

原料药材中的量基本一致(对应的 HPLC 色谱图也基本一致),其原因是两种高异黄酮的极性较弱,水提醇沉并不能使它们的量得到富集提高。

MOA 可以抑制皮肤黑色素细胞分支状延伸^[2], MOA 与 MOB 具有镇咳作用,并且无中枢抑制的副作用^[3]。麦冬药材及其制剂中 MOA 与 MOB 的量是否可以作为质量控制指标,有待进一步深入研究。

References:

- [1] Zhu Y X, Yan K D, Tu G S. The chemistry research of Shenmaisan preparation (I). Determination of methylophopogonanone A and methylophopogonanone B in Shengmaisan preparation by RP-HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1988, 8(6): 343-344.
- [2] Pola C I L. Dendrite elongation inhibitor of melanocyte and skin care preparation for external use containing the asme [P]. JP: JP2004143073, 2004-05-20.
- [3] Kamei J. Antitussive agent and medicinal composition containing antitussive agent [P]. JP: JP2003327529, 2003-11-19.

山银花不同产地加工品的 HPLC 指纹图谱研究

晏永新, 钟 铁, 张小娟, 李霞兰, 王少军, 王跃生*, 杨世林

(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西南昌 330006)

摘 要:目的 建立山银花不同产地加工品 HPLC 色谱指纹图谱。方法 以水煎煮法制备供试液, 采用高效液相色谱法, 甲醇和 0.4% 磷酸溶液为流动相梯度洗脱, 紫外检测波长: 238 nm, 柱温: 30 ℃, 体积流量: 1.0 mL/min。结果 分析了 5 个不同产地加工方法生产的山银花药材, 确定了 12 个共有峰, 可作为其指纹特征。结论 所建立的指纹图谱具有稳定、重现的特点, 为全面控制山银花不同产地加工品的质量提供了依据。

关键词:山银花; 高效液相色谱; 指纹图谱

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)11-1643-03

HPLC Fingerprint of processing *Flos Loniceræ* from different habitats

YAN Yong-xin, ZHONG Tie, ZHANG Xiao-juan, LI Xia-lan,

WANG Shao-jun, WANG Yue-sheng, YANG Shi-lin

(National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Materia Medica, Nanchang 330006, China)

Key words: *Flos Loniceræ*; HPLC; fingerprint

山银花为忍冬科植物灰毡毛忍冬 *Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz.、红腺忍冬 *L. hypoglauca* Mig. 或华南忍冬 *L. confusa* DC. 的干燥花蕾或带初开的花。山银花在我国南北各地均有分布, 具有清热解毒、凉散风热之功效^[1], 同时山银花还是重要的化工原料和优良饮品原料^[2]。山银花主要含绿原酸、异绿原酸、三萜类、黄酮类物质, 另外还含有少量的忍冬苷、肌醇、皂苷、挥发油等成分^[3,4]。不同产地加工方法对山银花中化学成分影响很大^[5]。为了进一步探讨其内在规律和控制质量, 本研究采用高效液相色谱法建立了山银花药材不同产地加工品的 HPLC 指纹图谱分析方法。

1 实验材料

岛津 LC-VP 系列高效液相色谱仪, SPD-M10Avp 检测器(PDA), LC-IOATvp 串联双柱塞

泵, SIL-10Aadv 自动进样器, CT0-10ASvp 柱温箱), CLASS-VP 工作站; BS2000S 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司); KQ-250 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110753-200212), 甲醇(色谱纯), Millipore 蒸馏水, 磷酸(分析纯)。

