

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.22.006

补中益气丸中相关药味的薄层鉴别补充研究

张永昕^{1,2}, 李莎恩¹, 俞发¹, 王振华^{2△}, 李耿²

(1. 中国人民解放军第四五八医院, 广东 广州 510602; 2. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

摘要:目的 完善补中益气丸现有质量标准下的薄层鉴别方法,对定性分析补中益气丸(水丸)的质量提供有效手段和可靠依据。方法 采用薄层色谱(TLC)法分别对方中主要药味黄芪、柴胡、白术进行定性鉴别。结果 黄芪、柴胡、白术供试品溶液色谱中,在与对照品溶液或对照药材溶液色谱相应位置上显相同的颜色或荧光斑点。结论 建立的黄芪、柴胡、白术薄层鉴别方法专属性强,重复性良好,且阴性无干扰,可为完善补中益气丸(水丸)的质量标准提供参考。

关键词:补中益气丸;黄芪;柴胡;白术;薄层色谱法;质量标准

中图分类号:R932;R284.1

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)22-0017-04

Supplementation Study on TLC Identification of Related Herbal Medicines in Buzhong Yiqi Pills

Zhang Yongxin^{1,2}, Li Sha'en¹, Yu Fa¹, Wang Zhenhua², Li Geng²

(1. No. 458 Hospital of PLA, Guangzhou, Guangdong, China 510602; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong, China 510006)

Abstract: Objective To improve the TLC identification method of Buzhong Yiqi Pills under the existing quality standards, and to provide effective means and reliable basis for the qualitative analysis of the quality of Buzhong Yiqi Pills (water-bindered pills).

Methods TLC method was used to qualitatively identify the main herbal medicines in the prescription of *Radix Astragali*, *Radix Bupleuri* and *Atractylodes macrocephala*. **Results** For the chromatogram of the test sample of *Radix Astragali*, *Radix Bupleuri* and *Atractylodes macrocephala*, the same color or fluorescent spots were observed at the position corresponding to the chromatogram of the corresponding reference substance solution or reference drug solution. **Conclusion** The established TLC identification methods of *Radix Astragali*, *Radix Bupleuri* and *Atractylodes macrocephala* have strong specificity, good repeatability and they are negative without interference, which can provide reference for improving the quality standard of Buzhong Yiqi Pills (water-bindered pills).

Key words: Buzhong Yiqi Pills; *Radix Astragali*; *Radix Bupleuri*; *Atractylodes macrocephala*; TLC; quality standard

补中益气丸是由古代名方补中益气汤改变剂型制成的丸剂,由补气药黄芪(炙)、党参、甘草(炙)、白术(炒)、大枣、补血药当归、理气药陈皮、发散风热药升麻、柴胡、发散风寒药生姜 10 味药组方^[1]。其为现代常用升

第一作者:张永昕,硕士研究生,主管药师,研究方向为医院药学及中药新技术,(电子信箱)20691072@qq.com。

△通信作者:王振华,博士研究生,副教授,硕士研究生导师,研究方向为药物制剂学,(电子信箱)wzh@gzucm.edu.cn。

参考文献:

- [1] 张旭东,蔡温儒,孙建锁. 膦甲酸钠治疗乙型肝炎的临床应用现状[J]. 中国医院用药评价与分析,2002,2(2):124-125.
- [2] 蔡艳. 苦参素药理作用研究进展[J]. 实用中医药杂志,2016,32(4):387-389.
- [3] Qi FH, Wang ZX, Cai PP, et al. Traditional Chinese medicine and related active compounds: a review of their role on hepatitis B virus infection[J]. Drug Discoveries & Therapeutics, 2013, 7(6):212.
- [4] Lu LG, Zeng MD, Mao YM, et al. Oxymatrine therapy for chronic hepatitis B: A randomized double-blind and placebo-controlled multi-center trial[J]. World J Gastroenterology, 2003, 9(11):2480-2483.
- [5] 王宇萍,韩燕星,蒋建东. 苦参素、膦甲酸钠和阿德福韦酯联合治疗乙型肝炎的体外研究[J]. 中华临床医师杂志(电子版),2016,10(15):2294-2298.
- [6] 郭西萍,钟基大. 膦甲酸钠与苦参素序贯疗法治疗活动性肝硬化的临床观察[J]. 医学理论与实践,2006,19(6):632-633.
- [7] 吕毅,马永付,孙辉辉. 高效液相色谱法测定膦甲酸钠滴眼液含量[J]. 中南药学,2009,7(12):908-911.
- [8] 李苗,胡兵,杨兴明,等. 离子色谱法同时测定膦甲酸钠氯化钠注射液主药及抗氧化剂和有关物质[J]. 药物分析杂志,2014,34(8):1513-1517.
- [9] 包江平,张丽艳,李艳英. HPLC 测定参甘养心片中延胡索乙素、苦参碱和氧化苦参碱的含量[J]. 现代中药研究与实践,2016,30(2):54-56.
- [10] 于淑俊. 静脉给药体外配伍稳定性的研究进展[J]. 大连医科大学学报,2010,32(5):596-599.
- [11] Gikie M, Paolo ERD, Pannatier A, et al. Evaluation of physico-chemical incompatibilities during parenteral drug administration in a paediatric intensive care unit[J]. Pharmacy World & Science, 2000,22(3):88.

