

使用 C18 化学键合相的表面多孔填料 色谱柱对三七进行分析

作者

Rongjie Fu
安捷伦科技有限公司

摘要

使用 C18 键合相的表面多孔颗粒液相色谱柱，通过 UHPLC 分析三七中的总皂苷提取物。按照中国药典 (CHP) 规定的方法，将三七提取物中的总皂苷转移到 Agilent InfinityLab Poroshell 120, 3.0 × 100 mm, 2.7 μm 色谱柱中进行分析。InfinityLab Poroshell HPH-C18 色谱柱在包括 SB-C18、EC-C18 和 HPH-C18 在内的三种不同 C18 固定相中表现出最佳分离度。与采用 InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4.6 × 250 mm, 4 μm 色谱柱的原始方法相比，使用 InfinityLab Poroshell HPH-C18, 3.0 × 100 mm, 2.7 μm 色谱柱的新方法分析时间缩短了 70%，而分析效果几乎相同。

前言

三七是一种中草药，从 19 世纪末开始在中国广泛使用。由于三七和人参同属人参属，因此它们有许多相似的成分。三七中的重要成分有皂苷、多糖和氨基酸。三七中人参皂苷 Rb1、Rd 和 Rg1 的含量较高。中国药典 (CHP) 规定用 HPLC 方法测定三七皂苷 R1 以及人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 和 Rd (图 1)，分析时间超过 60 分钟¹。

本文中，CHP 原始方法首先在 Agilent InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4 μm 表面多孔填料色谱柱上运行，无需进行任何方法调整。为节约时间和溶剂用量，之后将方法转移到短色谱柱上。

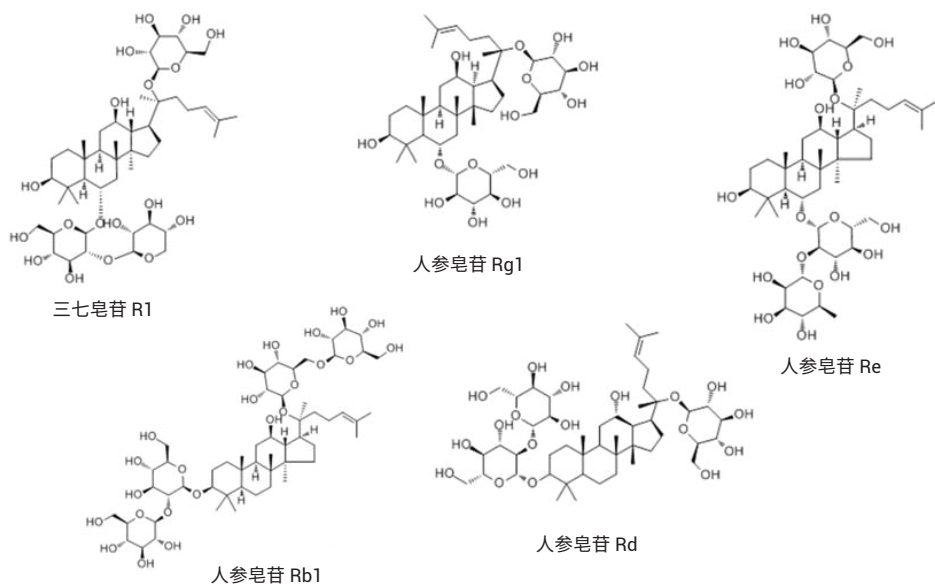


图 1. 本应用简报研究的皂苷结构

实验部分

试剂与化学品

所有试剂均为 HPLC 级或更高等级。HPLC 级乙腈购自 J. T. Baker (Center Valley, PA, U.S.A.)。水经由 ELGA PURELAB Chorus 系统 (High Wycombe, UK) 纯化。三七皂苷 R1 以及人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 和 Rd 来自中国食品药品检定研究院 (NIFDC, 中国北京)。三七总皂苷由中国当地供应商提供。供试品溶液的配制方法是取 25 mg 三七总皂苷置于 10 mL 容量瓶中，用 70% 甲醇溶解至刻度，摇匀即得。

