

表 2 正交试验结果

Table 2 Design and results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	E	提取率/ %
1	1	1	1	1	1	5.371
2	1	2	2	2	2	5.914
3	1	3	3	3	3	7.574
4	1	4	4	4	4	7.909
5	2	1	2	4	3	6.694
6	2	2	1	3	4	6.242
7	2	3	4	2	1	7.130
8	2	4	3	1	2	6.639
9	3	1	3	2	4	7.964
10	3	2	4	1	3	7.357
11	3	3	1	4	2	7.553
12	3	4	2	3	1	8.525
13	4	1	4	3	2	9.597
14	4	2	3	4	1	9.418
15	4	3	2	1	4	9.742
16	4	4	1	2	3	8.268
k <sub>1</sub>	26.768	29.626	27.434	29.372	30.444	
k <sub>2</sub>	26.705	28.931	31.138	29.276	29.703	
k <sub>3</sub>	31.399	32.262	31.595	31.938	29.893	
k <sub>4</sub>	37.288	31.341	31.993	31.574	31.854	
R	10.520	2.636	4.559	2.662	2.151	

可见,两种工艺重现性良好,但是加酶工艺比不加酶提取率高 63.5%。

### 3 讨论

本实验探索利用紫外光谱分析叶下珠有效成分方法,实验结果表明,使用普鲁士蓝法测定叶下珠多酚数据溶液体系均一,工作曲线线性良好。用纤维

表 3 验证试验

Table 3 Test of verification

加酶组	提取率/ %	未加酶组	提取率/ %
1	9.746	1	5.959
2	9.739	2	5.953
3	9.750	3	5.965

素酶解可以较温和地破坏植物 β-D-葡萄糖键,将细胞壁破坏,使植物组织得以分解,加速有效成分的释放,从而提高得率。通过验证试验发现,酶法提取可以提高提取率 63.5%。酶法提取,不使用有机溶剂,对环境友好,易于实现绿色工业化生产。

#### 参考文献:

[1] 中国药典[S]. 一部. 2005  
 [2] 王碧,狄莹. 植物多酚[M]. 北京:科学出版社, 2001  
 [3] Syamasundar K V, Singh B, Thakur R, et al. Antihepatotoxic principles of *Phyllanthus niruri* [J]. *J Ethno Pharmacol*, 1995, 14(1): 19  
 [4] 蔡瑾,梁敬珏. 叶下珠化学成分及药理作用研究概况. [J]. 海峡药学, 2003, 15(1): F3  
 [5] Shin M S, Kang E H, Lee Y I. Aflavonoid from medicinal plants blocks hepatitis B virus e antigen secretion in HBV-infected hepatocytes [J]. *Antiviral Res*, 2005, 67(8): 163-168  
 [6] 谢志春,陈智平,苏洁寒,等. 抗乙肝表面抗原中草药的筛选体外及小鼠动物试验[J]. 广西医科大学学报, 2002, 19(4): 534  
 [7] 仲英,左春旭,李凤琴,等. 叶下珠化学成分及其抗乙肝病毒活性研究[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(6): 363  
 [8] 姜计划,孙琦,高秀英. 叶下珠提取工艺探讨[J]. 中成药, 1999, 21(增刊): 56

## HPLC法测定酸枣仁黄酮片中斯皮诺素

解军波<sup>1,2</sup>, 刘艳<sup>3</sup>, 张彦青<sup>1,2</sup>, 张明春<sup>1,2</sup>, 张美<sup>2</sup>, 郑菲<sup>2\*</sup>

(1 天津市食品生物技术重点实验室,天津 300134; 2 天津商业大学 制药工程系,天津 300134;

3 潍坊市人民医院,山东 潍坊 261216)

摘要:目的 建立酸枣仁黄酮剂中斯皮诺素的测定方法。方法 ODS C<sub>18</sub>柱(150 mm× 3.9 μm, 5 μm); 流动相:乙腈-水(0.1%醋酸),梯度洗脱;体积流量:0.8 mL/min;柱温:25℃;进样量:20 μL,检测波长:335 nm。结果 斯皮诺素在 4~20 μg/mL 呈良好的线性关系,平均加样回收率为 97.98%,RSD 为 2.58%。结论 该方法快速简便、精密度好、灵敏度高,可用于测定酸枣仁黄酮片中斯皮诺素。

