



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107462459 A

(43)申请公布日 2017.12.12

(21)申请号 201610384846.9

(22)申请日 2016.06.02

(71)申请人 复旦大学

地址 200433 上海市杨浦区邯郸路220号

(72)发明人 段更利 张军东 李嫣 郁颖佳

徐琛 凌莉

(74)专利代理机构 上海元一成知识产权代理事

务所(普通合伙) 31268

代理人 吴桂琴

(51) Int. Cl.

G01N 1/40(2006.01)

权利要求书1页 说明书3页 附图1页

(54)发明名称

基于C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料的中药有效成分的富集方法

(57)摘要

本发明属分析化学领域,涉及生物样品中中药有效成分的富集方法,具体涉及一种利用C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料萃取技术从生物样品中富集中药有效成分的方法。该方法采用C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料,对分散好的石墨烯复合材料进行上样,采用一定的溶剂洗脱,以提取生物样品中的中药有效成分,并经氮吹浓缩,以一定的溶剂复溶后用高效液相串联质谱或气相串联质谱分析,测定生物样品中中药有效成分的含量。本方法具有萃取速度快、效率高、操作简便、安全无污染的优点。本法与色谱质谱分析法联用,可用于准确测定生物样品中中药有效成分的含量。

1. 一种基于C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料的中药有效成分的富集方法,其特征 在于:采用C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料,对分散的石墨烯复合材料进行上样,采用 一定的溶剂洗脱,提取生物样品中的中药有效成分,并经氮吹浓缩,以一定的溶剂复溶后用 高效液相串联质谱或气相串联质谱分析,测定生物样品中中药有效成分的含量。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:所述方法中,采用有机溶剂为分散石墨烯 复合材料的分散溶剂,溶剂体积为100 ~ 2000 μl。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:所述方法中,样品上样量为100 ~ 2000 μ l。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:所述方法中,涡旋振荡时间为10~60 min。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:所述方法中,超声混匀时间为5~30 min。

6. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:所述方法中,洗脱溶剂为有机溶剂与去离 子水的混合溶剂,溶剂体积为10 ~ 500 μl,涡旋振荡时间为10~60 min,超声混匀时间为5~ 30 min。

## 基于C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料的中药有效成分的富集方法

### 技术领域

[0001] 本发明属分析化学领域,涉及生物样品中中药有效成分的富集方法,具体涉及一种利用C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料萃取技术从生物样品中富集中药有效成分的方法。

### 背景技术

[0002] 现有技术公开了有关复杂样品包括生物样品、中药、组成较为复杂的样品等其前处理手段是药物分析的关键点也是难点所在。如何高效、快速去除样品中的干扰杂质、富集目标待测物一直是本领域技术人员关注的热点。通常,样品前处理是复杂样品分析过程中必不可少的操作步骤,其直接影响分析方法的灵敏度、选择性、可靠性、分析速度等,因此,复杂样品的样品前处理已成为当今分析化学的重要研究领域之一。

[0003] 有序介孔材料是上世纪90年代迅速兴起的新型纳米结构材料,以表面活性剂形成的超分子结构为模板,利用溶胶-凝胶(sol-gel)工艺,通过有机物-无机物界面间的定向作用,组装成孔径在2~30 nm之间的孔径分布窄且有规则孔道结构的无机多孔材料;其所具有的孔道大小均匀、排列有序、孔径可在2~50 nm范围内连续调节、比表面积大、水热稳定性较好等多种独特的性质,使其在分离提纯、生物材料、催化、新型组装材料等方面有着巨大的应用潜力,常被用于分析样品的前处理,如固相萃取材料、柱填料等。

[0004] 石墨烯(Graphene)是从石墨材料中剥离出来、由碳原子组成的只有一层原子厚度的二维晶体。作为目前发现的最薄、强度最大、导电导热性能最强的一种新型纳米材料,石墨烯被称为“黑金”,是“新材料之王”,其应用前景不可估量。基于石墨烯十分可观的比表面积,大量 $\pi$ - $\pi$ 键以及自由电子,其在分离领域也具有非常广泛的应用。

