

黄金血康胶囊主要功效成分鉴别及总黄酮含量的测定

张连龙, 刁春霞*, 周华生, 成恒嵩, 任会娜, 高伟

(无锡健特药业有限公司, 无锡 214091)

摘要: **目的** 研究黄金血康胶囊主要功效成分鉴别及测定其总黄酮含量。**方法** 样品经溶剂提取、分离及纯化采用薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)及超高效液相色谱法(ultra performance liquid chromatography, UPLC)鉴别黄金血康胶囊主要功效成分及总黄酮含量测定。**结果** 以洛伐他汀为对照品, 薄层色谱法和超高效液相色谱法有效地鉴别了红曲粉。以丹参酮IIA为对照品, 薄层色谱法有效地鉴别了丹参提取物。以芦丁为对照品, 薄层色谱法有效地鉴别了银杏叶提取物。以槲皮素、山奈素及异鼠李素为对照品, 高效液相色谱法测定了样品中总黄酮含量。其中槲皮素的回归方程 $Y=403X+337$, $r=0.9991$, 线性范围 $0\sim60\ \mu\text{g/mL}$, 方法检测限 $3\ \text{ng/mL}$, 精密度为 1.25% , 回收率为 99.1% 。山奈素及异鼠李素这些参数与槲皮素基本相同。3批产品总黄酮含量重复性测定的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)分别为 1.49% 、 2.05% 、 2.31% , 符合定量测定要求。**结论** 上述的鉴别和含量测定方法专属性强, 重复性好, 灵敏度高, 可管控产品质量。

关键词: 黄金血康; 保健食品; 功效成分; 鉴别; 总黄酮含量

Identification of main functional ingredients and determination of total flavonoids content in Gold blood kang capsule

ZHANG Lian-Long, DIAO Chun-Xia*, ZHOU Hua-Sheng, CHENG Heng-Song,
REN Hui-Na, GAO Wei

(Wuxi Giant Pharmaceutical Co.Ltd., Wuxi 214091, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the main functional ingredients and to determine the total flavonoids content in Gold blood kang capsule. **Methods** After the samples were extracted, separated and purified by solvent, the main functional ingredients were identified and total flavonoids content were determined by thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC) and ultra performance liquid chromatography (UPLC) in Gold blood kang capsule. **Results** The monascus powder was effectively identified by TLC and UPLC using lovastatin as reference substance; the extract of *Salvia miltiorrhiza* Bunge was identified by TLC using tanshinone IIA as reference substance; the extract of ginkgo leaf was identified by TLC using rutin as reference substance; the flavonoids content was determined by HPLC, using quercetin, kaempferide and isorhamnetin as reference substances. Meanwhile, the regression equation of quercetin was $Y=403X+337$, $r=0.9991$. The range of

*通讯作者: 刁春霞, 执业药师, 主要研究方向为药品、保健食品的研制与产品质量分析方法。E-mail: 381983679@qq.com

*Corresponding author: DIAO Chun-Xia, Licensed Pharmacist, Wuxi Giant Pharmaceutical Co., Ltd., Wuxi 214091, China. E-mail: 381983679@qq.com

linearity was 0~60 $\mu\text{g/mL}$, limit of detection was 3 ng/mL , precision was 1.25%, and the recovery rate was 99.1%. The quantitative analysis of kaempferide and isorhamnetin were the same as quercetin. The relative standard deviation (RSD) of 3 batches of products was 1.49%, 2.05% and 2.31% respectively, which conformed to the quantitative assay requirements. **Conclusion** The above methods for identification and content determination are strong specificity, good repeatability and high sensitivity, and can control the product quality.

KEY WORDS: Gold blood kang; health food; functional ingredients; identification; total flavonoids

1 引言

黄金血康胶囊是经国家批准的保健食品(卫食健字(2001)第 0274 号),以红曲粉、丹参提取物及银杏叶提取物为原料,辅以淀粉经混合、灌装制成,具有调节血脂,辅助降低血压的保健功能。

为了保证保健食品的安全性,保健功能的有效性和质量的可控性,国家食品药品监督管理局印发了《保健食品注册审评审批工作细节》的通知:根据产品配方及相关研究结果等,可以确定产品鉴别方法的,应予以全面、准确的阐述^[1]。对于保健食品注册和延续注册审评审批时,将产品配方中主要原料及功效成分鉴别和含量测定应放在同等重要位置。中国药典^[2]和世界各国药典^[3]对收载药品的鉴别对象是标示药物,也就是鉴别药品的名称、处方是已知的,采用鉴别试验方法是用来判断其真伪。根据这一原则开展了黄金血康胶囊原料主要功效成分的鉴别和总黄酮含量测定的研究。但尚未检索到与黄金血康胶囊配方相同或相类似的产品鉴别方面的研究报道,只能对配方中单一原料进行检索,以期获得可供借鉴的鉴别方法。

红曲粉鉴别尚无标准,只有用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定洛伐他汀的含量^[4],国外有用高效薄层法分析蘑菇中洛伐他汀^[5]以及用 HPLC 法测定药品中洛伐他汀含量^[6,7]。对丹参单味药材,中国药典有薄层色谱法鉴别方法^[2],Naoya 等^[8]用 HPLC 荧光法测定丹参中丹参酮。对银杏叶及银杏叶提取物单味药材,中国药典^[2]及陆莉娟等^[9]用薄层色谱法鉴别银杏叶提取物真伪。黄酮含量测定国内外有很多研究报道,如 Xin 等^[10]用 HPLC 测定银杏叶中总黄酮,钮正睿等^[11]用超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS)测定银杏叶提取物中总黄酮和萜类内脂含量, Ma 等^[12]用 HPLC 测定银杏叶提取物中总黄酮醇苷。上述这些文献,有些比较复杂,有些可以借鉴,而以中国药典薄层色谱鉴别及含量测定方法有直接参考价值^[2]。

