

# 全二维液相色谱系统在中药分析中的应用

LC-147

**摘要：**本实验使用岛津 Nexera-e 全二维液相色谱对中药穿心莲甲醇提取液进行反相 × 反相分离，1D-LC 使用 SUPELCO Ascentis C18 色谱柱，以 0.3 % 甲酸水溶液和乙腈为流动相，2D-LC 以 Shim-pack XR-ODS 50 mmL.× 4.6 mmID 色谱柱，以 10 mM 磷酸盐缓冲液 (pH6.9) 和甲醇为流动相，流速 2.5 mL/min，采用自动梯度模式建立全二维梯度系统条件，对原液相条件中 25-35 min 间极性相似化合物进行有效分离。

**关键词：**全二维液相色谱 LC×LC 中药 HPLC

全二维液相色谱是联合两套完全独立的液相色谱，对复杂组分进行完全分离的一种液相色谱应用系统，可通过一次分析完成食品或天然产物等基质复杂样品中的结构类似物分析。与常规液相分析相比，全二维液相色谱可在一次分析过程中，设定 1stD-LC 和 2ndD-LC 以不同的色谱条件，如反相 × 反相，正相 × 反相，酸性 × 中性等等，通过不同色谱条件下化合物选择性差异来

提升分离水平，无论在峰检出数还是在分离度方面均比现有单维色谱分离方式具有显著提升。

本实验使用岛津 Nexera-e 全二维液相色谱系统，对中药穿心莲甲醇提取液进行分析。同原液相分析结果比较，色谱峰的分离结果有显著改善，可为进一步开展定性定量研究提供分离方法的参考。

## 实验部分

### 1.1 仪器

系统组成：LC-30AD×4 ( 输液泵 )，DGU-20A<sub>5R</sub>、DGU-20A<sub>3R</sub> ( 在线脱气机 )，SIL-30AC ( 自动进样器 )，CTO-20AC ( 柱温箱 )，FCV-32AH×2 ( 高压流路切换阀 )，SPD-M30A ( 二极管阵列检测器 )，CBM-20A ( 系统控制器 )，LabSolutions Ver.5.71 ( 色谱工作站 )，LC×LC Assistant ( 时间程序生成软件 ) 和 ChromSquare Ver.2.0 ( 全二维数据处理软件 )。流路示意图 1 如下：

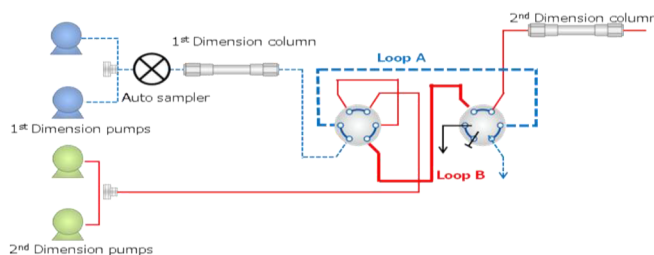


图1 全二维液相系统流路示意图

### 1.2 色谱条件

<1<sup>st</sup>D LC >

色谱柱：SUPELCO Ascentis C18 15 cmL.× 1

mmID., 3 μm

流动相：A-0.3 % 甲酸水溶液；B- 乙腈

流速：0.05 mL/min

进样体积：2 μL

时间程序：参见图 2

<2<sup>nd</sup>D LC >

色谱柱：Shim-pack XR-ODS 50 mmL.× 4.6 mmID., 2.2 μm

流动相：C相 -10 mM 磷酸盐缓冲液 (pH6.9)；  
D相 - 甲醇

流速：2.5 mL/min

进样体积：50 μL (Loop 环体积)

