

# LH-40 用于中药车前子有效成分制备分离

LC-323

**摘要：** LH-40 是岛津集“馏分收集”与“自动进样器”于一体的新型液体处理器，具有制备模拟、液面检测、样品拯救等功能。本文以分离制备中药车前子的有效成分为例，详细探讨了 LH-40 的功能与特点。实验采用反相液相色谱，使用 C18 色谱柱与 0.3% 乙酸水溶液 - 甲醇条件，以紫外信号触发馏分收集，结果显示样品重现性好、回收率高，实现了中药车前子的快速分析和制备纯化的目的，LH-40 可用于中药等复杂样品中有效成分的准确制备。

**关键词：** LH-40 中药车前子 制备分离

制备液相色谱系统主要是对产品的单体进行提取和纯化，即分离、收集一种或多种色谱纯物质。随着合成、生化和制药等领域对高纯度组份的需求不断增加，制备型液相色谱仪应用的领域也在迅速的扩大发展。

LH-40 液体处理器 (Liquid Handler) 同时兼具“自动进样器”和“馏分收集器”两种功能，作为馏分收集器，其与 FRC-40 相同，具操作简单，使用灵活，

空间节约以及高通量等特点；作为“自动进样器”，其进样体积最大可达 20 mL，可复测已接收馏分的纯度，也可通过液面探测技术自动判断样品瓶中液面高度避免空针进样。

本文利用岛津液相色谱系统结合新型液体处理器 LH-40 建立了针对中药车前子的快速分析和制备纯化的方法，以提升分析和制备效率。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津高效液相色谱仪，具体配置为：

输液泵：LC-40D XR (含 LPGE)

柱温箱：CTO-40C

自动进样器：SIL-40C XR、LH-40

系统控制器：SIL-40

检测器：SPD-40V/SPD-M20A

液体处理器：LH-40

- 收集器+自动进样器
- 自动设置峰判定条件
- 自动生成制备参数
- 自动计算延迟时间
- 完善的交叉污染抑制功能
- “样品拯救功能”
- 支持液面检测功能



图 1 LH-40 及其主要特点

### 1.2 分析方法转换为制备方法

制备分离前先做样品分析，供试品溶液参照《YBZ-PFKL-2021024》国家药品标准制备，减压浓缩超纯水复溶后，经 0.22 μm 滤膜过滤，LC 进样分析。

中药样品 LC 分析条件

仪器：Nexera LC-40D XR 四元低压梯度系统

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 2 μm)，

P/N:227-30001-04，岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A-0.3% 乙酸水溶液； B-0.3% 乙酸甲醇溶液

流速：0.3 mL/min

进样体积：2  $\mu$ L

检测波长：245 nm

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0	Pump	B.Conc	5
0.2	Pump	B.Conc	5
8	Pump	B.Conc	60
10	Pump	B.Conc	5
15	Controller	Stop	

根据上述分析结果，色谱图如图 3 所示，得到待分离化合物的液相色谱保留特点，为制备方法的开发提供帮助。

利用岛津方法转换软件，可将分析条件自动生成制备方法的液相分析条件，大大节省方法优化的时间，有效提高工作效率。

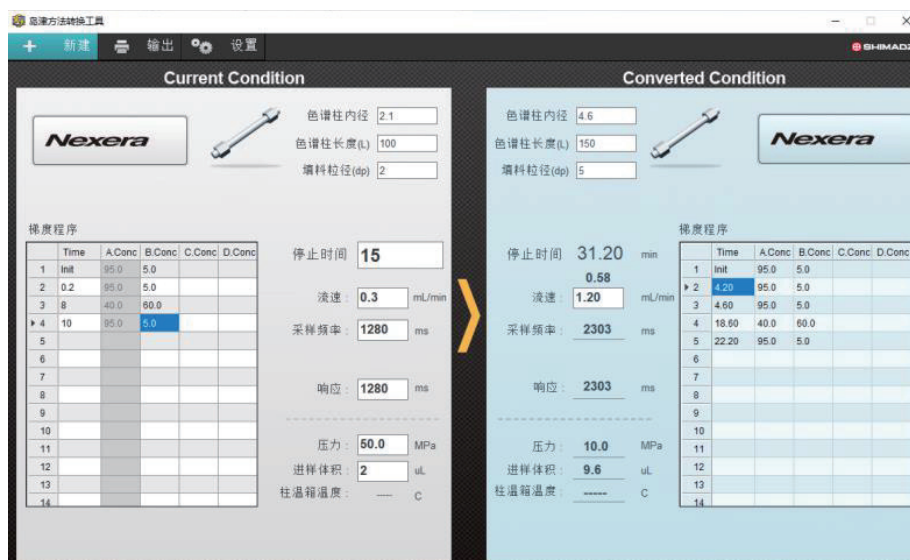


图 2 方法转换工具

中药样品制备分析条件

仪器：Nexera LC-40D XR 四元低压梯度系统 + LH-40

色谱柱：Shim-pack VP-ODS (150 mm x 4.6 mm I.D., 5  $\mu$ m),  
S/N:3082601, 岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A-0.3% 乙酸水溶液； B-0.3% 乙酸甲醇溶液

