

表面多孔質粒子型 C18 カラムによる サンシチニンジンの分析

著者

Rongjie Fu
Agilent Technologies, Inc.

概要

サンシチニンジン中の総サポニン抽出物を、異なる C18 結合相で表面多孔質粒子 LC カラムを用いた UHPLC により分析しました。サンシチニンジン中の抽出物の総サポニン分析に関する中国薬局方 (CHP) による規制メソッドを、Agilent InfinityLab Poroshell 120、3.0 × 100、2.7 μm カラムに移管しました。InfinityLab Poroshell HPH-C18 カラムは、SB-C18、EC-C18、HPH-C18 を含む 3 つの異なる C18 相の中で最高の分離能を達成しました。InfinityLab Poroshell HPH-C18、3.0 × 100 mm、2.7 μm カラムを用いた新しいメソッドでは、InfinityLab Poroshell HPH-C18、4.6 × 250 mm、4 μm カラムで実行された元のメソッドと比較して、ほぼ同等の分離能で分析時間が 70 % 短縮されました。

はじめに

サンシチニンジンは、中国で 19 世紀末から広く使用されている生薬の 1 つです。サンシチニンジンとオタネニンジンは同じ純種のトチバニンジン属に属しているため、類似した成分を多数含んでいます。サンシチニンジンの重要な成分は、サポニン、フラボノイド、ポリサッカライド、およびアミノ酸です。サンシチニンジンには、多量の Rb1、Rd、および Rg1 ジンセノサイドが含まれています。中国薬局方 (CHP) は、1 回の分析時間が 60 分を超える HPLC メソッドを使用して、ノトギンセノシド R1、ジンセノサイド Rg1、Re、Rb1、および Rd (図 1) を測定するように規定しています¹。

このアプリケーションノートでは、まず元の CHP メソッドを Agilent InfinityLab Poroshell HPH-C18、4 μm カラムの表面多孔質粒子により、メソッドの調製は行わずに実行しました。次に、時間を節約して溶媒の使用量を削減するために、メソッドをより短いカラムに移しました。

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。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。水は ELGA PURELAB Chorus システム (ハイウィカム、英国) で精製しました。ノトギンセノシド R1、ジンセノサイド Rg1、Re、Rb1、および Rd は NIFDC (北京、中国) から入手しました。サンシチニンジン総サポニンは中国国内のベンダーから入手しました。テスト溶液は、25 mg のサンシチニンジン総サポニンを 10 mL の計量フラスコで溶解してから、70 % メタノールで容量まで希釈して振とうしました。

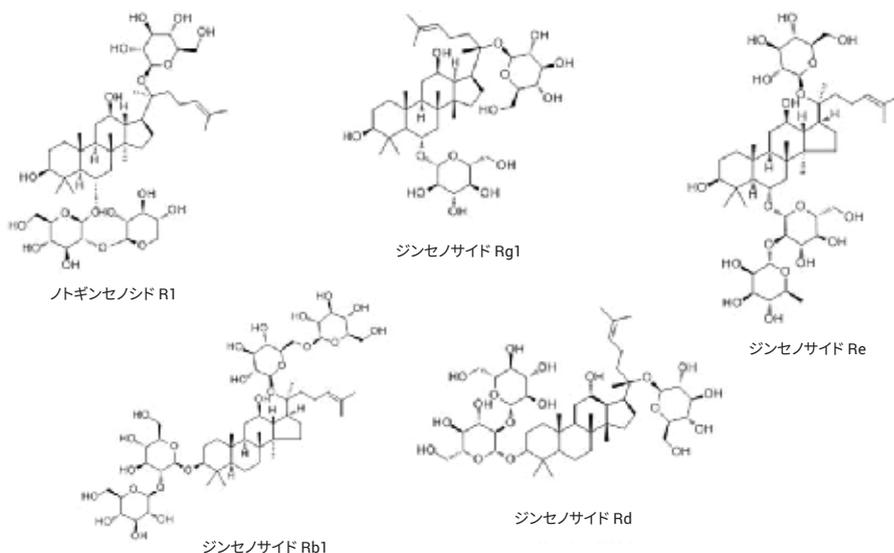


図 1. 研究対象としたサポニンの構造

実験器具と材料

- Agilent InfinityLab フィッティング
 - カラム入口: Agilent InfinityLab クイックコネクティング (p/n 5067-5965)
 - カラム出口: Agilent InfinityLab 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 圧着スクリュューキャップ、PTFE/赤シリコンセプタム (p/n 5190-7024)
- 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