[0005] 近年来,出现大量以石墨烯材料为基体制备的有序介孔材料,其能够结合两者的特点,在分离分析领域中显示出独特的优势。研究显示,该材料根据客体分子尺寸以及电荷的不同,通过调节孔径大小或有机官能团修饰,可对生物分子实行高选择性吸附。

[0006] 有研究公开了C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料(C<sub>8</sub>-modified graphene@mSiO<sub>2</sub>)是一类功能化有序介孔材料。该材料具有比表面积大、孔径大小均匀、稳定性强等特殊性能。

[0007] 基于现有技术的基础,本申请的发明人拟提供一种新的更为简便快速的生物样品中中药有效成分的富集方法,尤其是一种利用C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料萃取技术从生物样品中富集中药有效成分的方法。

### 发明内容

[0008] 本发明的目的在于克服现有技术的缺陷与不足,提供一种新的更为简便快速的生物样品中中药有效成分的富集方法,尤其是一种利用C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料萃取技术从生物样品中富集中药有效成分的方法。该方法简便,快速,萃取效率高,重现性

好,回收率高,安全环保,可准确测定生物样品中的中药有效成分的含量。

[0009] 本发明基于C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料(C<sub>8</sub>-modified graphene@mSiO<sub>2</sub>)具有比表面积大、孔径大小均匀、稳定性强等特殊性能,将其应用于复杂样品前处理中,其主要基于固相萃取技术的原理,提取方法简化为上样、洗脱(富集)两个步骤,相较于传统固相萃取技术,更为简便快速。

[0010] 具体而言,本发明的目的通过下述技术方案实现:

采用C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料,对分散的石墨烯复合材料进行上样,采用一定的溶剂洗脱,提取生物样品中的中药有效成分,并经氮吹浓缩,以一定的溶剂复溶后用高效液相串联质谱或气相串联质谱分析,测定生物样品中中药有效成分的含量。

[0011] 本发明中,针对C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料萃取效率的影响因素有样品上样量,洗脱溶剂的种类和体积及涡旋和超声时间等因素进行选择确定;

本发明中,上述富集生物样品中中药有效成分的方法中,加入的分散溶剂为有机溶剂,溶剂体积为100 ~ 2000 μl。

[0012] 本发明中,上述富集生物样品中中药有效成分的方法中,样品上样量为100 ~ 2000 μl,涡旋振荡时间为10~60 min,超声混匀时间为5~30 min。

[0013] 本发明中,上述富集生物样品中中药有效成分的方法中,加入的洗脱溶剂为有机溶剂与去离子水的混合溶剂,溶剂体积为10 ~ 500 μl,涡旋振荡时间为10~60 min,超声混匀时间为5~30 min。

[0014] 经试验,结果显示,本发明的富集生物样品中中药有效成分的方法中采用集萃取、浓缩、解吸于一体的实验材料:C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料,使生物样品中中药有效成分的富集简便、准确、可靠,快速,萃取效率高,重现性好,回收率高,安全环保;具有选择性好、专属性强、快速便捷的优点,可用于准确测定生物样品中复方、单方中药的有效成分的含量。

[0015] 本发明提供了一种新的更为简便快速的生物样品中中药有效成分的富集方法,其中采用的C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料萃取技术可为中药有效成分的体内分析研究提供技术支持,同时,开拓了复杂样品前处理技术的领域,为其提供了新思路新方法。

## 附图说明

[0016] 图1为C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料结构示意图。

[0017] 图2为C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料萃取技术操作步骤示意图。

## 具体实施方式

[0018] 实施例1

C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料在血浆样品中的复方中药有效成分检测中的应用

仪器:Agilent 1200高效液相色谱仪;AB SCIEX 4500三重四极杆质谱仪;氮吹装置;XW-80A涡旋混合器;TGL-16G台式离心机。

[0019] 材料:没食子酸对照品;水杨酸、氨水、甲醇、去离子水;C<sub>8</sub>修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料;复方肠泰浸膏;大鼠血浆样品。

