

高效毛细管电泳法测定决明子及决明子茶中大黄素和芦荟大黄素的含量

郑文捷¹, 陈兴国², 贾伟¹, 邱明丰¹, 徐朝晖^{1*}

(1. 上海交通大学药学院, 上海 200030; 2. 兰州大学化学化工学院, 甘肃 兰州 730000)

摘要:目的 建立简单、快速且能同时分离测定决明子及决明子茶中大黄素、芦荟大黄素含量的胶束毛细管电泳法。方法 采用高效毛细管电泳法, 缓冲体系为 15.0 mmol/L 硼砂-30.0 mmol/L SDS-10%乙醇(pH 9.60), 熔融石英毛细管柱(50 cm ×75 μm), 分离电压为 20 kV, 检测波长为 254 nm, 温度为(25 ±0.3), 进样时间为 5 s。结果 大黄素、芦荟大黄素在 4~120 μg/mL、10~200 μg/mL 与峰面积线性关系良好, 大黄素和芦荟大黄素平均回收率分别为 98.6%和 102.9%。结论 该方法简单、快速、准确、重现性好, 可用于决明子药材及决明子茶的质量控制。
关键词:决明子; 决明子茶; 大黄素; 芦荟大黄素; 高效毛细管电泳
中图分类号: R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2004)08-0874-03

Determination of emodin and aloë-emodin in Semen Cassiae and its tea preparations by high efficiency capillary chromatography

ZHENG Wen-jie¹, CHEN Xing-guo², JIA Wei¹, QIU Ming-feng¹, XU Zhao-hui¹

(1. School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Key words: *Semen Cassiae*; Jue ming zi Tea; emodin; aloë-emodin; high efficiency capillary electrophoresis

决明子为豆科决明属植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *C. tora* L. 的成熟种子, 具有清热明目、清肝益肾、利水润肠的作用, 主治风热赤眼、青盲、头痛、眩晕、肝炎、肝硬化、肝腹水以及习惯性便秘等。药理研究表明决明子具有较好的降压、调血脂、抑菌、泻下等功效, 并具有增强机体免疫力、抗衰老等多方面的作用^[1]。大黄素、芦荟大黄素为决明子中的主要活性蒽醌成分。高效毛细管电泳(HPCE)是一种先进的新型分离分析技术, 具有分析效率高、分析速度快、样品用量小、运行费用低、溶剂消耗小、对环境几乎无污染等突出优点, 对许多植物药中有效成分(如黄酮、生物碱、酚酸、奎宁、香豆素等)的分析十分有效^[2]。本实验采用硼砂作为缓冲液, 对大黄素、芦荟大黄素的毛细管电泳迁移行为进行了研究, 考察了酸度、缓冲液浓度、SDS浓度、有机添加物浓度、电压等因素对待测物质分离的影响, 并且建立了同时分离测定决明子药材及决明子茶中大黄素、芦荟大黄素的胶束电动毛细管色谱(MEKC)方法。结果表明, 该方法简便、快速、准确、重现性好。

1 仪器与试剂

Waters Quanta 4000 型电泳仪(Water 公司, 美

国), 使用 Maxima 820 Chromatograph Workstation 进行数据采集; 弹性石英毛细管柱(河北永年光导纤维厂); PHS-40A 型酸度计(萧山市科学仪器厂)。

大黄素、芦荟大黄素对照品与决明子药材购于中国药品生物制品检定所, 宁夏决明子茶(宁夏宁安宝土特产有限公司生产)、兰州决明子茶(兰州江源制药厂生产)、速溶决明子茶(宁夏伊斯兰金马食疗营养研究所生产)均购于兰州大药房, 所用化学试剂均为分析纯, 实验用水均为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 电泳条件: 熔融石英毛细管柱(50.0 cm ×75 μm, 有效长度为 42.4 cm); 缓冲体系: 15.0 mmol/L 硼砂-30.0 mmol/L SDS-10%乙醇(pH 9.60); 分离电压: 20 kV; 检测波长: 254 nm; 温度: (25.0 ±0.3); 进样时间 5.0 s。

毛细管第一次使用前依次用 1.0 mol/L HCl 冲洗 5 min、蒸馏水冲洗 3 min、0.1 mol/L NaOH 冲洗 10 min、蒸馏水冲洗 3 min、缓冲溶液冲洗 10 min。两次运行之间毛细管依次用蒸馏水冲洗 1 min、0.1 mol/L NaOH 冲洗 2 min、蒸馏水冲洗 1 min、缓冲溶液冲洗 2 min。为了保证重现性, 缓冲溶液每运行 3 次后要更新。

2.2 对照品溶液的制备:精密称定大黄素、芦荟大黄素对照品适量,分别以氯仿-乙醇(1:1)配制含大黄素 200 μg/mL,芦荟大黄素 200 μg/mL 的对照品储备溶液,在冰箱中保存。在使用前,按要求稀释为不同质量浓度的工作溶液。用 0.2 mol/L HCl 或 0.2 mol/L NaOH 调节 pH 值。

