

使用 Poroshell 120 表面多孔性液相層析管柱分析丹參 (*Salvia Miltorrhiza*) 及複方丹參滴丸

應用

藥物

作者

Rongjie Fu
安捷倫科技（上海）有限公司
英倫路 412 號
上海市浦東區 200131
中國

Yao Xiao
安捷倫科技（中國）有限公司
望京北路 3 號
北京市朝陽區 100102
中國

摘要

利用 HPLC 及安捷倫 Poroshell 120 液相層析儀管柱，分析被廣泛使用的傳統中藥丹參 (*Salvia Miltorrhiza*) 和其製成的複方丹參滴丸。管柱採用表面多孔性顆粒製造，其中擁有實心核 (1.7 μm) 以及 0.5- μm 擴散路徑的多孔性外層。新型管柱的優點包括具備與 2 μm 以下顆粒相似的高效能，但背壓卻降低了 40 至 50%，並擁高峰容量。本文將 Poroshell 120 管柱使用的方法，與 UPLC 搭配 Waters HSS T3 管柱使用的方法相比較。Poroshell 120 管柱提供優異的波峰形狀，操作時的壓力低於 287 bar；本方法可於任何 HPLC 執行。

緒論

丹參 (*Salvia miltiorrhizae*) 是廣泛使用的傳統中藥 (TCM)，通常與其他中藥材搭配使用。傳統上含有丹參的藥物，可用於治療各種不同病症，特別是心臟和血管方面的失調症狀，例如動脈硬化（動脈血管因為膽固醇斑塊而「變硬」）或凝血異常等等。丹參滴丸採用複方製備方式製造，其中成分包括丹參、三七、冰片及其他複方，可用於治療冠狀動脈心臟疾病與心絞痛。[1]



Agilent Technologies

由於複方種類繁多，因此 TCM 及其他天然藥物的品管非常困難。HPLC 方法可針對單一或多種 TCM 複方進行定量分析，但可能無法呈現真實的 TCM 品質。目前的趨勢是以獨特層析圖作為個別藥材的指紋。如果發現較多波峰，就能提供樣品的更多相關資訊。因此高峰容量和解析度是 TCM 指紋圖譜控制 TCM 品質的重要關鍵。

法規已納入 Waters UPLC 方法進行 TCM 指紋分析 [2]。本文利用安捷倫 Poroshell 120 發展方法；這款管柱可於任何液相層析儀器使用。

實驗

樣品製備

藥丸製備：將 10 顆藥丸溶解於 10 mL 的水中。使用 0.45 μm 的再生纖維濾膜過濾 (p/n:5064-8221) 之後，再注入 HPLC 之中進行分析。

丹參製備：秤重 2.0 g 的丹參粉，使用 80 ° C 的熱水萃取 1 小時，之後進行過濾並讓定量至 50 mL。使用 0.45 μm 的再生纖維濾膜過濾 (p/n 5064-8221) 之後，再注入 HPLC 之中進行分析。

HPLC 條件

HPLC 分析執行時使用安捷倫 1200 系列快速解析 LC (RRLC) 系統，其中包括 G1312B 雙幫浦 SL、G1376C 自動液體進樣器 SL (ALS)、G1316B 柱溫箱 SL (TCC)，以及 G1316C 光二極體陣列偵測器 SL (DAD)。

表 1. 丹參滴丸條件

移動相：	A, 0.02% H_3PO_4 ; B, 0.02% H_3PO_4 於 ACN/水 (80/20) 當中					
梯度沖提：						
時間 (分鐘)	0	1.6	1.8	8.0	8.4	10
%B	9	22	26	39	9	9
管柱	Waters HSS T3, 2.1 \times 100 mm, 1.8 μm 安捷倫 Poroshell 120 EC-C18, 3.0 \times 100 mm, 2.7 μm 安捷倫 Poroshell 120 SB-C18, 4.6 \times 100 mm, 2.7 μm					
管柱溫度	40 °C					
流速	2.1 mm ID 為 0.4 mL/min, 3.0 mm ID 為 0.8 mL/min, 4.6 mm ID 為 2 mL/min					
波長	280 nm					
注入量	2.1 及 3.0 mm ID 管柱為 2 μL 、4.6 mm ID 管柱為 4.0 μL					

