

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

在测定范围内线性关系良好,平均加样回收率分别为97.8%、99.1%、97.9%,RSD分别为2.02%、1.93%、1.84% ($n=5$)。结论 方法操作简便、准确、重现性好,可用于同时测定血脂康胶囊中大豆苷元、黄豆黄素、染料木素的量。

关键词:血脂康胶囊;大豆苷元;黄豆黄素;染料木素;高效液相色谱

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)11-1645-03

Determination of daidzein, glycitein, and genistein in Xuezhikang Capsula

MA Xue-min^{1,2}, GUO Shu-ren^{1,2}, DUAN Zhen-wen^{1,2}, WANG Xiang-yun¹, LI Xiao³

(1. Institute of Chemistry and Molecule Engineering, Peking University, Beijing 100083, China; 2. Beijing WBL

Peking University Biotech Co., Ltd., Beijing 100083, China; 3. College of Life Science & Bioengineering,

Beijing University of Technology, Beijing 100022, China)

Key words: Xuezhikang Capsula; daidzein; glycitein; genistein; HPLC

血脂康胶囊是以红曲为原料的制剂,具有降血脂、抗动脉粥样硬化、抗癌、抗骨质疏松等临床疗效^[1]。血脂康胶囊中含有大豆苷元、黄豆黄素、染料木素等大豆异黄酮成分。大豆异黄酮具有抗癌、抗肿瘤、降血脂、抗动脉粥样硬化等广泛的生物效应^[2,3]。其测定方法目前主要有比色法、纸色谱法、薄层色谱法、气相色谱法和液相色谱法^[4~6]。比色法干扰多,专属性差,测定结果偏差大;纸色谱法和薄层色谱法分离效果差,定量分析误差大;气相色谱法需要复杂的前处理,影响结果的重现性。本实验采用HPLC法同时对血脂康胶囊制剂中的活性成分大豆苷元、黄豆黄素、染料木素进行了测定,为较全面地分析和控制其质量提供了简便的方法。

1 仪器与试剂

岛津LC-20AT高效液相色谱仪(日本岛津公司),SPD-M20A检测器,SIL-20A自动进样器,CLASS-VP色谱工作站,Mettler AE200万分之一电子天平(瑞士)。

大豆苷元、黄豆黄素、染料木素对照品为自制,质量分数大于99%;血脂康胶囊由北大维信生物科技有限公司提供;乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:YMC-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱;流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱:0 min(25%A)→15 min(45%A)→20 min(95%A),检测波长为256 nm;柱温为室温;体积流量为1.0 mL/min;进样量10 μL。色谱柱理论塔板数以大豆苷元峰计不低于3 000。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取大豆苷元、黄豆黄素、染料木素对照品适量,以MeOH-DMSO(1:1)准确配制成含大豆苷元6.8 μg/mL、黄豆黄素4.0 μg/mL、染料木素12.0 μg/mL的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取本品约0.3 g,精密称定后置于50 mL圆底烧瓶中,加入30 mL乙腈65℃水浴提取3次,30 min/次。合并3次提取液,减压蒸干,残渣以MeOH-DMSO(1:1)转溶至5 mL量瓶中,并以MeOH-DMSO(1:1)定容至刻度,摇匀,即得。

2.4 标准曲线的制备:取混合对照品溶液,自动进样2、4、6、8、10、12 μL,按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积积分值为纵坐标,对照品进样体积为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程。大豆苷元: $Y=29\,952X+424.4$, $r=0.999\,9$;黄豆黄素: $Y=21\,073X-809.4$, $r=1.000\,0$;染料木素: $Y=87\,470X+453.0$, $r=1.000\,0$ 。结果表明大豆苷元在13.6~81.6 ng,黄豆黄素在8.0~48.0 ng,染料木素在24.0~144.0 ng时,与峰面积呈良好线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取混合对照品溶液,连续进样6次,在上述色谱条件下测定对照品峰面积积分值,其RSD分别为大豆苷元0.69%、黄豆黄素0.98%、染料木素0.75%。

2.6 稳定性试验:取同一供试品溶液,按上述色谱条件分别在0、2、4、6、8 h进样,测得供试品溶液中大豆苷元、黄豆黄素、染料木素在8 h内峰面积的RSD分别为0.98%、1.34%、1.07%,说明供试品溶液在8 h内稳定。

2.7 重现性试验:精密称取同一批血脂康胶囊内容物0.3 g,共6份,制备供试品溶液,进样测定。结果大豆苷元质量分数为89.2 μg/g、黄豆黄素54.4 μg/g、染料木素158.8 μg/g, RSD分别为1.17%、1.25%、0.97%。

