

表 1 回收率试验结果

Tab 1 The results of recovery test

化合物	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
黄芩苷	6.729 3	6.500 0	12.989 0	96.30	97.3	1.71
	6.675 7	6.500 0	13.120 3	99.15		
	6.782 9	6.500 0	12.976 7	95.29		
	6.756 1	6.500 0	13.030 2	96.52		
	6.648 9	6.500 0	13.115 4	99.48		
	6.702 1	6.500 0	13.010 4	97.05		
黄芩素	1.583 8	1.500 0	3.102 3	101.23	98.4	2.05
	1.571 2	1.500 0	3.018 5	96.49		
	1.596 4	1.500 0	3.092 4	99.73		
	1.590 1	1.500 0	3.071 9	98.79		
	1.564 9	1.500 0	3.001 9	95.80		
	1.580 6	1.500 0	3.052 1	98.10		
汉黄芩素	0.514 6	0.502 0	1.020 3	100.75	98.1	1.65
	0.510 5	0.502 0	1.007 4	98.99		
	0.518 7	0.502 0	1.001 1	96.11		
	0.516 6	0.502 0	1.004 1	97.11		
	0.508 4	0.502 0	0.997 8	97.49		
	0.509 2	0.502 0	1.001 1	97.99		

表 2 样品中黄芩苷、黄芩素与汉黄芩素的含量测定结果
($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Determination results of baicalin, baicalein and wogonin($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

供试样品	含量/%		
	黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素
未纯化供试品	9.16±0.26	1.66±0.04	0.54±0.02
纯化供试品	27.52±0.66	6.87±0.19	2.13±0.09

本实验考察了黄芩经大孔吸附树脂纯化供试品与未纯化供试品的出膏率和 3 种黄酮的含量,

结果未纯化供试品的平均出膏率为 48.51%, 3 种黄酮总含量为 11.36%, 纯化供试品的平均出膏率为 14.46%, 3 种黄酮总含量为 36.52%。以上结果表明, 大孔吸附树脂可除去黄芩水提物中的大量杂质, 使出膏率大大降低, 并可较好地富集黄芩药材中的总黄酮类成分。

REFERENCES

[1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版.一部)[S]. 2010: 282.

[2] WANG C M, LIU G, FEI Y, et al. Study on purifying technology for total flavonoids in *Scutellaria baicalensis* by macroporous absorption resin [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2010, 41(1): 58-60.

[3] HOU X Z, ZHANG Z Q, YOU C X, et al. Determination of six constituents in *Scutellaria baicalensis* Georgi by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(11): 1010-1014.

[4] YUAN G J, LONG L N. Separation of rosmarinic acid from *Rosmarinus officinalis* L. with macroporous absorption resin [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2010, 21(1): 234-236.

[5] ZHANG X R, CUI B J, GUO W R. Study on extraction of active constituents of Yandeng dripping pills with macroporous adsorption resin [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(5): 440-442.

[6] XU J, CHEN Z X, YUAN C L. Optimization of extracting method for *Scutellaria baicalensis* in Xiexin dropping pills by orthogonal test [J]. Liaoning J Tradit Chin Med(辽宁中医杂志), 2006, 33(6): 731.

[7] XU J, CHEN Z X, YUAN C L. Study on separation and purification of total flavonoids from *Scutellaria baicalensis* by the method of macroporous adsorption resin [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中医药学刊), 2006, 24(9): 1648-1649.

收稿日期: 2012-08-06

山银花不同物候期总皂苷的含量测定

高立新(濮阳市油田总医院, 河南 濮阳 457001)

摘要: 目的 建立山银花药材中总皂苷含量测定方法。方法 采用分光光度法, 以香草醛-高氯酸为显色剂, 在 477 nm 处测定不同物候期山银花药材中总皂苷的含量。结果 灰毡毛忍冬皂苷乙在 0.501~6.012 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内呈良好的线性关系, 平均加样回收率为 100.1%。山银花花蕾不同发育期样品中总皂苷含量差异明显, 以灰毡毛忍冬皂苷乙计, 总皂苷含量在 8.00%~21.41%内均有分布。结论 山银花整个花期皂苷类成分差异明显, 其中银花期含量最高, 米蕾期最低。本实验为山银花药材的采收加工提供了数据支撑。

关键词: 山银花; 总皂苷; 灰毡毛忍冬皂苷乙; 比色法

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)10-1110-04

Determination of Total Triterpenoid Saponin in Different Buds Stages of *Lonicerae* Flos

GAO Lixin(Puyang City Oil Field General Hospital, Puyang 457001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the determination method of total triterpenoid saponins in *Lonicerae* Flos. **METHODS** The colorimetric method was used with vanillin-perchloric acid as the chromogenic reagent. The detection wavelength was set at 477 nm. **RESULTS** The linear range of macranthoidin B was 0.501–6.012 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and the average recovery was 100.1%. The contents of total triterpenoid saponin in the samples collected from the different stages of the buds of *L. macranthoides* were various and fluctuated from 8.00%–21.41%. **CONCLUSION** The obvious difference of the total content of triterpenoid saponin is observed in six development stages of the whole flower season of *L. macranthoides*. The content of total teripenoid saponin in the silver phase is highest and the bud phase is lowest. The present investigation provides the scientific evidences for the optimal selection of collection and process of *Lonicerae* Flos.

