

親水性相互作用液体クロマトグラフィー (HILIC) による 植物中の極性化合物の分析

メハジキ (レオナルスヤポニカ) 中のスタキドリンの定量

著者

Rongjie Fu
Agilent Technologies Co. Ltd.
(Shanghai)

Adam Bivens
Agilent Technologies, Inc.

概要

アルカロイドスタキドリンは、メハジキ (レオナルスヤポニカ) 中に存在する主要な有効成分であり、漢方薬 (TCM) に使用されている 50 種類の基本的なハーブの 1 つです。スタキドリンには高極性の性質があり、逆相クロマトグラフィーでは大部分が保持されません。また、植物マトリックス中には他にも多数の極性化合物が共溶出しているため、スタキドリンの分析は非常に困難です。

親水性相互作用液体クロマトグラフィー (HILIC) は、極性化合物を分析するためのシンプルで強力なソリューションです。Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムを用いることで、植物抽出物から直接スタキドリンを分離して定量できます。このカラムは、高度な両性イオン相ケミストリと表面多孔質粒子を組み合わせ、低背圧動作時に優れたピーク形状と分離能を実現します。

はじめに

レオナルスヤポニカからスタキドリンを分離するために、Agilent InfinityLab Poroshell 120、2.7 μm HILIC-Z カラムを使用しました。スタキドリンの UV 信号は微弱であるため、蒸発光散乱検出器 (ELSD) を使用して検出しました。イソクラティックおよびグラジエントの両方のメソッドを開発しました。

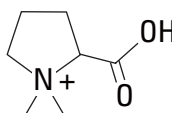


図 1. スタキドリンの構造

実験方法

試薬および薬品

試薬はすべて、HPLC グレード以上のものを使用しました。HPLC グレードのアセトニトリルは J. T. Baker (センターバレー、ペンシルベニア州、米国) から購入しました。純水は、EMD Millipore Milli-Q Integral System (ダルムシュタット、ドイツ) を使用しました。酢酸アンモニウムは Sigma-Aldrich (セントルイス、ミズーリ州、米国) から購入しました。スタキドリン塩酸塩およびレオナルスヤポニカ粉末は、Shanghai Nature Standard (上海、中国) から入手しました。

実験器具と材料

- Agilent InfinityLab フィッティング
 - カラム前:** クイックコネクティング (p/n 5067-5965)
 - カラム後:** クイックターンフィッティング (p/n 5067-5966)
- Agilent Captiva エコノフィルタ、PTFE メンブレン、直径 13 mm、ポアサイズ 0.2 μm (p/n 5190-5265)
- バイアル、スクリュートップ、茶色、ラベル付、認定、2 mL、100 個 (p/n 5182-0716)
- Agilent 圧着スクリュキャップ、PTFE/赤シリコンセブタム (p/n 5190-7024)
- Agilent バイアルインサート、250 μL 、不活性ガラス、樹脂足付 (p/n 5181-8872)
- Agilent InfinityLab 溶媒ボトル、茶色、1,000 mL (p/n 9301-6526)
- Agilent InfinityLab セーフティキャップ、GL45、3 ポート、ベントバルブ x 1 (p/n 5043-1219)
- エッペンドルフピペットおよびリピーター
- 超音波洗浄器 (VWR、ラドナー、ペンシルベニア州、米国)
- Vortexer および Multi-Tube Vortexer (VWR、ラドナー、ペンシルベニア州、米国)

装置構成

- Agilent 1260 Infinity II バイナリポンプ (G7112B)
- Agilent 1260 Infinity II バイアルサンブラ (G7129C)
- Agilent 1260 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116A)
- Agilent 1290 Infinity II ELSD (G7102A)
- 超低分散キット (5067-5189)
- Agilent OpenLab ソフトウェア

サンプル前処理

スタキドリン塩酸塩標準は 70 % エタノールで濃度 0.5 mg/mL に溶解し、それ以上のサンプル前処理は行わずに注入しました。

植物抽出物は、次の手順で前処理しました。

- 乾燥させたレオナルスヤポニカ粉末を 1 g 計量します。
- 25 mL の 70 % エタノールをコニカルフラスコに加え、ベッセルの合計を計量します。
- 溶液を 2 時間還流し、冷却後に再度計量します。
- 減少した重量を補充するため、70 % エタノールを加えます。
- よく振とうし、0.2 μm PTFE メンブレンシンジフィルタ (p/n 5190-5265) を使用して抽出物をろ過します。
- 必要に応じて、アセトニトリルによって目的の濃度に希釈します。

移動相前処理

ギ酸アンモニウムを計量し、水で 10 mM 濃度まで希釈しました。分解および微生物が発生しないようにバッファを一度に 1 L 調製し、定期的に交換しました。

分析条件

パラメータ	設定値
HPLC	
カラム	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z、2.1 mm \times 100 mm (p/n 685775-924)
移動相 A	10 mM 酢酸アンモニウム水溶液
移動相 B	アセトニトリル
流量	0.30 mL/min
カラム温度	30 °C
注入量	2 μL
ELSD	
ネブライザ温度	40 °C
エバポレータ温度	40 °C
ガス流量	1.6 SLM
データレート	40 Hz