(收稿日期:2018-05-23)

阳益气、调补脾胃的代表方剂,在临床多科多种疾病的治疗中疗效良好^[2-7]。当前的中成药质量标准进一步强化了多药味成分的检测^[8],但现行《中国药典》补中益气丸“鉴别”项下,仅对组方中甘草、陈皮、当归3味药进行薄层定性鉴别,不能全面、系统地反映制剂内在质量。本试验中在补中益气丸现行质量标准的基础上,采用薄层色谱(TLC)法对组方中黄芪、柴胡、白术进行了定性鉴别,操作简单,重复性及稳定性好,有益于提升制剂质量标准。现报道如下。

1 仪器与试药

仪器:Goodsee-Ⅱ型暗箱式薄层色谱摄影仪(上海科哲生化科技有限公司);RE-6000A型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);GZX-9140MBE型电热鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);TDL-5-A型离心机(上海安亭科学仪器厂);103B型四两装高速中药粉碎机(瑞安市永历制药机械有限公司);HH-SII-N14B型电热恒温水浴锅(北京精科华瑞仪器有限公司);KQ3200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);DT1000型电子天平(江苏省常熟市意欧仪器仪表有限公司)。

试药:补中益气丸(北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂,批号为1500047);黄芪、甘草、陈皮、党参、当归、升麻、白术、柴胡(均以收货日期为批号,即20160711),打粉,干燥,密封保存,备用;黄芪甲苷(批号为H-013-140729,纯度为98%),柴胡皂苷A(批号为C-024-140728,纯度为98%),柴胡皂苷D(批号为C-026-140728,纯度为98%),均购自成都瑞芬思生物科技有限公司;柴胡对照药材(批号为120992-201509),黄芪对照药材(批号为121462-201304),白术对照药材(批号为120925-201109),均购自中国食品药品检定研究院;甲酸、冰醋酸、硫酸、稀盐酸、碳酸氢钠、三氯化铝、氢氧化钠、甲醇、乙醇、正丁醇、氯仿、乙酸乙酯、苯、石油醚(60~90℃)、乙醚、二氯甲烷、环己烷、对二甲氨基苯甲醛、香兰素、纯水、中性氧化铝(100~120目)、D101大孔吸附树脂等均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 黄芪

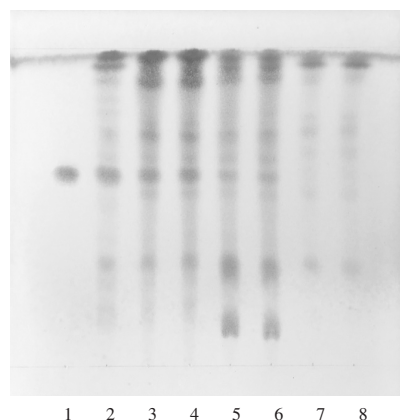
2.1.1 溶液制备

取补中益气丸(水丸)3g,研细,加入甲醇20mL,加热回流提取1h,滤过,滤液加于中性氧化铝柱(100~120目,5g,内径1.0~1.5cm)上,以40%甲醇100mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,药液残渣加入纯化水30mL,用玻璃棒搅拌溶解,加入新配的水饱和正丁醇萃取2次,每次20mL,合并,取正丁醇萃取液,用纯化水润洗2次,每