黄金血康胶囊是多种原料和辅料的混合物,成分比较复杂,干扰因素多。本研究以洛伐他汀为对照品,薄层色谱及超高效液相色谱法鉴别红曲粉;以丹参酮IIA 为对照品,薄层色谱法鉴别丹参提取物;以芦丁为对照品,薄

层色谱法鉴别银杏叶提取物;以槲皮素、山奈素及异鼠李素为对照品,高效液相色谱法测定产品中银杏总黄酮含量。鉴别方法的建立可以弥补黄金血康胶囊没有鉴别方法的短板,为该产品延续注册提供研究资料,为同类产品开展鉴别方面研究工作提供借鉴。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 试剂与样品

黄金血康胶囊(批号 190912、190913、190914,无锡健特药业有限公司);丹参酮IIA(纯度 99.8%)、芦丁(纯度 99.3%)、槲皮素(纯度 98.2%)、山奈素(纯度 98.9%)、异鼠李素(纯度 99.7%)、闭环洛伐他汀即洛伐他汀(纯度 99.9%)等对照品、红曲粉、丹参及丹参提取物、银杏叶及银杏叶提取物(中国食品药品检定研究院);开环洛伐他汀(以闭环洛伐他汀为原料,按 T/ZZB 1452 方法制备^[4]);硅胶 G 薄层板(100 $\text{cm} \times 10 \text{ cm} \times 0.25 \text{ cm}$)、硅胶 F_{254} 高效薄层板(100 $\text{cm} \times 10 \text{ cm} \times 0.25 \text{ cm}$)(青岛海洋化工厂);甲醇、乙腈(色谱纯,上海霍尼韦尔试剂有限公司);其余试剂(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);水为超纯水。

2.1.2 仪器设备

ACQUITY 超高效液相色谱仪、2695 高效液相色谱仪(配有紫外检测器,美国 Waters 公司);AE-240 分析天平(瑞士 Mettler 公司);RQ-50DB 超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 红曲粉的鉴别

(1)薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)

取胶囊内容物 2 g,加 75%乙醇溶液 10 mL,超声提取 30 min,放至室温,过滤,滤液水浴蒸干至 2 mL,作为样品溶液;取红曲粉对照药材 1 g,与样品同法制成对照药材溶液;取闭环洛伐他汀对照品适量,加 75%乙醇溶液溶解,制成 2 mg/mL 对照品溶液;取按样品配方及工艺制成不含红曲粉的胶囊内容物 1 g,与样品同法制成阴性样品溶液。

吸取上述 4 种溶液 5~10 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以二氯甲烷-丙酮(4:1, V:V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%磷钼酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点清晰,在日光灯下检视。

(2)超高效液相色谱法

取胶囊内容物 1 g, 放入 50 mL 离心管中, 加 pH 为 3 的磷酸水溶液 10 mL, 超声提取 30 min, 放至室温, 加三氯甲烷 10 mL, 涡旋混匀 3 min, 静置分层后, 弃去上层水相, 3500 r/min 离心 10 min, 取下层三氯甲烷 2 mL, 50 °C 水浴蒸干, 加流动相 10 mL 溶解, 作为样品溶液; 取红曲粉对照药材 0.5 g, 与样品同法制成对照药材溶液; 取闭环及开环洛伐他汀对照品适量, 加流动相溶解, 制成含闭环洛伐他汀 50 µg/mL 及开环洛伐他汀 15 µg/mL 的混合对照品溶液; 取按样品配方及工艺制成不含红曲粉的胶囊内容物 1 g, 与样品同法制成阴性样品溶液。

将上述 4 种溶液用 0.22 µm 滤膜过滤, 上机测定。

色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×50 mm, 1.7 µm);

流动相: 甲醇-水-磷酸(385:115:0.4, V:V:V);

柱温: 30 °C; 流速: 0.25 mL/min; 检测波长: 238 nm; 进样量: 2 µL。

2.2.2 丹参提取物的鉴别——薄层色谱法

取胶囊内容物 3 g, 加 95%乙醇 50 mL, 超声提取 30 min, 放至室温, 上清液过滤, 滤液水浴蒸干, 残渣用 20 mL 水溶解, 用水饱和正丁醇振摇提取 2 次, 每次 15 mL, 分取正丁醇液, 用正丁醇饱和水洗 2 次, 每次 15 mL, 弃去水相, 分取正丁醇液, 水浴蒸干, 残渣用 1 mL 乙酸乙酯溶解, 作为样品溶液; 取丹参对照提取物 0.5 g, 与样品同法制成丹参对照提取物溶液; 取丹参对照药材 1 g, 与样品同法制成对照药材溶液; 取丹参酮IIA 对照品适量, 加乙酸乙酯溶解, 制成 2 mg/mL 对照品溶液; 取按样品配方及工艺制成不含丹参及丹参提取物的胶囊内容物 2 g, 与样品同法制成阴性样品溶液。

吸取上述 5 种溶液 5 ~ 10 µL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(12:3:0.5, V:V:V)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 在日光灯下检视。