表 2. 丹參水萃取條件

移動相	A, 0.02% H_3PO_4 ; B, ACN					
梯度沖提	流速 = 1 ml/min					
時間 (分鐘)	0	6	14	18	22	28
%B	10	20	25	30	90	90
梯度沖提	流速 = 2 ml/min					
時間 (分鐘)	0	3	7	9	11	14
B%	10	20	25	30	90	90
梯度沖提	流速 = 3 ml/min					
時間 (分鐘)	0	2	4.67	6	7.33	9.33
B%	10	20	25	30	90	90
管柱	安捷倫 Poroshell 120 EC-C18, 4.6 \times 100mm, 2.7 μm ; 安捷倫 ZORBAX RRHT Eclipse Plus C18, 4.6 \times 100 mm, 1.8 μm					
管柱溫度	30 °C					
波長	280 nm					
注入量	4 μL					

結果及討論

複方丹參滴丸於 Poroshell 120 EC-18 及 Poroshell 120 SB-C18 管柱進行分析 (如圖 1 所示)。所有 8 種目標化合物均於兩種管柱分離。Poroshell 120 EC-C18 管柱的滯留時間比 Poroshell 120 SB-C18 略長，而兩種管柱之間的選擇性並不相同。選擇性差異代表 Poroshell 120 EC-C18 比較適合本項樣品，因為 Poroshell 120 EC-C18 的第 6 個波峰分離出微小的雜質波峰，但 Poroshell 120 SB-C18 並未出現。

