元系统	2.133	34151
UHPLC 四元系统	2.247	10745

3.6 精密度实验

将参照物溶液连续进样 6 次，用于考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。二元系统中各目标峰峰面积的相对标准偏差在 0.128%~0.623% 之间，保留时间的相对标准偏差在 0.010%~0.056% 之间。四元系统中各目标峰峰面积的相对标准偏差在 0.071%~0.496% 之间，保留时间的相对标准偏差在 0.011%~0.056% 之间，仪器精密度良好。

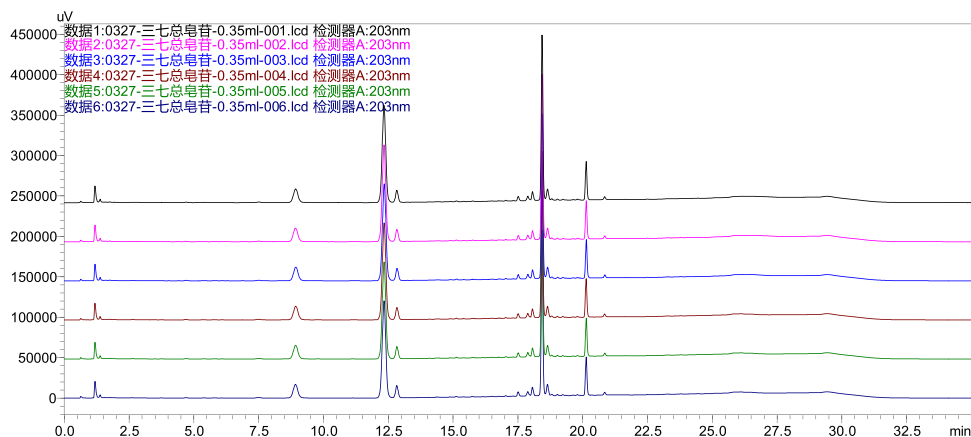


图3 二元系统参照物溶液重复性色谱图（浓度 2.5 mg/mL，n=6）

表 4 保留时间和峰面积重复性结果（浓度 2.5 mg/mL, n=6）

化合物名称	二元系统		四元系统	
	R.T.	Area	R.T.	Area
三七皂苷 R1	0.056	0.513	0.042	0.269
人参皂苷 Rg1	0.024	0.236	0.046	0.139
人参皂苷 Re	0.027	0.623	0.056	0.496
人参皂苷 Rb1	0.010	0.128	0.011	0.071
人参皂苷 Rd	0.014	0.161	0.011	0.117

3.7 长期稳定性考察

制备供试品溶液，并将供试品溶液连续进样 500 针分析，测试本方法的长期稳定性，二元系统中各目标峰峰面积的相对标准偏差在 1.761%~3.007% 之间，保留时间的相对标准偏差在 0.075%~1.446% 之间。四元系统中各目标峰峰面积的相对标准偏差在 0.595%~1.126% 之间，保留时间的相对标准偏差在 0.212%~1.296% 之间，方法长期稳定性良好。