2.2.3 银杏叶提取物的鉴别——薄层色谱法

取胶囊内容物 1.2 g 至试管中, 加甲醇 10 mL, 超声提取 15 min, 放至室温, 过滤, 滤液作为样品溶液; 取银杏叶对照提取物 0.2 g, 与样品同法制成对照提取物溶液; 取银杏叶对照药材 1 g, 与样品同法制成对照药材溶液; 取芦丁对照品适量, 用甲醇溶解, 制成 4 mg/mL 对照品溶液; 取按样品配方及工艺制成不含银杏叶及银杏叶提取物的胶囊内容物 1.2 g, 与样品同法制成阴性样品溶液。

吸取上述 5 种溶液各 5 ~ 10 µL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-丁酮-甲醇-水(5:3:1:1, V:V:V:V)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 3%三氯化铝乙醇溶液, 在 105 °C 加热 10 min, 在日光灯下检视。

2.2.4 样品中总黄酮含量的测定

精密称取胶囊内容物 70 mg, 于 50 mL 烧瓶中, 加甲醇 20 mL, 再加 25%盐酸溶液 5 mL, 混匀, 水浴加热回流

30 min, 迅速冷却至室温, 转移至 50 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 作为样品溶液; 精密称取槲皮素、山柰素、异鼠李素对照品适量, 甲醇溶解, 制成各含 30 µg/mL 混合对照品溶液, 同时制取这 3 种对照品单一溶液, 以确定它们出峰时间。

将上述溶液用 0.22 µm 滤膜过滤, 上机测定。

色谱柱: WONCRACK ODS-2 (4.6 mm×250 mm, 5 µm)

流动相: 甲醇:0.4%磷酸溶液(50:50, V:V)

柱温: 30 °C; 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 360 nm; 进样量: 10 µL。

3 结果与分析

3.1 鉴别红曲粉

3.1.1 薄层色谱法

按照 2.2.1(1)方法试验后检视, 整个色谱图层次分明, 斑点清晰可见, 样品色谱中, 在与红曲粉对照药材及闭环洛伐他汀对照品相应的位置上显相同颜色的蓝色斑点, R_f 值一致, 阴性样品不显色(图 1), 说明该法专属性强。

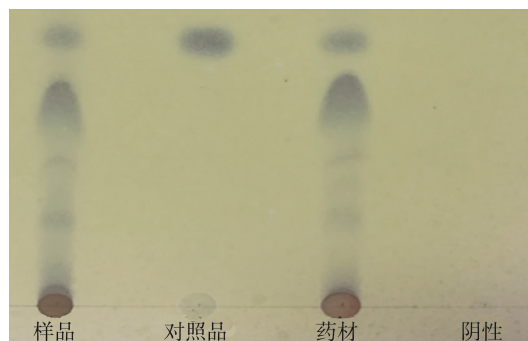


图1 红曲粉的薄层色谱图

Fig.1 Thin layer chromatogram of red yeast powder

T/ZZB 1452-2019《功能性红曲米(粉)》^[4]中没有红曲粉鉴别闭环和开环洛伐他汀的方法。采用国外高效薄层法分离蘑菇中闭环和开环洛伐他汀的方法进行实验^[5], 提取液为甲醇, 展开剂为三氯甲烷-甲醇(95:5, V:V), 硅胶 F₂₅₄ 高效薄层板(注: 高效薄层板是硅胶粒径 5~10 µm, F₂₅₄ 为在紫外光 254 nm 波长下显绿色背景的荧光剂)展开, 无法将闭环洛伐他汀对照品从样品和红曲粉对照药材中分离。这可能与黄金血康样品及红曲粉对照药材成分比蘑菇复杂有关。根据 2 种洛伐他汀微溶于水, 化学结构中含有四氢吡喃酯(图 2)^[5], 可溶于中性极性溶剂的性质, 经过多次实验, 选择 70%乙醇溶液为提取液, 二氯甲烷-丙酮(4:1, V:V)为展开剂, 硅胶 G 薄层板展开, 可将 2 种洛伐他汀中任何 1 种从样品及红曲粉中分离, 但 2 种洛伐他汀斑点重叠, 仍无法分离。这是因为闭环的分子量为 404.55, 开环的分子量为 422.57, 它们之间极性和分子量差异较小的缘故。但

可用其中的任何 1 种作为对照品来鉴别样品和红曲粉中含有洛伐他汀, 这项研究有所创新。将 2 种洛伐他汀分离在超高效液相色谱法鉴别中得到解决。

3.1.2 超高效液相色谱法

按照 2.2.1(2)方法试验后检视, 样品、红曲粉对照药材、开环及闭环洛伐他汀对照品, 均达到基线分离, 无拖尾, 主峰保留时间一致, 分别为 3.9 min 及 4.4 min, 阴性样

品则在此时间内不出峰(图 3)。这是因为超高效液相色谱的色谱柱填料粒径小(1.8 μm)理论塔板数高, 具有分离效果好, 除将 2 种洛伐他汀分离外, 还有分离时间短, 峰形对称, 节省试剂等优点, 这是薄层色谱法无法比拟的。

实验还选择高效液相色谱法, 用上述的色谱条件, 也能将这 2 种洛伐他汀分离, 但出峰时间分别要延后至 13 min 和 16 min, 且峰形较宽, 效果远不如超高效液相色谱法。