流速：1.2 mL/min

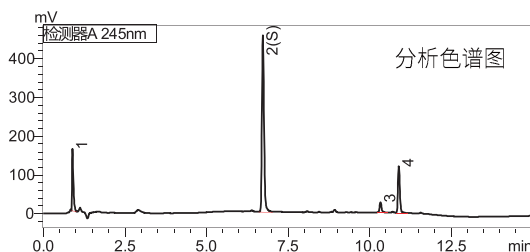
进样体积：10  $\mu$ L

检测波长：245 nm

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，时间程序见表 2。

表 2 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0	Pump	B.Conc	5
4.6	Pump	B.Conc	5
18.6	Pump	B.Conc	60
22.2	Pump	B.Conc	5
35	Controller	Stop	



$$* \text{制备柱上柱量} = \text{分析柱上柱量} \times \left(\frac{d2}{d1}\right)^2 \times \frac{L2}{L1}$$

$$\text{制备柱流量} = \text{分析柱流量} \times \left(\frac{d2}{d1}\right)^2$$

d1: 分析柱内径; d2: 制备柱内径;

L1: 分析柱柱长; L2: 制备柱柱长

参照上述公式\*将分析方法转化为制备方法

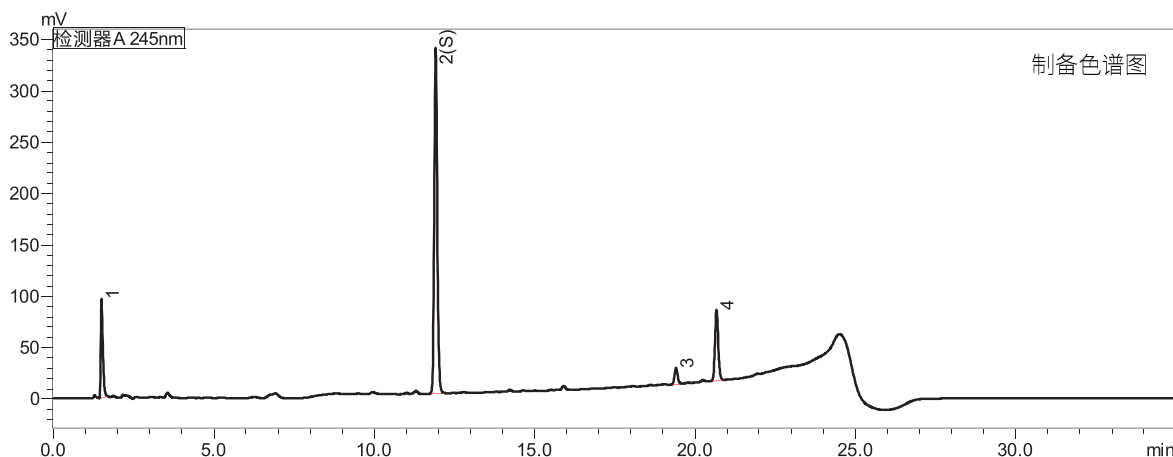


图 3 车前子中有效成分的色谱图

[峰 2 (S) : 京尼平苷酸; 峰 3: 毛蕊花糖苷; 峰 4: 异毛蕊花糖苷]

## 结果与讨论

### 2.1 进样体积考察

将供试品溶液经 0.22 μm 滤膜过滤后进入制备液质系统, 使用 LH-40 作为自动进样器, 进样量分别为 10 μL、30 μL、100 μL 和 400 μL, 考察进样体积对分离的影响。分析结果显示随着进样体积的增大, 极性大出峰早的化合物保留时间明显后移, 因此在方法放大实验时要特别关注进样体积放大倍数对化合物保留时间的影响; 以 S 峰为例, 随着进样体积的增大, 理论塔板数、拖尾因子、分离度均减小, 但各峰峰形良好, 且分离度均大于 1.5, 可满足制备液相系统的分离要求。为加快分离的时间、提高制备的效率、满足规模制备纯化要求, 因此选择进样量为 400 μL 时进行馏分收集。