KEY WORDS: *Lonicerae* Flos; total triterpenoid saponin; macranthoidin B; colorimetric method

山银花 *Lonicerae* Flos 为忍冬科植物灰毡毛忍冬(*Lonicera macranthoides* Hand-Mazz.)、红腺忍冬(*Lonicera hypoglaucha* Miq.)、华南忍冬(*Lonicera Confuse* DC.) 或 黄褐毛忍冬(*Lonicera fulvotomentosa* Hsu et S. C. Cheng.)的干燥花蕾或带初开的花,具有清热解毒、疏散风热之功效,用于痈肿疔疮、喉痹、丹毒、热毒血痢、风热感冒、温病发热等^[1-2]。2010年版中国药典将山银花与金银花分列,并在药材质量标准项下收录了以绿原酸^[3]、灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙为评价指标的定量分析方法。关于金银花花蕾在不同发育期有效成分动态变化多有报道^[4-7],山银花花蕾在不同发育期的研究相对较少。本研究以总皂苷为指标,比较山银花花蕾不同发育期皂苷含量的差异。

1 仪器与试剂

对照品灰毡毛忍冬皂苷乙(自制, HPLC 面积归一化法纯度 $\geq 98\%$,经波谱分析鉴定结构)。

山银花样品采自湖南,经河南中医学院代丽萍副教授鉴定为忍冬科植物灰毡毛忍冬 *Lonicera macranthoides* Hand-Mazz. 的干燥花蕾或带初开的花。

T6 新世纪紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限公司); Sartorius 型电子天平(德国赛多利斯); KQ-100E 型超声波清洗器(昆山超声仪器科技有限公司);所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 最大吸收波长的确定

准确移取 0.1 mL 灰毡毛忍冬皂苷乙对照品溶液、50 μL 山银花甲醇提取液,分别置于 10 mL 具塞试管中,挥干溶剂,加入新鲜配制的 5%香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL,再加入高氯酸 0.6 mL,密塞、

摇匀,于 65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 20 min,立即取出用流水冷却至室温,加入冰醋酸 5 mL 稀释,摇匀。350~800 nm 内进行全波长扫描,以不加对照品和供试品的样品管为空白。对照品和供试品溶液在 477 nm 处均有最大吸收,确定山银花中总皂苷的测定波长为 477 nm。

2.2 对照品溶液的制备

取对照品灰毡毛忍冬皂苷乙适量,甲醇溶解并定容,得浓度为 0.501 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的灰毡毛忍冬皂苷乙对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

称取干燥的山银花样品粉末(过四号筛)约 0.1 g,精密称定,置入锥形瓶中,加入甲醇 25 mL,超声处理 45 min,冷却至室温,甲醇补充损失的重量,过滤,取续滤液 50 μL ,置于 10 mL 具塞试管中,按“2.1”项下方法进行显色,测定吸光度。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2”项下对照品溶液 10, 20, 40, 60, 90, 120 μL ,置 10 mL 具塞试管中,以试剂溶液作为参比,按“2.1”项下显色条件操作,在 477 nm 处分别测定吸收值(A),以吸收值为纵坐标,含量为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y=0.1838X+0.019$, $r=0.998$,结果表明灰毡毛忍冬皂苷乙在 0.501~6.012 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.5 仪器精密度试验

精密吸取灰毡毛忍冬皂苷乙对照品溶液 30 μL ,共 5 份,分别置于 10 mL 具塞试管中,按上述显色条件操作,测定吸光度,其 RSD 为 0.33 %。

2.6 重复性试验

称取干燥的山银花粉末约 1 g,共 6 份,精密称定,以试剂溶液作为参比,按“2.3”项下方法提取,按“2.1”项下方法测定吸光度,计算含量,以

灰毡毛忍冬皂苷乙计, 总皂苷平均含量为 8.92 %, RSD 为 2.01 %。

2.7 稳定性试验

取干燥的山银花粉末约 1 g, 精密称定, 按“2.3”项下方法提取、显色, 分别于显色后 0, 1, 2, 3, 4 h 测定吸光度, RSD 为 0.60%, 表明处理后的样品在显色后 4 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验

