

· 药物分析 ·

高效毛细管电泳法分离模拟混合的何首乌中 7 种蒽醌类成分的研究

张国庆 陈万生¹ 纪松岗¹ 李翔¹ 李捷玮 刘荔荔¹ 柴逸峰¹(第二军医大学东方肝胆外科医院 上海 200433; ¹ 第二军医大学药学院 上海 200433)

摘要 目的: 研究模拟混合何首乌中 7 种蒽醌类成分的分离。方法: 添加有机溶剂的胶囊电动毛细管色谱法。结果: 大黄素苷、大黄素、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素甲醚苷、大黄酚和大黄素甲醚在 25mmol/L 硼砂含 25mmol/L SDS 和 10% 乙腈 (pH9.2) 的缓冲溶液中 16min 内得到完全分离。结论: 添加有机溶剂的胶囊电动毛细管色谱法对蒽醌类成分的分离具有明显的优越性。

关键词 胶囊电动毛细管色谱法; 何首乌; 分离

Separation of mimic- mixed 7 kinds of anthraquinone derivatives in *Polygonum multiflorum* Thunb by high performance capillary electrophoresis

Zhang Guoqing, Chen Wansheng, Ji Songgang, Li Xiang, Li Jiewei, Liu Lili, Chai Yifeng (School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the separation of mimic- mixed 7 kinds of anthraquinone derivatives. **METHODS:** Micellar electrokinetic capillary chromatography with additive of organic solvent was used. **RESULTS:** Emodin, chrysophanol, physcion, rhein, emodin- 8- o- β - D- glucopyranoside, aloe- emodin, and Physcion- 8- o- β - glucopyranoside were separated successfully in 16 min in the buffer of 25 mmol/L H₃BO₃ (pH9.2) containing 25mmol/L SDS and 10% acetonitrile. **CONCLUSION:** Micellar electrokinetic capillary chromatography with additive of organic solvent has potential advantages on separation of anthraquinone derivatives.

KEY WORDS micellar electrokinetic capillary chromatography, *Polygonum multiflorum* Thunb, separation

何首乌为蓼科植物何首乌 (*Polygonum multiflorum* Thunb.) 的块根, 为临床常用中药, 生首乌具有滋补强壮、解毒消痈、润肠通便等功效, 制首乌具有补肝肾、益精血、乌须发、强筋骨等功效。早期报道^[1]根和茎所含蒽醌类、二苯乙烯苷类和磷脂类化合物是其药理作用的物质基础。蒽醌类成分是何首乌中公认的主要活性成分, 现代药理学研究表明其具有抗菌消炎、利尿和抗肿瘤等作用。蒽醌类成分的分析是目前首乌常用的质量控制指标, 分析方法有比色法、薄层层析法和高效液相色谱法。比色法测定总蒽醌类成分, 专一性不强; 薄层层析法和高效液相

色谱法由于分离效率较低, 分离模式单一, 一般只分离大黄酸、大黄素、芦荟大黄素和大黄酚等苷元。

高效毛细管电泳是近十几年迅速发展起来的一种新型分离技术, 具有分离效率高、快速、微量和成本低、环保好, 且分离模式多、能同时分离多种不同类型的化合物等优势^[2]。本研究采用此方法对何首乌中 7 种蒽醌类化合物进行同时分离研究。

1 材料与仪器

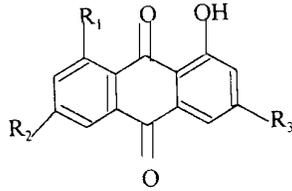
1.1 试剂与样品

甲醇、乙腈、十二烷基硫酸钠 (SDS)、硼酸

和磷酸二氢钠等均为分析纯试剂, 所用水均为重蒸馏水。

大黄酸、大黄素、芦荟大黄素和大黄素甲醚

对照品购自中国药品生物制品检定所, 大黄素苷、大黄素甲醚苷和大黄酚为我校生药教研室分离纯化并经光谱鉴定。结构见图 1。



大黄素(emodin):

R₁= OH, R₂= OH, R₃= CH₃

大黄酚(chrysophanol):

R₁= OH, R₂= H, R₃= CH₃

大黄素甲醚(phycion):

R₁= OH, R₂= CH₃O, R₃= CH₃

大黄酸(rhein):

R₁= OH, R₂= H, R₃= COOH

大黄素苷(emodin- 8- o- β- D- glucopyranoside):

R₁= Oglu, R₂= OH, R₃= CH₃

芦荟大黄素(alo- emodin):

R₁= OH, R₂= H, R₃= CH₂OH

大黄素甲醚苷(phycion- 8- O- β-glucopyranoside):

R₁= Oglu, R₂= CH₃O, R₃= CH₃

图 1 何首乌中已知 7 种蒽醌类成分的结构式

1.2 仪器设备

Waters Capillary Ion analyzer(美国 Waters 公司); Millenium 2010 系列数据处理软件; UV; 毛细管(河北永年光导纤维厂)。

2 实验方法和结果

2.1 溶剂系统 对照品用甲醇或乙醚溶解; 7 种成分的模拟混合样品适量, 用两者的混合液溶解。

2.2 操作条件 熔融空心石英毛细管柱: 60cm (effective length) × 75μm I. D. (365μm O. D); 恒压: 20kV; 恒温: 25℃; 虹吸进样时间: 10s; 检测波长: 254nm; 运行缓冲液: 25mmol/L 硼砂含 25mmol/L SDS 和 10% 乙腈(pH9.2)。