次20mL,弃去水液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇0.5mL溶解,制成供试品溶液。取黄芪对照药材约3g,按供试品溶液制备方法制备黄芪对照药材溶液。称取适量黄芪甲苷对照品,精密称定,加甲醇,制得质量浓度为1g/L的对照品溶液。参照补中益气丸中除黄芪外,其他9味药材组方比例和工艺配制阴性对照品,取3g,按供试品溶液制备方法制得阴性对照品溶液。

2.1.2 薄层色谱鉴别

按2015年版《中国药典(四部)》(通则0502)薄层色谱法试验,分别吸取上述4种溶液各2μL,条带状点样于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2)的下层液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,晾干,105℃下加热至斑点显色清晰。日光下检视,供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同棕褐色斑点,在与黄芪对照药材溶液相应位置上显相同颜色斑点,阴性无干扰。详见图1。



1. 对照品溶液 2. 对照药材溶液 3-6. 供试品溶液
7-8. 阴性对照品溶液

图1 补中益气丸中黄芪的薄层色谱图

2.2 柴胡

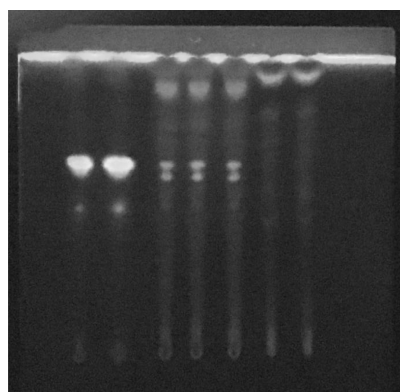
2.2.1 溶液制备

取补中益气丸(水丸)8g,研细,加入新配的水饱和正丁醇80mL,超声处理45min,滤过,以2%氢氧化钠溶液润洗滤液3次,每次50mL,弃碱水液,取正丁醇液,再用正丁醇饱和的水润洗2次,每次50mL,弃水液,正丁醇液蒸干,残渣加入甲醇1mL使溶解,制成供试品溶液。取柴胡对照药材约4g,按供试品溶液制备方法制得对照药材溶液。取适量柴胡皂苷a和柴胡皂苷d对照品,精密称定,加甲醇,制得质量浓度为1g/L的混合对照品溶液;参照补中益气丸中,除柴胡外,其他9味药材组方比例和工艺制备阴性对照品,取8g,按供试品溶液制备方法制得阴性对照品溶液。

2.2.2 薄层色谱鉴别

展开剂选择“试验一”:取上述4种溶液各5μL,分

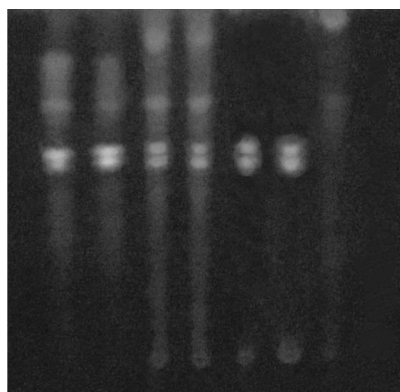
别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-乙醇-水(8:2:1)为展开剂,展开取出,晾干,再以乙酸乙酯-乙醇-水(18:2:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2% 对二甲氨基苯甲醛的 40% 硫酸乙醇溶液,加热至斑点显色清晰,放置 15 min,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液与对照药材溶液色谱中的柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d 斑点不能完全分离,方法有待优化。详见图 2。



1 2 3 4 5 6 7 8
1. 供试品溶液 2. 对照药材溶液 3-5. 混合对照品溶液
6-7. 阴性对照品溶液

图2 补中益气丸中柴胡的薄层色谱图(1)

展开剂选择“试验二”:取上述 4 种溶液各 5 μ L,依次点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-乙醇-水(7:2:1)为展开剂,展开,取出,晾干,再以乙酸乙酯-乙醇-水(14:2:1)的混合液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2% 对二甲氨基苯甲醛的 40% 硫酸乙醇溶液,加热至斑点显色清晰,放置 15 min,置紫外光灯(365 nm)下检视。点板环境要干燥,湿度不能太大。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液和对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点,阴性无干扰。详见图 3。故此方法可作为柴胡的定性鉴别方法。