結果

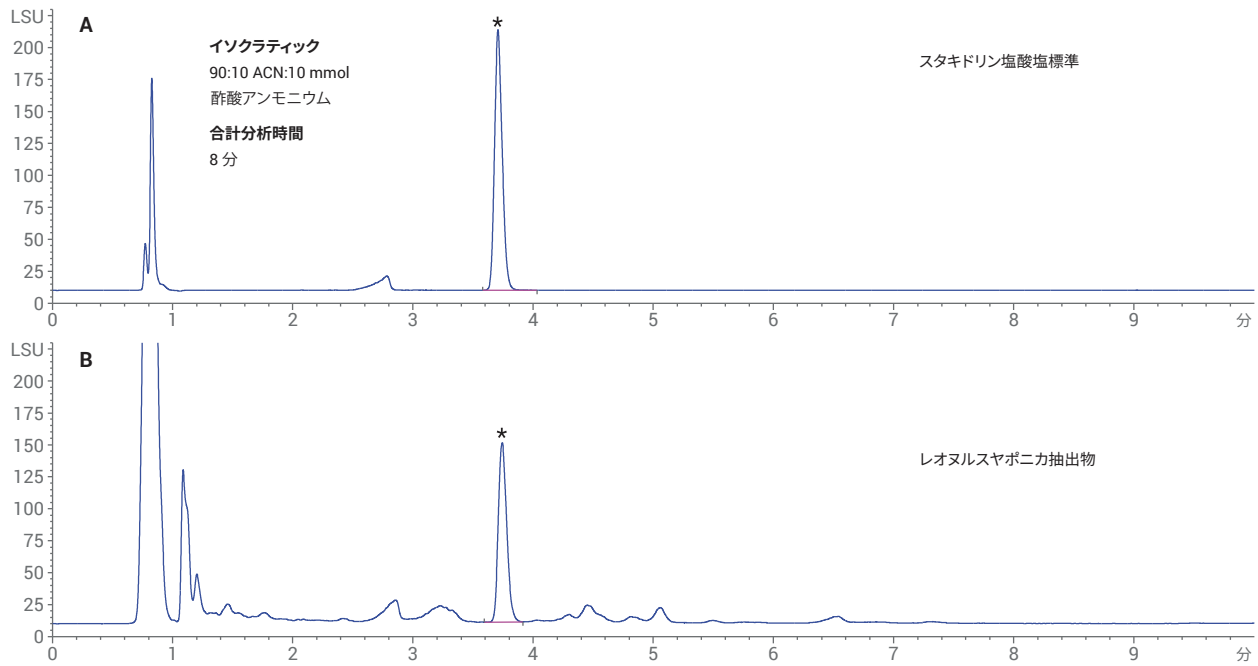


図 2. 最適化されたイソクラティック条件下での植物サンプル (B) と標準 (A) の比較

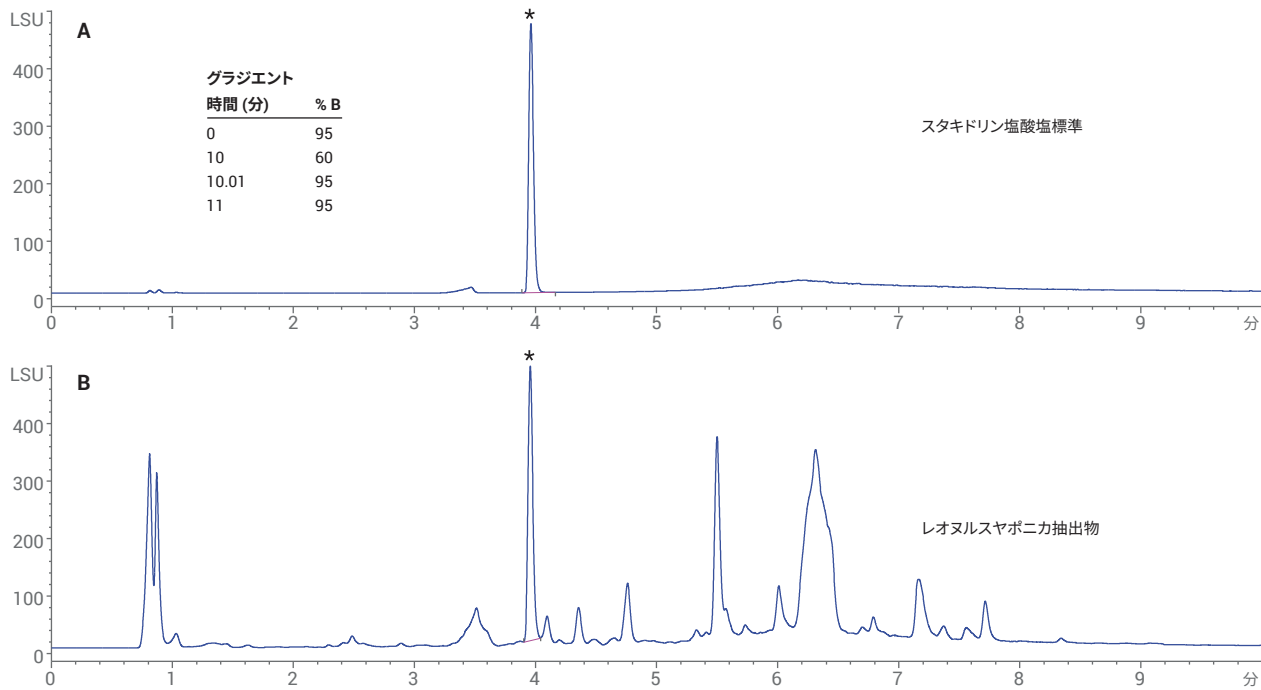


図 3. 最適化されたグラジエント条件下での植物サンプル (B) と標準 (A) の比較

結論

レオナルスヤポニカの抽出物からスタキドリンが適切に分離されました。イソクラティックおよびグラジエントの両方のメソッドを開発しました。これにより、抽出物中に存在した極性化合物および無極性化合物から、スタキドリンが完全に分離されました。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2017
Printed in Japan, December 6, 2017
5991-8617JAJP