

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.03.008

反相高效液相色谱法测定复方壮药艾条中桂皮醛含量*

桂裕昌¹, 杜沛霖², 许建文^{1△}, 周雨晴¹, 梁迪³, 饶远森¹

(1. 广西中医药大学第一附属医院, 广西南宁 530023; 2. 广西中医药大学, 广西南宁 530200; 3. 广西中医药大学附属国际壮医医院, 广西南宁 530001)

摘要:目的 建立测定复方壮药艾条中桂皮醛含量的反相高效液相色谱法。方法 色谱柱采用 Agilent 5 TC-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(35:65), 检测波长为 290 nm, 流速为 1 mL/min, 柱温为 35 ℃。结果 桂皮醛达到基线分离, 进样量在 0.028~0.336 μg 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 9$); 平均加样回收率为 102.39%, RSD 为 2.86% ($n=6$)。不同批号的复方壮药艾条中桂皮醛的含量为 0.595~0.648 mg/g。结论 该方法操作简单、快速、重复性好, 可更好地控制复方壮药艾条的质量。

关键词: 复方壮药艾条; 反相高效液相色谱法; 桂皮醛; 含量测定

中图分类号: R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)03-0027-03

Content Determination of Cinnamaldehyde in Moxa Sticks with Compound Zhuang Medicine by RP-HPLC

Gui Yuchang¹, Du Peilin², Xu Jianwen¹, Zhou Yuqing¹, Liang Di³, Rao Yuansen¹

(1. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, China 530023; 2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, China 530200; 3. International Zhuang Medical Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, China 530001)

Abstract: Objective To establish a RP-HPLC method to determine the content of cinnamaldehyde in moxa sticks with compound Zhuang medicine. **Methods** Agilent 5 TC-C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was adopted, the mobile phase was acetonitrile-water (35:65), the detection wavelength was 290 nm, the flow rate was 1 mL/min, and the column temperature was 35 ℃. **Results** The baseline separation of cinnamaldehyde was achieved. The linear range of cinnamaldehyde was 0.028-0.336 μg ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 102.39% and RSD was 2.86% ($n=6$). The average content of cinnamaldehyde was 0.595-0.648 mg/g from different batches. **Conclusion** The method is simple, rapid and reproducible, which can be used for quality control of moxa sticks with compound Zhuang medicine.

Key words: moxa sticks with compound Zhuang medicine; RP-HPLC; cinnamaldehyde; content determination

自拟复方壮药艾条由艾叶、桂枝、横经席、海风藤、地枫皮、千斤拔、红鱼眼、战骨、七叶莲、走马胎共 10 味中药卷成药艾条, 具有补益肝肾、活血化瘀、通络止痛、散寒祛湿等功效^[1], 尤适于强直性脊柱炎的中医外治应用。桂枝味辛、甘, 性温, 归心、肺、膀胱经, 具有发汗解肌、温通经脉、助阳化气的功效^[1], 其主要成分桂皮醛广泛用作中医外治药物的有效成分^[2-3]。大量研究发现其对神经系统疾病^[4]、心血管疾病^[5]、肿瘤^[6]、病毒性肺炎^[7]、糖脂代谢疾病^[8]等均有治疗作用, 但在应用时应注意其使用浓度。本研究中建立了同时测定复方壮药艾条中桂皮醛含量^[9-10]的反相高效液相色谱(RP-HPLC)法, 为建立其全面合理的质量控制和评价标准奠定了基础。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); KQ5200B 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司); SQP 型分析天平(十万分之一, 北京赛多利斯科学仪器有限公司)。

1.2 试剂

药艾条(组方: 艾叶 20 000 g, 战骨 1 250 g, 桂枝 1 250 g, 横经席 1 250 g, 千斤拔 500 g, 七叶莲 500 g, 走马胎 500 g, 海风藤 500 g, 地枫皮 500 g, 红鱼眼 500 g), 由广西医科大学第一附属医院制备; 药材均购于广西南宁市景昌中药饮片有限公司; 桂皮醛对照品(中国食品药品检定研究院, 批号为 110710-201619, 纯度为

*基金项目: 广西自治区卫生厅中医药科技专项[GZZJ14-02]。

第一作者: 桂裕昌, 在读硕士研究生, 研究方向为脊柱外科临床, (电子信箱)149173283@qq.com。

△通信作者: 许建文, 博士研究生, 教授, 硕士研究生导师, 主任医师, 研究方向为脊柱脊髓疾病的诊疗与康复, (电话)0771-5356764(电子信箱)1049662254@qq.com。