2.3 供试品溶液的制备:将一定量的决明子药材及冲剂研磨成粉末,然后分别准确称取决明子药材、宁夏决明子茶、兰州决明子茶、速溶决明子茶各 5.000 g,分别以氯仿-乙醇(1:1)做溶剂超声提取 20 min,然后滤过挥干,重复 3 次。提取物以氯仿-乙醇(1:1)溶解并加至 10 mL。进样前用 0.45 μm 滤膜滤过。

2.4 线性关系考察:取对照品储备溶液稀释成系列质量浓度的对照品溶液,进样。以大黄素、芦荟大黄素的质量浓度(μg/mL)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。结果大黄素在 4~120 μg/mL、芦荟大黄素在 10~200 μg/mL 与峰面积线性关系良好。回归方程分别为:大黄素: $Y = -1639 + 278.93 X$, $r = 0.9921$;芦荟大黄素: $Y = -762.75 + 63.37 X$, $r = 0.9970$ 。在 3 倍信噪比下,两种成分的检测限分别为 0.3、1.2 μg/mL。

2.5 精密度试验:精密吸取对照品溶液(含大黄素 160 μg/mL,芦荟大黄素 160 μg/mL)于配制当日连续进样 6 次,日内迁移时间和峰面积的 RSD 见表 1。精密吸取同一对照品溶液(含大黄素 160 μg/mL,芦荟大黄素 160 μg/mL)在配制 6 日内每日进样,日间

迁移时间和峰面积的 RSD 见表 1。

表 1 精密度试验结果

成分	迁移时间 RSD/ %		峰面积 RSD/ %	
	日内	日间	日内	日间
大黄素	0.59	0.91	1.30	2.70
芦荟大黄素	0.80	1.37	2.96	4.15

2.6 回收率试验:精密称取已知含量的宁夏决明子茶样品粉末各 6 份,每份 1.0 g,精密吸取对照品溶液(含大黄素 160 μg/mL、芦荟大黄素 160 μg/mL)适量,加入样品粉末中,按照前述样品处理方法进行处理,进样测定,结果平均回收率和 RSD 分别为:98.6%、2.65%(大黄素);102.9%、3.08%(芦荟大黄素)。

2.7 样品测定:采用建立的方法对决明子药材、宁夏决明子茶、兰州决明子茶、速溶决明子茶中两种活性蒽醌成分进行分析,结果见表 2,电泳谱图见图 1。

表 2 决明子药材及决明子茶中大黄素、芦荟大黄素的含量测定结果 (n=6)

Table 2 Analysis of emodin and aloë-emodin in Semen Cassiae and Juemingzi Tea (n=6)

样品	大黄素		芦荟大黄素	
	质量分数 /(mg·g ⁻¹)	RSD/ %	质量分数 /(mg·g ⁻¹)	RSD/ %
决明子药材	0.08	2.7	0.48	5.4
宁夏决明子茶	0.15	4.4	1.31	2.0
兰州决明子茶	0.14	1.0	0.92	4.2
速溶决明子茶	0.06	0.7	2.79	2.9

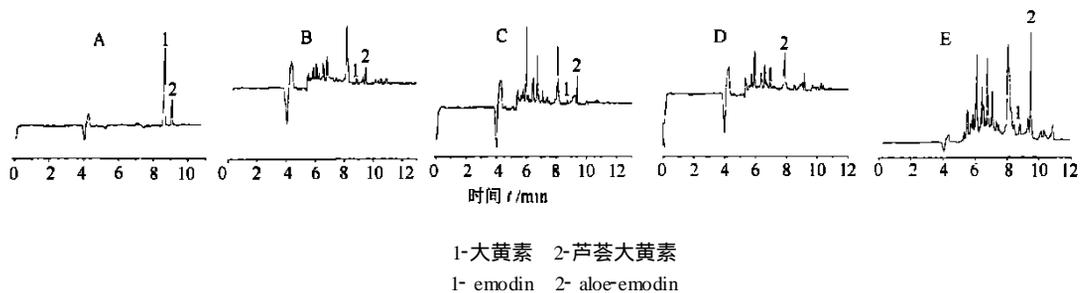


图 1 对照品溶液(A)、决明子药材(B)和宁夏决明子茶(C)、兰州决明子茶(D)、速溶决明子茶(E)的高效毛细管电泳图

Fig. 1 Electropherograms of reference substance (A), Semen Cassiae crude drug (B), Ningxia Juemingzi Tea (C), Lanzhou Juemingzi Tea (D), and Quick-dissolving Juemingzi Tea (E)

