

- 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

烷-丙酮-甲醇-甲酸(16 : 4 : 2 : 3.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 1%铁氰化钾-1%三氯化铁(1 : 1)。结果在供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的主斑点,见图 2。

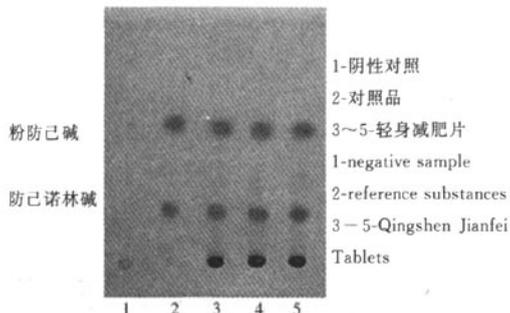


图 1 轻身减肥片中防己薄层色谱图

Fig. 1 TLC Chromatogram of *Radix Stephaniae Tetrandrae* in Qingshen Jianfei Tablets

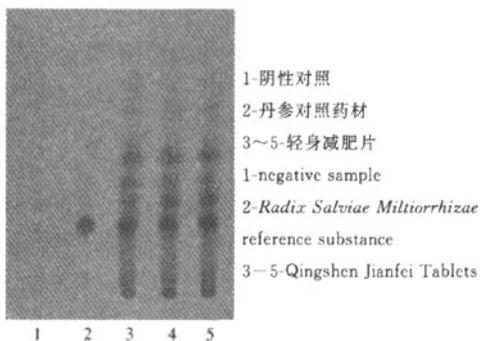


图 2 轻身减肥片中丹参薄层色谱图

Fig. 2 TLC Chromatograms of *Radix Salviae Miltiorrhizae* in Qingshen Jianfei Tablets

2.1.3 淫羊藿的鉴别:取本品 15 片,除去包衣,研细,加 2%氢氧化钾甲醇溶液 30 mL,加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15 mL 使溶解,用乙醚振摇提取 4 次,每次 20 mL,弃乙醚液,水液用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次,每次 25 mL,合并正丁醇液,用氨试液洗涤 2 次,每次 50 mL,弃去氨试液,再用水洗涤 2 次,每次 50 mL,弃去水液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取淫羊藿苷对照品甲醇饱和溶液,作为对照品溶液。吸取上述供试品溶液 5 μ L,对照品溶液 2 μ L,分别点于同一硅胶 H 薄层板上,以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10 : 1 : 1 : 1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。结果供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,见图 3。

2.1.4 黄芪的鉴别:取淫羊藿供试品溶液作为供试品溶液。另取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成

1 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述两种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(13 : 7 : 2)10 $^{\circ}$ C 以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。结果供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,日光下显相同颜色的斑点;在紫外光灯(365 nm)下显相同的荧光斑点,见图 4。

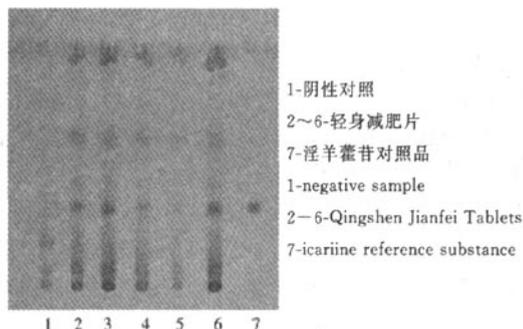
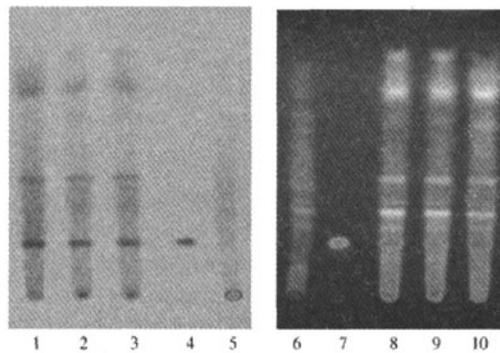


图 3 轻身减肥片中淫羊藿的薄层色谱图

Fig. 3 TLC Chromatograms of *Herba Epimedii* in Qingshen Jianfei Tablets



1~3, 8~10-轻身减肥片
4, 7-黄芪甲苷对照品 5, 6-阴性对照溶液
1-3, 8-10-Qingshen Jianfei Tablets
4, 7-astragaloside IV reference substance
5, 6-negative sample

图 4 轻身减肥片中黄芪在日光下(A)和 UV 365 nm (B)薄层色谱图

Fig. 4 TLC Chromatograms of *Radix Astragali* in Qingshen Jianfei Tablets in sunlight (A) and UV 365 nm (B)

