

丁公藤中东茛菪内酯含量的高效毛细管电泳电导法检测*

黄宝美¹, 姚程炜², 王志国¹, 莫金垣³

(1. 绵阳师范学院化学系, 四川 绵阳 621000;

2. 中国空气动力研究与发展中心设备设计及测试技术研究所, 四川 绵阳 622653;

3. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘要:建立了测定丁公藤中东茛菪内酯含量的高效毛细管电泳-电导法, 乙酸-乙酸铵(乙酸铵浓度为20 mmol/L)为电泳介质, 在20 kV高压, pH 3.5条件下柱端电导检测了丁公藤中东茛菪内酯含量。文章着重探讨了缓冲溶液种类、浓度、酸碱度及其操作电压, 进样时间, 有机添加剂等条件对检测的影响。方法的线性范围为: 5.0~200.0 mg/L, 相关系数 $r = 0.9998$, 检出限为1.0 mg/L。结果表明该法简便、快速、准确, 回收率较高, 适用于丁公藤中东茛菪内酯含量的测定。

关键词:毛细管电泳; 东茛菪内酯; 电导检测

中图分类号: O657.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2008) 05-0071-03

丁公藤作为一种中草药它主要用于风湿性关节炎、类风湿性关节炎、坐骨神经痛、半身不遂、跌打肿痛。东茛菪内酯(scopoletin)作为丁公藤的主要有效成分之一, 具有一定的镇痛作用及明显的抗炎作用, 故测定其含量具有实际意义。关于丁公藤成分测定方法主要有高效液相色谱法^[1-7]和薄层扫描法^[8]。高效液相色谱法在测定复杂的实际样品时, 存在色谱柱易被污染而报废, 对样品的前处理要求严格, 分析时间长, 进样量大等缺点。高效毛细管电泳法对于样品的前处理要求没有那么严格, 并有进样量少、环保、经济等优点, 特别适合成分复杂的实际样品的检测分析。而电化学检测器可以自己组装, 经济实用, 也可以避免毛细管光程短, 灵敏度低的缺点。目前尚未见用高效毛细管电泳对东茛菪内酯含量进行测定的报道, 本文首次采用高效毛细管电泳法对东茛菪内酯的含量进行了测定, 结果令人满意。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

毛细管电泳仪, 高压电源(北京彩陆科技有限公司), 毛细管电泳数据站(北京彩陆科技有限公司), pH S-3C精密酸度计(上海电光器件厂), 石英毛细管柱50 cm×50 μm(i. d.) (河北永年光导纤维厂), 东茛菪内酯对照品

(07682200103, 中国药品生物检定所提供), 磷酸二氢钾, 磷酸, 乙酸钠, 冰醋酸, 乙酸铵, 盐酸羟胺, 以上试剂均为分析纯; 所用水为二次蒸馏水。

1.2 标准溶液, 样品溶液和缓冲溶液的制备

精密称取东茛菪内酯对照品, 加甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液, 作为对照品储备液。

称取丁公藤生药粉末1.000 0 g, 置索氏提取器中, 加甲醇30 mL提取5 h, 用甲醇定容于10 mL容量瓶中, 试验前用0.45 μm微孔滤膜过滤。

分别制备100 mmol/L的乙酸钠、乙酸、磷酸、磷酸二氢钾和乙酸铵的储备液, 各取适量配成不同浓度比的体系。

1.3 实验方法

每次实验前依次用0.1 mol/L NaOH溶液、双蒸水、缓冲溶液冲洗毛细管5 min, 可以将吸附在毛细管内壁上的物质有效地除去, 既能保持一定的电渗流, 又能保证实验的重现性。重力虹吸进样, 进样高度20 cm, 时间10 s, 分离毛细管有效长度50 cm(50 μm), 分离电压20 kV。

2 结果与讨论

2.1 缓冲溶液(酸性)的选择

缓冲溶液直接影响离子的迁移和最后的分离。考察了几种缓冲体系, 发现在碱性缓冲溶液中, 东茛菪内酯的响应很差, 这可能与东茛菪苷的水解有

* 收稿日期: 2008-03-18

基金项目: 四川省教育厅资助项目(07zb041)

作者简介: 黄宝美(1979年生), 女, 讲师; E-mail: hbm@790117@yahoo.com.cn

关。考察了几种酸性缓冲溶液：乙酸-乙酸钠、磷酸二氢钾-磷酸和乙酸-乙酸铵体系。结果表明，乙酸-乙酸钠体系对东莨菪内酯的测定干扰影响较大且基线漂移较大；磷酸二氢钾-磷酸体系离子强度大，电导高，基电压较高，噪音较大，限制了对缓冲溶液浓度的使用；在乙酸-乙酸铵体系中峰形较好，酸度容易调节，本文选用乙酸-乙酸铵作为缓冲溶液体系。