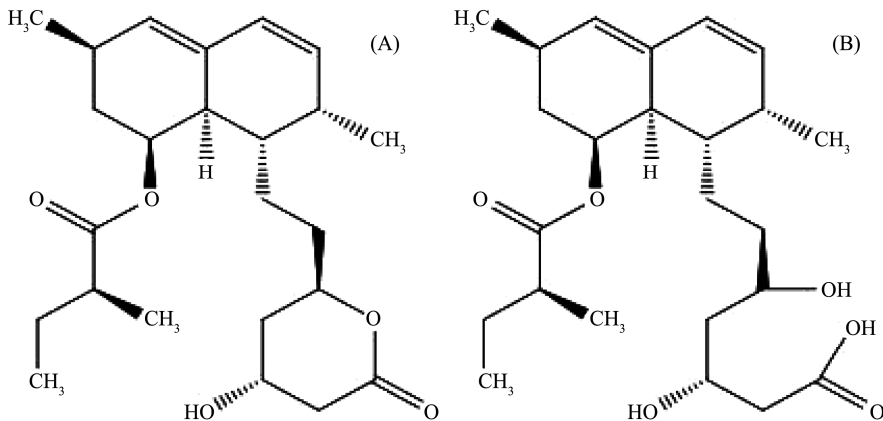


图 2 闭环洛伐他汀(A)和开环洛伐他汀(B)结构图
Fig.2 Closed lovastatin (A) and open lovastatin (B) structures

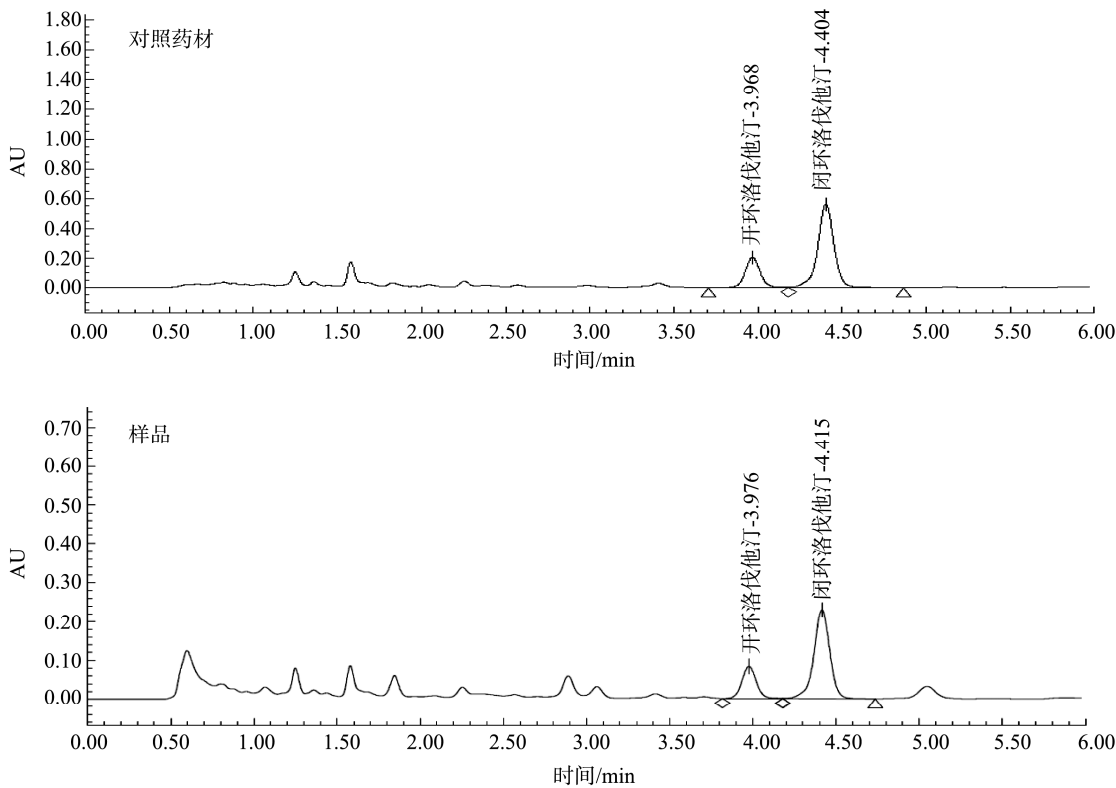
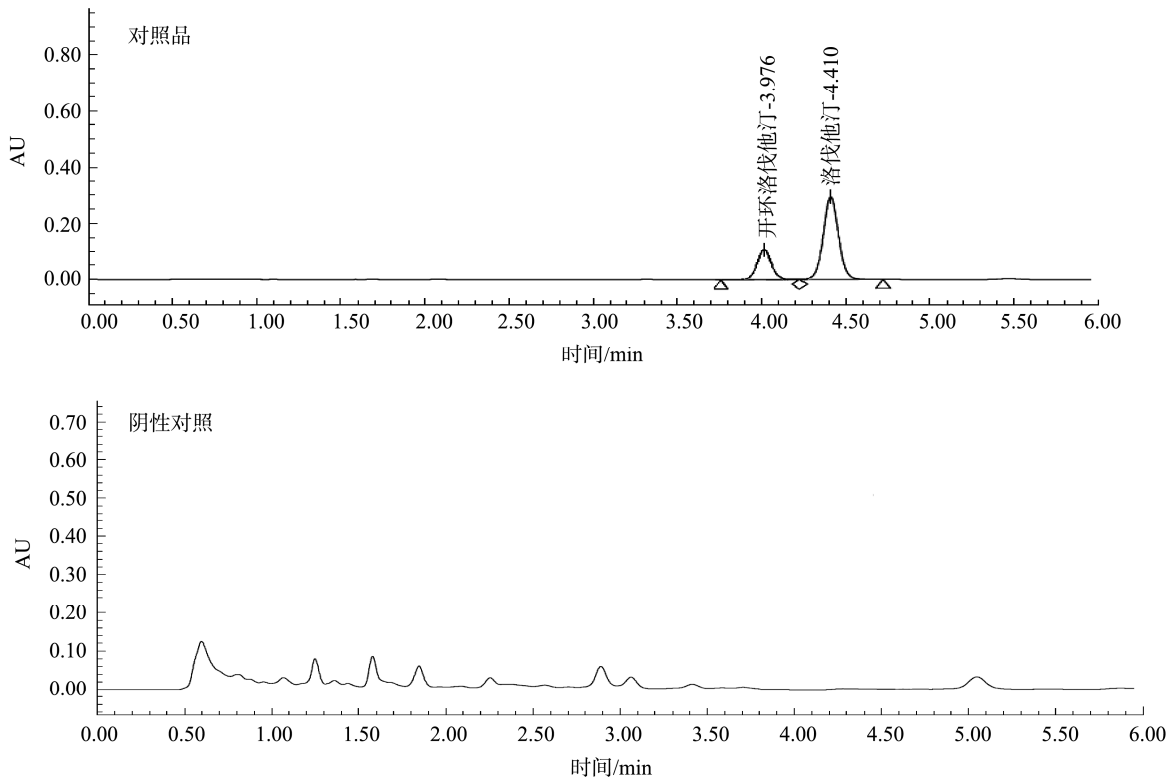