1 2 3 4 5 6 7
1-2. 对照药材溶液 3-4. 供试品溶液
5-6. 混合对照品溶液 7. 阴性对照品溶液

图3 补中益气丸中柴胡的薄层色谱图(2)

2.3 白术

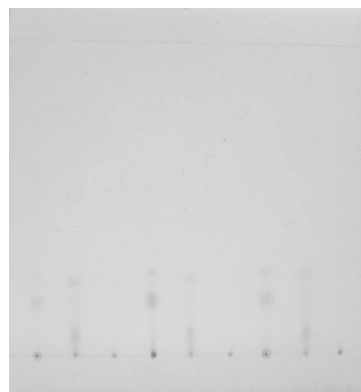
2.3.1 溶液制备

样品提取“试验一”:取补中益气丸(水丸)5 g,研细至干燥,置烧瓶中,加正己烷 10 mL,超声(180 W,40 kHz)处理 15 min,趁热滤过,将滤液低温蒸干,残渣加正己烷 1 mL 使其完全溶解,制得供试品溶液。取白术对照药材约 0.5 g,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。参照补中益气丸中,除白术外,其他 9 味药材组方配制缺白术的阴性对照品,取 8 g,同法制得阴性对照品溶液。

样品提取“试验二”:取补中益气丸(水丸)5 g,研细至干燥,置烧瓶中,加水 300 mL,用玻璃棒搅拌使药粉充分混合均匀,连接回流冷凝管和挥发油测定器。从冷凝管上端加水至刻度,用滴管滴入正己烷 2 mL,连接回流冷凝管。缓慢加热至沸腾,保持沸腾状态 2 h,停止加热,静置片刻,将水缓缓放出,收集正己烷液,制成供试品溶液^[9]。取白术对照药材约 0.5 g,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。参照补中益气丸中,除白术外,其他 9 味药材组方配制缺白术的阴性对照品,取 8 g,同法制得阴性对照品溶液。

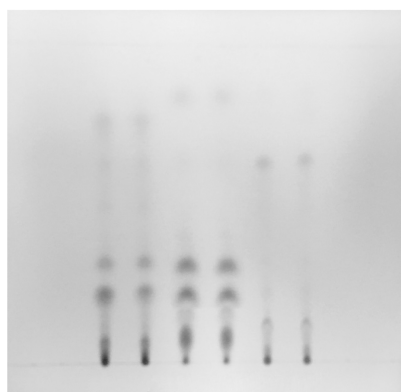
2.3.2 薄层色谱鉴别

分别取上述 2 种方法制备的供试品溶液、阴性对照品溶液、对照药材溶液各 10 μ L,依次点于 2 种方法对应的硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(50:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,加热至斑点显色清晰,日光下检视。“试验一”中,供试品溶液色谱在与对照药材溶液色谱相应位置上无相同颜色的斑点(见图 4),表明供试品溶液的制备方法还有待优化,此方法不可行。“试验二”中,供试品溶液色谱在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性无干扰(见图 5),表明此方法可作为白术的定性鉴别方法。



1 2 3 4 5 6 7 8 9
1,4,7. 对照药材溶液 2,5,8. 供试品溶液
3,6,9. 阴性对照品溶液

图4 补中益气丸中白术的薄层色谱图(1)



1-2. 对照药材溶液 3-4. 供试品溶液
5-6. 阴性对照品溶液

图5 补中益气丸中白术的薄层色谱图(2)

3 讨论

薄层色谱法目前广泛应用于中药材和中成药的定性鉴别^[10],但易受样品的预处理、展开剂等相关因素影响^[11-12],故研究中需根据具体中药制剂组方调整薄层鉴别方法,包括改进药典中的样品提取方法和色谱展开条件,以得到斑点清晰、无杂质干扰、重复性好的色谱图^[13]。本研究中参考了标准项下的薄层鉴别项,以及药典中相关中药成方制剂处方中相关药材成分的薄层色谱鉴别方法,并借鉴了中药成方制剂和中药材的定性鉴别相关文献,通过多次试验论证,增补和完善了补中益气丸(水丸)中相关药味的薄层色谱定性鉴别方法。

