

表 1 山茱萸炮制前后有效成分的比较 (n=3)

Table 1 Quantitative analysis of active compositions in crude and processed *Fructus Cornis* (n=3)

山茱萸	没食子酸/%	RSD/%	5-羟甲基糠醛/%	RSD/%	莫诺苷/%	RSD/%	马钱素/%	RSD/%
甲醇提取	生品	0.08	1.85	0.06	3.06	1.91	1.57	1.41
	制品	0.28	1.79	0.78	3.08	1.38	1.45	1.27
	变化率/%	250		1200		-27.7		-9.9
水煎	生品	0.09	1.92	0.24	3.31	1.88	1.41	1.45
	制品	0.29	1.82	0.84	2.97	1.42	1.86	1.28
	变化率/%	222		250		-24.5		-11.7

3 讨论

5-羟甲基糠醛主要是由己糖经加热分解产生,广泛存在于含有糖类物质的植物和食品中,一般在炮制或加热后其量会增加^[2]。本实验发现山茱萸酒蒸品中5-羟甲基糠醛的量较生品中明显增加,这证实了蒸制能增加5-羟甲基糠醛的量;另外,还发现生品水煎煮提取物中5-羟甲基糠醛的量也较甲醇超声提取物中的高出约3倍,而制品则差别不大,这也证实了加热对5-羟甲基糠醛的量确有很大的影响。

本实验建立了在同一高效液相色谱条件下测定山茱萸中没食子酸、5-羟甲基糠醛、莫诺苷和马钱素峰的分析方法,这为进一步研究山茱萸炮制前后指纹图谱奠定了基础,也为制定山茱萸炮制工艺标准、探讨其炮制机制提供了依据。

目前普遍认为5-羟甲基糠醛有一定的毒副作用,

但近几年来研究表明它还具有抗氧化、改善血流变学等对人体有利的作用^[2]。本实验室的研究发现山茱萸二氯甲烷部位具有特异性体液免疫增强作用,经分离分析得知其主要成分为5-羟甲基糠醛。此外,药理实验还表明5-羟甲基糠醛对小鼠急性肝损伤具有保护作用,对H₂O₂所致血管内皮细胞SOD活力减低有逆转作用,可保护血管内皮细胞。因此,5-羟甲基糠醛可以作为山茱萸的一个重要指标活性成分,这为制定山茱萸炮制工艺标准,研究山茱萸炮制机制提供了新的思路。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.2005.
- [2] Geng F, Wang X J. Present situation of study on 5-hydroxymethyl-2-furfural [J]. 世界科学技术——中医药现代化,2005,7(6):52-56.

总丹参酮不同纯化工艺的比较

吴婉莹,杨 洲,侯晋军,果德安

(中国科学院上海生命科学研究院药物研究所,上海 201203)

摘要:目的 比较总丹参酮不同的纯化工艺,以期寻找到一种有效部位质量分数大于50%,方便可行,适于大生产的提取工艺。方法 以总丹参酮和丹参酮ⅠA的质量分数作为考察指标,对水沉和大孔树脂纯化工艺进行考察。结果 水沉后上大孔树脂再纯化及直接上大孔树脂纯化所得总丹参酮质量分数与直接醇提水沉所得结果没有显著性差异。结论 采用醇提水沉即可得到符合要求的总丹参酮。

关键词:丹参;总丹参酮;醇提水沉;大孔吸附树脂;纯化

中图分类号:R286.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2008)12-1815-04

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根及根茎,其活性成分为水溶性酚酸类成分和脂溶性丹参酮类成分,其中脂溶性成分主要有丹参酮ⅡA、异丹参酮、隐丹参酮等^[1]。丹参中脂

溶性成分提取工艺已有相关研究报道^[2,3],但对于适于生产的获取高质量分数的丹参酮的研究报道较少。根据丹参酮的性质,本实验采用95%乙醇提取后,分别考察了不同的纯化工艺,并以总丹参酮、丹

收稿日期:2008-04-07

基金项目:上海市科委中药现代化专项项目(05DZ19701)

作者简介:吴婉莹(1973—),女,黑龙江省哈尔滨市人,副研究员,博士,从事新药的研究与开发以及中药制剂及药代动力学的研究,在该领域已发表论文10余篇。Tel:(021)50805522-2208 Fax:(021)50272789 E-mail:wuwanying902@yahoo.com.cn

参酮 I_A 为考察指标^[4],制备了质量分数达 50% 以上的总丹参酮,为丹参脂溶性有效部位的进一步开发提供参考。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪,岛津 UV-2401 紫外分光光度计。

