

全二维液相色谱分析大黄炮制前后的化学成分变化

LC-441

摘要： 本文使用岛津 Nexera-e 全二维液相系统对生大黄、熟大黄提取物进行了分析。使用反相 × 反相模式，将一维酸性流动相条件与二维碱性流动相条件的超快速分离进行组合，提升色谱的分离选择性。结果表明，大黄炮制前后的化学成分存在显著差异。

关键词： 全二维液相色谱 大黄 炮制 成分变化

技术特点：

- ❖ 第二维液相的自动梯度程序功能，可分段进行梯度设置，方便、灵活。
- ❖ 使用反相 × 反相模式，酸性 × 碱性流动相组合，提升色谱分离选择性。

中药炮制基本原理的核心是中药饮片炮制后其药性发生改变，根源在于炮制后其内在物质基础发生改变。深入研究这些物质基础—化学成分群及由此所致的生物活性变化规律，不仅可以阐明饮片的炮制原理、丰富中药药性理论，而且可为炮制工艺的规范化、饮片质量评价标准的制定提供科学依据。

大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L、唐古特大黄 *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. 或药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根及根茎，具有泻下攻积、清热泻火、解毒、活血祛瘀的功能。现代炮制方法包括酒炒、酒蒸等，经不同方法炮制后，其

泻下作用会有不同程度缓和，适用于不同病症。

大黄成分复杂，已知含有蒽醌苷类及其苷元、苯丁酮类、鞣质类等化学成分，一种色谱分离模式往往不能提供足够的分离度和峰容量，而全二维液相系统可以实现不同分离模式的偶联，如反相 × 反相、正相 × 反相、酸性 × 中性等，通过不同色谱条件下化合物选择性差异提升分离水平，在成分复杂、结构类似物多的中药分析方面具有非常广阔的应用前景。

本研究使用全二维液相色谱系统分析了生大黄和炮制品的化学成分变化，为揭示大黄炮制机理及药效活性成分提供参考依据。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera-e 全二维液相系统，具体配置为：

系统控制器	: SCL-40	脱气机	: DGU-405
输液泵	: LC-40B X3 × 2	柱温箱	: CTO-40C
自动进样器	: SIL-40C X3	检测器	: SPD-M40
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.118	数据处理软件	: ChromSquare 2.2 SP1

1.2 分析条件

一维液相色谱条件

色谱柱	: Shim-pack GIST (250 mm × 1.0 mm I.D., 3 μm)	柱温	: 40°C
	岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30006-06	流速	: 0.05 mL/min
流动相	: A: 0.1% 甲酸水溶液; B: 甲醇		
进样体积	: 2 μL		
洗脱方式	: 梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 20%, 时间程序见图 1。		

2.2 流动相体系选择

中药成分复杂，化合物酸碱性范围广，因此设定不同 pH 条件是实现分离最佳化的重要手段。本实验使用反相 × 反相模式，根据流动相 pH 值的不同进行全二维液相分离。一维液相使用酸性流动相，有助于极性化合物的保留，甲醇作为有机相有助于同分异构体的分离；二维液相使用碱性流动相体系，对一维分离过程中未能有效分离的酸性物质再次分离，使用乙腈作为有机相有助于二维的超快速分析。

2.3 一维液相分离和全二维液相分离对比

PDA 检测器采用 3D 模式，提取波长 280 nm。仅使用一维色谱柱按照一维实验条件测得的样品色谱图如图 2 左侧所示，从图中可见部分色谱峰没有实现基线分离。按照全二维液相条件分离后经过软件拟合所得的全二维等高线色谱图如图 2 右侧所示，部分一维未基线分离的色谱峰，在第二维上得到了进一步分离，各点间有良好的分离度。一维色谱图经 Labsolutions 软件处理，共积分得到 78 个色谱峰，二维色谱经 ChromSquare 软件处理，共积分得到 94 个色谱峰，全二维分离模式在该样品的设定分离条件下，检出色谱峰的数量有明显提升。