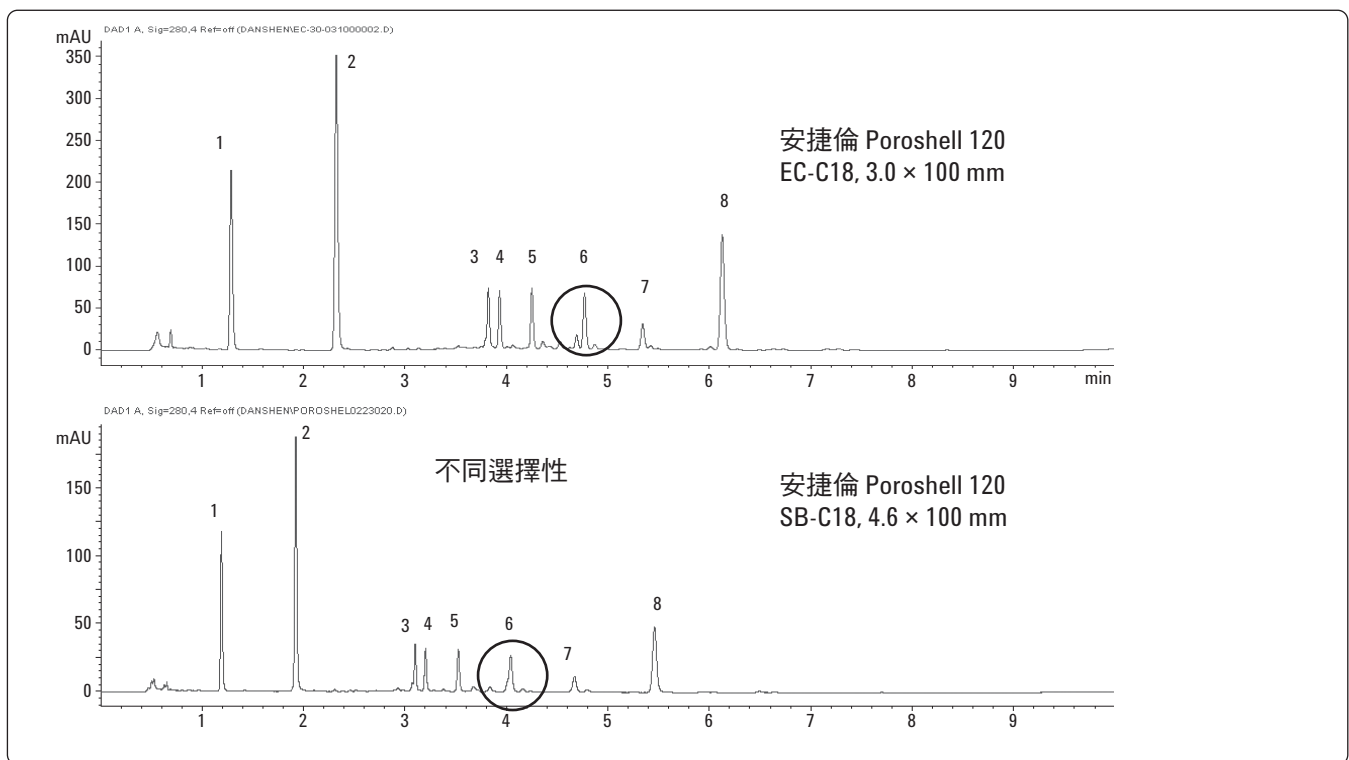


圖 1. 於安捷倫 Poroshell 120 EC-C18 及 SB-C18 管柱分析的丹參滴丸。兩種管柱的顆粒大小均為 2.7 μm

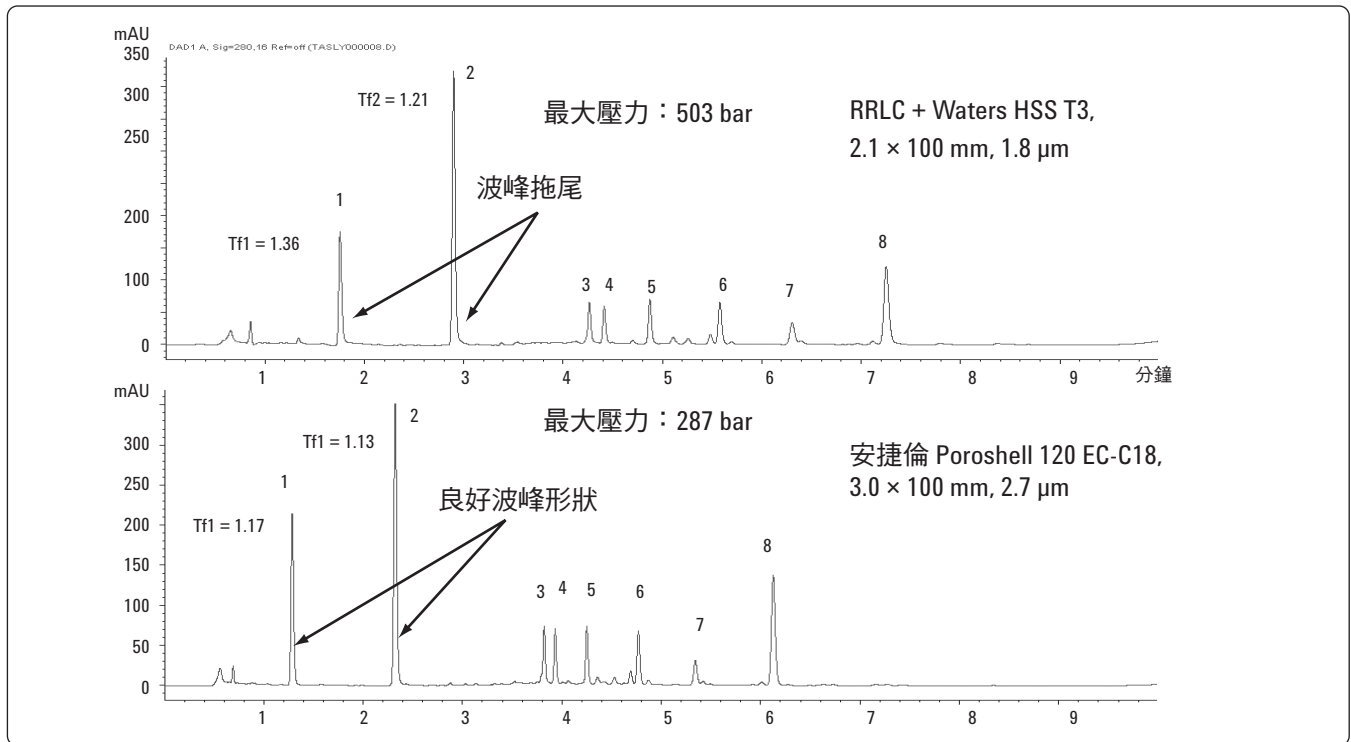


圖 2. 比較安捷倫 Poroshell 120 EC-C18 與競爭對手管柱之後，顯示 Poroshell 120 管柱的波峰形狀較佳，分析時間較短

原始方法使用 Waters HSS T3 (1.8 μm 管柱) 開發，並重複運用方法於安捷倫 LC，結果如圖 2 所示。比較 Poroshell 120 EC-C18 管柱及 Waters HSS T3 所得結果之後，顯示 Poroshell 120 EC-C18 管柱對於本項分離方法具有多項優勢。相較於 Waters HSS T3 管柱，安捷倫的分析時間更短，波峰形狀更優異，且 8 種目標化合物的解析度都相當接近。對於沒有 UHPLC 的層析儀操作人員而言，其中最重要的一項優勢，就是 Poroshell 120 EC-C18 管柱的最大壓力只有 Waters HSS TS (1.8 μm 管柱) 的 57%。使用 Poroshell 120 EC-C18 管柱的方法，可於任何液相層析儀器執行，但相同方法若使用 Waters HSS T3 管柱，就必須使用高壓液相層析儀執行。