图 3 红曲粉的超高效液相色谱图
Fig.3 Ultra-high performance liquid chromatogram of red yeast powder



续图 3 红曲粉的超高效液相色谱图
Fig.3 Ultra-high performance liquid chromatogram of red yeast powder

上述 2 种鉴别方法可证实样品中存在红曲粉的功
效成分洛伐他汀。在洛伐他汀 2 种类型中, 人工合成的仅有
闭环洛伐他汀, 而以红曲霉发酵大米生产的红曲粉, 则开
环和闭环洛伐他汀同时存在, 它们都是红曲粉的主要功效
成分, 具有调节血脂、辅助降血压的功效^[13]。

3.2 薄层色谱法鉴别丹参提取物

按照 2.2.2 方法试验后检视, 样品色谱中, 在与丹参
对照提取物、丹参对照药材及丹参酮IIA 对照品相应的位
置上显相同颜色的橙红色斑点, 阴性样品不显色(图 4)。

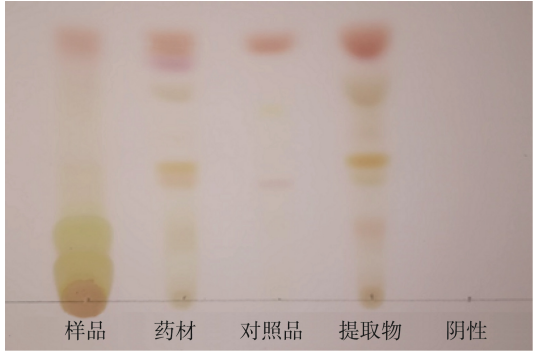


图 4 丹参提取物薄层色谱图
Fig 4 Thin layer chromatogram of *Salvia miltiorrhiza* extract

丹参提取物与丹参有所不同, 若采用中国药典丹参
单味药材的方法^[5]进行鉴别, 需 2 次展开。先用三氯甲烷-
甲苯-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(6:4:8:1:4, V:V: V:V:V)展开, 晾干
后, 再用石油醚(60 ~ 90 °C)-乙酸乙酯(4:1, V:V)展开, 费
时、费试剂, 分离效果不理想。经过多次实验作了较大改
进, 用环己烷-乙酸乙酯-甲酸(12:3:0.5, V:V:V)一次展开,
可取得较好效果。

样品与丹参对照药材、对照提取物、丹参酮IIA 对照
品, 均有 1 个主斑点丹参酮IIA 位置和颜色一致, 证实样品
中有丹参提取物的真实存在。

丹参酮IIA 是丹参提取物的主要功效成分之一, 具有
活血化瘀, 疏通血管的作用^[14]。

3.3 薄层色谱法鉴别银杏叶提取物

按照 2.2.3 方法实验后检视, 样品色谱中, 在与银杏
叶对照提取物, 银杏叶对照药材及芦丁对照品的相应的位
置上显相同颜色的黄色斑点, 阴性样品不显色(图 5)。放置
1 d 后, 颜色更为清晰。中国药典有银杏叶及银杏叶提取物
的鉴别方法^[2]。银杏叶鉴别用 40%乙醇提取, 4%醋酸钠溶
液制备的硅胶 G 薄层板分离, 乙酸乙酯-丁酮-甲醇-水
(5:3:1:1, V:V:V:V)为展开剂, 3%三氯化铝乙醇溶液显色, 以
银杏叶对照药材一对一进行比对确定真伪。银杏叶对照提

