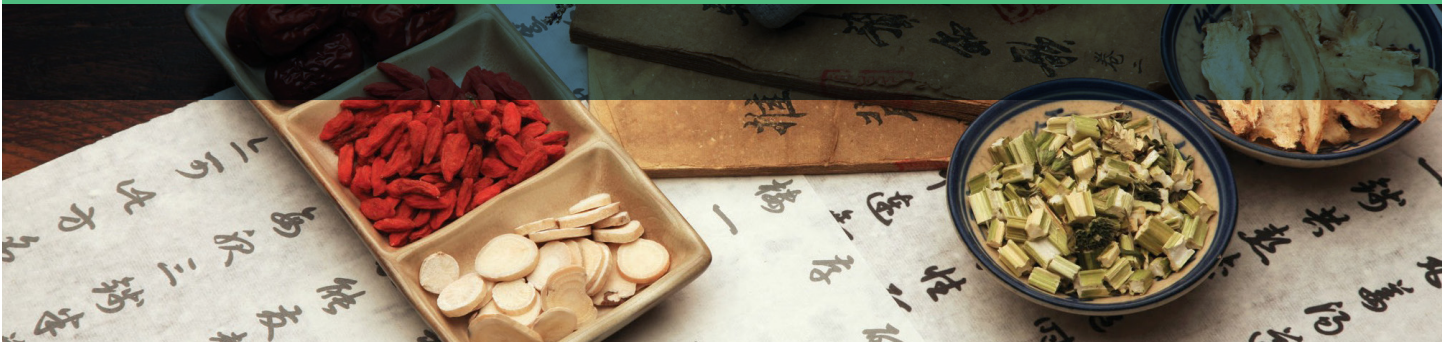


安捷伦中药配方颗粒整体 检测方案



目录

序言	1
中药配方颗粒市场蓝海 — 市场前景向好	3
未来市场机遇与挑战并存	4
中药配方颗粒特征图谱和含量测定篇	7
特征图谱/指纹图谱方法开发	7
物质基础研究及特征峰鉴定	12
标准重现部分	17
中药配方颗粒中禁用农药及代谢物分析篇	28
利用安捷伦 LC-MS/MS 分析中药配方颗粒中的 30 种禁用农药及代谢物	28
利用 GC-MS/MS 分析中药配方颗粒中 33 种禁用农药与代谢物残留含量	42
中药配方颗粒中重金属及有害元素检测篇	51
中药配方颗粒药包材相容性篇	56
针对中药配方颗粒药包材与药物相容性，安捷伦提供符合药典规定的 解决方案	56
利用安捷伦 LC-MS/MS 分析药包材中超过 320 种 E&L 化合物	58
使用配备低能量 EI 离子源的高分辨率精确质量数 GC/Q-TOF 分析可萃取和 可浸出化合物	65
安捷伦药包材无机元素分析 ICP-MS 解决方案	69
NovoCyte 流式细胞仪与 RTCA 实时细胞分析技术在 中药及配方颗粒领域的应用	72
流式细胞术在中药方面的应用	72
RTCA 实时细胞分析技术在中药方面的应用	77
Agilent Seahorse XF 细胞能量代谢分析技术在 中药配方颗粒领域的应用	80
中药配方颗粒数据可靠性篇	81
OpenLab 系统在中药检测的应用	81
中药配方颗粒企业实验室合规服务解决方案篇	86
中药配方颗粒方案培训篇	88
附录	90
附件 1. 160 个中药配方颗粒品种试点统一标准	90
附件 2. 中药配方颗粒国家药品标准（第二批）公示稿	92
附件 3. 中药配方颗粒国家标准申报资料目录及要求	93

序言

中药配方颗粒市场概况

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，中药配方颗粒随即成为中医药行业内炙手可热的话题之一。

中药配方颗粒是由单味中药饮片经提取浓缩制成的、供中医临床配方用的颗粒制剂。其基于中医药理论，以中药饮片为原料，结合现代制剂新技术，采用工业化生产，经提取、浓缩、干燥、制粒等工序精制而成；组方灵活，符合中医“辨证论治，随证加减”的特点，是对传统中药饮片的补充。经过多年的发展，目前中药配方颗粒市场规模正呈现出不断扩大的趋势。

业内认为，中药配方颗粒优势明显，并且随着全国各地开展中药配方颗粒研究试点，中药配方颗粒的市场渗透率有望持续提升。在此背景下，优势企业有望获得更大的市场份额，同时会吸引越来越多的中药企业布局中药配方颗粒领域。

随着市场准入放开，以及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。



中药配方颗粒与传统中药饮片对比

表 1. 中药配方颗粒和中药饮片差异比较

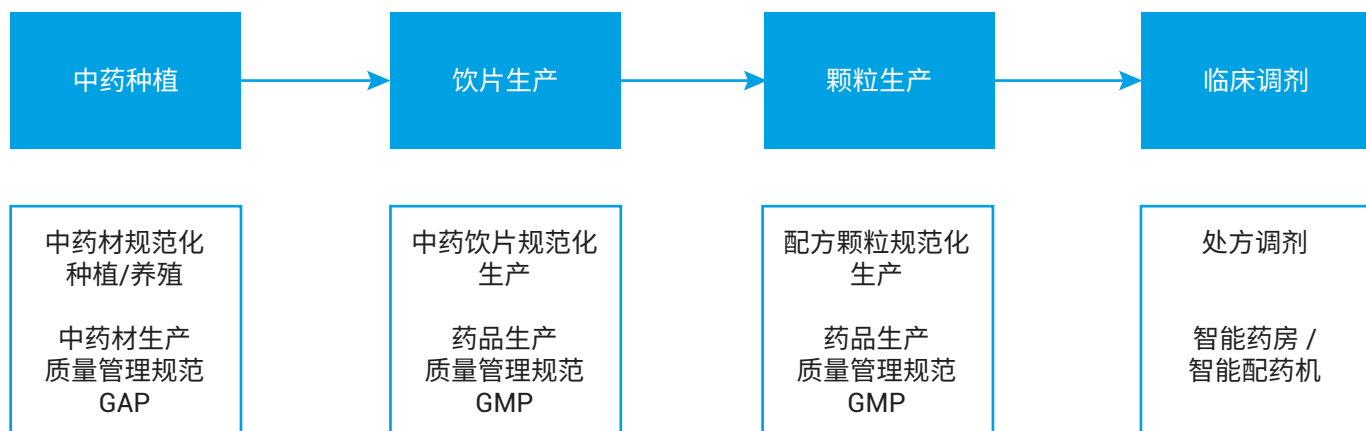
项目	中药配方颗粒	中药饮片
监管	实行批准文号管理，生产遵循国家标准	某些饮片品类根据地方用药习惯、地方炮制规范生产
生产工艺	生产工艺单一，提取溶剂为水，以提取物的形式用于临床配方	根据药品特征和使用方式不同，采用多种生产工艺
质量稳定性	由专业人员严格按照每味药的性能特点，进行规范化、科学化生产管理，质量稳定均一	制剂要求复杂，火力火候等操作条件难控制，无法对煎煮的质量进行监控和管理，质量稳定性差
疗效	尚未达成统一意见	传统验证
价格	生产过程涉及提取、纯化等多环节的制剂加工，生产成本较高，价格高于传统饮片	价格较低
储运	包装密封性好，不易吸潮变质，保管、运输、储存方便	不易储存，易虫蛀、受潮、霉变
使用	服用剂量小，体积小而轻，易于携带，便于患者随时服用；更适合急症急用	煎煮成煎剂费时、量大、携带不便，且其火力火候、加水量、煎煮时间等因素较难控制
调配	多规格独立包装，无需称量，调配方便、干净卫生、用药安全	多为散装，调配时需用称量，有误差且工作量大，易污损

中药配方颗粒产业链

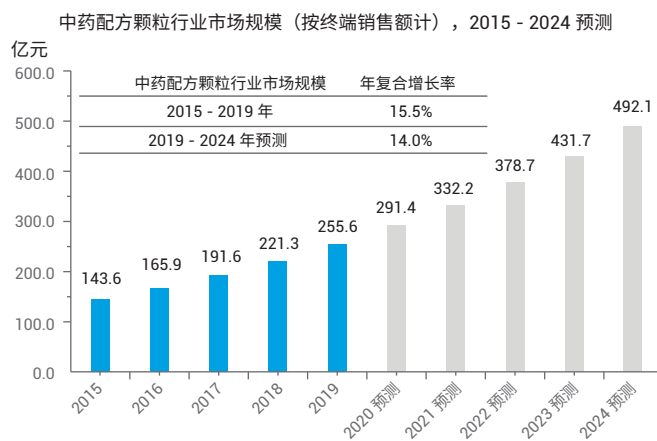
与中药饮片相比，中药配方颗粒产业链可实现从田间到车间的全程控制，在药材来源、饮片炮制、加工工艺、质量检测、产品销售流通等环节，可实现标准化管理。

智能配药机能够按医生处方所需的用药剂量、味、剂数等配方参数，实时自动将配方颗粒组成小包，计量精度高、动作快捷、使用安全，从而实现替代部分中成药的效果。

图表 1：中药配方颗粒产业链



中药配方颗粒市场蓝海 — 市场前景向好



头豹研究院数据显示，2015年至2019年，中药配方颗粒行业市场规模从143.6亿元增长至255.6亿元，年复合增长率达到15.5%；预计未来几年将持续快速发展，到2024年，行业规模将达到492.1亿元，在10年后或将突破2000亿元。

此外，《关于结束中药配方颗粒试点工作的公告》发布后，中药配方颗粒的应用从“二级医院以上中医院”扩展到“所有医疗机构”，范围大大增加，将吸引大批企业入局。

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，但是由于国家制定的标准相当高，这一市场也将面临巨大的挑战。

1. 中药配方颗粒相关政策分析

国家和地方政府目前对于中药配方颗粒的发展始终保持积极谨慎的态度，陆续出台了许多鼓励政策。该发展方向符合国家中药现代化、创新化的发展要求。

相关政府部门发布的《中医药创新发展规划纲要（2006-2020年）》、《关于深化医药卫生体制改革的意见》、《关于扶持和促进中医药事业发展的若干意见》、《产业结构调整指导目录（2011年本）》等均在不同层面上鼓励和促进中药配方颗粒的发展。



2. 中药配方颗粒面临的问题与争议

- 配方颗粒质量不稳定，目前法定标准尚待完善，中药颗粒剂与饮片质量换算尚无标准依据
- 中药配方颗粒疗效有待验证，传统中药汤剂取的是其药物合煎后的作用
- 中药配方颗粒临床应用受到限制，药材炮制成饮片方法有很多种，同种药材选择不同炮制方法也会得到药效不同的饮片
- 技术创新力度待提升。中药配方颗粒需要经过提取、分离、浓缩、干燥、制粒、包装等生产工艺，每个工序都至关重要

3. 关于 160 个中药配方颗粒品种试点统一标准

2021 年 2 月发布的《关于结束中药配方颗粒试点工作的公告》决定结束中药配方颗粒试点工作，对配方颗粒品种实施备案管理，将其质量监管纳入中药饮片管理范畴。与该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》（下文简称“《技术要求》”），其中从基本要求、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，《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。

除 160 个常用配方颗粒国家标准已颁布外，另有 30 多项中药配方颗粒国家药品标准正在审评过程中，并有 246 个品种已有企业正在开展标准研究。更多样、更全面的标准有望陆续出台。

当前标准主要具有以下五个特点：

- 明确多基原药材品种，使中药基原源头可控、更精准
- 充分体现水煎煮传统工艺，确保饮片足量投料
- 能有效甄别中药配方颗粒的真伪优劣，实现中药的整体质量控制
- 全面实施新版《中国药典》对外源性有害残留物的要求，使中药配方颗粒更具安全保障
- 合理规定贮藏、流通环节条件，更好保障中药配方颗粒质量

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”。

160 项中药配方颗粒品种试点统一标准及中药配方颗粒国家药品标准（第二批）公示稿详见文末附件 1 和附件 2。

中药配方颗粒市场竞争日益加剧，如今在最严配方颗粒质量标准体系驱动下，必持续提高市场准入门槛，也将对企业的规模和质量把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、技术创新等方面下功夫，才有望获得更多的发展机遇。

结语

中药剂型的创新是中医药健康发展的内在要求，中药配方颗粒的发展是中药现代化的重要尝试。中药配方颗粒既保持了原中药饮片的药性和药效，又无需煎煮，服用、携带和储存方便，且易于调剂，可满足现代快节奏生活方式的需求，尤其在中药智能化药房应用方面具有特殊的优越性，在医院诊疗中占据越来越重要地位。目前，国家药品监管制度的改革和技术的发展进步为配方颗粒带来发展机遇，需要尽快从提高生产工艺、建立质量标准、完善监管制度、拓展临床应用等方面解决困扰配方颗粒发展壮大面临的问题。

文献与信息参考

1. 中药配方颗粒，这一市场充满机遇；赛柏蓝
2. 中药配方颗粒市场不断扩大下，将面临大挑战；制药网
3. 我国中药配方颗粒产业发展现状研究；火石创造
4. 2020 年中国中药配方颗粒行业市场现状与竞争格局分析市场规模逐年上升；东方财富网
5. 中药配方颗粒市场发展空间虽大，但仍存在一些“硬伤”；制药网
6. 上市公司“抢滩”中药配方颗粒市场；经济参考报
7. 关于中药配方颗粒品种试点统一标准的公示；国家药典委
8. 关于中药配方颗粒国家药品标准（第二批）的公示；国家药典委
9. 涉及约三分之一常用中药材，160 个常用配方颗粒将出国标了！；北京日报
10. 中药配方颗粒国家标准申报资料目录及要求；中药配方颗粒网

中药配方颗粒特征图谱 和含量测定篇



标准研究部分

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。液相色谱因其适用范围广、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。

1. 方法开发系统

Agilent 1260 Infinity II 和 1290 Infinity II 方法开发系统是两款可以自动、全面筛选出最优化色谱分离条件的智能化分析方法系统，可满足不同分析时间、不同操作习惯和不同实验室投资预算的需求。1260 Infinity II 方法开发系统以 HPLC 方法开发为主，兼顾 UHPLC 性能，可实现 100 多种色谱条件的组合；1290 Infinity II 方法开发系统代表了最高 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 方法被大量用于特征图谱/指纹图谱分析和含量测定。因此，建议研发部门将 1290 Infinity II 方法开发系统作为首选方法开发系统。

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给出最佳色谱分离条件。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。

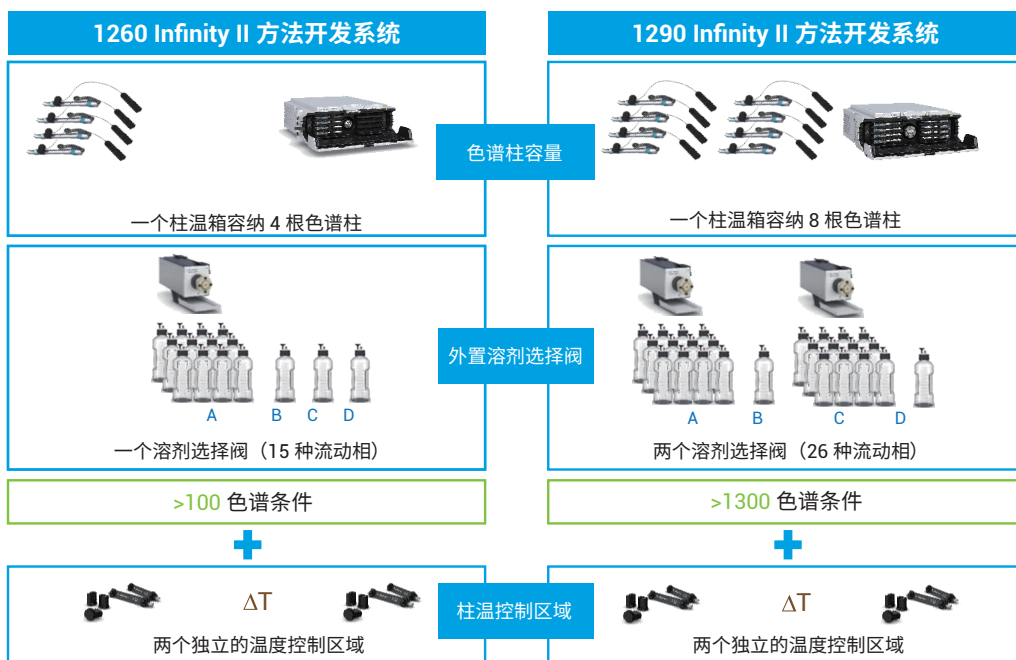


图 1. Agilent 1260 Infinity II 和 1290 Infinity II 方法开发系统简介

1. 定义项目

选择一个方法模板和所要优化的参数

2. 选择色谱柱

系统自动显示所有已经安装配置的色谱柱

3. 选择溶剂

自动识别泵和阀的种类，自动显示配置好的溶剂种类

4. 编辑梯度

设置不同的梯度条件和柱温条件

5. 检查和选择筛选条件

检查是否存在错误并可以任意选择配置好的方法条件

6. 定义样品

指定样品位置，设定进样体积和进样次数

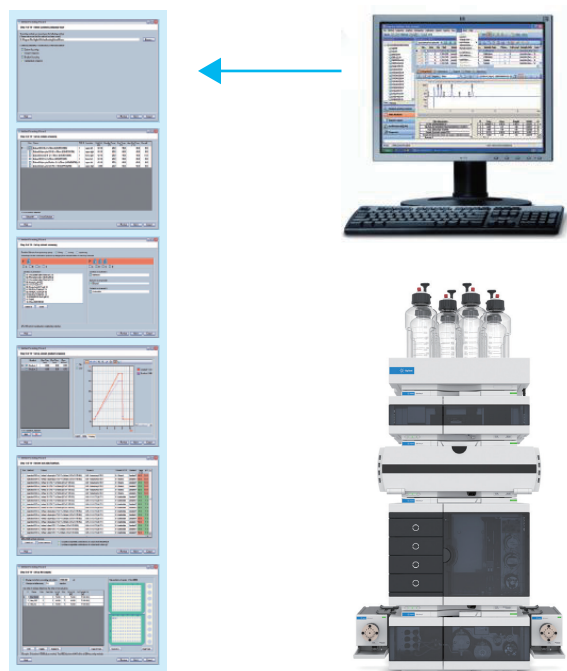
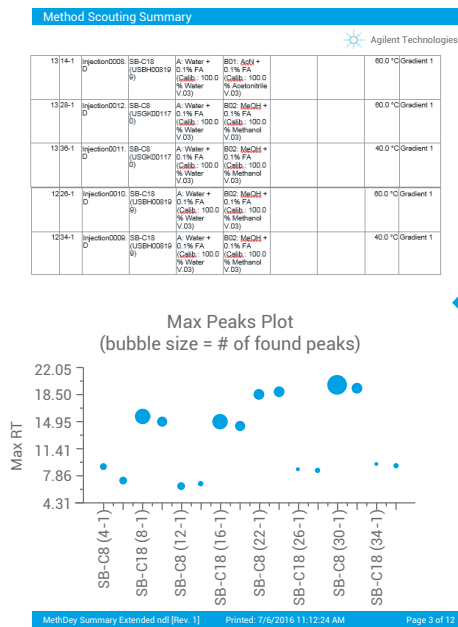
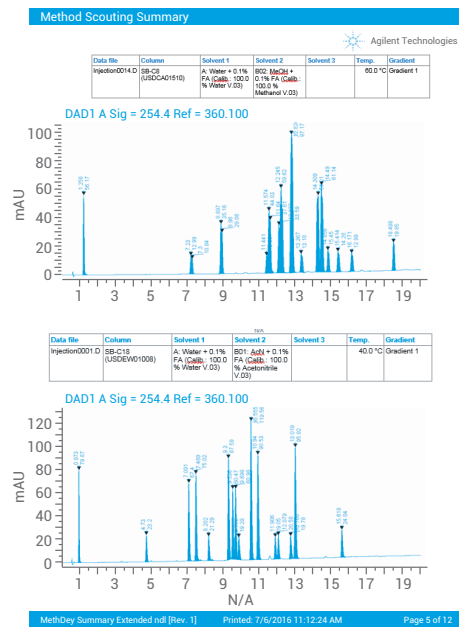


图 2. 向导式方法开发软件



文件名
色谱柱
溶剂
温度
梯度



可以导出为
pdf、Word 或
Excel 文件

图 3. 方法开发智能化报告

2. 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 1.8 μm RRHT，掀开了 UHPLC 分析的序幕，为中药快速高效的色谱分析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。在配方颗粒方法开发和标准重现中，利用安捷伦色谱柱，可满足标准重现、色谱柱选择性差异、色谱柱替代等要求。

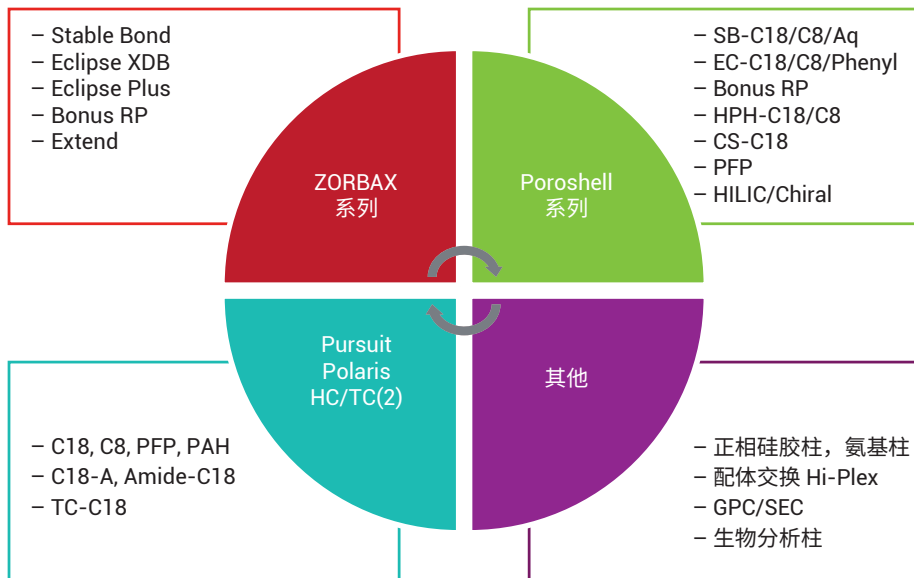


图 4. 安捷伦色谱柱系列

2.1 根据选择性差异选择色谱柱

安捷伦可提供具有不同选择性的色谱柱，帮助客户完成配方颗粒特征图谱/指纹图谱分析的方法开发工作。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 成为最常用的色谱柱。通常采用下表中列出的色谱柱作为色谱柱筛选过程中的色谱柱组合。

表 1. 中药分析常用色谱柱

序号	名称	可选粒径	固定相特点	中药成分
1	Zorbax Plus C18	1.8, 3.5, 5 μm	封端、高密度键合，对碱性化合物有良好峰形（首选）	皂苷、生物碱、黄酮
2	Zorbax SB-C18	1.8, 3.5, 5 μm	不封端，侧链空间保护，低 pH 耐受性，耐水（经典）	皂苷、黄酮、香豆素苷、环烯醚萜苷
3	Zorbax XDB C18	1.8, 3.5, 5 μm	碱性脱活、封端的 C18 柱（经典）	皂苷、生物碱、黄酮
4	Zorbax Extend-C18	1.8, 3.5, 5 μm	双齿键合、封端的 C18 柱，高 pH 耐受性	生物碱、酮、环烯醚萜
5	Zorbax SB-AQ	1.8, 3.5, 5 μm	亲水固定相，氢键、耐水	有机酸、核苷酸
6	Zorbax XDB-Phenyl	1.8, 3.5, 5 μm	封端的苯基柱， π - π 相互作用	有机酸、极性组分
7	Poroshell 120 EC-C18	1.9, 2.7, 4 μm	封端、方法开发首选	生物碱、酮、环烯醚萜
8	Poroshell 120 SB-C18	1.9, 2.7, 4 μm	不封端、C18 侧链保护、低 PH 耐受	皂苷、黄酮、香豆素苷、环烯醚萜苷
9	Poroshell HPH-C18	1.9, 2.7, 4 μm	封端、杂化、高 pH 耐受	皂苷、生物碱、黄酮
10	Poroshell CS-C18	2.7 μm	表面带正电荷、封端、杂化、高低 pH 耐受	生物碱
11	Poroshell 120 HILIC-Z	1.9, 2.7, 4 μm	两性离子固定相，亲水分配和离子间静电作用	强极性组分（单糖和寡糖、有机酸等）
12	TC-C18 或 HC-C18	5 μm	封端、通用固定相	通用
13	Polaris C18-A	3, 5 μm	极性基团封端的 C18 柱	皂苷、核苷酸

2.2 针对极性组分分析的色谱柱选择

2.2.1 反相模式

配方颗粒产品大部分来源于中药饮片的水提物，因此，可检出组分大都为水溶性的或者极性较强，其中典型成分如有机酸、核苷、核苷酸、水溶性维生素、生物碱等。对于极性组分的分析，主要采用耐水性较强的色谱柱。此类色谱柱的优势在于，可以从 100% 水相开始运行梯度，并可提供较强的氢键作用或其他作用力，以实现极性组分的保留。典型的极性组分分析用色谱柱包括 SB-C18、SB-AQ、Polaris C18-A 等。

另外，在某些成分存在分离问题时，还可以选择苯基柱或五氟苯基柱来改善分离和保留特性，典型色谱柱如 SB-Phenyl（不封端的苯基柱）、Plus Phenyl-Hexyl（苯基己基柱）、Poroshell PFP（五氟苯基柱）。

2.2.2 亲水作用色谱 (HILIC) 模式

当强极性成分（例如单糖和寡糖、氨基酸、核苷、生物碱等）无法通过反相模式进行分析时，可选择 HILIC 模式进行检测。例如，在分析配方颗粒中的葡萄糖、果糖、蔗糖（白术配方颗粒）、甜菜碱（枸杞子）等极性较强、无紫外吸收或紫外吸收弱的成分时，可以使用 HILIC 配合蒸发光散射检测器 (ELSD) 来完成特征图谱分析或含量测定。在配方颗粒质量控制方法中，首先推荐采用 Poroshell 系列中的 HILIC-Z 色谱柱。该固定相键合有阴阳两性离子，具有极强的亲水作用和静电作用力。下表列出了常用的 Poroshell HILIC 色谱柱。

表 2. 配方颗粒分析中推荐的 Poroshell 系列 HILIC 色谱柱

序号	名称	规格	部件号	备注
1	Poroshell 120 HILIC-Z	2.1 \times 100 mm, 1.9 μm	685675-924	UHPLC, 两性离子 HILIC
2	Poroshell 120 HILIC-Z	4.6 \times 100 mm, 2.7 μm	685975-924	HPLC, 两性离子 HILIC
3	Poroshell 120 HILIC-Z	4.6 \times 250 mm, 4 μm	680970-924	HPLC, 两性离子 HILIC
4	Amide HILIC (糖谱分析专用柱)	4.6 \times 100 mm, 2.7 μm	685975-913	HPLC, 酰胺键合 HILIC

2.2.3 柱前衍生模式

氨基酸是部分配方颗粒品种中值得关注的成分，其中一些氨基酸是配方颗粒中特有的，另一些则是水解氨基酸（如动物药）。在氨基酸的检测中，除利用 HILIC 模式进行直接分析（配合 ELSD）以外，还可以利用柱前衍生-反相检测模式来实现高灵敏度分析。

安捷伦提供完善的氨基酸自动衍生化在线检测 (AAA) 方案。借助这些 AAA 方案，只需使用一台配备自动进样器的 1260 或 1290 液相色谱系统、一根氨基酸检测专用色谱柱 (Advance Bio AAA) 以及氨基酸对照品和衍生试剂，即可完成高灵敏的氨基酸自动在线衍生-液相色谱分析，操作简单并可避免人工误差。典型的氨基酸分析谱图如下所示。

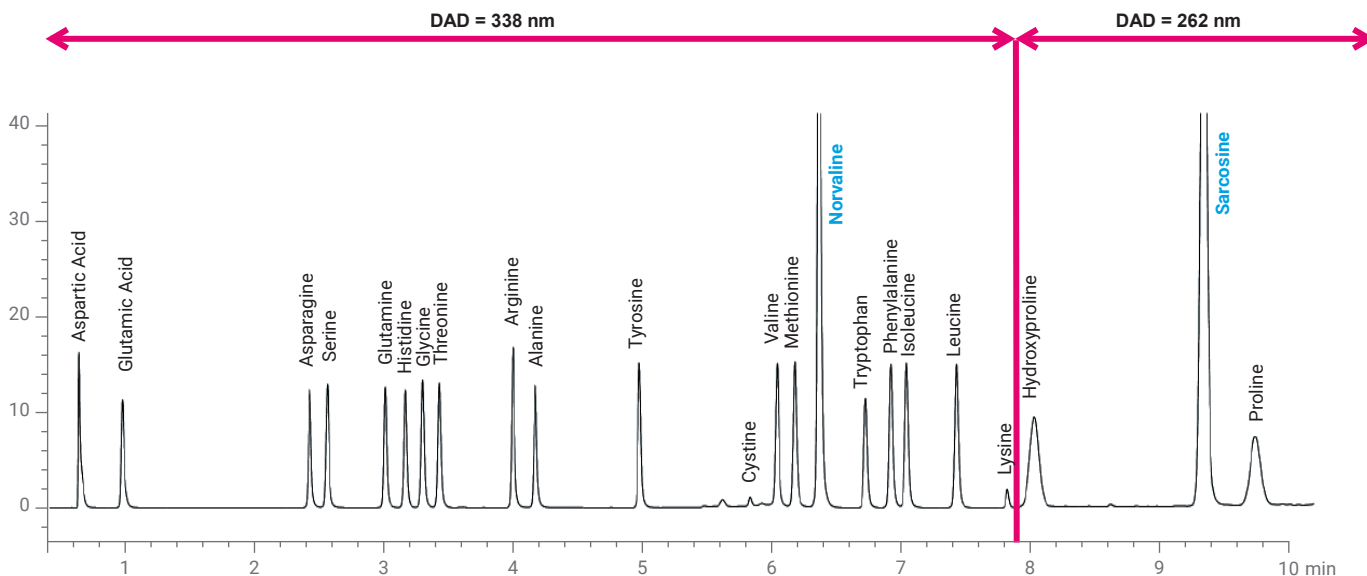


图 5. 23 种常见氨基酸的典型色谱图

2.2.4 关于生物碱的分析

生物碱通常是许多配方颗粒中的特有成分。在反相模式下，某些生物碱存在峰形异常或保留较弱的问题。可优先选择封端色谱柱（例如 ZORBAX Plus-C18、Poroshell EC-C18 或 HPH-C18 等），还可以选择表面带正电荷的 C18 色谱柱（例如 Poroshell CS-C18）来改善峰形。在方法调整过程中，可以考虑在流动相中添加离子对试剂以改善分析物的保留和分离，其中首选的弱离子对试剂或添加剂为三氟乙酸或三乙胺。

2.2.5 色谱柱尺寸、粒径的选择

UHPLC 方法常使用 2.1×100 mm 色谱柱，必要时将柱长增加至 150 mm 以改善柱效和分离度。已颁布的国家标准中使用的超高效色谱柱粒径范围为 1.6–2.7 μm 。可以选择 ZORBAX RRHD 1.8 μm 或 Poroshell 1.9 μm 等亚 2 微米色谱柱，也可以选择 Poroshell 2.7 μm 色谱柱。

对于普通 HPLC 仪器用户，可以采用 4.6×150 mm \times 4 μm 色谱柱来创建快速液相色谱分析方法。另外，Poroshell 2.7 μm 系列色谱柱可获得与亚 2 微米色谱柱相近的 UHPLC 分离效果，反压较 1.8 μm 色谱柱低 40%，并可完成快速 HPLC 方法建立。安捷伦提供的 Poroshell 色谱柱系列涵盖封端和不封端、亲水、耐酸耐碱及表面带正电荷等固定相，如下表所列。

表 3. 快速 HPLC 方法中最常用的 Poroshell 色谱柱

序号	名称	规格	部件号	规格	部件号	备注
1	Poroshell 120 EC-C18		695975-902		693975-902	表面多孔，封端
2	Poroshell 120 SB-C18		685975-902		683975-902	表面多孔，未封端
3	Poroshell 120 SB-Aq	4.6 \times 100 mm, 2.7 μm	685975-914	4.6 \times 150 mm, 2.7 μm	683975-914	表面多孔，未封端
4	Poroshell 120 HPH-C18		695975-702		693975-702	表面多孔，封端/耐碱
5	Poroshell 120 CS-C18		695975-942		693975-942	表面多孔，带正电荷

3. 色谱耗材推荐

配方颗粒样品中，基质和辅料对色谱柱性能和寿命有重要影响。另外，在标准重现时经常遇到溶剂效应问题。在重现配方颗粒标准或建立标准的过程中，为获得更出色的分析效果，并更好地保护色谱柱，延长色谱柱寿命，提高实验室工作效率，推荐将下表中的耗材与色谱柱配合使用。

表 4. 配方颗粒检测中常用的色谱耗材

配方颗粒 相关耗材	HPLC 系统耗材清单		UHPLC 系统耗材清单	
	部件号	描述	部件号	描述
针式过滤器	5191-4295	ValueLab PTFE-Q 针式滤头，13 mm，0.45 μm ，100/包	5191-4294	ValueLab PTFE-Q 针式滤头，13 mm，0.2 μm ，100/包
在线过滤器	5067-1602	用于 UHPLC 在线过滤器，含内径 4.6mm、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
手拧接头	5067-6166	快速连接手拧接头组件，0.17 \times 105 mm	5067-5957	快速连接手拧接头组件，0.12 \times 105 mm
溶剂消除管线	G2260-87301	内径 0.5 mm、长 400 mm 的不锈钢管线	G2258-87301	内径 0.5 mm、长 160 mm 的不锈钢管线
进样瓶	5190-9616	ValueLab 透明螺纹口 2 mL 样品瓶，100/包	5190-9616	ValueLab 透明螺纹口 2 mL 样品瓶，100/包
瓶盖	5190-9024	ValueLab PTFE/硅胶固定隔垫，瓶盖，100/包	5190-9024	ValueLab PTFE/硅胶固定隔垫，瓶盖，100/包

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。

1. 安捷伦中药配方颗粒物质基础研究策略与方案

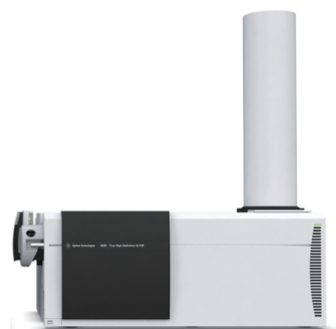
安捷伦为中药配方颗粒物质基础研究提供了全面的产品组合，涵盖从仪器数据采集到多样化数据分析软件和鉴定工具，其中主要包括：

- 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

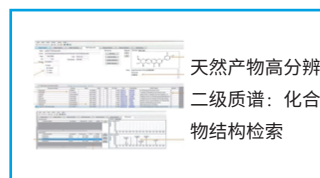
主要成分指认



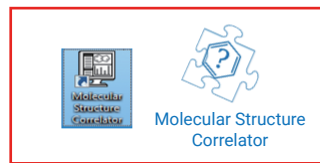
增强分离能力
UHPLC + 1.8 μm 粒径色谱柱



高分辨质谱 (Q-TOF)
物质鉴别



天然产物高分辨
二级质谱：化合
物结构检索



Molecular Structure
Correlator



Compound Discovery Network Connection

未知物：分子式计算、结构碎片归
属、数据库比对、结构碎片的特征
结构类别和群组归属

2. 安捷伦-诗丹德标准天然物高解析质谱资料图谱库

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。安捷伦行业领先的标准天然产物高解析质谱资料图谱库 (Agilent Natural Product Personal compound database and Library, PCDL) 是鉴定中药有效成分强有力的工具。该谱库包含《中国药典》(2015 版) 中收录的标准物质的图谱库。

安捷伦 PCDL 图谱库可提供多种信息：

- 收录超过 1200 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 图谱，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

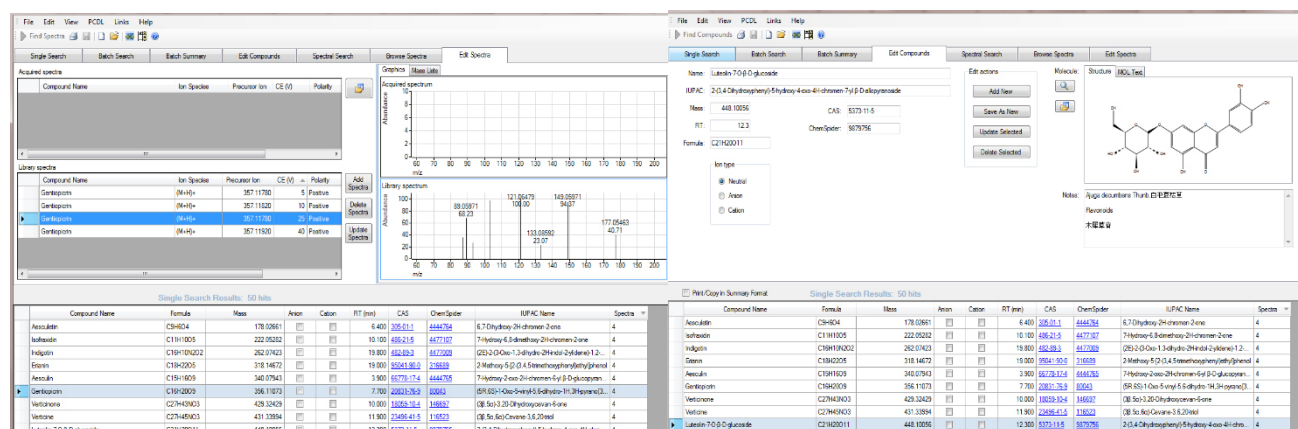


图 1. 安捷伦 PCDL 化合物信息和二级 MS/MS 谱图编辑界面

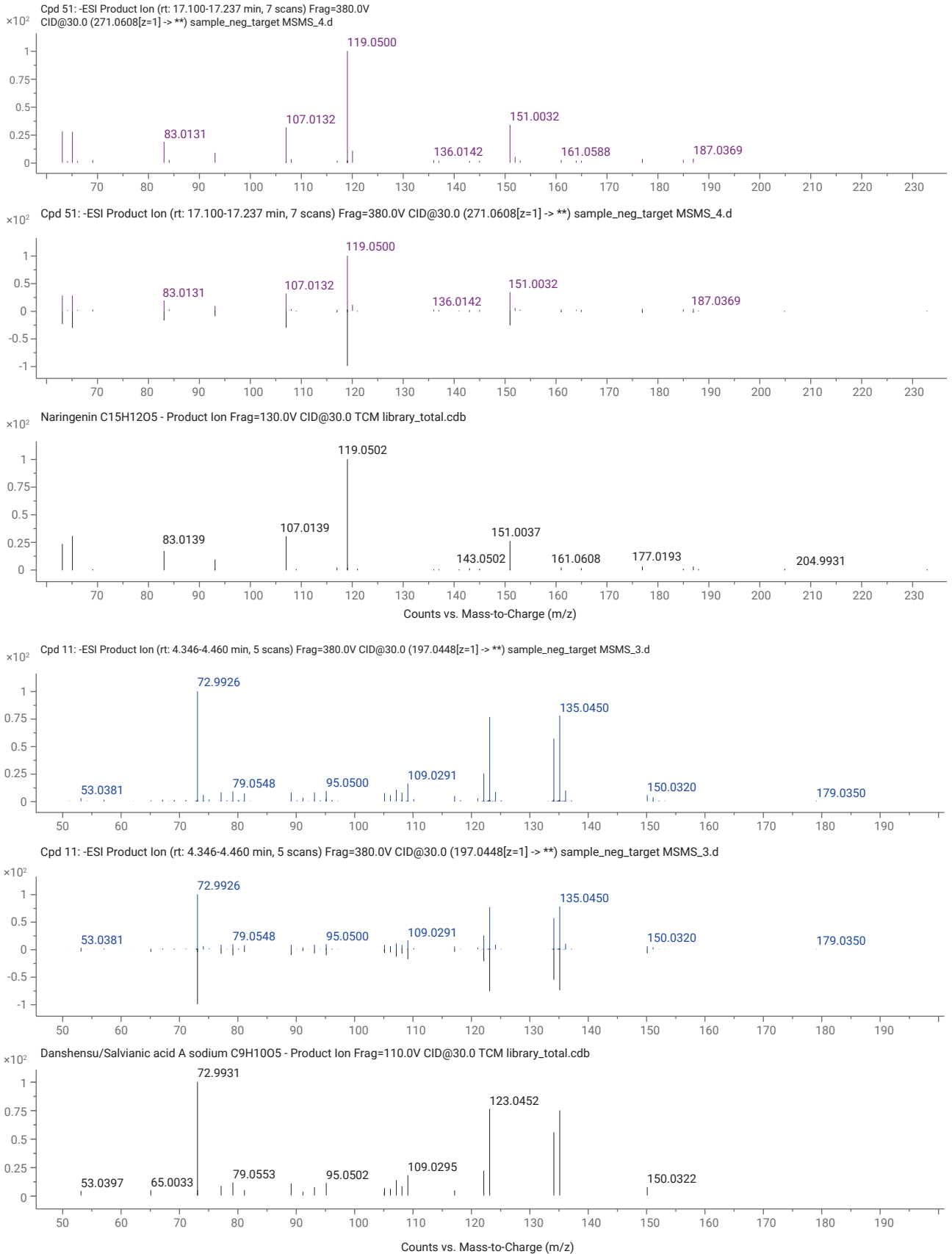


图 2. 柚皮素 (上) 和丹参素 (下) MS/MS 谱图比对结果

3. 案例：利用安捷伦 UHPLC-QTOF 联用系统分析皂角刺中药配方颗粒

皂角刺，为豆科植物皂荚 (*Gleditsia sinensis* Lam.) 的干燥棘刺，分布广泛。其具有消肿托毒、排脓、杀虫之功效，常用于痈疽初起或脓成不溃；外治疥癣麻风。皂角刺物质基础研究相对薄弱，2020 版《中国药典》皂角刺品种下未收载特征图谱和含量测定项。在本实验中，在皂角刺中药配方颗粒的标准汤剂经适当的样品前处理后，利用 UHPLC-QTOF 对其进行分析，并通过数据库比对和 Sirius 平台对数据进行分析，初步鉴定出 34 种化合物，且部分化合物的保留时间经标准品确认。

表 5. 鉴定的天然产物表格

No	RT (XDB)	ESI (+)	ESI (-)	Formula	Name	RT 确认	No	RT (XDB)	ESI (+)	ESI (-)	Formula	Name	RT 确认
1	2.3		153.0193	C7H6O4	原儿茶酸	√	18	11.0	193.0495	191.035	C10H8O4	东莨菪内酯	√
2		333.118		C14H20O9	Leonuriside A		19	15.0		609.1461	C27H30O16	芦丁	√
3	2.0		329.0878	C14H18O9			20	14.5		431.0984	C21H20O10	牡荆素	√
4	2.7		353.0878	C16H18O9	1-咖啡酰奎宁酸		21	15.3		577.1563	C27H30O14	异牡荆素鼠李糖苷	
5	4.5		353.0878	C16H18O9	绿原酸	√	22	14.9		577.1563	C27H30O14	牡荆素鼠李糖苷	√
6	2.6		359.0984	C15H20O10	丁香酸葡萄糖苷		23	14.4		449.1089	C21H22O11	芒花苷	
7	5.1		289.0718	C15H14O6	儿茶素类似物		24	13.1	305.0656	303.051	C15H12O7	花旗松素	√
8	3.5		327.0722	C14H16O9			25	15.8		447.0933	C21H20O11	木犀草苷	√
9	5.2		353.0878	C16H18O9	4-咖啡酰奎宁酸		26	14.4	305.0656	303.051	C15H12O7	花旗松素异构体	
10	5.3		167.035	C8H8O4	香草酸异构体		27	18.1		579.2083	C28H36O13	无梗五加苷 B	
11	5.7		179.035	C9H8O4	咖啡酸	√	28	15.1		581.224	C28H38O13	木莲苷 E	
12	5.7		121.0295	C7HBO2	对羟基苯甲醛	√	29	17.2		287.0561	C15H12O6	二氢山奈素	
13	8.2	291.0863	289.0718	C15H14O6	表儿茶素	√	30	19.1		361.1651	C20H26O6	开环异落叶松素	
14	12.3		447.0933	C21H20O11	异荭草苷	√	31	20.6		287.0561	C15H12O6	圣草酚	√
15	10.5		287.0561	C15H12O6	黄酮木素		32	21.4	303.0499	301.0354	C15H10O7	槲皮素	√
16	12.6		447.0933	C21H20O11	荭草苷	√	33	23.3		481.114	C25H22O10	水飞蓟宾	√
17	14.1	743.2757		C34H46O18	刺五加苷 E	√	34	23.4		481.114	C25H22O10	水飞蓟宾异构体	√