称量已知含量的山银花样品约 0.05 g, 共 9 份, 精密称定, 分别加入浓度为 0.501 mg·mL⁻¹ 灰毡毛忍冬皂苷乙对照品溶液适量(浓度为样品浓度的 80%、100%、120%), 按“2.3”项下方法提取, 按“2.1”项下方法显色, 测定吸光度, 计算加样回收率为 100.1%, RSD 为 1.14%。结果见表 1。

表 1 灰毡毛忍冬皂苷乙加样回收率

Tab 1 The recoveries of macranthoidin B

样品量/ mg	含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均值/ %	RSD/ %
50.12	4.47	3.51	8.04	101.7		
50.05	4.46	3.51	8.02	101.4		
50.02	4.46	3.51	8.00	100.9		
50.10	4.47	4.51	8.95	99.33		
50.09	4.47	4.51	8.99	100.2	100.1	1.14
50.10	4.47	4.51	8.92	98.67		
50.07	4.47	5.51	9.90	98.55		
50.04	4.46	5.51	9.94	99.46		
50.01	4.46	5.51	9.99	100.4		

2.9 样品测定

称取各样品粉末(过四号筛)约 1 g, 精密称定, 按“2.3”项下方法提取, 测定吸光度, 以灰毡毛忍冬皂苷乙计, 计算各样品中总皂苷含量。结果见表 2。

表 2 不同发育期山银花样品中总皂苷的含量

Tab 2 The contents of total triterpenoid saponin in *Lonicerae Flos* at different developmental stages

样品	采摘日期	发育期	总皂苷/%
1	2007 年 6 月	米蕾期	8.92
2	2013 年 6 月	米蕾期	8.00
3	2007 年 6 月	三青期	9.84
4	2013 年 6 月	三青期	9.87
5	2007 年 6 月	二白期	14.55
6	2013 年 6 月	二白期	10.64
7	2007 年 6 月	大白期	13.19
8	2013 年 6 月	大白期	16.95
9	2007 年 6 月	银花期	20.87
10	2013 年 6 月	银花期	21.41
11	2007 年 6 月	金花期	18.15
12	2013 年 6 月	金花期	16.95

3 讨论

本实验建立了山银花药材中总皂苷的含量测定方法, 并测定了 6 个不同发育期山银花样品中总皂苷的含量。结果表明山银花花蕾不同发育期样品中总皂苷含量差异显著, 以灰毡毛忍冬皂苷乙计, 总皂苷含量在 8.00%~21.41%内均有分布, 其中银花期含量最高, 米蕾期含量最低。不同年份采集的山银花样品相比, 总皂苷含量略有差异, 但 6 个发育期的变化趋势一致。

在供试品溶液制备方法考察过程中, 曾考察总皂苷在提取过程中是否需要石油醚脱色脱脂, 结果表明, 石油醚萃取对总皂苷测定结果没有显著影响; 而用水饱和的正丁醇萃取富集总皂苷时, 总皂苷损失较大, 并且乳化严重, 因此, 选择溶剂超声提取后提取液直接进行显色反应, 并对提取溶剂、超声时间、溶剂用量等进行单因素考察, 甲醇与乙醇相比, 甲醇提取效果较好; 超声 30, 45, 60 min 的比较结果表明, 45, 60 min 相当, 均优于 30 min 的提取效果; 溶剂用量分别考察了 20 倍、25 倍和 30 倍体积, 25 倍体积时提取率最高。因此, 最终确定山银花药材中总皂苷的提取工艺为甲醇 25 mL, 超声提取 45 min。

采用比色法测定总皂苷时常用的显色剂有香草醛-高氯酸、茴香醛-浓硫酸和对二甲氨基苯甲醛等, 实验曾初步比较了三者对于山银花中总皂苷显色的稳定性, 对二甲氨基苯甲醛存在试剂空白颜色较深, 可能干扰测定结果的情况; 香草醛-高氯酸和茴香醛-浓硫酸体系颜色较浅, 但显色后稳定性均不持久; 参考文献中香草醛-高氯酸为最常用的显色体系, 因此, 本实验最终选择了香草醛-高氯酸作为显色剂, 并采用正交试验对加热温度, 高氯酸用量, 加热时间和香草醛-冰醋酸浓度等显色条件进行了优选, 最后选择加入 0.2 mL 5%香草醛-冰醋酸, 0.8 mL 高氯酸于 65 °C 反应 20 min 作为显色条件; 根据稳定性实验的结果, 限定样品在显色后 4 h 内测定完毕。

REFERENCES

[1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 28.
[2] LI R, ZHOU Y S, KUANG S Y, et al. Study on the anti-atherosclerosis effect of *Lonicera macranthoides* Hand Mazz. extract [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2011,28(2):92-94
[3] HUANG X Z, WANG Z P, TAN Z Y. Identification and determination of *Lonicerae Flos* cultivated varieties in

- Guangxi [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2013, 30(4): 395-398.
- [4] XU Y C, ZHOU L Y, ZHANG J H. Phenological analysis upon yield and quality of Lonicerae Flos [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2002, 25(8): 539-541.
- [5] XU G J, SUI J T. The optimal collection season of Lonicerae Flos determined by HPLC [J]. Heilongjiang Med J(黑龙江医学), 2002, 26(11): 866.