时间程序：参见图 2

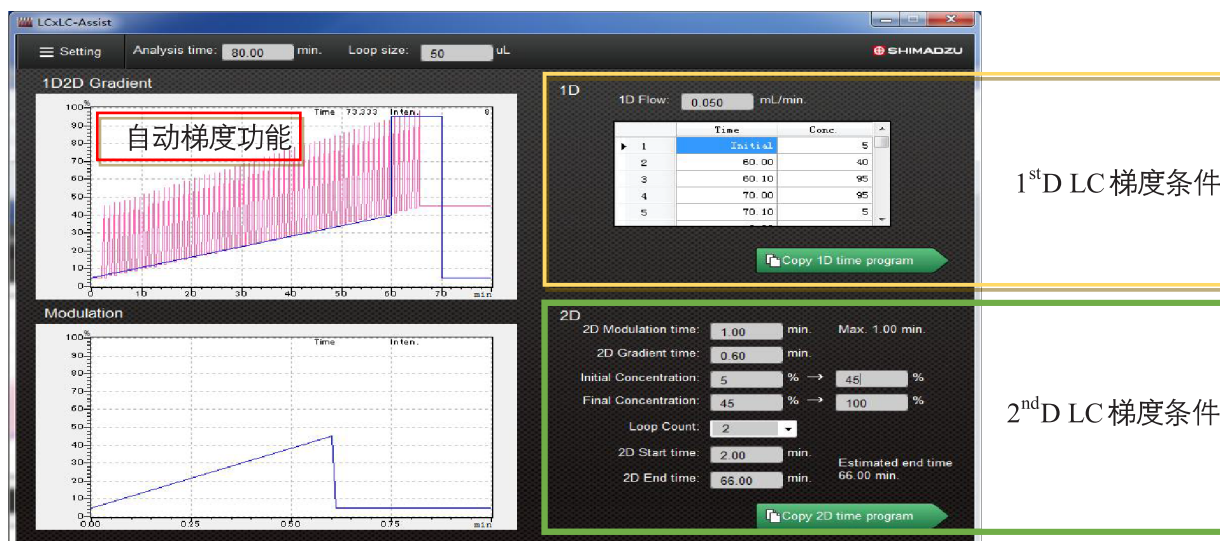


图2 穿心莲分析用梯度时间程序

### 1.3 样品前处理方法

取穿心莲药材粉末加入 80% 甲醇，超声 20 min 后经 0.22 μm 滤膜过滤后进样分析。

## 结果讨论

### 2.1 穿心莲药材常规液相分离色谱图

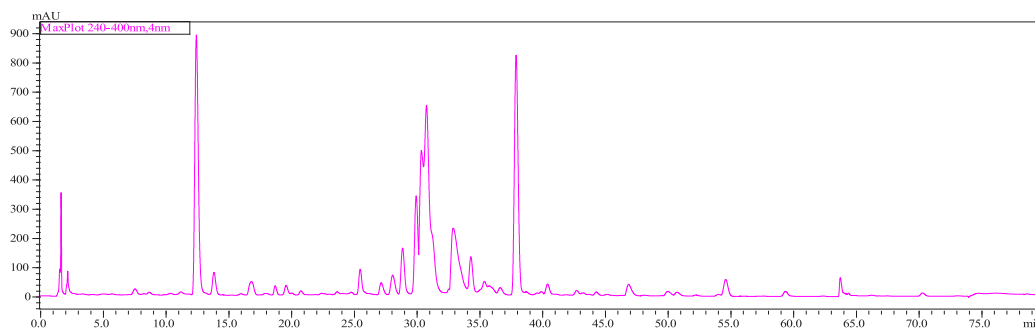


图3 穿心莲提取液常规液相分离色谱图(色谱条件同1<sup>st</sup> DLC)

穿心莲药材以 80% 甲醇溶液超声提取后 HPLC 分析，结果显示在保留时间 25-35 min 之间，由于存在较多极性相似的化合物，共流出现象明显导致多数化合物未获良好分离，将对该类化合物的定性定量分析带来困难。

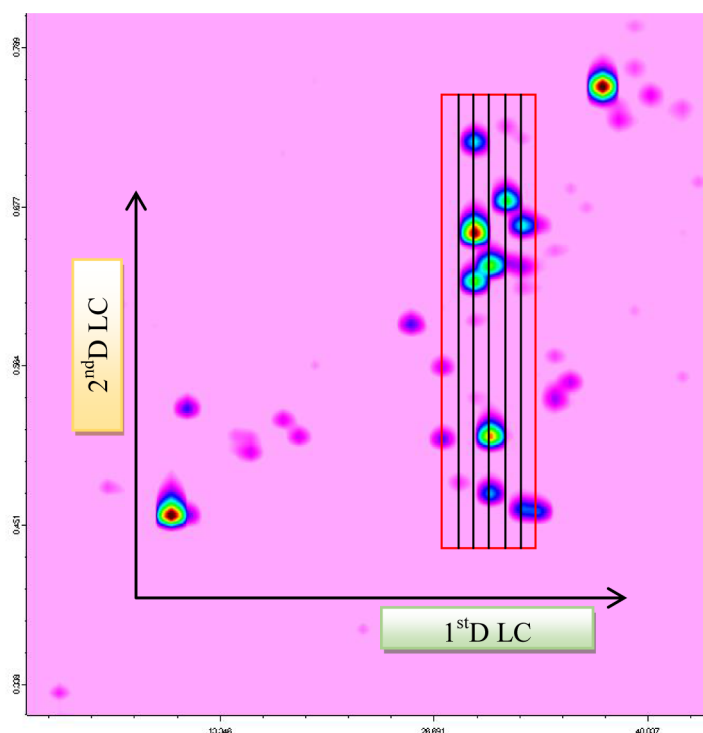


图4 穿心莲提取液全二维液相分离色谱图

图4所示为穿心莲提取液全二维液相色谱分离结果，使用反相 × 反相方式，1stD-LC 使用酸性流动相有助于样品中中性物质分离，2ndD-LC 时使用中性流动相体系，对 1stD-LC 分离过程中未能有效分离的酸性物质再次分离。结果显示，经过酸性 × 中性的全二维色谱分离后，使得原本在单维液相体系中无法良好分离的组分明显获得良好分离效果。

## ■ 结论

本文使用岛津全二维液相色谱系统进行中药穿心莲甲醇提取液分析，结果显示，同常规液相方法的分离情况相比，全二维液相色谱方法对极性相似区域化合物的分离度的提升显著，有利于类似中药等复杂组分的液相色谱分离的改善，有利于提高色谱定性和定量分离的准确性，是对超高效液相色谱分离度提升的系统性拓展。