

# 细辛 (*Asari Radix Et Rhizoma*) 中细辛脂素的测定

使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18,  
1.9  $\mu\text{m}$  色谱柱

## 作者

Rongjie Fu  
安捷伦科技（上海）有限公司

## 应用简报

制药

## 摘要

同时采用亚 2  $\mu\text{m}$  Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 色谱柱和传统 5  $\mu\text{m}$  色谱柱分析细辛 (*Asari Radix Et Rhizoma*) 中的活性化合物细辛脂素。亚 2  $\mu\text{m}$  色谱柱提高了分离度，并缩短了分析时间。

## 前言

为控制中药 (TCM) 的质量，需要使用中国药典 (CHP) 中规定的 HPLC 方法测定其中主要化合物的含量。细辛脂素是中药细辛中的活性化合物，根据 CHP 的规定，该化合物需要通过采用传统色谱柱的 HPLC 方法进行测定 [1]。

与相同尺寸的全多孔颗粒填料相比，表面多孔颗粒填料液相色谱柱在不升高压力的前提下柱效更高。新开发的亚 2  $\mu\text{m}$  表面多孔颗粒填料色谱柱具有更高的柱效及更短的分析时间。

我们将 CHP 方法从传统 Agilent ZORBAX Eclipse Plus-C18, 4.6  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$  色谱柱转移到 InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2.1  $\times$  100 mm, 1.9  $\mu\text{m}$  和 2.1  $\times$  150 mm, 1.9  $\mu\text{m}$  色谱柱上。分析结果有所改善，包括更高的分离度和更短的分析时间。



Agilent Technologies

## 材料与方法

所有试剂和溶剂均为 HPLC 或分析纯级。乙腈购自美国 JT Baker。TCM 细辛和细辛脂素购自中国的制药公司。将细辛脂素溶解在甲醇中，配制成 50 µg/mL 的标准溶液。

采用 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统进行 HPLC 和 UHPLC 分析，该系统包括：

- Agilent 1290 Infinity 二元泵 (G4220A)
- Agilent 1290 Infinity 自动进样器 (G4226A)
- Agilent 1290 Infinity 柱温箱 (G1316C)
- Agilent 1290 Infinity 二极管阵列检测器 (DAD) (G4212A)

表 1 列出了 UHPLC 系统的配置详情。表 2 列出了液相色谱方法参数。

表 1. Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统配置

参数	值
Agilent 1290 Infinity 二元泵 (G4220A):	35 µL 溶剂混合器: Jet Weaver, 35 µL/100 µL (G4220-60006)
Agilent 1290 Infinity 高性能自动进样器 (G4226A):	低扩散针座组件, 用于 Agilent 1290 Infinity 自动进样器 (G4226-87020) 自动进样器与加热器: 不锈钢毛细管, 0.12 × 300 mm (G1316-87318) 螺口盖棕色样品瓶, 带书写签, 经过认证, 2 mL, 100/包 (5182-0716) 蓝色螺口盖, 带 PTFE/红色硅橡胶隔垫, 100/包 (5182-0717)
Agilent 1290 Infinity 柱温箱 (G1316C):	热交换器, 1.6 µL, L (G1316-80003) 加热器与色谱柱: A-Line Quick Connect 快速连接组件, 105 mm, 0.12 mm (5067-5957) 色谱柱与流通池: 毛细管, 红色峰, 0.13 × 300 mm, 5 m/包 (5042-6461)
Agilent 1290 Infinity 二极管阵列检测器 (G4212A):	最大光强卡套式流通池, 10 mm, 1 µL (G4212-60008)
Agilent OpenLAB CDS ChemStation 版 (C.01.07 修订版) [27]:	G4226A: A.07.01 [001] G4220A: A.07.01 [0006] G1316C: A.07.01 [001] G4212A: B.07.01 [0005]

表 2. HPLC/UHPLC 方法参数

色谱柱	流动相	流速 (mL/min)	梯度	进样量 (µL)	样品前处理	TCC (°C)	DAD	
Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 µm (部件号 695675-902)	A) 水 B) 乙腈	0.42	时间 (min)	%B	0.8	称取 0.5 g 细辛粉末, 加入 15 mL 甲醇。超声萃取 45 分钟, 然后用 0.2 µm 过滤器 (5190-5277) 过滤	40	287 nm, 40 Hz
			0	50				
			4	50				
			5.2	100				
			7.2	100				
Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 2.7 µm (部件号 695775-902)	A) 水 B) 乙腈	0.42	时间 (min)	%B	1.2		40	287 nm, 40 Hz
			0	50				
			6	50				
			7.8	100				
			10.8	100				
Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 250 mm, 5 µm (部件号 959990-902)	A) 水 B) 乙腈	1.0	时间 (min)	%B	10		40	287 nm, 10 Hz
			0	50				
			20	50				
			26	100				
			36	100				
	36.5	50						
	45	50						

