

胶束电动毛细管色谱分离大黄中有效成分的研究

尚小玉, 袁倬斌*

(中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 目的 分离出大黄中 4 种有效成分: 大黄酚、大黄素、土大黄苷和大黄酸。方法 采用胶束电动毛细管色谱法(MECC), 缓冲溶液为 50 mmol/L $\text{H}_3\text{BO}_3\text{-NaOH}$ 含 20 mmol/L SDC, pH 值为 10, 分析电压 17 kV。结果 4 种成分在 5 min 内全部分离。结论 本法简便、快速、结果令人满意。

关键词: 胶束电动毛细管色谱; 大黄; 蒽醌类

中图分类号: R 294.1

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)08-0691-02

Isolation of active constituents in rhubarb by micellar electrokinetic capillary chromatography

SHANG Xiao-yu, YUAN Zhuo-bin

(Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: **Object** To isolate and identify the four active constituents, chrysophanol, emodin, rhaponticin and rhein in rhubarb. **Methods** Micellar electrokinetic capillary chromatography (MECC) with a buffer solution of 5 mmol/L $\text{H}_3\text{BO}_3\text{-NaOH}$ containing 20 mmol/L of sodium deoxycholate (SDC) (pH=10) was used for their separation at a voltage of 17 kv. **Results** The four active constituents were completely separated within 5 min. **Conclusion** This method was found to be simple and rapid and gave satisfactory results.

Key words: micellar electrokinetic capillary chromatography (MECC); rhubarb; anthraquinones

大黄是我国常用中药, 具有泻下、抗菌等作用。近年来, 高效毛细管电泳在中药有效成分的分离分析中发挥着重要的作用。有用胶束电动色谱法采用不同的缓冲溶液体系分离出大黄素、大黄酚、大黄酸、芦荟大黄素和大黄素甲醚 5 种成分^[1~4]。对于土大黄苷分离仅限于薄层层析法^[5], 土大黄苷为二苯乙烯的衍生物, 存在于劣质大黄中, 常以土大黄苷的存在与否作为大黄质量的定性鉴别的手段。本文采用胶束电动毛细管色谱法对大黄素、大黄酚、大黄酸和土大黄苷进行了分离, 通过对缓冲溶液浓度、pH、表面活性剂浓度和外加电压的优化, 得出了比较满意的分离条件。在此条件下, 对生大黄样品进行了分离, 且可简便地检验出优劣品质的大黄。

1 实验部分

2.1 材料和试剂: 大黄素、大黄酚、大黄酸和土大黄苷标准品购自中国药品生物制品检定所。生大黄样品购于河北安国, 生大黄样品蒽醌衍生物的提取方

法照文献^[4]进行。脱氧胆酸钠(SDC)购自北京市海淀区微生物培养基制品厂, 硼酸、磷酸二氢钠和氢氧化钠均为分析纯。

2.2 食品和分析条件: 北京新技术所 1229 型 HPCE Analyser 和中科院研究生院应化所 ACS2000 型毛细管电泳仪, 空心熔融石英毛细管柱 (40 cm × 50 μm), 购于河北永年光纤厂, 柱上紫外检测 (254 nm), 恒压 17 kV, 电进样 5 s。分离用缓冲溶液为 50 mmol/L $\text{H}_3\text{BO}_3\text{-NaOH}$ (pH 10) 含 20 mmol/L SDC。标准品用无水乙醇和磷酸二氢钠配制。

2 结果与讨论

2.1 缓冲溶液 pH 影响: 缓冲溶液 pH 是影响毛细管电泳分离的关键因素, pH 的改变, 将引起电渗流 (EOF)、峰形及分辨率的变化。本文在 pH 为 9.5 ~ 11.5 的范围内考察了缓冲溶液 pH 值对分离情况的影响, 4 种成分在 pH 10 条件下, 峰形较好, 而且

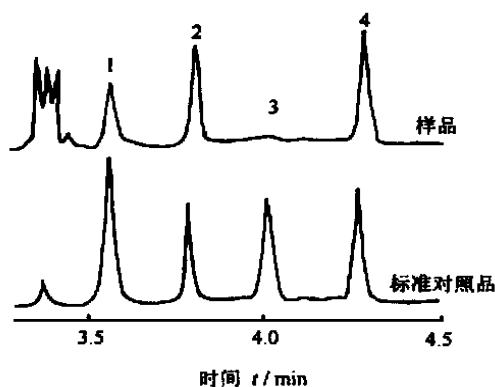
收稿日期: 2000-11-13

基金项目: 国家自然科学基金 (29675022, 29875027), 国家“九·五”科技攻关项目 (96-A23-01-06) 和中科院长春应用化学研究所电分析化学开放研究实验室基金 (OC 2000001) 资助项目。