装置構成

- Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II マルチサンプル (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II MCT (G7116B)
- Agilent 1290 Infinity II DAD (G7117B)
- Agilent OpenLab CDS、Rev. C.01.07 SR3 [465]

結果と考察

元の CHP メソッドを、Agilent InfinityLab Poroshell HPH-C18、4 μm、4.6 × 250 mm カラムで分析しました。このメソッドでは 5 つのターゲット化合物が適切に分離されましたが、80 分という長い分析時間を要しました。時間と溶媒を節約するために、このメソッドを InfinityLab Poroshell HPH-C18、2.7 μm、3.0 × 100 mm カラムに移管しました。これは、粒子サイズが小さく、長さが短いカラムです。結果 (図 2) は、Poroshell HPH-C18、4.6 × 250 mm、4 μm カラムと同等の分離性能を示し、分析時間は 70 % 短縮され、溶媒の使用量も 80 % 以上削減されました。

分析条件

HPLC		
カラム	Agilent InfinityLab Poroshell HPH、 4.6 mm × 250 mm、4 μm (p/n 690970-702)	Agilent InfinityLab Poroshell HPH、 3.0 mm × 100 mm、2.7 μm (p/n 695975-502) Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18、 3.0 mm × 100 mm、2.7 μm (p/n 685975-302) Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18、 3.0 mm × 100 mm、2.7 μm (p/n 695975-302)
移動相 A	水	
移動相 B	アセトニトリル	
流量	1.5 mL/min	0.85 mL/min
カラム温度	25 °C	
注入量	10 μL	2 μL
検出	203 nm	
グラジエント	0 ~ 20 分: 20 %B 20 ~ 45 分: 20 ~ 46 %B 45 ~ 55 分: 46 ~ 55 %B 55 ~ 60 分: 55 %B 60 ~ 60.1 分: 55 ~ 95 %B 60.1 ~ 70 分: 95 %B 70 ~ 70.1 分: 95 ~ 20 %B 70.1 ~ 80 分: 20 %B	0 ~ 6 分: 20 %B 6 ~ 13.5 分: 20 ~ 46 %B 13.5 ~ 16.5 分: 46 ~ 55 %B 16.5 ~ 18 分: 55 %B 18 ~ 18.03 分: 55 ~ 95 %B 18.03 ~ 21 分: 95 %B 21 ~ 21.03 分: 95 ~ 20 %B 21.03 ~ 24 分: 20 %B

