

· 化学与分析 ·

高效毛细管电泳法测定蒲公英中阿魏酸的含量

李喜凤^{*}, 邱天宝, 胡亚楠, 郝哲, 余云辉
(河南中医学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的: 建立蒲公英中主要有效成分阿魏酸的高效毛细管电泳(HPCE)含量测定方法。方法: 采用高效毛细管电泳法, 电泳条件: 未涂层的弹性石英毛细管柱(75 μm \times 57/50 cm), 电解质为 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼砂溶液(pH 9.18), 分离电压 18 kV, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, 压力进样 5 s, 检测波长 328 nm。结果: 阿魏酸在 0.002 ~ 0.012 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好线性关系, $r=0.9998$, 平均回收率为 98.22%, RSD 1.78%。结论: 本法专属性强, 简便快速, 结果准确可靠, 重复性好, 适用于检测蒲公英中阿魏酸的含量。

[关键词] 蒲公英; 阿魏酸; 高效毛细管电泳; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0027-03

Determination of Ferulic Acid in Dandelion by HPCE

LI Xi-feng^{*}, QIU Tian-bao, HU Ya-nan, HAO Zhe, YU Yun-hui
(Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determining the contents of ferulic acid(FA) in dandelion by high-performance capillary electrophoresis (HPCE). **Method:** Dandelion was determined at 328nm using high-performance capillary electrophoresis (HPCE), under the optimized conditions achieved with a elastic fused-silica capillary tube(75 μm \times 57/50 cm) and 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ borate running buffer solution (pH 9.18) at a constant voltage of 18 kV and injecting pressure time of 5 s at 25 $^{\circ}\text{C}$. **Result:** FA was linear within the range of 0.002 to 0.012 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r=0.9998$). The average recovery 98.22%, RSD 1.78%. **Conclusion:** This method is simple, rapid, accurate and good repeatability in separation and determination of FA in Dandelion.

[Key words] dandelion; ferulic acid; HPCE; determination

蒲公英为菊科植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz.、碱地蒲公英 *T. sinicum* Kitag. 或同属数种植物的干燥全草^[1]; 具有清热解毒、消肿散结、利尿通淋的功效。其主要化学成分为: 有机酸类(咖啡酸、阿魏酸、绿原酸等), 皂苷类, 黄酮类及多糖等。阿魏酸作为蒲公英的主要有效成分之一, 其药理作用与蒲公英全草功能主治相关, 具有抗菌消炎、抗病毒、抗氧化等药理作用^[2]。毛细管电泳是近年来发展迅速的一项分析技术, 具有灵敏度高, 分析

速度快, 样品用量少, 运行费用低等优点, 在中药及其制剂分析中有着高效液相色谱无法比拟的优点。目前, 尚未见报道用毛细管电泳法测定蒲公英中阿魏酸的含量, 本文用毛细管电泳法对河南地区蒲公英中的阿魏酸进行了含量测定, 为蒲公英药材提供了一种科学、快捷的全面质量控制方法。

1 仪器与试剂

P/ACETM MDQ 毛细管电泳仪(美国 Beckman 公司), 二极管阵列检测器(DAD), Karat 32 系统软件, 未涂层石英毛细管柱 75 μm \times 50/57 cm(分离长度/总长, 河北永年锐沣色谱器件有限公司), PHS-2SB 型数字酸度计(上海大谱仪器有限公司), KQ-100E 型超声波仪(昆山市超声仪器有限公司), YUEPING FA2 004 b 型电子天平(上海越平科学仪器有限公

[收稿日期] 2009-11-20

[基金项目] 河南省科技厅重点科技攻关项目(062306100)

[通讯作者] ^{*} 李喜凤, Tel: 0371-65575823, E-mail: qtb2006@126.com

司)。阿魏酸对照品购自中国药品生物制品检定所提供(批号 0773-9809)。水为娃哈哈纯净水,所用试剂均为分析纯。蒲公英药材采集于河南省内不同地区,经河南中医学院药学院生药学科陈随清教授鉴定均为菊科植物蒲公英 *T. mongolicum* Hand-Mazz. 的干燥全草。