## 结果与讨论

CHP 规定的方法一般是用传统  $4.6 \times 250$  mm,  $5 \mu\text{m}$  色谱柱测定细辛中的细辛脂素含量。在 Agilent ZORBAX Plus C18,  $4.6 \times 250$  mm,  $5 \mu\text{m}$  色谱柱上运行此方法, 然后将方法转移到 Agilent InfinityLab Poroshell 120,  $1.9 \mu\text{m}$ ,  $150$  mm 和  $100$  mm 色谱柱上。将线性流速加倍, 以达到亚  $2 \mu\text{m}$  色谱柱的最高柱效。根据色谱柱长度和流速调节梯度时间。

图 1 中的色谱图显示,  $5 \mu\text{m}$  色谱柱为细辛脂素定量分析提供了可接受的分离度。利用 InfinityLab Poroshell 120,  $2.1 \times 100$  mm,  $1.9 \mu\text{m}$  色谱柱将分析时间从  $40$  分钟缩短至  $10$  分钟, 同时细辛脂素的分离度略有提升。

通常, 定量分析所需的最小分离度是  $1.5$ 。使用 ZORBAX Eclipse Plus-C18,  $4.6 \times 250$  mm,  $5 \mu\text{m}$  和 InfinityLab Poroshell 120 EC-C18,  $2.1 \times 100$  mm,  $1.9 \mu\text{m}$  色谱柱的两种方法都满足定量分析的要求。但这个分离度对于定量分析还不够高。使用更长的亚  $2 \mu\text{m}$  色谱柱可达到更高的峰容量和分离度, 对关键峰而言更是如此。但是, 色谱柱越长, 产生的柱压更高。在本次分析中, 采用了更长的 InfinityLab Poroshell 120 EC-C18,  $2.1 \times 150$  mm,  $1.9 \mu\text{m}$  色谱柱 (图 1)。细辛脂素的分离度从  $1.6$  显著提升到  $2.9$ , 另一个小峰对的分离度从  $1.3$  提高到  $1.6$ 。压力约为  $600$  bar, 远低于  $1300$  bar 的柱压上限, 这个压力也适用于 Agilent 1290 Infinity 液相色谱仪。更小的  $1.9 \mu\text{m}$  表面多孔颗粒填料色谱柱比  $2.7 \mu\text{m}$  色谱柱具有更高的柱效和更出色的分离度, 如图 2 所示。

图 3 表明, 在 InfinityLab Poroshell 120 EC-C18,  $2.1 \times 150$  mm,  $1.9 \mu\text{m}$  色谱柱上运行的方法更适用于细辛中细辛脂素的定量分析。

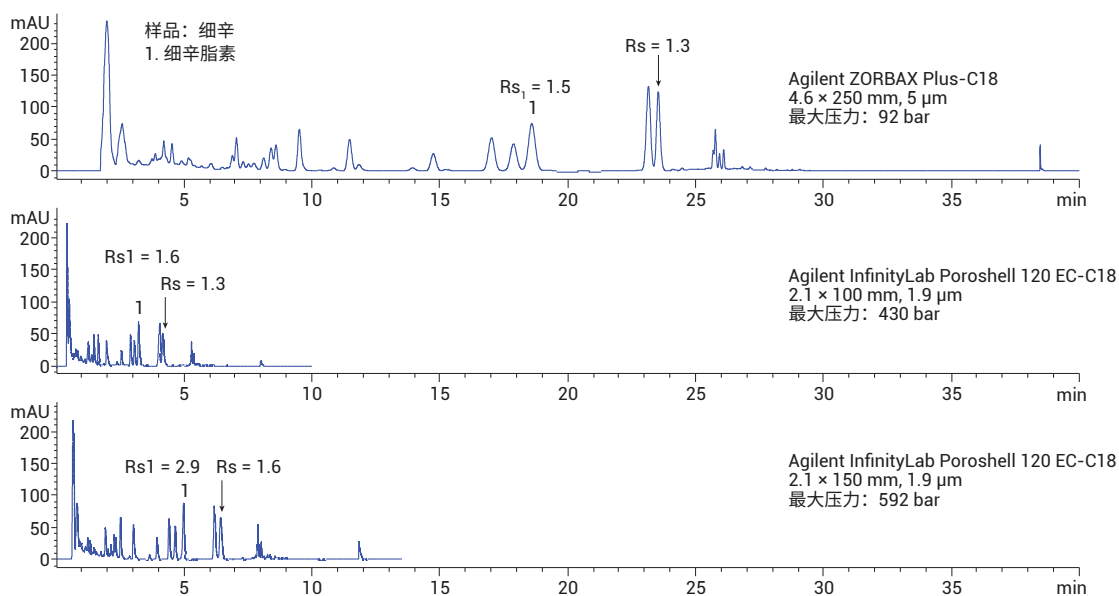


图 1. 使用 Agilent ZORBAX Eclipse Plus-C18,  $2.1 \times 100$  mm,  $1.9 \mu\text{m}$ 、Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18,  $2.1 \times 100$  mm,  $1.9 \mu\text{m}$  和 Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18,  $2.1 \times 150$  mm,  $1.9 \mu\text{m}$  色谱柱得到的细辛分析色谱图