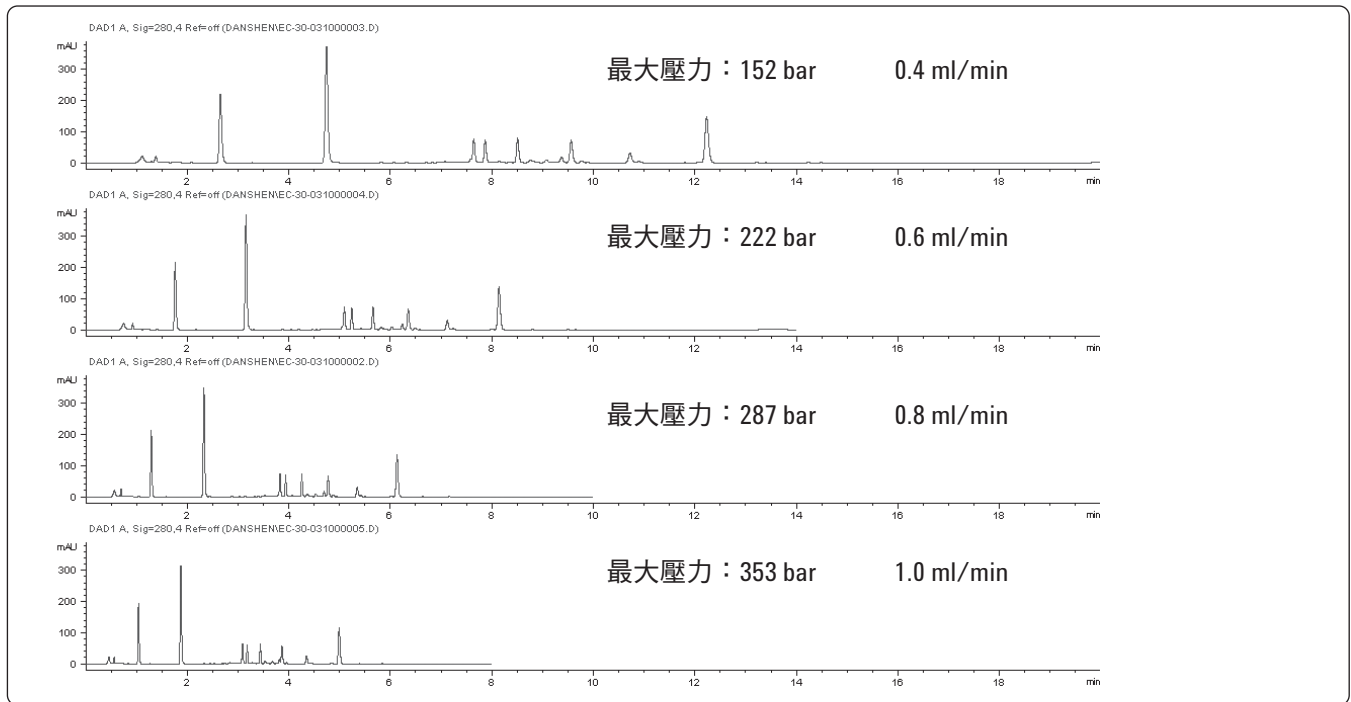


圖 3. 安捷倫 Poroshell 120 EC-C18，3.0 × 100 mm，2.7 μm 管柱在不同流速情況下的層析圖

圖 3 顯示不同流速情況下的層析圖。分離作業可於更高流速加速執行，幾乎不會損失解析度，同時維持 400 bar 以下的壓力。

丹參的水萃取物於安捷倫 Poroshell 120 EC-C18 (2.7 μm) 及安捷倫 ZORBAX 快速解析 HT Eclipse Plus C18 (1.8 μm) 管柱進行分析，如圖 4 所示。採用表面多孔性顆粒的 Poroshell 120 EC-C18 管柱，若與 2-μm 以下的全多孔性顆粒管柱比較，其滯留時間略低，解析度更為優異。小型的表面多孔性顆粒可產生優異效率，

類似於 2-μm 以下管柱的效率。不同表面官能基產生的結果，具有更優異的效能及解析度。因為選擇性不同的關係，Poroshell 120 EC-C18 管柱在主要波峰分離出小波峰。此外使用本管柱可讓分離作業於更高流量加速執行，並且不會損失解析度，因為表面多孔性管柱的背壓較低。採用表面多孔性顆粒的管柱，其效率與解析度均優於全多孔性顆粒管柱，因為表面多孔性顆粒可質傳更迅速，且粒徑分布較為窄 (20%)。