2.8 加样回收率试验:取同一批(大豆苷元89.2 μg/g、黄豆黄素54.4 μg/g、染料木素158.8 μg/g)的血脂康胶囊内容物0.15 g,精密称定,共6份,分别精密加入混合对照品溶液2 mL(其中大豆苷元6.8 μg/mL、黄豆黄素4.0 μg/mL、染料木素12.0

$\mu\text{g/mL}$),按供试品溶液制备方法处理,测定大豆苷元、黄豆黄素、染料木素的质量分数,计算平均回收率。结果大豆苷元 97.8%、黄豆黄素 99.1%、染料木素 97.9%,RSD 分别为 2.02%、1.93%、1.84%。

2.9 样品测定:取 3 批血脂康胶囊,每批重复测定 3 次,外标法计算大豆异黄酮的质量分数,色谱图见图 1,结果见表 1

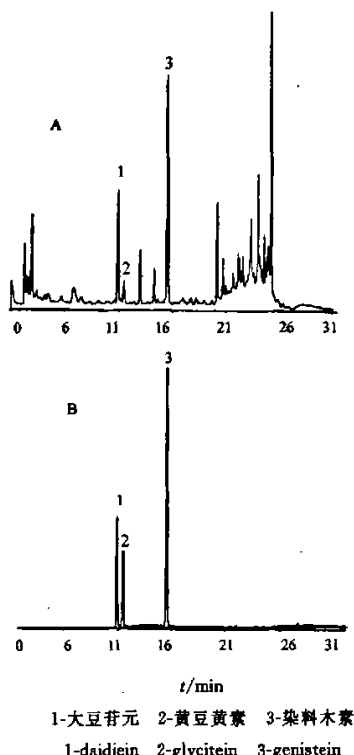


图 1 血脂康胶囊(A)和混合对照品(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of Xuezhikang Capsula (A) and mixed reference substances (B)

3 讨论

大豆苷元、黄豆黄素、染料木素的紫外最大吸收分别是 247、256、260 nm,由于 3 者中黄豆黄素的量最小,为提高其检测灵敏度,选择 256 nm 为检测波长。

血脂康胶囊为红曲发酵产品,含大量色素类成

表 1 血脂康胶囊中异黄酮的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of isoflavones in Xuezhikang Capsula ($n=3$)

批号	大豆苷元/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	黄豆黄素/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	染料木素/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
Y20051008	89.2	54.4	158.8
Y20051117	92.4	61.0	163.2
Y20060207	95.1	60.5	160.6

分,以甲醇或 75%乙醇作为提取溶剂时,色素类成分提取得较多,提取液颜色很深,影响色谱柱寿命。以乙腈作为提取溶剂,色素类成分提取得少,对色谱柱损伤小。同时经过试验,使用乙腈加热回流提取 3 次能将被测组分提取完全。

大豆异黄酮在各种溶剂中的溶解度较差,0.3 g 血脂康胶囊内容物的乙腈提取物完全转溶至 5 mL 量瓶中也比较困难,选用 MeOH-DMSO(1:1)作为溶剂,可以很好地克服溶解问题,并且对色谱行为没有影响。

笔者曾检测过样品中相应大豆苷量的情况,结果发现血脂康胶囊中大豆苷的量极少,推测在发酵过程中,苷在微生物的作用下转化成了相应的苷元。根据文献报道^[2],苷元的生物活性较苷的生物活性更强。

References:

- [1] Kou W R. The basic and clinic study of Xuezhikang [J]. *China Prescr Drug* (中国处方药), 2005, 40(7): 62-67.
- [2] Liu F. The processing of soybean isoflavones in the protection against cancer and coronary heart disease [J]. *J Prev Med Chin PLA* (解放军预防医学杂志), 2003, 21(4): 304-306.
- [3] Yang J Y, Zhang Y F, Wang Y L, et al. The application and physiology function of soybean isoflavones [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2003, 25(9): suppl2-suppl4.
- [4] Zhang Y M, Sun X B, Gao X N. UV Determination of total isoflavones in soybean [J]. *Chin J Public Health*, 2000, 12(4): 7-9.
- [5] Barnes K A. A microbore HPLC/ESI-MS method for the determination of the phytoestrogens genistein and daidzein in comminuted baby food and soyaflour [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 1998, 12(3): 130-138.
- [6] Kinoshita E. Differentiation of soy sauce types by HPLC profile pattern recognition. Isolation of novel isoflavones [J]. *Adv Exp Mep Biol*, 1998, 439: 117-129.