丹参产于山东平邑,为唇形科植物丹参 *S. miltiorrhiza* Bunge 的干燥根及根茎,经北京大学医学部天然药物学系韩健鉴定,其中含丹参酮 I_A 0.43%,含总丹参酮 1.71%。丹参酮 I_A 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110766-200417),X-5 型大孔吸附树脂(南开大学化工厂),甲醇为色谱纯,其余所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总丹参酮的测定^[4]:采用紫外分光光度法。

2.1.1 对照品溶液的制备:取丹参酮 I_A 对照品适量,精密称定,加 95% 乙醇稀释成含丹参酮 I_A 0.4 mg/mL 的溶液,摇匀,即得。

2.1.2 供试品溶液的制备:按比例称取样品适量,加 95% 乙醇定容到 5 mL,摇匀,即得。

2.1.3 标准曲线的建立:取丹参酮 I_A 对照品适量,精密称定 2.03 mg,置于 5 mL 量瓶中,加 95% 乙醇至刻度。分别精密移取 40、55、70、85、100、115 μL 置 5 mL 量瓶中,在 270 nm 下测定吸光度值。以质量浓度对吸光度进行拟合,得到标准曲线方程 $A = 0.0718C + 0.0516$, $R^2 = 0.9999$ 。

2.1.4 精密密度试验:吸取供试品溶液,分别在 1 日内重复测定 3 次,连续 3 日内重复测定 3 次,以总丹参酮质量分数计算得日内 RSD 值为 0.75%,日间 RSD 值为 1.02%。

2.1.5 稳定性试验:吸取供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8 h 测定总丹参酮的吸光度值,计算得吸光度值的 RSD 值为 1.01%。

2.1.6 回收率试验:分别取供试品溶液,精密加入丹参酮 I_A 对照品适量,制备供试品溶液,依法测定,计算,平均回收率为 98.53%,RSD 为 1.07% (n=9)。

2.2 丹参酮 I_A 的 HPLC 法测定:参考《中国药典》2005 年版一部丹参项下的高效液相色谱法测定。

2.3 纯化工艺的研究:在前期的试验中,进行了醇提工艺的研究,得到的提取物中总丹参酮的质量分数约为 20%,丹参酮 I_A 的质量分数约为 5%^[5]。为了能够得到总丹参酮质量分数在 50% 以上的丹参脂溶性有效部位,实验进行了纯化工艺的研究与探讨。

2.4 水沉工艺考察

2.4.1 水沉温度的考察:将 50 g 药材乙醇提取液浓缩至 20 mL,加入 6 倍量的水,搅拌,分别室温(25 ℃)和冷藏(4 ℃)静置 24 h,离心,弃去上清液,沉淀用 95% 乙醇溶解,定容,测定,结果见表 1。冷藏(4 ℃)静置时,总丹参酮得量和质量分数明显好于室温(25 ℃)静置,故水沉时采用冷藏(4 ℃)的方法。

表 1 水沉温度对结果的影响

Table 1 Effects of temperature on results of water precipitation

水沉温度	总丹参酮		出膏率/%	转移率/%
	得量/mg	质量分数%		
水沉前	590.48			
25 ℃	458.92	39.56	2.32	77.72
4 ℃	553.33	45.36	2.44	93.71

2.4.2 水沉工艺正交试验考察:采用正交试验法考察浓缩液的相对密度、加水倍数、静置时间的影响,因素水平见表 2。取 450 g 药材按最佳工艺提取的提取液,分成 9 份,分别浓缩至一定体积,加入不同倍量的水,搅拌,冷藏(4 ℃)静置数小时,离心,弃去上清液,沉淀用 95% 乙醇溶解,定容,测定,结果见表 3。

表 2 水沉工艺的因素水平

Table 2 Factors and levels of water precipitation

水平	因素		
	A 相对密度	B 加水倍数	C 静置时间/h
1	0.85	2	6
2	0.90	3	12
3	1.00	4	24

表 3 水沉正交试验结果

Table 3 Results of orthogonal test with water precipitation

试验号	A	B	C	D	总丹参酮转移率/%
1	1	1	1	1	73.02
2	1	2	2	2	75.68
3	1	3	3	3	72.17
4	2	1	2	3	74.55
5	2	2	3	1	73.61
6	2	3	1	2	74.11
7	3	1	3	2	68.14
8	3	2	1	3	74.38
9	3	3	2	1	65.14
I	73.62	71.90	73.84	70.59	
II	74.09	74.56	71.79	72.64	
III	69.22	70.47	71.31	73.70	
R	4.87	4.08	2.53	3.11	