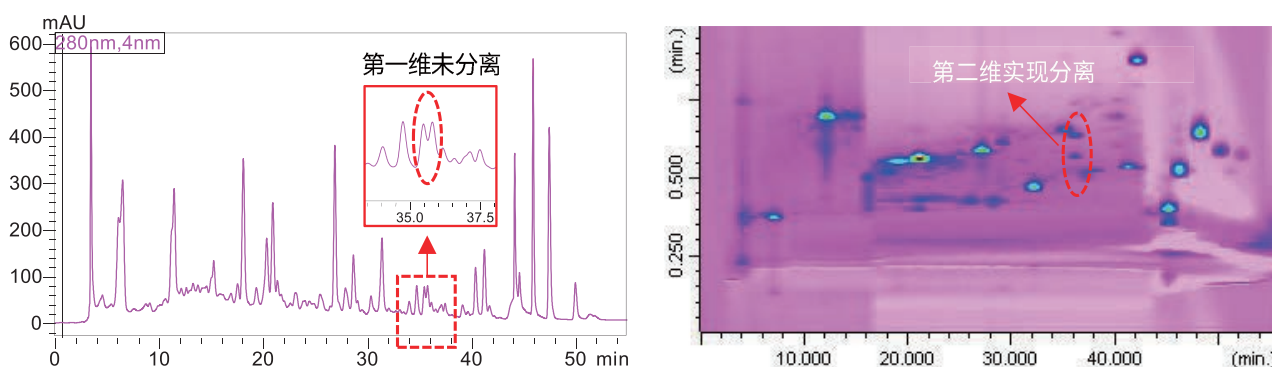
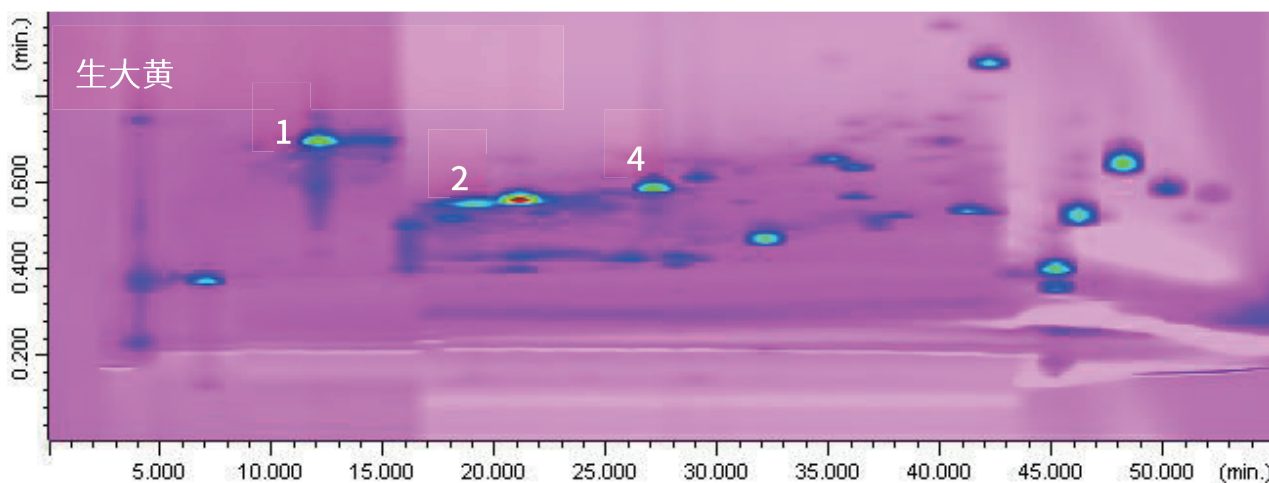