在柴胡的薄层色谱定性鉴别研究中,展开剂的选择非常关键,作为展开剂的溶剂应符合适当的纯度和稳定性、低黏度、线性分配等温线等条件^[14]。本试验中通过多次预试验,如采用药典鉴别方法所提供的单次展开无法清楚分开柴胡皂苷a和柴胡皂苷d时,通过借鉴相关文献资料提供的二次展开方法也未能实现完全分离。研究中通过改进,以醋酸乙酯-乙醇-水(7:2:1)为展开剂,一次展开,再以醋酸乙酯-乙醇-水(14:2:1)进行二次展开,最终选择了适合比例的溶剂作为展开剂,取得了较满意的结果。

在白术的薄层色谱定性鉴别研究中,对展开剂、展开方式和样品提取方式进行了优化^[15]。由于其指标成分苍术酮不稳定,故本试验中以白术对照药材为对照物,在供试品溶液制备中借鉴了相关文献中挥发油的提取方法^[9],最终得到了与药典记录一致的明显斑点。建议在补中益气丸的生产工艺中,对

白术的炮制可先炮制后切段,从而可减少药材中有效成分的流失。

本试验中,在补中益气丸现有质量标准的基础上,增加了对其中药味黄芪、柴胡、白术的薄层色谱鉴别,进一步完善了补中益气丸的相关质量控制标准。建立的薄层色谱鉴别方法,针对性强,斑点清晰,分离效果好,稳定性及重复性良好,阴性无干扰,可用于补中益气丸(水丸)中上述药味的定性鉴别。不足之处在于,对党参的薄层色谱鉴别探索中,参考了药典中多种对于党参的薄层色谱提取方法,并参阅了各文献中的思路,采用了大孔树脂、中性氧化铝等柱层析方法,可能由于受到补中益气丸中辅料的影响,均表现出色谱斑点不清晰或斑点无法区分,存在阴性干扰,无法取得满意效果,仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] 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: 993-994.
- [2] 毕建璐, 陈洁瑜, 程静茹, 等. 补中益气丸干预气虚质的临床观察[J]. 云南中医学院学报, 2016, 39(6): 62-65.
- [3] 姚嵩梅, 薛君来, 高永梅. 补中益气丸治疗女性压力性尿失禁临床疗效观察[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(15): 3037-3039.
- [4] 罗书, 李燕舞, 巫燕莉, 等. 补中益气丸对溃疡性结肠炎小鼠结肠黏膜mRNA表达的影响[J]. 中成药, 2016, 38(3): 485-489.
- [5] 张文杰, 潘华新, 巫燕莉, 等. 补中益气丸对IEC-6细胞损伤模型NLRP3炎性体及相关细胞因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(12): 114-118.
- [6] 陈细玲, 石敏. 溴吡斯的明联合补中益气丸治疗气血不足型重症肌无力患儿30例临床观察[J]. 中医儿科杂志, 2016, 12(4): 34-37.
- [7] 李燕舞, 李耿, 巫燕莉. 补中益气丸对脾虚大鼠能量物质及AMPK的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2015, 21(5): 592-594.
- [8] 张立群. 2015版《中国药典》中成药标准概述[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(20): 1754-1756.
- [9] 马宁. 补中益气丸质量标准提高及其指纹图谱研究[D]. 兰州: 甘肃中医学院, 2014.
- [10] 周涓, 杨瑜珍, 陈华杏, 等. 荆防除湿茶薄层色谱鉴别研究[J]. 中国药业, 2017, 26(9): 22-26.
- [11] 温馨, 江耀伦, 陈素珍, 等. 大七厘散中大黄及当归薄层鉴别方法改进[J]. 中国药业, 2017, 26(14): 7-9.
- [12] 夏天一, 束畅, 孙渺, 等. 益气醒脑饮的质量标准改进[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(23): 2364-2367.
- [13] 朱艳华, 曹蓉蓉, 张卫莲. 生化丸质量标准的提高和优化[J]. 中国药师, 2017, 20(11): 2082-2084.
- [14] 王秀琴, 王东兴, 纪丽颖, 等. 薄层色谱法鉴别参茸清眩膏[J]. 华南国防医学, 2017, 31(9): 631-634.
- [15] 张雅丽, 张磊, 孙巍, 等. 加味逍遥片的薄层色谱研究[J]. 中国医院用药评价与分析, 2017, 17(1): 84-87.

(收稿日期: 2018-05-16)

本栏目由

重庆赢英康医疗器械有限公司

协办