98.9%);乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法及结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验

色谱柱:Agilent 5 TC-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(35:65);检测波长:290 nm;流速:1 mL/min;柱温:35℃。在此色谱条件下,采用外标法计算含量,理论板数以桂皮醛峰计算应不低于3 000,桂皮醛的保留时间约为15 min。色谱图见图1。

2.2 溶液制备

对照品溶液:取桂皮醛对照品0.027 00 g,精密称定,置50 mL容量瓶中,用甲醇溶解,并定容至刻度,摇匀,得质量浓度为0.540 0 g/L的桂皮醛溶液,取1.0 mL,置50 mL容量瓶中,用甲醇溶解,并定容至刻度,摇匀,得质量浓度为0.010 68 g/L的对照品溶液。

供试品溶液:取复方壮药艾条约5.5 g,精密称定,置干燥锥形瓶中,精密量取25 mL甲醇,称定质量,超声30 min,放冷,补足减失的质量,过滤,取滤液1.0 mL,置10 mL容量瓶中,用甲醇定容至刻度,混匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

阴性对照品溶液:按处方制备不含药材桂皮醛的阴性样品,同供试品溶液制备方法制得。

2.3 方法学考察

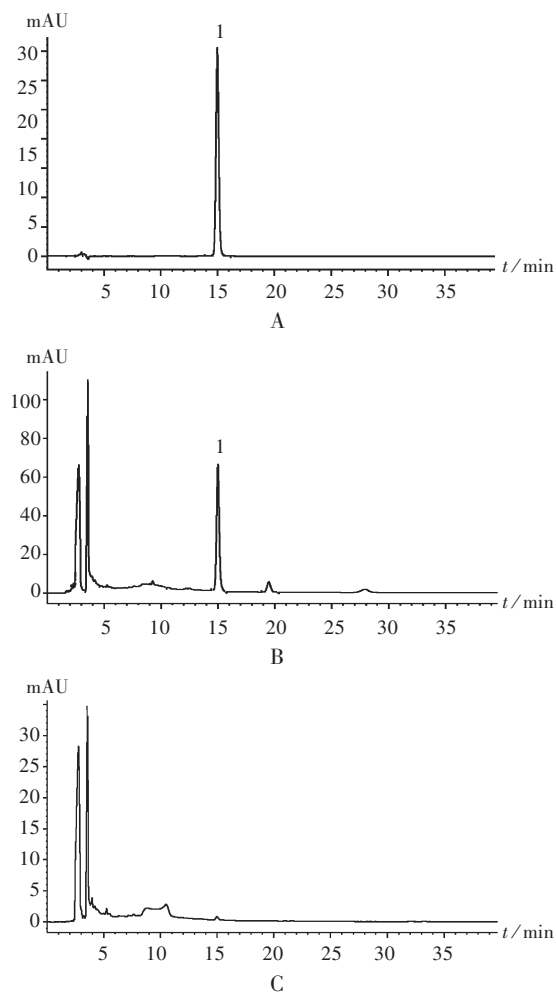
专属性试验:精密吸取2.2项下3种溶液各10 μL,分别进样测定。结果阴性对照品溶液在相同保留时间处未见干扰。详见图1。

线性关系考察:取桂皮醛对照品0.001 4 g,精密称定,置50 mL容量瓶中,用甲醇溶解,并定容至刻度,摇匀,得质量浓度为0.028 g/L的对照品溶液。按拟订色谱条件测定,分别进样1,4,6,8,10,12 μL,以桂皮醛的含量(*X*)为横坐标、峰面积(*Y*)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y=8\ 054.066\ 73X-2.874\ 161\ 5$, $r=0.999\ 9$ ($n=6$)。结果表明,桂皮醛进样量在0.028~0.336 μg范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取桂皮醛对照品溶液(质量浓度为0.010 68 g/L)10 μL,在拟订色谱条件下重复进样6次,测定峰面积。结果峰面积的RSD为0.4%($n=6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取同一批样品6份,按2.2项下方法制备供试品溶液,进样测定峰面积,计算含量,得桂皮醛的平均含量为0.616 2 mg/g, RSD为2.7%($n=6$),表明该方法重复性良好。

稳定性试验:精密吸取新配制的供试品溶液,在0,



1. 桂皮醛
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液
图1 高效液相色谱图

3,4,5,8,12 h时进样10 μL,测定。结果的RSD为1.6%($n=6$),表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

