

# Application News

## No. L469

高效液相色谱  
High-Performance Liquid Chromatography

### 使用 Nexera-e 和光电二极管阵列检测器 SPD-M30A 测定葛根汤 (1)

Analysis of Kakkonto by Nexera-e and SPD-M30A Photodiode Array Detector (Part 1)

葛根汤具有促进发汗的作用以及消炎镇痛效果，对感冒、头痛、肩周炎等症状有缓解作用。其主要成分是葛根、麻黄、甘草和芍药。主要成分中包含的麻黄碱、甘草酸和肉桂酸对抑制各种感冒症状非常有效。在生药的质量管理过程中，需要同时识别药物中存在的多种成分，为了对复杂样品进行高度分离，使用全二维液相色谱仪 Nexera-e 非常有效。

全二维液相色谱仪具有一维分离和二维分离两种分离模式。根据样品的不同，选择合适的分离模式，通过组合对单独分析无法分离的样品进行分离。本次分析将一维分离中利用反相中性条件的半微量分离与二维分离中利用反相酸性条件的超快速分离进行组合，根据 pH 值的不同进行了全二维液相分离。因为大多数生药含有大量极性较大的成分，因此设定 pH 条件是实现分离最佳化的重要参数。本文向您介绍对甘草酸（图 1 中的红箭头表示）进行定量分析的示例。

#### ■ 自动梯度程序功能的分离

Improved Separation by Auto-Gradient Program Function

在一维分离中进行梯度分离时，导入二维分离的馏分溶剂会根据一维的梯度而发生变化。该变化将直接影响在二维中的分离，结果可能导致峰形劣化、定量精度降低。为改善这种现象，使二维梯度的初始浓度和最终浓度发生经时变化非常有效。自动梯度程序功能将根据一维梯度程序和分析时间等设定，自动创建二维梯度程序。图 1 左侧中的下方绿色为二维梯度处于固定条件下的图，右侧为根据一维梯度使二维梯度的初始浓度和最终浓度发生变化的图。根据左右图中蓝框部分放大图的红框内中心部可知，分离得到改善。

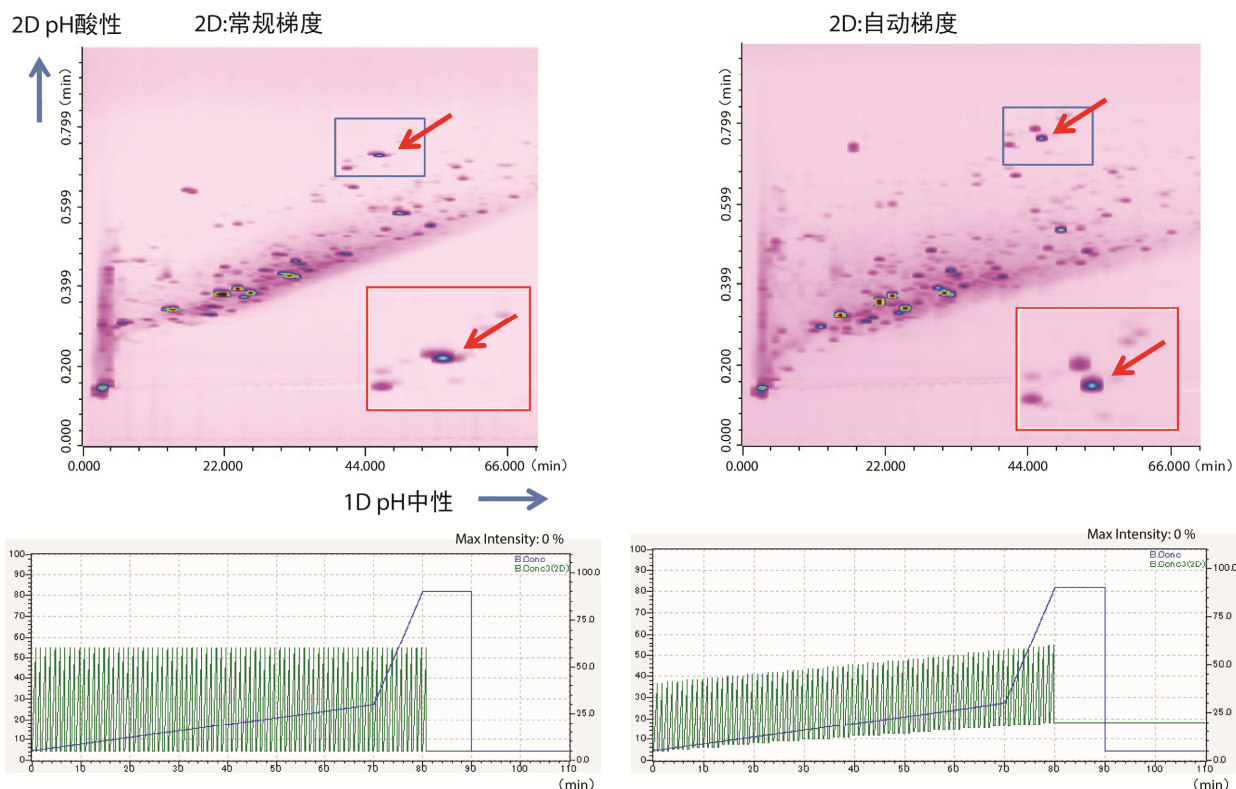


图 1 葛根汤（市售中药）有无自动梯度功能的全二维液相分离比较  
Comprehensive-2D Separation of Commercial Kakkonto (Traditional Chinese Medicine) Product  
Obtained with/without "Auto-Gradient Program Function"