根据直观分析可知各因素对总丹参酮提取率的影响次序为: A > B > C, 因此确定最佳工艺为 A₁B₂C₂。按此最佳工艺进行 3 组验证试验,结果总丹

参酮的质量分数在55%左右,确证该工艺可以提取纯化得到符合标准的有效部位。

2.5 大孔树脂工艺考察:大孔树脂是目前比较常用的有效部位纯化方法,丹参醇提物因为水溶性较差,所以采用拌样法上样,对上样量、拌样量、径高比进行正交试验考察,因素水平见表4。取450g药材按最佳工艺提取的提取液,减压浓缩,真空干燥,得干膏。取一定量干膏与X-5型湿树脂拌样,上柱,收集80%乙醇洗脱液,定容,测定,结果见表5。方差分析见表6。

表4 大孔吸附树脂纯化条件的因素与水平

Table 4 Factors and levels of purity conditions of macroporous resins

水平	因素		
	A 生药材:干树脂	B 干膏:湿树脂	C 径高比
1	3:1	1:3	1:3
2	2:1	1:5	1:5
3	1:1	1:7	1:7

表5 大孔树脂纯化条件正交试验结果

Table 5 Purity results of orthogonal test with macroporous resins

试验号	A	B	C	D	总丹参酮转移率/%
1	1	1	1	1	63.80
2	1	2	2	2	64.31
3	1	3	3	3	64.59
4	2	1	2	3	42.05
5	2	2	3	1	41.36
6	2	3	1	2	40.58
7	3	1	3	2	21.28
8	3	2	1	3	21.08
9	3	3	2	1	20.97
I	64.23	42.38	41.82	42.04	
II	41.33	42.25	42.44	42.06	
III	21.11	42.05	42.41	42.57	
R	43.12	0.33	0.62	0.53	

表6 方差分析

Table 6 Analysis of variance

因素	离均差平方和	自由度	均方	F值
A	2 792.69	2	1 396.34	5 082.99
B	0.17	2	0.08	0.31
C	0.73	2	0.37	1.33
D(误差)	0.55	2	0.27	1.00

$F_{0.05}(2,2)=19.00$ $F_{0.01}(2,2)=99.00$

通过方差分析,因素A的差异具有显著性。通过直观分析,由极差可知各因素对总丹参酮转移率的影响次序为:A>C>B,确定最佳工艺为A₁B₁C₂或C₃,按此最佳工艺进行3组验证试验,总丹参酮的质

量分数控制在50%左右,确证该工艺也可以提取纯化到合格的有效部位。

2.6 水沉-大孔树脂工艺联用考察:将水沉工艺考察中最优工艺筛选后的浸膏干燥后,取两份平行样,再按大孔树脂工艺考察项下最佳工艺进行纯化,测定,结果见表7。水沉后的样品再用大孔树脂纯化,总丹参酮和丹参酮I_A的质量分数没有明显提升。

表7 丹参水沉样品上大孔树脂前后的比较

Table 7 Comparison of samples before and after purified with macroporous resins

样品	总丹参酮/%	丹参酮I _A 质量分数/%
药材	1.71	0.43
上柱前样品 (水沉物)	54.52	15.21
上树脂柱后 平均	54.43	15.24

3 讨论

水提醇沉、醇提水沉及大孔吸附树脂分离技术作为常用的分离纯化的手段,用于中药有效成分的粗分与精制、中药及其复方有效部位的制备,去除糖、氨基酸、多肽等水溶性杂质。近年来,有效部位的纯化研究多用大孔吸附树脂方法。通过本实验中几种纯化工艺的比较可以看到:大孔树脂对于总丹参酮的纯化富集效果并不理想,对有效部位的质量分数没有实质性提升和改善,而简单的醇提水沉工艺即可使有效部位的质量分数达到要求。

本实验对天津南开化工厂生产的大孔吸附树脂AB-8、X-5、NKA-9、NKA、S-8等进行选择。通过树脂最大比吸附容量试验和分离度考察实验比较发现,S-8型树脂由于强极性,对总丹参酮的吸附性能过强,使总丹参酮无法洗脱下来;NKA-9型树脂对总丹参酮的吸附性能较差,无法与杂质分离;AB-8型树脂对总丹参酮的保留性能稍强,使洗脱时需要更多的乙醇;而X-5型和NKA型树脂对总丹参酮的吸附性能适中,既可以将其与杂质分离,又可以较快地将总丹参酮洗脱下来,具有较好的纯化性能,同时考虑X-5型树脂的最大吸附高于NKA树脂,且其富集效果也稍高于NKA,因此综合考虑,最终选用X-5型树脂作为纯化用树脂。

总丹参酮作为丹参中的脂溶性有效部位,其在水中溶解度极小,在工业生产中多用90%乙醇渗漉提取,生产周期较长,而提取率、质量分数皆较低。本实验通过丹参脂溶性成分的提取纯化工艺的研究,以期探索到总丹参酮合理的生产工艺。

参考文献:

[1] 严红,高扬,郭伟,等.不同产地丹参药材中丹参酮I_A

- 及丹参素的含量比较[J]. 天津药学, 2003, 15(3): 10-13.
- [2] 胡志方, 郭慧玲. 不同提取工艺对丹参酮 I_A 提取率的实验比较[J]. 江西中医学院学报, 2005, 17(1): 45-46.
- [3] 王 曙, 孙毅毅, 贾运涛. 丹参脂溶性成分提取工艺初探[J]. 华西医科大学学报, 1996, 27(2): 203-206.
- [4] 全梅照, 祝 明, 张文婷, 等. 不同产地丹参水溶性成分和脂溶性成分指纹图谱测定及相关性研究[J]. 中草药, 2004, 35(10): 1174-1178.
- [5] 吴婉莹, 果德安. 丹参中总酚酸的大孔吸附树脂分离纯化与富集[J]. 中草药, 2008, 39(6): 862-864.

轻身减肥片的质量标准研究

戚雁飞, 龚 青, 鲁 敏

(浙江省食品药品检验所, 浙江 杭州 310004)

摘要:目的 制定轻身减肥片的质量标准。方法 建立防己、丹参、淫羊藿和黄芪的薄层色谱鉴别方法, 并采用 HPLC 法测定大黄中大黄素和大黄酚。结果 大黄素进样量在 10.54~210.80 ng 呈良好的线性关系, 大黄酚进样量在 11.2~222.40 ng 呈良好的线性关系; 两者的回收率分别为 99.1% 和 100.3%。结论 制订了大黄中大黄素、大黄酚的定量方法和防己、丹参、淫羊藿和黄芪的薄层色谱鉴别方法, 可较好地控制轻身减肥片的质量。

关键词:轻身减肥片; 防己; 丹参; 淫羊藿; 黄芪; 大黄素; 大黄酚; 高效液相色谱; 薄层色谱

中图分类号:R286.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)12-1818-03

轻身减肥片收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第19册, 由大黄、防己、丹参、茵陈、泽泻、山楂、水牛角、淫羊藿、黄芪、白术、川芎等组成, 具有轻身减肥、益气健脾、活血化瘀、宽胸去积的功效, 用于单纯性肥胖。现行质量标准只有大黄的薄层色谱鉴别, 难以有效地综合评价其内在质量。本实验根据本制剂的功效, 选择制定了防己、丹参、淫羊藿和黄芪的薄层色谱鉴别方法和大黄中大黄素、大黄酚的定量方法, 为有效地控制成品质量提供重要的参考。

1 仪器与试剂

HP1100 系列高效液相色谱仪(G1322A 脱气机, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样仪, G1316A 柱温箱, G1314A 紫外检测器, Chemstation 色谱工作站); TU-1901 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用公司)。

甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯; 粉防己碱(批号 110711-200507)、防己诺林碱(批号 110793-200605)、大黄素(批号 0756-200110)、大黄酚(批号 0796-200309)、淫羊藿苷(批号 110737-200414)、黄芪甲苷(批号 110781-200613)对照品均由中国药品生物制品检定所提供; 丹参对照药材(中国药品生物制品检定所提供, 批号 120923-200610); 轻身减肥片由正大青春宝药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别试验

2.1.1 防己的鉴别: 取本品 10 片, 除去包衣, 研细, 加乙醇 50 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加盐酸溶液(1→30)15 mL 使溶解, 加醋酸乙酯振摇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并醋酸乙酯液备用, 水液用浓氨试液调 pH 9, 再加三氯甲烷振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并三氯甲烷液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取粉防己碱、防己诺林碱对照品适量, 分别加甲醇制成 0.5 mg/mL 的混合溶液, 作为对照品溶液。吸取上述供试品溶液 10 μL, 对照品溶液 5 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-丙酮-浓氨试液(20:1:4:4)冰箱冷藏的下层液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以稀碘化铋钾溶液。结果在供试品溶液与对照品溶液相同位置上显示相同颜色的斑点, 见图 1。

2.1.2 丹参的鉴别: 取防己供试品制备中的醋酸乙酯提取液蒸干, 残渣加甲醇 10 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取丹参对照药材 0.2 g, 加乙醇 30 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加盐酸溶液(1→30)15 mL 使溶解, 加醋酸乙酯振摇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并醋酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。吸取上述两种溶液各 5 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲

收稿日期: 2008-05-05

作者简介: 戚雁飞(1973-), 女, 浙江杭州人, 副主任药师, 1994年毕业于浙江中医学院中药系, 1994年至今就职于浙江省食品药品检验所, 从事中药检验、中成药质量标准研究及中药成分研究。Tel: (0571)86459425 E-mail: qyf817@163.com