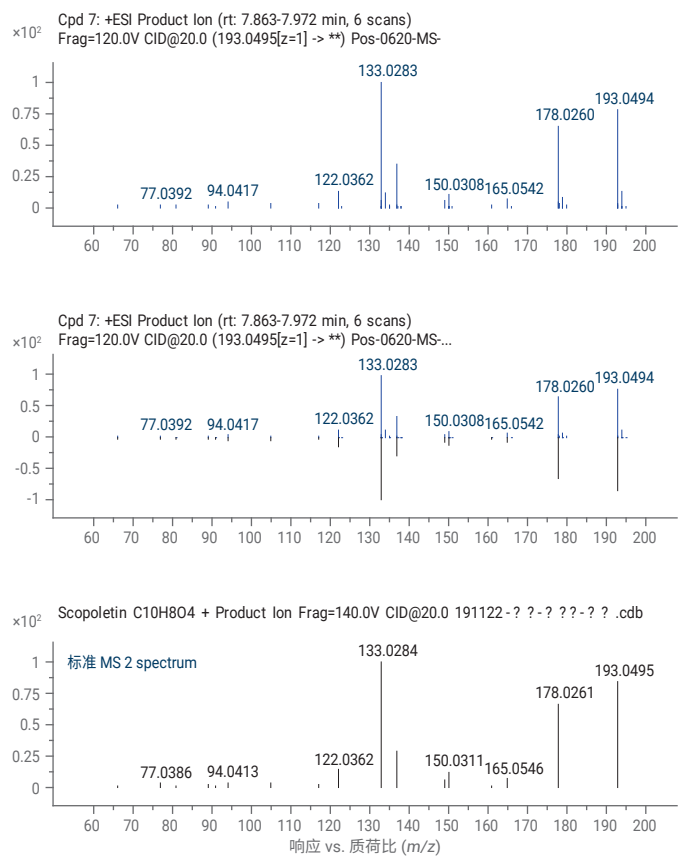
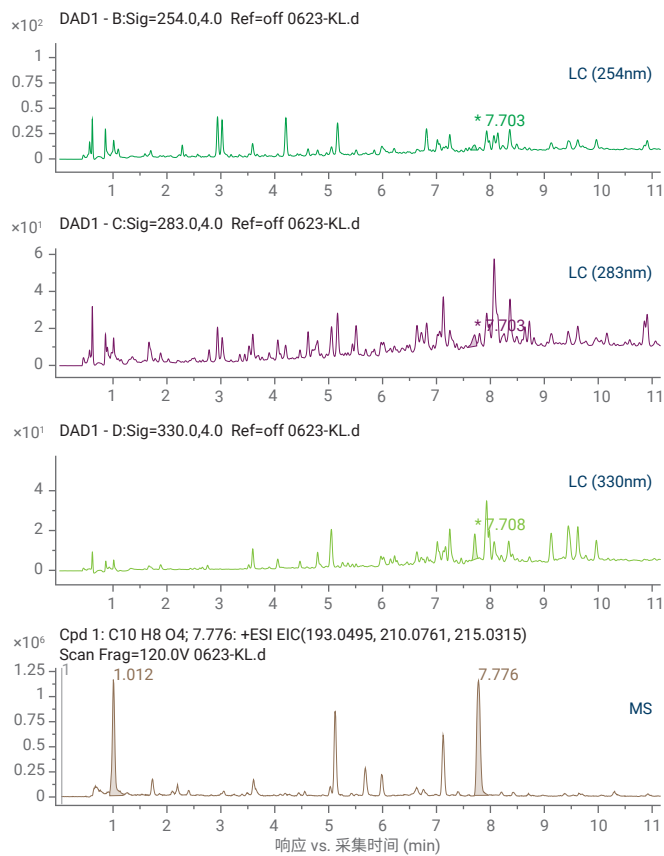


图 3. 皂角刺 UHPLC 分离谱图及东莨菪内酯 MS/MS 鉴定结果 (数据库)

标准重现部分

特征图谱分析

在已经正式发布的 160 项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。（原注：可以将这 4 个点设计成图片方式，不一定要文字表述）

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。

1. 色谱柱选择

1.1 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 47 个品种使用安捷伦色谱柱，且未封端、侧立基团保护的 ZORBAX Stable Bond 系列色谱柱的应用最为广泛，另有 17 个品种使用了 SB 系列色谱柱（包含 12 种 UHPLC 方法和 5 种 HPLC 方法）。详见下表。

表 1. 配方颗粒国家标准中使用的 ZORBAX SB 系列色谱柱

品种名称	检测成分	梯度类型	检测条件	部件号	色谱柱类型
1 白芷	白芷对照药材；欧前胡素、异欧前胡素	二元梯度	300 nm	858700-902	ZORBAX SB C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
2 车前草 (车前)	车前草对照药材；车前草苷	二元梯度	330 nm	858700-902	ZORBAX SB C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
3 大青叶	大青叶对照药材；尿苷、次黄嘌呤、腺苷、鸟苷	二元梯度	260 nm	880975-914	ZORBAX SB-Aq, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
4 麸炒枳壳	枳壳对照药材；柚皮苷、新橙皮苷	二元梯度	283 nm	858700-902	ZORBAX SB C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
5 金银花	金银花对照药材；绿原酸、木犀草苷、芦丁	二元梯度	350 nm	880975-902	ZORBAX SB C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
6 蜜旋覆花 (旋覆花)	旋覆花对照药材；绿原酸、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	二元梯度	327 nm	858700-902	ZORBAX SB C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
7 蜜紫菀	紫菀对照药材；绿原酸、1,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	二元梯度	327 nm	858700-914	ZORBAX SB-Aq, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
8 墨旱莲	墨旱莲对照药材； 蟛蜞菊内酯对照品、4,5-二-O-咖啡酰基奎宁酸	二元梯度	330 nm	858700-902	ZORBAX SB C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
9 前胡	前胡对照药材；白花前胡甲素	二元梯度	321 nm	880975-902	ZORBAX SB C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
10 升麻 (大三叶升麻)	升麻对照药材；咖啡酸、异阿魏酸、阿魏酸	二元梯度	320 nm	858700-902	ZORBAX SB C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
11 烫骨碎补	烫骨碎补对照饮片；原儿茶酸、柚皮苷	二元梯度	260 nm	880975-902	ZORBAX SB C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
12 土茯苓	土茯苓对照药材；落新妇苷、黄杞苷	二元梯度	291 nm	858700-902	ZORBAX SB C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
13 旋覆花 (旋覆花)	旋覆花对照药材；3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	二元梯度	230 nm	858700-902	ZORBAX SB C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
14 泽兰	泽兰对照药材；迷迭香酸、咖啡酸	二元梯度	330 nm	858700-902	ZORBAX SB C18, 150 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
15 枳壳	枳壳对照药材；柚皮苷、新橙皮苷	二元梯度	283 nm	858700-902	ZORBAX SB C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
16 炙甘草 (胀果甘草)	甘草对照药材；甘草苷、甘草酸铵	二元梯度	265 nm	883975-902	ZORBAX SB C18, 150 mm × 4.6 mm, 5 μm
17 紫菀	紫菀对照药材；绿原酸、1,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	二元梯度	327 nm	858700-914	ZORBAX SB-Aq C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm

封端的 ZORBAX 系列色谱柱在中药配方颗粒标准中也得到大量应用，详见下表。

表 2. 配方颗粒国家标准中使用的 ZORBAX Plus/XDB/Extend C18 系列色谱柱

品种名称	检测成分	梯度类型	检测条件	部件号	色谱柱类型
1 炒王不留行	王不留行对照药材； 王不留行黄酮苷	二元梯度	270 nm	990967-902	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
2 龙胆	龙胆对照药材；马钱苷酸、 獐牙菜苦苷、龙胆苦苷	二元梯度	240 nm	990967-902	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
3 蒲公英 (碱地蒲公英)	蒲公英对照药材；咖啡酸、 单咖啡酰酒石酸、菊苣酸	二元梯度	323 nm	990967-902	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
4 王不留行	王不留行对照药材； 王不留行黄酮苷	二元梯度	270 nm	990967-902	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
5 紫苏子	紫苏子对照药材；迷迭香酸	二元梯度	284 nm	990967-902	ZORBAX Eclipse XDB C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
6 补骨脂	补骨脂素	二元梯度	246 nm	959758-902	ZORBAX Eclipse Plus C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
7 防己	防己对照药材；防己诺林碱	二元梯度	282 nm	959990-902	ZORBAX Eclipse Plus C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
8 盐补骨脂	补骨脂素	二元梯度	246 nm	959758-902	ZORBAX Eclipse Plus C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
9 独活	独活对照药材； 蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯	二元梯度	330 nm	758700-902	Extend C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm

另外，TC 系列色谱柱在中药分析中以得到广泛应用。在已公布的配方颗粒国家标准中，有 16 个品种采用了该系列色谱柱。详见下表。

表 3. 配方颗粒国家标准中使用到的 TC-C18 和 TC(2)-C18 系列色谱柱

品种名称	检测成分	梯度类型	检测条件	部件号	色谱柱类型
1 白鲜皮	白鲜皮对照药材； 栲酮品、黄酮、白鲜碱、柠檬苦素	二元梯度	230 nm	518925-902	TC C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
2 板蓝根	板蓝根对照药材；鸟苷	二元梯度	245 nm	588925-902	TC (2) C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
3 蟠桃仁	蟠桃仁对照饮片；苦杏仁苷	二元梯度	214 nm	588925-902	TC (2) C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
4 炒莱菔子	莱菔子对照药材；芥子碱以芥子碱硫酸盐	二元梯度	225 nm	518925-902	TC C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
5 炒桃仁	炒桃仁对照饮片；苦杏仁苷	二元梯度	214 nm	588925-902	TC (2) C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
6 炒栀子	栀子对照药材；栀子苷	二元梯度	238 nm; 440 nm	588925-902	TC (2) C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
7 川射干	川射干对照药材；射干苷	二元梯度	265 nm	518925-902	TC C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
8 粉葛	粉葛对照药材；大豆苷	二元梯度	250 nm	518925-902	TC C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
9 焦栀子	栀子饮片；栀子苷	二元梯度	238 nm; 440 nm	588925-902	TC (2) C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
10 酒丹参	丹参对照药材；丹酚酸 B	二元梯度	286 nm	518925-902	TC C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
11 莱菔子	莱菔子对照药材；芥子碱以芥子碱硫酸盐	二元梯度	225 nm	518925-902	TC C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
12 蜜桑白皮	桑白皮饮片；取桑皮苷 A、桑黄酮 G	二元梯度	280 nm	518925-902	TC C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
13 桑白皮	桑白皮饮片；取桑皮苷 A、桑黄酮 G	二元梯度	280 nm	518925-902	TC C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
14 桑枝	桑枝对照药材；桑皮苷 A	二元梯度	320 nm	588925-902	TC (2) C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
15 桃仁(桃)	桃仁对照药材；苦杏仁苷	二元梯度	214 nm	518925-902	TC C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
16 栀子	栀子对照药材；栀子苷	二元梯度	238 nm; 440 nm	588925-902	TC (2) C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm

1.2 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。

1.2.1 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信息选择色谱柱以外，建议将下列色谱柱用于 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 4. 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		959758-902		959759-902	全多孔, 封端, 首选
2	ZORBAX RRHD SB-C18	2.1 × 100 mm, 1.8 μm	858700-902	2.1 × 150 mm, 1.8 μm	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		695675-902		693675-902	表面多孔, 封端
5	Poroshell 120 SB-C18	2.1 × 100 mm, 1.9 μm	685675-902	2.1 × 150 mm, 1.9 μm	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。

1.2.2 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 5)。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 5. 最常用的 HPLC 色谱柱

序号	名称	规格	部件号	规格	部件号	备注
1	ZORBAX SB-C18		880975-902		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	4.6 × 250 mm, 5.0 μm	990967-902	4.6 × 150 mm, 3.5 μm	963967-902	全多孔, 封端
4	ZORBAX SB-AQ		880975-914		863953-914	
5	TC-C18		518925-902			全多孔, 封端
6	TC-C18(2)		588925-902			全多孔, 封端
7	Polaris C18-A	4.6 × 250 mm, 5.0 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, 4.0 μm	690970-902	4.6 × 150 mm, 4.0 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

1.2.3 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、RRT、含量检测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检测。在《安捷伦配方颗粒谱图集》中, 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)。

2. 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 UHPLC 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 已经非常成熟并且发展到 4.0 版本。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，可以让企业大大提高标准方法重现的成功率。

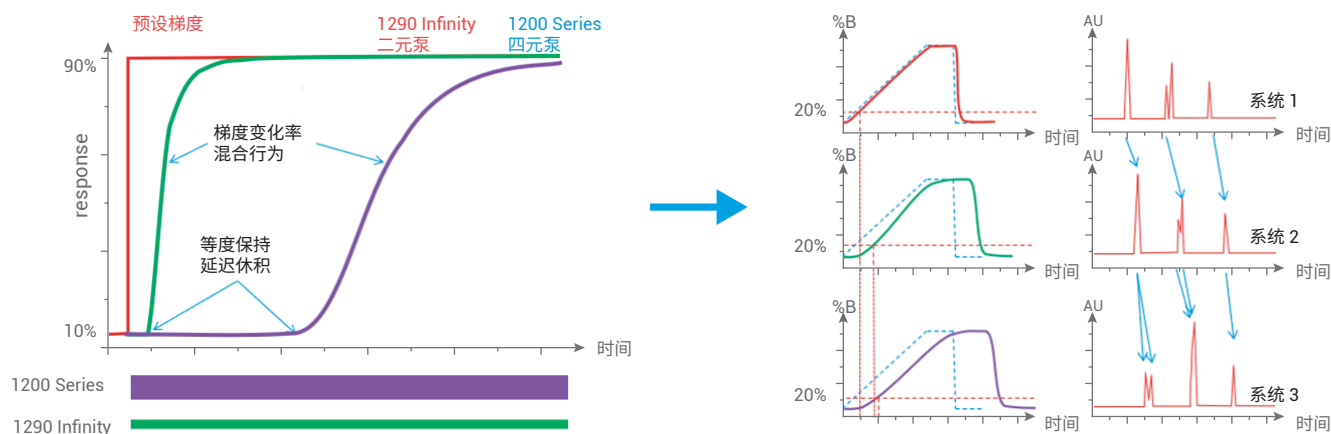


图 1. 具有不同延迟体积和混合方式的系统运行同一方法所得到的不同结果

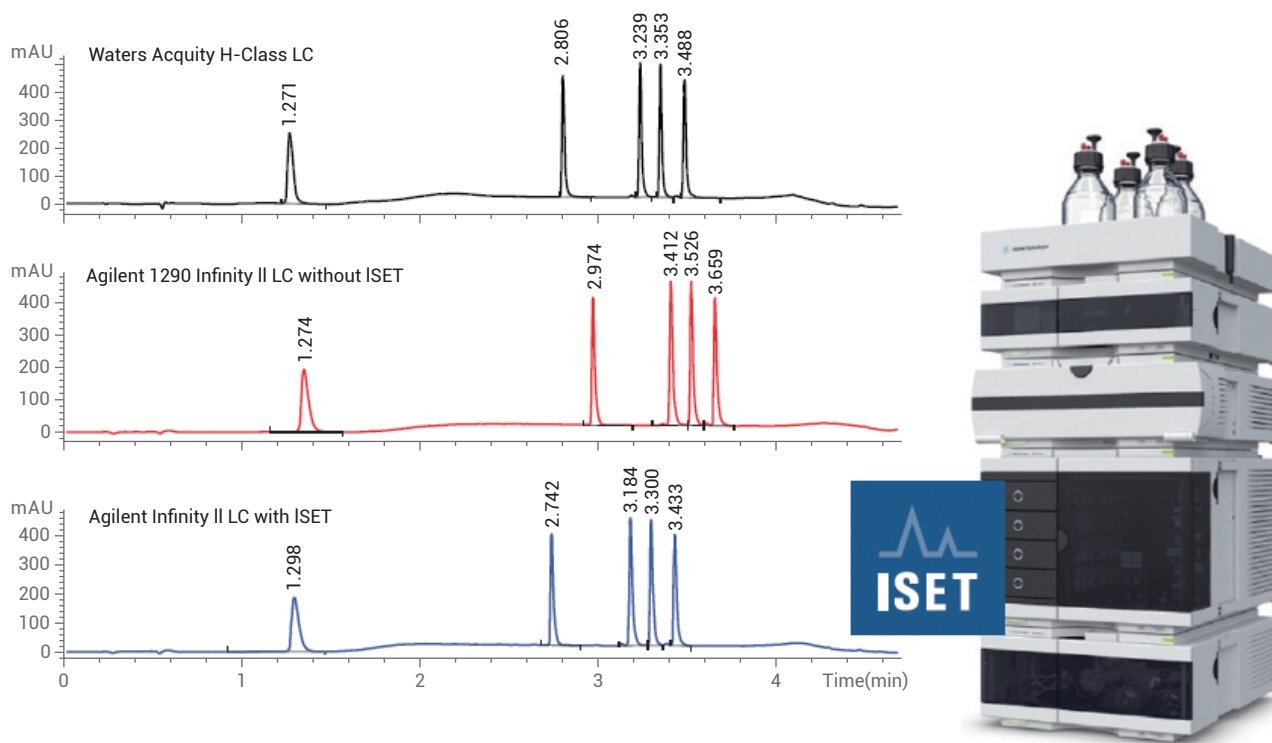
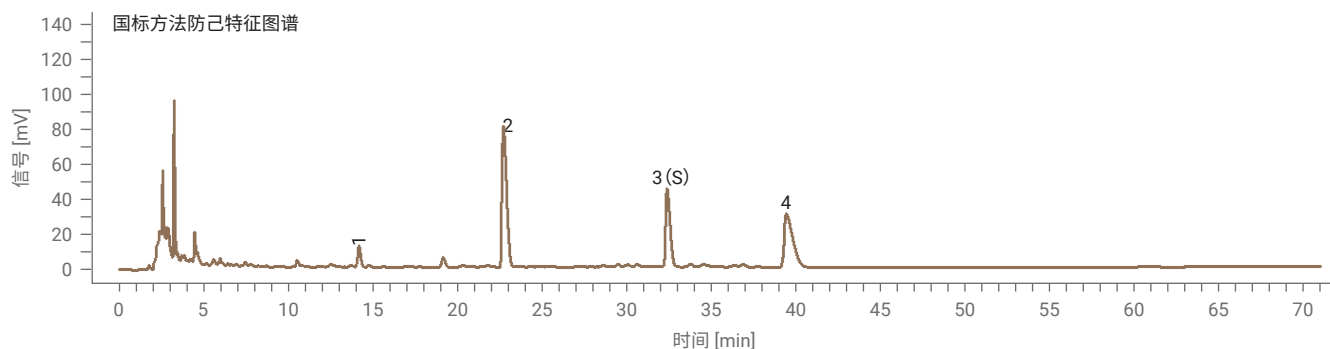


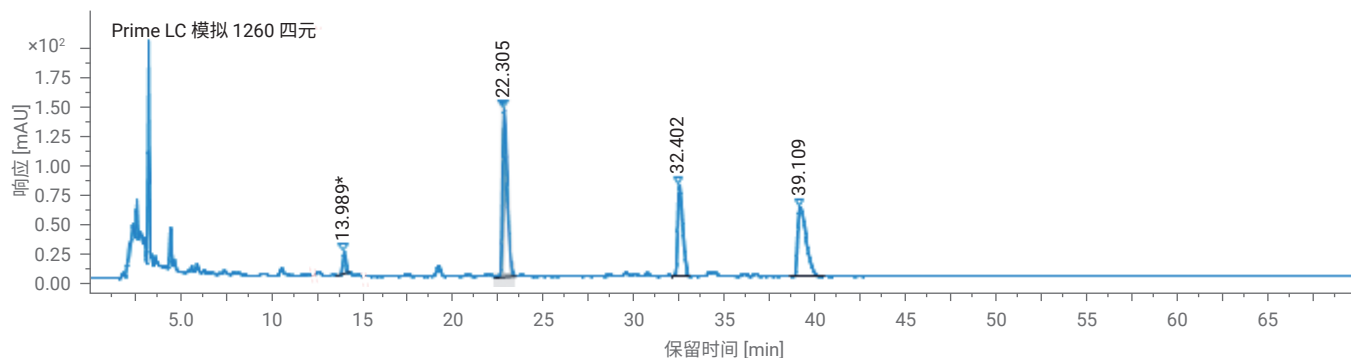
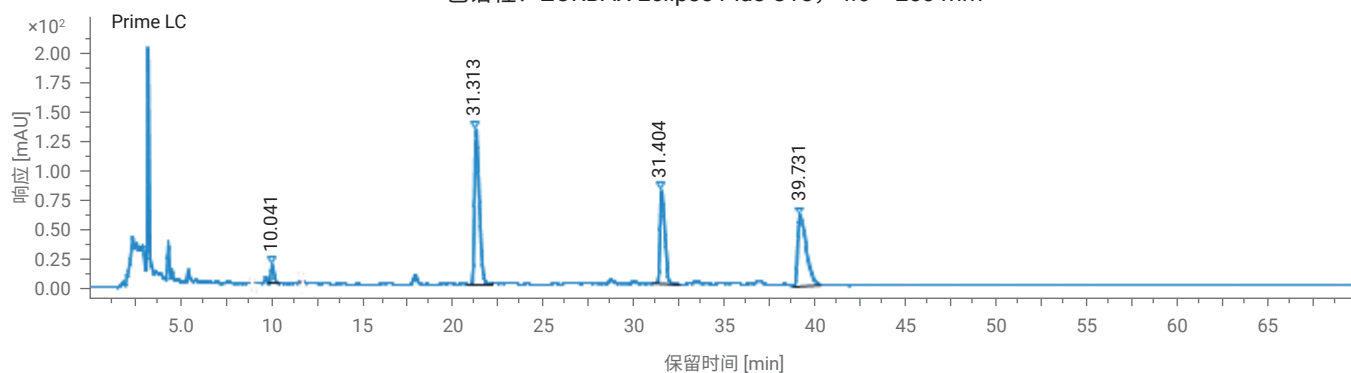
图 2. 1290 四元系统模拟 Waters H-Class 所得到的结果



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	1260Prime		1260Prime 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	—

图 3. 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

3. 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



图 4. 多方法系统用于多种配方颗粒样品的连续不间断运行

4. 专利混合技术保障极端比例和缓梯度方法的重现性

中药配方颗粒是由单味中药饮片经水加热、提取、分离、浓缩、干燥、制粒而成的颗粒，其包含大量极性成分（例如核苷类、氨基酸类等）。利用反相液相色谱方法极难分析这些成分，一方面需要选择合适的色谱柱来增强保留和分离，另一方面需要采用高含量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，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。

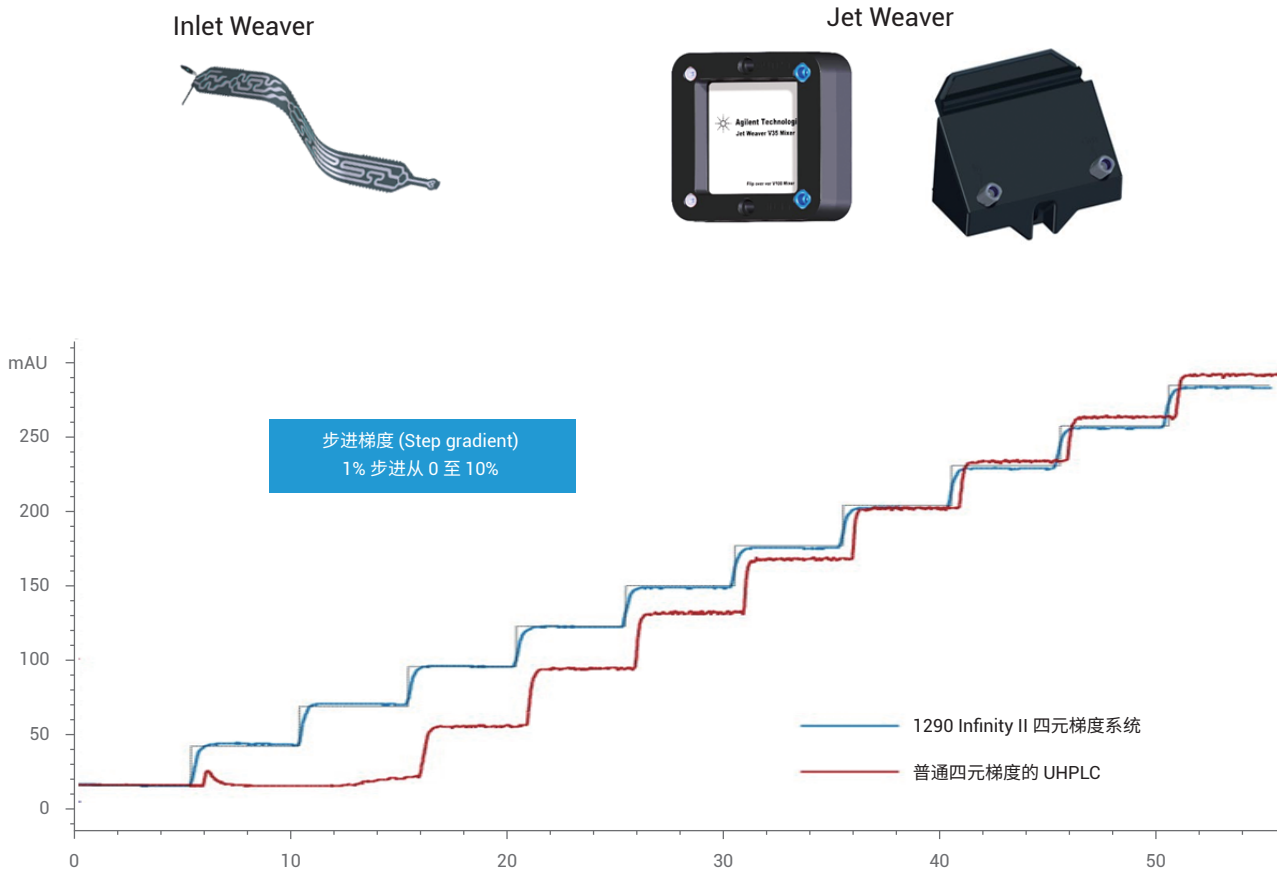


图 5. 1290 Infinity II 液相色谱系统在极端流动相比例下的准确性 (1-10%, 1% 步进变化)

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。理论板数按环磷酸峰计算应不低于 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

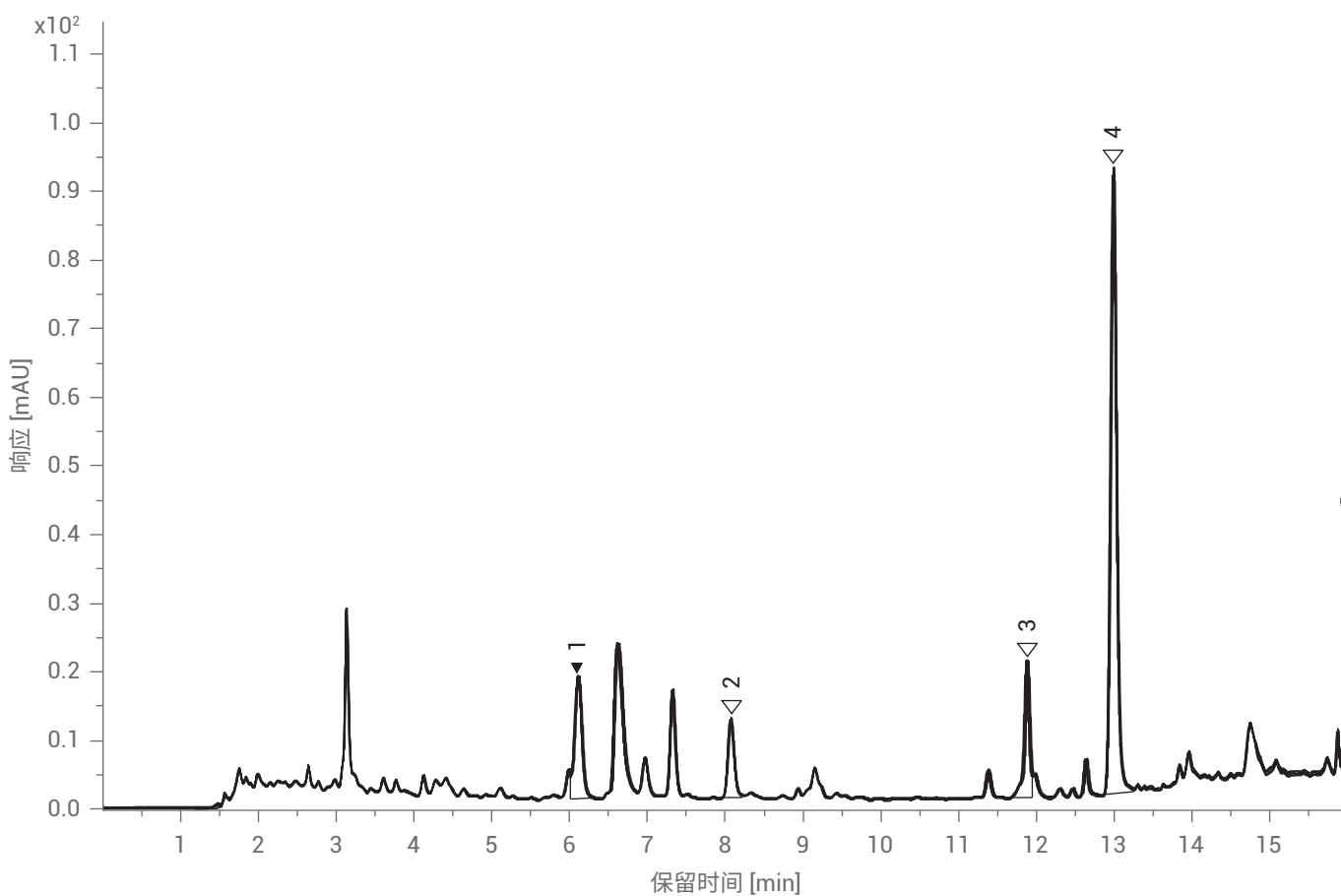


图 6. 大枣配方颗粒供试品连续进样 5 针色谱叠加图

5. 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，而且需要考虑某些特征峰相对于参考峰的百分含量是否合格。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好报告模板，在数据采集完成后即可一键生成报告，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）。



图 7. 白芷配方颗粒特征图谱智能化报告模板

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。

1. 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 50 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 6 倍多。

【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。

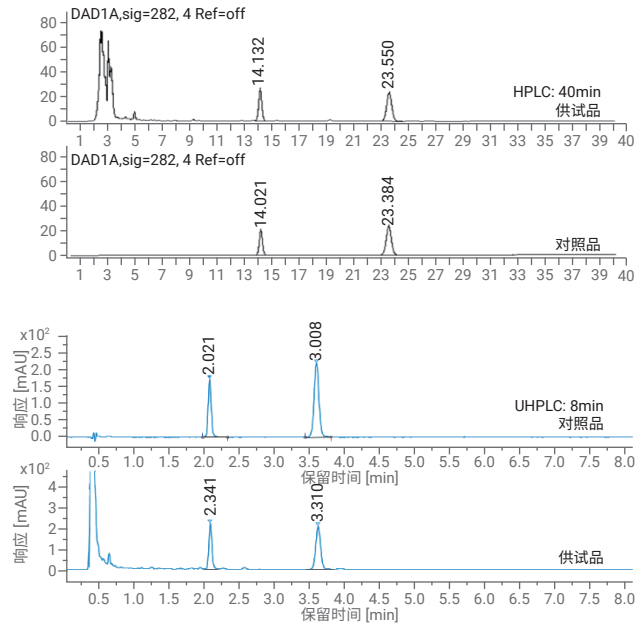
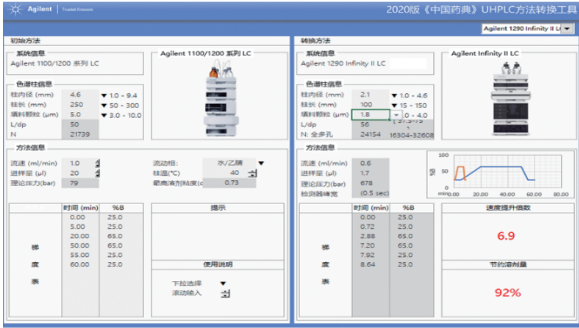


图 8. 在防己配方颗粒含量测定中，根据 2020 版《中国药典》0512 通则要求将 HPLC 方法转换为 UHPLC 方法

2. 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，可轻松实现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) 可在不改变国标色谱条件下满足理论塔板数要求。

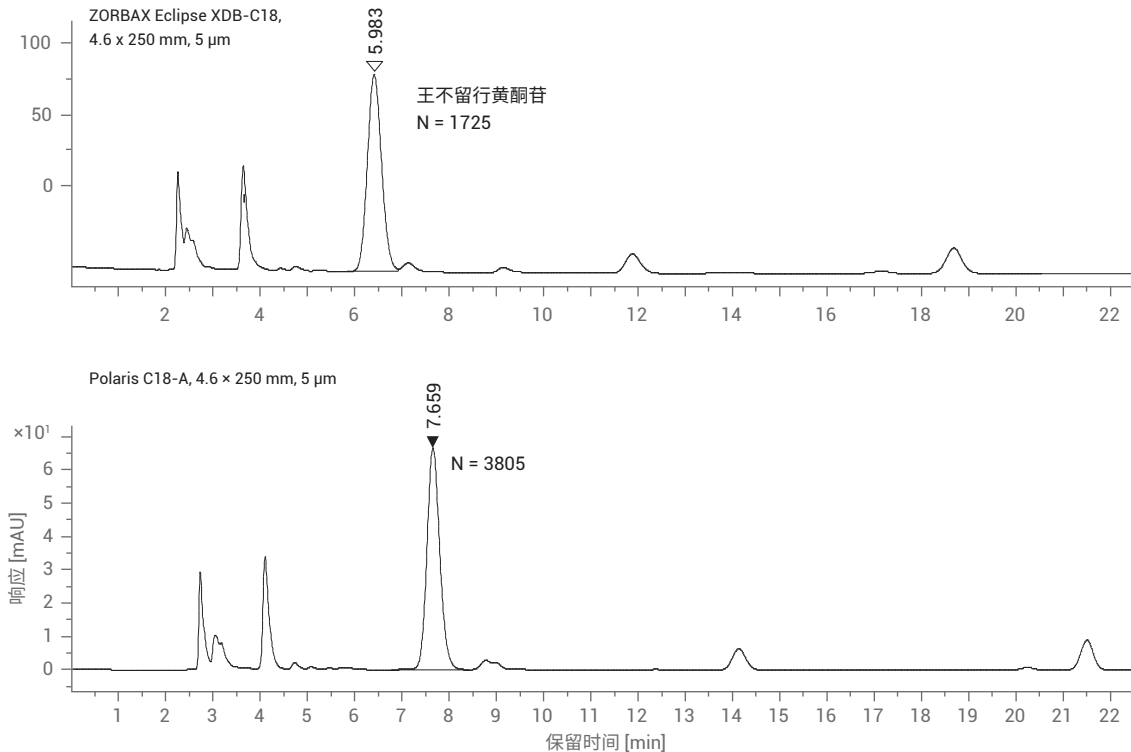


图 9. 王不留行黄酮苷在不同 C18 色谱柱上的保留时间及理论塔板数

3. 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，由于分析物组成性质的差异，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，分别采用 UHPLC-UV 方法测定芒果苷含量和 HPLC-ELSD 方法测定知母皂苷 B II 含量。这两种方法不仅所用检测器类型不同，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，可以在配置 ELSD 和 UV（或 DAD）的 UHPLC 系统上通过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。

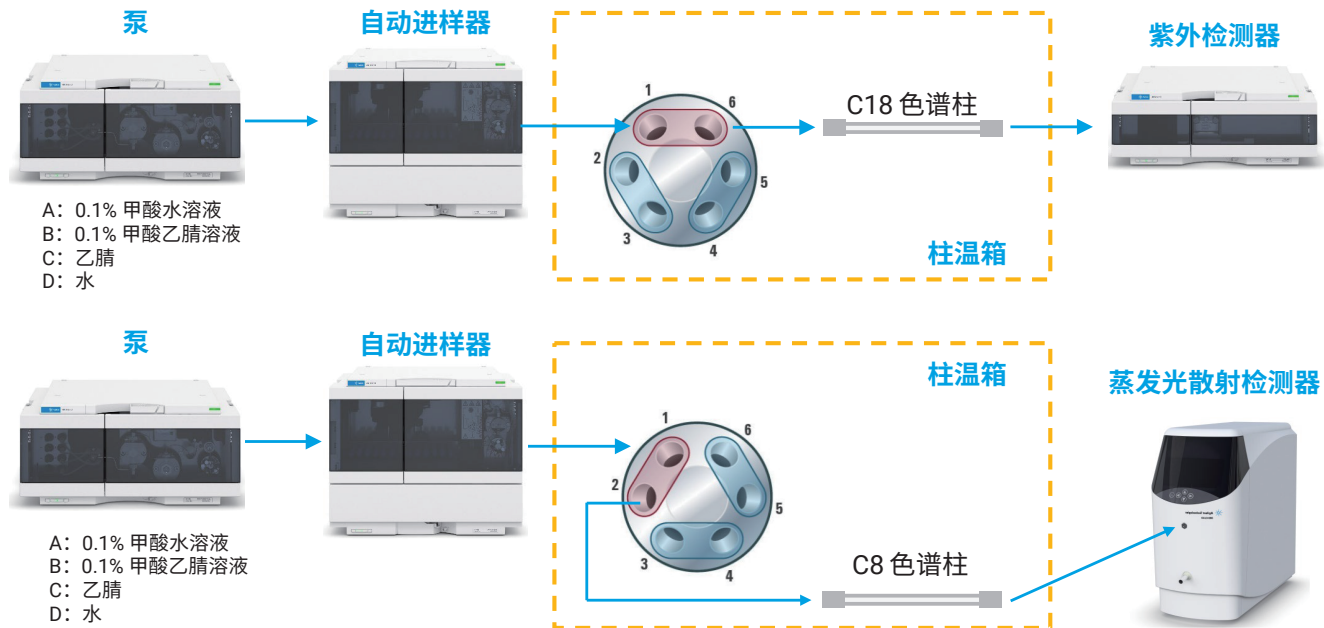


图 10. 柱切换技术方案示意图

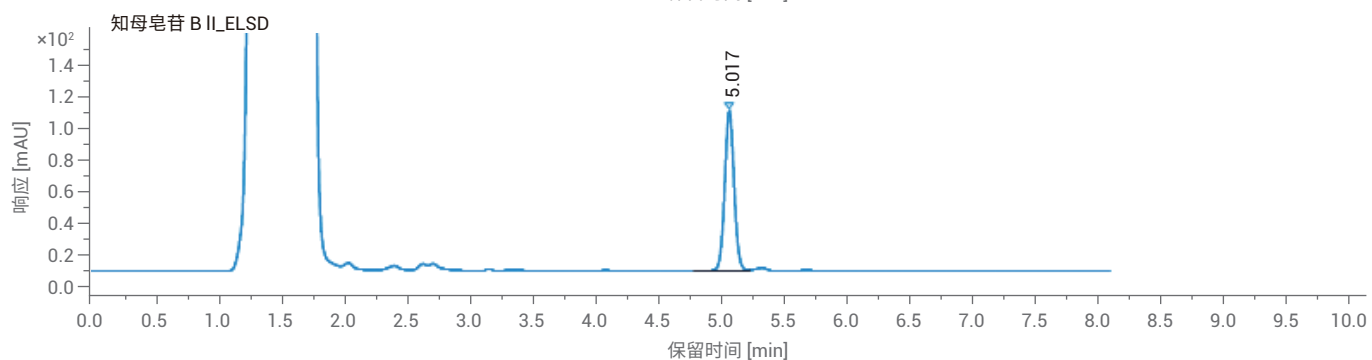
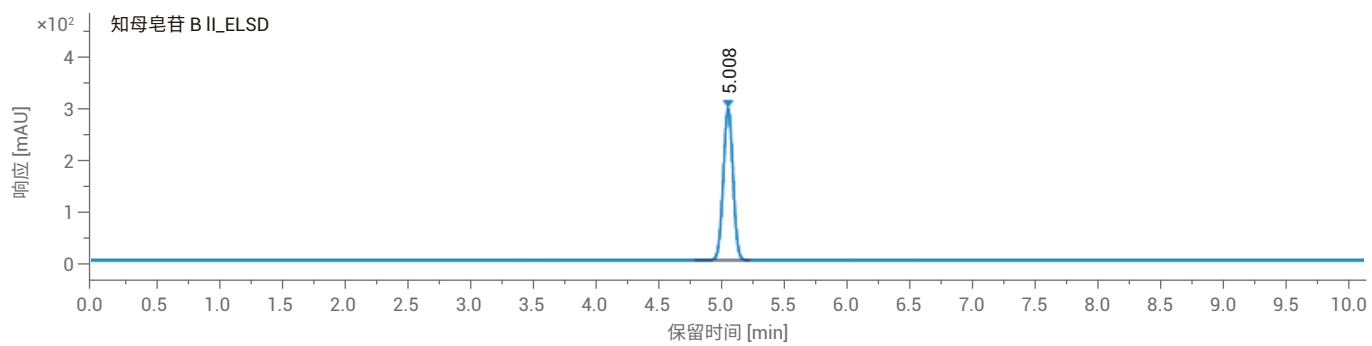
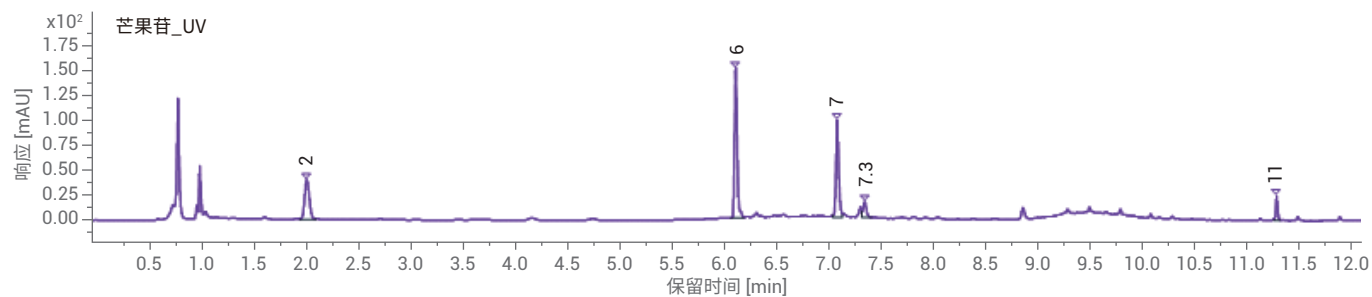
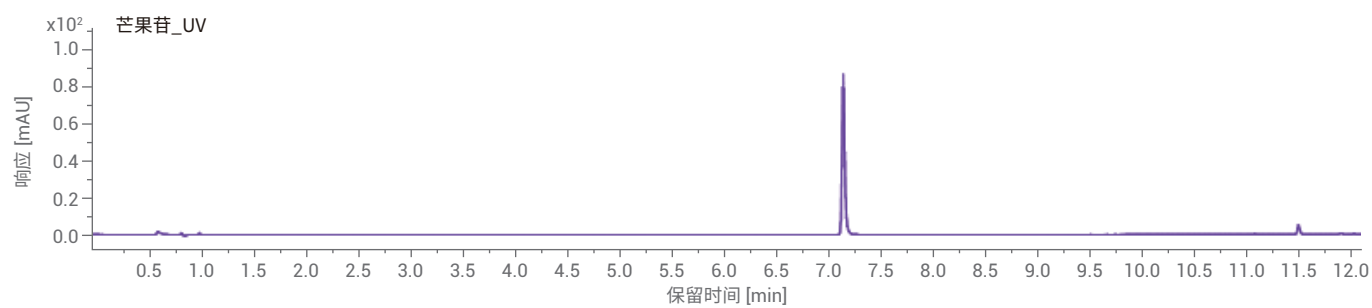


