

植物中极性化合物的分析

利用 HILIC 定量分析中国益母草 (*Leonurus japonicus*) 中的水苏碱

作者

Rongjie Fu
安捷伦科技（上海）有限公司

Adam Bivens
安捷伦科技公司

摘要

生物碱水苏碱是中药 (TCM) 中所用的 50 种基本草药之一中国益母草 (*Leonurus japonicus*) 中的主要活性成分。水苏碱的高极性意味着它在反相色谱分析中基本不会被保留，植物基质中许多其他极性化合物的共洗脱也使水苏碱的分析非常有挑战性。

亲水相互作用色谱 (HILIC) 是分析极性化合物的一种简单、强大的解决方案。Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱能够直接从植物提取物中分离出水苏碱并实现定量测定。该色谱柱结合了先进的两性离子固定相组成和表面多孔颗粒填料，可在低压操作条件下提供优异的峰形和分离度。

前言

使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120, 2.7 μm HILIC-Z 从益母草 (*Leonurus japonicus*) 分离出水苏碱。由于水苏碱的紫外信号较弱, 因此采用蒸发光散射检测器 (ELSD) 进行检测。同时开发了等度和梯度两种方法。

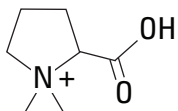


图 1. 水苏碱结构

实验部分

试剂与化学品

所有试剂均为 HPLC 级或更高等级。HPLC 级乙腈购自 J. T. Baker (Center Valley, PA, U.S.A.)。水经由 EMD Millipore Milli-Q Integral 系统 (Darmstadt, Germany) 纯化。乙酸铵购自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)。盐酸水苏碱和益母草 (*L. japonicus*) 由上海诗丹德标准技术服务有限公司 (中国上海) 提供。

仪器和材料

- Agilent InfinityLab 接头
 - 色谱柱前端:** Quick Connect 快速连接接头 (部件号 5067-5965)
 - 色谱柱末端:** Quick Turn 接头 (部件号 5067-5966)
- Agilent Captiva 经济型过滤器, 聚丙烯膜, 直径 13 mm, 孔径 0.2 μm (部件号 5190-5265)
- 安捷伦样品瓶, 螺口, 棕色, 带书写签, 经认证, 2 mL, 100/包 (部件号 5182-0716)
- 安捷伦固定螺口盖, 带 PTFE/红色硅胶隔垫 (部件号 5190-7024)
- 安捷伦样品瓶内插管, 250 μL , 去活玻璃, 带聚合物支脚 (部件号 5181-8872)
- Agilent InfinityLab 溶剂瓶, 棕色, 1000 mL (部件号 9301-6526)
- Agilent InfinityLab Stay Safe 溶剂瓶安全盖, GL45, 3 口, 1 个放空阀 (部件号 5043-1219)
- Eppendorf 移液器和连续分液器
- 超声仪 (VWR, Radnor, PA, USA)
- 涡旋器和多管涡旋器 (VWR, Radnor, PA, USA)

仪器

- Agilent 1260 Infinity II 二元泵 (G7112B)
- Agilent 1260 Infinity II 样品瓶进样器 (G7129C)
- Agilent 1260 Infinity II 大容量柱温箱 (G7116A)
- Agilent 1290 Infinity II ELSD (G7102A)
- 超低扩散工具包 (5067-5189)
- Agilent OpenLAB 软件

样品前处理

将盐酸水苏碱标准品溶于 70% 乙醇中, 制得浓度为 0.5 mg/mL 的标样, 无需进一步样品前处理即可直接进样。

植物提取物按照以下步骤进行制备:

- 称取 1 g 益母草 (*L. japonicus*) 干粉
- 将 25 mL 70% 乙醇加入锥形瓶中, 并对整个容器称重
- 使溶液回流 2 小时, 冷却后再次称重
- 加入 70% 乙醇补充失去的重量
- 摇匀, 并通过 0.2 μm PTFE 膜针头过滤器 (部件号 5190-5265) 对提取物进行过滤
- 如有必要, 用乙腈将提取物稀释至所需浓度

流动相配制

称取甲酸铵并在水中稀释至 10 mM 的浓度。为避免降解和微生物生长, 每次只配制 1 L 缓冲液, 并定期更换。

仪器条件

参数	值
HPLC	
色谱柱	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.1 \times 100 mm (部件号 685775-924)
流动相 A	10 mM 乙酸铵水溶液
流动相 B	乙腈
流速	0.30 mL/min
柱温	30 $^{\circ}\text{C}$
进样量	2 μL
ELSD	
雾化器温度	40 $^{\circ}\text{C}$
蒸发器温度	40 $^{\circ}\text{C}$
气体流速	1.6 SLM
数据采集速率	40 Hz

