

高效毛细管电泳法测定接骨化瘀丸中丹皮酚的含量

李会勤*

(漯河市召陵区人民医院, 河南 漯河 462000)

[摘要] 目的: 建立接骨化瘀丸中丹皮酚的高效毛细管电泳定量方法。方法: 运行缓冲液为 15 mmol·L⁻¹ 磷酸二氢钠-20 mmol·L⁻¹ 硼砂溶液 (pH 8.2), 分离电压 23 kV, 检测波长 274 nm。结果: 丹皮酚的线性范围 0.017 4 ~ 0.104 2 g·L⁻¹ ($r=0.999\ 8$), 丹皮酚的加样回收率为 99.42%, RSD 1.27%。结论: 方法简便, 快速, 重复性好, 适用于接骨化瘀丸的质量控制。

[关键词] 高效毛细管电泳; 接骨化瘀丸; 丹皮酚

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)11-0103-03

Determination of Paeonal In Jieguhuayu Pills by High Performance Capillary Electrophoresis

LI Hui-qin*

(Shaoling District People's Hospital of Luohe City, Luohe 462000, China)

[Abstract] **Objective:** A high performance capillary electrophoresis (HPCE) method for the determination of paeonal in Jiegu Huayu pills was established. **Method:** 15 mmol·L⁻¹ sodium dihydrogen phosphate-20 mmol·L⁻¹ sodium borate buffer (pH 8.2) was used as running buffer. The applied voltage was 23 kV and the detection was set at the wavelength of 274 nm. **Result:** The linear ranges of the calibration curves for paeonal was 0.017 4-0.104 2 g·L⁻¹ with a correlation coefficient of 0.999 8. The average recovery was 99.42% with RSD 1.27%. **Conclusion:** The method is simple, rapid and reproducible, and it can be used for the quality control of determination of Jiegu Huayu pills.

[Key words] HPCE; Jiegu Huayu pills; paeonal

接骨化瘀丸由三七、土鳖虫、牡丹皮、乳香(制)、山药、茯苓、熟地黄粉等 7 味制成的中药制剂, 具有化瘀止血、消肿止痛、接骨续筋、补肾健脾之功效, 临床用于新鲜骨折。为了控制接骨化瘀丸质量, 保证临床用药安全有效, 本文选择接骨化瘀丸中牡丹皮主要成分丹皮酚作为测定对象, 采用高效毛细管电泳法进行含量测定和方法学研究。为接骨化瘀丸的质量控制提供了一种快速、简便的检测方法。

1 仪器与试剂

Agilent 高效毛细管电泳仪, 石英毛细管 (50 $\mu\text{m} \times 83\ \text{cm}$, 实际长度 74 cm, Agilent 公司),

METTLER AE240 型分析天平 (梅特勒-托利多上海仪器有限公司), 雷磁 PHS-3C 型精密 pH 计 (上海精密科学仪器有限公司)。

丹皮酚对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110201, 质量分数均 $\geq 99\%$)。接骨化瘀丸, 河南省漯河市召陵区人民医院提供 (批号 110323, 110512, 110723)。甲醇为色谱纯, 水为双蒸水。磷酸二氢钠, 氢氧化钠均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 运行缓冲液为 15 mmol·L⁻¹ 磷酸二氢钠-20 mmol·L⁻¹ 硼砂溶液 (pH 8.2), 分离电压 23 kV, 电泳温度 25 $^{\circ}\text{C}$, 压力进样 30 M bar $\times 8\ \text{s}$, 检测波长为 274 nm。毛细管柱使用前 0.5 mol·L⁻¹ 的 NaOH 冲洗 3 min, 再用双蒸水冲洗 3 min, 最后缓冲溶液冲洗 5 min。两次进样之间按照上述程序重复

[收稿日期] 20111129(017)