山银花由贵州飞龙雨制药有限公司提供, 经江西中医学院龚千锋教授鉴定为灰毡毛忍冬花蕾, 见表 1。

表 1 样品产地和加工方法

Table 1 Habitats and processing methods of *Flos Loniceræ*

编号	加工方法	产地
1	蒸气脱水生产	安龙
2	机械化生产	安龙
3	机械化炒干生产	安龙
4	土法蒸后烘干生产	贞丰
5	强制通风干燥生产	安龙

收稿日期: 2007-02-28

作者简介: 晏永新(1980—), 男, 江西新余人, 在职研究生, 主要从事中药有效部位制剂的研究开发工作。

Tel: (0791)7119650 E-mail: yyx210@163.com

* 通讯作者 王跃生 Tel: (0791)7119658 E-mail: wys@jzjt.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Dikma C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇(A)-0.4%磷酸水溶液(B), 线性梯度洗脱, 0~65 min, 10%A, 65 min 以后, 60%A; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 30 ℃; 检测波长为 238 nm; 进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备: 称取绿原酸对照品适量, 精密称定, 加 50% 甲醇制成 62 μg/mL 对照品溶液(10 ℃ 以下保存)。

2.3 供试品溶液的制备: 取山银花粉末约 2.0 g, 精密称定, 精密加水 50 mL, 称定质量, 煎煮 2 h, 放冷至室温, 再称定质量, 补足质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5 mL 置 50 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 稳定性试验: 取同一份供试品溶液(样品 1), 精密吸取 10 μL, 分别在 0.2、4、8、16、24 h 检测, 以绿原酸(3 号峰)为参照, 各共有峰的相对保留时间 RSD < 3%, 主要共有峰相对峰面积 RSD 不超过 3%, 结果表明山银花供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.2 精密度试验: 取同一份供试品溶液(样品 1), 连续进样 6 次, 以绿原酸为参考, 考察色谱峰保留时间的一致性, 计算各共有峰相对保留时间的 RSD, 结果 RSD < 3%, 符合指纹图谱技术要求。

2.4.3 重现性试验: 取山银花药材(样品 1), 6 份制备供试品溶液, 依次检测, 以绿原酸为参考, 考察色谱峰相对保留时间的一致性, 结果各共有峰相对保留时间的 RSD < 3%, 符合指纹图谱技术要求。

2.5 HPLC 指纹图谱及各项技术参数: 测定了 5 种不同产地加工方法生产的山银花, 共获得 12 个色谱峰, 典型色谱图见图 1 和 2。其中 3 号峰为山银花主要指标成分绿原酸, 将其作为参照峰, 标识为 S, 其他峰依次编号, 计算各特征峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果见表 2 和 3。各特征指纹峰的相对峰面积、相对保留时间均具有较好的重现性, 特征指纹峰的相对保留时间 RSD 均低于 1.5%。

3 讨论

3.1 供试品溶液制备条件的确定: 分别考察了 50% 甲醇、甲醇-水、40% 乙醇, 以及超声、索氏、温浸、煎煮提取方法。结果水煎煮方法提取能获得较多的色谱峰, 更能体现指纹图谱整体性的特点。

3.2 检测方法的选择: 以甲醇-水、乙腈-水两种体系为流动相, C₁₈ 反相色谱进行初试, 再采用二极管阵列检测器(DAD)检测, 全波长扫描分析, 发现在

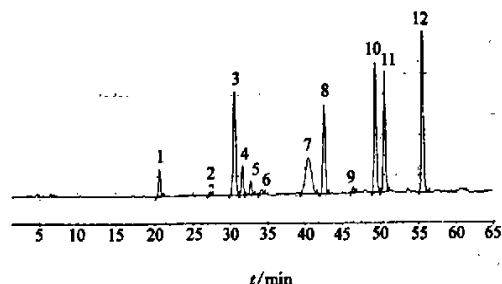


图 1 山银花 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC Fingerprint of *Flos Lonicerae*