图 11. 使用柱切换方案完成芒果苷 (UV) 和知母皂苷 B II (ELSD) 的连续快速测定

中药配方颗粒中禁用农药及代谢物分析篇



利用安捷伦 LC-MS/MS 分析中药配方颗粒中的 30 种禁用农药及代谢物

利于行业发展，提高中药配方颗粒市场研究。安捷伦参照 2020 版《中国药典》2341 农药残留量测定法第五法《药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法》，建立了基于 Agilent Ultivo LC-MS/MS 三重串联四极杆液质联用仪的检测方法，并利用该检测方法开展了对甘草配方颗粒中 30 种禁用农药及代谢物分析的方法学研究，实现全流程解决方案。

方法学考察结果如下：该方法专属性良好；方法定量限浓度下的定量离子的信噪比为 19-1175；利用基质匹配校准曲线，通过外标法进行定量，所得线性相关系数 R^2 为 0.997-0.999；平行六次加标分析所得到的保留时间和峰面积精密度分别为 0.002%-1.044% 和 0.658%-5.184%，平均加标回收率为 75.068%-101.347%。检测结果表明，该分析方法完全适用于定量分析中药配方颗粒中的 30 种禁用农药及代谢物。最后，利用该分析方法对市场销售的三个不同厂家的黄芪、当归、金银花配方颗粒进行分析，结果表明虽然在当归和金银花配方颗粒中的个别农药有检出，但三种中药配方颗粒中所有目标物的定量结果均符合 2020 版《中国药典》0212 药材和饮片检定通则中规定的要求。

中药配方颗粒新研究

为加强中药材及中药饮片的质量安全，提高中药材及中药饮片的国际竞争力，2020 版《中国药典》四部通则<0212 药材和饮片检定通则>规定了药材及饮片（植物类）中 33 种禁用农药不得检出，并在 2341 农药残留量测定法中新增了“第五法药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法”。同时为了加强中药配方颗粒的管理，规范中药配方颗粒的质量控制与标准研究，国家药监局组织制订了《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》，该技术要求已于 2021 年 1 月 26 日起正式发布实施。这一系列法规与标准的相继颁布实施引起了业内广泛的关注和重视。

由于 2020 版《中国药典》2341 农药残留量测定法第五法仅规定了中药材及中药饮片中禁用农药的检测方法，因此亟待开发中药配方颗粒中的禁用农药检测方法。结合国内前期颁布实施的相关法规和标准，安捷伦组织了对中药配方颗粒中的禁用农药检测方法的前瞻性研究和探讨。采用 Agilent Ultivo LC-MS/MS 三重串联四极杆液质联用仪，参照 2341 农药残留量测定法中第五法的仪器参数及色谱条件，并依照第五法规定的样品前处理方法，建立了中药配方颗粒中 30 种禁用农药残留量的测定方法。该方法具有灵敏度高、精密度和线性良好、定量准确度高等优点，可应用于中药配方颗粒中 30 种禁用农药的检测分析。



图 1. Agilent Ultivo 是世界上首款可堆叠式且体积最小的 LC-MS/MS

LC-MS/MS 方法包

试剂和样品

- 标准品：30 种农药混标溶液（用乙腈配制），购自上海安谱实验科技股份有限公司，保存于设定为 -18°C 的冰箱中备用
- 乙腈：LCMS 级，购自 J.T. Baker 公司，保存于室温下
- 实验用水：Milli-Q 去离子水（ 25°C 下的电阻率 $\geq 18.2\ \text{M}\Omega$ ）
- 甲酸：HPLC 级，购自 Dikma 公司，保存于室温下
- 甲酸铵溶液 (10 mol/L)：用水配制，购自 Sigma-Aldrich 公司，保存于室温下
- Agilent QuEChERS 提取盐包，部件号 5982-5755CH（含有陶瓷均质子）
- Agilent QuEChERS 净化管，部件号 5982-5158

样品前处理

称取相当于 3 g 饮片量的甘草配方颗粒，按照 2020 版《中国药典》四部通则 2341 农药残留量测定法第五法中规定的“快速样品处理法 (QuEChERS) 法”进行样品前处理。具体流程如下：

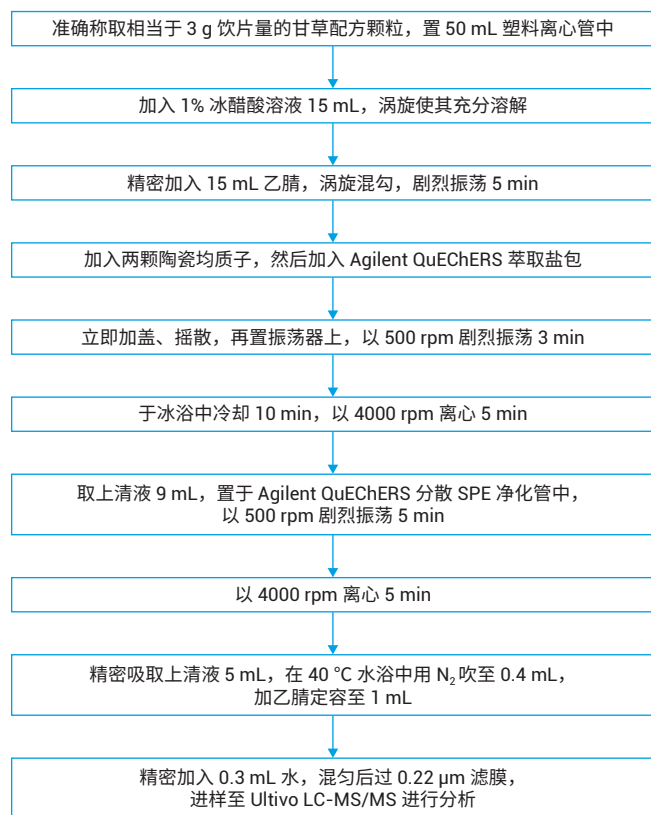


图 2. 样品前处理流程图

表 1. LC-MS/MS 分析方法参数

色谱柱	Agilent Poroshell 120 SB-C18, 2.1 × 100 mm, 2.7 μm (部件号 685775-902)		
进样量	1 μL		
柱温	40°C		
流速	0.3 mL/min		
流动相	A: 水溶液 (含 0.1% 甲酸和 5 mmol/L 甲酸铵), B: 乙腈, B/A = 95/5 (V/V)		
梯度洗脱	时间	% A	% B
	0.0	70	30
	1.0	70	30
	12.0	0	100
	14.0	0	100
平衡时间	3 min		
总运行时间	17 min		
洗针条件	洗针液: 甲醇/乙腈/异丙醇/水 = 1/1/1/1 (V/V/V/V) 洗针时间: 10 s		
离子源参数	干燥气温度: 250 °C		
	干燥气流速: 6 L/min		
	雾化器压力: 45 psi		
	鞘气温度: 350 °C		
	鞘气流速: 11 L/min		
	毛细管电压: 4000 V (正)		
喷嘴电压: 0 V (正)			

LC-MS/MS 分析方法参数以及 MRM 参数和保留时间分别见表 1 和表 2。

表 2. MRM 参数和保留时间

序号	中文名称	英文名	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	极性
1	甲胺磷	Methamidophos	0.9	142	125	10	正
		Methamidophos		142	94	15	正
2	苯线磷	Fenamiphos	6.4	304.1	217.1	17	正
		Fenamiphos		304.1	202	37	正
		Fenamiphos		304.1	234	15	正
3	苯线磷砷	Fenamiphos sulfone	3.8	336	266	20	正
		Fenamiphos sulfone		336	188	30	正
4	苯线磷亚砷	Fenamiphos sulfoxide	2.8	320.1	233	17	正
		Fenamiphos sulfoxide		320.1	292.1	10	正
		Fenamiphos sulfoxide		320.1	171	20	正
5	地虫硫磷	Fonofos	8.5	247.1	137	9	正
		Fonofos		247.1	108.9	17	正
6	治螟磷	Sulfotep	8.6	323	171.2	8	正
		Sulfotep		323	114.9	28	正
		Sulfotep		323	96.8	40	正
7	克百威	Carbofuran	4	222.1	165	5	正
		Carbofuran		222.1	123.1	17	正
8	3-羟基克百威	3-Hydroxy Carbofuran	1.6	238.1	220	5	正
		3-Hydroxy Carbofuran		238.1	181.1	5	正
		3-Hydroxy Carbofuran		238.1	163.1	9	正
9	胺苯磺隆	Ethametsulfuron-methyl	4.5	411.1	196	13	正
		Ethametsulfuron-methyl		411.1	168.1	24	正
10	甲磺隆	Metsulfuron-methyl	3.8	382	199	18	正
		Metsulfuron-methyl		382	167	17	正
11	氯磺隆	Chlorsulfuron	4.2	358	167	16	正
		Chlorsulfuron		358	141	20	正
12	硫线磷	Cadusafos	8.3	271	159	10	正
		Cadusafos		271	131	21	正
		Cadusafos		271	97	30	正
13	氯唑磷	Isazofos	7.7	314	162.2	17	正
		Isazofos		314	120	21	正
14	甲拌磷	Phorate	8.7	261	75	10	正
		Phorate		261	47	49	正
15	甲拌磷亚砷	Phorate sulfoxide	4.4	277	199	9	正
		Phorate sulfoxide		277	171	13	正
		Phorate sulfoxide		277	142.9	21	正
		Phorate sulfoxide		277	96.9	32	正

序号	中文名称	英文名	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	极性
16	甲拌磷砷	Phorate sulfone	5.8	293	171	9	正
		Phorate sulfone		293	115.1	25	正
		Phorate sulfone		293	247.1	10	正
17	蝇毒磷	Co μ maphos	8.5	363.1	307	12	正
		Co μ maphos		363.1	227	24	正
18	硫环磷	Phosfolan	2.2	256.1	167.9	17	正
		Phosfolan		256.1	139.9	29	正
19	磷胺	Phosphamidon	2.8	300	174	10	正
		Phosphamidon		300	127	25	正
20	涕灭威	Aldicarb	2.9	208	116	1	正
		Aldicarb		208	89	9	正
		Aldicarb		213.1	89	9	正
		Aldicarb		213.1	116	1	正
21	涕灭威砷	Aldicarb sulfone	1.1	223	76	5	正
		Aldicarb-Sulfone		223	86	10	正
		Aldicarb-Sulfone		240	223	1	正
		Aldicarb-Sulfone		240	86	10	正
22	涕灭威亚砷	Aldicarb sulfoxide	0.9	207	132.1	1	正
		Aldicarb sulfoxide		207	89.1	9	正
23	久效磷	Monocrotophos	1	224	193	5	正
		Monocrotophos		224	127	20	正
24	内吸磷	Demeton-O+S	5.3	259	89	10	正
		Demeton-O+S		259	61	30	正
25	灭线磷	Ethoprophos	6.7	243.1	130.9	21	正
		Ethoprophos		243.1	96.9	36	正
26	特丁硫磷砷	Terbufos sulfone	6.8	321	171	9	正
		Terbufos sulfone		321	96.9	40	正
27	特丁硫磷亚砷	Terbufos sulfoxide	5.7	305	187	9	正
		Terbufos sulfoxide		305	96.9	45	正
28	水胺硫磷	Isocarbophos	5.8	312	270	9	正
		Isocarbophos		312	236	9	正
		Isocarbophos		231*	121	20	正
		Isocarbophos		231	137	14	正
29	杀虫脒	Chlordimeform	1.5	197.1	152	20	正
		Chlordimeform		197.1	117	24	正
		Chlordimeform		197.1	46.1	16	正
30	甲基异柳磷	Isofenphos-methyl	8.4	332	273	1	正
		Isofenphos-methyl		332	231	3	正

* 231 为水胺硫磷源内裂解产生的特征碎片

空白基质匹配校准标样的配制

取甘草配方颗粒的空白基质样品，按照上文所述的样品前处理流程制备甘草配方颗粒的空白基质溶液，然后根据 2020 版《中国药典》四部通则 2341 农药残留量测定法第五法中规定的“基质混合对照溶液的制备”方法，配制甘草配方颗粒的空白基质匹配校准标样。其中校准标样的“浓度 4”对应于 0212 检定通则中规定的定量限浓度。本分析方法的定量限浓度“浓度 1”基本上为 0212 检定通则中规定的定量限的 1/10（见表 3）。

表 3. 空白基质匹配校准曲线溶液浓度

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	0212 检定通则规定定量限 (mg/kg)	空白基质匹配校准曲线溶液浓度 (µg/L)					
					浓度 1	浓度 2	浓度 3	浓度 4	浓度 5	浓度 6
1	甲胺磷	Methamidophos	10265-92-6	0.05	5	10	25	50	75	100
2	久效磷	Monocrotophos	6923-22-4	0.03	3	6	15	30	45	60
3	磷胺	Phosphamidon	13171-21-6	0.05	5	10	25	50	75	100
4	杀虫脒	Chlordimeform	6164-98-3	0.02	2	4	10	20	30	40
5	苯线磷	Fenamiphos	22224-92-6		2	4	10	20	30	40
6	苯线磷砒	Fenamiphos sulfone	31972-44-8	0.02	2	4	10	20	30	40
7	苯线磷亚砒	Fenamiphos-sulfoxide	31972-43-7		2	4	10	20	30	40
8	地虫硫磷	Fonofos	944-22-9	0.02	2	4	10	20	30	40
9	硫线磷	Cadusafos	95465-99-9	0.02	2	4	10	20	30	40
10	蝇毒磷	Co µmaphos	56-72-4	0.05	5	10	25	50	75	100
11	治螟磷	Sulfotep	3689-24-5	0.02	2	4	10	20	30	40
12	特丁硫磷砒	Terbufos sulfone	56070-16-7	0.02	2	4	10	20	30	40
13	特丁硫磷亚砒	Terbufos sulfoxide	10548-10-4	(包括特丁硫磷在内)	2	4	10	20	30	40
14	氯磺隆	Chlorsulfuron	64902-72-3	0.05	5	10	25	50	75	100
15	胺苯磺隆	Ethametsulfuron-methyl	97780-06-8	0.05	5	10	25	50	75	100
16	甲磺隆	Metsulfuron methyl	74223-64-6	0.05	5	10	25	50	75	100
17	甲拌磷	Phorate	298-02-2		2	4	10	20	30	40
18	甲拌磷砒	Phorate sulfone	2588-04-7	0.02	2	4	10	20	30	40
19	甲拌磷亚砒	Phorate Sulfoxide	2588-03-6		2	4	10	20	30	40
20	甲基异柳磷	Isofenphos-methyl	99675-03-3	0.02	2	4	10	20	30	40
21	内吸磷-O+S	Demeton-O+S	298-03-3 & 126-75-0	0.02	2	4	10	20	30	40
22	克百威	Carbofuran	1563-66-2		5	10	25	50	75	100
23	3-羟基克百威	3-Hydroxy Carbofuran	16655-82-6	0.05	5	10	25	50	75	100
24	涕灭威	Aldicarb	116-06-3		5	10	25	50	75	100
25	涕灭威砒	Aldicarb sulfone	1646-88-4	0.1	5	10	25	50	75	100
26	涕灭威亚砒	Aldicarb sulfoxide	1646-87-3		5	10	25	50	75	100
27	灭线磷	Ethoprophos	13194-48-4	0.02	2	4	10	20	30	40
28	氯唑磷	Isazofos	42509-80-8	0.01	1	2	5	10	15	20
29	水胺硫磷	Isocarbophos	24353-61-5	0.05	5	10	25	50	75	100
30	硫环磷	Phosfolan	947-02-4	0.03	3	6	15	30	45	60

从结果可知，比较甘草配方颗粒空白基质样品及其匹配校准曲线最低点“浓度 1”的谱图（见图 3 和图 4），发现 30 种目标农药的 MRM 通道在对应的保留时间下不存在干扰，表明该方法的专属性良好，完全满足可靠性和准确定量的要求。

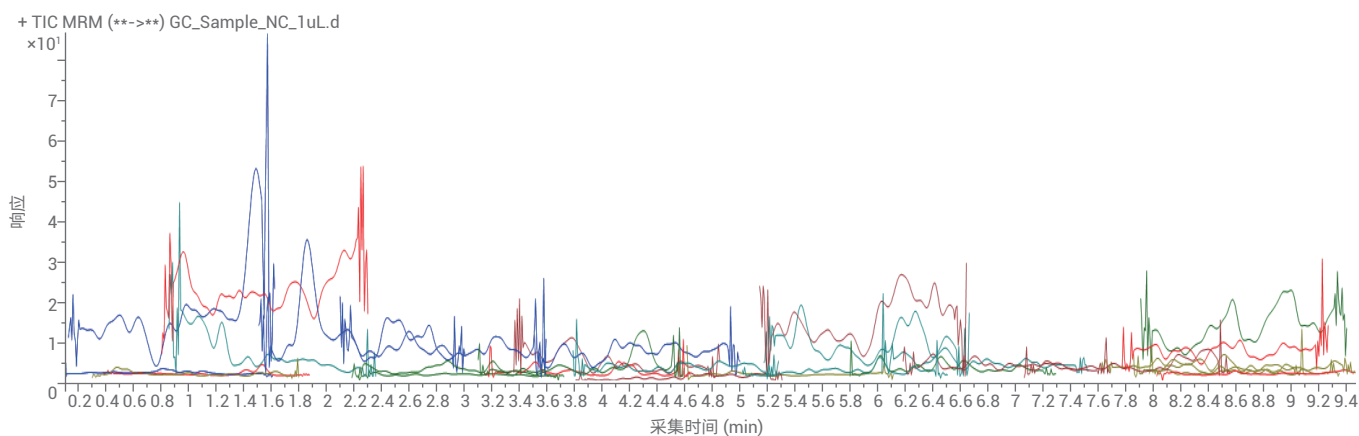


图 3. 甘草配方颗粒空白基质样品中 30 种目标农药定量离子叠加图

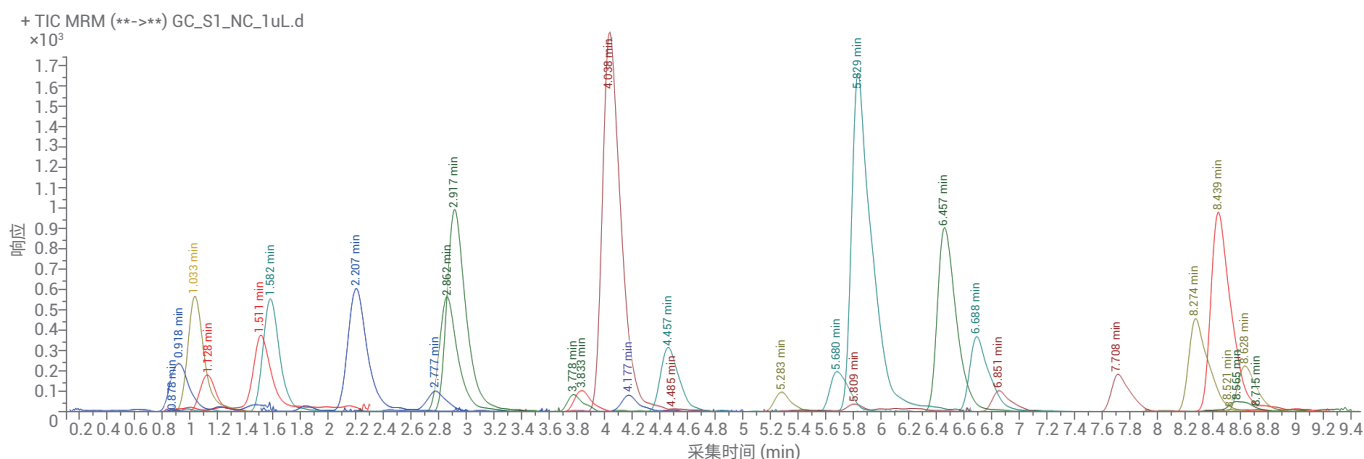


图 4. 甘草配方颗粒空白基质匹配校准曲线最低点“浓度 1”中 30 种目标农药定量离子叠加图

灵敏度

计算甘草配方颗粒空白基质匹配校准曲线最低点“浓度 1”中 30 种目标农药的定量离子信噪比，结果发现，在最低点浓度下，各种目标农药的信噪比为 19–1175，均满足信噪比 ≥ 10 的要求。表明该方法具有出色的灵敏度，完全满足 2020 版《中国药典》四部通则 0212 检定通则中规定的定量限要求。

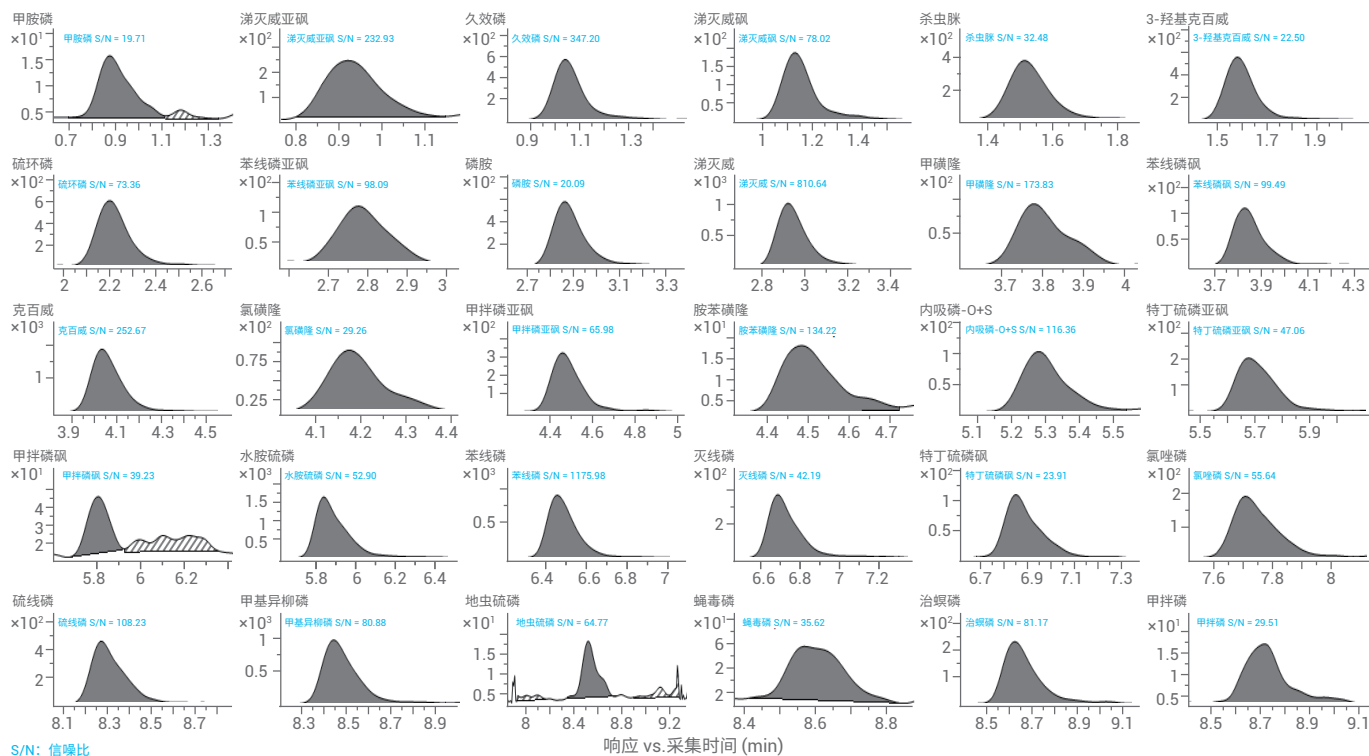


图 5. 甘草配方颗粒空白基质匹配校准曲线最低点“浓度 1”中 30 种目标农药定量离子的信噪比

空白基质匹配校准曲线

按照“空白基质匹配校准标样的配制”中所述的校准标样配制方法和浓度，配制甘草配方颗粒的空白基质匹配校准标样，并通过外标法进行定量。30 种目标农药的校准曲线及线性回归分析结果见图 6 和图 7。各目标物校准曲线的线性相关系数 R^2 为 0.997–0.999，优于 $R^2 \geq 0.990$ 的线性要求。表明在设定的浓度范围内，30 种目标农药的空白基质匹配校准曲线均具有良好的线性。

Compounds with Curve fitting not using Avg Response Factor:

Compound	Curve Fit	Curve Rt Formula 校准曲线方程	Curve Fit R ² 线性相关系数
T Methamidophos	Linear	y = 18.432370 * x + 19.757979	0.999612
T Aldicarb sulfoxide	Linear	y = 364.484012 * x + 119.068459	0.999116
T Moncrotophos	Linear	y = 1560.055351 * x - 118.532713	0.998991
T Aldicarb sulfone	Linear	y = 338.931424 * x - 81.033160	0.999800
T Chlordimeform	Linear	y = 1631.371203 * x - 151.967161	0.999459
T Carbofuran-3-Hydroxy	Linear	y = 902.153085 * x + 86.232428	0.999789
T Phosfolan	Linear	y = 1864.334942 * x + 155.565303	0.999751
T Fenamiphos sulfoxide	Linear	y = 457.628543 * x - 16.345316	0.999573
T Phosphamidon	Linear	y = 1035.105319 * x + 161.916754	0.999917
T Aldicarb	Linear	y = 1786.058868 * x + 619.272914	0.999833
T Metsulfuron-methyl	Linear	y = 159.568499 * x - 82.282331	0.998110
T Fenamiphos sulfone	Linear	y = 482.140191 * x + 34.940555	0.999706
T Carbofuran	Linear	y = 3356.291871 * x + 170.008017	0.999836
T Chlorsulfuron	Linear	y = 113.491958 * x + 48.209988	0.999642
T Phorate sulfoxide	Linear	y = 1385.162522 * x + 336.008352	0.999794
T Ethametsulfuron-methyl	Linear	y = 28.449392 * x + 5.762351	0.999383
T Demeton-O+S	Linear	y = 408.276844 * x + 49.838574	0.999593
T Terbufos sulfoxide	Linear	y = 973.403634 * x + 78.901548	0.999483
T Phorate sulfone	Linear	y = 158.753183 * x - 94.292055	0.999450
T Isocarbophos	Linear	y = 3309.153207 * x + 42.075889	0.999627
T Fenamiphos	Linear	y = 4215.572312 * x + 206.312108	0.999718
T Ethoprophos	Linear	y = 1880.117619 * x - 29.867533	0.999739
T Terbufos sulfone	Linear	y = 525.322762 * x - 4.904369	0.999836
T Isazofos	Linear	y = 1793.986063 * x - 9.818210	0.999243
T Cadusafos	Linear	y = 2321.516011 * x - 189.672274	0.999622
T Isofenphos-methyl	Linear	y = 4832.614749 * x + 580.584937	0.999837
T Fonofos	Linear	y = 63.506186 * x - 4.820859	0.997315
T Coumaphos	Linear	y = 98.315253 * x + 20.162697	0.999187
T Sulfotep	Linear	y = 1062.184072 * x - 7.432884	0.999167
T Phorate	Linear	y = 74.128357 * x + 3.167499	0.998310

(RedFont and #) = Outlier Rag; (I) = Internal Standard; (T) = Target; (S) = Surrogate; (M) = Matrix Spike

图 6. 甘草配方颗粒空白基质匹配校准曲线的线性回归分析结果

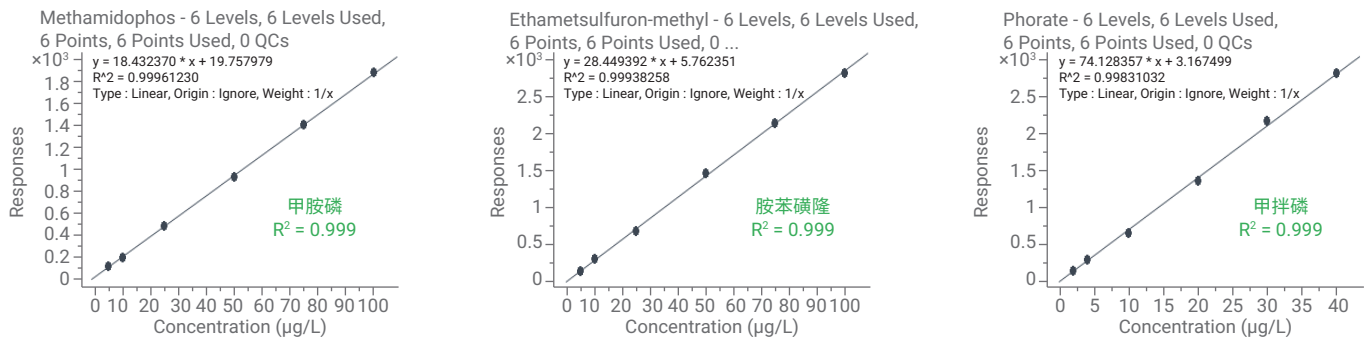


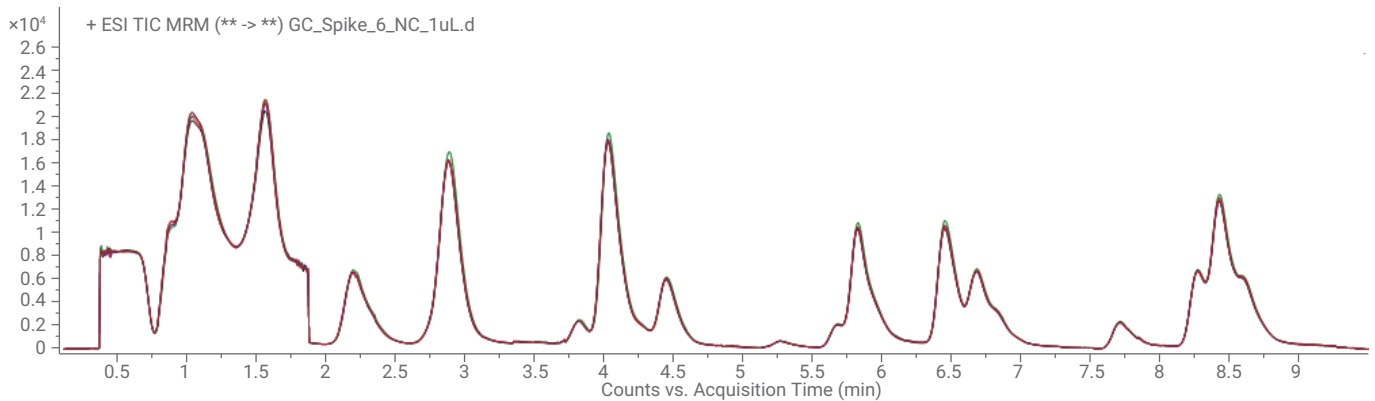
图 7. 甘草配方颗粒空白基质匹配校准曲线部分代表性化合物的校准曲线

准确度和精密度

按照 2020 版《中国药典》四部通则 0212 检定通则规定的定量限的 1/2（对应于校准标样的“浓度 3”），对甘草配方颗粒空白基质样品进行加标回收实验并重复 6 次，考察方法的准确度和精密度。结果见表 4 和图 8。六次平行加标回收实验所得到的保留时间 RSD 为 0.002%–1.044%，峰面积 RSD 为 0.658%–5.184%，平均加标回收率为 75.068%–101.347%。表明该方法具有良好的准确度和精密度，完全满足 2020 版《中国药典》的要求。

表 4. 甘草配方颗粒样品六次平行加标回收实验结果

序号	化合物名称	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	平均加标回收率 (%)
1	甲胺磷	1.044	3.463	90.049
2	涕灭威亚砷	0.479	1.057	96.966
3	久效磷	0.003	1.552	95.854
4	涕灭威砷	0.387	3.364	96.330
5	杀虫脒	0.688	2.319	78.296
6	3-羟基克百威	0.436	2.872	93.361
7	硫环磷	0.920	2.676	95.182
8	苯线磷亚砷	1.024	3.892	95.611
9	磷胺	0.842	2.789	93.467
10	涕灭威	0.708	2.366	93.750
11	甲磺隆	0.696	2.650	78.130
12	苯线磷砷	0.651	1.904	92.146
13	克百威	0.535	2.143	94.281
14	氯磺隆	0.538	5.184	75.068
15	甲拌磷亚砷	0.485	3.059	95.816
16	胺苯磺隆	0.526	4.852	89.257
17	内吸磷-O+S	0.344	2.256	92.793
18	特丁硫磷亚砷	0.260	1.617	101.347
19	甲拌磷砷	0.246	4.621	100.555
20	水胺硫磷	0.236	2.722	95.429
21	苯线磷	0.160	2.252	93.952
22	灭线磷	0.152	2.039	96.273
23	特丁硫磷砷	0.135	1.855	95.446
24	氯唑磷	0.045	3.110	93.986
25	硫线磷	0.085	2.807	93.999
26	甲基异柳磷	0.040	1.660	94.068
27	地虫硫磷	0.104	0.658	91.794
28	蝇毒磷	0.039	2.674	87.528
29	治螟磷	0.002	2.108	92.572
30	甲拌磷	0.074	1.884	84.663



更多中药配方颗粒检测

为考察分析方法的普适性，从市场上购得不同厂家的黄芪配方颗粒、当归配方颗粒和金银花配方颗粒进行检测。样品及所得的加标回收率结果见表 5 和图 9。其中在黄芪配方颗粒样品中，所考察的所有目标物均未检出，各目标物的回收率为 74.9%–109.6%；在当归配方颗粒样品中，除甲拌磷亚砷 (< LOQ (0.002 mg/kg)) 外，其余目标物均未检出，各目标物的回收率为 74.5%–107.3%；在金银花配方颗粒样品中，除 3-羟基克百威（实测值为 0.009 mg/kg）、克百威 (< LOQ (0.005 mg/kg))、甲拌磷亚砷 (< LOQ (0.002 mg/kg))、水胺硫磷 (< LOQ (0.005 mg/kg)) 外，其余目标物均未检出，各目标物回收率为 84.6%–110.9%。所有检出的化合物含量均未超出 2020 版《中国药典》0212 检定通则中规定的定量限要求，且三种中药配方颗粒的加标回收率均满足 2020 版《中国药典》规定的合格限要求 (60%–130%)，表明该分析方法的普适性良好，有望推广用于其他中药配方颗粒中 30 种禁用农药的定量分析。

表 5. 黄芪、当归和金银花配方颗粒样品及其加标回收分析结果

序号	化合物名称	保留时间 (min)	黄芪配方颗粒 (mg/kg)	黄芪配方颗粒加标回收率 (%)	当归配方颗粒 (mg/kg)	当归配方颗粒加标回收率 (%)	金银花配方颗粒 (mg/kg)	金银花配方颗粒加标回收率 (%)
1	甲胺磷	0.9	N.D.	94.5	N.D.	86.3	N.D.	85.2
2	涕灭威亚砷	0.9	N.D.	97.6	N.D.	87.0	N.D.	104.2
3	久效磷	1.0	N.D.	99.0	N.D.	97.6	N.D.	105.7
4	涕灭威砷	1.1	N.D.	103.8	N.D.	99.1	N.D.	109.7
5	杀虫脒	1.5	N.D.	90.3	N.D.	87.8	N.D.	86.0
6	3-羟基克百威	1.6	N.D.	97.4	N.D.	95.7	0.009	107.2
7	硫环磷	2.2	N.D.	99.8	N.D.	95.6	N.D.	101.4
8	苯线磷亚砷	2.8	N.D.	103.2	N.D.	94.0	N.D.	97.5
9	磷胺	2.9	N.D.	100.7	N.D.	98.0	N.D.	103.7
10	涕灭威	2.9	N.D.	102.0	N.D.	94.1	N.D.	103.5
11	甲磺隆	3.8	N.D.	82.8	N.D.	84.1	N.D.	95.1
12	苯线磷砷	3.8	N.D.	101.6	N.D.	86.6	N.D.	102.5
13	克百威	4.0	N.D.	101.6	N.D.	95.4	< LOQ (0.005 mg/kg)	104.7
14	氯磺隆	4.2	N.D.	74.9	N.D.	74.5	N.D.	88.1
15	甲拌磷亚砷	4.4	N.D.	101.2	< LOQ (0.002 mg/kg)	97.2	< LOQ (0.002 mg/kg)	103.4
16	胺苯磺隆	4.5	N.D.	96.5	N.D.	91.8	N.D.	103.1
17	内吸磷-O+S	5.3	N.D.	102.9	N.D.	102.0	N.D.	107.6
18	特丁硫磷亚砷	5.7	N.D.	105.9	N.D.	94.6	N.D.	104.0
19	甲拌磷砷	5.8	N.D.	98.2	N.D.	101.1	N.D.	104.6
20	水胺硫磷	5.8	N.D.	100.8	N.D.	95.6	< LOQ (0.005 mg/kg)	103.0
21	苯线磷	6.4	N.D.	100.5	N.D.	96.1	N.D.	109.0
22	灭线磷	6.7	N.D.	101.2	N.D.	96.2	N.D.	100.2
23	特丁硫磷砷	6.8	N.D.	94.2	N.D.	100.0	N.D.	110.9
24	氯唑磷	7.7	N.D.	99.9	N.D.	95.1	N.D.	104.3
25	硫线磷	8.3	N.D.	97.8	N.D.	96.7	N.D.	99.4
26	甲基异柳磷	8.4	N.D.	104.6	N.D.	96.6	N.D.	103.4
27	地虫硫磷	8.5	N.D.	109.6	N.D.	107.3	N.D.	96.0
28	蝇毒磷	8.6	N.D.	85.0	N.D.	89.5	N.D.	101.8
29	治螟磷	8.6	N.D.	100.1	N.D.	98.2	N.D.	105.2
30	甲拌磷	8.7	N.D.	99.2	N.D.	106.9	N.D.	84.6

N.D. 表示未检出；< LOQ 表示实测含量低于方法定量限。

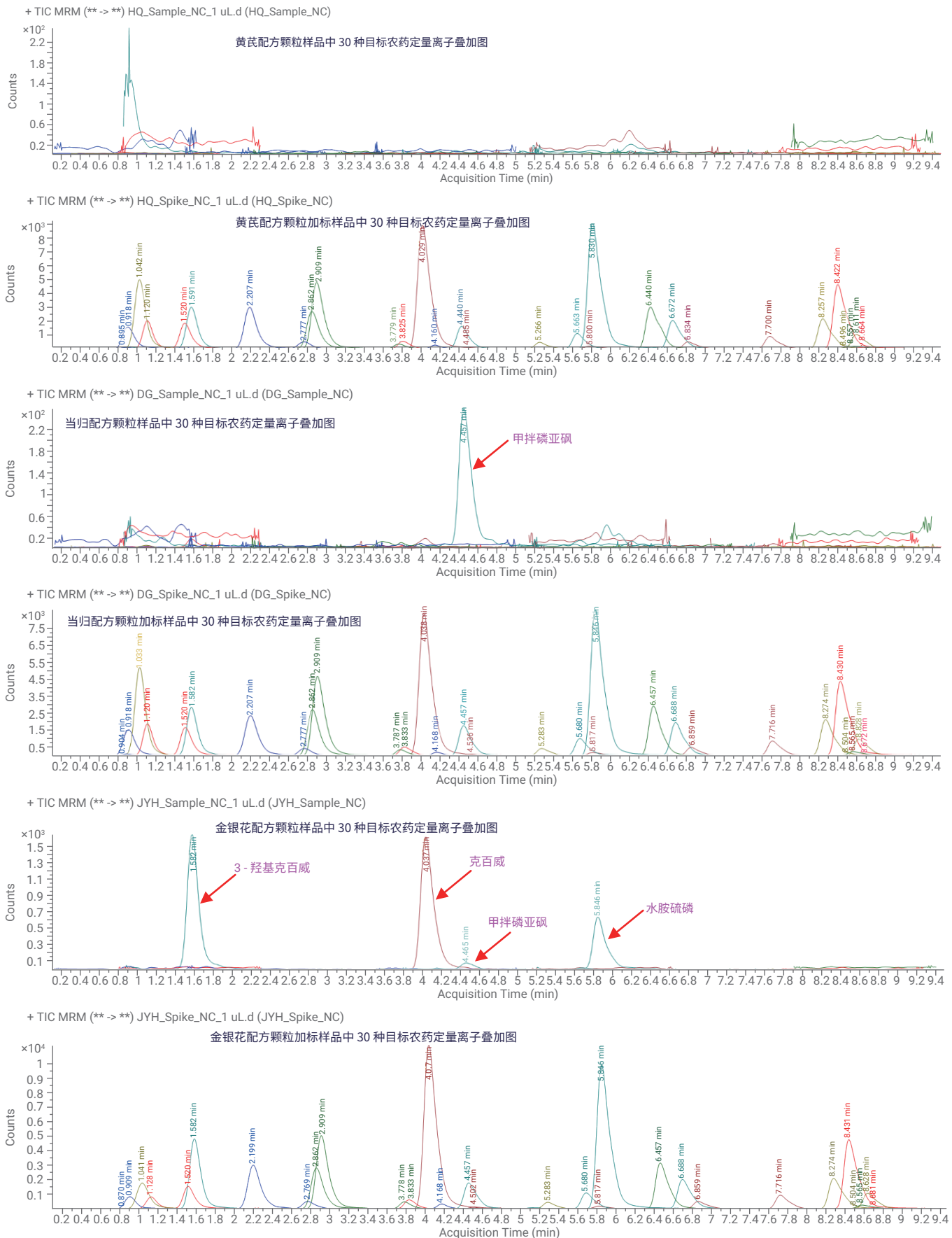


图 9. 中药配方颗粒及其加标样品中 30 种目标农药的定量离子叠加图, 从上到下依次为: 黄芪配方颗粒样品、黄芪配方颗粒加标样品、当归配方颗粒样品、当归配方颗粒加标样品、金银花配方颗粒样品、金银花配方颗粒加标样品

安捷伦中药农残智能化检测报告

关于 2020 版《中国药典》四部通则 0212 检定通则中规定的 33 种禁用农药，2341 农药残留量测定法第五法明确规定了采用 LC-MS/MS 和 GC-MS/MS 相结合的两种分析仪器、两套分析方法的检测方案。针对这两种方案，一般操作人员会首先出具两份检测报告，然后再进行数据整理及整合，整个报告过程繁琐且容易出错。为化繁为简、最大程度降低出错概率，安捷伦开发出智能化定量检测报告。该报告可以将 LC-MS/MS 和 GC-MS/MS 的数据有效整合到一份报告中，同时还根据 0212 检定通则中规定的 33 种禁用农药的定量限要求，为样品检测结果做出“符合”或“不符合”的判定。根据客户需求，检测报告还可进一步定制化。该智能化报告大幅缩短了数据分析及判定时间，极大地降低了出错的可能，显著提高了工作效率（见表 6）。