[通讯作者] *李会勤, 主管中药师, 从事药物制剂研究, E-mail: 279306640@qq.com

冲洗。所有溶液均经 0.45 μm 滤膜过滤,脱气后使用。

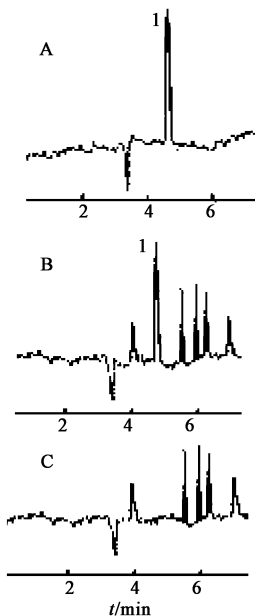
2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取丹皮酚 8.68 mg 置于 25 mL 量瓶中,加入甲醇 15 mL 溶解,缓冲液稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为 0.347 2 g·L⁻¹ 的对照品贮备液。精密吸取贮备液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,用缓冲液稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为 0.034 7 g·L⁻¹ 对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取本品适量,研细,取约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,超声辅助提取 30 min,冷却,称定质量,甲醇补全减少的质量,滤过,取续滤液,0.45 μm 滤膜过滤,作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 取处方中除牡丹皮的其他成分,按照接骨化瘀丸制备工艺制成阴性对照品,按照 2.2.2 项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 专属性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液,依次进样分析,记录色谱图,结果供试品溶液中丹皮酚色谱峰和对照品色谱图保留时间一致,其他组分对测定无干扰(图 1)。



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照; 1. 丹皮酚

图 1 接骨化瘀丸毛细管电泳色谱

2.4 线性关系 分别吸取 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 mL 的对照品储备液,加缓冲液稀释成浓度为 0.017 4, 0.034 7, 0.052 1, 0.069 4, 0.086 8, 0.104 2 g·L⁻¹ 的溶液,以 2.1 项下色谱条件进样测定。以丹皮酚浓度(X, g·L⁻¹)为横坐标,丹皮酚的峰面积(Y)为纵坐标,回归得方程 Y = 29.7X + 394 (r = 0.999 8),线

性范围 0.017 4 ~ 0.104 2 g·L⁻¹。

2.5 稳定性试验 取同一批供试品溶液,室温放置,分别在 0, 2, 4, 8, 10, 12 h 进样测定,记录丹皮酚峰面积积分值, RSD 0.83%, 表明样品在 12 h 内稳定。

2.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液,按照 2.1 色谱条件重复进样 6 次,记录丹皮酚峰面积, RSD 0.61%。表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验 取同一批供试品(批号 110323) 6 份,分别按照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,进样测定。结果丹皮酚的平均质量分数为 1.752 mg·g⁻¹, RSD 0.73%, 重复性良好。

2.8 加样回收试验 取已知含量的样品(批号 110323) 6 份,每份 0.5 g,精密称定,分别加入丹皮酚对照品储备液 2.5 mL (0.347 2 g·L⁻¹)。按照 2.2.2 进行样品处理,按照 2.1 色谱条件测定,计算加样回收率,结果平均回收率为 99.42%, RSD 1.27%。

表 1 丹皮酚加样回收率试验

取样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.500 2	0.876 4	0.868	1.735 4	98.96	99.42	1.27
0.500 4	0.876 7	0.868	1.742 5	99.75		
0.500 2	0.876 4	0.868	1.745 4	100.12		
0.500 3	0.876 5	0.868	1.741 1	99.61		
0.500 9	0.877 6	0.868	1.736 7	98.97		
0.500 8	0.877 4	0.868	1.737 8	99.13		

2.9 样品测定 按照 2.2.2 方法制备供试品溶液,按取不同批次(批号分别为 110323, 110512, 110723)的样品 3 份,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按照 2.1 色谱条件对 3 批样品进行测定,结果丹皮酚的含量分别为 1.752, 1.749, 1.758 mg·g⁻¹, 平均值 1.753 mg·g⁻¹, RSD 0.53%。

3 讨论

3.1 缓冲液的选取 试验中先后采用磷酸盐缓冲液、硼酸-硼砂、磷酸二氢钠-硼砂作为运行缓冲液,结果发现磷酸盐缓冲液和硼酸-硼砂混合液作为运行液,丹皮酚在电极上的响应较大,但不能完全分开。磷酸二氢钠-硼砂作为运行液,响应信号较大,在适当的浓度下,两种物质可以得到较好的分离。