关键词:酸枣仁黄酮片;斯皮诺素;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)10-1653-03

酸枣仁为鼠李科枣属植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的干燥种子,宁心安神、益阴敛汗,为镇静安神的传统

药物之一<sup>[1]</sup>。黄酮类化合物是酸枣仁功效表现的主要部位之一,历来受到较多重视。酸枣仁总黄酮提取物具有镇静安眠作用<sup>[2]</sup>。为进一步开发我国丰富

①收稿日期:2009-12-12

基金项目:国家星火计划项目(2010GA610023);天津市星火计划项目(09ZXHN05600)

作者简介:解军波(1975-),男,山东省潍坊市人,中药学博士,从事中药资源开发与质量评价研究。E-mail: junboxie@yahoo.com.cn

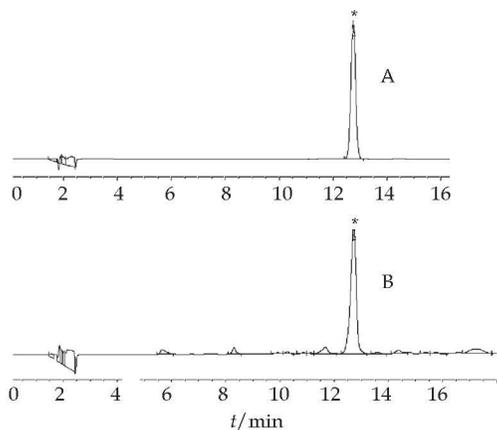
的酸枣仁资源, 本研究利用乳糖、微晶纤维素和β-环糊精作为主要辅料制备了酸枣仁黄酮片, 用于镇静安神。斯皮诺素是酸枣仁主要黄酮类成分<sup>[3-5]</sup>。目前关于酸枣仁及其相关制剂有效成分测定多为酸枣仁皂苷 A, B<sup>[6-8]</sup>。本实验建立了 HPLC 法用于测定酸枣仁黄酮片中斯皮诺素, 为酸枣仁黄酮片质量标准的制定提供一定的参考和依据。

### 1 仪器与试剂

安捷伦 1100 型高效液相色谱仪, Agilent1100 色谱工作站, 二极管阵列检测器, BP211D 电子天平 (Sartorius), KQ-218 型超声波清洗器 (江苏省昆山市超声仪器有限公司), 酸枣仁黄酮片 (自制, 片质量 200 mg), 斯皮诺素对照品 (上海同田生物技术有限公司, 质量分数大于 97%), 甲醇、乙腈、冰醋酸均为色谱纯, 其它试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: ODS C<sub>18</sub> 柱 (150 mm × 3.9 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (0.1% 醋酸), 梯度洗脱, 0~5 min, 10% 乙腈, 5~20 min, 17% 乙腈, 20~30 min, 23% 乙腈, 30 min 以后, 35% 乙腈; 体积流量: 0.8 mL/min; 柱温: 25 °C; 进样量: 20 μL, 检测波长: 335 nm。见图 1。



\* - 斯皮诺素

\* - spinosin

图 1 斯皮诺素对照品(A)和酸枣仁黄酮片(B)的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of spinosin reference substance (A) and Jujube Seed Flavonoid Tablets (B)

2.2 对照品溶液的配制: 精密称取斯皮诺素对照品 10.0 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀后, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取酸枣仁黄酮片适量, 置研钵中研磨, 精密称量粉末 100.0 mg, 置于 100 mL

量瓶中, 定量加入 80% 甲醇 25 mL, 超声 (超声功率 100 W) 震荡 10 min 溶解, 冷却至室温, 80% 甲醇定容, 混匀, 0.45 μm 针芯式微孔滤器滤过, 备用。