## ■ 葛根汤主要成分甘草酸的重复性和定量

Repeatability Test of Peak Retention Time and Peak Area, and Quantitation of Glycyrrhizic Acid in Kakkonto

表 1 为分析条件。一维分离系统使用中性磷酸缓冲液；二维分离系统使用酸性磷酸缓冲液，通过反相 × 反相进行了分离。图 2 为样品的预处理步骤。

由图可知，在 UV 254 nm 处检测到葛根汤提取液中的有效成分之一甘草酸（图 1 红箭头）。图 3 为在 50-1000 mg/L 范围中 4 种浓度标准样品的标准曲线。表 2 为反复分析 5 次甘草酸后得到的峰面积（blob 面积）重复性（%RSD）、整体和二维分离保留时间的重复性，以及所得标准曲线的相关系数（R<sup>2</sup>）。作为样品浓度，定量结果为 608.4 mg/L。

表 1 分析条件  
Analytical Conditions

1D 色谱柱	: Shim-pack XR ODS II (100 mm L. × 1.5 mm I.D., 2.2 μm)
流动相	: A: 10 mM 磷酸盐（钠盐）缓冲液 pH = 6.8 B: 乙腈
流速	: 0.05 mL/min
时间程序	: B Conc. 5 % (0 min) → 30 % (70 min) → 90% (80 min) → 90 % (90 min) → 5% (90.1 min) → STOP (110 min)
柱温	: 40 °C
进样体积	: 2 μL
定量环体积	: 50 μL (调制时间: 60 sec)
2D 色谱柱	: Phenomenex Kinetex XB-C18 (50 mm L. × 3 mm I.D., 2.6 μm)
流动相	: A: 10 mM 磷酸盐（钠盐）缓冲液 pH = 2.6 B: 乙腈
流速	: 2 mL/min
时间程序	: 无自动梯度: B Conc. 5% (0 min) → 60% (0.75 min) → 5% (0.76 min) → STOP (1 min) 自动梯度: 初始.B Conc. 5 % (0 min) → 40 % (0.75 min) → 5 % (0.76 min) → STOP (1 min) 最终.B Conc. 20 % (0 min) → 60 % (0.75 min) → 20 % (0.76 min) → STOP (1 min) 初始和最终的 B Conc. 为逐级变化的。
检测器	: SPD-M30A 二极管阵列检测器 (标准池、波长 = 254 nm)

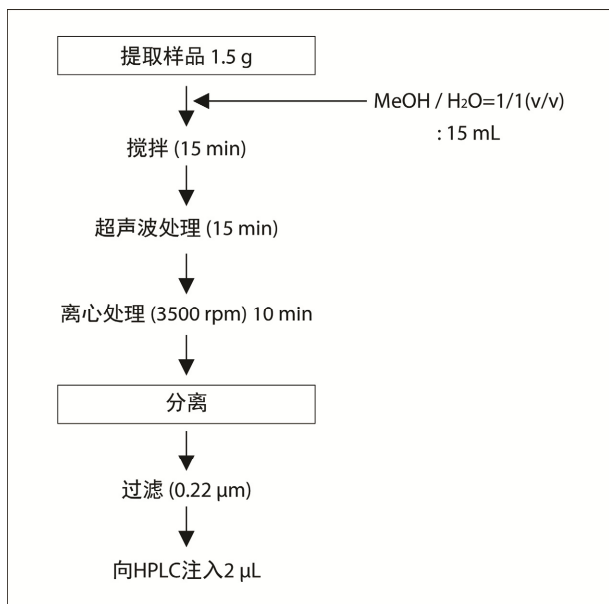


图 2 样品预处理  
Sample Preparation

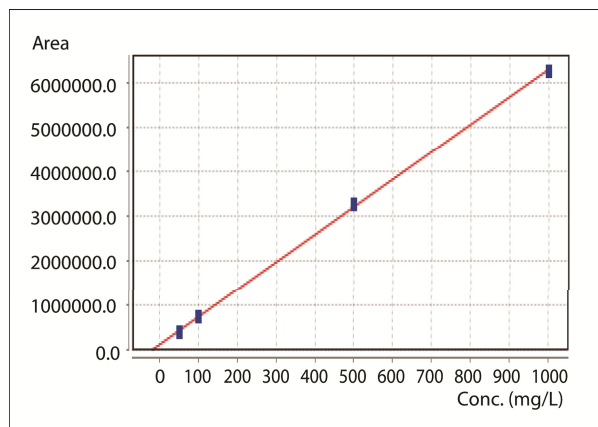


图 3 甘草酸的标准曲线  
Calibration Curve of Glycyrrhizic Acid

表 2 分析 5 次甘草酸的重复性与 50-1000 mg/L 的线性  
Repeatability of 5 Replicate Analyses in %RSD and 50-1000 mg/L Linearity for Glycyrrhizic Acid

化合物	整体保留时间	保留时间 (2D)	峰面积	R <sup>2</sup>
甘草酸	0.007	0.37	5.4	0.999778



岛津企业管理（中国）有限公司  
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439  
400-650-0439

免责声明:

\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；  
\* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。  
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日: 2014 年 10 月