在高效毛细管电泳中，缓冲溶液的浓度过大会产生焦耳热，导致峰形变差，为了获得良好的分离度和检测灵敏度，配制了乙酸铵浓度为 (5 ~ 50 mmol/L) 几种不同浓度的缓冲溶液，实验发现浓度较大时，基电压较大，背景电流较大，噪音增大，信号较差，通过实验结果比较，乙酸铵浓度为 20 mmol/L 时，峰形较好，因此本文选用 20 mmol/L 的乙酸铵。

分别取 10 mL 乙酸铵储备液用 0.1 mol/L 的 HAc 调制成 pH 值为 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 的缓冲溶液，按实验方法进行样分析，实验发现选择 pH 值为 3.5 时，峰形较好，噪音小，因此本实验选择缓冲溶液的 pH 值为 3.5。

2.2 有机添加剂的影响

在缓冲溶液中添加有机溶剂可以增加样品的溶解性，也可以起到控制电渗流的大小和方向，达到增强分离选择性，缩短分析时间，提高分离度的目的。实验发现在缓冲液中加入乙醇可以降低缓冲溶液的背景电导，基线变得平稳，迁移时间变小，同时可以使峰形变得尖锐，但是乙醇的含量大于 5%，会引起基线漂移，因此选择 5% 的乙醇作为有机添加剂。

2.3 进样时间及外加高压的影响

采用虹吸进样，在一定的进样高度下，进样时间决定进样量的多少，实验选择进样高度为 20 cm，考察了进样时间对分离检测的影响。发现进样时间太短，达不到检测器的灵敏度，若进样时间超过 10 s，峰拖尾现象较严重，这是因为进样时间过长，进样量增大，引起样品扩散，导致峰形扩宽，故选择进样时间为 10 s。

分离体系的最佳外加电压值，与缓冲溶液的浓度（离子强度）及毛细管内径和长度有关，通常细内径的毛细管可以施加较高的分离电压。提高分离电压可以加快分析速度，改善分离度，同时也会使背景电离值增大。实验中考察了分离电压从 10 ~ 30 kV 对分离的影响（图 1），选择最佳分离高压 20 kV。

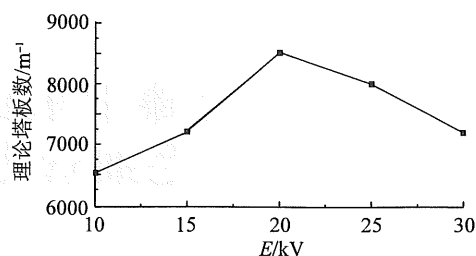


图 1 高压对理论塔板数的影响

Fig. 1 The effect of separation voltage on theoretical plate

2.4 线性范围和精密度实验

在最佳的实验条件下，将东莨菪内酯标准品进样 6 次，迁移时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.52% 和 1.16%。在 5.0 ~ 200.0 mg/L 范围内峰高 (Y) 与质量浓度 (C) 之间呈现良好的线性关系，其线性回归方程为： $Y = 20.3 + 42.6C$ ，相关线性系数 $r = 0.9998$ ，检出限为 1.0 mg/L。

2.5 样品测定和加标回收实验

按照 1.3 处理样品，并对其质量含量进行毛细管电泳测定，丁公藤中东莨菪内酯的质量含量为 1.217 mg/g，最佳条件下毛细管电泳图如图 2 所示。精确称取上述含量的样品 3 份各 0.5 g 左右，分别精密加入一定量的对照品，分别按 1.3 进行处理按照测定方法进行样测定，并计算回收率（表 1）。

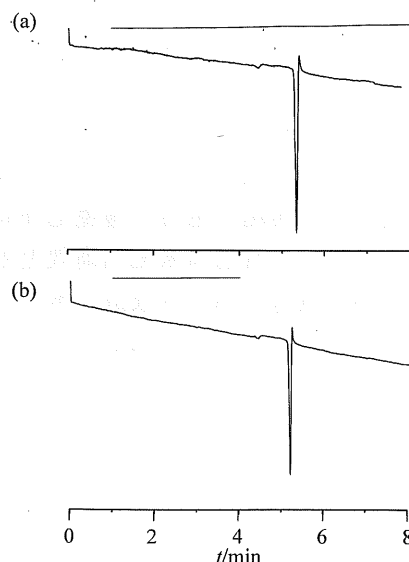


图 2 东莨菪内酯对照品 (a) 和样品 (b) 的毛细管电泳图

Fig. 2 Electropherogram of scopolletin standard (a) and sample (b)

缓冲溶液：20 mmol/L NH_4Ac + $\varphi = 5\%$ 乙醇；
分离电压：20 kV；进样高度：20 cm；
进样时间：10 s；浓度：9 mg/L