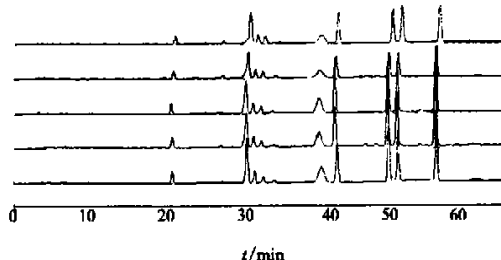


图 2 山银花不同产地加工品 HPLC 指纹图谱

Fig. 2 HPLC Fingerprint of processed *Flos Lonicerae* from various habitats

表 2 特征指纹峰的相对保留时间

Table 2 Relative retention time of characteristic fingerprint peaks

峰号	特征指纹峰的相对保留时间						RSD/%
	1	2	3	4	5	平均值	
1	0.677	0.679	0.676	0.678	0.669	0.676	0.57
2	0.892	0.888	0.889	0.887	0.887	0.889	0.24
3(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.00
4	1.034	1.032	1.032	1.032	1.029	1.032	0.17
5	1.071	1.066	1.066	1.063	1.063	1.066	0.31
6	1.119	1.121	1.116	1.119	1.112	1.117	0.31
7	1.324	1.316	1.320	1.309	1.339	1.322	0.86
8	1.392	1.385	1.388	1.377	1.405	1.389	0.72
9	1.518	1.519	1.521	1.510	1.551	1.524	1.04
10	1.616	1.614	1.619	1.605	1.655	1.622	1.18
11	1.655	1.655	1.658	1.644	1.696	1.662	1.19
12	1.819	1.818	1.825	1.806	1.870	1.828	1.36

检测波长为 238 nm 时, 各供试液有较多的色谱峰, 并且各色谱峰能够较好的分离, 最终确定检测波长为 238 nm。另外, 甲醇-水体系对成分分离的选择性与乙腈-水体系相差不大, 故流动相选择甲醇-水体系。在此体系中, 分别试验了甲醇-水、甲醇-0.05% 磷酸、甲醇-0.05% 磷酸-异丙醇、甲醇-0.4% 磷酸组成的流动相体系, 发现在甲醇-0.4% 磷酸体系下, 各色谱峰峰形尖锐, 分离效果好, 并能分离出较多的组分, 并且对梯度洗脱条件进行了比较, 得到本文采用的流动相条件。

3.3 特征指纹峰分析: 本实验建立了不同产地加工

表3 特征指纹峰的相对峰面积
Table 3 Relative peak areas of characteristic fingerprint peaks

峰号	特征指纹峰的相对峰面积					平均值
	1	2	3	4	5	
1	0.222	0.232	0.247	0.197	0.193	0.218
2	0.026	0.024	0.027	0.086	0.060	0.045
3(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
4	0.248	0.275	0.252	0.229	0.230	0.247
5	0.130	0.168	0.176	0.209	0.192	0.175
6	0.068	0.104	0.087	0.106	0.080	0.089
7	0.830	0.816	0.928	0.506	0.465	0.709
8	0.807	1.012	1.104	0.613	0.836	0.874
9	0.046	0.053	0.061	0.034	0.032	0.045
10	1.106	1.329	1.226	0.653	0.832	1.029
11	1.028	1.282	1.047	0.650	0.944	0.990
12	1.376	1.765	1.457	0.801	1.052	1.290

方法生产的山银花药材液相指纹图谱,系统地反映了其山银花不同成分的全貌,可作为山银花不同产地加工品的质量控制方法之一。由于样品数量有限,只采集了安龙和贞丰2个产地的药材,但从图谱中可以看出,2个产地的药材在化学组成及主要特征指纹峰相对峰面积上没有显著差异。

山银花的加工主要蒸气脱水、机械化生产、机械化炒干、土法蒸后烘干和强制通风干燥5种方法。从指纹图谱的分析结果可以看出,5批样品的色谱图整体相貌是相同的,说明不同产地加工方法的山银花药材的化学组成一致性较好,质量稳定。但同时也应看到各主要特征峰的相对峰面积还是有一定的差别,如量较高的10、11、12号色谱峰,在机械化生产的山银花中分别高达1.329、1.282、1.765,而土法蒸后烘干的山银花则分别只有0.653、0.650、0.801;2号特征峰相对峰面积在土法蒸后烘干的山银花中达到0.086,蒸气脱水、机械化生产和机械化炒干的山银花则在0.025左右;7号特征峰相对峰