表 6. 安捷伦针对中药中 33 种禁用农药开发出的智能化检测报告

检测报告

样品名称 1-YG-1 + 1-YG-2					
农药名称	残留物	检测法	定量限	结果	结果判定
甲胺磷	甲胺磷	LCMS	0.05 mg/kg	未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	符合
甲基对硫磷	甲基对硫磷	GCMS	0.02 mg/kg	0.04 mg/kg	不符合
对硫磷	对硫磷	GCMS	0.02 mg/kg	未检出 (检测限为 0.005 mg/kg)	符合
久效磷	久效磷	GCMS	0.03 mg/kg	未检出 (检测限为 0.008 mg/kg)	符合
磷胺	磷胺	LCMS	0.05 mg/kg	未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	符合
六六六	α - 六六六	GCMS	0.1 mg/kg	未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	符合
	β - 六六六	GCMS		未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	
	γ - 六六六	GCMS		未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	
	δ - 六六六	GCMS		未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	
滴滴涕	4, 4' - 滴滴涕	GCMS	0.1 mg/kg	未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	符合
	2, 4' - 滴滴涕	GCMS		未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	
	4, 4' - 滴滴伊	GCMS		未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	
	4, 4' - 滴滴滴	GCMS		未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	
杀虫脒	杀虫脒	GCMS	0.02 mg/kg	未检出 (检测限为 0.005 mg/kg)	符合
除草醚	除草醚	GCMS	0.05 mg/kg	未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	符合
艾氏剂	艾氏剂	GCMS	0.05 mg/kg	未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	符合
狄氏剂	狄氏剂	GCMS	0.05 mg/kg	未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	符合
苯线磷	苯线磷	LCMS	0.02 mg/kg	未检出 (检测限为 0.005 mg/kg)	符合
	苯线磷砷	LCMS		未检出 (检测限为 0.005 mg/ks)	
	苯线磷亚砷	LCMS		未检出 (检测限为 0.005 mg/kg)	
地虫硫磷	地虫硫磷	LCMS	0.02 mg/kg	未检出 (检测限为 0.005 mg/kg)	符合
硫线磷	硫线磷	LCMS	0.02 mg/kg	未检出 (检测限为 0.005 mg/kg)	符合
蝇毒磷	蝇毒磷	LCMS	0.05 mg/kg	未检出 (检测限为 0.02 mg/kg)	符合
治螟磷	治螟磷	LCMS	0.02 mg/kg	未检出 (检测限为 0.005 mg/kg)	符合
特丁硫磷	特丁硫磷	GCMS	0.02 mg/kg	未检出 (检测限为 0.005 mg/kg)	符合
	特丁硫磷砷	LCMS		未检出 (检测限为 0.005 mg/kg)	
	特丁硫磷亚砷	LCMS		未检出 (检测限为 0.005 mg/kg)	

以结果可知，基于 Agilent Ultivo LC-MS/MS 系统建立了定量分析中药配方颗粒中 30 种禁用农药及其代谢物的方法。该分析方法参考 2020 版《中国药典》四部通则 2341 农药残留量测定法第五法<药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法>中的快速样品处理法（QuEChERS 法）进行样品前处理，以甘草配方颗粒为基质进行了方法学考察，结果表明：

- (1) 该分析方法的专属性良好：各目标分析物在其保留时间下，定性离子和定量离子均不受干扰；
- (2) 该分析方法的灵敏度良好：在进样量为 1 μL 时，按照 2020 版《中国药典》四部通则 0212 药材和饮片检定通则中规定的限量值的 1/10 来确定方法定量限 (LOQ)，浓度对应于定量限的各目标分析物定量离子的信噪比为 19–1175，均满足信噪比 ≥ 10 的定量限要求；
- (3) 基质匹配校准曲线线性良好：在设定的浓度范围内，各目标分析物校准曲线的线性相关系数 R^2 为 0.997–0.999，远优于 $R^2 \geq 0.990$ 的校准曲线合格限要求；
- (4) 分析方法准确度和精密度良好：在六次平行加标回收实验中，各目标分析物的保留时间 RSD 为 0.002%–1.044%；峰面积 RSD 为 0.658%–5.184%；平均加标回收率为 75.068%–101.347%，均完全满足 2020 版《中国药典》的要求；
- (5) 分析方法普适性良好：用该分析方法进一步分析市售黄芪配方颗粒、当归配方颗粒、金银花配方颗粒样品，所得目标分析物的加标回收率均满足 2020 版《中国药典》规定的 60%–130% 的合格限要求，表明该方法有望推广用于其他中药配方颗粒中 30 种禁用农药的定量分析。
- (6) 该分析方法与安捷伦中药农残智能化检测报告相结合，可大幅缩短分析时间、极大地降低出错的可能并显著提高工作效率。

利用 GC-MS/MS 分析中药配方颗粒中 33 种禁用农药与代谢物残留含量

Agilent 7000D 气相色谱三重四极杆质谱联用仪建立了分析中药配方颗粒中的农药残留方法。基于 2020 版《中国药典》通则 <2341 农药残留量测定法> 中第五法 <药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法>，采用“第五法”中规定的浓度范围绘制校准曲线。所得线性相关性良好，相关系数 R^2 均大于 0.995，且 6 次重复分析的 RSD 均小于 7%。在 2020 版《中国药典》通则 <0212 药材和饮片检定通则> 中农药残留限量的 1/2 的加标浓度下，33 种农药及其代谢物的回收率均处于 70%-120% 之间。表明该方法可用于准确测定中药配方颗粒中的 33 种禁用农药及其代谢物的残留量。

2019 年 11 月 8 日，国家药典委员会发布《关于中药配方颗粒品种试点统一标准的公示》，公示了 160 个中药配方颗粒品种的试点统一标准。2021 年 4 月 30 日，国家药典委员会发布《关于中药配方颗粒国家药品标准（第二批）的公示》，公示了第二批 36 个中药配方颗粒品种的拟公示标准。这些标准中均对配方颗粒的来源、制法、性状、鉴别、检查、特征图谱、浸出物、含量测定、规格和贮藏等信息，做出了明确规定。在规格中，需明确标识每 1 g 配方颗粒相当于饮片多少 g。在检查中，规定了需要检查的项目，所有配方颗粒均需要满足 2020 版《中国药典》通则 <0104 颗粒剂> 中的各项规定，部分配方颗粒需要检测重金属及有害元素、黄曲霉毒素和有机氯农药残留量等。

助力突破农残分析

近年来，随着大众对于健康越来越关注，针对中药中农药残留的分析要求也越来越高。在 2015 版《中国药典》通则 <2341 农药残留量测定法> 增加了第四法 <农药多残留量测定法（质谱法）>，但是没有给出农药的限量值。2020 版《中国药典》通则 <0212 药材和饮片检定通则> 中给出了药材和饮片中的农药残留限量，并在通则 <2341 农药残留量测定法> 增加了第五法 <药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法>。农药多残留测定将会越来越普及。基于此，本文利用 Agilent 7000D 气相色谱三重四极杆质谱联用仪建立了分析配方颗粒中的农药残留方法。通过每 1 g 配方颗粒相当于饮片多少 g 来折算成饮片的量，按照相当于 3 g 饮片量的配方颗粒的量来称样，之后按照 <0212 药材和饮片检定通则> 中给出了药材和饮片中的农药残留限量来计算相应的配方颗粒中的限量值。

甘草是大宗常用药材之一，使用量较大，检测甘草配方颗粒中的农药残留具有代表意义。建立方法之后，又分析了金银花配方颗粒、当归配方颗粒和黄芪配方颗粒，并开展了加标回收实验。

GC-MS/MS 方法包

本研究采用 Agilent 7000D 气相色谱三重四极杆质谱联用仪。

所用色谱柱为 VF-17ms，30 m × 0.25 mm × 0.25 μm（部件号 CP8982）

柱温箱升温程序

初始温度 60 °C，保持 1 min，以 30 °C/min 升温至 120 °C，再以 10 °C/min 升温至 160 °C，再以 2 °C/min 升温至 230 °C，最后以 15 °C/min 升温至 300 °C，保持 6 min。

进样口参数

进样口温度：250 °C；进样方式：不分流进样；进样口模式：恒压模式；进样口压力：146 kPa；进样量：1 μL

传输线温度：300 °C

质谱条件

离子化模式：电子轰击源 (EI)；离子源温度：250 °C；四极杆温度：150 °C；增益因子：15；采集模式：MRM，离子对信息见 2020 版《中国药典》通则 <2341 农药残留量测定法> 第五法 <药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法>

样品前处理

见下图 1。

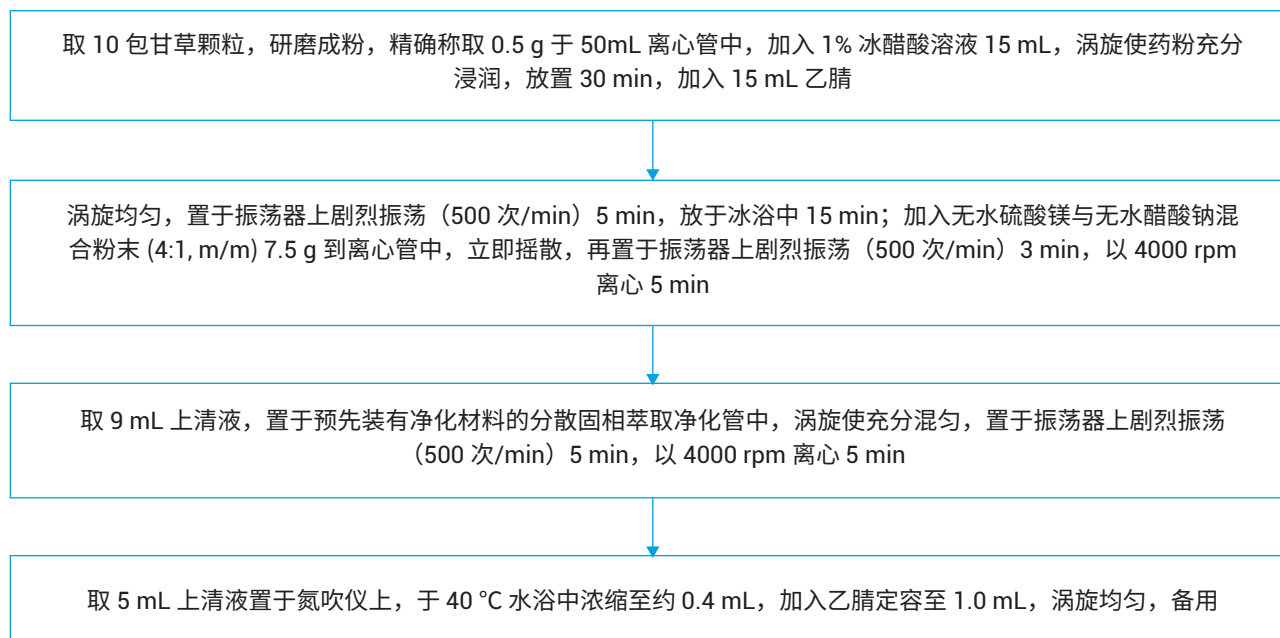


图 1. 样品前处理流程

MRM 方法创建

从结果可知，由于药典方法中规定了进样口压力，而不同色谱柱之间存在差异，因此需要在每台仪器上建立自己的方法。调用现成 dMRM 方法，将 Left RT Delta 和 Right RT Delta 分别设置为 5 min，如图 2 质谱参数界面所示。之后进样分析 100 µg/L 标准溶液。在 update RT 处导入采集的数据，以更新保留时间，如图 3 的保留时间更新界面所示。然后将图 2 中的 Left RT Delta 设置为 1 min，Right RT Delta 设置为 1.5 min，最后保存方法。

Compound Table													
	Enable	Compound Name	CAS#	ISTD	Precursor Ion	MS1 Resolution	Product Ion	MS2 Resolution	RT (min)	Left RT Delta (min)	Right RT Delta (min)	Average Dwell (ms)	CE (eV)
1	<input checked="" type="checkbox"/>	Demeton-O	298-03-3	<input type="checkbox"/>	171	Wide	115	Wide	11.93	5	5	7.8	10
2	<input checked="" type="checkbox"/>	Demeton-O	298-03-3	<input type="checkbox"/>	171	Wide	97	Wide	11.93	5	5	7.8	25
3	<input checked="" type="checkbox"/>	Demeton-O	298-03-3	<input type="checkbox"/>	143	Wide	115	Wide	11.93	5	5	7.8	5
4	<input checked="" type="checkbox"/>	Demeton-O	298-03-3	<input type="checkbox"/>	143	Wide	97	Wide	11.93	5	5	7.8	20
5	<input checked="" type="checkbox"/>	Demeton-O	298-03-3	<input type="checkbox"/>	115	Wide	97	Wide	11.93	5	5	7.8	10
6	<input checked="" type="checkbox"/>	Demeton-O	298-03-3	<input type="checkbox"/>	115	Wide	81	Wide	11.93	5	5	7.8	20
7	<input checked="" type="checkbox"/>	Demeton-O	298-03-3	<input type="checkbox"/>	88	Wide	60	Wide	11.93	5	5	7.8	5
8	<input checked="" type="checkbox"/>	Demeton-O	298-03-3	<input type="checkbox"/>	88	Wide	59	Wide	11.93	5	5	7.8	20
9	<input checked="" type="checkbox"/>	Demeton-O	298-03-3	<input type="checkbox"/>	88	Wide	45	Wide	11.93	5	5	7.8	25

图 2. 质谱参数界面

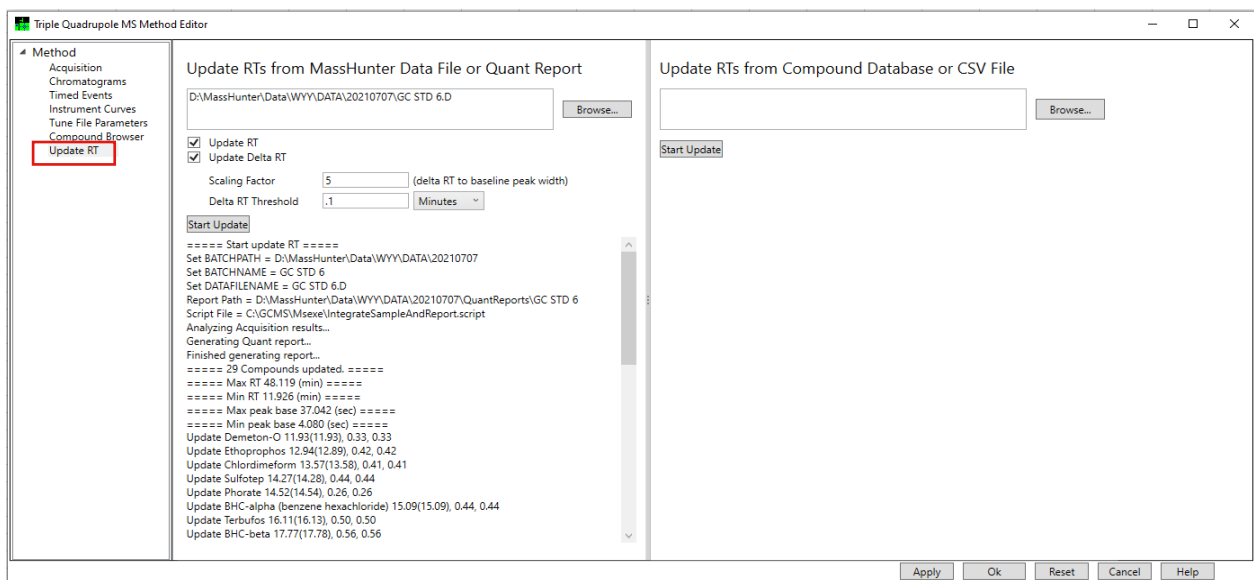


图 3. 保留时间更新界面

校准曲线及标准溶液色谱图

使用甘草配方颗粒基质配制农药混合标准溶液，浓度同 2020 版《中国药典》通则 <2341 农药残留量测定法> 第五法 <药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法>中的各浓度点，且完全按照药典中的操作进行配制。所得第三浓度点校准标样的总离子流图如图 4 所示，MRM 色谱图如图 5 所示。以三苯基膦 (TPP) 为内标，建立校准曲线。部分农药化合物的校准曲线如图 6 所示。所有分析物的校准曲线回归方程、相关系数 R^2 列于表 1 中。

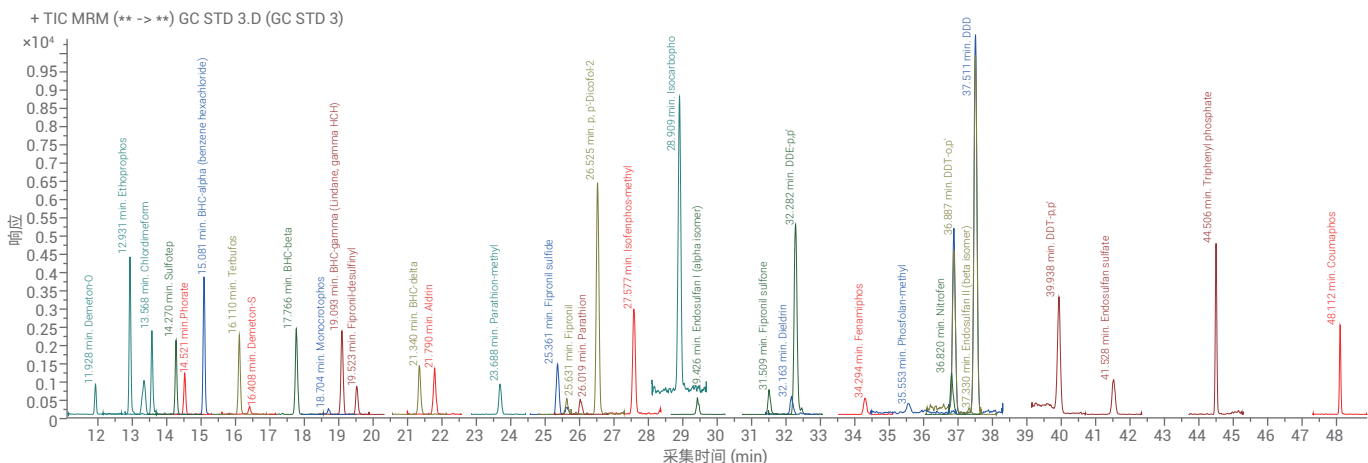


图 4. 甘草配方颗粒中 33 种农药和内标的总离子流图

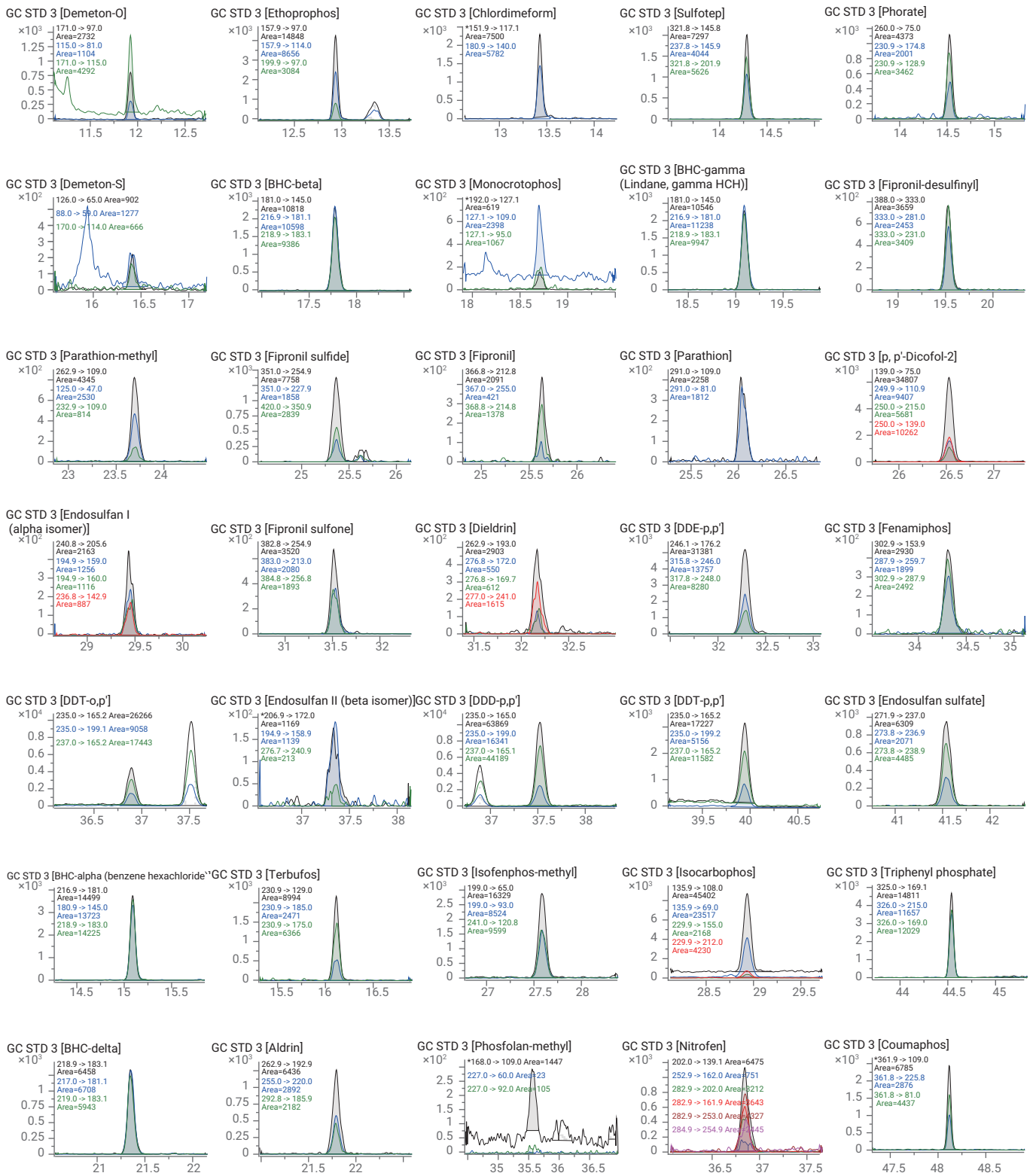


图 5. 甘草配方颗粒中 33 种农药和内标的 MRM 图

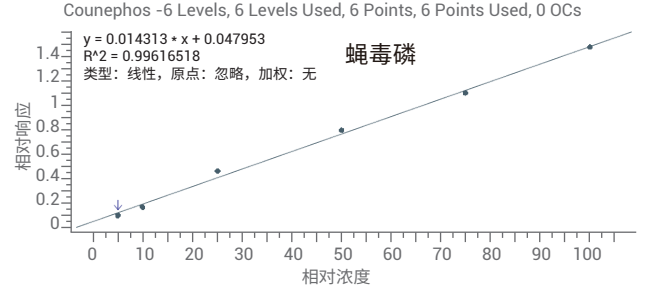
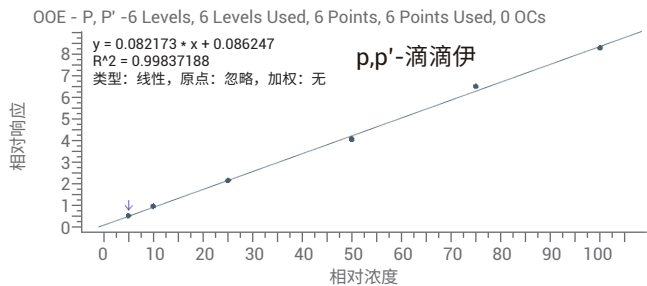
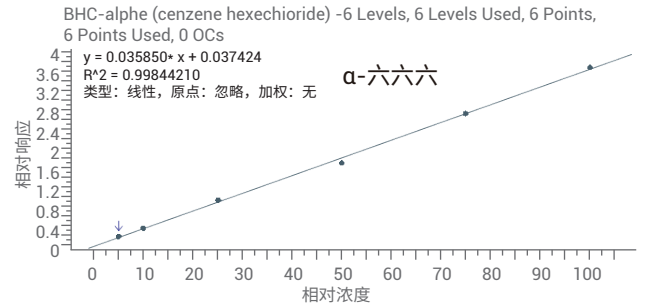
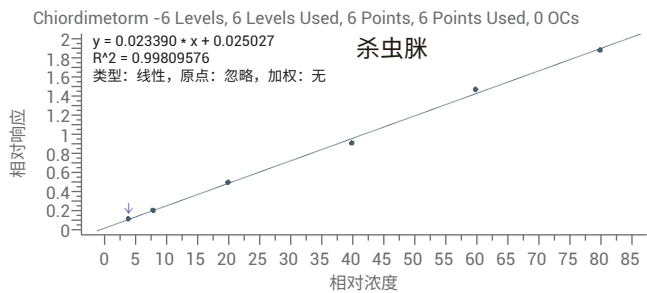
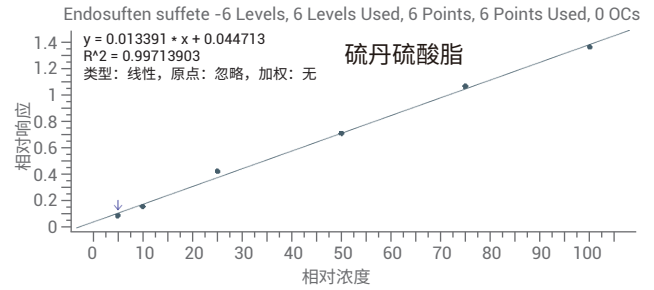
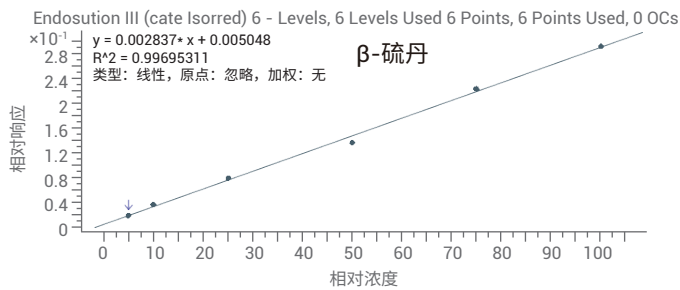
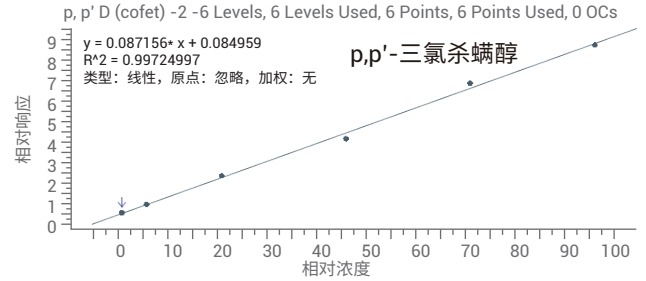
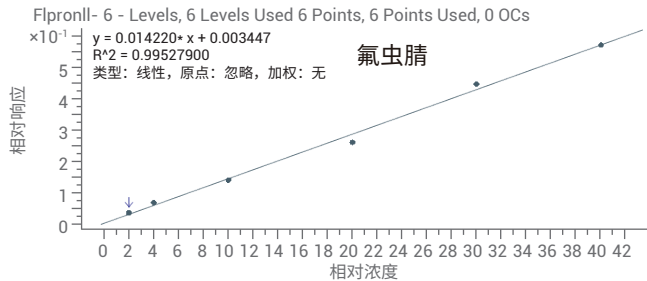
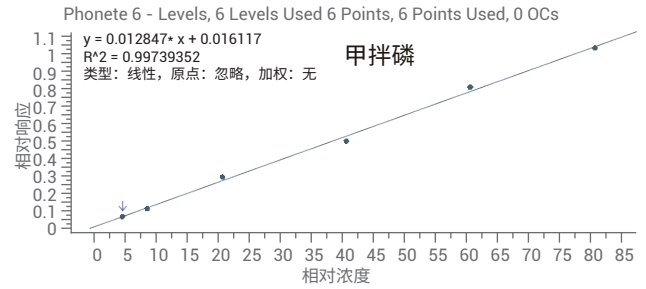
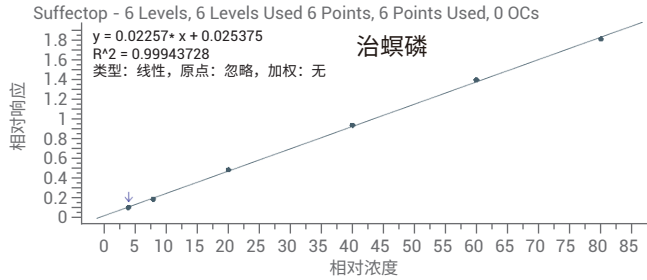
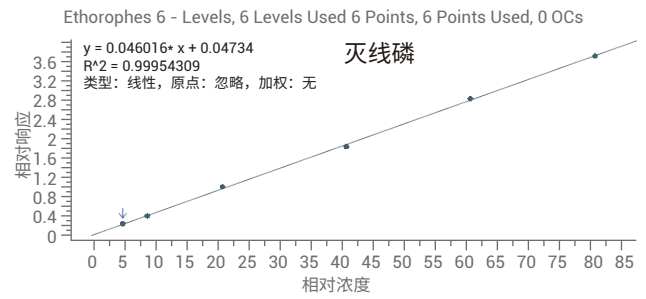
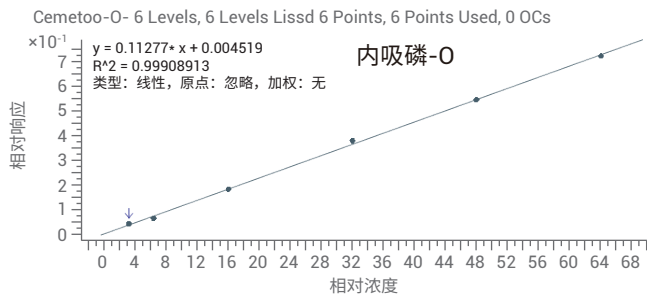


图 6. 甘草配方颗粒中部分农药的校准曲线图

检出限及重现性

用 2020 版《中国药典》通则 <2341 农药残留量测定法>第五法<药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法>中第三浓度点校准标样重复分析 6 次，考察仪器重现性，结果详见表 1。

表 1. 33 种农药的校准曲线回归方程、相关系数及重现性数据

CAS	英文名	中文名	校准曲线	R ²	RSD
298-03-3	Demeton-O	内吸磷-O	$y = 0.011277*x + 0.004519$	0.9991	3.89%
13194-48-4	Ethoprophos	灭线磷	$y = 0.046016*x + 0.047434$	0.9995	4.49%
6164-98-3	Chlordimeform	杀虫脒	$y = 0.023390*x + 0.025027$	0.9981	5.07%
3689-24-5	Sulfotep	治螟磷	$y = 0.022577*x + 0.025375$	0.9994	5.10%
298-02-2	Phorate	甲拌磷	$y = 0.012847*x + 0.016117$	0.9974	5.39%
319-84-6	BHC-alpha (benzene hexachloride)	α-六六六	$y = 0.035850*x + 0.037424$	0.9984	5.30%
13071-79-9	Terbufos	特丁硫磷	$y = 0.058510*x + 0.020331$	0.9993	2.35%
126-75-0	Demeton-S	内吸磷-S	$y = 0.014068*x + 0.002359$	0.9981	6.54%
319-85-7	BHC-beta	β-六六六	$y = 0.026270*x + 0.013776$	0.9971	3.78%
6923-22-4	Monocrotophos	久效磷	$y = 0.001065*x + 0.006904$	0.9976	4.98%
58-89-9	BHC-gamma (Lindane, gamma HCH)	γ-六六六	$y = 0.027764*x + 0.002179$	0.9971	6.18%
205650-65-3	Fipronil-desulfinyl	氟甲腈	$y = 0.023846*x + 0.005434$	0.9987	6.14%
319-86-8	BHC-delta	δ-六六六	$y = 0.015184*x + 0.030586$	0.9974	3.05%
309-00-2	Aldrin	艾氏剂	$y = 0.017137*x + 0.010999$	0.9981	5.40%
298-00-0	Parathion-methyl	甲基对硫磷	$y = 0.027833*x + 0.007689$	0.9992	3.78%
120067-83-6	Fipronil sulfide	氟虫腈亚砷	$y = 0.047788*x + 0.039152$	0.9972	5.94%
120068-37-3	Fipronil	氟虫腈	$y = 0.014220*x + 0.003447$	0.9953	5.67%
56-38-2	Parathion	对硫磷	$y = 0.013175*x + 0.014318$	0.9973	3.81%
115-32-2	p, p'-Dicofol	p,p'-三氯杀螨醇	$y = 0.087156*x + 0.084959$	0.9972	3.71%
99675-03-3	Isofenphos-methyl	甲基异柳磷	$y = 0.053483*x + 0.015235$	0.9974	4.73%
24353-61-5	Isocarbophos	水胺硫磷	$y = 0.053796*x + 0.227077$	0.9992	4.81%
959-98-8	Endosulfan I (alpha isomer)	α-硫丹	$y = 0.005715*x + 0.003584$	0.9994	6.05%
120068-36-2	Fipronil sulfone	氟虫腈砷	$y = 0.022845*x + 0.001856$	0.9975	5.30%
60-57-1	Dieldrin	狄氏剂	$y = 0.008508*x - 0.001673$	0.9991	5.84%
72-55-9	DDE-p,p'	4,4'-滴滴伊	$y = 0.082173*x + 0.086247$	0.9984	6.51%
22224-92-6	Fenamiphos	苯线磷	$y = 0.009377*x - 4.483596E-004$	0.9987	5.62%
5120-23-0	Phosfolan-methyl	甲基硫环磷	$y = 0.005321*x + 0.010533$	0.9987	6.00%
1836-75-5	Nitrofen	除草醚	$y = 0.016813*x - 0.016413$	0.9980	5.38%
789-02-6	DDT-o,p'	2,4'-滴滴涕	$y = 0.071709*x - 0.014493$	0.9975	5.51%
33213-65-9	Endosulfan II (beta isomer)	β-硫丹	$y = 0.002837*x + 0.005048$	0.9970	5.60%
72-54-8	DDD-p,p'	4,4'-滴滴滴	$y = 0.166156*x + 0.173917$	0.9981	4.60%
50-29-3	DDT-p,p'	4,4'-滴滴涕	$y = 0.053477*x - 0.091325$	0.9966	4.72%
1031-07-8	Endosulfan sulfate	硫丹硫酸酯	$y = 0.013391*x + 0.044713$	0.9971	2.59%
56-72-4	Coumaphos	蝇毒磷	$y = 0.014313*x + 0.047953$	0.9962	5.24%

加标回收率和供试品分析

以未检出农药及代谢物的甘草配方颗粒、金银花配方颗粒、当归配方颗粒和黄芪配方颗粒为基质，进行<2341 农药残留量测定法> 第五法<药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法> 中校准曲线溶液第三点的浓度加标，加标浓度为<0212 药材和饮片检定通则>规定的限量值的1/2，所得色谱图如图7至图10所示，回收率列于表2中。

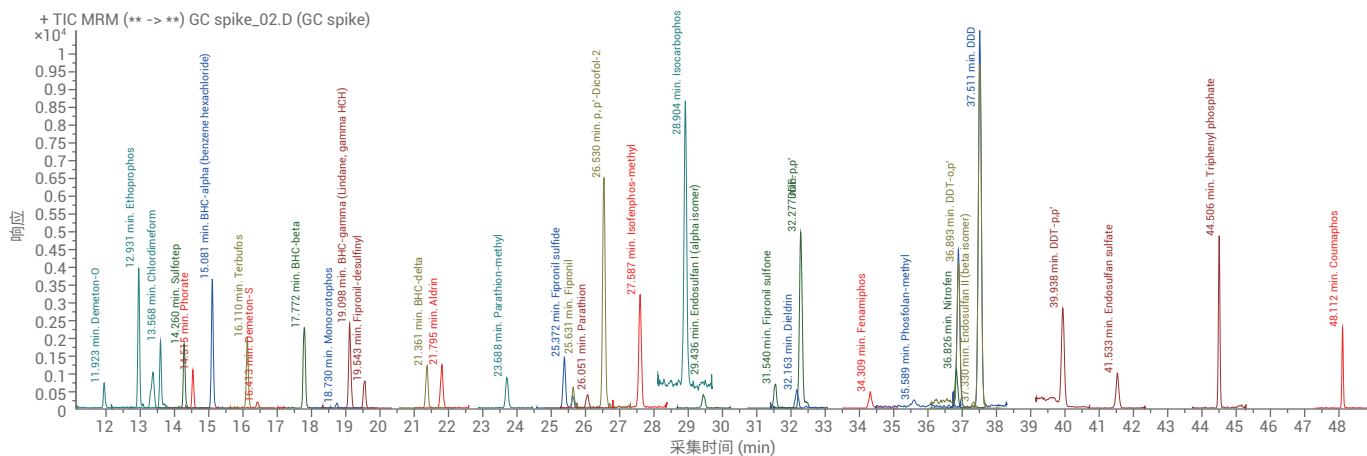


图7. 甘草配方颗粒加标样品的总离子流色谱图

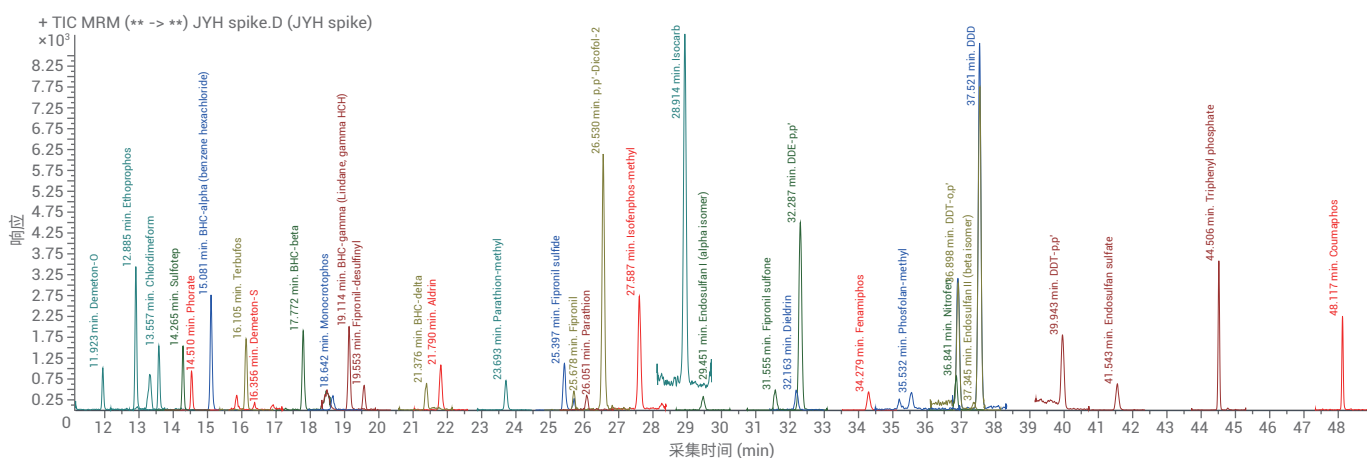


图8. 金银花配方颗粒加标样品的总离子流色谱图

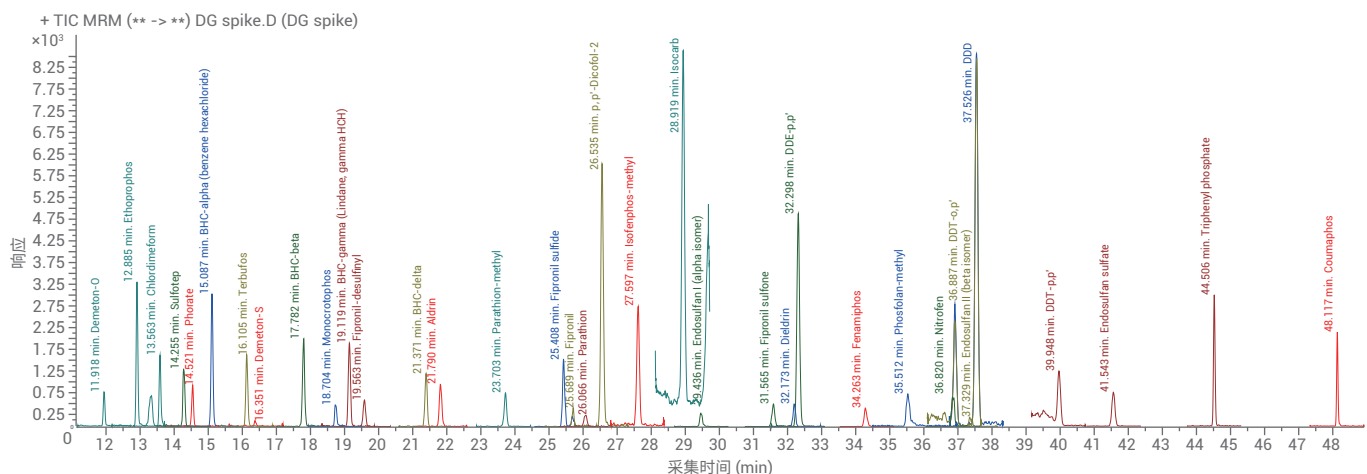


图9. 当归配方颗粒加标样品的总离子流色谱图

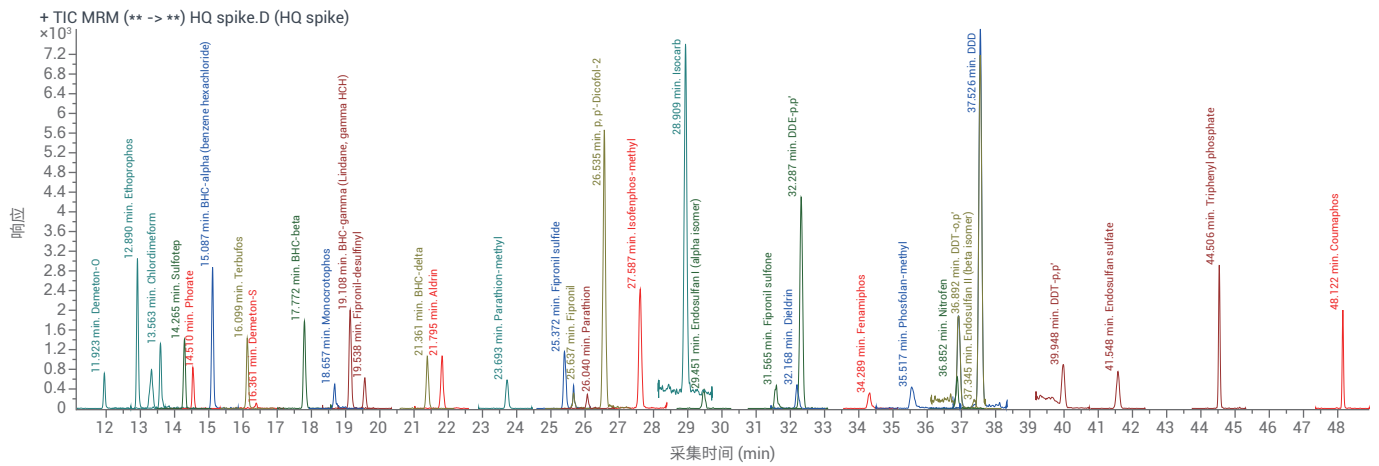


图 10. 黄芪配方颗粒加标样品的总离子流色谱图

CAS	英文名	中文名	甘草回收率	当归回收率	金银花回收率	黄芪回收率
298-03-3	Demeton-O	内吸磷-O	81.0%	97.6%	106.1%	82.6%
13194-48-4	Ethoprophos	灭线磷	93.8%	100.9%	96.6%	88.5%
6164-98-3	Chlordimeform	杀虫脒	93.6%	89.4%	87.2%	88.8%
3689-24-5	Sulfotep	治螟磷	94.4%	92.8%	88.7%	88.5%
298-02-2	Phorate	甲拌磷	88.4%	115.6%	97.5%	91.3%
319-84-6	BHC-alpha (benzene hexachloride)	α-六六六	96.7%	100.5%	96.5%	91.4%
13071-79-9	Terbufos	特丁硫磷	85.8%	87.2%	88.7%	88.2%
126-75-0	Demeton-S	内吸磷-S	96.2%	83.1%	113.3%	95.5%
319-85-7	BHC-beta	β-六六六	104.3%	102.5%	100.8%	91.0%
6923-22-4	Monocrotophos	久效磷	100.0%	97.8%	98.5%	110.7%
58-89-9	BHC-gamma (Lindane, gamma HCH)	γ-六六六	99.1%	93.8%	94.9%	93.4%
205650-65-3	Fipronil-desulfinyl	氟甲腈	97.8%	88.4%	102.8%	84.9%
319-86-8	BHC-delta	δ-六六六	92.2%	97.6%	95.4%	90.7%
309-00-2	Aldrin	艾氏剂	91.1%	85.8%	95.3%	83.3%
298-00-0	Parathion-methyl	甲基对硫磷	105.6%	97.7%	97.5%	91.3%
120067-83-6	Fipronil sulfide	氟虫腈亚砷	89.8%	106.9%	83.2%	86.3%
120068-37-3	Fipronil	氟虫腈	104.1%	92.6%	113.3%	86.6%
56-38-2	Parathion	对硫磷	93.1%	86.8%	84.3%	72.2%
115-32-2	p, p'-Dicofol	p,p'-三氯杀螨醇	99.7%	97.9%	91.5%	90.9%
99675-03-3	Isofenphos-methyl	甲基异柳磷	101.5%	96.7%	92.5%	98.6%
24353-61-5	Isocarbophos	水胺硫磷	98.1%	91.1%	98.2%	93.5%
959-98-8	Endosulfan I (alpha isomer)	α-硫丹	99.2%	109.6%	105.7%	107.2%
120068-36-2	Fipronil sulfone	氟虫腈砷	104.0%	94.3%	98.7%	110.5%
60-57-1	Dieldrin	狄氏剂	95.4%	101.1%	91.3%	93.4%
72-55-9	DDE-p,p'	4,4'-滴滴伊	88.0%	94.9%	86.0%	84.8%
22224-92-6	Fenamiphos	苯线磷	92.5%	92.4%	91.7%	93.4%
5120-23-0	Phosfolan-methyl	甲基硫环磷	105.1%	108.9%	81.5%	103.8%
1836-75-5	Nitrofen	除草醚	100.7%	95.5%	94.3%	87.0%
789-02-6	DDT-o,p'	2,4'-滴滴涕	84.8%	95.7%	85.0%	80.6%
33213-65-9	Endosulfan II (beta isomer)	β-硫丹	89.3%	110.1%	100.9%	102.6%
72-54-8	DDD-p,p'	4,4'-滴滴滴	93.4%	94.8%	91.2%	87.0%
50-29-3	DDT-p,p'	4,4'-滴滴涕	89.2%	91.6%	90.7%	85.4%
1031-07-8	Endosulfan sulfate	硫丹硫酸酯	94.7%	87.6%	85.3%	90.5%
56-72-4	Coumaphos	蝇毒磷	100.9%	98.2%	103.8%	97.1%