表1 样品的回收率

Tab. 1 Percent recovery of sample

本底值/ (mg · g ⁻¹)	添加量 /mg	测量值/ (mg · g ⁻¹)	回收率 /%
0.6125	0.1563	0.7681	99.6
0.6028	0.5214	1.1216	99.5
0.5823	0.7234	1.2987	99.0

3 结 论

本实验采用毛细管电泳电化学方法测定了丁公藤中东莨菪内酯的含量,在优化的条件下6 min内得到很好的分离,样品加标回收率较高,说明该法快速,准确,可望成为药品的含量控制方法。

参考文献:

- [1] 宋蔚,刘锁兰,李秀青,等. HPLC 测定4种丁公藤类生药中东莨菪素及东莨菪苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(2): 185-186.
LIU Suolan, LI Xiuqing, YNAG Jun, et al. Determination of scopoletin and scopolind in four Kinds of Caulis Erycibes by HPLC[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2004, 29(2): 185-186.
- [2] 杨裕忠,罗干明. HPLC 法测定丁公藤中东莨菪内酯的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(4): 272-274.
YANG Yuzhong, LUO Ganming. Determination of scopoletin in Caulis Erycibes by HPLC[J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology, 2004, 15(4): 272-274.
- [3] 章红,万林春,许妍. HPLC 法测定冯了性药酒中东莨菪内酯的含量[J]. 药物分析杂志, 2004, 24(3): 335-336.
ZHANG Hong, WANG Linchun, XU Yan. Quantitative de-

- tection of scopoletin in Fengliao xing feng shi die da wine by HPLC[J]. Chinese J Pharmaceutical Analysis, 2004, 24(3): 335-336.
- [4] 张紫佳,张勉,朱恩圆,等. 丁公藤类药材及其混用品中总东莨菪内酯的含量测定[J]. 中国药理学杂志, 2004, 39(12): 936-938.
ZHANG Zijia, ZHANG mian, ZHU Enyuan, et al. Determination of total scopoletin in Caulis Erycibes and its adulterants[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2004, 39(12): 936-938.
- [5] 干国平,丁伟杰,程璐. 反相高效液相色谱法测定药酒中东莨菪内酯的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(5): 284-286.
GAN Guoping, DING Weijie, CHENG Lu. The determination of seopoletin in Fengshi medical wine by RP-HPLC[J]. Chinese J Hospital Pharmacy, 2003, 23(5): 284-286.
- [6] 陈玉敏,曹红,周苏萍. 高效液相色谱法测定丁公藤中东莨菪内酯的含量[J]. 中成药, 2005, 27(12): 1461, 1462.
CHEN Yumin, CAO Hong, ZHOU Suping. HPLC determination of seopoletin[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2005, 27(12): 1461, 1462.
- [7] 曹红,秦红霖,钟晓峰,等. 高效液相色谱法测定藤络宁胶囊中东莨菪内酯的含量[J]. 中国药理学杂志, 2001, 36(6): 411-414.
CAO Hong, QIN Honglin, ZHONG Xiaofeng, et al. HPLC determination of scopoletin in Tengluoning capsules[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2001, 36(6): 411-414.
- [8] 尹研,魏献春. 薄层扫描法测定冯了性风湿跌打药酒中东莨菪内酯的含量[J]. 广东药学院学报, 2006, 22(5): 503-505.
YIN Yan, WEI Xianchun. Quantitative detection of scopoletin in Fengliao xing feng shi die da wine by thin-layer chromatography[J]. J Guangdong College of Pharmacy, 2006, 22(5): 503-505.

Determination of Scopoletin in Caulis Erycibes by Capillary Electrophoresis with Conductive Detection

HUANG Bao-mei¹, YAO Cheng-wei², WANG Zhi-guo¹, MO Jin-yuan³

(1. Chemical Department of Mianyang Normal University, Mianyang 621000, China;

2. Facility Design and Instrumentation Institute of CARD, Mianyang 6226533, China;

3. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: A method for determination of scopoletin in Caulis Erycibes was established by high performance capillary electrophoresis using conductivity detection system. Several parameters affecting the determination were studied, including effect of organic concentration and running buffer, acidity, sampling time and working voltage. Under the following condions: HAc-NH₄Ac (NH₄Ac 20 mmol/L, pH = 3.5), 20 kV operaion voltage, a linearity exists between peak height and mass concentration in the range of 5.0 ~ 200.0 mg/L, correlation coefficient value is 0.999 8, etermination limit is 1.0 mg/L. The results indicate that this method is simple, quick, accurate and has high recovery. This method is applied to determinate the content of scopoletin in Caulis Erycibes.

Key words: capillary electrophoresis; scopoletin; conductive detection