

★交流★

桂附地黄丸快检方法研究

黄丽丹, 薛玉梅, 王鼎

(安徽省食品药品检验所, 合肥 230051)

摘要 目的: 制定桂附地黄丸快检方法。方法: 采用乙醇研磨制备供试品溶液, 经薄层展开后, 分别对丹皮酚、熊果酸、马钱苷进行定性鉴别。结果: 丹皮酚、熊果酸和马钱苷均可用 TLC 迅速检出。结论: 所建立的方法快速、简便, 可准确对丹皮酚、熊果酸、马钱苷进行定性鉴别, 可作为该制剂的快速筛检方法。

关键词 桂附地黄丸; 快检方法

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2009)02-0279-03

Study on screening test of Guifudihuang pills

HUANG Li-dan, XUE Yu-mei, WANG Ding

(Anhui Institute for Food and Drug Control Hefei 230051, China)

Abstract **Objective** To establish the methods for screening the Guifudihuang pills. **Method** Triturate well the samples with ethanol and filter the filtrate as test solution. After developing, identify paeonol, ursolic acid and loganin. **Results** paeonol, ursolic acid and loganin can be identified quickly by TLC. **Conclusion** The methods are simple, fast, accurate and can be used for the screening test of Guifudihuang pills.

Key words Guifudihuang pills; screening test

桂附地黄丸为温补肾阳的常用中成药, 它以六味地黄丸为基础, 添加肉桂、附子(制)而得。2005年版中国药典中, 桂附地黄丸[鉴别]项下分别收载有显微特征、丹皮酚及桂皮醛薄层色谱, [含量测定]项下收载有马钱苷、丹皮酚的含量测定。在对六味地黄丸快检方法研制的基础上, 笔者进一步对桂附地黄丸、桂附地黄丸(浓缩丸)快检方法进行了研究, 确立了筛检丹皮酚、熊果酸、马钱苷的快速薄层色谱法。

1 试剂、试药与样品

对照品丹皮酚(0708-9704 供鉴别用)、熊果酸(110742-200313 供鉴别用)、马钱苷(111640-200401 供含量测定用)、芍药苷(110736-200320 供鉴别用)均购于中国药品生物制品检定所。

薄层板: 硅胶 GF₂₅₄ 铝基板(天津思利达色谱技术开发公司)、硅胶 GF₂₅₄ 板及硅胶 G 板(青岛海洋化工厂分厂)。

实验中所用试剂均为分析纯。

桂附地黄丸样品分别收集于河南省宛西制药股份有限公司(浓缩丸)、芜湖张恒春药业有限公司(浓缩丸)、合肥神鹿双鹤九华药业有限责任公司(浓缩丸)、芜湖绿叶制药有限公司(浓缩丸)、北京同仁堂科技发展股份有限公司(大蜜丸)。

2 丹皮酚 TLC 鉴别

分别取本品浓缩丸 5 g 研碎; 取大蜜丸 9 g 剪碎, 加硅藻土 3 g 研匀。浓缩丸、加乙醇 7~8 mL、大蜜丸加乙醇 10~15 mL(以控制滤液量约 1 mL 为度), 研磨 5~10 min 滤过, 滤液作为供试品溶液。取丹皮酚对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验, 吸取上述溶液各 2~3 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-醋酸乙酯(3:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以盐酸酸性 5% 三氯化铁乙醇溶液, 加热至斑点显色清晰。样品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照试验无干扰(图 1)。

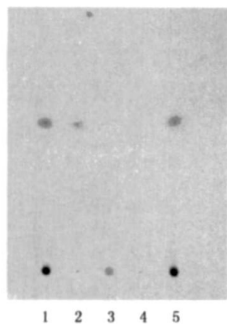


图 1 牡丹皮 TLC图谱

Fig 1 TLC of Cortex Moutan

1. 样品 (sample) 2. 丹皮酚对照品 (paeonol) 3. 缺牡丹皮阴性样品 (negative sample without Cortex Moutan)
4. 桂皮醛对照品 (cinnamaldehyde)