仪器和材料

- Agilent InfinityLab 接头
 - 色谱柱进样口：Agilent InfinityLab Quick Connect 快速连接接头 (部件号 5067-5965)
 - 色谱柱出口：Agilent InfinityLab Quick Turn 接头 (部件号 5067-5966)
- Agilent Captiva 经济型过滤器，PTFE 膜，直径 13 mm，孔径 0.2 μm (部件号 5190-5265)
- 安捷伦样品瓶，螺口，棕色，带书写签，已认证，2 mL，100/包 (部件号 5182-0716)
- 安捷伦固定螺口盖，带 PTFE/红色硅胶隔垫 (部件号 5190-7024)
- Agilent InfinityLab 溶剂瓶，棕色，1000 mL (部件号 9301-6526)
- Agilent InfinityLab Stay Safe 溶剂瓶安全盖，GL45，3 口，1 个放空阀 (部件号 5043-1219)
- Eppendorf 移液器和连续分液器

仪器

- Agilent 1290 Infinity II 高速泵 (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II MCT (G7116B)
- Agilent 1290 Infinity II DAD (G7117B)
- Agilent OpenLab CDS, 版本 C.01.07 SR3 [465]

结果与讨论

原始 CHP 方法是在 Agilent InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4 μ m, 4.6 \times 250 mm 色谱柱上运行。该方法能够充分分离五种化合物，但运行时间过长，超过 80 分钟。为了节约时间和溶剂用量，将方法转移到柱长更短且填料粒径较小的 InfinityLab Poroshell HPH-C18, 2.7 μ m, 3.0 \times 100 mm 色谱柱上。结果（图 2）显示出与 Poroshell HPH-C18, 4.6 \times 250 mm, 4 μ m 色谱柱相近的分离效果。然而，分析运行时间缩短了 70%，溶剂用量也减少了 80% 以上。

仪器条件

HPLC 条件		
色谱柱	Agilent InfinityLab Poroshell HPH, 4.6 \times 250 mm, 4 μ m (部件号 690970-702)	Agilent InfinityLab Poroshell HPH, 3.0 \times 100 mm, 2.7 μ m (部件号 695975-502) Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 3.0 mm \times 100 mm, 2.7 μ m (部件号: 685975-302) Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, 3.0 mm \times 100 mm, 2.7 μ m (部件号: 695975-302)
流动相 A	水	
流动相 B	乙腈	
流速	1.5 mL/min	0.85 mL/min
柱温	25 $^{\circ}$ C	
进样量	10 μ L	2 μ L
检测	203 nm	
梯度	0–20 min: 20% B 20–45 min: 20%–46% B 45–55 min: 46%–55% B 55–60 min: 55% B 60–60.1 min: 55%–95% B 60.1–70 min: 95% B 70–70.1 min: 95%–20% B 70.1–80 min: 20% B	0–6 min: 20% B 6–13.5 min: 20%–46% B 13.5–16.5 min: 46%–55% B 16.5–18 min: 55% B 18–18.03 min: 55%–95% B 18.03–21 min: 95% B 21–21.03 min: 95%–20% B 21.03–24 min: 20% B