2 方法与结果

2.1 电泳条件 电压 18kV,压力进样 0.5 psi,进样时间 5 s,检测波长 328 nm,温度 25℃,硼砂浓度 20 mmol·L⁻¹,pH 9.18。实验前依次用 0.1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液、水、缓冲液依次冲洗 10,10,20 min,进样前分别用 0.1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液、水、缓冲液依次冲洗 3,2,3 min,4 h 后更换缓冲液。实验结束后用缓冲液 0.1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液、冲洗 10 min。所用溶液进样前均用 0.45 μm 的滤膜过滤,并经超声波脱气 3 min。

2.2 分离条件选择

2.2.1 检测波长选择 经 DAD 检测器所获 UV 光谱图得到阿魏酸最大吸收波长为 328 nm,因此选择 328 nm 作为检测波长。

2.2.2 缓冲体系选择 以磷酸盐、硼酸、硼砂等缓冲溶液体系对样品进行考察,结果表明用硼砂缓冲体系的分离效果和重复性较好。

2.2.3 分离电压选择 实验考察了电压为 16~22 kV 时的试验效果,电压较低时,基线稳定,但样品分析周期长;随着电压增加,样品分析时间缩短,峰形尖锐,在 18 kV 时分离度最好,并且分离时间较短柱效较高。因此选用 18 kV 作为分离电压。

2.3 对照品溶液制备 精密称取阿魏酸对照品 0.00125 g 至 25 mL 棕色量瓶中,加 70% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取 1 mL,置 25 mL 棕色量瓶中,加 70% 甲醇至刻度,摇匀,配制成浓度为 0.006 g·L⁻¹ 的阿魏酸对照品溶液,用 0.45 μm 滤纸过滤,超声脱气,置冰箱 4℃ 保存。对照品 HPCE 电泳图见图 1。

2.4 供试品溶液制备 取蒲公英粗粉 1 g,精密称定,加入 25 mL 1% NaOH 溶液浸泡过夜,避光,纱布滤过,将滤液用 1 mol·L⁻¹ HCL 调 pH 3~5,滤过,滤液用乙醚萃取 2 次,每次 20 mL;滤渣避光干燥,加乙醚振摇 2 次,每次 10 mL,合并乙醚提取液,避光挥干,用 70% 甲醇定容至 10 mL 棕色量瓶中,用 0.45 μm 滤膜过滤即得。供试品 HPCE 电泳图见图 2。