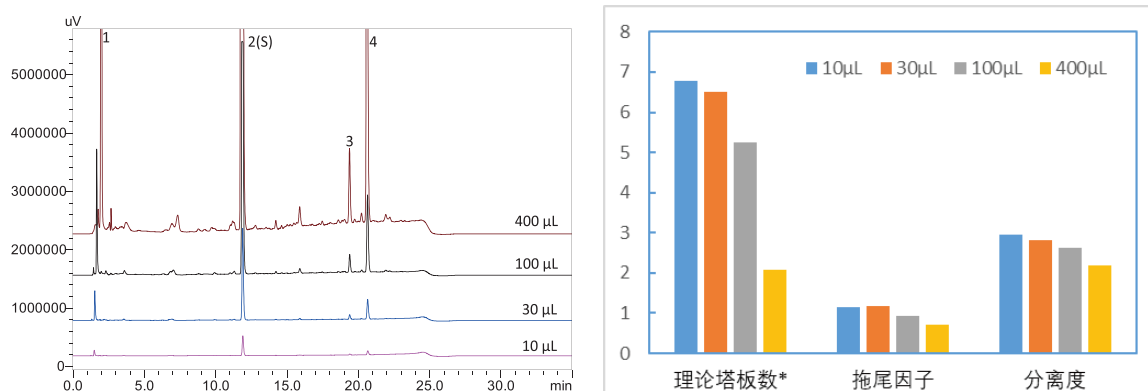


图 4 不同进样体积对色谱分离的影响

(为便于展示, 右图中 \* 理论塔板数 = 实测理论塔板数 ÷ 10000)

## 2.2 重复性考察

实现确定条件下的稳定重复进样 - 分离 - 收集过程, 对制备分离的成功具有重要意义, 尤其对于连续批处理型工作方式来说, 是实现无人值守自动化运行的重要保障。LH-40 具有液面检测功能, 能够智能检测液面高度并跳过剩余样品量不足的样品瓶。此外, LH-40 可在检测到样品瓶内样品量不足后停止吸液, 可有效避免样品瓶内样品量较少时, 可能会出现吸样不足, 导致峰面积下降、重现性不佳的问题。

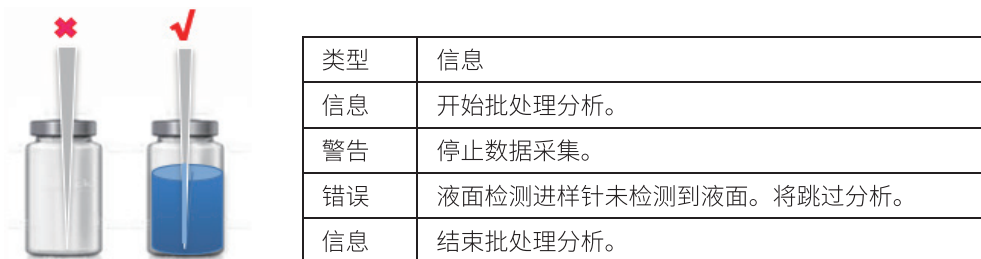


图 5 LH-40 液面检测功能

供试品溶液连续进样 5 次, 进样量 400 μL, 用于考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。结果显示, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.021~0.232% 和 0.054~0.385% 之间, 仪器精密度良好。

表 3 重复性测试 (n=6)

名称	峰 1		峰 2 (S)		峰 3		峰 4	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	1.963	30559935	11.979	69580382	19.407	8771564	20.688	40997212
2	1.954	30672457	11.988	69756086	19.410	8777789	20.696	40988672
3	1.954	30412423	11.979	69739231	19.405	8767105	20.688	41024686
4	1.963	30416215	11.971	70007466	19.400	8767098	20.679	40953935
5	1.963	30487989	11.979	69913159	19.408	8767014	20.688	41340424
AVG	1.959	30509804	11.979	69799265	19.406	8770114	20.688	41060986
RSD/%	0.232	0.358	0.049	0.237	0.021	0.054	0.028	0.385