从结果可知，利用 Agilent 7000D 气相色谱三重四极杆质谱联用仪建立了分析中药配方颗粒中的农药残留的方法。该方法参考 2020 版《中国药典》通则 <2341 农药残留量测定法> 第五法 <药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法> 中的快速样品处理法（QuEChERS 法），所得甘草配方颗粒、金银花配方颗粒、当归配方颗粒和黄芪配方颗粒样品净化效果良好，无显著干扰。以甘草配方颗粒作为基质配制校准标样，所得校准曲线的线性出色，所有目标分析物的线性相关系数 R^2 均大于 0.995。将 2020 版《中国药典》通则 <2341 农药残留量测定法> 第五法 <药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法> 中第三浓度点样品重复分析 6 次，所有目标分析物的 RSD 值均小于 7%，表明该方法具有良好的重现性。采用甘草配方颗粒、金银花配方颗粒、当归配方颗粒和黄芪配方颗粒样品进行加标回收实验，加标浓度为 2020 版《中国药典》通则 <2341 农药残留量测定法> 第五法 <药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法> 中的第三个浓度点，该浓度为 <0212 药材和饮片检定通则> 规定的限量值的 1/2，结果所有目标分析物的加标回收率均处于 70%-120% 之间，表明该方法具有出色的准确度。综上，该方法适用于测定中药配方颗粒中 33 种禁用农药及其代谢物的含量。

中药配方颗粒中重金属 及有害元素检测篇



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，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 1. 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	005. 白芷（杭白芷）
035. 丹参	037. 当归	049. 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		

表 2. 中药配方颗粒中重金属限量

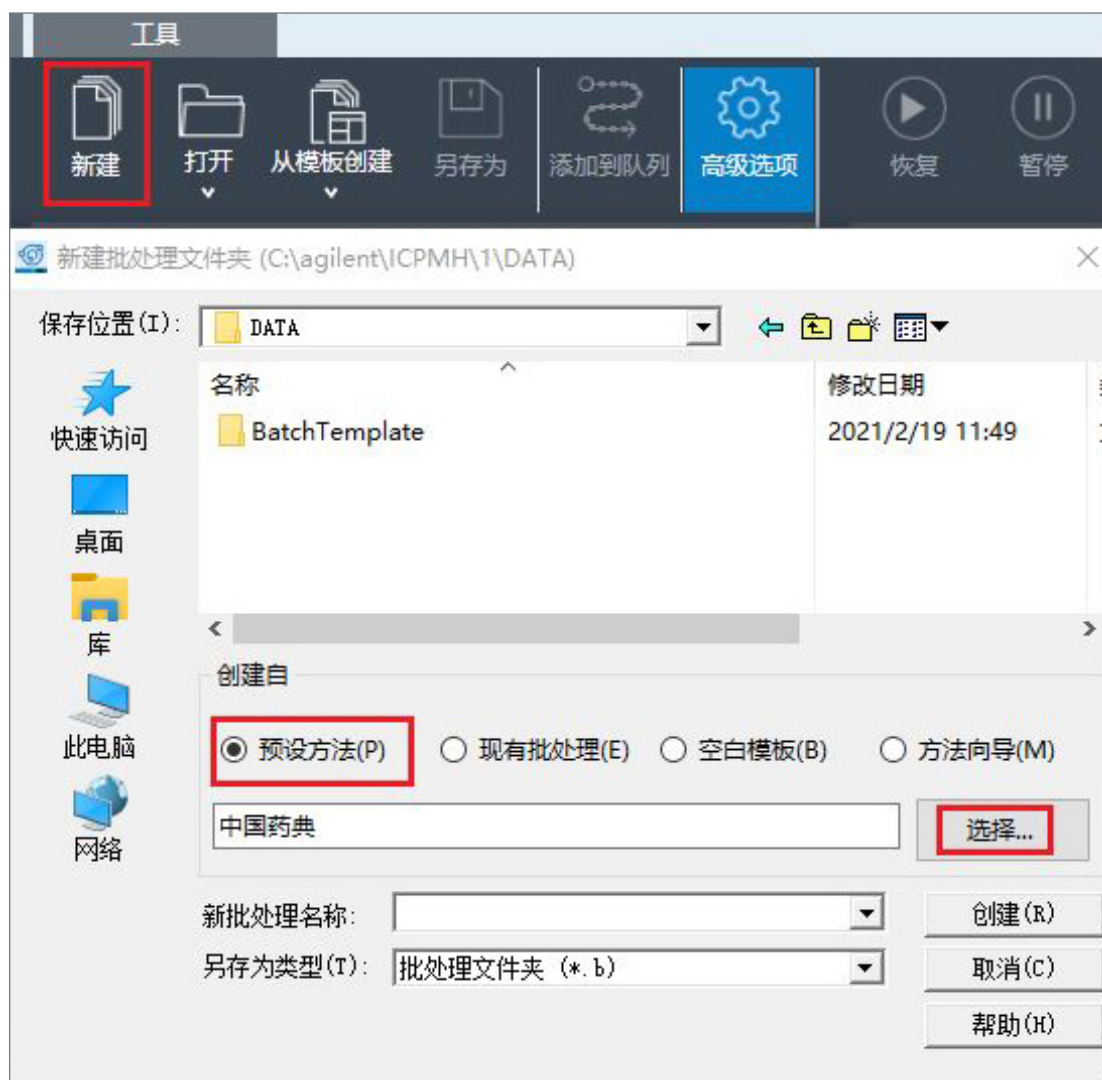
元素	限量 (mg/kg)
砷 (As)	2
铅 (Pb)	5
汞 (Hg)	0.2
镉 (Cd)	1
铜 (Cu)	20

相较于色谱系统在药厂的普及性，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。



应用方法 通用方法	
标题	摘要
EPA200.8	7850 EPA200.8 应用方法 (无矿物质, 不使用碰撞反应池)
EPA6020	7850 EPA6020 应用方法
USP <232>/ICH Q3D	7850 药物元素杂质分析应用方法 (使用 USP <232>/ICH Q3D)
中国药典	7850 药物元素杂质分析应用方法 (使用中国药典)
饮用水 (He 模式)	7850 饮用水应用方法 (使用碰撞反应池)

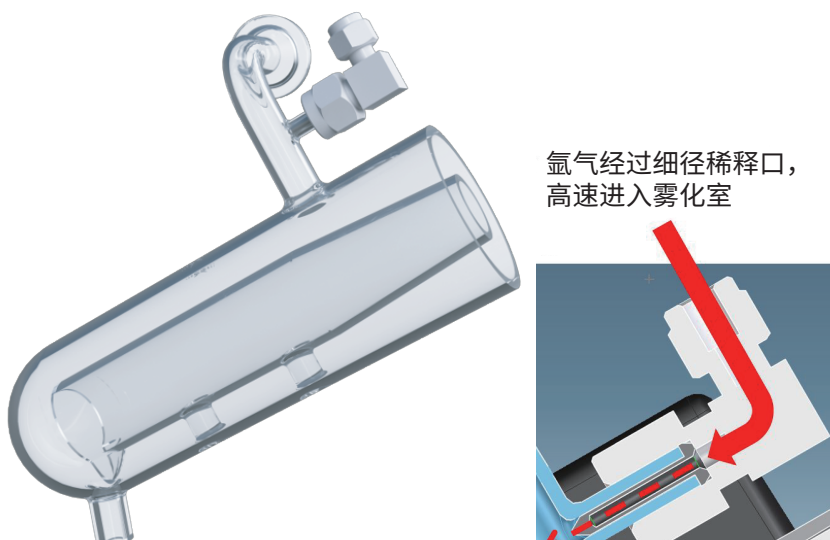
适用样品类型:
简单水溶液基体和酸消解样品 (固体溶解量低于 0.4%)。

预设待测元素:
Cu, As, Cd, Hg, Pb

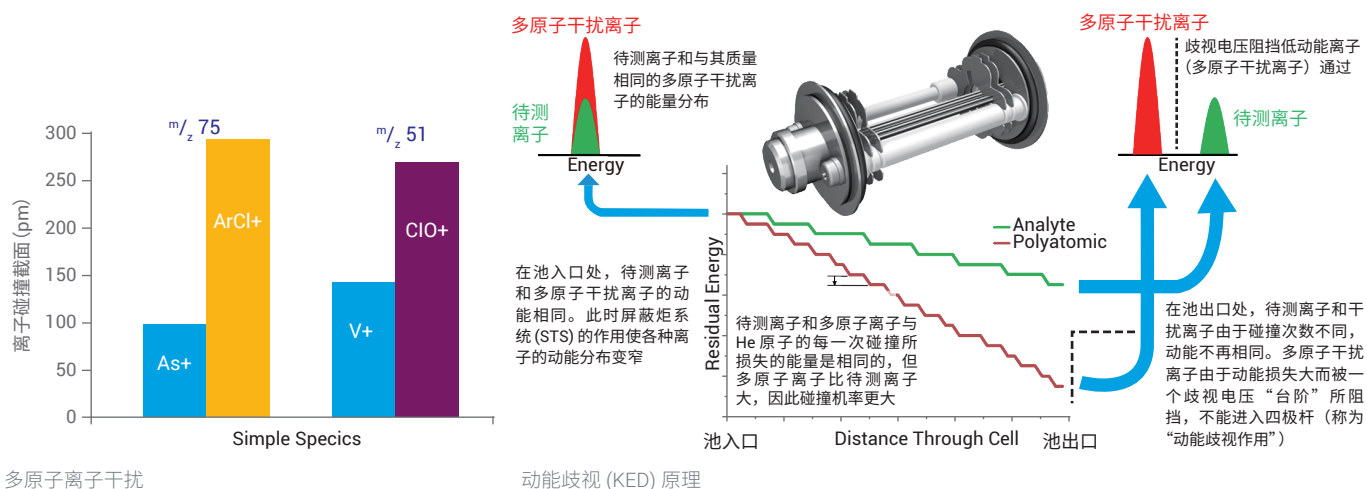
注释:
方法仅使用 **常规** 等离子体条件和 He 模式。选择合适的内标, 需要考虑待测元素和样品基体。

所需硬件:
7850、x 透镜、Micro Mist 雾化器

- 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:
 - a. 独特的超高基质进样 (UHMI) 系统, 可耐受总固体溶解量 (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。



- b. 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。如下图所示多原子离子干扰：多原子离子 $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ ，干扰待测离子 $^{75}\text{As}^+$ ；多原子离子 $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$ ，干扰待测离子 $^{51}\text{V}^+$ 。



含量测定

根据中药配方颗粒标准，随机选取三个品种，按照药典方法微波消解处理后进样分析。所得结果如下所示。

表 3. 黄芪标准物质 GBW10028 测定结果

元素	实测值 (mg/kg)	标示值 (mg/kg)
Cu	8.5	8.5 ± 0.7
As	0.52	0.57 ± 0.05
Cd	0.038	0.042 ± 0.010
Hg	0.013	0.012
Pb	1.5	1.4 ± 0.10

表 4. 实际样品测定结果

元素	药典限量值 (mg/kg)	金银花-1	金银花-2	黄芪-1	黄芪-2	当归-1	当归-2
Cu	20	8.602	9.924	1.873	1.896	1.439	1.447
As	2	0.182	0.29	0.437	0.661	0.235	0.454
Cd	1	0.082	0.079	0.008	0.006	0.003	0.003
Hg	0.2	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
Pb	5	0.344	0.351	0.056	0.058	0.05	0.045

表 5. 当归样品溶液加标回收率

元素	当归 (µg/L)	当归消解液加标 (µg/L)	加标回收率
Cu	5.822	7.893	104%
As	0.949	2.895	97%
Cd	0.013	2.029	101%
Hg	未检出	0.188	94%
Pb	0.202	2.174	99%

注：Hg 加标量 0.2 µg/L，其他元素 2 µg/L

表 6. 金银花样品溶液稳定性分析

元素	金银花-1 (µg/L)	金银花-2 (µg/L)	金银花-3 (µg/L)	金银花-4 (µg/L)	金银花-5 (µg/L)	金银花-6 (µg/L)	金银花-7 (µg/L)	RSD%
Cu	40.213	39.743	39.884	39.764	40.172	39.894	39.501	0.6%
As	1.167	1.177	1.145	1.184	1.146	1.15	1.186	1.5%
Cd	0.32	0.326	0.321	0.33	0.31	0.332	0.316	2.4%
Hg	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	/
Pb	1.413	1.389	1.381	1.376	1.359	1.361	1.375	1.3%

从结果可知，三个品种重金属的含量都远低于限值，结果合格。QC 样品黄芪标准物质 GBW10028 测定值与参考值吻合；随机选取一个当归样品溶液进行加标回收分析，所得回收率在 94%-104% 之间；随机选取一个金银花样品溶液进行稳定性分析，所得 RSD < 3%，表明该方法稳定可靠，适用于分析中药配方颗粒中的重金属元素。

中药配方颗粒药包材 相容性篇



针对中药配方颗粒药包材与药物相容性，安捷伦提供符合药典规定的解决方案

收录于话题

药包材研究在制药领域占有非常大的比重。国家食品药品监督管理局于 2015 年先后发布了 2015 年版《中国药典》及 130 项药包材国家标准，并于 2015 年 12 月 1 日起正式实施，为药包材相关研究提出了明确的指导原则与质量标准。

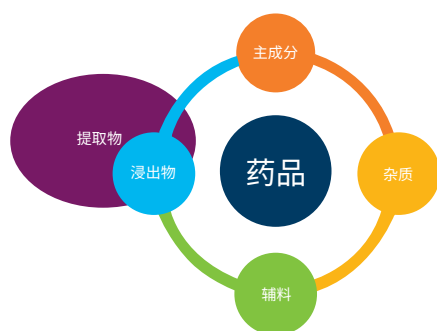
什么是药包材呢？

新版《中国药典》给出了如下定义：直接与药品接触的包装材料和容器，系指药品生产企业生产的药品和医疗机构配制的制剂所使用的直接与药品接触的包装材料和容器，按照材质、形制、用途可分为多种类别。

为什么要开展药包材与药物的相容性研究？

药包材与药物的相容性研究是选择药包材的基础。近年来，塑料包材的安全性问题引起了人们的关注。例如在制造聚氯乙烯 (PVC) 塑料包材过程中，为了增强塑料的稳定性，延迟塑料的老化，需加入作为热稳定剂的有机锡。问题来了，这种有机锡具有脂溶性特性，易进入人体以及其他生物体内，并在体内富集，对人体神经系统、肝脏、胆管、皮肤和内分泌系统均有危害。

药包材带给药品的潜在风险，一方面源自包材自身的质量问题（如密封性问题、滥用添加剂问题）；另一方面则是包材与制剂发生相互作用（迁移和吸附）。大家知道，药品中除了主成分外，杂质、辅料、可浸出物 (Leachable) 均是影响其安全性和有效性的重要因素（图 1），其中可浸出物源自药包材。可浸出物是通过迁移试验获得的从包材中迁移或因此而产生的并进入至药品中的物质。与之对应的另一名词是可提取物 (Extractable)，即通过提取试验获得的从包材中溶出的物质。一般情况下，可浸出物是可提取物的子集，但也有一些可浸出物是新产生的成分，如可提取物的降解产物。



在《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》中提到：“直接接触药品的包装材料或容器应符合药用要求，并提供相关的证明性文件、来源、质量标准、检验报告书及选用依据，必要时应进行相容性研究。”药品与包材相容性试验是为考察药品包装材料与药物之间是否因发生迁移或吸附等现象而影响药物质量所进行的一种试验，是选择药包材的基础。

图 1. 药品组成要素

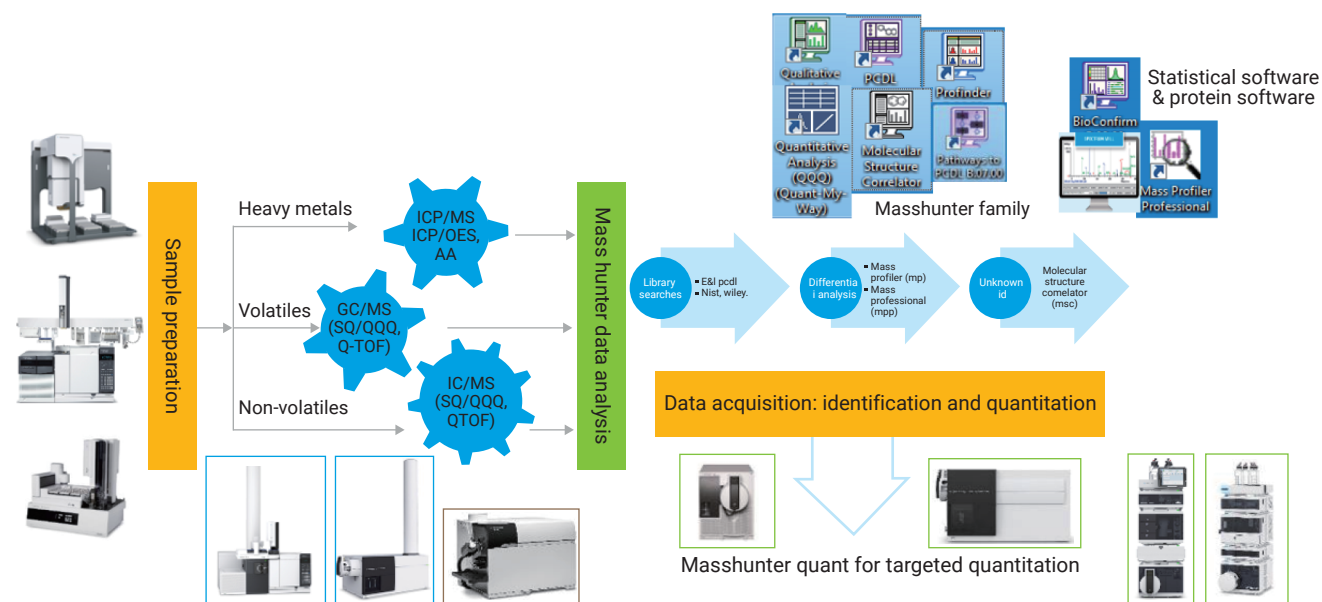
相容性试验设计可参考《药品包装材料与药物相容性试验指导原则》(YBB00142002-2015), 以及针对塑料、玻璃和弹性体密封件等材料的相容性研究技术指导原则。试验围绕包装材料风险等级、包装组件和成分、可萃取物与可浸出物 (Extractables and Leachables, E&L) 的研究等, 进行合理的设计和探讨, 建议的研究内容包括:

- 搜集与包装材料的组件及组成及使用条件相关的背景信息
- 编制包括下列项目的可萃取物分析研究方案:
 - a. 样品选择
 - b. 萃取方案
 - c. 分析评价
- 风险评估: 根据已知化合物可用的毒理学资料或利用新化合物的构效关系来评估可萃取物和可渗出物的安全风险
- 可萃取物的检测、鉴定、定量分析以及毒理学阈值的确定

安捷伦药品包装材料分析策略

安捷伦为药品包装材料分析提供了最全面的产品组合, 涵盖从元素分析到有机物分析的全部领域。由于质谱类产品 (包括 GC-MS、LC-MS 和 ICP-MS) 具有选择性和灵敏度的优势, 因此它们在 E&L 分析中至关重要。安捷伦拥有全线质谱类产品, 统一采用 MassHunter 软件进行系统控制和数据分析。

安捷伦药品接触包材分析策略



利用安捷伦 LC-MS/MS 分析药包材中超过 320 种 E&L 化合物

2020 年版《中国药典》第四部加强了药包材通用检测方法的收载，进一步扩充了药典药包材标准体系，为后续药包材标准体系的整体完善奠定了基础。本篇介绍了利用安捷伦液相色谱三重四极杆质谱联用仪 (LC-MS/MS) 建立的分析 320 多种高关注度 E&L 化合物的全流程解决方案。

1. 药包材 E&L 检测相关法规及要求

药包材是指和药品包装的相关材料，对于保证药品的稳定性起到重要作用。目前，我国拥有三大类、32 小类，超过 6000 种有质量标准的药包材。2019 年，药包材市场总额超过千亿，其中塑料包装和金属及其复合材料包装比重分别为 43.3% 和 24.0%，已经逐渐取代玻璃成为主流产品。从产业链的角度来看，药包材上游原材料行业主要包括有色金属、玻璃、塑料、橡胶、造纸等；对医药包装业有需求的下游产业主要有化学原料药、化学药品制剂、中成药、生物制药等制药行业。因此，作为“中枢”产业，做好药包材的质量控制对制药行业至关重要。

2015 年版《中国药典》中首次收载了 9621<药包材通用要求指导原则>和 9622<药用玻璃材料和容器指导原则>两个指导原则，开启了药包材标准纳入《中国药典》的序幕，也强化了对药包材及其重要门类玻璃材料的总体要求。基于对药包材标准体系的进一步研究，按照“总体规划，分步推进”的原则，2020 年版《中国药典》第四部中加强了药包材通用检测方法的收载，新增通用检测方法 16 个，进一步扩充了药典药包材标准体系，为后续药包材标准体系的整体完善奠定了基础。包含如下药包材通用要求指导原则：

- 《药品包装材料与药物相容性试验指导原则》
- 《化学药品注射剂与塑料包装材料相容性研究技术指导原则》
- 《化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则》
- 《吸入气雾剂包装系统提取研究指南》

药物包装材料的质量安全也会直接影响药品质量和用药安全。尤其是药包材中可提取物及可浸出物 (E&L) 中含的高关注度有毒有害化合物，将直接影响用药的安全性。由于药品包装材料、容器组成配方、所选择的原辅料及生产工艺的不同，导致不恰当的材料引起药物效果欠佳，有的还会产生副作用。因此，对包材和生产组件（过滤、密封材料）可提取物及可浸出物中含的高关注度有毒有害化合物评价也是中药配方颗粒新药研发中的重要一环。在报批时，要求提供直接接触药品包装材料的质量标准，同时附申报品种生产批次涉及包材批次的检验报告。

中药配方颗粒的包材和生产组件很多是由聚合物材料组成，而聚合物材料组成复杂，除常见的添加剂（例如抗氧化剂、增塑剂、硫化剂等）以外，还包含很多有风险的其他添加剂及聚合物中的分子量较小的寡聚体或单体。这些添加剂及其他有毒有害化合物都是药包材中重点关注的可提取物及可浸出物，需要提供相应的评价报告。由于国内外关注的相关化合物种类和数量众多（超过 1000 种），因此所需的分析仪器包括气质联用分析仪、液质联用分析仪、无机元素分析仪器等。

2. 药包材 E&L 检测的挑战

有机 E&L 化合物检测难度非常大，除适合气质联用分析仪检测的溶剂残留等 VOC 及部分 SVOC 以外，其中大量 E&L 化合物需要通过液质联用分析仪进行分析。目前，市场上非常缺乏针对多目标 E&L 的高效 LC-MS/MS 分析方法。常见的单一方法仅适用于分析单类化合物或 30 种以下的 E&L 化合物，必须依靠多种分析方法才能得到比较全面的 E&L 化合物分析结果。

3. 安捷伦 LC-MS/MS E&L 全流程解决方案

利用安捷伦液相色谱三重四极杆质谱联用仪 (LC-MS/MS) 建立了用于分析超过 320 种高关注度 E&L 化合物的全流程解决方案。

这些高关注度 E&L 化合物包括抗氧化剂、增塑剂、硫化剂等，涵盖下列法规和数据库中适合 LC-MS/MS 检测的化合物：

- 《化学药品注射剂与塑料包装材料相容性研究技术指导原则》
- 《化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则》
- 国际 ELSIE 数据库（2020 年版）

用户可直接应用经优化的两种高效分析 E&L 大方法检测 300 多种高关注度 E&L 化合物，更快获得 E&L 检测报告，节省宝贵的人力和物力。



对于复杂的样品分析，用户可利用经验证的 dMRM 数据库（包含 320 多种 E&L 化合物）中提供的离子对信息，更好地避免潜在干扰，进一步确认结果并优化方法。

Select Transitions		Set primary and trigger flags		Rank transitions by															
<input type="radio"/> Select top	<input type="text" value="1"/> ranked transitions	<input type="radio"/> Set top	<input type="text" value="2"/> ranked transitions as primary	<input type="radio"/> Abundance	<input type="radio"/> Response Factor														
<input type="radio"/> Penalty transitions	<input type="radio"/> Secondary transitions	<input type="button" value="Select Transitions"/>		<input type="button" value="Set Penalties and Trigger"/>															
<input type="checkbox"/>	Compound Name	Abundance	Formula	MW	Polarity	Species	Precursor	Product	Frag	CE	CAV	Primary	Trigger	RT	RT Windo	RF	Acq Method	Project Name	User Lists
<input type="checkbox"/>	irgaxox.3114	80	C48H69NO6		Negative	782.5	243.3	192	50	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	irgaxox.3114	97	C48H69NO6		Negative	782.5	229.5	192	10	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	disperse Red 1	2674685	C18H18NO3		Positive	315.2	194.1	90	26	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	disperse Red 1	1091963	C18H18NO3		Positive	315.2	122	90	42	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	disperse Red 1	1527852	C18H18NO3		Positive	315.2	255	90	30	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	disperse Red 1	772618	C18H18NO3		Positive	315.2	147.1	90	34	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	disperse Red 1	828329	C18H18NO3		Positive	315.2	106.1	90	50	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	disperse Red 1	754521	C18H18NO3		Positive	315.2	92.1	90	55	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	disperse Red 1	294630	C18H18NO3		Negative	313.1	227	90	18	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	disperse Red 1	227602	C18H18NO3		Negative	313.1	283.1	90	6	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	disperse Red 1	66126	C18H18NO3		Negative	313.1	268	90	14	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	disperse Red 1	47889	C18H18NO3		Negative	313.1	197	90	30	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	disperse Red 1	18761	C18H18NO3		Negative	313.1	46.2	90	54	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	disperse Red 1	22302	C18H18NO3		Negative	313.1	238	90	28	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Pentyl isopentyl phthalate	9183434	C18H26O4		Positive	307.2	149	85	14	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Pentyl isopentyl phthalate	4282738	C18H26O4		Positive	307.2	43.2	85	46	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Pentyl isopentyl phthalate	5781032	C18H26O4		Positive	307.2	71.2	85	14	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Pentyl isopentyl phthalate	5725636	C18H26O4		Positive	307.2	219	85	2	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Pentyl isopentyl phthalate	2070219	C18H26O4		Positive	307.2	65.2	85	55	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Pentyl isopentyl phthalate	1395156	C18H26O4		Positive	307.2	121	85	46	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Pentyl isopentyl phthalate		C18H26O4		Negative	305.2		70				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Disperse orange 3	2901573	C12H10NO2		Positive	243.1	122	90	18	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Disperse orange 3	1441210	C12H10NO2		Positive	243.1	75.1	90	38	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Disperse orange 3	1172178	C12H10NO2		Positive	243.1	92.1	90	26	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Disperse orange 3	951266	C12H10NO2		Positive	243.1	76	90	38	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Disperse orange 3	633878	C12H10NO2		Positive	243.1	50.2	90	55	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Disperse orange 3	322847	C12H10NO2		Positive	243.1	64.1	90	36	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Disperse orange 3	109530	C12H10NO2		Negative	241.1	122	126	26	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Disperse orange 3	517241	C12H10NO2		Negative	241.1	48.2	126	55	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Disperse orange 3	36365	C12H10NO2		Negative	241.1	211	126	22	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Disperse orange 3	20543	C12H10NO2		Negative	241.1	91.7	126	34	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Disperse orange 3	15267	C12H10NO2		Negative	241.1	91	126	36	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Disperse orange 3	22156	C12H10NO2		Negative	241.1	136	126	22	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A2-B	Extractables and Leachables	
<input type="checkbox"/>	Direct black 38	7703	C34H27N8O7		Positive	738.2	107.1	289	50	4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				D\MassHunter\methods\E and L\E-L_A1-B	Extractables and Leachables	

如果用户需要分析的 E&L 化合物种类和数量不多，可以从大方法中根据 E&L 种类索引和化合物索引，轻松建立自己关注的 E&L 化合物的分析方法，快速获得所需的结果。

实例：利用 LC-SQ 和 LC-QQQ 对胶塞中的 E&L 进行定性和定量分析

样品提取：取适量胶塞样品，剪碎；用二氯甲烷在 40 °C 微波加热条件下提取 45 min 后，用氮气吹干；然后，将其复溶于 1 mL 中，并进样分析。

目标 E&L：参照《化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则》5.3.5 密封件材料可能需要重点关注的可提取物，以及胶塞中的其他常见 E&L，共 35 种。

利用 LC-SQ 筛查并定量分析胶塞中的 E&L

安捷伦 LC-SQ 系统可以在制药 QC 实验室中快速、有效地对包装材料中的可浸出物进行靶向筛查，提供包括 RT、UV 和 MS 在内的信息，建立可浸出杂质的靶向分析方法。软件平台提供简单易用的搜索能力和计算换算能力，并保证合规所需的数据安全性、完整性和可追溯性。

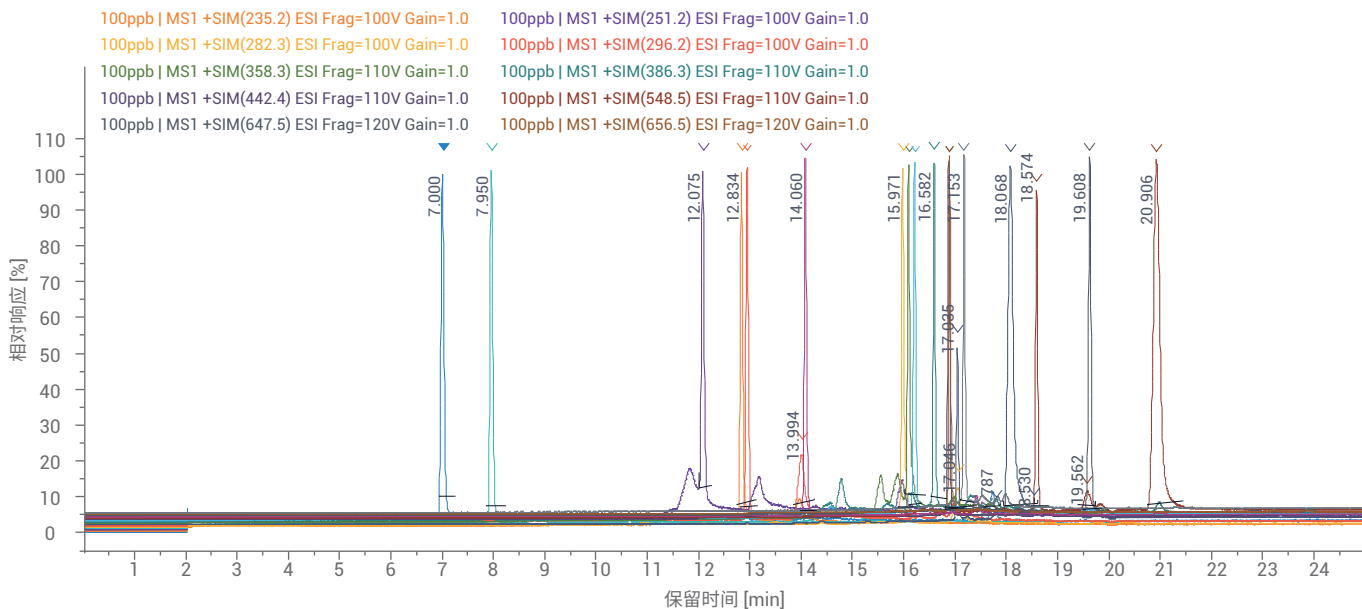


图 1. 16 种胶塞中常见成分 (100 ppb) 的筛查结果

利用 LC-QQQ 定量分析胶塞中的 E&L

三重四级杆质谱系统具有更低的检测限和更强的抗基质干扰能力，适合对复杂样品中的目标组分进行定量分析，尤其适合分析毒性较强、限量较低的 E&L。

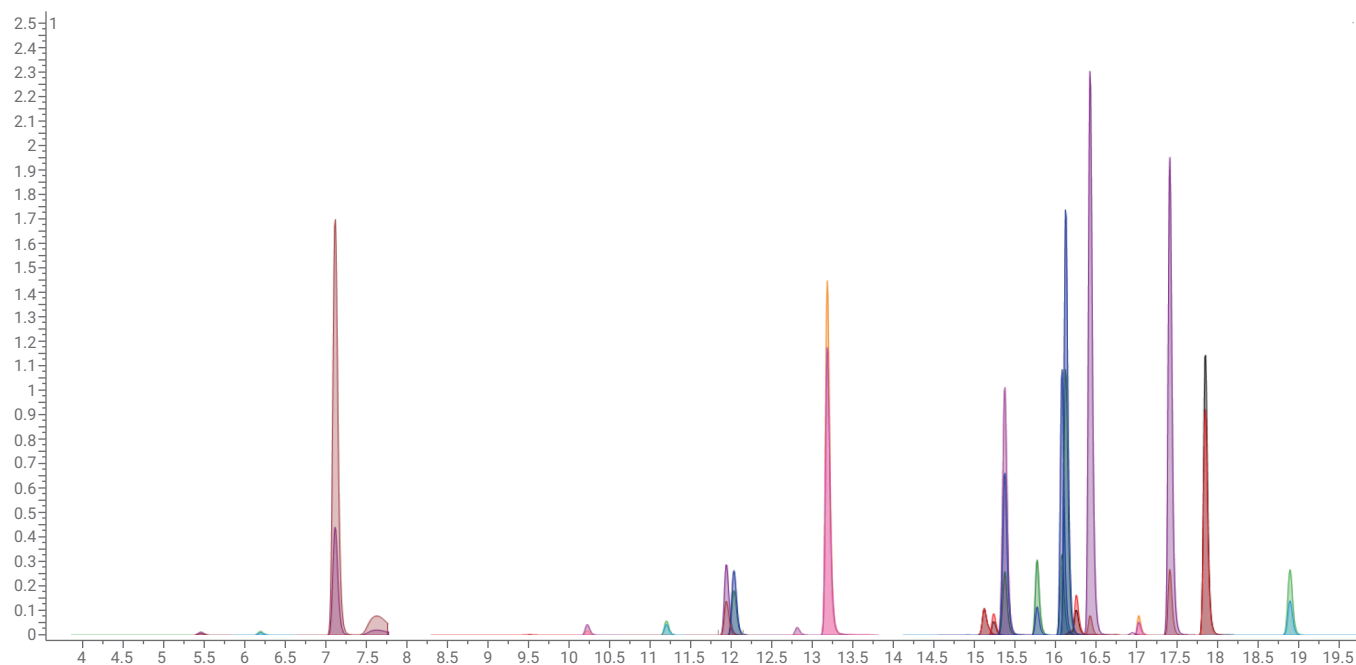


图 2. 35 种胶塞中常见成分 (100 ppb) 的 MRM 色谱图

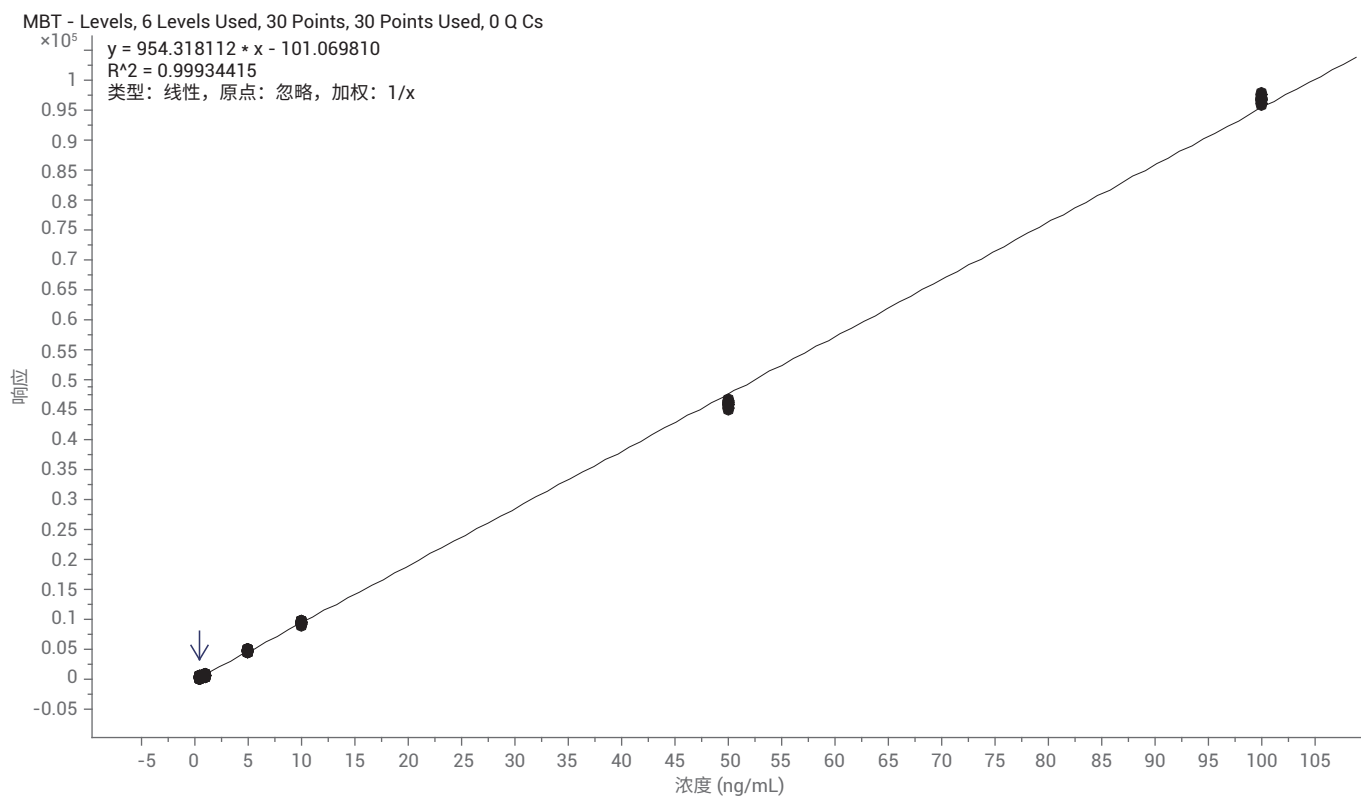


图 3. MBT (2-巯基苯并噻唑) 在 0.5 ng/mL–100 ng/mL 范围内的校准曲线, $R^2 > 0.999$

安捷伦可萃取物与可浸出物 PCDL 及 LC-QTOF 对“非故意添加组分”的分析

安捷伦提供高品质 E&L PCDL 数据库和谱库，其中包含 1000 多种可萃取物与可浸出物信息、精确质量以及准确的 MS/MS 谱图，与 LC-QTOF 非靶向筛查流程结合，可有效鉴定非故意添加的 E&L 组分。此外，根据全离子 MS/MS 谱图采集，可以对几乎无限多的化合物进行回顾性分析。用户可随时对数据进行再次分析或挖掘，而无需再次运行样品。

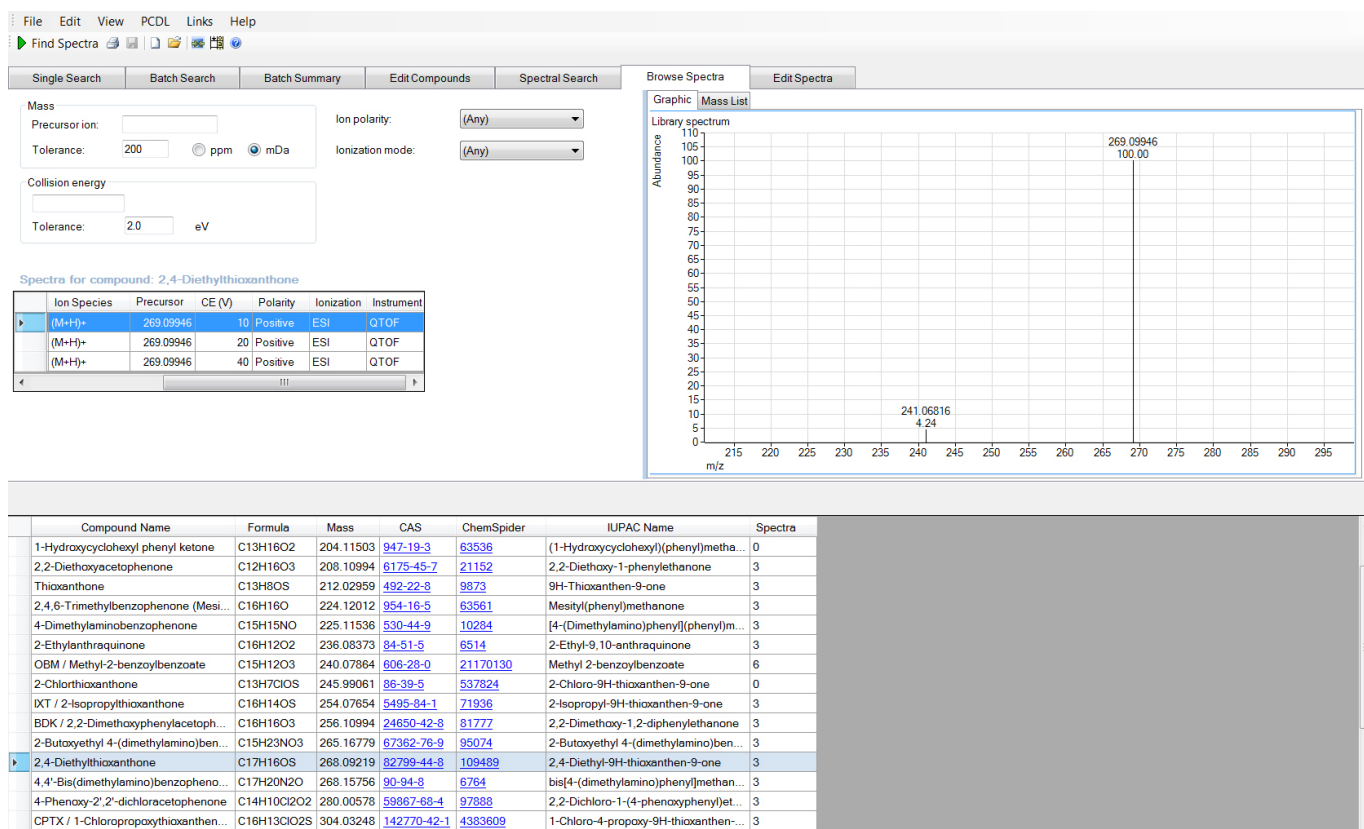
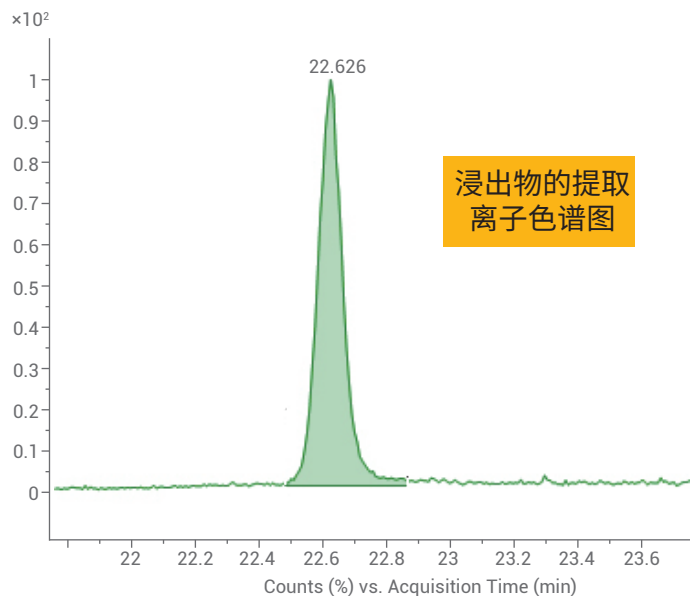
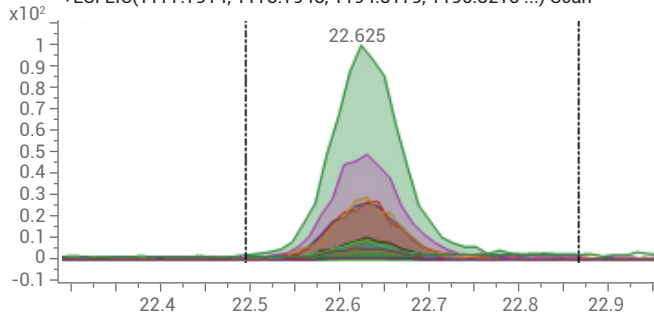


图 4. E&L PCDL 数据库和谱库示例

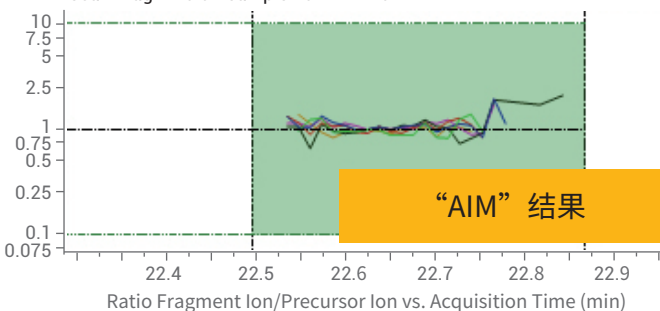
Cpd 13 : Irganox 1010; C73 H108 O12; 22.626:
+ ESI EIC (1177.7914, 1178.7948, 1194.8179, ...)