加样回收试验:取6份已知含量的样品(含量为0.623 mg/g),每份约2.7 g,精密称定,精密加入质量浓度为1.87 g/L的对照品溶液1.0 mL,按2.2项下方法制备供试品溶液,在拟订色谱条件下进样10 μL,按样品含量测定方法测定、计算。结果见表1。

2.4 样品含量测定

取3份样品,按2.2项下方法制备供试品溶液,按拟订色谱条件分别各进样2次,每次10 μL,测定峰面积,计算含量。结果见表2。

3 讨论

3.1 提取溶剂与方法选择

预试验中比较了蒸馏水回流提取、70%乙醇回流提取所得与甲醇超声法提取所得,经HPLC检测,发现其峰面积相差不大,但杂质峰过多,故采用甲醇超声法提取。超声提取30 min和60 min,测定结果基本一致,说明

表1 桂皮醛加样回收试验结果 ($n=6$)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
1.737	1.870	3.549	96.90	102.39	2.86
1.738	1.870	3.679	103.80		
1.737	1.870	3.635	101.50		
1.737	1.870	3.695	104.71		
1.737	1.870	3.664	103.05		
1.738	1.870	3.690	104.39		

表2 样品中桂皮醛的含量测定结果(mg/g, $n=6$)

批号	含量(mg/g)	$\bar{X}$ (mg/g)	RSD(%)
011987	0.632	0.623	2.88
011991	0.648		
011993	0.630		
011995	0.622		
011996	0.614		
011998	0.595		

提取 30 min 已基本提取完全,故提取时间定为 30 min。

3.2 稳定性试验

供试品溶液在室温下 12 h 内基本稳定,但色谱峰峰面积有逐渐降低的趋势,可能是降解所致。对照品溶液和供试品溶液均不宜久贮。

3.3 流动相选择

采用流动相乙腈-水(35:65)对供试品溶液进行系统适用性考察,结果在该流动相下,桂皮醛峰形对称,分离度符合要求。因此选定流动相乙腈-水(35:65)作为测定流动相。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 附录 276.

- [2] 余锦雄, 朱炳辉. 红花油中桂皮醛含量的高效液相色谱法测定[J]. 中药材, 1994, 17(9): 33.
- [3] 徐洪水, 宋友昕, 郑海华, 等. 麝香风湿油的质量标准研究[J]. 中国新医药, 2003, 2(10): 43.
- [4] 郑芳昊, 罗佳波. 桂枝对大鼠中枢神经系统作用的研究[J]. 中药药理与临床, 2014, 30(4): 76-79.
- [5] 何秀娟, 林燕, 蒙玉娇, 等. 桂皮醛抑制血管内皮细胞与中性粒细胞黏附及其分子机制[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2017, 22(1): 43-47.
- [6] 王瑞平, 王歌, 孙庆敏, 等. 桂皮醛对人乳腺癌细胞株 MDA-MB-435S 侵袭能力的抑制作用及与 miR-27a 表达的关系探讨[J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(8): 964-969.
- [7] 刘蓉, 武志强, 何敏, 等. 桂枝挥发油与桂皮醛对病毒性肺炎小鼠细胞因子及 T 细胞亚群的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(18): 139-143.
- [8] 王芳, 侯霖芯, 马明杰, 等. 桂皮醛对高脂喂养小鼠糖脂代谢影响的实验研究[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(35): 6822-6825.
- [9] 王也, 袁国丽, 黄华. 高效液相色谱法测定丁桂儿脐贴中丁香酚和桂皮醛含量[J]. 中国药业, 2011, 20(10): 43-44.
- [10] 何启香, 王迪科, 常立德. 高效液相色谱法测定七味槟榔散中桂皮醛含量[J]. 中国药业, 2014, 23(18): 48-49.

(收稿日期: 2017-10-12)

中国科技核心期刊 中国科技论文统计源期刊

《中国药业》杂志 特别欢迎重点科研、基金项目论文投稿!

网上投稿: <http://www.zhongguoyaoye023.com> 或 中国药业在线投稿系统
投稿备份: (E-mail) zguyaoye@vip.tom.com 电话兼传真: (023) 86592565

邮发代号: 78-130, 各地邮局均可订阅; 补订、破月订可向本刊发行部办理

编辑部地址: 重庆市渝中区长江一路 61 号地产大厦 1 号楼 19 层 邮政编码: 400014