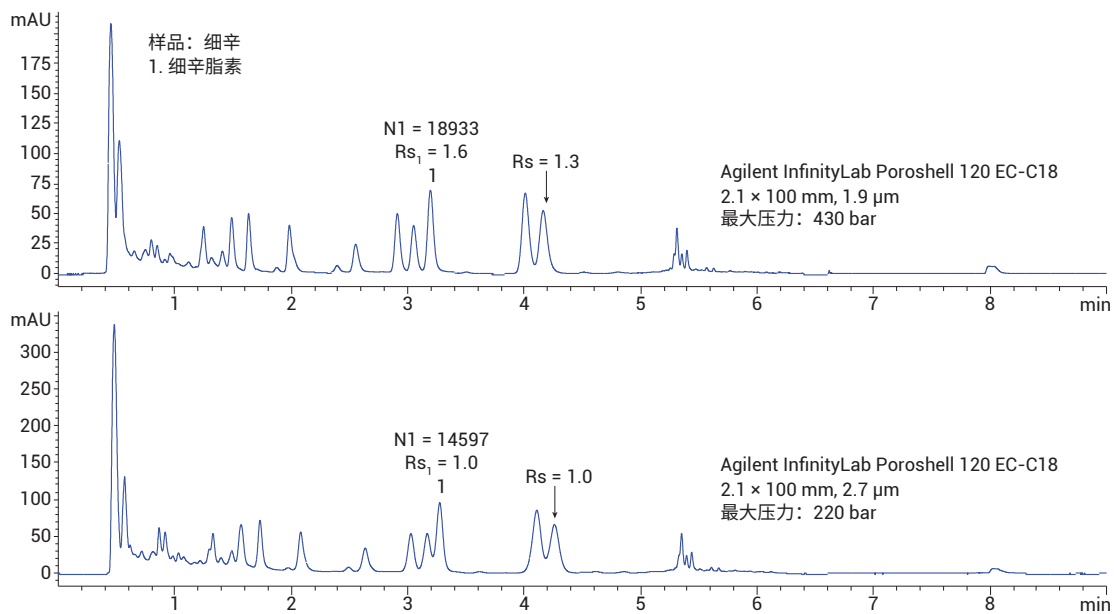


图 2. 使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 1.9 μm 和 Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 2.7 μm 色谱柱得到的细辛分析的色谱图对比

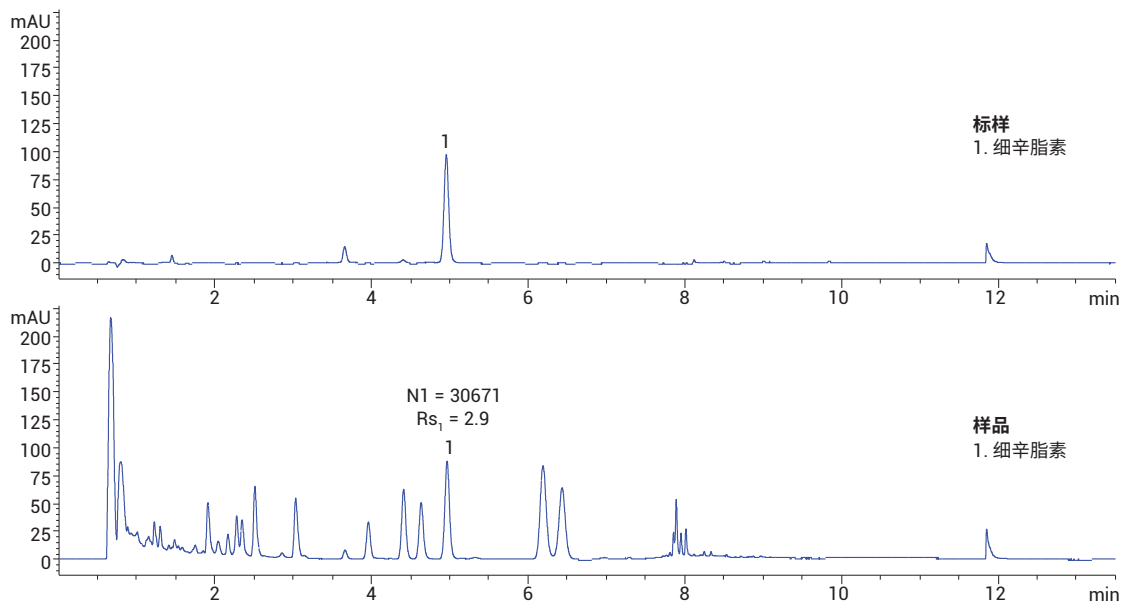


图 3. 利用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 150 mm, 1.9 μm 色谱柱对细辛中细辛脂素的定量分析结果

## 结论

亚 2  $\mu\text{m}$  Agilent InfinityLab Poroshell 120 表面多孔颗粒填料色谱柱在 UHPLC 压力下表现出了卓越性能和快速分析。与短色谱柱相比，长色谱柱可以提供更大的峰容量，从而为目标化合物测量提供足够的分离度。

## 更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的信息，请访问我们的网站 [www.agilent.com](http://www.agilent.com)。

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://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](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

仅限研究使用。不可用于诊断目的。

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。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2017

2017年4月10日，中国出版

5991-8013ZHCN



**Agilent Technologies**