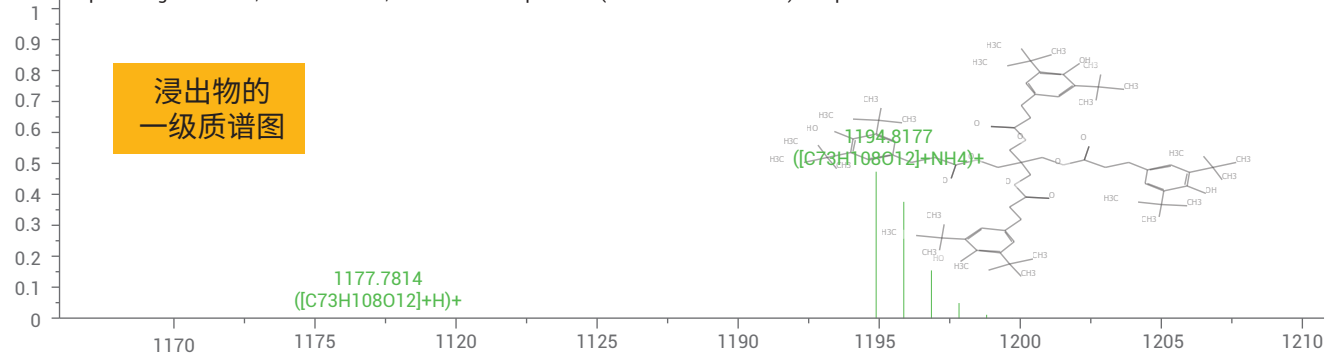
Cpd 13: Irganox 1010; C73 H108 O12; 22.625:
+ESI EIC(1177.7914, 1178.7948, 1194.8179, 1195.8213 ...) Scan



Cpd 13: Irganox 1010; C73 H108 O12; 22.625: +ESI EIC-Frag(787.4780)
Scan Frag=120.0V sample 10x-AIM-r0



Cpd 13: Irganox 1010; C73 H108 O12; 22.626: + FBF Spectrum (rt: 22.552-22.709 min) sample 10x-r003.d



Cpd 13: Irganox 1010; C73 H108 O12; 22.626: +ESI Scan (rt: 22.552, 22.560, 22.568, 22.576 ... min, 20 scans) Frag=120.0V sample 10x-r003.d

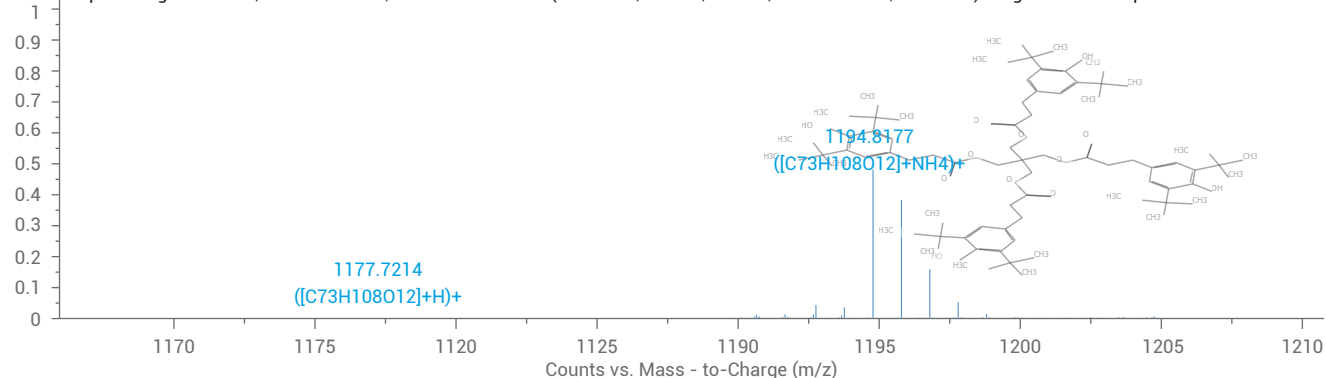


图 5. 口服液样品浸出实验，通过与 E&L PCDL 的快速比对，筛查出化合物 Irganox 1010

借助 Mass Profiler 软件, 可通过对比多个样品集及鉴定多组样品相似或差异特征来实现差异分析。由于每个分析样品可能包含上百个信号, 并且针对“非故意添加组分”的筛查极易受到环境和实验条件的干扰(例如有机溶剂中的增塑剂、样品前处理中引入的杂质等), 因此差异分析对于 E&L (尤其是可萃取物) 的分析尤其重要。在比较样品和参照物时, 样品-样品或批次-批次差异分析工具可大幅提高流程效率, 同时重点关注解析样品集之间的差异。

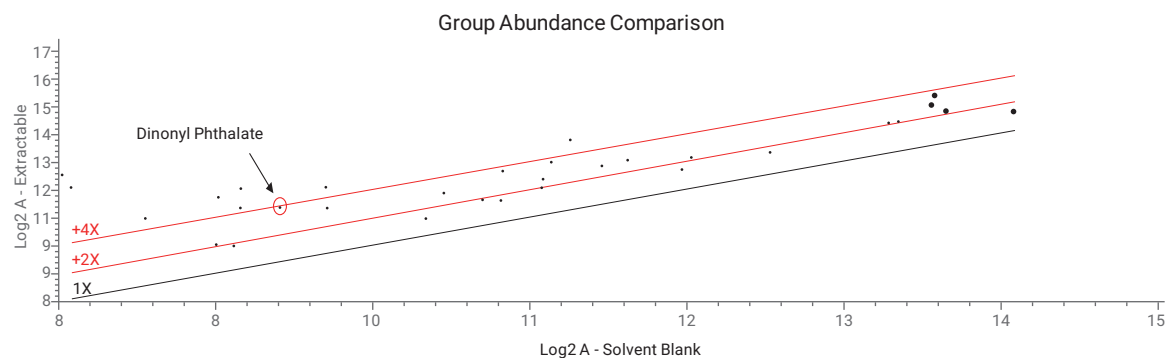


图 6. 结合 LC-QTOF、Mass Profiler 及 E&L PCDL 评价眼药水中的 E&L

使用配备低能量 EI 离子源的高分辨率精确质量数 GC/Q-TOF 分析可萃取和可浸出化合物

准确的化合物鉴定对于研究可萃取和可浸出 (E&L) 化合物来说至关重要。E&L 萃取物极其复杂，包含不同种类和浓度的化合物，为化合物鉴定带来了极大的挑战。E&L 研究中适合采用气相色谱分析的部分通常采用单位质量数 GC/MS 在标准 EI 全扫描模式下进行，通过 NIST GC/MS 谱库搜索进行化合物鉴定。如果这些化合物没有令人信服的谱库匹配得分，则该技术仅能提供有限的信息。以下部分介绍了一种新的工具来研究 E&L 化合物，采用配置低能量 EI 离子源的高分辨率的精确质量数 GC/Q-TOF 进行分析，该方法具有更高的灵活性和可靠性。



图 1. Agilent 7250 系列 GC/Q-TOF 系统

实验部分

仪器分析

采用 Agilent 7250 系列 GC/Q-TOF 系统 (图 1)，在表 1 所列的运行条件下分析样品萃取物和对照物。注入正构烷烃用于校准采集方法的保留因子 (RI)。

表 1. Agilent 7250 GC/Q-TOF 色谱条件

参数	值
色谱柱	Agilent DB-5 MS UI, 15 m × 0.25 mm, 0.25 μm
进样口	S/SL, 310 °C
载气	1.5 mL/min 氮气
柱温箱升温程序	50 °C 保持 5 min 以 10 °C/min 的速率升至 320 °C, 保持 10 min
传输线	280 °C
离子源模式	EI, 70 eV, 10-15 eV
离子源温度	200 °C
四极杆温度	150 °C
光谱范围	50-1000 m/z

数据分析

采用 Agilent MassHunter 未知物分析软件 B.08.00 的 SureMass 信号处理功能得到谱图，然后与 NIST 14 GC/MS 谱库进行匹配，从而对化合物进行鉴定 (图 2)。使用 Agilent MassHunter 分子结构关联软件 B.08.00 对未知物候选物基于 MS/MS 谱图进行结构鉴定。Agilent Mass Profiler Professional B.13 用于样品组之间的差异分析。

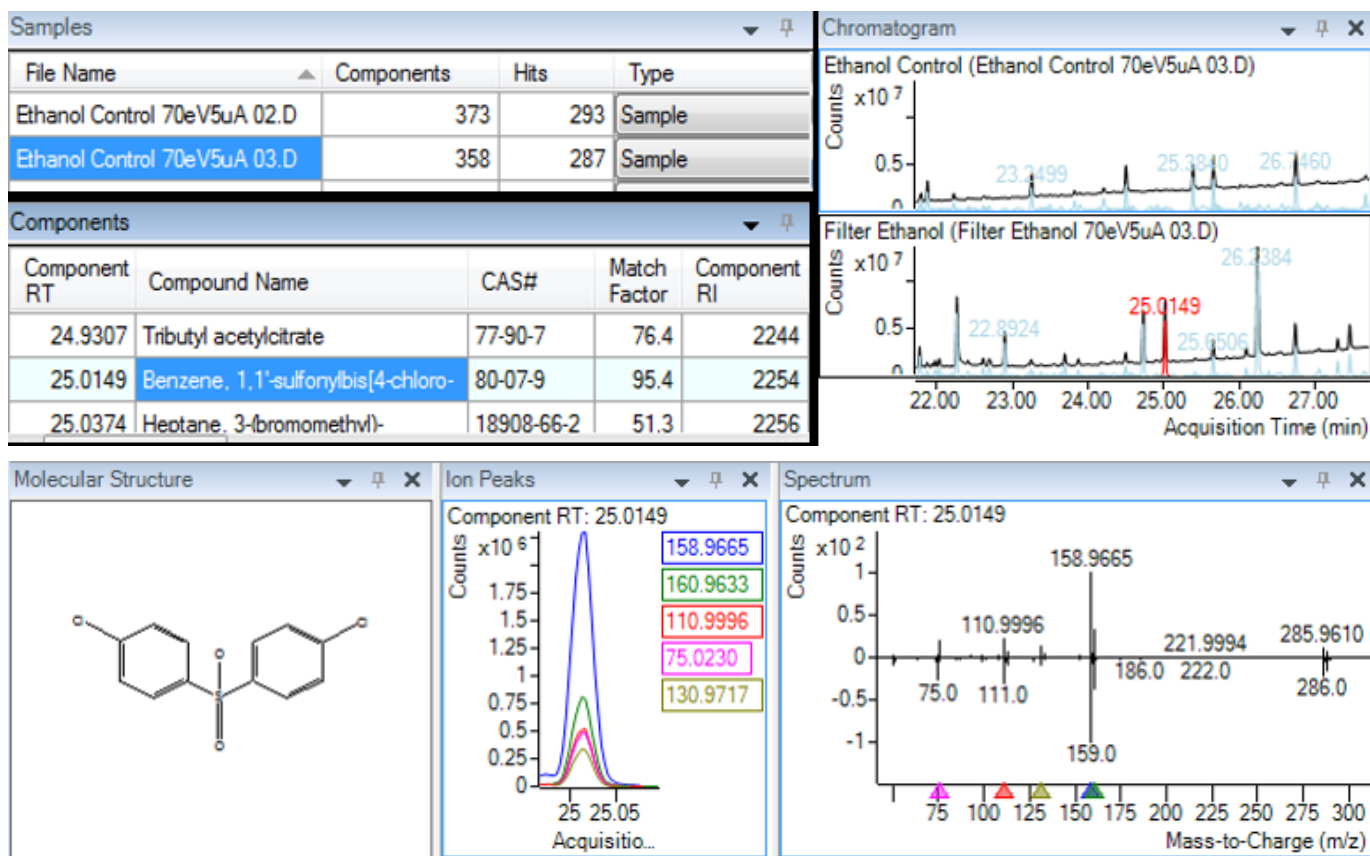


图 2. 用于 SureMass 峰检测和谱库匹配的 Agilent MassHunter 未知物分析工具软件

样品前处理

使用乙醇和水/乙醇 (1:1) 溶液萃取模型处理单元的组分。对照物和样品的萃取容器置于烘箱 (50 °C) 中, 以 50 rpm 的速度振荡 72 小时。采用 37 °C 的 300 mL 盐水溶剂不断循环 72 小时, 对全套装置的可浸出物进行萃取。每种萃取溶液 (除乙醇外) 都采用等量的二氯甲烷萃取, 然后浓缩为十分之一用于 GC/Q-TOF 分析。

结果与讨论

盐水萃取物与空白对照 (可浸出研究)

显著性分析结果表明, 全套装置的盐水萃取物中有 113 种化合物, 与空白对照相比, 其倍数变化 ≥ 3 且 P 值 ≥ 0.05 (图 3)。表 2 展示了丰度最高的组分。

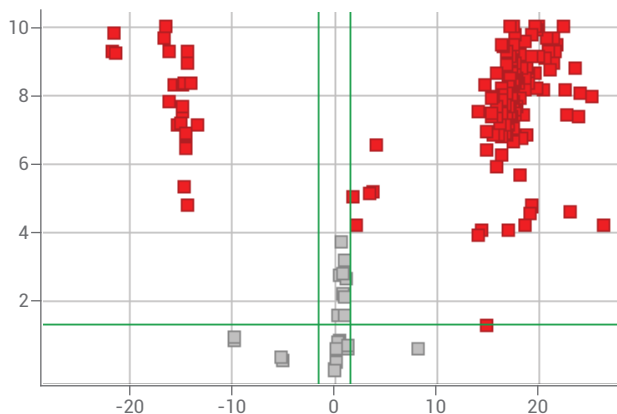


图 3. 火山图显示了以显著水平存在于盐水萃取物中的化合物 (右上)

表 2. 化合物鉴定列表 (前 29 种)

化合物	分子式	RI	质量数偏差 (mDa)
己酰胺	C ₆ H ₁₁ NO	1268	0.2
苯酚	C ₆ H ₆ O	978	0.0
三丙二醇单甲醚	C ₁₀ H ₂₂ O ₄	1315	0.0
三丙二醇甲基乙基醚异构体 1	C ₁₀ H ₂₂ O ₄	1291	-0.2
三丙二醇甲基乙基醚异构体 2	C ₁₀ H ₂₂ O ₄	1294	-0.2
三丙二醇甲基乙基醚异构体 3	C ₁₀ H ₂₂ O ₄	1289	0.0
初步鉴定化合物	不适用	1572	不适用
三丙二醇甲基乙基醚异构体 4	C ₁₀ H ₂₂ O ₄	1286	-0.1
4-乙酰氧基-苯甲酸乙酯	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	1527	0.1
初步鉴定化合物	不适用	1659	不适用
香草醛	C ₈ H ₆ O ₃	1399	-0.1
己酰胺	C ₆ H ₁₃ NO	1144	-0.2
初步鉴定化合物	C ₈ H ₁₂ O ₃	1403	0.1
7,9-二叔丁基-1-氧杂螺(4,5)癸-6,9-二烯-2,8-二酮	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	1908	-0.2
初步鉴定化合物	C ₁₅ H ₂₂ O	1476	0.4
对羟基苯甲酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₃	1522	0.2
1-甲基-2-吡咯烷酮	C ₅ H ₉ NO	1040	0.3
2,4-二叔丁基苯酚	C ₁₄ H ₂₂ O	1507	0.0
初步鉴定化合物	C ₈ H ₈ O	1069	-0.2
1,3-二甲基-2-咪唑啉酮	C ₅ H ₁₀ N ₂ O	1109	0.3
N-环己基-乙酰胺	C ₈ H ₁₅ NO	1292	0.2
二乙二醇丁醚	C ₈ H ₁₈ O ₃	1187	-0.2
2,5-二特丁基对苯二酚	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	1467	0.0
2-苯基-2-丙醇	C ₉ H ₁₂ O	1088	-0.3
初步鉴定化合物	不适用	1014	不适用
苯并噻唑	C ₇ H ₅ NS	1232	0.2
邻苯二甲酸二甲酯	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	1452	0.1
初步鉴定化合物	C ₁₃ H ₂₀ O ₂	1349	0.5

萃取溶剂的影响 (可萃取研究)

对比由乙醇和乙醇/水 (1:1) 萃取的设备中的各个组分的萃取物, 以揭示萃取溶剂的影响。

低能量 EI 研究

低能量 EI 实验提高了保留或确证谱图中分子离子 (M⁺) 的几率, 如图 4 所示。

图 5 显示了采用低能量 EI 和 Q-TOF MS/MS 研究未知化合物 (两种溶剂萃取组之间共有的化合物) 的工作流程。可能的候选物为苯甲醇衍生物。

图 7 显示了低能量 EI 谱图, 也有助于可靠鉴定乙醇萃取物特有的许多烷烃化合物。

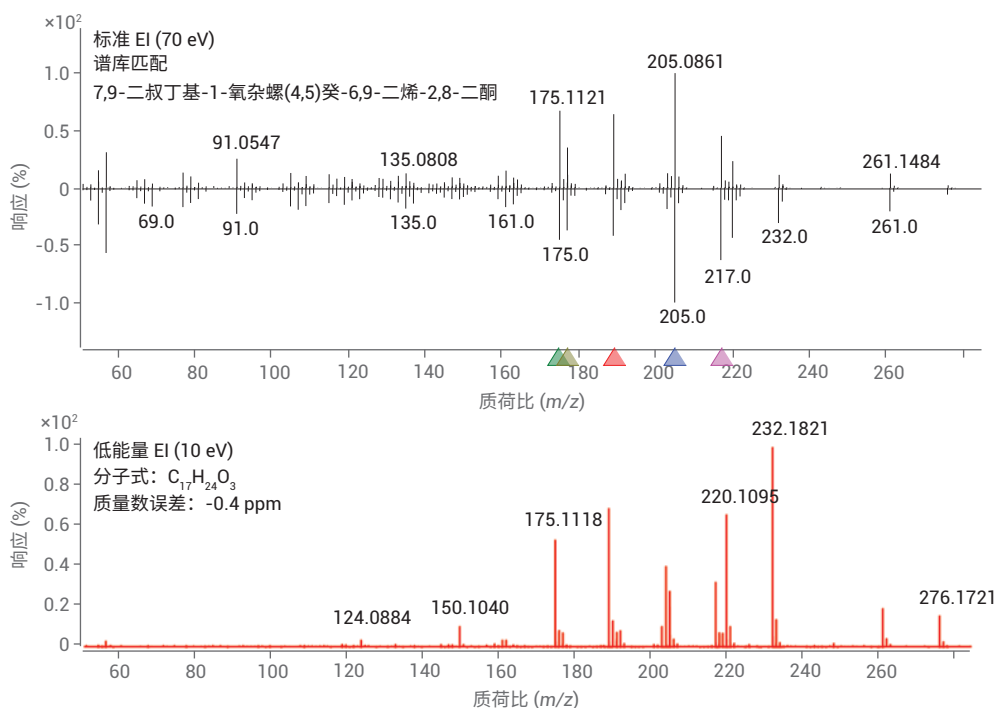
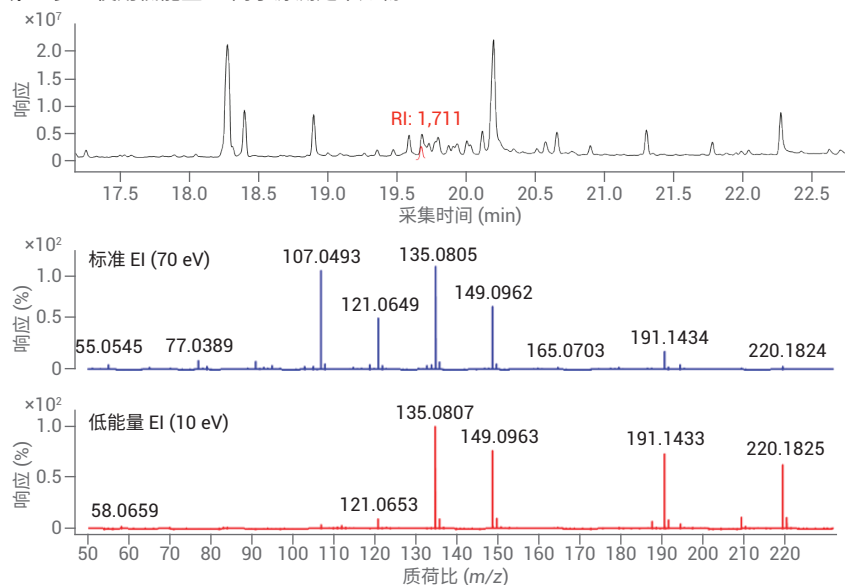
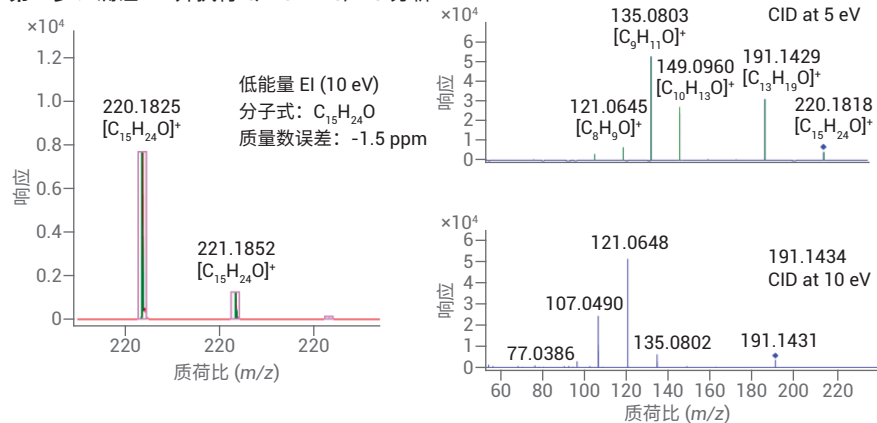


图 4. 低能量 EI 提高了 M⁺ 在化合物谱图中的相对丰度, 此化合物经可靠鉴定, 其匹配得分为 92.6 (RI:1908)

第 1 步：使用低能量 EI 离子源测定未知物



第 2 步：确证 M⁺ 并执行 Q-TOF MS/MS 分析



第 3 步：可能的候选物的结构鉴定

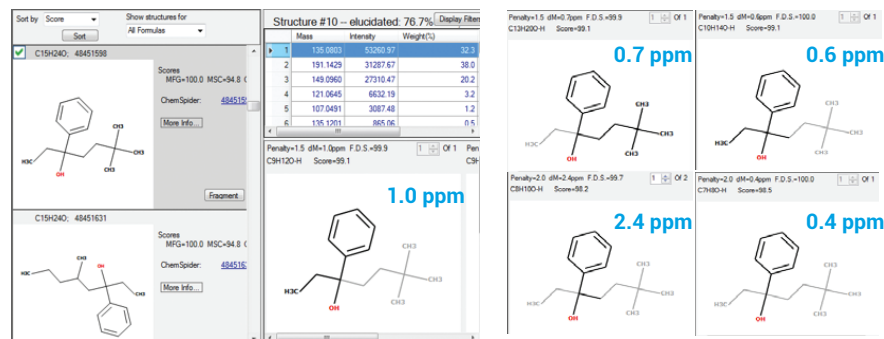


图 5. 使用低能量 EI 对未知化合物进行研究，采用 Agilent MassHunter 分子结构关联软件对可能的候选物进行结构解析

结论

- 低能量 EI 提高了保留或确证 (M⁺) 的几率，并且精确质量数 MS/MS 谱图为未知化合物的结构鉴定提供了有价值的信息
- 精确质量数测定和 RI 校准可提高化合物鉴定结果的可靠性
- 差异分析有助于比较样品组中的 E&L 化合物

文献出处

Kevin Rowland, Mark Jordi, Kai Chen & Jennifer Sanderson. 使用配备低能量 EI 离子源的高分辨率精确质量数 GC/Q-TOF 分析可萃取和可浸出化合物；安捷伦科技（中国）有限公司，5991-8198CHCN

安捷伦药包材无机元素分析 ICP-MS 解决方案

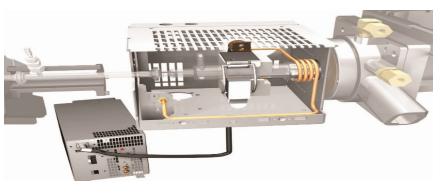


图 1. 变频式 RF 发生器

在中药配方颗粒国家标准申报资料中，需要提供申报品种与所用包材的相容性研究资料。2020 年版《中国药典》中收载了《药包材通用要求指导原则》，其中在考察药包材对药物质量的影响时，在提取和迁移研究中通常使用电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS) 测定金属元素含量。

但中药配方颗粒及药包材无机元素分析面临众多挑战。首先，中药配方颗粒品种较多，某些品种样品经处理会产生显著的基质效应；其次，传统 ICP-MS 仅可耐受含盐量 0.2% 的样品，在分析高基质样品时难以得到理想的效果（表现为稳定性差、灵敏度低），并且对采样锥和炬管的损耗增大。解决基质效应的传统方法是采用手动稀释，但手动稀释可能造成稀释误差，提高样品污染风险，导致灵敏度下降、工作量增加。

Agilent 7850 电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 系统领先于其他品牌 ICP-MS 之处在于，率先配备了超高基质进样系统 (UHMI)。该系统是当前业内最成熟的在线自动气体稀释技术，能够使 7850 ICP-MS 耐受含盐量高达 25% 的样品。因此，用户无需手动稀释即可直接分析含盐量高的样品。另外，基质效应的消除有助于获得准确的分析结果并延长仪器维护周期和使用寿命。省去手动稀释，不仅减少了用户工作量，而且消除了手动稀释带入偶然污染的风险。此外，UHMI 操作简便、灵活，可通过选择预设稀释级别或手动无级调节稀释倍数等方式，对不同基质浓度的样品进行不同倍数的稀释，既保证稀释效果又兼顾稀释后的灵敏度。

对药品包装材料的性质进行全面评估时，需要采用性质各异的提取溶剂对其进行提取。常见的提取溶剂包括去离子水以及乙醇等有机溶剂。传统 ICP-MS 能够很好地耐受水相、稀无机酸相和低比例的有机相，但高比例有机相对其构成挑战。Agilent 7850 ICP-MS 采用计算机数字式控制频率，在样品改变时可立即变频耦合消除反射功率，而后在分析时恢复 27.12 MHz 的高精度固定频率，可实现在水溶液与 100% 乙醇之间切换时不灭火，轻松应对药包材分析中所用的不同有机提取溶剂。

ICP-MS 方法包

试剂和样品

去离子水，电阻率小于 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ 。

浓硝酸，优级纯。

校准标样制备：采用安捷伦多元素校准标准品（部件号 8500-6942，10 mg/L）作为 Si、B、Ti 三种元素的储备液，经稀释后制得校准标样；采用安捷伦多元素校准标准品（部件号 5183-4682，其中 Na、K、Ca、Mg、Fe 1000 mg/L，其它元素 10mg/L）作为 Na、K、Ca、Mg、Fe、Al、Ba、Zn、Mn、Cd、Co、Cr、Pb、As、Sb 的储备液，经稀释后制得校准标样；并采用安捷伦校准标准品（部件号 8500-6940，10 mg/L）作为 Li 的储备液，经稀释后制得校准标样。

采用 1 mg/L Sc、Rh、In、Bi 作为内标。

仪器和设备

本研究采用 Agilent 7850 ICP-MS 系统，主要仪器参数如下：

RF 功率：1550 W；雾化气流量：1.10 L/min；样品提升速度：0.1 rps；

氧化物指标 $\leq 1.5\%$ ，碰撞反应池 He 流速：4.5 mL/min。



分析步骤

按照《化学药品注射剂与药用玻璃包装容器相容性研究技术指导原则》中推荐提取实验条件进行样品前处理，将处理后的样品溶液用硝酸酸化后微波消解；将消解后的溶液转移到容量瓶中并用去离子水定容，摇匀后得到供试液。

使用 Autotune 功能自动完成仪器调谐，优化仪器工作参数。调用安捷伦药包材设计的 e-Method 方法模板，按照设定好的方法对供试液和对照样品进行测定。

灵敏度与线性范围

安捷伦 ICP-MS 具有业内最出色的灵敏度以及涵盖最多 11 个数量级的线性范围。在本研究中，方法学验证所得到的各种元素分析物的校准曲线方程、相关系数、线性范围及检出限见表 1。

表 1. 各元素的校准曲线方程、相关系数、线性范围及检出限

元素	回归方程	相关系数 (R)	校准曲线线性范围 (µg/L)	检出限 (µg/L)
Li	$Y = 0.0069 * x + 0.00007$	0.9993	2-100	0.002
B	$Y = 0.0024 * x + 0.0104$	0.9998	10-1000	0.007
Na	$Y = 0.0081 * x + 0.207$	1.000	50-50000	1.54
Mg	$Y = 0.0036 * x + 0.0128$	1.000	10-5000	0.5
Al	$Y = 0.0013 * x + 0.0019$	0.9998	10-2000	0.5
Si	$Y = 0.0007 * x + 0.0072$	0.9993	10-5000	2.9
K	$Y = 0.0028 * x + 0.0264$	1.000	10-5000	0.32
Ca	$Y = 0.0012 * x + 0.0121$	0.9998	10-1000	0.81
Ti	$Y = 0.00098 * x + 0.0001$	1.000	10-1000	0.247
Cr	$Y = 0.0332 * x + 0.00074$	0.9992	0.5-1000	0.03
Mn	$Y = 0.0199 * x + 0.0016$	0.9994	0.5-1000	0.017
Fe	$Y = 0.0289 * x + 0.0766$	1.000	10-5000	0.22
Co	$Y = 0.0498 * x + 0.00017$	0.9997	0.5-1000	0.005
Zn	$Y = 0.0045 * x + 0.0022$	0.9996	2-1000	0.167
As	$Y = 0.003 * x + 0.00012$	0.9998	0.5-1000	0.086
Cd	$Y = 0.0016 * x + 0.00003$	0.9997	0.5-1000	0.03
Sb	$Y = 0.003 * x + 0.0076$	0.9993	5-100	0.03
Ba	$Y = 0.0016 * x + 0.00034$	0.9997	2-1000	0.05
Ce	$Y = 0.0245 * x + 0.00007$	0.9997	2-100	0.001
Pb	$Y = 0.0075 * x + 0.0036$	0.9995	0.5-1000	0.012

精密度

精密度表示在一定测量条件下，对多次测量中各观测值间的离散程度。常用相对标准偏差 (RSD) 来表示，RSD 越小，表示精密度越好。选择一个样品重复测量 6 次，考察方法精密度。结果表明，除 Cd 由于浓度低于检出限而无法计算精密度外，其他元素的浓度 RSD 均低于 6%，详见表 2。

表 2. 方法精密度考察结果

单位：μg/L

样品名称	7 Li	11 B	23 Na	24 Mg	27 Al	28 Si	39 K	44 Ca	47 Ti	52 Cr
Sample1-1	0.243	49.89	13922.1	233.79	266.9	913.2	2948.3	51.22	5.96	17.12
Sample1-2	0.262	52.96	13299.9	225.55	259.4	902.1	2900.4	49.57	5.79	16.39
Sample1-3	0.254	50.93	13968.0	233.29	266.1	924.6	2929.9	49.53	6.01	17.04
Sample1-4	0.270	53.47	13408.9	226.89	257.2	899.7	2878.0	50.25	5.97	16.83
Sample1-5	0.249	49.67	13662.8	234.23	263.3	920.2	2914.0	51.61	6.19	17.52
Sample1-6	0.270	53.05	12762.1	222.82	253.4	875.0	2711.0	48.22	5.62	16.60
RSD%	3.90%	3.01%	3.05%	1.97%	1.86%	1.81%	2.74%	2.27%	3.07%	2.16%

样品名称	55 Mn	56 Fe	59 Co	66 Zn	75 As	111 Cd	121 Sb	137 Ba	140 Ce	208 Pb
Sample1-1	6.22	454.78	0.15	11.66	2.92	<0.000	0.13	33.90	1.13	2.69
Sample1-2	5.81	439.56	0.14	10.01	2.78	<0.000	0.12	33.29	1.12	2.63
Sample1-3	6.13	461.99	0.16	10.93	2.83	<0.000	0.12	34.34	1.14	2.73
Sample1-4	6.04	444.83	0.14	10.69	2.76	<0.000	0.13	33.47	1.11	2.69
Sample1-5	6.22	455.95	0.15	11.77	2.89	<0.000	0.13	34.13	1.14	2.82
Sample1-6	5.87	404.64	0.15	11.03	2.99	<0.000	0.12	32.79	1.09	3.13
RSD%	2.64%	4.27%	3.42%	5.39%	2.75%	-	3.46%	1.57%	1.71%	5.90%

准确度

在缺少有证参考物质的情况下，加标回收实验是重要的质控手段。回收率是判定分析结果准确度的量化指标。采用样品加标的方法考察 20 种元素的加标回收率。结果发现，所有元素在 90-115% 之间，表明该方法具有出色的准确度（见表 3）。

表 3. 方法准确度考察结果

元素	样品结果 (μg/L)	样品加标结果 (μg/L)	加标量 (μg/L)	回收率
7 Li	0.49	94.7	100	94.2%
11 B	42.3	149.4	100	107.1%
23 Na	12851.6	17829.0	5000	99.5%
24 Mg	226.2	5447.4	5000	104.4%
27 Al	122.7	225.0	100	102.3%
28 Si	887.5	1097.9	200	105.2%
39 K	2730.1	7708.5	5000	99.6%
44 Ca	40.0	1022.2	1000	98.2%
47 Ti	5.8	107.3	100	101.5%
52 Cr	15.0	69.3	50	108.6%
55 Mn	6.49	60.9	50	108.9%
56 Fe	201.9	5439.9	5000	104.8%
59 Co	0.25	54.9	50	109.2%
66 Zn	52.4	100.4	50	95.9%
75 As	1.77	100.2	100	98.4%
111 Cd	<0.000	92.7	100	92.7%
121 Sb	0.17	56.9	50	113.4%
137 Ba	23.2	73.8	50	101.2%
140 Ce	0.87	56.4	50	111.1%
208 Pb	2.13	104.7	100	102.5%

从结果可知，基于 Agilent 7850 ICP-MS 建立了药包材提取实验中无机元素的分析方法。方法学验证数据表明，该方法检出限较低，所有元素的线性相关系数 $R > 0.999$ ；方法精密度出色， $RSD\% < 6\%$ ；加标回收率在 $100\% \pm 15\%$ 以内，准确度优异。该方法适用于检测药包材中的无机元素。

NovoCyte 流式细胞仪与 RTCA 实时细胞分析技术在中药及配方颗粒领域的应用



流式细胞术在中药方面的应用

流式细胞术是一种细胞水平的精密检测技术，从同一个单细胞中可以同时测得多种参数，为中医药的作用机制和机理研究，以及从细胞和分子生物学水平认识中医药提供了可靠的分析手段。

Agilent NovoCyte 系列流式细胞仪是流式细胞分析领域中的创新突破，提供单激光到 5 激光 30 通道，涵盖低、中、高不同配置的需求，拥有出色的灵敏度、稳定性、分辨率、速度和灵活性。动态检测范围达 7.2 个数量级，可轻松识别 100 纳米至 50 微米范围内的颗粒。其具有一键开关机、样品间自动清洗等自动维护功能，且核心硬件采用业内顶尖的品牌，可确保仪器性能与结果的稳定性。并可搭配自动上样系统，兼容不同孔管类型，集成到不同的实验室自动化平台中，实现无人值守自动化采集。与高度简洁直观的 NovoExpress 软件配合使用，系统可实现全自动运行，在数据采集、分析和报告方面提供卓越的用户体验。另外，NovoExpress 软件具有合规的审计追踪功能，在帮助科研用户的同时，也能更好地服务于企业用户。

研究肿瘤药物对细胞的作用机理



1. 单方药物诱导细胞凋亡和线粒体膜电位降低

采用不同浓度（0、25、50 和 100 $\mu\text{g/mL}$ ）的青蒿琥酯干预 MDA-MB-231 细胞 24 h，利用流式细胞术检测细胞凋亡情况及线粒体膜电位。结果显示，与对照组比较，青蒿琥酯引起细胞凋亡率显著增高（ $P < 0.01$ ，图 1）和线粒体膜电位显著降低（ $P < 0.01$ ，图 2），且作用呈浓度依赖性^[1]。

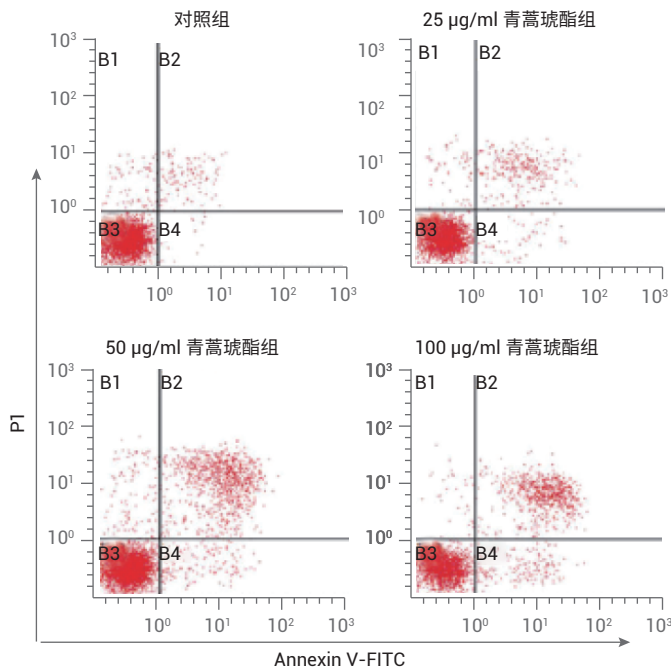


图 1. 青蒿琥酯诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡（流式细胞术， $n = 3$ ）

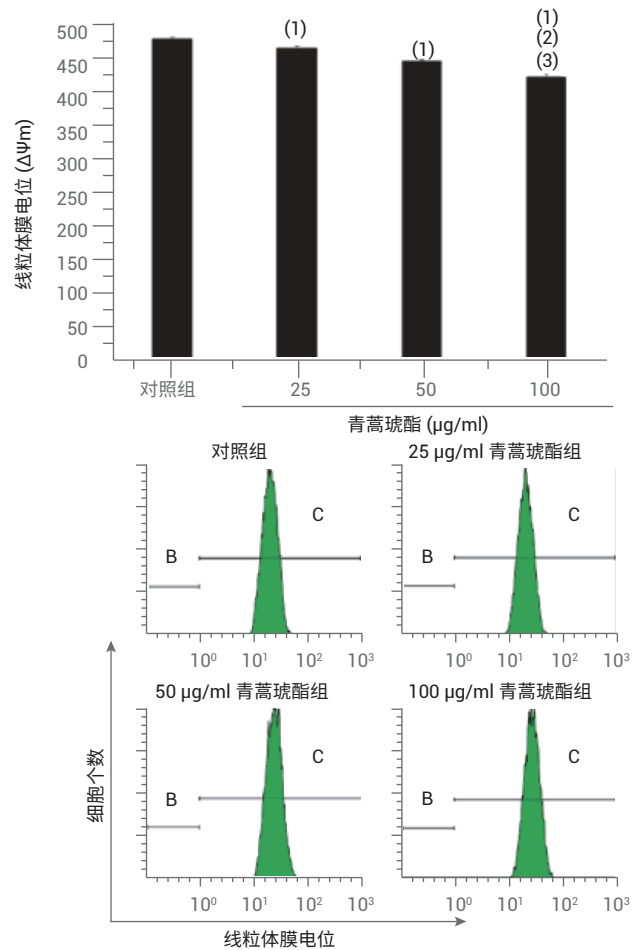


图 2. 青蒿琥酯调控 MDA-MB-231 细胞线粒体膜电位（流式细胞术， $n = 3$ ）

2. 复方药物抑制肿瘤细胞周期

复方苦参注射液作用 48 h 后，在大肠癌 LoVo 细胞中可检测亚 G1 峰，凋亡率为 $(7.3 \pm 1.5)\%$ ，与对照组 $(2.1 \pm 0.5)\%$ 相比有明显升高。经细胞周期分析发现，S 期细胞比例明显增高，呈现出 S 期阻滞现象^[2]。