**[0020] 样品前处理:**

取血浆100  $\mu\text{l}$ ,加入50  $\mu\text{l}$ 的 $\text{H}_3\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液(pH 2.0),涡旋振荡1 min后加入40  $\mu\text{l}$   $\text{C}_8$ 修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料,涡旋振荡20 min后超声5 min,5000 rpm离心5 min,弃去上清;沉淀物加100  $\mu\text{l}$  70%甲醇,涡旋振荡20 min后超声10 min,10000 rpm离心5 min,在40 $^\circ\text{C}$ 下用氮气吹干,用20  $\mu\text{l}$ 去离子水复溶后进样分析;

**基质效应与加样回收率:**

将对照品低、中、高三个不同浓度的试液进样,然后按照样品前处理方法进行 $\text{C}_8$ 修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料萃取,取复溶后的样品进行HPLC-MS/MS分析,计算基质效应以及提取回收率,平均基质效应为:(96.53  $\pm$  2.37)% (n=3),平均回收率分别为:(90.33  $\pm$  7.87)% (n=3);

**重复性实验:**

精密量取同一来源的血浆样品100  $\mu\text{l}$ ,按照样品前处理方法进行 $\text{C}_8$ 修饰介孔二氧化硅石墨烯复合材料萃取,取复溶后的样品进行HPLC-MS/MS分析,重复测定三次,RSD为1.50%。