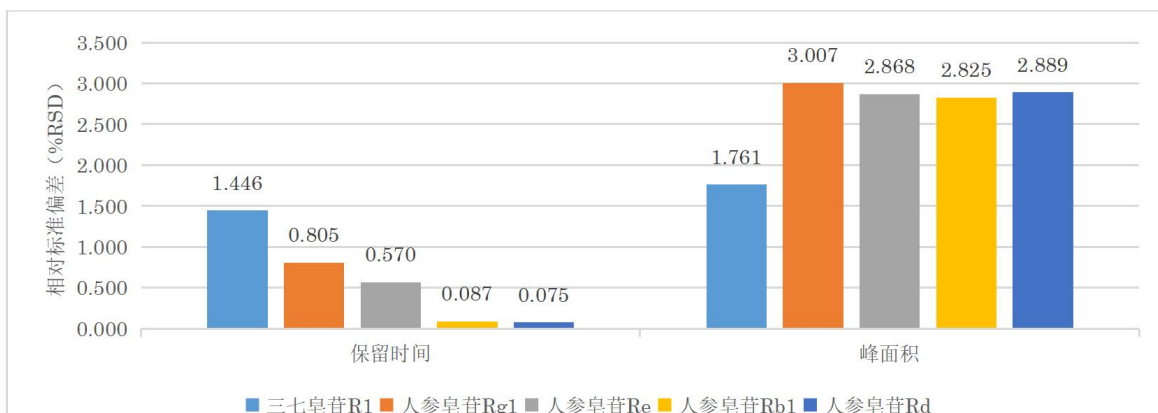


图 4 二元系统 500 针连续进样保留时间和峰面积稳定性

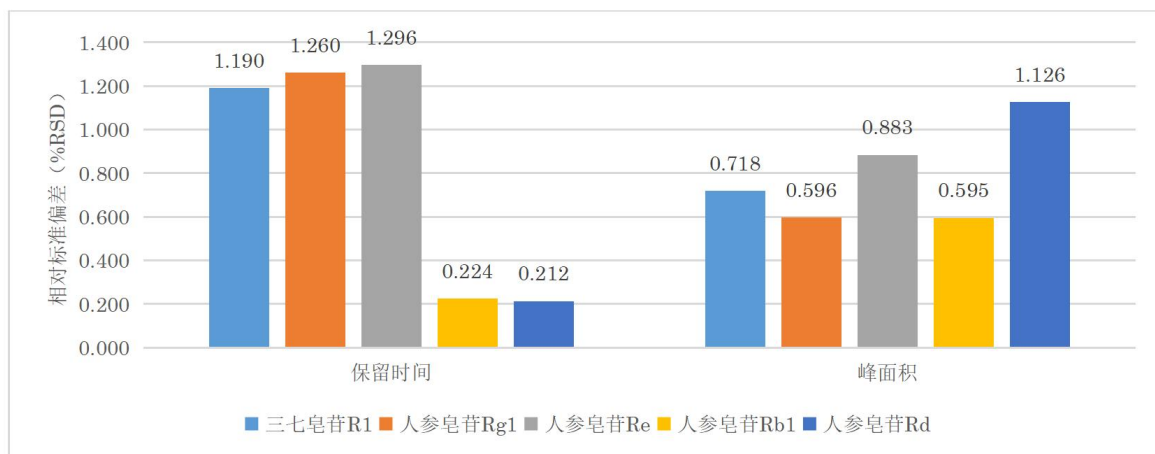


图 5 四元系统 500 针连续进样保留时间和峰面积稳定性

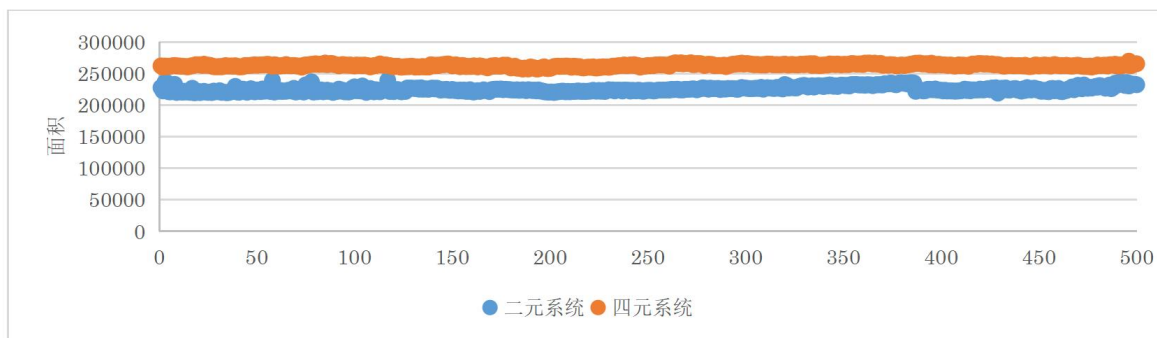


图 6 二元、四元系统中三七皂苷 R1 峰 500 针连续进样峰面积稳定性

3.8 转换前后实际样品检测结果

分别精密吸取参照物溶液、对照品溶液与供试品溶液，注入液相色谱仪测定。以参照物色谱峰中的标示成分定位供试品的各测定成分峰。按照药典方法规定以人参皂苷 Re 对照品为对照，分别乘以校正因子，计算各目标成分的含量。之后再按药品标示量计算每片药品中各目标成分的含量。转换前后同一份样品的检测结果基本一致，且均符合药典规定含量。

表 5 实际样品检测结果

目标成分	校正因子	每片药品中各目标成分的含量		
		转换前 (HPLC)	转换后 (UHPLC)	药典规定
三七皂苷 R1	0.996	8.20%	8.23%	不得少于 5.0%
人参皂苷 Rg1	0.856	35.02%	35.54%	不得少于 25.0%
人参皂苷 Re	1.000	5.24%	5.38%	不得少于 2.5%
人参皂苷 Rb1	1.165	38.97%	39.11%	不得少于 25.0%
人参皂苷 Rd	0.996	9.66%	9.69%	不得少于 5.0%

■ 结论

本文以血塞通片中三七总皂苷分析为例，介绍了采用岛津方法转换工具 MethodTransfer 应对国家标准中的 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转换。转换成 UHPLC 法后，系统适用性和样品测定结果均符合 2025 年版《中国药典》中规定的血塞通片检测要求，且长期检测稳定性良好。与传统 HPLC 方法相比，本实验方法经转换后分析效率可以提升 1 倍，同时也可以节省约 80% 的流动相，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