《中草药》杂志被评为“第五届中国百种杰出学术期刊”

2006 年 10 月 27 日中国科学技术信息研究所公布了“第五届中国百种杰出学术期刊”名单,《中草药》杂志获此殊荣——“第五届中国百种杰出学术期刊”。这个名单是按照期刊评价指标体系对重要指标(影响力因子、总被引频次、他引总引比、基金论文比和即年指标)进行打分的结果,并在近几年来召开了 20 余场专家研讨会,对评价指标不断进行推敲和改进而评出的。

摘自中国科学技术信息研究所《2005 年度中国科技论文统计与分析年度研究报告》

作者: [马学敏](#), [郭树仁](#), [段震文](#), [王祥云](#), [李霄](#), [MA Xue-min](#), [GUO Shu-ren](#), [DUAN Zhen-wen](#), [WANG Xiang-yun](#), [LI Xiao](#)

作者单位: [马学敏, 郭树仁, 段震文, MA Xue-min, GUO Shu-ren, DUAN Zhen-wen](#)(北京大学化学与分子工程学院, 北京, 100083; [北京北大维信生物科技有限公司](#), 北京, 100083), [王祥云, WANG Xiang-yun](#)(北京大学化学与分子工程学院, 北京, 100083), [李霄, LI Xiao](#)(北京工业大学生命科学与生物工程学院, 北京, 100022)

刊名: [中草药](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年, 卷(期): 2007, 38(11)

参考文献(6条)

1. [Kou W R](#) The basic and clinic study of Xuezhikang[期刊论文]-[中国处方药](#) 2005(07)
2. [Liu F](#) The processing of soybean isoflavones in the protection against cancer and coronary heart disease[期刊论文]-[解放军预防医学杂志](#) 2003(04)
3. [Yang J Y](#); [Zhang Y F](#); [Wang Y L](#) The application and physiology function of soybean isoflavones 2003(09)
4. [Zhang Y M](#); [Sun X B](#); [Gao X N](#) UV Determination of total isoflavones in soybean 2000(04)
5. [Barnes K A](#) A microbore HPLC/ESI-MS method for the determination of the phytoestrgens genistein and daidzein in comminuted baby food and soyafLOUR[外文期刊] 1998(03)
6. [Kinoshita E](#) Differentiation of soy sauce types by HPLC profile pattern recognition. Isolation of novel isoflavones 1998

本文读者也读过(10条)

1. [于军](#), [孙艳燕](#), [孙世伟](#). [YU Jun](#), [SUN Yan-yan](#), [SUN Shi-wei](#) 复方莪术油栓国内临床应用现状[期刊论文]-[黑龙江医学](#)2007, 31(10)
2. [夏泉](#), [刘金旗](#), [彭代银](#) 莪术油中莪术二酮的分离和鉴定[期刊论文]-[中成药](#)2008, 30(8)
3. [曹玲](#), [万嵘](#), [王玉](#), [CAO Ling](#), [WAN Rong](#), [WANG Yu](#) 反相高效液相色谱法测定莪术油注射液中莪术醇和牻牛儿酮的含量[期刊论文]-[中国生化药物杂志](#)2007, 28(6)
4. [程辉跃](#) 莪术油葡萄糖注射液中莪术醇及牻牛儿酮的含量测定[期刊论文]-[中国药业](#)2007, 16(23)
5. [王玉生](#), [汪小根](#), [唐铁鑫](#) 保妇康栓中莪术醇的毛细管气相色谱法含量测定[期刊论文]-[中成药](#)2004, 26(6)
6. [潘妮婕](#), [张尊听](#), [郑俊丽](#) 薄层扫描法测定槐角及槐角丸中染料木苷和总染料木素的含量[期刊论文]-[分析试验室](#) 2003, 22(z1)
7. [蒋永海](#), [JIANG Yong-hai](#) 高效液相色谱法测定虎梅含片中白藜芦醇苷的含量[期刊论文]-[中国医院药学杂志](#) 2006, 26(9)
8. [谢一凡](#), [顾雅芳](#), [周金娥](#), [陈泽乃](#), [陆阳](#), [XIE Yi-fan](#), [GU Ya-fang](#), [ZHOU Jin-e](#), [CHEN Ze-nai](#), [LU Yang](#) RP-HPLC测定染料木素-4'-葡萄糖苷及其有关物质[期刊论文]-[中国药学杂志](#)2007, 42(15)
9. [田书霞](#), [蒋晔](#), [TIAN Shuxia](#), [JIANG Ye](#) 紫外-可见分光光度法测定复方益康唑凝胶中莪术油的含量[期刊论文]-[中国药房](#)2006, 17(20)
10. [夏丽文](#), [李大维](#), [张丽杰](#), [XIA Li-wen](#), [LI Da-wei](#), [ZHANG Li-jie](#) 染料木素自乳制剂的制备及溶出度研究[期刊论文]-[哈尔滨商业大学学报\(自然科学版\)](#) 2010, 26(4)