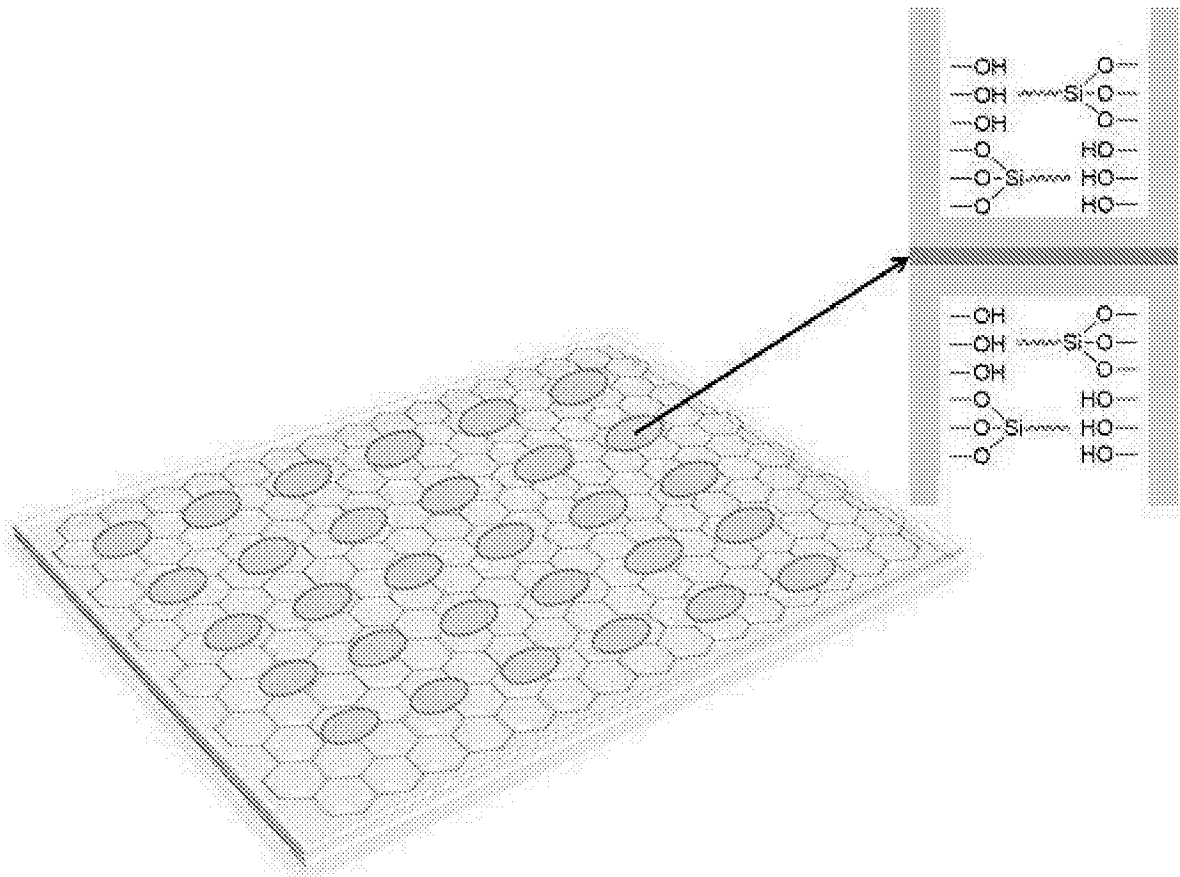


图1

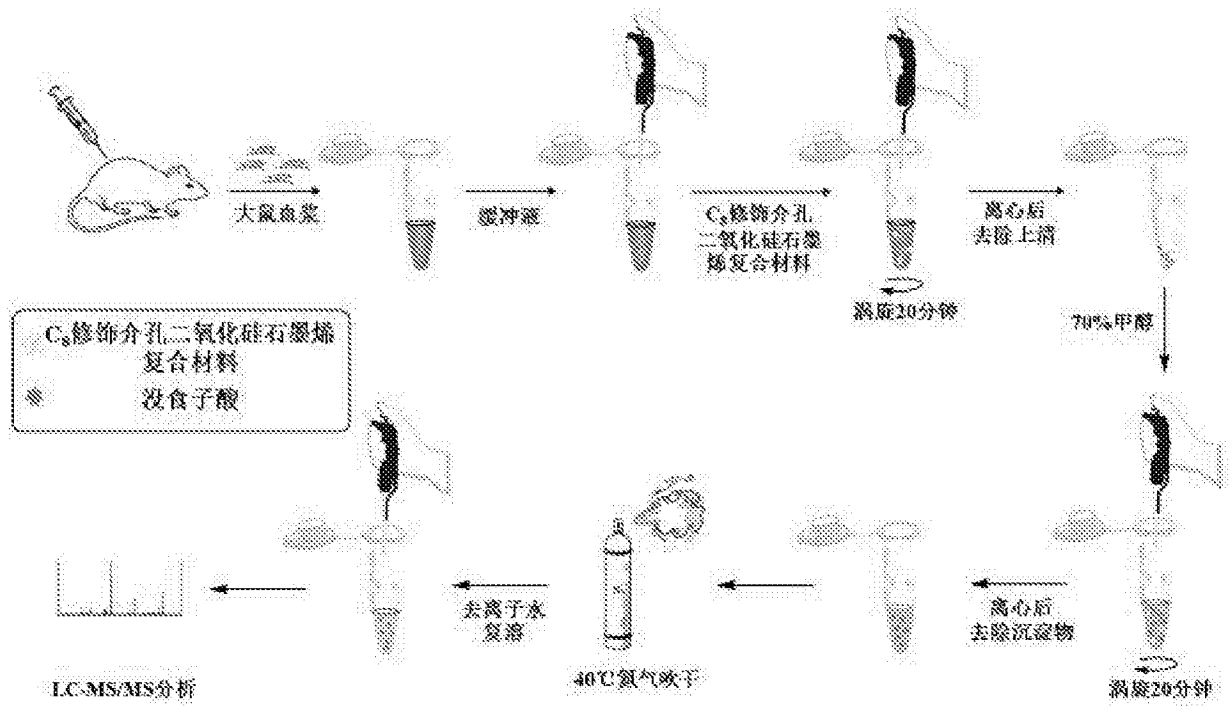


图2