作者简介: 尚小玉 (1974-), 女, 河南省河润人, 毕业于河北工业大学化学工艺专业, 现在中国科学院研究生院攻读博士学位, 从事分析化学专业。

* 联系人

全部分开。如图 1 所示。

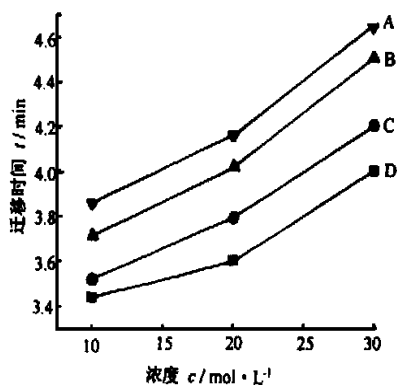


1-大黄酚 2-大黄素 3-土大黄苷 4-大黄酸

图 1 大黄中 4 种成分的电泳图

2.2 缓冲溶液浓度的选择: 在恒定 pH 下, 增加缓冲溶液浓度, 可以降低电渗流(EOF), 在恒电压下, 迁移时间随缓冲溶液浓度增加而加长, 从而改善分离度; 而且, 缓冲溶液浓度大, 缓冲容量也大。但是, 浓度太大, 会产生焦耳热效应, 引起区带增宽。因此, 在 25 ~ 75 mmol/L 浓度范围内, 选择了在最佳 pH 条件下能分离 4 种成分的最大浓度为 50 mmol/L。

2.3 表面活性剂浓度的选择: 表面活性剂 SDC 的加入可以控制 EOF 大小与方向, 达到增强分离选择性, 缩短分析时间, 提高分离度的目的。图 2 给出了在 pH10 条件下, SDC 浓度的不同对迁移时间的影响。由图中可以看出, 迁移时间随着 SDC 浓度增大而增长。在 SDC 浓度为 20 mmol/L 4 种成分能够得到完全分离。SDC 浓度过大, 缓冲溶液粘度增大, 易使毛细管堵塞。

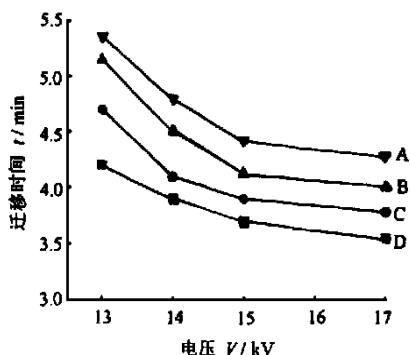


A-大黄酸 B-土大黄苷 C-大黄素 D-大黄酚

图 2 SDC 浓度对迁移时间的影响

2.4 外加电压的优化: 外加电压增大, 迁移时间变短, 减少了分析时间。本文考察了 pH 10, 缓冲溶液

50 mmol/L (SDC 20 mmol/L), 13 ~ 17 kV 范围内电压变化对迁移时间的影响, 如图 3 所示。在 17 kV 电压下, 4 种成分能够完全分开。电压太大, 会产生大量的焦耳热, 导致分离效率下降。因此, 我们选择 17 kV 为操作电压。



A、B、C、D-同图 2

图 3 分析电压对迁移时间的影响

3 结论

本文用胶束电动毛细管色谱法分离了大黄中的 4 种有效成分: 大黄酚、大黄素、土大黄苷和大黄酸, 并对分离条件进行了优化。筛选出的分离条件如下: 缓冲溶液为 50 mmol/L $\text{H}_3\text{BO}_3\text{-NaOH}$ (pH 10) 含 20 mmol/L SDC, 分析电压 17 kV。在上述条件下, 4 种成分完全分开, 且峰形较好。生大黄样品中土大黄苷峰型不明显, 在非正品大黄中大部分均含土大黄苷, 而正品大黄中不含土大黄苷。该法简便、快速, 为中药大黄的质量控制提供了新方法。

参考文献:

- [1] 宗玉英, 余满堂, 朱志强, 等. 胶束电动毛细管色谱分离和测定几种大黄含量[J]. 药学报, 1995, 30(8): 495-598.
- [2] Sheu S J, Chen H R. Determination of five major anthraquinoids in Chinese herbal preparations by micellar electrokinetic capillary electrophoresis [J]. Anal Chim Acta, 1995, 309: 361-367.
- [3] Chai Y F, Ji S G, Wu Y T, et al. The separation of anthraquinone derivatives of rhubarb by micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. Biomedical Chromatography, 1998, 12: 193-195.
- [4] Ji S G, Chai Y F, Wu Y T, et al. Separation and determination of anthraquinone derivatives in rhubarb and its preparations by micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. Biomedical Chromatography, 1998, 12: 335-337.
- [5] 肖颖华, 李文清, 郭丽娜, 等. 中成药中土大黄苷的几种鉴别法比较[J]. 中成药, 1999, 21(11): 605-606.
- [6] 何丽一, 罗淑荣. 中草药中蒽醌衍生物分析方法的研究 I 中国大黄属植物成分的含量及含量测定[J]. 药学报, 1980, 15(9): 555-562.