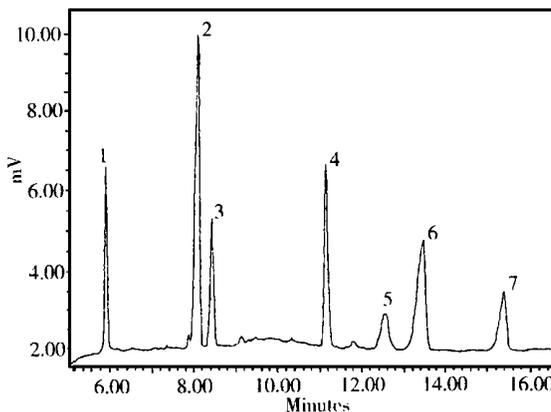
2.3 结果

2.3.1 迁移时间的重现性 重复进样 3 次, 每次进样前用缓冲液冲洗 5min, RSD 均小于 3%。

2.3.2 分离结果 16min 内 7 种成分均能达到完全分离。见图 2。

3 讨论

3.1 条件的选择和优化 本文考察了缓冲溶液的种类(硼砂和磷酸二氢钠)、浓度(10~5.0mmol/L)、SDS(10~50mmol/L)、pH 值(7~11)和有机溶剂的种类(甲醇和乙腈)及浓度(5~20% v/v), 结果只有在 2.2 条件下, 能完全分离 7 种成分, 且峰型好。



1. 大黄素苷 2. 大黄素 3. 芦荟大黄素 4. 大黄酸 5. 大黄素甲醚苷 6. 大黄酚 7. 大黄素甲醚

图 2 模拟混合的何首乌中 7 种蒽醌类成分的电泳图

3.2 含量测定 在分离完成后,我们初试了原生药的分离测定,由于何首乌中大黄素和大黄酸含量高而其他成分含量低,进样量有限,无法同时测定7种成分,这也是目前在中药多成分同时分析中遇到的难点之一,我们拟进一步研究,解决含量差别大的中药成分的含量测定。

3.3 结果表明 毛细管电泳法作中药分析具有独特的优势,它分离效率高,选择性强,分离

模式多,可同时分析不同性质的化合物,且方法简便、快速、低耗,具有非常诱人的前景。

参考文献

- 1 林启寿. 中草药化学成分. 北京: 北京科技出版社, 1997. 200
- 2 纪松岗, 柴逸峰, 吴玉田等. 超临界流体萃取- 胶束电动毛细管色谱法分离测定大黄中蒽醌类组分的含量. 分析化学, 1998, 26(11): 1388

(收稿: 1999- 07- 21)

HPLC法测定通脉活血口服液中药液中葛根素含量

刘丽敏 李兰忠 张敬贤 (山东省济宁市药品检验所 济宁 272145)

摘要 目的: 测定通脉活血口服液中药液中葛根素含量。方法: HPLC法, 色谱条件: CLC- ODS柱(150mm × 6mm, 5 μ m), 流动相: 5% 醋酸溶液- 甲醇(80: 20), 检测波长: 276nm。结果: 进样量在0.24~1.22 μ g范围内线性关系良好, $r = 0.9998$ 。平均回收率100.14%, $RSD = 1.1\%$ ($n = 6$)。结论: 方法简便、准确、灵敏度高, 可作为本品含量测定方法。

关键词 HPLC; 通脉活血口服液; 葛根素

1 仪器与试剂

1.1 仪器

日本岛津LC- 5A 高效液相色谱仪, 附SPD- 2AM 紫外检测器, CR- 3A 数据处理机, CTO- 2A 柱炉。

1.2 试剂 葛根素对照品由中国生物制品检定所提供, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: 日本岛津 ODS 柱(150mm × 6mm); 流动相: 5% 醋酸溶液- 甲醇(80: 20); 检测: 波长276nm; 柱温: 35 $^{\circ}$ C。

2.2 对照品溶液配制及标准曲线测试

2.2.1 对照品溶液配制 取葛根素对照品适量, 精密称定, 用甲醇溶解并稀释成每1ml含葛根素61.2 μ g的溶液作为对照品溶液。

2.2.2 标准曲线制备 精密吸取2.2.1方法配制的葛根素对照品溶液4、8、12、16、20 μ l分别注入液相色谱仪测定峰面积, 以峰面积为纵坐标(Y), 进样量为横坐标(X)绘制标准曲线, 得

回归方程为 $Y = 18383.1X - 188.6$, $r = 0.9998$, 表明葛根素在进样量0.24~1.22 μ g之间线性关系良好。

2.3 样品供试液的制备

精密量取样品溶液5ml, 置50ml容量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 精密量取5ml, 置分液漏斗中, 加水10ml, 用水饱和的正丁醇50ml(15、15、10、10ml)分次萃取, 合并正丁醇液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解至25ml, 作为样品供试品溶液。

2.4 精密度试验

精密吸取同一供试品溶液10 μ l, 重复进样, 测得峰面积积分值的 $RSD = 1.30\%$ ($n = 6$)。

2.5 重复性试验

取同一批样品6份, 照样品液的制备方法分别提取测定, 测得峰面积积分值的 $RSD = 1.67\%$ ($n = 6$)。

2.6 回收率试验

精密量取已知含量的供试品溶液5ml, 置50ml容量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 分别精密吸