3. 中药成分的机理研究

氧化苦参碱 (OMT) 是中药苦参的提取物，具有各种药理作用，特别是对于心血管系统。通过流式细胞术发现，OMT 通过 G1 期阻滞抑制 TGF- β 1 诱导的心肌纤维化^[3]。

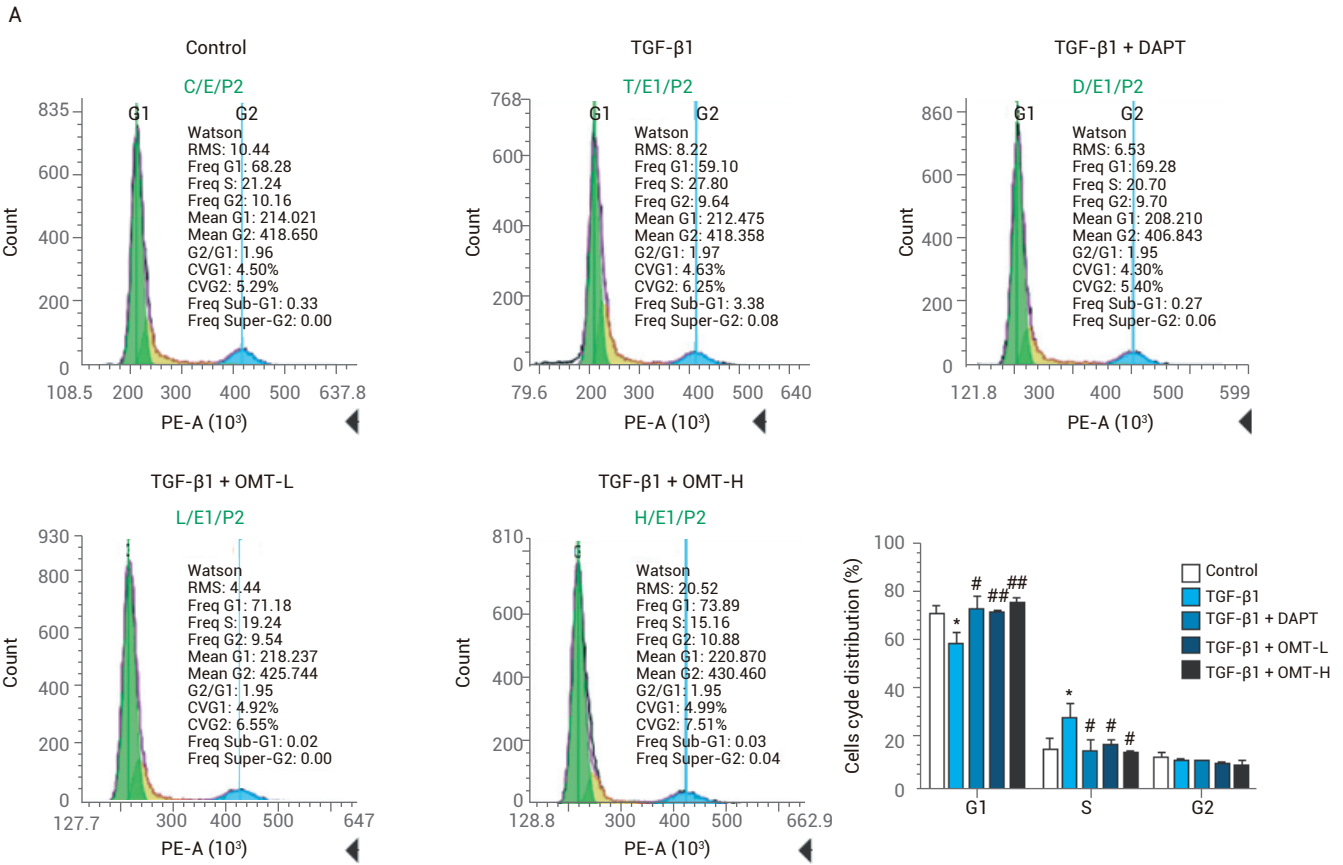


图 3. 使用 NovoExpress 软件一键拟合的细胞周期分析数据

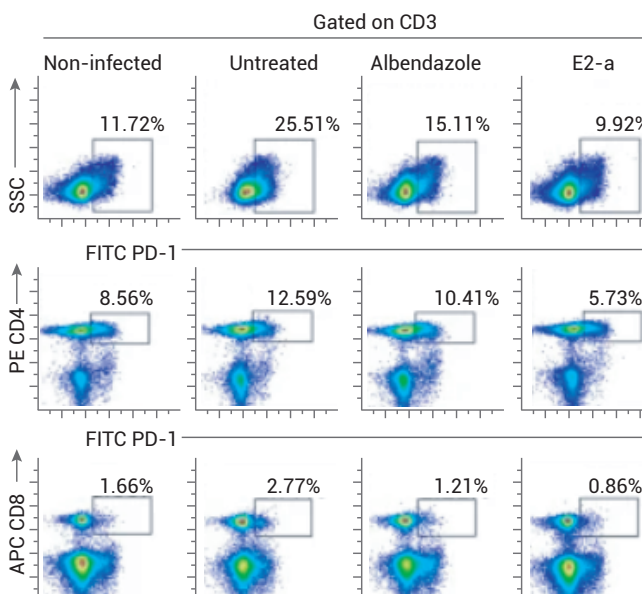


图 4. 使用流式细胞术计数分析 CD3+、CD4+ 及 CD8+ 各个亚群的 PD-1+ T 细胞

4. 中药成分的免疫调节作用

主要成分为苦参碱和槐果碱的水溶性生物碱 E2-a，可以上调 CD3 + CD4 + T 细胞亚群的频率，并使 CD3 + PD-1 + T 细胞亚群的频率降低。通过减少 PD-1 的表达并加速抗原特异性 T 细胞的细胞因子分泌，可以抑制寄生虫病感染的囊肿发展并增强特异性免疫反应^[4]。

药效及疗效评价

1. 评价活血化瘀药物对血小板功能的影响

以 CD61 标记所有血小板，CD62p 标记活化血小板，采用流式细胞术检测血小板活化，只需取少量外周血，经单克隆抗体标记后即可快速、稳定地进行检测。随着流式细胞仪检测手段的完善，其检测灵敏度和特异性也大大提高。因此，完全可以通过建立一种相对简单的流式细胞仪检测外周血中 CD62p 含量或百分率的模型，达到检测抗血小板活化类活血化瘀药物生物活性的目的^[5]。

2. 对促血小板形成中药进行活性筛选和评价

通过体外培养骨髓细胞，利用不同细胞因子组合诱导向巨核细胞分化，比较各种诱导方法对向巨核细胞分化的影响，选择 7-AAD- Lin- CD117- CD41+ 巨核细胞的检测用于中药及从中药提取分离化合物的促血小板作用筛选、活性评价和作用机制研究^[6]。

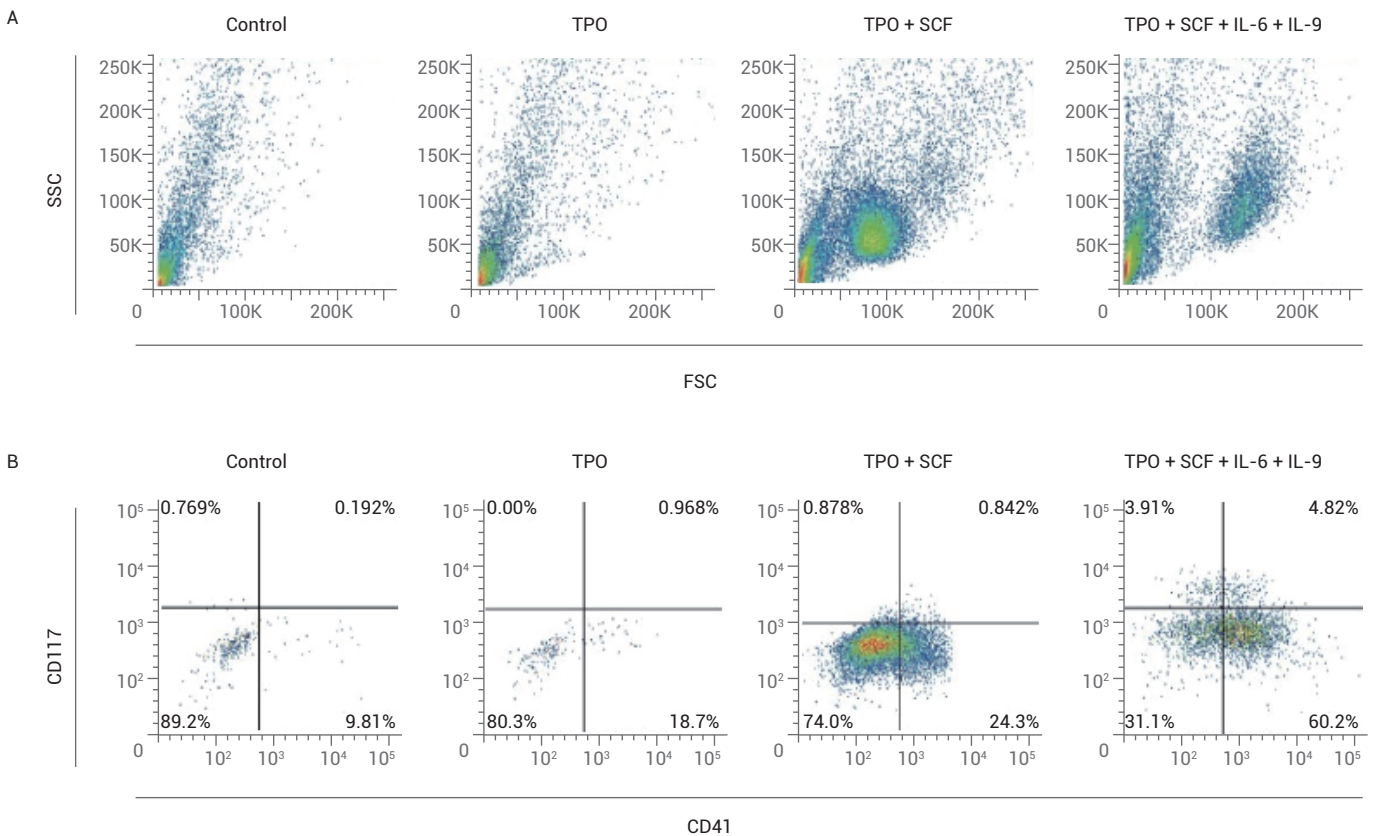


图 5. 流式细胞术分析骨髓细胞向巨核细胞的分化

3. 中药成分的纳米药物在体内的摄取

钩藤碱 (Rhynchophylline, RIN) 是常用中药钩藤的主要活性成分，常被用于中枢神经系统疾病包括中风、阿尔茨海默病等的治疗。由于其在脑组织中的低溶解度以及难以穿过血脑屏障，应用受到局限。

用流式细胞仪检测 bEnd.3 细胞对于纳米颗粒的摄取发现，将钩藤碱制成纳米颗粒后可增加脑细胞对药物的摄取效率^[7]。



图 6. 钩藤碱纳米药物结构示意图

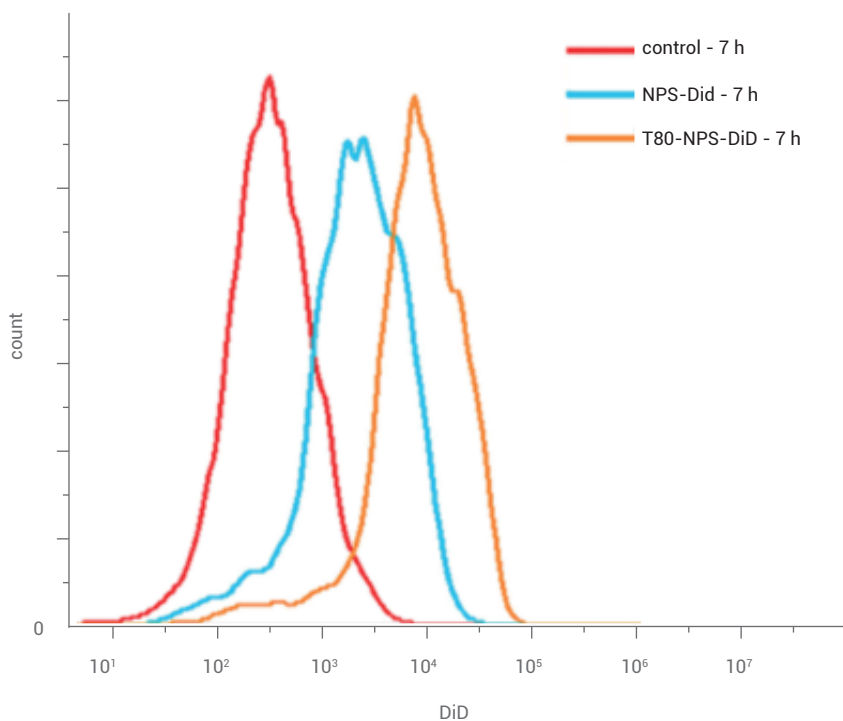


图 7. 流式细胞术分析 bEnd.3 细胞对于纳米颗粒的摄取效率

流式细胞术的检测目标涵盖细胞到核酸以及各类分子，还可以应用于考察中药对细胞因子、激素受体表达的影响、对细胞粘附分子表达的影响、对免疫相关细胞亚群的影响、对细胞内酶的表达影响等方面。

RTCA 实时细胞分析技术在中药方面的应用

Agilent xCELLigence RTCA 实时细胞分析技术采用特殊工艺，在细胞培养板的每个细胞生长孔底部整合了金微电极传感器阵列，用以构建实时、动态、定量跟踪细胞形态和增殖分化改变的细胞阻抗检测传感器系统。该方法无需对细胞进行染料标记，操作简便、快速，无需较多的人为干预，具有检测灵敏度和重现性高的特点，广泛适用于新药研发、免疫治疗、疫苗研发、毒理学、安全药理学、质控和基础生命科学研究。xCELLigence RTCA eSight 将显微成像与实时无标记检测进行整合，实现了活细胞成像与高灵敏度生物传感技术的完美结合；并将阻抗生物传感器与明视场和 3 个荧光通道相结合，可满足客户同时对同一细胞群进行实时阻抗和成像检测。另外，xCELLigence RTCA Cardio/CardioECR/ePacer 专注于心肌细胞研究，可以检测心肌细胞的跳动与场电位，并可促进心肌细胞的成熟，广泛用于药物开发中的心脏安全评价。



1. 中药质量评价研究

由于中药有效成分复杂，因此很难进行质量评估；其中一些是特定的，而某些是未定义的。中药中几种成分的确不能代表整个制剂，也不能反映出制剂的整体效果。因此，研究人员可通过细胞效应检测进行初步研究，对中药进行质量评估。RTCA 为药物开发中的各种研究应用提供了动态、实时、无标记的细胞分析，可用于定量检测中药的整体效果^[8,9]。

2. 中药活性成分作用评价

中药材含有多种生物活性成分，具有发现新药或配方的巨大潜力。以三七为例，主要活性成分为皂苷，其中三七花 FS 中皂苷含量较高，是一种流行的传统药物。对三七花中活性成分皂苷进行研究，发现其可能激活 vegfa mRNA 转录，增加 VEGF 诱导的 HUVECs 细胞迁移，发挥促血管生成作用，提示三七花皂苷的纯化制剂可能具有预防和治疗心血管疾病的潜力^[10]。

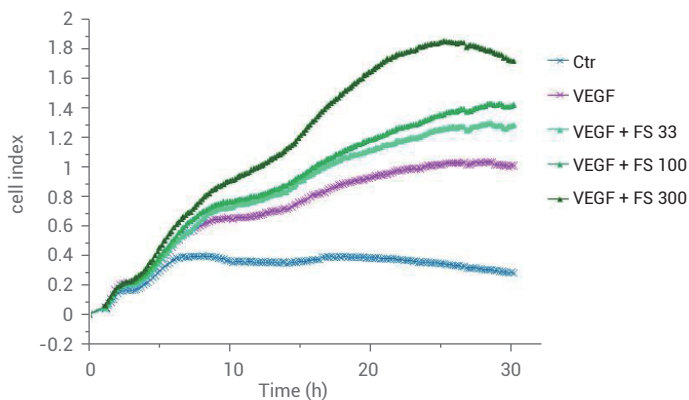


图 1. 三七花 FS 促进 VEGF 诱导的 HUVECs 细胞迁移

3. xCELLigence RTCA eSight 成像与阻抗的结合

xCELLigence RTCA eSight 将实时阻抗监测的简便性、分析灵敏度和客观性与活细胞成像的高特异性读数相结合，能够连续追踪细胞生长过程，可获得细胞行为前所未有的细节。

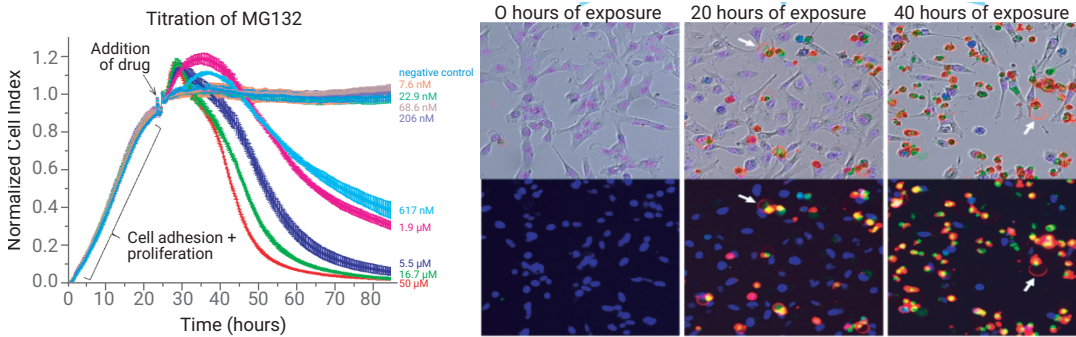


图 2. xCELLigence RTCA eSight 应用举例

4. 中药心脏安全评价

Agilent xCELLigence Cardio 系统是在微电子生物传感技术的基础上进行的扩展和升级，可以检测心肌细胞的物理特性（例如搏动频率、幅度），从而评估心脏毒性和细胞健康活力。xCELLigence RTCA CardioECR 系统可同时实现离子通道活性与心肌收缩力无损伤评估。该系统可对心肌细胞兴奋-收缩偶联过程进行综合性评价。专用软件用于鉴定和评估影响离子通道活性、心肌细胞收缩力及细胞活力的不利因素，从而为心脏风险评估提供一个具有高度预测性的分析平台。xCELLigence RTCA ePacer 是专门用于电刺激促进心肌细胞成熟的实验平台，为获得功能成熟的 hiPSC 心肌细胞提供了一种简便有效的方法，从而可以使用更成熟的心肌细胞来评价药物的心脏毒性。

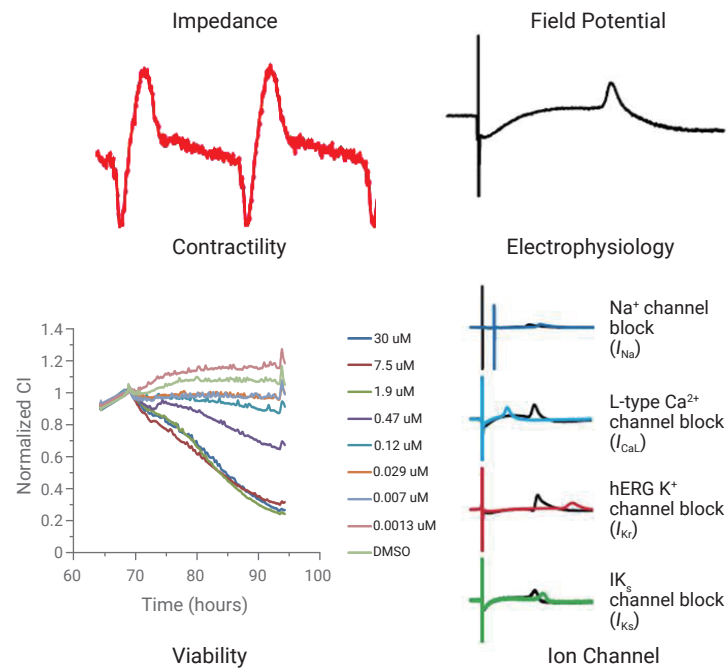


图 3. xCELLigence RTCA CardioECR 检测心肌细胞跳动与场电位应用举例

参考文献

1. 杨超, 张彦收, 刘亮等, 青蒿琥酯对乳腺癌细胞的生长抑制作用及其机制, 解放军医学杂志, 2020, 45 (8): 804-809
2. 徐月, 秦剑, 周远大等, 复方苦参方剂对大肠癌 LoVo 细胞体外增殖凋亡的影响, 第四军医大学学报, 2009, 30 (15): 1391-1393
3. Linglu Zhao, Peng Luo et. al Oxymatrine Inhibits Transforming Growth Factor b1 (TGF-b1)-Induced Cardiac Fibroblast-to-Myofibroblast Transformation (FMT) by Mediating the Notch Signaling Pathway In Vitro, *Med Sci Monit.* 2018; 24: 6280-6288
4. Luo, Y., Zhang, G., Liu, X. et al. Therapeutic and immunoregulatory effects of water-soluble alkaloids E2-a from *Sophora moorcroftiana* seeds as a novel potential agent against echinococcosis in experimentally protoscolex-infected mice. *Vet Res* 49, 100 (2018)
5. 华晓东, 侯娟, 徐琳, 税凤春等, 不同方法检测丹参多酚酸对血小板功能影响的比较, 2019, 31(5): 11-13.
6. 李芸芊, 郭冉, 朱枝祥等, 体外诱导骨髓细胞分化成巨核细胞的方法学研究, 中国实验血液学杂志, 2020, 28(4): 1357-1362
7. Ruiling Xu, Chunmei Fu et.al, Rhynchophylline Loaded-mPEG-PLGA Nanoparticles Coated with Tween-80 for Preliminary Study in Alzheimer's Disease, *Int J Nanomedicine.* 2020; 15: 1149-1160.
8. 马晓斐, 严国俊, 潘金火等, 基于实时细胞电子分析技术的复方丹参片质量评价研究, 国际中医中药杂志, 2020, 45(3): 251-255
9. Guojun Yan, Zhitao Zhu, Liliang Jin, et al, Study on the Quality Evaluation of Compound Danshen Preparations Based on the xCELLigence Real-Time Cell-Based Assay and Pharmacodynamic Authentication, *Molecules* 2018, 23, 2090
10. Binrui Yang, Kwokkuen Cheung, Xin Zhou, et al, Amelioration of acute myocardial infarction by saponins from flower buds of *Panax notoginseng* via pro-angiogenesis and anti-apoptosis, *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 181 (1): 50-58

Agilent Seahorse XF 细胞能量代谢分析技术在中药配方颗粒领域的应用



一. 药效机理研究

线粒体呼吸和糖酵解是细胞内产生能量的两条主要途径，在各种细胞过程中起着重要作用。许多疾病往往与线粒体和代谢功能障碍有关，其中包括癌症、心血管疾病、神经退行性疾病以及肥胖和糖尿病等。Agilent Seahorse XF 细胞能量代谢分析技术以微孔板形式实时同时测量活细胞中的线粒体呼吸和糖酵解，提供有关细胞代谢状态的功能信息。

传统中药汤剂是药物合煎后的作用，中药配方颗粒是否与合煎剂保持相同或相近的功效有待验证。利用 Seahorse XF 技术，可在活细胞水平检测线粒体呼吸、糖酵解和 ATP 产生速率等，从能量代谢角度快速进行药效评估，探讨中药配方颗粒的作用机制，例如单味药的药效、作用时间及剂量关系研究、多味药配伍后的药效比较和配伍优化、单煎与合煎药效差异研究等。

二. 药物安全性评价

线粒体功能障碍与多种疾病的病因有关，也被认为是药物诱导毒性（例如肝脏毒性、肾脏毒性和心脏毒性等）的主要机制。Agilent Seahorse XF 细胞能量代谢分析技术可直接实时测量线粒体功能，用于检测潜在疗法造成的线粒体功能障碍，在体外高特异性、高灵敏度地评估线粒体毒性风险，并确定线粒体毒物的作用机制。在药物安全性评价中，使用 Seahorse XF 技术能够在体外活细胞水平筛选具有潜在线粒体毒性的药物并进行毒理机制研究，有助于避免毒性和降低潜在风险。

利用 Agilent Seahorse XF 技术直接测量活细胞线粒体功能的特点，可对中药配方颗粒的药物安全性进行评估，例如筛选具有潜在线粒体毒性的药物并进行毒理机制研究，对有毒性嫌疑的药物进行确认和验证，多味药配伍后进行线粒体毒性检测，比较单煎和合煎的线粒体毒性差异等。



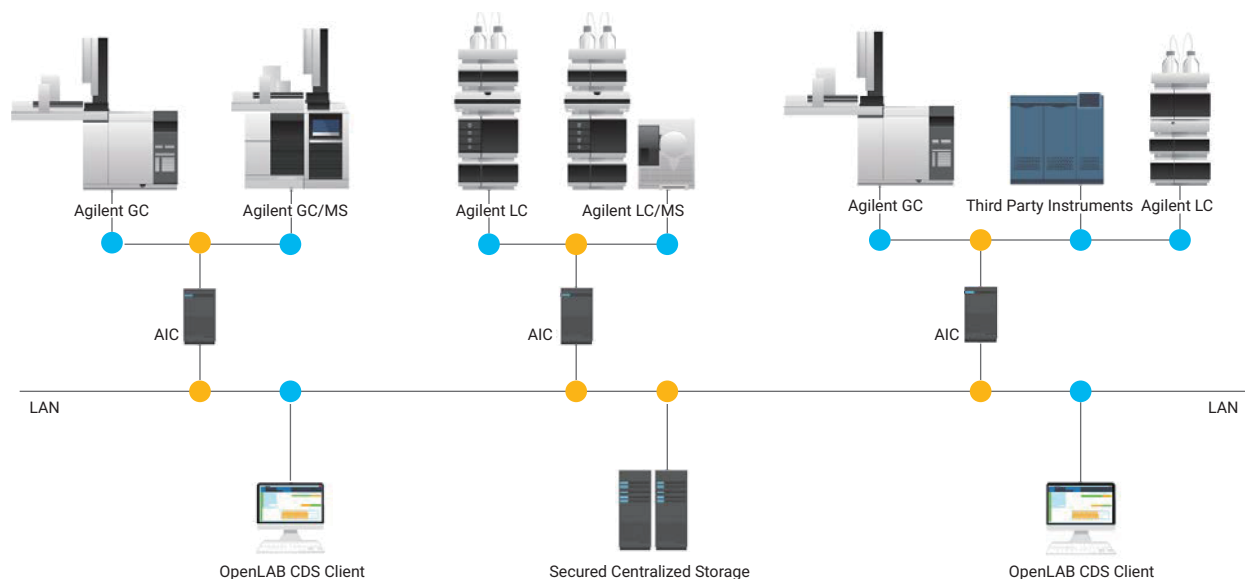
中药配方颗粒数据 可靠性篇



OpenLab 系统在中药检测的应用

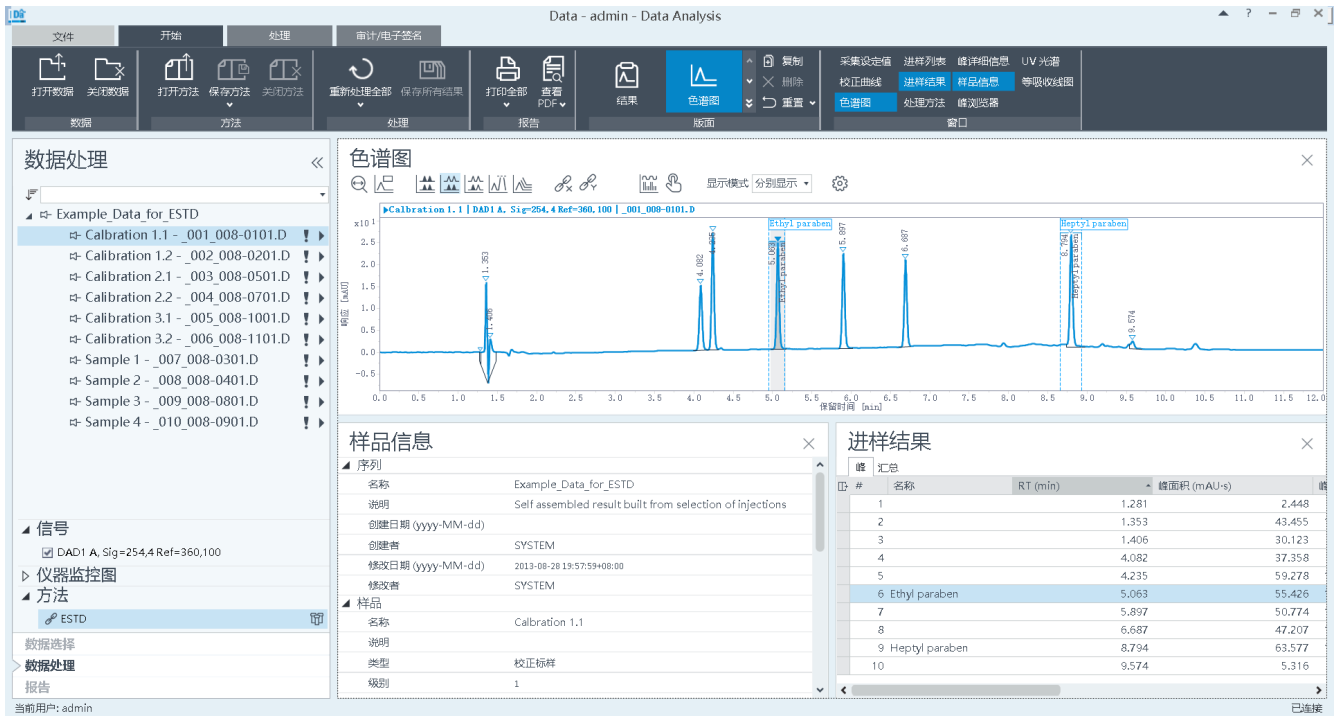
在中药质控的各个环节都会有检测数据产生。为确保检测数据的真实可靠性，需要采取严格的技术控制手段。技术控制的重点在于用户权限分级、审计跟踪记录数据的变化、数据的安全存储及电子签名等等。此外，统计分析数据、提取数据信息并与实验室其他信息系统对接，也是提高实验室管理效率的重要环节。

(一) OpenLab CDS 客户端/服务器基本架构介绍



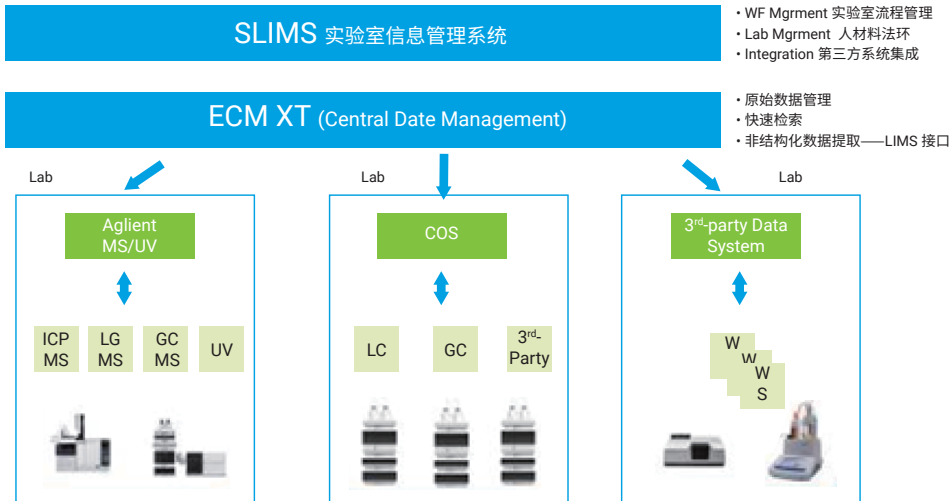
- 使用单一软件即可集中控制 LC、GC、LC/MS、GC/MS 等仪器，快速浏览实验室所有仪器运行状态；
- 用户设置集中管理并且可结合 windows 域用户登录，简化密码定期修改流程；
- 增强的人员角色自定义，可根据用户需求灵活自建角色分级，确保合适人员拥有合适的权限；
- 版本控制，可追溯数据产生的全过程；
- 使用项目管理，Openlab 服务器集中安全存储所有仪器产生的数据，并对原始数据进行加密管理，自动防删除数据；
- 可实现人机分离，远程控制仪器（分布式架构）；
- 审计跟踪集中查看，在线符合，提高数据审核效率；
- 电子签名，所有签名流程体现在结果报告中；
- 无缝链接安捷伦 ICP-MS，实现多产品线仪器数据的融合；

- 保护投资，节省用户成本，可加装多台客户端用于数据采集处理，无需额外的客户端许可。



(二) OpenLab ECMXT 集中管理实验室所有仪器数据 (不区分格式, 不区分厂家)

Agilent OpenLab Suite Solution



1. 全新 OpenLab ECMXT，更加高效可靠的数据保护措施

法规通常要求将数据文件存储一定的年限。内容导入工具可确保所有重要的仪器数据在适当的时间得到自动保护。

2. 防止造假并识别未经授权的更改或删除

OpenLab ECM XT 可帮助用户将数据和文件存储在安全的位置，并设置密码保护访问权限。该软件还可以追踪和保存电子记录的每个版本，以及来自选定数据系统的数据。因此，用户可以还原先前的版本并审核所做的更改。

3. 缩短管理纸质报告和记录的时间，同时降低成本

将纸质报告或记录存储数年需要大量的存储空间（现场或非现场），成本高昂。OpenLab ECM XT 可通过自动化内容导入，简化填写和整理过程。

4. 为您解决信息检索的难题

全局搜索功能可轻松查找包含特定术语的项目。用户还可以查询更复杂的问题，例如特定技术人员在给定时间内执行的检测项目。

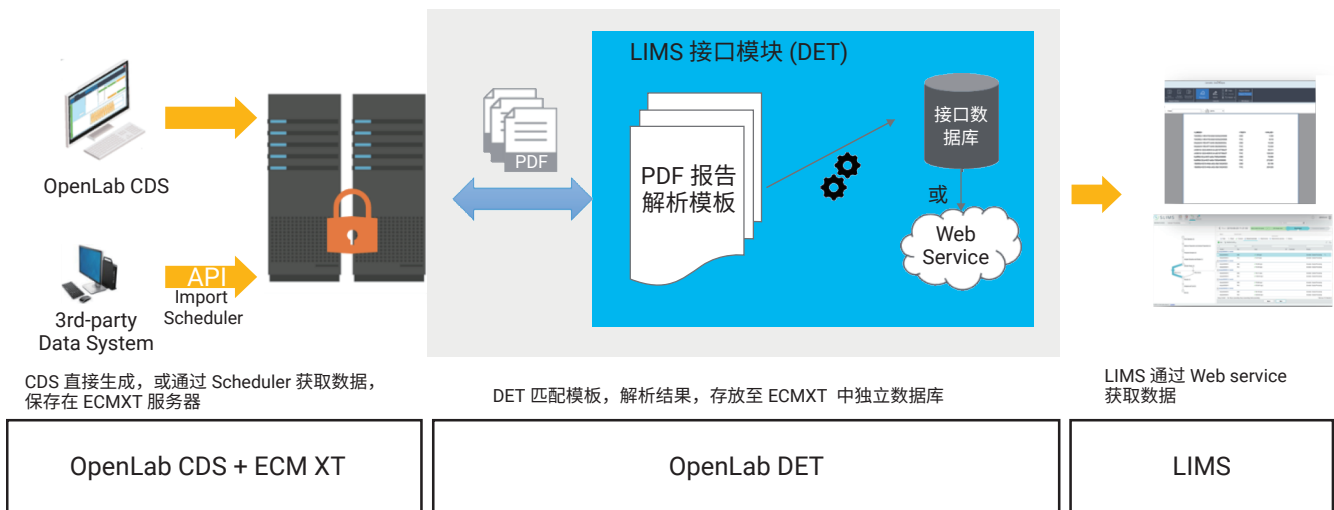
5. 快速实施 — 最大程度降低确认成本

OpenLab ECM XT 是一款基于网络的工具，只需安装在服务器上即可使用，而其他科学数据管理系统则需要在访问数据的每台电脑上安装软件。此外，OpenLab ECM XT 可轻松安装在目前运行 OpenLab CDS 客户端/服务器的实验室中。

(三) OpenLab DET 合规高效的 LIMS 对接工具

传统 LIMS-CDS 对接基于文本传递数据，存在效率低、法规风险高、维护工作量大等缺点。OpenLab DET 新一代 LIMS 接口具有以下特点：

- 面向用户的配置模式：采用通用接口，无需进行任何代码开发
- 采用数据库-数据库对接模式，并支持 Web Service，后期升级系统 LIMS 时无需更改
- 灵活部署：可与 OpenLab CDS 2.X 集成或独立部署
- 全面审计追踪，记录数据传递过程
- 兼容第三方系统和 LIMS 数据传递

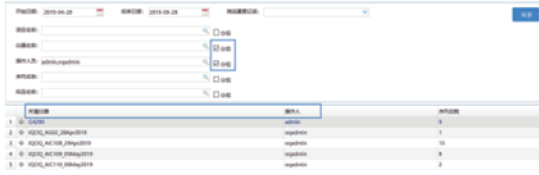


(四) OpenLab AAT 高级审计工具仪器效率统计

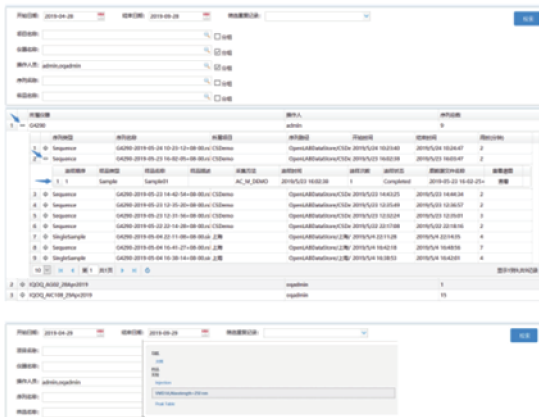
使用 OpenLab AAT 工具可以从多维度、多角度、多层次进行数据分析，按项目、仪器、序列、样品、操作人员等分类汇总。实时掌握实验室效率，提高实验室仪器效率、人员效率等。该工具一目了然地展示各种可视化数据报表。其采用 B/S 架构，部署灵活，可以与 OpenLab CDS 2 集成或独立部署。

进样数据检索与查重

多维度、多角度、多层次的数据分析与统计。



不仅仅是数据统计，还可以直接查看更详细的进样信息。



仪器样品统计

快速了解某段时间内仪器运行样品数量的详细信息。



人员样品统计

实时了解员工的工作效率。



仪器运行效率统计

实时掌握实验室仪器使用情况，提高工作效率。



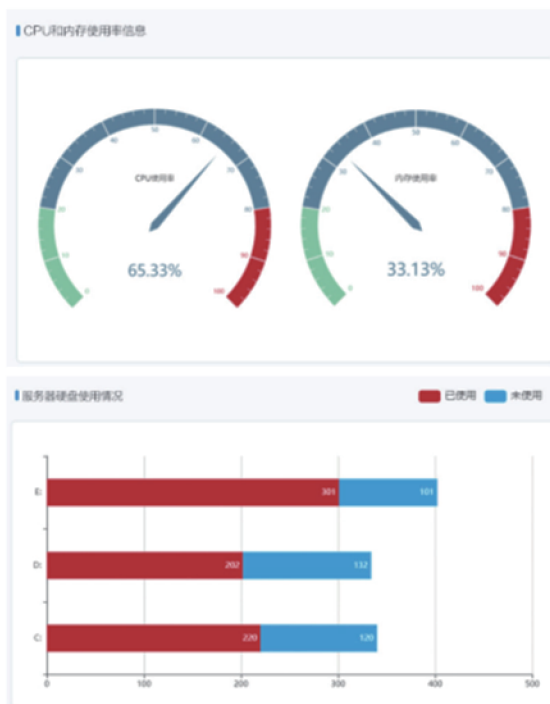
Audit Trail 实时统计

随时了解用户使用情况和系统运行健康状态，关键信息了如指掌。



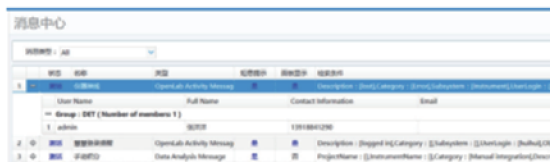
系统资源实时监控

实时监控服务器资源使用情况，确保系统稳定运行。



主动消息推送

主动预警，消息推送，支持邮件和短信两种方式，随时随地掌握 DI 风险信息。



中药配方颗粒企业实验室 合规服务解决方案篇

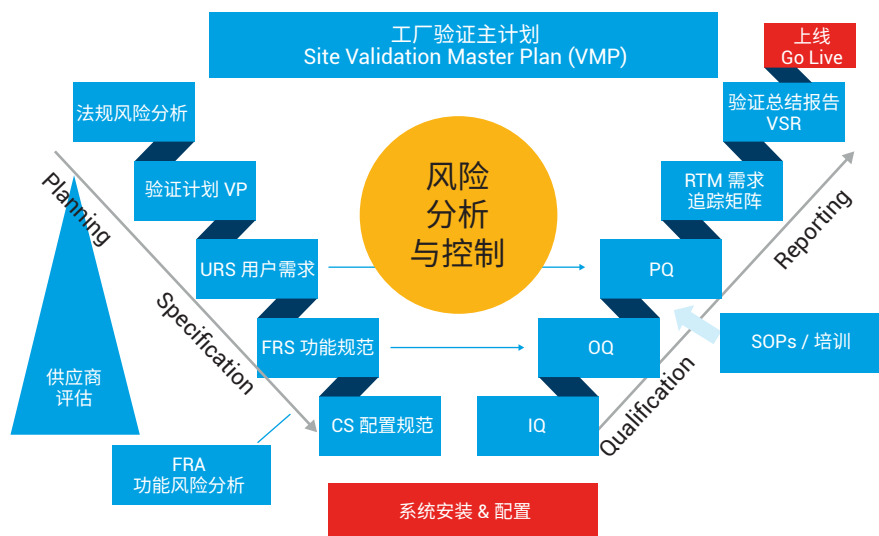


为满足 NMPA 2010 GMP 附录<计算机化系统> 和《药品记录与数据管理要求（试行）》等法规对数据可靠性的要求，中药配方颗粒企业实验室需要对计算机化系统进行必要的验证，以证明其符合预期用途。

安捷伦可为制药客户提供以下合规验证服务：

- 安捷伦软件标准 IQOQ 认证
- 实验室所有软件系统 CSV 验证（包括色谱与非色谱系统，安捷伦或其他品牌系统）
- 系统数据备份与还原验证以及容灾解决方案
- GMP 预审计-数据完整性差距分析