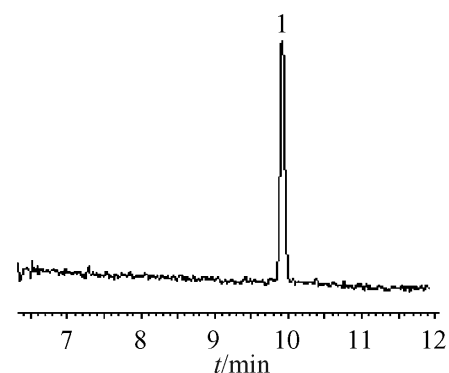


图 1 对照品 HPCE 图

1. 阿魏酸

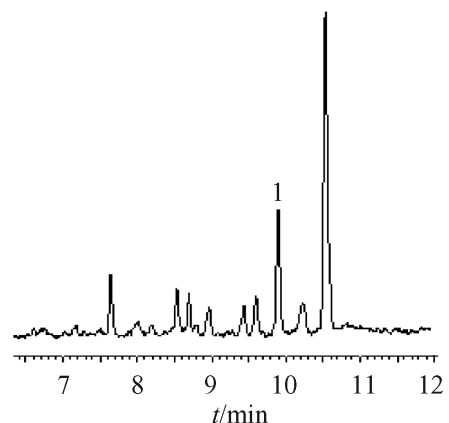


图 2 供试品 HPCE 图

1. 阿魏酸

2.5 线性关系 精密量取阿魏酸对照品溶液(0.05 g·L⁻¹) 1,2,3,4,5,6 mL 分别置 25 mL 量瓶中,各加 70% 甲醇至刻度,摇匀。按 2.1 项下条件进样,测定各组分的峰面积,以浓度 X (g·L⁻¹) 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标计算回归方程 $Y = 4.95 \times 10^5 X - 1.98 \times 10^4$, $r = 0.9998$,线性范围 0.002~0.012 g·L⁻¹。

2.6 精密度试验 精密吸取阿魏酸对照品溶液,在上述分离条件下连续进样 6 次,阿魏酸峰面积值的 RSD 1.80%,表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验 取同一批蒲公英样品 6 份,按 2.4 项下制备供试品溶液,测得阿魏酸平均含量的 RSD 1.76%,表明此方法重复性良好。

2.8 稳定性试验 取上述对照品溶液,每隔 2 h 进样,连续 10 h,结果阿魏酸的峰面积的 RSD 1.9%,表明阿魏酸在 10 h 内基本稳定。

2.9 回收率试验 精密称取已知阿魏酸含量的蒲公英样品 6 份,分别按 80%,100%,120% 3 个浓度精密加入阿魏酸对照品适量,按照 2.4 项下制备供试品溶液,在上述电泳条件下进行测定。阿魏酸的平均加样回收率为 98.22%,RSD 1.78%。见表 1。

表 1 阿魏酸加样回收率试验

样品取样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1.055 7	0.074 24	0.060 0	0.132 7	97.43	98.22	1.78
1.046 6	0.073 6	0.060 0	0.133 0	99.00		
1.020 3	0.071 75	0.072 0	0.140 9	96.04		
1.028 6	0.072 33	0.072 0	0.143 0	98.15		
1.021 8	0.071 85	0.085 5	0.155 2	97.49		
1.032 1	0.072 58	0.085 5	0.159 1	101.19		

2.10 样品测定 取不同产地的蒲公英药材,按 2.4 项下方法制备供试品溶液。在上述电泳条件下进行测定并记录色谱图。以外标法计算 8 批供试品的阿魏酸含量。结果见表 2。

表 2 不同产地蒲公英样品中阿魏酸含量测定

No	产地	平均含量 /mg·g ⁻¹	RSD/%
1	济源水洪池	0.058 15	2.39
2	焦作博爱	0.112 60	2.05
3	焦作武陟	0.093 70	2.24
4	焦作温县	0.092 37	0.90
5	周口	0.071 63	2.35
6	南阳内乡	0.066 27	1.91
7	驻马店正阳	0.071 17	0.35
8	开封尉氏	0.068 20	0.67

3 讨论

本实验通过对蒲公英药材甲醇回流、乙醇回流后滤液浓缩萃取,5% 甲酸甲醇超声提取,甲醇超声提取,碱液冷浸提取方法进行比较,结果发现采用碱液冷浸法提取量最高,此法克服了阿魏酸在提取过程中遇热、见光易分解的缺点。

电泳缓冲溶液的浓度对各个被分离组分的迁移时间、分离度、柱效等均有较大影响。实验发现随着硼砂浓度逐渐升高,硼砂与阿魏酸的配位使得阿魏酸带电荷量增加,表观淌度减小,所以迁移时间增加,分离度逐渐增大,柱效增高,但噪音也随之增大,电流值上升较快,基线漂移现象比较严重,灵敏度下降,检出限升高。如果硼砂浓度太低则缓冲容量不够,出峰时间延迟,拖尾严重,分离度减小,柱效降低,以 20 mmol·L⁻¹ 硼砂浓度为最佳。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 244.
- [2] 赵东平,杨文钰,陈兴福. 阿魏酸的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1839.

[责任编辑 顾雪竹]