2.4 标准曲线的制备: 分别精密吸取斯皮诺素对照品溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 分别置 25.0 mL 量瓶中, 加 80% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 进样 20 μL, 测定。以进样质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得标准曲线方程  $Y = 192.3 X + 117.0$ ,  $r = 0.9995$ , 结果表明斯皮诺素在 4~20 μg/mL 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 取批号 20090516 酸枣仁黄酮片, 制备供试品溶液, 精密吸取 20 μL, 连续进样 5 次, 测定斯皮诺素峰面积, 计算得斯皮诺素峰面积 RSD 分别为 1.83%。

2.6 稳定性试验: 取批号 20090516 酸枣仁黄酮片, 制备供试品溶液, 精密吸取 20 μL 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进行分析, 测定斯皮诺素峰面积, 计算得斯皮诺素峰面积的 RSD 为 2.16%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验: 取批号 20090516 酸枣仁黄酮片 5 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算得斯皮诺素质量分数的 RSD 为 2.37%。

2.8 加样回收率试验: 精密称取批号 20090516 酸枣仁黄酮片粉末 100.0 mg, 加入 100 μg/mL 斯皮诺素对照品溶液 5 mL, 制备供试品溶液, 依法测定, 结果斯皮诺素的平均加样回收率为 97.98%, RSD 为 2.58%。

2.9 样品测定: 取 3 批酸枣仁黄酮片, 制备供试品溶液, 依法测定, 每批重复测定 3 次, 按标准曲线计算斯皮诺素质量分数。结果见表 1。

表 1 酸枣仁黄酮片中斯皮诺素的测定结果 (n = 3)

Table 1 Determination of spinosin in Jujube Seed Flavonoid Tablets (n = 3)

批号	斯皮诺素 / (mg · g <sup>-1</sup> )
20090512	5.57
20090516	5.46
20090517	5.62

### 3 讨论

酸枣仁中黄酮类成分是其镇静安眠的主要成分, 斯皮诺素是其主要黄酮类成分之一。目前关于酸枣仁及其相关制剂有效成分测定多为酸枣仁皂苷 A, B 和白桦脂酸。本研究采用乙腈-水 (0.1% 醋酸) 梯度洗脱, 得到较好的分离度, 且保留时间适当。方法学考察发现本方法可以很好地测定酸枣仁黄酮剂中斯皮诺素, 可以为酸枣仁黄酮剂质量标准的

制定提供一定的参考和依据。

#### 参考文献:

- [1] 彭智聪, 朱建军. 酸枣仁化学成分及药理研究进展[J]. 时珍国医国药, 2001(1): 86-87.
- [2] 吴玉兰, 许惠琴, 陈 洗. 酸枣仁不同炮制品及炒酸枣仁中总黄酮与总皂苷的镇静催眠作用比较[J]. 时珍国医国药, 2005(9): 868-869.
- [3] 王文龙, 云月英. 药食同源之酸枣仁[J]. 农产品加工学刊 2009(2): 67-70.
- [4] 张 雪, 丁长河, 李和平. 酸枣仁的化学成分和药理作用研究进展[J]. 食品工业科技 2009(3): 348-351.
- [5] 彭善祥. 酸枣仁的化学成分及其药理活性的研究结果[J]. 中国医药指南, 2009(4): 46-47.
- [6] 隋 宏, 周慧玲, 陈建峰, 等. HPLC-ELSD 测定酸枣仁合剂中酸枣仁皂苷 A 的含量[J]. 现代食品与药品杂志, 2007, 17(6): 35-37.
- [7] 张志斐, 袁志芳, 张兰桐, 等. 河北道地药材酸枣仁 HPLC-ELSD 指纹图谱研究[J]. 中草药, 2007, 37(8): 1247-1250.
- [8] 张彦青, 解军波, 张明春, 等. HPLC-ELSD 法测定酸枣仁滴丸中酸枣仁皂苷 A、B 和白桦脂酸[J]. 中草药, 2009, 40(2): 234-235.