取物鉴别用正丁醇提取, 4%醋酸钠的羧甲基纤维素钠溶液制备的硅胶 G 薄层板分离, 展开剂, 显色剂同银杏叶, 以银杏叶对照提取物一对一进行比对确定真伪。用这 2 种方法鉴别只能将银杏叶对照药材及银杏叶对照提取物中功效成分芦丁分离, 而无法将黄金血康胶囊样品中芦丁分离, 未达到实验目的。本研究亦作了较大改进, 用甲醇 1 种提取剂, 硅胶 G 1 种薄层板分离, 可达到这一要求, 这可能与提取剂的极性不同和薄层板 pH 值有关。

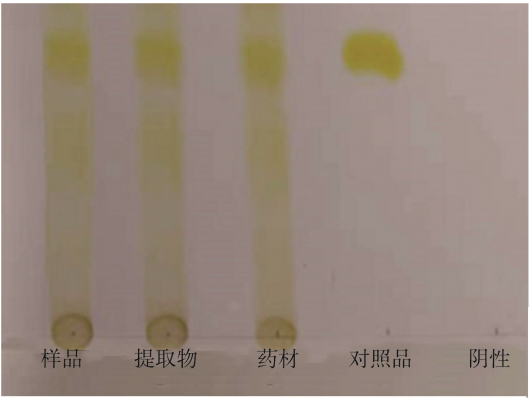


图 5 银杏叶提取物的薄层色谱图
Fig.5 Thin layer chromatogram of Ginkgo biloba extract

样品与银杏叶对照药材、银杏叶对照提取物、芦丁对照品均有 1 个主斑点位置和颜色一致, 证实样品中有银杏叶提取物的真实存在。

3.4 高效液相色谱法测定样品中总黄酮的含量

在上述原料鉴别无误的基础上, 按照 2.2.4 的方法进行总黄酮含量的测定。

银杏叶提取物是黄金血康胶囊中主要原料之一, 它含有 20 多种黄酮类化合物, 通常都以糖苷的形式存在。糖苷是糖与苷元通过糖的端基碳原子连接而成的一类化合物。银杏黄酮主要苷元为槲皮素、山柰素及异鼠李素, 连接苷元的糖主要为葡萄糖及鼠李糖。要测定每一种黄酮含量十分复杂, 中国药典^[2]和相关文献^[15,16]测定银杏总黄酮含量时, 样品先用酸水解, 使糖苷键断开, 将这 3 种苷元游离在水解液中, 再分别测定其含量, 乘以转换系数(2.51), 以总黄酮醇苷的含量表示总黄酮的含量。总黄酮醇苷含量=(槲皮素含量+山柰素含量+异鼠李素含量)×2.51。

3.4.1 色谱分离图

样品及对照品中槲皮素、山柰素、异鼠李素 3 个主峰能基线分离, 不受杂质干扰, 并且保留时间一致(图 6), 说明可以进行定量测定。

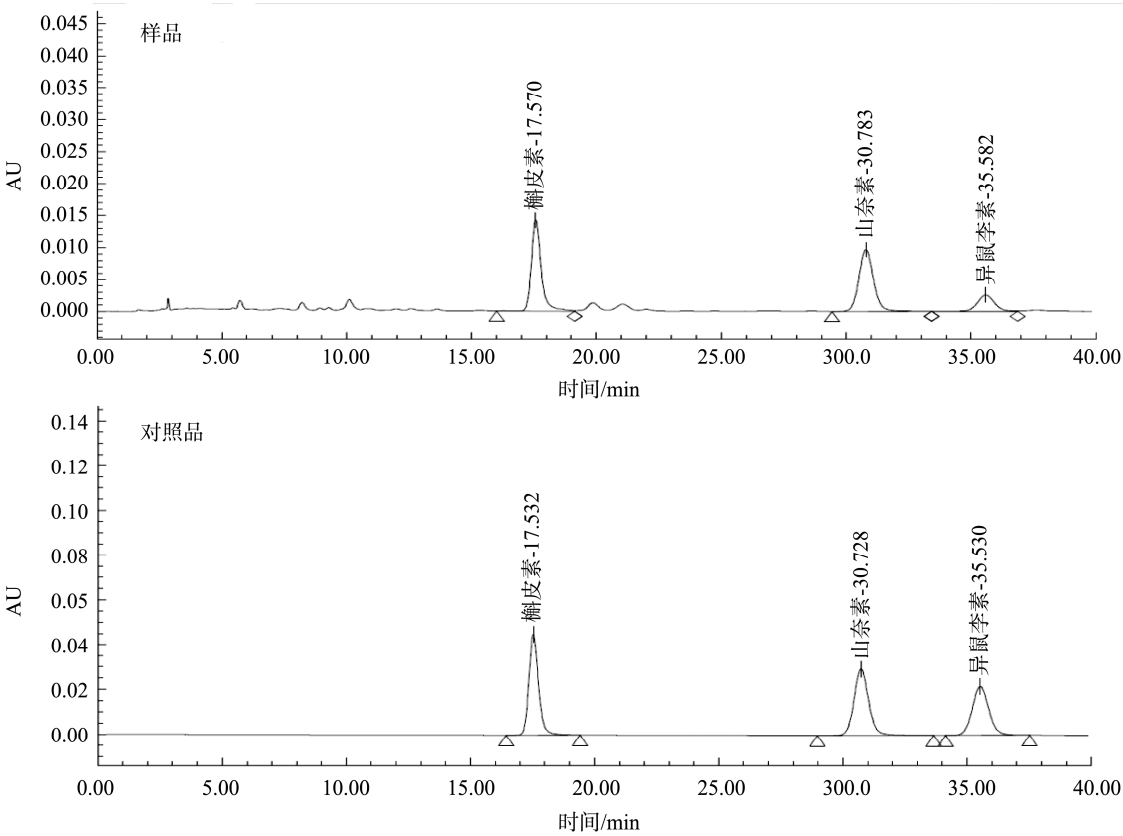


图 6 样品及对照品高效液相色谱图
Fig.6 High performance liquid chromatogram of sample and reference