3 讨论

3.1 硼砂缓冲液酸度的选择:对于可离解的溶质分子,缓冲液的酸度影响它们的离解度,因而酸度可明显改变其电泳迁移行为。由实验可知,在 pH 9.10~10.60 大黄素、芦荟大黄素均可获得很好的分离。然而实际中药样品中的成分非常复杂,在 pH 9.10 时,

大黄素、芦荟大黄素因有其他未知成分的干扰而分离不佳。在 pH 9.60 时分离效果最好,两种有效成分各自的峰形对称且窄而高,同时亦无其他未知成分的干扰。综合考虑对分离和迁移时间的影响,本实验最终选择 pH 9.60 作为硼砂缓冲液的最佳酸度。

3.2 硼砂浓度的影响:为了优化分离条件,本实验

在 5.0 ~ 25.0 mmol/L 考察了硼砂浓度对迁移时间的影响。实验表明大黄素、芦荟大黄素在硼砂浓度为 5.0 mmol/L 时不能很好分离,而当硼砂浓度为 10.0 mmol/L 时,芦荟大黄素的峰形不对称。结合对迁移时间的影响,最终选择 15.0 mmol/L 作为最佳硼砂浓度。

3.3 SDS 浓度的影响:在缓冲溶液组成为 15.0 mmol/L 硼砂-10%乙醇(pH 9.60)时,在 20.0 ~ 50.0 mmol/L 考察了 SDS 浓度对分离的影响。两种有效成分的迁移时间都随着 SDS 浓度的增大而增大,迁移顺序依次为大黄素、芦荟大黄素。当 SDS 浓度为 20.0 mmol/L 时,大黄素、芦荟大黄素彼此间不能分离,而当 SDS 浓度超过 30.0 mmol/L 时,迁移时间增大。综合考虑上述影响因素,最终选择 SDS 浓度为 30.0 mmol/L。

3.4 乙醇量的影响:在缓冲液中添加有机物可改善 HPCE 的分离效率。实验表明,在乙醇体积分数为 0 ~ 5% 时分离情况不佳,出于对分离和迁移时间的综合考虑,选择 10%乙醇。

3.5 分离电压的影响:在毛细管电泳时,提高分离电压可以缩短体系分离时间,但是在高电压下会由于焦耳热的影响,使溶质产生扩散现象,从而降低毛细管电泳分离效率。本实验在 15.0 ~ 25.0 kV 考察了电压对分离的影响。综合考虑各影响因素,选择最佳分离电压为 20.0 kV。

References :

- [1] Hua H Q. Study and clinical application of Jueingzi (*Semen Cassiae*) [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1995, 20(9): 564-567.
- [2] Li Y, Li Y. Capillary electrophoresis analysis on components in Chinese materia medica [J]. *Mod Instru* (现代仪器), 2000 (5): 1-5.

银杏叶提取物的毛细管电泳指纹图谱研究

马欣,孙毓庆*

(沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 建立银杏叶提取物的毛细管电泳指纹图谱。方法 EGb 761 为对照,芦丁为内参比物,采用毛细管电泳法分析银杏黄酮苷。结果 利用指纹图谱相似度计算软件,计算出各厂家样品与 EGb761 的相似度指数,建立银杏叶提取物的指纹图谱。结论 该研究有助于银杏叶提取物的质量控制。

关键词:银杏叶提取物;指纹图谱;毛细管电泳

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2004)08-0876-03

Fingerprint for extract of *Ginkgo biloba* leaves

MA Xin, SUN Yu-qing

(College of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Key words: extract of *Ginkgo biloba* leaves (EGb); fingerprint; capillary electrophoresis

银杏叶制剂临床广泛应用于治疗心脑血管疾病,目前认为其有效部位为黄酮类和萜内酯类化合物。现行分析方法多以 HPLC 法测定黄酮苷元(槲皮素、山柰酚和异鼠李素)计算总黄酮含量为主。在银杏叶大部分成分尚不清楚的情况下,间接测定总成分含量还不能真正反映提取物质量的稳定。Hasler 等^[1]和游松等^[2]分别采用 HPLC 法建立了银杏黄酮和银杏叶注射液的指纹图谱。由于银杏黄酮极性相差很大,均采用了复杂的梯度洗脱。毛细管

电泳(capillary electrophoresis)是一种高效分离技术,具有高效、快速、进样体积小、溶剂消耗少和抗污染能力强等特点,在中药有效成分分析、指纹图谱研究方面显示出显著的优势。EGb761 现为公认的银杏叶提取物标准^[3]。因此本实验以 EGb761 为对照建立了银杏叶提取物的毛细管电泳指纹图谱。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂:美国 Agilent 3D 毛细管电泳仪, DAD 检测器,Agilent 化学工作站。未涂层石英毛细

* 收稿日期:2003-10-03

作者简介:马欣(1977—),女,广东汕头人,2000年毕业于中国药科大学英语药学专业,现为沈阳药科大学在读硕士研究生,主要从事中药分析研究。Tel: (024) 23842602 E-mail: maxine-ma@sohu.com