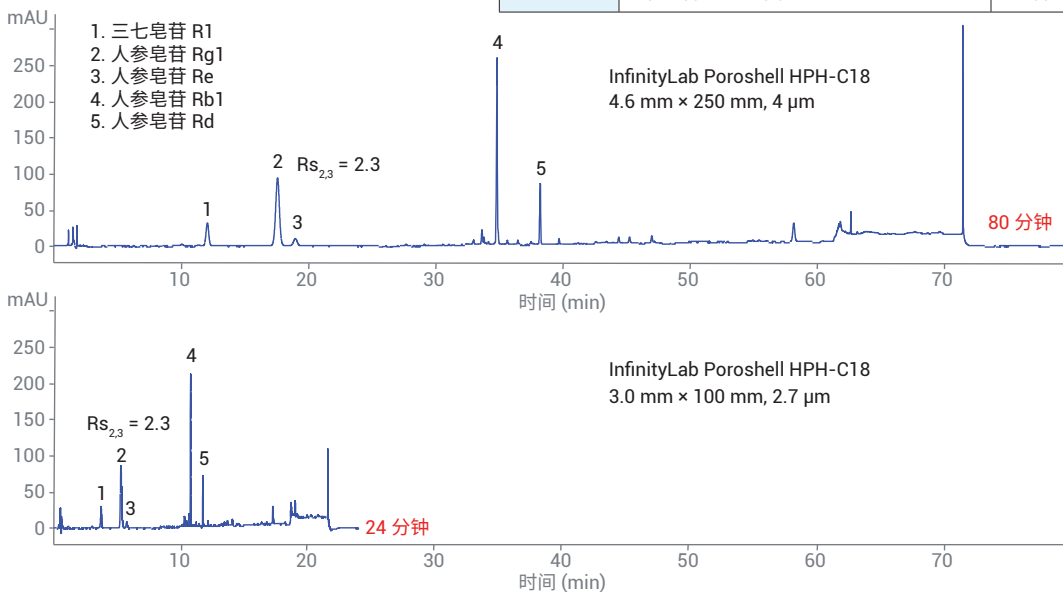


图 2. 三七皂苷在 InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4.6 \times 250 mm, 4 μ m 和 3.0 \times 100 mm, 2.7 μ m 色谱柱上分析得到的叠加色谱图

为了优化所有目标化合物的分离度，对包括 InfinityLab Poroshell HPH-C18、InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 和 InfinityLab Poroshell 120 SB-C18 在内的三种不同 C18 色谱柱进行比较，比较结果如图 3 所示。HPH-C18 对皂苷的保留较弱，但分离良好。几个小峰在 HPH-C18 上得到了充分分离，而它们在 SB-C18 和 EC-C18 色谱柱上发生了共洗脱。

结论

InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4 μm 色谱柱成功分离了三七总皂苷中的皂苷，InfinityLab Poroshell HPH-C18, 2.7 μm 色谱柱大大节约了时间和溶剂用量，并达到了与原始 CHP 方法相近的分离效果。InfinityLab Poroshell HPH-C18 与 Poroshell 120 SB-C18 和 Poroshell 120 EC-C18 的选择性不同，前者在本应用中对三七皂苷实现了更出色的分离。

参考文献

1. Total Notoginseng Saponins, *China Pharmacopoeia* **2015**, 514

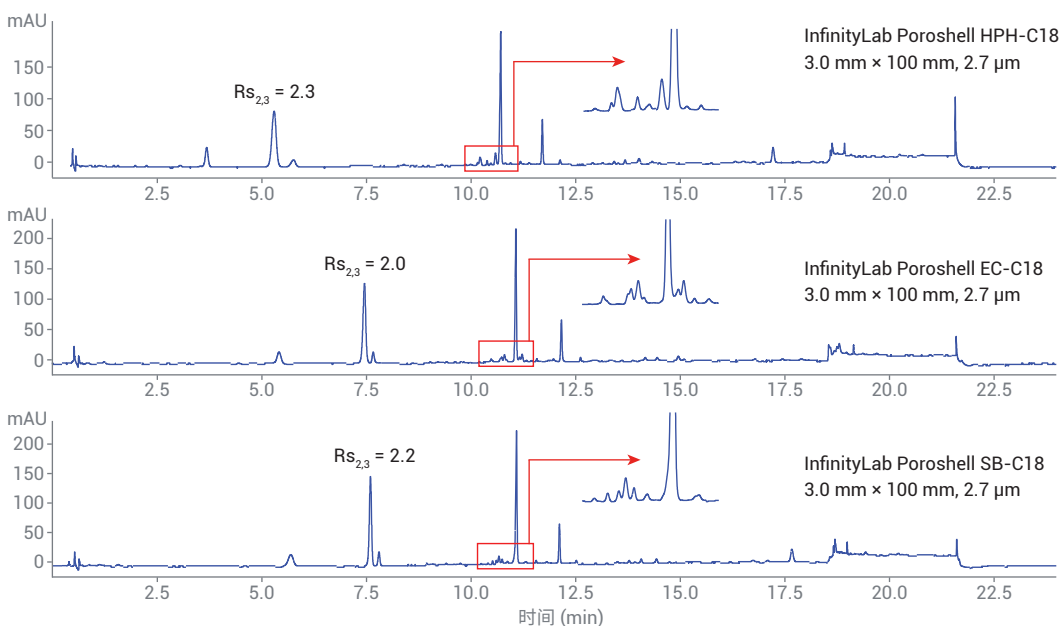


图 3. 使用 InfinityLab Poroshell HPH-C18、120 EC-C18 和 120 SB-C18 不同 C18 固定相色谱柱的选择性比较

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)

www.agilent.com

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2018
2018 年 3 月 27 日, 中国出版
5991-9190ZHCN