3.4.2 方法学验证

(1)线性回归方程、相关系数、线性范围及方法检测限
精密称取 3 种苷元, 用甲醇溶解稀释成 0、10、20、30、40、50、60 $\mu\text{g/mL}$, 7 种不同浓度梯度进行测定, 以浓度与峰面积计算回归方程、相关系数, 确定线性范围, 并以已知低浓度样品测出的信号与空白样品测出的信号的信噪比 3:1(S/N)相应浓度确定方法检测限(表 1)。其浓度与峰面积呈直线回归、相关性好、线性范围宽、方法检测限低、灵敏度高。

(2)方法精密度

取均匀样品某一最适浓度重复 6 次测定峰面积, 精密度(relative standard deviation, RSD)为 1.25%~3.77%(表 2), 说明重复性好, 精密度高。

(3)方法回收率

在线性范围内, 采用加标回收的方法进行测定。称取已知含量的样品 6 份, 加入一定量的对照品按测定方法处理和测定, 计算回收率和 RSD。其中槲皮素平均回收率为 99.1%, RSD 为 3.67%; 山奈素平均回收率为 98.1%, RSD 为 4.51%; 异鼠李素平均回收率为 98.6%, RSD 为 4.23%(表 3)。说明回收率好, 准确度高

3.5 样品中总黄酮含量的测定

在产品工艺稳定的条件下和方法学验证基础上, 对连续 3 批产品中总黄酮含量进行了定量测定, 每批次重复 3 次, RSD 分别为 1.49%~2.31%, 说明每批样品总黄酮测定, 重复性好, 精密度高, 符合定量测定要求(表 4)。

表 1 3 种苷元的线性回归方程、相关系数、线性范围及方法检测限(n=6)
Table 1 linear regression equation, correlation coefficient, linear range and detection limit of three aglycones(n=6)

名称	线性方程	相关系数(r)	线性范围/ $(\mu\text{g/mL})$	方法检测限/(ng/mL)
槲皮素	$Y=403X+337$	0.9991	0~60	3
山奈素	$Y=212X+123$	0.9989	0~60	3
异鼠李素	$Y=224X-212$	0.9993	0~60	5

表 2 方法精密度(n=6)
Table 2 Method precision (n=6)

名称	峰面积						RSD/%
	1	2	3	4	5	6	
槲皮素	30192	30347	30686	29594	30457	30474	1.25
山奈素	24153	23836	24688	25263	24225	24679	2.07
异鼠李素	18115	19237	18217	17913	17637	17223	3.77

表 3 方法回收率
Table 3 Method recovery rate

名称	已知量/ $(\mu\text{g/mL})$	加入量/ $(\mu\text{g/mL})$	测定量/ $(\mu\text{g/mL})$	回收率/%	平均回收率/%	RSD /%
槲皮素	16.4	16.6	32.6	97.6	99.1	3.67
	16.0	16.6	32.2	97.6		
	16.2	16.6	32.1	95.8		
	16.8	16.6	33.8	102.4		
	16.4	16.6	32.4	96.4		
	16.2	16.6	33.6	104.8		
山奈素	13.2	13.0	25.8	96.9	98.1	4.51
	12.8	13.0	25.1	94.6		
	13.0	13.0	25.6	96.9		
	13.4	13.0	26.8	103.1		
	12.2	13.0	25.7	103.8		
	13.5	13.0	25.6	93.1		
异鼠李素	10.0	9.8	20.1	103.1	98.6	4.23
	9.7	9.8	19.0	94.9		
	9.7	9.8	19.4	96.9		
	10.3	9.8	19.9	98.0		
	10.1	9.8	19.8	99.0		
	9.6	9.8	20.0	106.1		

表 4 3 批样品中总黄酮含量重复性测定结果
Table 4 Repeatability determination results of total flavonoids in three batches of samples

批号	总黄酮含量/(mg/100 g)			平均值/ (mg/100 g)	RSD/%
	1	2	3		
190912	4824	4719	4689	4744	1.49
190913	4631	4823	4751	4735	2.05
190914	4687	4652	4856	4732	2.31

芦丁、槲皮素，山奈素及异鼠李素是银杏叶提取中的主要功效成分，同样具有降低血压和调节血脂的功效^[17]。

4 结 论

黄金血康胶囊中含有红曲粉、丹参及银杏叶提取物。其中红曲粉主要功效成分为开环和闭环洛伐他汀，丹参提取物的主要功效成分为丹参酮IIA。银杏叶提取物的主要功效成分为芦丁、槲皮素、山奈素及异鼠李素。通过对这 3 种原料进行了鉴别，证实它们的真实存在。其中红曲粉的 TLC 法鉴别没有直接参考文献，研究方法有所创新，但还不能同时在样品中分离 2 种洛伐他汀，有待进一步研究。用 UPLC 法可同时分离 2 种洛伐他汀，提高了鉴别效果。TLC 法鉴别丹参提取物与药典相比有较大改进，将 2 种展开剂简化为 1 种，提高了鉴别效率。TLC 法鉴别银杏叶提取物与药典相比，也作了改进，将 2 种提取剂及 2 种薄层板均简化为 1 种，节省了时间，提高了鉴别效能。同时在薄层色谱鉴别丹参及银杏叶提取物中，实验设计多个参照物比药典单一参照物，增加了实验结果可信度。HPLC 法测定产品中槲皮素、山奈素及异鼠李素含量，确定总黄酮(黄酮醇苷)的含量使鉴别与含量测定互为补充，有效的管控产品质量。