GAMP5 V 模型 - CSV 生命周期

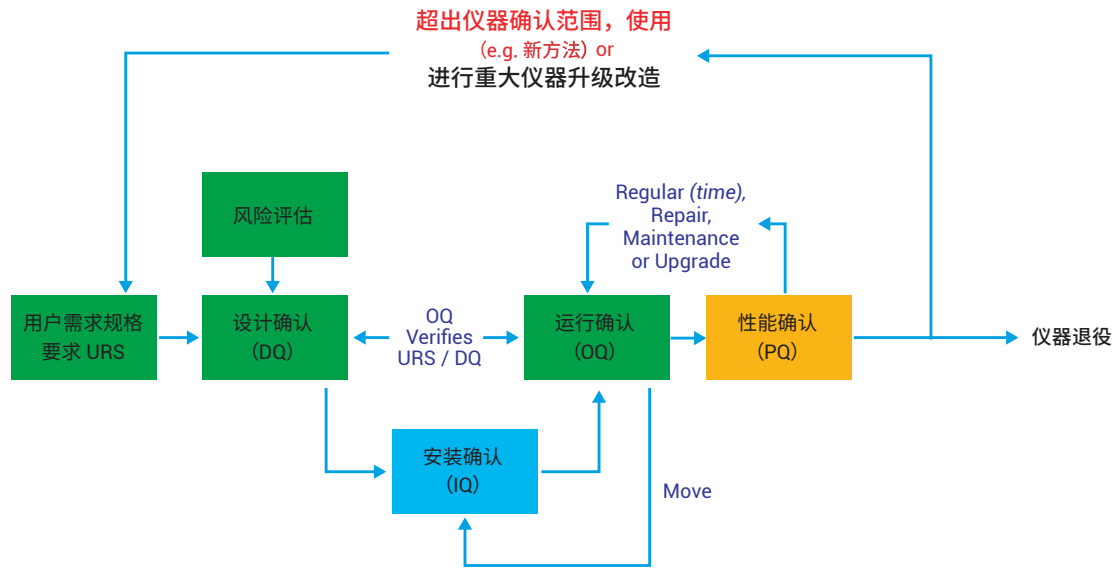


为满足 NMPA 2010 GMP 等法规对分析仪器确认与验证要求，中药配方颗粒企业实验室还需要对分析仪器设备进行必要的确认，以证明其符合预期用途。

安捷伦可为制药客户提供以下法规认证服务：

- 安捷伦仪器标准 IQOQ 认证
- 定制化 EQP 认证以及维修后再认证 RQ
- 网络分布式 ACE (NDA) 部署
- 整个实验室 Enterprise 法规认证服务（适用于安捷伦及其他厂商的仪器设备）
- USP1058 AIQ 法规咨询服务（正在开发中）

新版 USP <1058> 4Qs 模型



基于 2017 USP <1058>

中药配方颗粒方案培训篇



1. 教室培训方案

课程名称：中药配方颗粒应用课堂培训

仪器配置：UHPLC/HPLC

课程时长：4天

培训地点：北京/上海/成都/广州培训中心

课程形式：小班授课, 课堂讲解+实操练习

课程收获：掌握 UHPLC/HPLC 的操作使用
掌握中药配方颗粒国标方法重现

日程安排：以中药配方颗粒的实例，掌握国标重现的全流程

教室培训课程内容和安排

Day 1	- HPLC/UHPLC 硬件原理和结构介绍 - HPLC/UHPLC 数据采集流程介绍
Day 2	- 特征图谱重现及介绍重现中常见问题 - 特征图谱相对保留时间和峰面积的快速计算 - 方法转换技巧及相关注意事项 - UHPLC 特色功能 (如 ISET/Blend Assit)
Day 3	- 含量测定的数据采集和相关定量方法介绍 - 峰纯度判断技巧介绍 - 智能报告模板编辑
Day 4	- 色谱柱选择和阀应用介绍 - 日常操作注意事项的总结 - 液相色谱的相关维护

2. 现场培训方案

方案 1：中药配方颗粒应用现场培训

课程时长：2天

培训地点：用户现场

课程内容：

- 仪器结构原理
- 国标重现演示
- 数据分析详解
- 常见问题解析
- 方法转换技巧
- 日常维护操作

日程安排：

中药配方颗粒现场应用培训 - 方案 1 课程内容和安排

0.5天	- UHPLC/HPLC 硬件原理和结构介绍 - 日常操作注意事项和相关维护介绍 - 色谱柱选择和阀应用介绍
1天	- 以某中药配方颗粒为实例，演示国标方法重现 - 国标重现中常见问题解析 - 方法转换技巧及 UHPLC 特色功能介绍
0.5天	- 中药配方颗粒相关的数据分析 - 特征图谱相对保留时间和峰面积计算等 - 含量测定计算等 - 峰纯度判断技巧介绍

方案 2：中药配方颗粒应用现场培训 + 国标重现

课程时长：2天现场应用培训 + X天指定品种国标重现（客户指定品种，每增加 1 个品种的现场指导，增加 2 天现场培训）

培训地点：用户现场

3. 共享实验室

国标重现：交付方法，帮助企业加快开展中药配方颗粒业务的速度。

标准制定：协助客户进行中药配方颗粒的标准制定

为用户提供检测场地、仪器、方法、人员等一站式资源，助力中药配方颗粒的生产和制标！

4. 报告模板定制

按照客户需求定制智能报告模板

您可以关注安捷伦“微学堂”小程序，了解更多培训课程：

- 获得海量微课
- 咨询定制方案
- 优选合适课程
- 快捷注册学习



附录



附件 1. 160 个中药配方颗粒品种试点统一标准

001. 巴戟天配方颗粒 .pdf	002. 白芍配方颗粒 .pdf
003. 白鲜皮配方颗粒 .pdf	004. 白芷配方颗粒 .pdf
005. 白芷（杭白芷）配方颗粒 .pdf	006. 百部（对叶百部）配方颗粒 .pdf
007. 百合（卷丹）配方颗粒 .pdf	008. 板蓝根配方颗粒 .pdf
009. 半枝莲配方颗粒 .pdf	010. 薄荷配方颗粒 .pdf
011. 北柴胡（柴胡）配方颗粒 .pdf	012. 补骨脂配方颗粒 .pdf
013. 侧柏叶配方颗粒 .pdf	014. 燀苦杏仁（西伯利亚杏）配方颗粒 .pdf
015. 燀桃仁（桃）配方颗粒 .pdf	016. 炒白芍配方颗粒 .pdf
017. 炒苦杏仁（西伯利亚杏）配方颗粒 .pdf	018. 炒莱菔子配方颗粒 .pdf
019. 炒牛蒡子配方颗粒 .pdf	020. 炒桃仁（桃）配方颗粒 .pdf
021. 炒王不留行配方颗粒 .pdf	022. 炒栀子配方颗粒 .pdf
023. 车前草（车前）配方颗粒 .pdf	024. 车前子（车前）配方颗粒 .pdf
025. 陈皮配方颗粒 .pdf	026. 赤芍（芍药）配方颗粒 .pdf
027. 川牛膝配方颗粒 .pdf	028. 川射干配方颗粒 .pdf
029. 川芎配方颗粒 .pdf	030. 醋柴胡（柴胡）配方颗粒 .pdf
031. 醋延胡索配方颗粒 .pdf	032. 大黄（药用大黄）配方颗粒 .pdf
033. 大青叶配方颗粒 .pdf	034. 大枣配方颗粒 .pdf
035. 丹参配方颗粒 .pdf	036. 淡竹叶配方颗粒 .pdf
037. 当归配方颗粒 .pdf	038. 地肤子配方颗粒 .pdf
039. 独活配方颗粒 .pdf	040. 杜仲配方颗粒 .pdf
041. 防风配方颗粒 .pdf	042. 防己配方颗粒 .pdf
043. 粉葛配方颗粒 .pdf	044. 佛手配方颗粒 .pdf
045. 麸炒苍术（北苍术）配方颗粒 .pdf	046. 麸炒薏苡仁配方颗粒 .pdf
047. 麸炒枳壳配方颗粒 .pdf	048. 麸炒枳实（酸橙）配方颗粒 .pdf
049. 甘草（甘草）配方颗粒 .pdf	050. 干姜配方颗粒 .pdf
051. 葛根配方颗粒 .pdf	052. 钩藤（钩藤）配方颗粒 .pdf
053. 骨碎补配方颗粒 .pdf	054. 广金钱草配方颗粒 .pdf
055. 合欢花（合欢花）配方颗粒 .pdf	056. 合欢皮配方颗粒 .pdf
057. 何首乌配方颗粒 .pdf	058. 荷叶配方颗粒 .pdf
059. 厚朴（厚朴）配方颗粒 .pdf	060. 虎杖配方颗粒 .pdf
061. 槐花（槐花）配方颗粒 .pdf	062. 槐角配方颗粒 .pdf
063. 黄柏配方颗粒 .pdf	064. 黄连（黄连）配方颗粒 .pdf
065. 黄芪（蒙古黄芪）配方颗粒 .pdf	066. 黄芩配方颗粒 .pdf

附件 1. 160 个中药配方颗粒品种试点统一标准（续）

067. 火麻仁配方颗粒 .pdf	068. 鸡血藤配方颗粒 .pdf
069. 姜厚朴（厚朴）配方颗粒 .pdf	070. 焦山楂（山里红）配方颗粒 .pdf
071. 焦栀子配方颗粒 .pdf	072. 金钱草配方颗粒 .pdf
073. 金银花配方颗粒 .pdf	074. 荆芥配方颗粒 .pdf
075. 酒大黄（药用大黄）配方颗粒 .pdf	076. 酒丹参配方颗粒 .pdf
077. 酒当归配方颗粒 .pdf	078. 酒黄芩配方颗粒 .pdf
079. 酒女贞子配方颗粒 .pdf	080. 酒茱萸配方颗粒 .pdf
081. 菊花配方颗粒 .pdf	082. 苦参配方颗粒 .pdf
083. 苦杏仁（西伯利亚杏）配方颗粒 .pdf	084. 款冬花配方颗粒 .pdf
085. 莱菔子配方颗粒 .pdf	086. 灵芝（赤芝）配方颗粒 .pdf
087. 龙胆配方颗粒 .pdf	088. 蜜百部（对叶百部）配方颗粒 .pdf
089. 蜜百合（卷丹）配方颗粒 .pdf	090. 蜜槐角配方颗粒 .pdf
091. 蜜款冬花配方颗粒 .pdf	092. 蜜枇杷叶配方颗粒 .pdf
093. 蜜桑白皮配方颗粒 .pdf	094. 蜜旋覆花（旋覆花）配方颗粒 .pdf
095. 蜜紫菀配方颗粒 .pdf	096. 墨旱莲配方颗粒 .pdf
097. 牛蒡子配方颗粒 .pdf	098. 牛膝配方颗粒 .pdf
099. 女贞子配方颗粒 .pdf	100. 枇杷叶配方颗粒 .pdf
101. 蒲公英（碱地蒲公英）配方颗粒 .pdf	102. 前胡配方颗粒 .pdf
103. 秦艽（粗茎秦艽）配方颗粒 .pdf	104. 秦皮（尖叶白蜡树）配方颗粒 .pdf
105. 肉桂配方颗粒 .pdf	106. 桑白皮配方颗粒 .pdf
107. 桑寄生配方颗粒 .pdf	108. 桑叶配方颗粒 .pdf
109. 桑枝配方颗粒 .pdf	110. 山茱萸配方颗粒 .pdf
111. 山楂（山里红）配方颗粒 .pdf	112. 射干配方颗粒 .pdf
113. 升麻（大三叶升麻）配方颗粒 .pdf	114. 生姜配方颗粒 .pdf
115. 生地黄配方颗粒 .pdf	116. 首乌藤配方颗粒 .pdf
117. 熟大黄（药用大黄）配方颗粒 .pdf	118. 熟地黄配方颗粒 .pdf
119. 烫骨碎补配方颗粒 .pdf	120. 桃仁（桃）配方颗粒 .pdf
121. 天花粉（栝楼）配方颗粒 .pdf	122. 天麻配方颗粒 .pdf
123. 土茯苓配方颗粒 .pdf	124. 菟丝子（菟丝子）配方颗粒 .pdf
125. 王不留行配方颗粒 .pdf	126. 乌梅配方颗粒 .pdf
127. 乌药配方颗粒 .pdf	128. 夏枯草配方颗粒 .pdf
129. 香橼（香圆）配方颗粒 .pdf	130. 续断配方颗粒 .pdf
131. 玄参配方颗粒 .pdf	132. 旋覆花（旋覆花）配方颗粒 .pdf
133. 延胡索配方颗粒 .pdf	134. 盐补骨脂配方颗粒 .pdf
135. 盐车前子（车前）配方颗粒 .pdf	136. 盐杜仲配方颗粒 .pdf
137. 盐黄柏配方颗粒 .pdf	138. 盐菟丝子（菟丝子）配方颗粒 .pdf
139. 盐续断配方颗粒 .pdf	140. 盐知母配方颗粒 .pdf
141. 野菊花配方颗粒 .pdf	142. 益母草配方颗粒 .pdf
143. 茵陈【滨蒿（绵茵陈）】配方颗粒 .pdf	144. 淫羊藿（淫羊藿）配方颗粒 .pdf
145. 鱼腥草配方颗粒 .pdf	146. 远志（远志）配方颗粒 .pdf
147. 泽兰配方颗粒 .pdf	148. 泽泻配方颗粒 .pdf
149. 知母配方颗粒 .pdf	150. 栀子配方颗粒 .pdf
151. 枳壳配方颗粒 .pdf	152. 枳实（酸橙）配方颗粒 .pdf
153. 制何首乌配方颗粒 .pdf	154. 炙甘草（胀果甘草）配方颗粒 .pdf
155. 炙甘草配方颗粒 .pdf	156. 炙淫羊藿（淫羊藿）配方颗粒 .pdf
157. 肿节风配方颗粒 .pdf	158. 紫花地丁配方颗粒 .pdf
159. 紫苏子配方颗粒 .pdf	160. 紫菀配方颗粒 .pdf

附件 2. 中药配方颗粒国家药品标准（第二批）公示稿

001. 白术配方颗粒 .pdf	002. 苍术（北苍术）配方颗粒 .pdf
003. 炒苍耳子配方颗粒 .pdf	004. 炒火麻仁配方颗粒 .pdf
005. 炒蒺藜配方颗粒 .pdf	006. 炒酸枣仁配方颗粒 .pdf
007. 炒紫苏子配方颗粒 .pdf	008. 醋青皮（个青皮）配方颗粒 .pdf
009. 醋青皮（四花青皮）配方颗粒 .pdf	010. 醋香附配方颗粒 .pdf
011. 党参（党参）配方颗粒 .pdf	012. 麸炒白术配方颗粒 .pdf
013. 瓜蒌（栝楼）配方颗粒 .pdf	014. 蒺藜配方颗粒 .pdf
015. 酒管花肉苁蓉配方颗粒 .pdf	016. 酒苁蓉配方颗粒 .pdf
017. 桔梗配方颗粒 .pdf	018. 连翘配方颗粒 .pdf
019. 罗布麻叶配方颗粒 .pdf	020. 木蝴蝶配方颗粒 .pdf
021. 木香配方颗粒标准 .pdf	022. 炮姜配方颗粒 .pdf
023. 青皮（个青皮）配方颗粒 .pdf	024. 青皮（四花青皮）配方颗粒 .pdf
025. 瞿麦（石竹）配方颗粒 .pdf	026. 人参配方颗粒标准 .pdf
027. 肉苁蓉（管花肉苁蓉）配方颗粒 .pdf	028. 桑椹配方颗粒 .pdf
029. 蛇床子配方颗粒 .pdf	030. 苏木配方颗粒 .pdf
031. 酸枣仁配方颗粒 .pdf	032. 吴茱萸配方颗粒 .pdf
033. 香附配方颗粒 .pdf	034. 制巴戟天配方颗粒 .pdf
035. 制吴茱萸配方颗粒 .pdf	036. 制远志（远志）配方颗粒 .pdf

附件 3. 中药配方颗粒国家标准申报资料目录及要求

资料编号	资料名称	资料要求及说明
资料 1	基本情况	1.1 概况 要求：依据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》，介绍本品药材产地分布（主产地与道地产地）、野生与栽培资源情况；饮片炮制考察，包括历史沿革、收载国标与地标的比较等；本申报单位成品配方颗粒的生产与销售情况等。
		1.2 研究资料综述要求：对原辅料、标准汤剂、配方颗粒的生产工艺、质量标准、稳定性试验、样品检验、药包材等各项研究资料进行简要综述。
		1.3 证明文件要求：应提供营业执照复印件；《药品生产许可证》复印件；应提供有效期内的《药品生产质量管理规范》证书复印件；发生变更情况应提供相关批件复印件（生产场地、生产单位等）；企业研究资料真实性、不构成侵权的承诺书。
		1.4 附表《汇总量质传递数据表》（见附表 2） 要求：应列表汇总说明量质传递情况，项目应涵盖申报研究批次的药材、饮片、标准汤剂、中间体、成品（应包括按商业规模试验批次三批）；针对药材、饮片应汇总含量、特征图谱（特征峰个数及相对峰面积）相关数据；针对标准汤剂、中间体、成品应汇总出膏率、含量、含量转移率、特征图谱（特征峰个数及相对峰面积）、浸出物，其中生产批次应分步（按提取、浓缩、干燥、制粒各阶段）汇报；其中应注意研究批次的编号应具有追溯性，生产批次所用饮片应包括在研究总批次内，数据存在离群情况的应斜体注明；对数据应进行简要汇总及分析，包括实测范围、平均值、均值 $\pm 30\%$ 范围、SD 值、均值 $\pm 3SD$ 范围、离群值分析、整体量质传递趋势分析等。
资料 2	原料研究资料	2.1 原料基本情况 要求：对于选取的研究品种，应从历史本草考证、中医临床应用与功效、市场需求及质量评价等方面简要说明。同时对药材基原（所有基原）、药用部位、产地、生长年限、采收时间、产地加工、饮片炮制方法及其工艺参数、包装、运输、贮藏方法及药材饮片执行标准等进行阐述。 其中： ① 基原：说明标准收载基原及本品选定基原情况； ② 药用部位：说明标准收载的药用部位，收载有不同药用部位应明确选定情况； ③ 产地：说明品种产地资源情况，包括主产地、道地产地、迁移产地及野生或栽培情况；明确用于生产的中药材固定产地或建立的基地 ④ 采收：如存在分季节采收、新鲜用、生长至足够年限等情况，应说明确定的采收时间（或季节）及生长年限； ⑤ 产地加工：说明传统产地加工方式（规格）和目前常用的加工方式（规格）及选定的加工方式（规格）； ⑥ 饮片炮制：说明炮制方法的法定依据及详细炮制工艺和参数。
		2.2 研究内容论述 要求：应针对总体情况中各项内容进行详细研究论述，通过历史考证、临床应用、产地情况、市场资源、质量状况等方面研究说明选定的依据： ① 基原：提供基原鉴定结果，多基原品种应说明各基原比较和选定基原的依据； ② 药用部位：标准中收载有不同药用部位的品种，应对不同药用部位的临床使用情况和质量情况进行调研或研究，说明确定的依据，如当归（归头、归身、归尾、全当归）、槐花（槐花、槐米）等； ③ 产地：应对药材产地资源情况进行充分调研和质量比对研究，确定固定产地的依据，如白芍（杭白芍、亳白芍、川白芍）、厚朴（川朴、温朴）、泽泻（川泽泻，拉丁名为泽泻、建泽泻，拉丁名为东方泽泻，均收入 2020 版药典）； ④ 采收：应对采收时间和生长年限进行考察，明确采收时间或季节及生长年限并说明理由，如三七（春七，三年以下，在开花前打挖；冬七，秋冬季结籽后采收）、金银花（幼蕾、三青、二白、大白、银花、金花、洞花）、连翘（青翘、老翘）、防风（一年生、多年生）、重楼（种播 7-10 年、苗栽 5-6 年）等； ⑤ 产地加工：应对产地加工方式和规格进行充分调研和质量研究，确定产地加工方式和规格，提供确定的依据，如山药（毛山药、光山药）、知母（毛知母、光知母）、茯苓（茯苓个、茯苓块）、人参（生晒参、红参）、远志（去芯）等； ⑥ 饮片炮制：应依据法定标准规定的炮制方法，对炮制工艺参数进行详细考察，提供炮制工艺及参数确定的依据；制定相应生产过程质量控制方法；对以炮制品为原料的品种应加强专属性研究，区别其与生品的质量差异；同时对于品种在药典饮片标准中收载可采用不同辅料炮制，且临床功效有明显差异的情况，应考察各自质量差异，如熟地黄（直接蒸制、用酒蒸制）。
		2.3 原料质量标准研究 要求：应提供申报品种所用药材、饮片的最新法定质量标准（附标准复印件）、企业内控质量标准及起草说明，包括选用的饮片炮制用辅料的标准等。
		2.4 因中药配方颗粒水煎煮特点，应结合成品颗粒标准，建立采用水溶性成分为待测成分的内控标准，包括可用于量质传递研究的特征图谱等，并应对外源性有毒有害物质加强监测，必要时建立相应内控标准。 应对所有研究批次药材、饮片按照药典标准及企业内控标准进行检验，列表汇总说明。
		2.5 原料检验报告 要求：应提供申报品种用于生产的 3 批原料药材和饮片的质量检验报告（按法定标准及企业内控标准分别检验）。
		2.6 原料供货协议 要求：原料供货商的供货协议中原料信息、供货时间应符合要求并可追溯。属外购原料药材的，需提供申报品种已确定原料供货商的供货协议和购货发票。其他申报单位认为必须提供的其他与原料研究有关的资料。

附件 3. 中药配方颗粒国家标准申报资料目录及要求 (续)

资料编号	资料名称	资料要求及说明
资料 3	辅料研究资料	3.1 辅料来源 要求：依据原辅料关联审评审批要求，提供辅料（包括饮片炮制用辅料及工艺过程中用到的辅料）来源相关证明性文件，并说明在 CDE 原辅料备案登记平台登记情况。
		3.2 辅料用途 要求：应说明各辅料的工艺用途、安全使用范围，建议使用常用辅料，辅料用量和新型辅料（不溶性辅料在溶化性研究中应予以研究说明）的使用需进行研究说明，并评估其风险。
		3.3 辅料检验报告 要求：应提供本品近期使用的 1-3 批辅料的申报单位检验报告书。
		3.4 辅料供货协议 要求：应提供本品已确定辅料供货商的供货协议和购货发票。
资料 4	标准汤剂研究资料	4.1 工艺研究要求：应对标准汤剂制备工艺进行研究，确定工艺参数，依据确定的工艺制备 15 批以上标准汤剂。 ① 总体描述： 1. 制法：参照药典规范格式描述标准汤剂制法，附工艺流程图。 2. 工艺：从饮片至干膏粉的完整制备工艺和参数，其中重点工艺参数应包括，饮片取样、前处理（破碎、闷、浸、润等）、加水量、煎煮（器皿及参数、加热次数、时间、温度）、滤材、浓缩参数（可考虑加入相对密度范围等参数）、干燥分装方式等。 ② 制备工艺研究：标准汤剂制备工艺研究前应提出饮片前处理、煎煮、固液分离、浓缩、干燥等工艺研究方案及方案制定的依据。 1. 前处理：需要对饮片进行破碎、去壳等前处理的品种应提供前处理的依据并对前处理方法进行考察并确定参数，列入破碎方法、破碎粒度等。 2. 煎煮：应包括取样量（100-200 g）、浸泡、煎煮次数（一般二次，如一煎应说明原因）、加水量、煎煮时间、火候（煎药锅功率）的研究考察，同时应符合临床使用要求（即先煎、后下（采用沸水提取）、包煎等）。 3. 固液分离：应包括间隔搅拌、过滤方式、滤液处理、滤器孔目等研究考察。 4. 浓缩：应包括浓缩方式（减压、低温浓缩）、真空度、温度（一般不超过 65℃，如超过应详细说明）、浓缩控制相对密度范围（可选做）、出膏率等研究考察。 5. 干燥：首选冷冻干燥成冻干粉，同时注意含挥发油成分的损失。必要时对含挥发油的药材，进行标准汤剂与冻干粉的比较，如冻干粉和标准汤剂差异大时，以标准汤剂为对照。 6. 工艺验证：对拟定的工艺进行工艺验证。 7. 标准汤剂的制备：按照验证的标准汤剂制备工艺制备不少于 15 批次标准汤剂。
		4.2 标准汤剂质量研究 要求：应制定标准汤剂的质量标准，包括出膏率、薄层色谱、特征 / 指纹图谱、浸出物、含量及含量转移率等。根据 15 批以上标准汤剂的测定结果（平行样操作，以均值计算结果），对其中重要表征参数及标准汤剂研究进行说明： ① 出膏率范围：根据 15 批以上（包括 15 批）标准汤剂的出膏率，计算平均值或标准偏差，结合实测数据确定出膏率范围，如出现离群值，应对离群值做出分析。 ② 含量及含量转移率范围： 1. 含量测定指标选定：应兼顾品种中医理论指导下临床药效特点、主要化学成分、配方颗粒水煎特点、现行版《中国药典》及相应炮制规范同品种质量标准，选定合理成分作为测定指标，并说明原因。 2. 含量及转移率范围拟定：根据 15 批以上（包括 15 批）标准汤剂的含量及含量转移率测定结果，计算平均值或标准偏差，结合实测数据，确定含量及含量转移率的范围，如出现离群值，应对离群值做出分析。 ③ 特征/指纹图谱：采用液相或气相色谱法，根据品种水煎后化学成分特点，建立特征/指纹图谱；以对照药材作为随行对照物质；遴选特征峰应进行说明，并尽量进行峰归属和对照品指认；应合理拟定的相对保留时间、相对峰面积的规定范围，同时应考察煎煮过程中发生化学转化对特征图谱的影响。 ④ 浸出物：应开展标准汤剂浸出物研究，为成品浸出物制定限度提供依据。 ⑤ 标准汤剂质量标准的方法学考察：可参照资料 7 中成品质量标准起草说明开展。
		4.3 小结 要求：应对标准汤剂的原料选择、工艺考察、含量测定、特征图谱等研究内容的依据及过程进行小结。
		4.4 其他 要求：申报单位认为必须提供的其他与标准汤剂相关的研究资料。

附件 3. 中药配方颗粒国家标准申报资料目录及要求 (续)

资料编号	资料名称	资料要求及说明
资料 5	生产工艺研究资料	<p>5.1 制备工艺研究资料</p> <p>要求：应以标准汤剂的质量指标为依据，对生产工艺进行详尽研究。</p> <p>① 总体描述</p> <p>1. 制法：参照药典规范格式描述制法并附工艺流程图。</p> <p>2. 工艺：提供本品包括工艺参数在内的详细生产工艺流程（包括原料的前处理、饮片规格、投料量、加水量、提取时间、加热温度、滤材目数、浓缩参数（减压、温度、清膏相对密度范围）、干燥方式、辅料（名称、加入方式、加入量）、制粒方式、包装规格、贮藏条件等。</p> <p>② 工艺研究</p> <p>要求：参考标准汤剂制备工艺，结合标准汤剂质量指标，考察各工序实施步骤，分步小结量质传递情况，通过小试、中试，优选合理工艺方案，并提供研究用设备、设施、原辅料及分析分析用仪器、试剂试药和分析方法等。</p> <p>1. 提取工艺：应对饮片前处理（破碎规格、提取前浸泡时间）、加水量及提取温度、时间、次数等进行考察，确定最佳工艺参数。</p> <p>2. 分离工艺：应考察过滤方式、滤材种类、滤材目数等。</p> <p>3. 浓缩工艺：应考察温度、时间、真空度等。</p> <p>4. 干燥工艺：应考察干燥方式、是否必要加入辅料及辅料加入量等。</p> <p>5. 成型工艺：应考察制粒方式、辅料加入量、制粒指标（性状、粒度、水分、溶化性、堆密度、休止角），成品得率等。</p> <p>6. 包装规格：应详细说明内外包装规格，单剂量、多剂量情况及特殊人群服用包装规格。</p> <p>7. 制成量确定方案：应根据标准汤剂表征数据推算，并结合优选工艺及实际生产情况进行修正、制定，充分说明制成量制定的合理性。</p> <p>8. 特殊工艺：如含挥发油的品种，应对挥发油进行充分研究，包括包含及加入方式，并结合标准汤剂研究结果，与标准汤剂达到较一致量质传递。</p> <p>对上述步骤工艺研究进行汇总并进行验证后，形成大生产实施方案。</p> <hr/> <p>5.2 生产试验与过程控制研究</p> <p>① 生产设备与物料</p> <p>要求：应提供涉及仪器、耗材、原辅料包材用量的来源及型号规格。</p> <p>② 对中间体的质量控制</p> <p>要求：应制定中间体的质量控制标准及起草说明。具体制定方案与起草说明要求可参考标准汤剂、成品的质量标准及起草说明要求。同时，应提供用于生产的三批中间体的企业内控检验报告。</p> <p>③ 关键工艺步骤与控制点</p> <p>要求：应以工艺流程图形式列出关键工艺步骤的控制点、相关参数及控制范围，并对关键控制点进行详细工艺描述。对于产品质量属性（外观、粒度、溶化性、含量、出膏率、特征图谱峰面积变化（特征峰变化、杂峰变化）、安全性（引入杂质或转化杂质及含毒性成分的品种应重点控制）有较大影响的过程控制点应详细研究说明。同时应对关键过程控制点与标准汤剂表征参数的变化进行研究比较。</p> <p>④ 制定分步工艺关键参数控制范围</p> <p>要求：应考察并计算出分步工艺环节的出膏率、含量转移率并制定各分步工艺的关键参数指控制范围。</p> <p>⑤ 异常情况分析</p> <p>要求：大生产（或中试）数据应向标准汤剂数据靠拢，二者出现较大差距时，应研究阐明原因，提出解决方案。</p> <p>⑥ 量质传递分析</p> <p>要求：应提供出膏率、特征图谱、含量及含量转移率分析数据，说明从药材、标准汤剂、中间体、成品的量质传递数据的变化情况，提供三批生产批次数据与过程控制的条件和参数，对于其中发生较大传递偏差的情况，应予以说明，提出控制策略，证明整个工艺过程的合理性。（对于特征 / 指纹图谱，应说明特征峰相对峰面积的变化、非共有峰的变化）。</p> <hr/> <p>5.3 其他</p> <p>申报单位认为必须提供的其他工艺研究及验证资料。</p>

附件 3. 中药配方颗粒国家标准申报资料目录及要求 (续)

资料编号	资料名称	资料要求及说明
资料 6	与质量相关的研究资料	<p>6.1 质量研究文献 要求：应提供本品质量相关的文献综述及文献资料，其中应包括本草考证、药材资源、栽培情况、饮片炮制加工及质量研究、不同基原或易混淆品种质量研究、化学成分研究、质量标准研究以及配方颗粒前沿研究文献（国内外情况）等内容。</p>
		<p>6.2 质量研究 要求：应依据品种临床疗效、化学成分特点，提供相关物质基础研究、鉴别专属性研究、特征图谱研究及其特征峰指认、定量指标的选择及方法研究、生物学质控方法研究等资料。同时应根据品种特点，提供相关有害元素、真菌毒素监测研究、内源性毒性成分研究及其他控制安全有效风险点的过程管控研究资料。</p>
		<p>6.3 对照物质 要求：如为中检院已发放的对照物质，应提供其名称、批号等信息。如为新增对照物质，应按照中检院《药品标准物质原料申报备案办法》，提供新增标准物质研制、标定等资料、实物样品和备案审核信息。</p>
		<p>6.4 其他 药品生产企业认为必须提供的其他质量研究相关资料。</p>
资料 7	质量标准研究资料	<p>7.1 质量标准依据：《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》中相关规定；《国家药品标准工作手册》（第四版）中相关要求；《中国药典》2020 年版四部 9101 分析方法验证指导原则。 要求：质量标准研究应针对配方颗粒特点，建立专属性薄层色谱及特征图谱或指纹图谱等整体控制方法进行鉴别；含量测定应选择水溶性有效成分或专属指标成分作为测定指标并根据标准汤剂的含量及含量转移率范围制定合理含量上下限度；为有效控制配方颗粒的安全性，应参照药材、饮片质量标准中规定的重金属、农药残留、真菌毒素限量制定相应的检查项目，对于药材、饮片标准中未规定上述安全性检查项目的品种应进行相应考察，根据考察结果确定是否有必要进行控制。 品种的质量标准研究应优先参考现行药典相关品种（炮制规格）的标准进行，同系列品种应在研究内容、形式上有一致性和相关性；书写格式、修约、图例应参照药典进行统一规范；涉及标准物质，应优先考虑使用中检院提供的，对照药材优先考虑使用生品对照药材。 ①【品名】项应为炮制品或生品（基原名）配方颗粒及拼音名 ②【来源】项应明确基原、拉丁名、药用部位，注明经炮制并按标准汤剂的主要质量指标加工制成的配方颗粒。 ③【制法】项应明确投料量、主要工序，并统一为 1000 g 制成量，出膏率范围上限不可超制成量，下限应注意与辅料的配比。 ④【性状】项应明确颜色范围及气味，颜色范围不应跨多个色系，并按药典格式规范描述。 ⑤【鉴别】项制定薄层鉴别应加强炮制饮片的专属性研究，加入对照药材优先选用生品，必要时增加水煎煮步骤。 ⑥【检查】项除另有规定外，按照药典颗粒剂通则执行，如有特殊检查项或特殊试验操作可在正文体现。 ⑦【特征/指纹图谱】项色谱系统应经过充分优化，一般特征峰应与相邻色谱峰达到基线分离，特征峰个数不少于 6 个。对照图谱的图例在标尺、配制浓度、峰形、峰高上应与供试品体现较一致的量质关系；特征图谱对照药材优先使用中检院提供生品，对照药材参照物溶液制备必要时可增加水煎煮步骤；指纹图谱的标准谱图应为 15 批标准汤剂及 3 批生产批次拟合而得。所附的色谱图均应为原图，不可经软件处理，色谱图下标注指认色谱峰及推荐色谱柱（注明型号、填料、柱长、内径、粒径）。 ⑧【浸出物】项应依据标准汤剂研究和实际生产数据制定合理限度。 ⑨【含量测定】项如特征图谱、含量测定项目具有相同的色谱条件、供试品制备方法，应统一参见【含量测定】项。 ⑩【注意】项应与现行版药典同品种饮片标准一致。 ⑪【规格】项应与【制法】项投料产出比一致。 ⑫【贮藏】项应依据稳定性试验结果制定。应结合产品实际情况制定严于法定标准的企业内控质量标准。</p>
		<p>7.2 质量标准起草说明 依据：《中国药典》通则“9101 药品质量标准分析方法验证指导原则”及《国家药品标准工作手册》相关内容。 要求：提供质量标准的建立和方法学验证资料，提供详细的研究数据。 ① 药品名称 要求：包括中文名称与拼音全拼，炮制品或生品应明确，如多基原品种，申报的基原用小括号在后面标注，如：炙甘草（胀果甘草）配方颗粒。 ② 来源 要求：应说明基原（在资料 1 中提供基原证明文件）、药用部位、生长年限、采收时期、炮制规格等。 ③ 制法 要求：应明确制成量（投料量）折算依据；出膏率规定范围依据（应参考标准汤剂研究，在出膏率均值 ±30% 范围内）；辅料添加依据（存在不溶性辅料应详细说明）。 ④ 性状 要求：应以三批生产批次的实际性状进行描述，并附彩图予以说明。 ⑤ 薄层鉴别 要求： 1. 采用彩色图片，主斑点比移值应在 0.2-0.8； 2. 以炮制品为原料的品种应进行专属性考察：比对同品种的生熟品区别、不同炮制规格区别； 3. 多基原区别考察：比对同品种不同基原及异混品； 4. 对照物质应包括对照品、对照药材（对照提取物），对照药材首选生品并进行比对考察，对照药材制备方法必要时加入水煎步骤，非中检院提供标准物质，应补充说明标定过程及中检院备案证明； 5. 方法学考察应包括：供试品、对照品溶液浓度考察、专属性考察（空白试验）、重现性考察（标准品、供试品）、耐用性考察：薄层板（至少 3 种）考察、温湿度考察、展开剂（比例）考察、点样浓度（点样量）考察、展开识读条件考察。 6. 最终对形成鉴别方法进行小结。 ⑥ 检查</p>

附件 3. 中药配方颗粒国家标准申报资料目录及要求 (续)

资料编号	资料名称	资料要求及说明
7.2 (续)		<p>要求：各检查项均应有实际试验数据支撑，不可仅以文献考察论述。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 应对重金属及有害元素残留、农药残留、二氧化硫残留、真毒素残留进行详细实际研究测定； 2. 应包括目前准备上市销售的所有包装规格（单剂量、多剂量）； 3. 溶化性试验的起草说明中应对单剂量、多剂量均进行研究； 4. 应提交微生物限度检查验证资料。 <p>⑦ 特征图谱</p> <p>要求：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 色谱系统：提供研究用液相色谱柱，应注明厂牌（类别）、填料、柱长、内径、粒径（气相色谱柱，应注明厂牌、系列、填料、长度、内径、膜厚）等；色谱仪应注明厂牌、型号（具体）、检测器、操作系统。 2. 色谱条件：色谱条件应进行充分优化；对色谱系统死体积进行研究， 3. 并对梯度程序优化；特征峰与相邻色谱峰应达到基线分离，必要时进行峰纯度检测。 4. 特征峰指认与遴选：特征峰应尽量进行质谱归属，有条件的可进行对照品指认；S 峰（多 S 峰）遴选应有详细考察说明；特征峰应包含品种主要大类成分，如未选药典中指标成分，应详细研究说明。 5. 采用炮制品为原料品种的专属性研究与多基原品种的区别研究：特征图谱应考察品种与其所有炮制规格的差别及与生品差别；多基原品种或常见易混淆品种应研究说明。 6. 特征峰相对保留时间规定值范围：一般应不超过 $\pm 10\%$ 范围。若超过 $\pm 10\%$ 范围，可考虑增加参照物，即特征图谱测定中采用 1 个或多个参照物分别对不同特征峰的相对保留时间做出规定。 7. 应以中检院对照药材作随行对照物质：必要时对照药材溶液制备前处理增加水煎步骤，优先选用生品，对照药材与炮制品在特征图谱有较大区别的使用相应炮制品。 8. 指纹图谱的对照图谱应为 15 批次标准汤剂与 3 批生产成制品剂共同拟合；拟合模式（全峰匹配、特征峰 Mark 峰匹配）应说明，如采用 Mark 峰匹配，应对非共有峰占比进行研究，在起草说明中规定占比范围；相似度一般不得低于 0.90。 9. 方法学验证研究（可参照含量测定方法学考察内容进行）。 <p>⑧ 浸出物</p> <p>要求：限度应结合标准汤剂浸出物研究结果及实际生产数据制定。</p> <p>⑨ 含量测定</p> <p>要求：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 色谱系统：提供研究用液相色谱柱，应注明厂牌（类别）、填料、柱长、内径、粒径（气相色谱柱，应注明厂牌、系列、填料、长度、内径、膜厚）等；色谱仪应注明厂牌、型号（具体）、检测器、操作系统。 2. 色谱条件优化：应对色谱系统进行充分优化；对色谱系统死体积进行研究；分离度应不小于 1.5，拖尾因子在 0.95-1.05，必要时进行峰纯度检测。 3. 待测成分选择：应结合临床效用、化学成分、水煎特点综合遴选，并参考现行药典相关品种，如未选药典中含测项目或指标成分的，应详细研究说明。 4. 供试品及标准物质溶液制备：应优先考察现行药典中相关品种制备方法。 5. 限度范围：结合标准汤剂研究结果及实际生产数据制定。 6. 试验验证及方法学考察内容至少应包括：供试品前处理：溶剂、提取方式；专属性；准确度：回收率应为 3 水平，各 3 份；精密度的：包括重现性、中间精密度的、重现性；线性；耐用性：包括流动相 pH 值（如存在酸碱性，建议考察）、流动相比例、波长、柱温、流速，色谱柱至少 3 种品牌（如只适用于单品牌，应试验多批号验证），至少 2 种品牌色谱仪。 <p>所有考察结果 RSD% 应不大于 2%（建议参考《国家药品标准工作手册》详细制定）。</p> <p>⑩ 规格：应与制法项投料产出比一致。</p> <p>⑪ 贮藏：应参考稳定性试验结果制定。</p>
7.3	委托研究后的方法学转移研究	<p>要求：申报品种的研究过程中因申报单位条件受限，由其他单位协助或承接相关研究内容的（如标准物质自行提取、分析仪器租赁、分析方法外包），应详细说明，并附实验室资质证明（应通过省级以上 CMA 认证或 CNAS 认证，具备药品领域检测能力的实验室）。同时，申报的质量标准正文内容需要该实验室进行专属性、重现性和准确度的方法学转移研究。</p>
7.4	第三方实验室复核报告	<p>要求：申报单位在完成申报品种质量标准起草，将用于大生产的三批申报品种提交第三方实验室（应符合《技术要求》中指定实验室和人员要求，推荐省级药品检验所）进行复核。通过后，取得复核报告及复核意见，方有资格提交申报受理。</p>
资料 8	稳定性研究资料	<p>8.1 稳定性研究</p> <p>依据：《中国药典》四部通则“9001 原料与制剂稳定性试验指导原则”及“中药、天然药物稳定性研究技术指导原则”进行研究。申报单位提供申报品种的三批次留样产品的详尽的长期稳定性考察试验数据资料，申报时未完成所有考察时间的，可在完成后继续补充。</p> <p>要求：考察项目应包括性状、鉴别、特征图谱（除标准规定外，应关注非共有峰变化，积累研究数据）、检查（品种单列项及药典颗粒剂通则项）、微生物限度、浸出物、含量测定。</p> <p>提供资料应包括：</p> <ol style="list-style-type: none"> ① 试验样品应为中试以上三批，且涉及投料药材应在标准汤剂研究选取范围内，同时明确储存条件和存储时间。 ② 鼓励申报单位进行影响因素试验（高温、高湿、强光）。 ③ 加速稳定性试验应按指导原则进行试验，并提交 0、3、6 月试验研究资料。 ④ 长期稳定性试验应按指导原则进行试验，并至少完成 24 个月试验，申报阶段应至少提交 6 个月室温条件下稳定性试验数据，其余数据应阶段性补齐提交（热敏品种可根据指导原则要求调整分析条件）。 ⑤ 修订处方量、规格（非包装规格）、变更工艺、辅料、内包材后应重新考察稳定性，并重新提交稳定性试验资料。

附件 3. 中药配方颗粒国家标准申报资料目录及要求 (续)

资料编号	资料名称	资料要求及说明
资料 9	样品检验报告书	9.1 样品检验报告书 要求：提供申报标准的全检报告（包括微生物限度检查，在资料 7 中可选择补充相关验证资料）；全检报告应为大生产三批产品；申报方对自检报告与复核单位报告进行总结比较，差异情况予以分析说明。
资料 10	药包材研究资料	10.1 药包材来源 要求：依据原辅包关联审评审批要求，提供本品直接接触药品包装材料的来源相关证明性文件，并说明在 CDE 原辅包备案登记平台登记情况。
		10.2 药包材质量标准 要求：提供本品直接接触药品包装材料的质量标准，并说明出处。同时附申报品种生产批次涉及包材批次的检验报告。
		10.3 药包材相容性研究 要求：提供申报品种与所用包材的相容性研究资料，如已用于市售颗粒剂，可仅提供证据，不再进行相容性研究。
		10.4 药包材供货协议 要求：提供已确定药包材供货商的供货协议、相关批次的购货证明。

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 9 月 22 日, 中国出版
5994-4216ZHCN