面积在机械化炒干的山银花中高于0.92,蒸气脱水 and 机械化生产的山银花保持在0.82左右,但土法蒸后烘干和强制通风干燥生产的药材则只有0.50。说明山银花的加工方法不同,其药材的指纹图谱也有较大的差异,对于选用合适的加工方法生产山银花具有指导意义。

用药典委员会颁布的中药色谱指纹图谱相似度评价系统2004A版1.0版对5批样品的数据进行处理,得到了相关系数,按样品编号用平均数表示依次为0.9953、0.9878、0.9908、0.9511、0.9825,用中位数表示依次为0.9741、0.9674、0.9727、0.9352、0.9330。说明选用的特征指纹峰是恰当的。据此,制定了真伪鉴别相似度值的标准,即相关系数用中位数和均值表示均不得低于0.900,特征指纹峰的相对保留时间RSD小于1.5%。但特征指纹峰的相对峰面积积分值差异较大,建议在实际应用中根据具体适应症选用固定的药材。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1, 2005.
- [2] Zhou R H. *Resource of Chinese Medicinal Materials* (中药资源学) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1993.
- [3] Shi Y, Shi R B, Lu Y R. Advances in studies on the resources, chemical constituents and pharmacology of medical honeysuckle in China [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1999, 34(11): 724.
- [4] Huang L Y, Lü Z Z, Li J B, et al. Studies on the chemical constituents of Japanese honeysuckle (*Lonicera japonica*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(11): 645.
- [5] Wang Y Z, Zhang Z W. Commentary on the research of honeysuckle processing drugs [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med* (山东中医药大学学报), 2000, 24(1): 66-67.

RP-HPLC 法测定血脂康胶囊中大豆苷元、黄豆黄素和染料木素

马学敏^{1,2}, 郭树仁^{1,2*}, 段震文^{1,2}, 王祥云¹, 李 霄³

(1. 北京大学化学与分子工程学院, 北京 100083; 2. 北京北大维信生物科技有限公司, 北京 100083;

3. 北京工业大学生命科学与生物工程学院, 北京 100022)

摘 要:目的 建立血脂康胶囊中大豆苷元、黄豆黄素、染料木素的测定方法。方法 采用反相高效液相色谱法, YMC-C₁₈分析柱, 乙腈-水(0.1%磷酸)梯度洗脱为流动相, 检测波长 256 nm。结果 大豆苷元、黄豆黄素、染料木素

收稿日期: 2007-03-26

作者简介: 马学敏(1976—), 女, 山东蓬莱人, 博士, 现为北京大学与北京北大维信生物科技有限公司联合培养博士后, 主要研究方向为中药新药研发与中药指纹图谱。

* 通讯作者 郭树仁 Tel: (010)51557550 E-mail: guosrpku@263.net

作者: 晏永新, 钟铁, 张小娟, 李霞兰, 王少军, 王跃生, 杨世林, [YAN Yong-xin](#),
[ZHONG Tie](#), [ZHANG Xiao-juan](#), [LI Xia-lan](#), [WANG Shao-jun](#), [WANG Yue-sheng](#),
[YANG Shi-lin](#)
作者单位: 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西, 南昌, 330006
刊名: 中草药 
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2007, 38 (11)
被引用次数: 4次

参考文献(5条)

1. [中华人民共和国药典\(一部\)](#) 2005
2. [Zhou R H](#) [中药资源学](#) 1993
3. [Shi Y](#), [Shi R B](#), [Lu Y R](#) [Advances in studies on the resources, chemical constituents and pharmacology of medical honeysuckle in China](#)[期刊论文]-[中国药学杂志](#) 1999(11)
4. [Huang L Y](#), [Lü Z Z](#), [Li J B](#) [Studies on the chemical constituents of Japanese honeysuckle \(Lonicera japonica\)](#) 1996(11)
5. [Wang Y Z](#), [Zhang Z W](#) [Commentary on the research of honeysuckle processing drugs](#)[期刊论文]-[山东中医药大学学报](#) 2000(01)