参考文献

[1] 国家食品药品监督管理总局. 关于印发保健食品注册审评审批工作细则的通知(食药监食监三(2016)139 号)[Z].
Circular of the State Administration of Food and Drug Administration. The issuance of detailed rules for the examination, examination and approval of the registration of health food (food, drug and food supervision No. 3 (2016) 139) [Z].
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia (part one) [M]. Beijing: Chinese Medical Science And Technology Press, 2015.
[3] 刘文英. 药物分析(第 6 版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
Liu WY. Pharmaceutical analysis (6th Edition) [M]. Beijing: People's Health Press, 2008.
[4] T/ZZB 1452-2019 功能性红曲米(粉)[S].

T/ZZB 1452-2019 Functional red yeast rice (powder) [S].
[5] Vijay VP, Vinay KV, Amit P. Development and validation of a robust high-performance thin layer chromatographic (HPTLC) method for the analysis of lovastatin in higher *Basidiomycetous* mushrooms [J]. J Appl Nat Sci, 2018, 10(3): 1059–1062.
[6] Taizia DS, Marcelo AO, Renata BO, *et al.* Development and validation of a simple and fast HPLC method for determination of lovastatin, pravastatin and simvastatin [J]. J Chromatogr Sci, 2012, 50(9): 831–838.
[7] Devika GS, Sudhakar M, Venkateshwararao J. Development and validation of RP-HPLC method for simultaneous determination of niacin (extended release) and lovastatin in oral solid dosage form [J]. Orient J Chem, 2012, 28(2): 887–893.
[8] Naoya K, Akiko Y, Mahmoud H, *et al.* Determination of tanshinones in danshen (salvia miltiorrhiza) by HPLC with fluorescence detection after pre-column derivatization [J]. Phytochem Anal, 2018, 29(1): 112–114.
[9] 陆莉娟, 石晶萍, 洪丽萍. 一种掺伪银杏叶提取物的初步分析鉴定[J]. 中国合理用药探索杂志, 2017, 14(6): 53–56.
Lu LJ, Shi JP, Hong LP. Preliminary Analysis and identification of an extract from adulterated ginkgo leaves [J]. Chin J Ration Drug Use, 2017, 14(6): 53–56.
[10] Xin GL, Liu SQ, Si W, *et al.* Advancement in the chemical analysis and quality control of flavonoid in ginkgo biloba [J]. J Pharm Biomed Anal, 2015, 113(10): 212–215.
[11] 钮正睿, 郑天驰, 曹进, 等. 超高效液相色谱串联四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱同时测定含银杏叶提取物保健食品中的萜类内酯和黄酮醇类成分[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(7): 2477–2485.
Niu ZR, Zheng TC, Cao J, *et al.* Simultaneous determination of terpenoid lactones and flavonols in health food containing ginkgo biloba L. extracts by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(7): 2477–2485.
[12] Ma YC, Ana MN, Cai YL, *et al.* An effective identification and quantification method for ginkgo biloba flavonol glycosides with targeted evaluation of adulterated products [J]. Phytomedicine, 2016, 23(4): 377–387.
[13] 贾林珍, 卫林亭. 洛伐他汀的药理作用特征及临床合理应用[J]. 临床合理用药杂志, 2015, 8(12): 14–15.
Jia LZ, Wei LT. Pharmacological characteristics of lovastatin and its rational clinical application [J]. Chin J Clin Ration Drug Use, 2015, 8(12): 14–15.
[14] Hyouju J, Li CG. Molecular mechanisms of cardioprotective actions of tanshinones [J]. J Chem, 2016, 14(8): 14–18.
[15] 宋唯唯, 刘芬芬, 刘彩红. 高效液相色谱法测定银杏叶提取物中总黄酮醇苷含量[J]. 泰山医学院学报, 2016, 37(1): 33–35.
Song WW, Liu FF, Liu CH. Determination of total flavonol glycosides in Ginkgo biloba extract by HPLC [J]. J Taishan Med Coll, 2016, 37(1): 33–35.
[16] 芦增增, 王慧, 张秀雨, 等. 银杏叶黄酮苷元的研究进展[J]. 现代食品, 2019, (5): 58–60.
Lu ZZ, Wang H, Zhang XY, *et al.* Research progress of flavonoid

aglycone from Ginkgo leaves [J]. Mod Food, 2019, (5): 58–60.

- [17] Tian JF, Chen KJ. Ginkgo biloba extract in vascular protection, molecular mechanisms and clinical applications [J]. Current Vasc Pharmacol, 2017, 6(15): 123–127.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



张连龙, 硕士, 研究员级高级工程师, 主要研究方向为药品、保健食品的研制与产品质量分析方法。

E-mail: 924137657@qq.com



刁春霞, 执业药师, 主要研究方向为药品、保健食品的研制与产品质量分析方法。

E-mail: 381983679@qq.com