图 2 大黄炮制前一维液相和全二维液相分离对比

2.4 大黄炮制前后全二维色谱分析

图 3 为大黄炮制前后的二维等高线色谱图，上图为生大黄，下图为熟大黄，横坐标表示一维保留时间，纵坐标表示二维保留时间。从二维色谱图可以明显看出，生大黄炮制为熟大黄后，特征峰存在显著差异。图中标识出部分差异性特征峰，如 1[#]、2[#]、4[#] 特征峰消失，3[#]、5[#]、6[#]、7[#]、8[#]、9[#]、10[#] 化合物发生浓度变化，各编号对应的化合物见表 1。



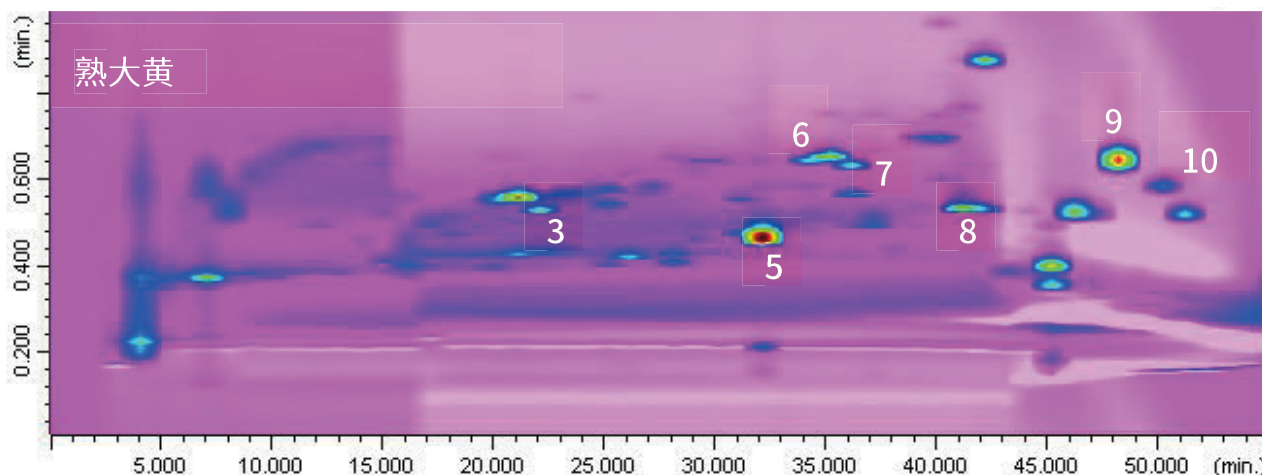


图3 大黄炮制前后全二维色谱图

表1 大黄炮制前后部分差异性特征峰推测结果列表

序号	1 st t _R (min)	2 nd t _R (min)	化合物名称
1	12.696	0.695	儿茶素
2	19.550	0.550	表儿茶素没食子酸酯
3	22.530	0.529	芦荟大黄素 -8-O- 葡萄糖苷
4	27.586	0.586	1-O- 没食子酰 -6-O- 肉桂酰葡萄糖
5	32.472	0.472	决明酮 8-O-β-D 葡萄糖苷
6	35.654	0.654	大黄素 -8-O-β-D- 葡萄糖苷
7	36.635	0.634	大黄酚 -8-O- 葡萄糖苷
8	41.533	0.533	芦荟大黄素
9	48.643	0.643	大黄酚
10	50.585	0.584	大黄素甲醚

■ 结论

本文使用岛津 Nexera-e 全二维液相系统对生大黄、熟大黄提取物进行了分析。结果表明，大黄炮制前后的化学成分存在显著差异。生大黄经炮制成熟大黄后，芦荟大黄素 -8-O- 葡萄糖苷等蒽醌苷类成分降低，芦荟大黄素等蒽醌苷元类成分增加，儿茶素等儿茶素类、1-O- 没食子酰 -6-O- 肉桂酰葡萄糖等鞣质类成分基本消失。此现象可能与大黄饮片的炮制工艺密切相关，尚需结合各类成分的定量分析比较大黄炮制前后的成分分布情况，进而揭示大黄不同炮制工艺的物质变化规律。该研究表明岛津全二维液相系统可用于中药炮制前后化学成分分析。

岛津应用云