结果

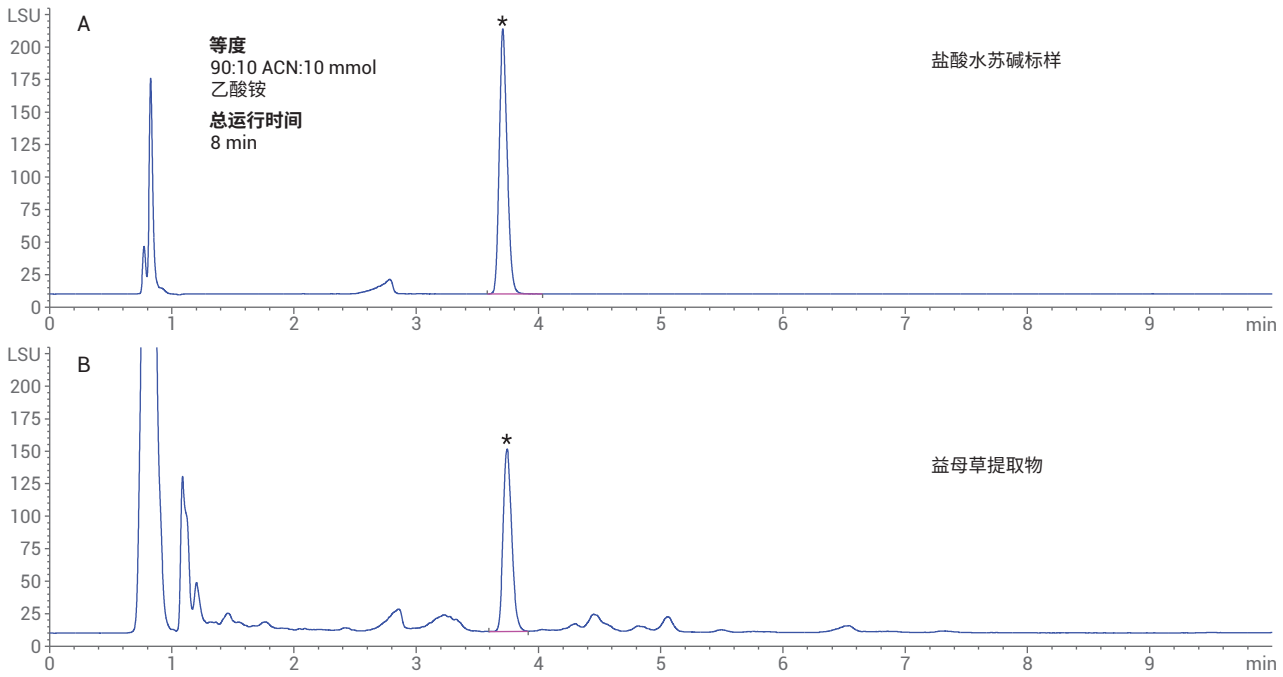


图2. 在优化的等度条件下，植物样品 (B) 与标样 (A) 之间的比较

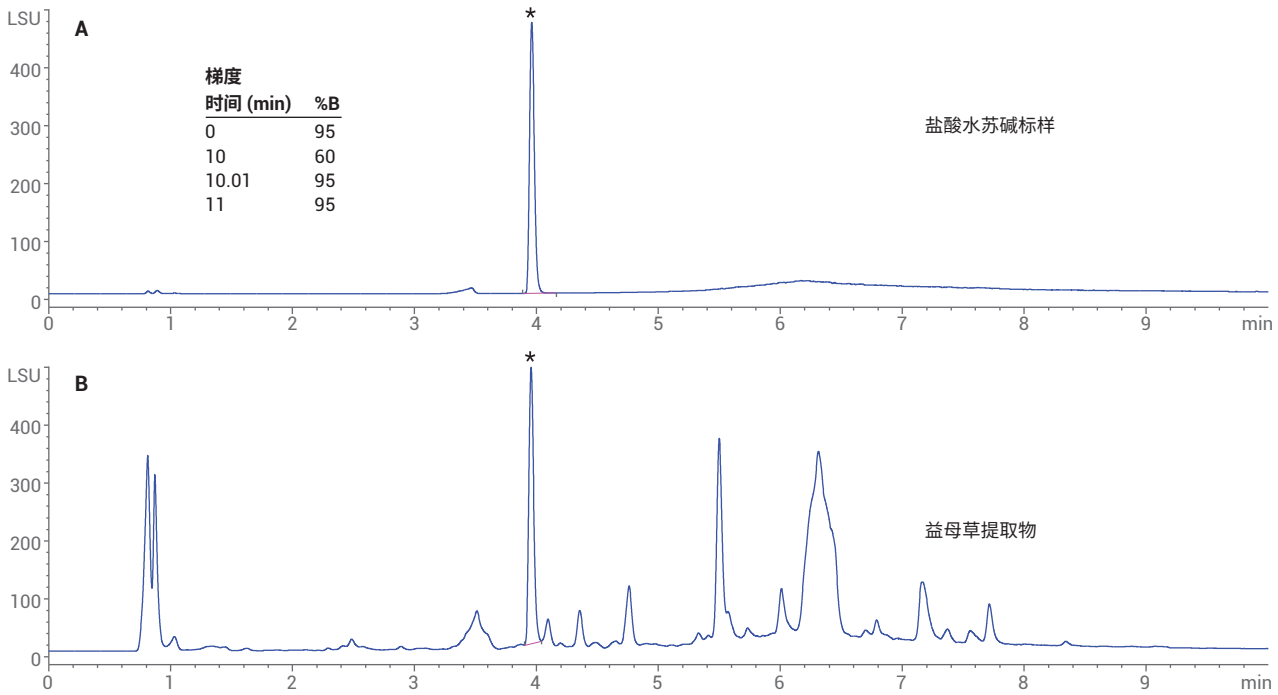


图3. 在优化的梯度条件下，植物样品 (B) 与标样 (A) 之间的比较

结论

成功地从益母草 (*L. japonicus*) 中分离出水苏碱。同时开发了等度和梯度方法，这两种方法均可使水苏碱与共存于提取物中的极性和非极性化合物得到完全分离。

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2017
2017 年 12 月 6 日, 中国出版
5991-8617ZHCN