本文读者也读过(10条)

1. [何兵](#), [冯文字](#), [田吉](#), [李春红](#), [艾洪兵](#), [HE Bing](#), [FENG Wen-yu](#), [TIAN Ji](#), [LI Chun-hong](#), [AI Hong-bing](#) [四川泸州山银花挥发油化学成分的气相色谱-质谱联用分析](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2007, 18(10)
2. [陆敏强](#), [黄辉庆](#) [中药山银花的HPLC/UV/MS指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中医临床研究](#)2010, 02(13)
3. [王柳萍](#), [辛宁](#), [张守平](#), [彭英奎](#), [欧阳明秀](#), [Liuping](#), [XIN Ning](#), [ZHANG Shou-ping](#), [PENG Ying-kui](#), [OU YANG Ming-xiu](#) [广西不同产地与加工方法山银花中绿原酸的含量比较](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2008, 19(6)
4. [曹冬红](#), [张贺文](#), [杨科](#), [李福双](#), [谭桂山](#), [徐康平](#), [CAO Dong-hong](#), [ZHANG He-wen](#), [YANG Ke](#), [LI Fu-shuang](#), [TAN Gui-shan](#), [XU Kang-ping](#) [高效液相色谱法测定山银花中绿原酸的含量](#)[期刊论文]-[中南药学](#)2007, 5(1)
5. [张玲容](#), [周日宝](#), [ZHANG Ling-rong](#), [ZHOU Ri-bao](#) [产地加工方法对山银花药材品质的影响](#)[期刊论文]-[湖南中医药大学学报](#)2011, 31(3)
6. [舒胜辉](#) [不同产地山银花有效成分绿原酸含量的比较研究](#)[期刊论文]-[中医药导报](#)2006, 12(5)
7. [陈君](#), [彭锋](#), [王河川](#), [王勇](#), [冯文字](#), [何兵](#), [CHEN Jun](#), [PENG Feng](#), [WANG He-chuan](#), [WANG Yong](#), [FENG Wen-yu](#), [HE Bing](#) [泸州山银花及其提取物高效液相色谱指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2008, 19(10)
8. [张尊建](#), [余静](#), [杨春华](#), [王兴旺](#), [徐向阳](#), [张蕙](#), [忍冬](#), [山银花HPLC/UV/MS指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2003, 25(11)
9. [刘来正](#), [赵桂珍](#), [王满恩](#), [冀小君](#), [程侯莲](#), [李宝霞](#) [山银花与其伪品华西忍冬的生药学比较研究](#)[期刊论文]-[农业与技术](#)2009, 29(6)
10. [陈文](#), [CHEN Wen](#) [山银花茎叶中绿原酸最佳提取方法工艺筛选研究](#)[期刊论文]-[成都医学院学报](#)2011, 06(1)

引证文献(4条)

1. [徐英宏](#), [姜清华](#), [菅凌燕](#), [李玉灵](#) [赤丹胶囊的HPLC指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2009(7)
2. [李小侠](#), [陶正明](#), [吴志刚](#), [林新春](#), [范传颖](#) [浙南忍冬属药材rbcL基因序列分析](#)[期刊论文]-[温州医学院学报](#) 2012(6)
3. [赵刚](#), [杜玮](#), [魏玉辉](#), [姚小军](#), [武新安](#) [银黄制剂的HPLC-ELSD指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2009(7)

4. [粟时颖](#), [郑兴](#), [廖端芳](#) [山银花研究进展](#) [期刊论文] - [南华大学学报\(医学版\)](#) 2009 (6)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200711015.aspx