2.2 大黄素和大黄酚的测定

2.2.1 对照品溶液的制备:精密称取大黄素对照品和大黄酚对照品适量,加甲醇制成含大黄素 5 μ g/mL、大黄酚 10 μ g/mL 的混合溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备:取本品,除去包衣,研细,取 0.6 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,加热回流 1 h,放冷,再称定质

量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,挥干溶剂,加 8% 盐酸溶液 10 mL,超声 2 min 使溶解,再加三氯甲烷 15 mL,水浴回流 1 h,放冷,分取三氯甲烷液,酸水液再用三氯甲烷振摇提取 3 次,每次 15 mL,合并三氯甲烷液,挥干溶剂,残渣用无水乙醇-醋酸乙酯(2:1)溶液微热溶解,转移至 10 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 色谱条件:色谱柱为 AgiLent Extend C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1% 磷酸水溶液(85:15);体积流量:1.0 mL/min;柱温:30℃;检测波长:254 nm。理论塔板数按大黄素峰计算为 7 000。

2.2.4 专属性试验:按处方制备不含大黄的阴性样品,按照供试品溶液的制备方法制成阴性溶液。取阴性样品、对照品溶液和供试品溶液进样测定,色谱图见图 5。可见在此色谱条件下,阴性样品对测定无干扰。

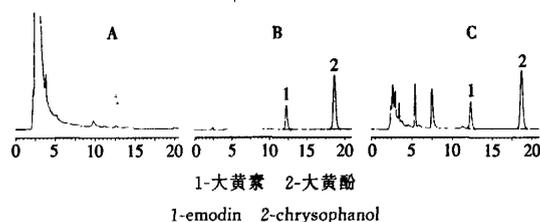


图 5 阴性样品(A)、大黄素、大黄酚对照品(B)、轻身减肥片(C)的高效液相色谱图

Fig. 5 HPLC Chromatograms of negative sample (A), emodin and chrysophanol reference substances (B), and Qingshen Jianfei Tablets (C)

2.2.5 线性关系的考察:分别精密量取 1.054、2.108、4.216、8.432、16.864、21.08 μg/mL 大黄素对照品溶液和 1.112、2.224、4.448、8.896、17.792、22.24 μg/mL 大黄酚对照品溶液 10 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积。以峰面积(Y)对进样量(X)进行回归,计算回归方程,大黄素为 $Y = 4\ 606.6 X - 4.613\ 7, r = 1.000\ 0$; 大黄酚为 $Y = 6\ 083.4 X - 6.716\ 8, r = 1.000\ 0$ 。结果表明大黄素进样量在 10.54~210.80 ng 与峰面积呈良好的线性关系;大黄酚进样量在 11.12~222.40 ng 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.6 精密度的试验:精密吸取同一供试品溶液(批号 0607003)进样 10 μL,连续进样 6 次,大黄素峰面积的 RSD 为 0.3%,大黄酚峰面积的 RSD 为 0.4%。

2.2.7 稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液(批号 0607003)进样 10 μL,分别于配制后 0.5、9、19、28、48、55、61 h 进样测定,结果大黄素峰面积的 RSD 为 1.2%,大黄酚峰面积的 RSD 为 1.5%,表明供试品溶液在 61 h 内基本稳定。

2.2.8 重现性试验:对同一批样品(批号 0607003)6 份制备供试品溶液,进行测定,结果大黄素和大黄酚的质量分数的 RSD 分别为 0.9% 和 1.9%。

2.2.9 回收率试验:精密称取批号 0607003 样品约 0.3 g,6 份,分别精密加入含 5.235 μg/mL 大黄素对照品和 10.18 μg/mL 大黄酚对照品混合溶液 25 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算回收率,结果大黄素和大黄酚的回收率分别为 99.1%、100.3%,RSD 分别为 1.3%、1.2%。

2.2.10 样品测定:取 3 批样品,分别制备供试品溶液,按上述方法测定,每批样品平行测定 2 次,结果见表 1。

表 1 轻身减肥片中大黄素和大黄酚的测定结果(n=2)
Table 1 Determination of emodin and chrysophanol in Qingshen Jianfei Tablets (n=2)

批号	大黄素/(mg·g ⁻¹)	大黄酚/(mg·g ⁻¹)
0607001	0.379	0.717
0607002	0.387	0.747
0607003	0.383	0.732

3 讨论

轻身减肥片系由大黄等 11 味中药组成的复方制剂,本实验研究了其中防己、丹参、淫羊藿和黄芪的薄层色谱鉴别,实验中均分别采用两种展开剂进行对照,以保证阴性样品无干扰。

大黄素和大黄酚的测定方法实验中考察了供试品溶液的提取方法,比较了 AgiLent Extend C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Zorbax C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Dikma C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱对样品进行测定,均能得到较好的分离,分离度大于 1.5,且阴性无干扰,故认为本方法重现性好,能较好地控制该制剂的质量。