

毛细管区带电泳法测定中药金银花中绿原酸的含量<sup>△</sup>

河北大学化学系(保定 071002) 王德先\* 赵敬湘 杨更亮\*\* 张 婷

金银花又名忍冬花,为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thump. 的干燥花蕾。其中绿原酸为主要成分<sup>[1-3]</sup>,目前金银花的分析方法主要为气相色谱、质谱法、高效液相色谱法、薄层色谱法等<sup>[4-6]</sup>,这些方法在应用上有一定局限。CE是近年来快速发展的一种重要分离分析技术,应用于中药分析具有广阔的前景。本实验采用毛细管区带电泳(CZE)法测定金银花中有效成分绿原酸含量,实验结果较好。

## 1 实验部分

1.1 仪器和药品:美国 Waters Quanta 4000E 毛细管电泳仪,毛细管内径 75 $\mu$ m,柱长 60 cm,有效柱长 52 cm(河北永年光纤厂)。NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, 95% 乙醇均为分析纯。金银花购于河北安国药材市场。绿原酸对照品由中国药品生物制品检定所提供。

1.2 实验方法:进样前,毛细管首先在室温下,用 0.5 mol/L 的 KOH 溶液冲洗 10 min,然后用蒸馏水冲洗 5 min,再用背景缓冲液冲洗 10 min,最后施加 16 kV 电压,预平衡 10 min,每进样 5 次后需清洗毛细管,清洗步骤同上,样品采用重力真空进样,214 nm 紫外检测,实验前缓冲液用微滤膜过滤。

## 2 结果与讨论

2.1 缓冲液的组成及 pH 值对分离的影响:毛细管电泳中缓冲液的组成直接影响粒子的迁移和最后分离,本实验分别考察了磷酸盐和硼酸盐对分离的影响,结果表明,当缓冲液的组成为 10 mmol/L 的硼酸盐+ 19 mmol/L 的磷酸盐时,可以获得较好的结果。在此基础上,改变 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 的比例分别配置 pH 值为 8.40, 8.86, 9.32, 9.51, 9.73 的系列缓冲液考察 pH 值对分离的影响。由实验结果可知,绿原酸的迁移时间随 pH 值的增大而呈增大趋势,这是因为较高 pH 值下绿原酸的电离增大,从而与电渗流反向迁移的原故。但 pH 值过大,造成电流、温度升高,热扩散增加,重现性差。实验证明, pH 值在

8.86 左右时可获得较为满意的分离。

2.2 有机溶剂对分离的影响:在 CE 中,有机溶剂作为一种改性剂,常加到缓冲液中,以改善分离。本实验考察了缓冲溶液中乙醇的含量从 5% 到 30% 对分离的影响。实验结果表明,随着缓冲溶液中乙醇浓度的增加,绿原酸的迁移时间呈现增长。这是因为有机溶剂乙醇的加入,使得电渗流降低的原故。另外从实验中还可看出,有机溶剂的加入增加了金银花样品中某些峰的吸收。但当缓冲溶液中乙醇含量高于 20% 时,绿原酸的迁移时间达 20 min 以上,这对于快速分析不利,因此本实验采用含有 10% 乙醇的缓冲溶液(即 10 mmol/L 的硼酸盐+ 19 mmol/L 的磷酸盐+ 10% 的乙醇)作为最佳分析条件。

2.3 标准曲线的绘制:精密称取适量的绿原酸对照品,制成不同浓度的标准溶液,在最佳分离条件下进行测定,以绿原酸的校正峰面积对浓度作图,结果绿原酸在 0.236~ 2.008 mg/mL 范围内呈线性关系,线性回归方程为  $Y = 0.95 + 25.175X$ ,  $r = 0.998$ 。

2.4 样品的测定:精密称取金银花 1 g,索氏提取 2.5 h,得提取液 50 mL。将制得的样品试液在最佳运行条件下测定,测得样品中绿原酸含量(g/g)为 2.32%,  $RSD = 2.98\%$  ( $n = 5$ )。

## 3 结论

采用毛细管区带电泳法测定中药金银花中的有效成分绿原酸的含量,具有样品预处理简单、方法简便、定量准确的优点。毛细管电泳应用于中药分析和质量控制具有广阔的前景。

## 参考文献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册. 上海:上海科技出版社, 1977: 2893
- 2 孙延波,等. 中国中药杂志, 1996, 21(4): 242
- 3 黄丽瑛,等. 中草药, 1996, 27(11): 645
- 4 丁一上,等. 石河子医学院学报, 1997, 19(1): 1
- 5 张玲,等. 中国药学杂志, 1995, 30(11): 651
- 6 陈永林,等. 基层中药杂志, 1996, 10(3): 11

(1999-06-25 收稿)

\* 河北职工医学院

王德先 女, 讲师, 1991年毕业于兰州大学生物系, 现于河北大学化学系攻读硕士研究生, 主攻中草药分析化学。所参加的河北省自然科学基金项目“高效毛细管电泳分析鉴定中药材”已通过鉴定。

\*\* 通讯联系人

△河北省自然科学基金资助项目