3.2 缓冲溶液 pH 的影响 电泳液的 pH 对分离效果有着很大的影响^[1]。在实验过程中发现, pH 越大,丹皮酚迁移时间越短,但噪音大。综合考虑分离

GC-MS 分析草珊瑚根茎叶的挥发油成分

林培玲¹, 曾建伟², 罗永东¹, 丁春花¹, 梁一池^{1*}

(1. 福建中医药大学药学院, 福州 350108;

2. 福建中医药大学中西医结合研究院, 福州 350108)

[摘要] 目的:通过比较分析草珊瑚中根、茎、叶挥发油类化学成分的差异,来揭示草珊瑚不同部位药效差异,为评价草珊瑚质量提供实验依据。方法:采用经典的水蒸气蒸馏法分别提取草珊瑚根、茎、叶的挥发油类化学成分,应用 GC-MS 分离鉴定各挥发油成分,并应用峰面积归一法计算百分含量。结果:从草珊瑚根、茎、叶中鉴定出 52 个挥发油成分,根含有 33 个、茎含有 41 个、叶含有 39 个化合物,分别占其挥发油总重的 83.99%,83.85%,93.32%,其中 24 个为共有成分,28 个为非共有成分。结论:草珊瑚根茎叶中挥发油化学成分在种类和主要成分含量都存在较大差异。

[关键词] 草珊瑚;挥发油;气相色谱-质谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0105-04

GC-MS Analysis of Chemical Constituents of Volatile Oil from Roots Stems and Leaves of Sarcandrae Herba

LIN Pei-ling¹, ZENG Jian-wei², LUO Yong-dong¹, DING Chun-hua¹, LIANG Yi-chi^{1*}

(1. College of pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, China;

2. Academy of Integrative Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the chemical constituents of volatile oil from roots, stems and leaves

[收稿日期] 20111124(005)

[基金项目] 福建省科技厅重点项目(2010N0028);福建省卫生厅中医处重点项目(wzzd0903)

[第一作者] 林培玲,硕士研究生,从事质量控制与品质评价研究,Tel:15980221691,E-mail:85823514@qq.com

[通讯作者] *梁一池,教授,博士生导师,从事中药材品质评价与质量标准研究,Tel:13799399596,E-mail:fafulyc@126.com

度和灵敏度,选择 pH 8.2 的磷酸二氢钠-硼砂为运行缓冲液此时丹皮酚能达到基线分离。

3.3 缓冲溶液浓度的影响 在一定范围内增加缓冲液离子强度可以改善柱效,提高分离度^[2]。本实验考察比较 10~25 mmol·L⁻¹不同浓度的磷酸二氢钠和硼砂对分离影响,发现伴随缓冲液浓度增加,丹皮酚和其他成分分离明显改善,运行缓冲液浓度过大会导致分析时间过长、峰电流下降。研究中发现,当选取 15 mmol·L⁻¹磷酸二氢钠-20 mmol·L⁻¹硼砂作为运行缓冲液时,干扰较小,电离迁移时间适宜。

3.4 分离电压的影响 在一定范围内,伴随分离电压的加大,分离度和灵敏度加大^[3]。实验考察了 15~25 kV 分离电压对丹皮酚分离检测的影响,发现分离电压越高丹皮酚迁移时间越短,分离电压超

过 23 kV 时丹皮酚分离度降低,基线噪音显著增大,焦耳热增加。综合考虑选择 23 kV 为分离电压。

[参考文献]

- [1] 李向军,张裕平,袁倬斌.毛细管电泳法分离测定芦丁、槲皮素和连翘苷[J].分析实验室,2003,22(2):40.
- [2] 肖琳,李静,孙文基.毛细管电泳法测定青叶胆中獐牙菜苦苷和异牡荆素的含量[J].药物分析杂志,2009,29(12):2040.
- [3] 王青虎,奥乌力吉,包建华.高效毛细管电泳法同时测定小白蒿 5 种黄酮类化合物的含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(16):63.

[责任编辑 蔡仲德]