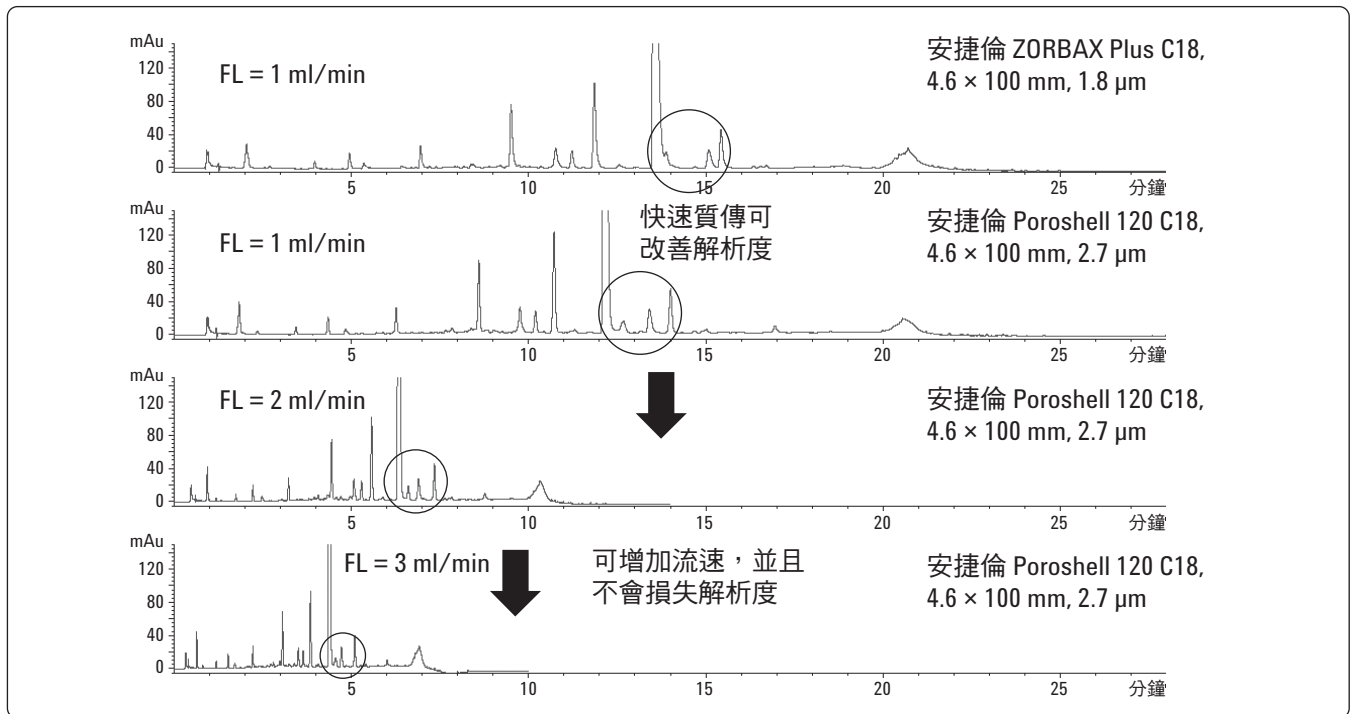


圖 4. 安捷倫 Poroshell 120 EC-C18 (2.7 μm) 及安捷倫 ZORBAX 快速解析 HT Eclipse Plus C18 (1.8 μm) 管柱的丹參水萃取物

結論

安捷倫 Poroshell 120 管柱的表面多孔性顆粒，可在一般 HPLC 壓力下，提供高效能和快速分析。此類管柱能達成高分離率，故為 TCM 複雜樣品分析的理想選擇，例如丹參萃取物。安捷倫 Poroshell 120 管柱的壓力，比全多孔性 2-μm 以下顆粒管柱低 40 至 50%。因此安捷倫 Poroshell 120 管柱適用於任何液相層析儀器，特別是最大壓力 400 bar 的標準機型。擁有標準液相層析儀器的使用者，可利用 Poroshell 120 管柱加速分析。

參考資料

1. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/natural/patient-danshen.html>
2. Compound Danshen Dropping Pills, China Pharmacopoeia 2010: 906

www.agilent.com/chem/cn

本文內容如有任何錯誤，或是因為提供、實行或使用本資料，造成附帶或衍生損害，安捷倫恕不負責。

本文件中的資訊、說明和規格可能隨時變更，恕不另行通知。

© Agilent Technologies, Inc., 2010
於美國印製
2010 年 4 月 27 日
5990-5739CHTW