## 三七胶囊中有机氯农药残留的分析研究

马临科, 陈碧莲, 俞建平, 罗 镭\*  
(浙江省食品药品检验所, 浙江 杭州 310004)

**摘要:**目的 测定三七胶囊中 15 种有机氯农药残留量。方法 用 GC-ECD 法测定, 弹性石英毛细管柱 DB 5 (30.0 m × 0.25 mm, 0.25 μm); 初始 80 °C 保持 1 min, 30 °C/min 升至 180 °C, 2.5 °C/min 升至 240 °C, 再以 40 °C/min 升至 280 °C, 保持 15 min。结果 样品的农药添加回收率为 70.9%~95.2%, RSD 为 2.9%~7.9%。所有样品中均检出有机氯类农药, 有 21% 样品中五氯硝基苯超标。结论 方法快速、准确、灵敏、成本低, 能满足三七胶囊中多种有机氯农药快速检测的要求。

**关键词:**三七胶囊; 有机氯农药; 气相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2010)10-1655-03

三七胶囊为三七经粉碎制成的胶囊剂, 具有散瘀止血, 消肿定痛的功能, 因三七胶囊由三七直接粉碎加工制成, 原料药材的质量是影响制剂质量的主要因素, 原料药材的质量除了药材的产地和规格外, 来自农药的污染影响不容忽视, 另外三七药材为多年生根类药材, 有机氯类农药会不断被蓄积而易受污染<sup>[1]</sup>, 所以对三七胶囊农药残留的控制和检测显得尤为重要。因有机氯农药具有化学性质稳定, 脂溶性大, 残留期长, 易在脂肪体中蓄积, 造成慢性中毒, 严重危及人体健康<sup>[2]</sup>, 以六六六(BHC)和滴滴涕(DDT)为代表的有机氯农药, 曾广泛使用于中药材栽培, 虽 BHC 和 DDT 已禁用多年, 但因其半衰期长, 在中药材中检出率仍较高, 所以本实验选择了高毒的、残效期长的有机氯类农药进行测定。

### 1 仪器与试剂

美国 Agilent 公司 6890N 气相色谱仪(配有电子捕获检测器); RE-52B 型旋转蒸发仪(上海博通); Mettler AE240 电子天平。

石油醚、丙酮为农残级(Merck 公司); 硫酸为分析纯; 对照品: BHC 包括 α-BHC、β-BHC、γ-BHC、δ-

BHC 4 种异构体, DDT 包括 p, p'-DDE、p, p'-DDD、o, p'-DDT、p, p'-DDT 4 种异构体, 五氯硝基苯(quintozene, PCNB)均购于国家标准物质研究中心(质量分数大于 99.0%); 六氯苯(hexachlorobenzene, HCB)、七氯(heptachlor, HEPT)、甲基五氯苯硫醚(methylpentachlorophenyl sulfide, MPCPS)、艾试剂(Aldrin, ALD)、环氧七氯(heptachlor epoxide, HCE)、氧化氯丹(oxychlorodane, OCD)均购于 Chem Service 公司, 质量分数均大于 98%。三七胶囊样品从全国各地抽样而得, 见表 1。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: DB 5 弹性石英毛细管柱(30.0 m × 0.25 mm, 0.25 μm), 电子捕获检测器(<sup>63</sup>Ni-ECD); 进样口温度: 250 °C, 不分流进样; 检测器温度: 320 °C; 程序升温: 初始 80 °C 保持 1 min, 30 °C/min 升至 180 °C, 2.5 °C/min 升至 240 °C, 再以 40 °C/min 升至 280 °C, 保持 15 min; 体积流量: 1.5 mL/min。色谱图见图 1。如样品中检出农药, 则采用 DB-17 弹性石英毛细管柱(30.0 m × 0.25 mm, 0.25 μm)进行验证。

①收稿日期: 2010-04-12

基金项目: 国家科技重大专项课题(2009ZX09308)

作者简介: 马临科(1978-), 男, 浙江诸暨人, 主管中药师, 主要从事中药质量标准研究。

Tel: (0571)86459425 E-mail: marlink78@126.com