### 2.3 制备样品的纯度分析

将分离后的馏分再进样进行纯度检测，采用面积归一化法对结果进行定量分析，其中收集馏分 1、馏分 2、馏分 3、馏分 4 的纯度均大于 99%。

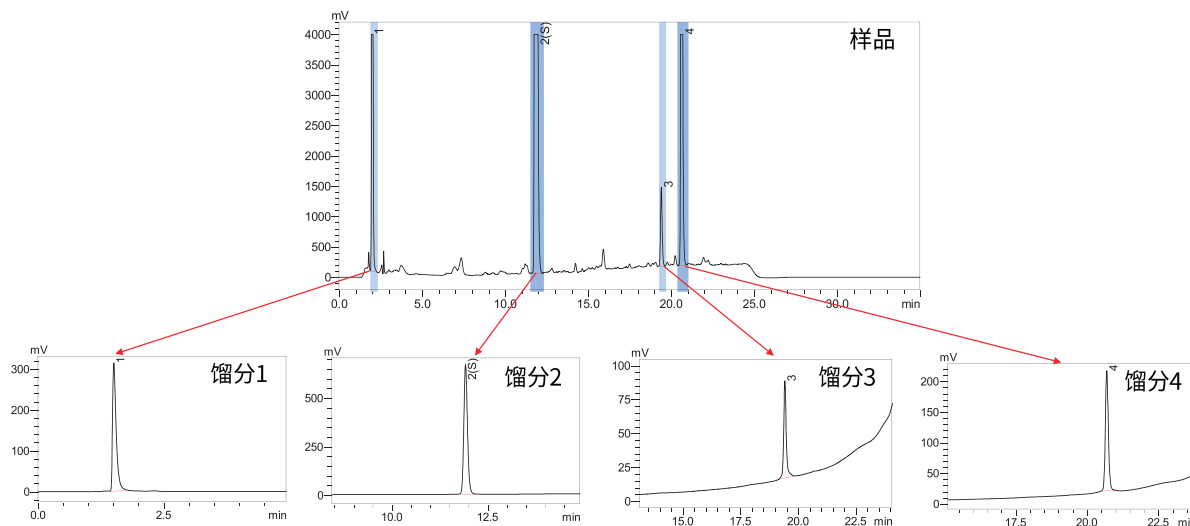


图 6 各馏分色谱图

### 2.4 制备样品回收率考察

针对 S 峰进行制备回收率考察，结果如下表 4 所示，制备回收率为 97.56%，且纯度合格，满足要求。

表 4 S 峰回收率

名称	面积	回收率
Initial	5149979	N/A
Fraction	5024354	97.56%

注：回收率 = Fraction 面积 / Initial 面积 \* 100%

Initial：取供试品溶液 400 μL 定容至 1 mL，进样 30 μL

Fraction：色谱峰 2 馏分定容至 1 mL，进样 30 μL

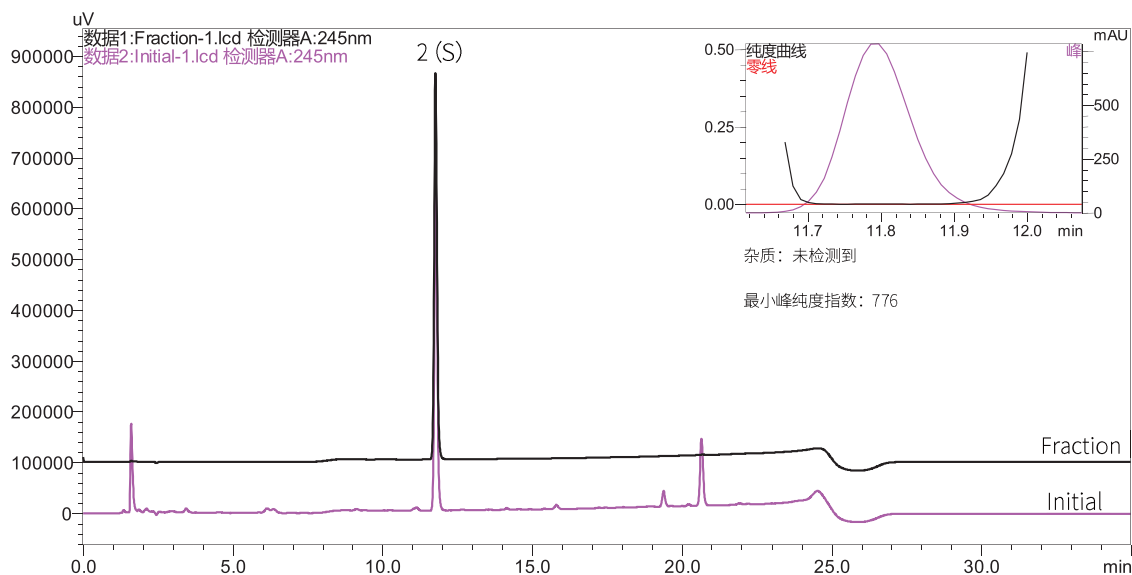


图 7 S 峰制备回收率色谱图

## ■ 结论

本文介绍了岛津新型液体处理器 LH-40 的主要功能和应用方式，并以中药车前子为例，介绍了从 HPLC 分析方法到制备方法转化的思路及一般性操作。重复性实验结果显示，色谱峰的保留时间和峰面积的 RSD% 在 0.021~0.232% 和 0.054~0.385% 之间，重复性良好。以紫外信号作为触发信号进行馏分收集，LH-40 对中药车前子的制备回收率为 97.56%，且纯度合格。LH-40 满足中药车前子制备纯化的目的，在此类物质的分离纯化领域有广阔应用前景。

岛津应用云