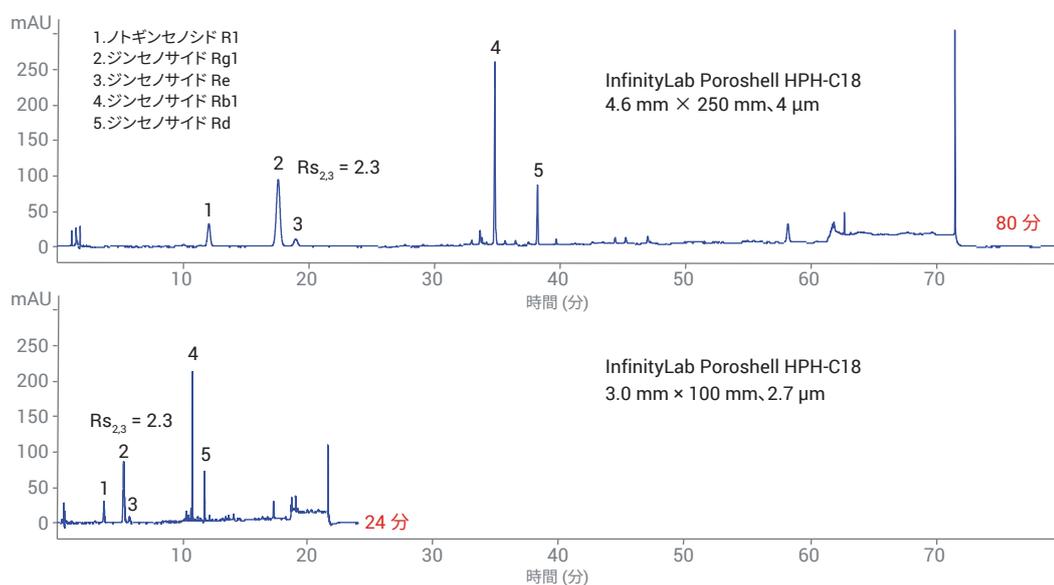


図 2. InfinityLab Poroshell HPH-C18、4.6 × 250 mm、4 μm および 3.0 × 100 mm、2.7 μm カラムによるサンシチニンジン総サポニン分析のクロマトグラムの比較

すべてのターゲット化合物で分離能を最適化するために、InfinityLab Poroshell HPH-C18、InfinityLab Poroshell 120 EC-C18、InfinityLab Poroshell 120 SB-C18 を含む 3 つの異なる C18 カラムを比較した結果を図 3 に示しています。HPH-C18 は、サポニンに対しては保持力が弱いものの、高い分離能が得られています。いくつかの小さいピークも HPH-C18 により適切に分離されている一方で、SB-C18 と EC-C18 カラムの両方を使用した場合これらは共溶出していました。

結論

InfinityLab Poroshell HPH-C18、4 μm カラムではサンシチニンジン総サポニン中のサポニンが適切に分離され、InfinityLab Poroshell HPH-C18、2.7 μm カラムでは元の CHP メソッドと同等の分離能を維持しながら、時間と溶媒を大幅に節約できました。InfinityLab Poroshell HPH-C18 は、Poroshell 120 SB-C18 および Poroshell 120 EC-C18 と比較して異なる選択性を示しており、サンシチニンジン中のサポニンが良好に分離されました。

参考文献

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

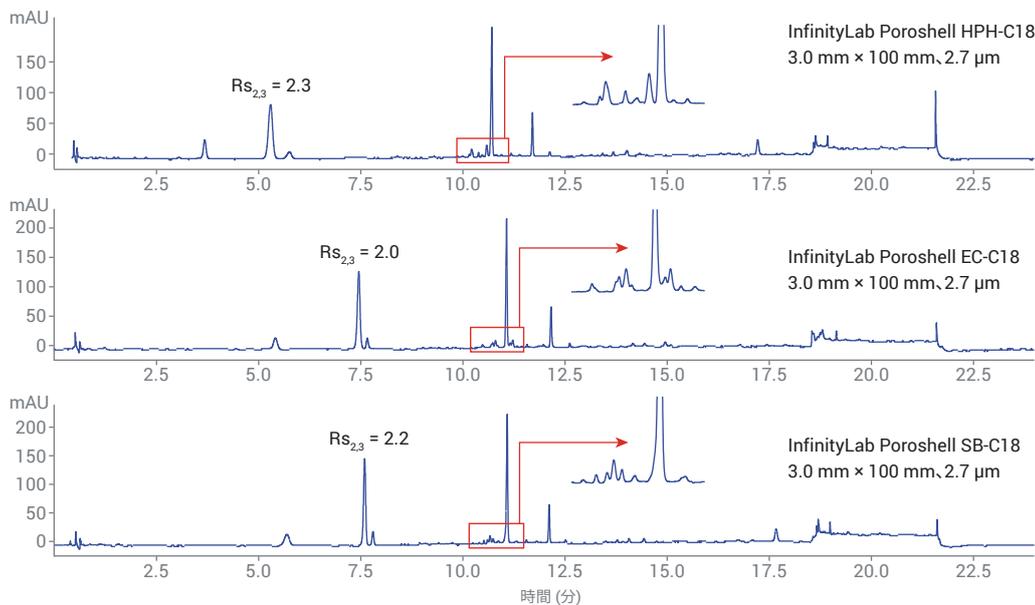


図 3. InfinityLab Poroshell HPH-C18、120 EC-C18、および 120 SB-C18 カラムを用いた C18 相の選択性の比較

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタム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おりません。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. 2018
Printed in Japan, March 27, 2018
5991-9190JAJP