- [6] ZHANG X H, LIU J J, LIU F L. A comparison investigation on the honeysuckles of different periods [J]. Res Pract Chin Med(现代中药研究与实践), 2003, 17(3): 13-14.
- [7] LIU Y G, LU J Q, GAO X Y, et al. Phenolic components and their contents in Lonicerae Flos of different periods by HPLC-MSⁿ analysis [J]. Pharm West China(西部药学), 2006, 3(3): 175-176.

收稿日期: 2012-11-05

SPE-HPLC 测定小儿氨酚黄那敏颗粒中 4 种合成色素

张西如, 赵江丽, 姜建国, 韩彬(河北省食品药品检验院, 石家庄 050011)

摘要: 目的 建立小儿氨酚黄那敏颗粒剂中合成色素的 SPE-HPLC 测定方法。方法 使用 SPE 固相萃取柱对合成着色剂进行净化、富集; 采用 HPLC 测定含量。色谱柱为 Inertsil ODS-3 C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 以甲醇-0.02 mol·L⁻¹ 乙酸钠溶液为流动相, 梯度洗脱; 检测波长为各自的吸收最大吸收波长(柠檬黄 428 nm, 日落黄 521 nm, 胭脂红 509 nm, 苋菜红 483 nm); 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL; 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果 柠檬黄、日落黄、苋菜红和胭脂红在 0.05~4 μg·mL⁻¹ 内呈良好线性关系($r \geq 0.999\ 5$), 平均回收率分别为 98.0%, 97.9%, 98.6%和 99.5%, RSD 均 < 0.9%。结论 该法操作简便、准确、重复性好, 可用于同时测定小儿氨酚黄那敏颗粒中的 4 中合成色素。

关键词: 合成色素; 高效液相色谱法; 固相萃取

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)10-1113-04

Simultaneous Determination of 4 Synthetic Colors in Child Paracetamol, Artificial Cow-bezoar and Chlorphena Mine Maleate Granules by SPE-HPLC

ZHANG Xiru, ZHAO Jiangli, JIANG Jianguo, HAN Bin(*Hebei Institute for Food and Drug Control, Shijiazhuang 050011, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a solid-phase extraction (SPE)-high performance liquid chromatographic(HPLC) method for the simultaneous determination of tartrazine, sunset yellow, ponceau 4RC and amaranth in Child Paracetamol, Artificial Cow-bezoar and Chlorphena Mine Maleate granules. **METHODS** The granule sample was dissolved in water, and the solution was purified and enriched by a polyamide SPE column. The eluate obtained was analyzed by HPLC method with Inertsil ODS-3 C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm), methanol-0.02 mmol·L⁻¹ ammonium acetate solution as mobile phase with gradient elution. For quantitative analysis, the detection was performed at the maximum absorption of the synthetic colors, they were 428 nm(tartrazine), 521 nm (sunset yellow), 509 nm (ponceau 4RC) and 483 nm (amaranth). The column temperature was 30 ℃ and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **RESULTS** The linear ranges of tartrazine, sunset yellow, ponceau 4RC and amaranth were 0.05~4 μg·mL⁻¹($r \geq 0.999\ 5$). The average recoveries were 98.0%(RSD=0.52%), 97.9%(RSD=0.38%), 98.6%(RSD=0.27%) and 99.5% (RSD=0.43%), respectively. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, and reproducible, can be used for the quality control of 4 synthetic colors in Child Paracetamol, Artificial Cow-bezoar and Chlorphena Mine Maleate granules.

KEY WORDS: synthetic colors; HPLC; solid-phase extraction(SPE)

合成色素是广泛使用的药用辅料, 硬胶囊壳、糖衣片和薄膜衣片、颗粒剂等都会适量添加以增加外观的美观性, 尤其是儿童用颗粒剂, 需用水溶解后服用。合成色素的鲜艳色泽还可以增加儿童服药的主动性。但合成色素是以苯、甲苯、萘

等化工产品为原料化学合成的^[1], 许多合成色素在生物体内可以转化成有害的衍生物^[2-3], 如致癌性物质α-氨基萘酚、β-萘胺^[4]。因此, 世界各国对合成色素的可用品种、适用范围和使用量均有严格的规定^[3]。药品中添加的色素多为水溶性, 而水溶