3 熊果酸 TLC 鉴别

桂附地黄丸直接套用丹皮酚 TLC 鉴别项下的供试品溶液、薄层板、点样量、展开剂; 桂附地黄丸 (浓缩丸) 由于制备工艺为水提, 不做此项鉴别。另取熊果酸对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。展开后, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 加热至斑点显色清晰。样品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照试验无干扰 (图 2)。

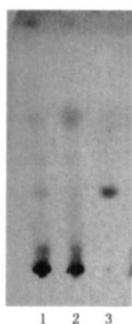


图 2 熊果酸 TLC图谱

Fig 2 TLC of ursolic acid

1. 样品 (sample) 2. 缺山茱萸阴性样品 (negative sample without Fructus Corni) 3. 熊果酸对照品 (ursolic acid)

4 马钱苷 TLC 鉴别

直接套用丹皮酚 TLC 鉴别项下的供试品溶液、薄层板、点样量。另取芍药苷对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为参比溶液。以醋酸乙酯-无水乙醇-冰醋酸 (50: 10: 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2% 香草醛的 10% 硫酸乙醇溶液, 加热至斑点显色清晰。样品色谱中, 在相当于参比物芍药苷对照品色谱斑点的下方, 显一个红色至紫红色的斑点, 阴性对照试验无干扰 (图 3)。

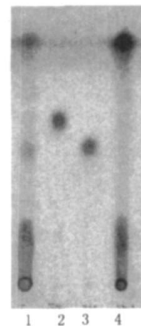


图 3 马钱苷 TLC图谱

Fig 3 TLC of loganin

1. 样品 (sample) 2. 芍药苷对照品 (paeoniflorin) 3. 马钱苷对照品 (loganin) 4. 缺山茱萸阴性样品 (negative sample without Fructus Corni)

5 讨论

5.1 供试品溶液的制备 参考六味地黄丸快速检验方法研究中不同浓度乙醇提取比较的结果, 采用乙醇作溶剂, 研磨 5~10 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。蜜丸中含有较多的蜂蜜, 加乙醇直接研磨提取, 供试液粘度大, 点样困难, 污染严重。加硅藻土净化处理, 供试液粘度降低, 改善了点样困难, 污染严重的状况, 但硅藻土对待测成分有吸附作用。经试验比较, 取蜜丸 9 g 剪碎, 加硅藻土 3 g 效果最佳。

5.2 参比物的选择 考虑马钱苷对照品不太常用, 价格较高, 快检车上不宜携带过多对照品, 因而选用了与马钱苷极性接近的常用对照品芍药苷作为参比 (如有条件, 也可直接采用马钱苷对照品作对照), 检测时, 样品色谱中, 在蓝紫色的芍药苷斑点相应位置的下方显一明显的红至紫红色斑点 (马钱苷)。

5.3 点样考察 从实验情况看, 在含量正常的情况下, 点样 2~3 μL, 即可明显检出所测成分; 含量较高时, 点样 1 μL 即可。对于蜜丸, 因样品溶液粘度较大, 点为条状较易操作, 且分离效果更为理想。

5.4 薄层板考察 实验中分别对天津思利达色谱技术开发公司的硅胶 GF₂₅₄ 铝箔板、青岛海洋化工厂分厂的硅胶 GF₂₅₄ 板和硅胶 G 板以及烟台市化学工业研究所的硅胶 GF₂₅₄ 板和硅胶 G 板, 进行了比较, 结果显示, 不同厂家的薄层板对本品种的各鉴别结果无显著影响。

5.5 显色剂的选择 丹皮酚的显色, 原本鉴于丹皮酚在硅胶 GF₂₅₄ 板上于紫外光灯 (254 nm) 下产生熄灭斑点, 采用直接置紫外光灯 (254 nm) 下检视检出。但在研究实验中发现, 缺牡丹皮的阴性样品在与丹皮酚对照品色谱相应的位置上亦产生熄灭斑

点,经进一步试验后确认,干扰来自肉桂中的桂皮醛。改用 2005 年版中国药典中桂附地黄丸项下检出桂皮醛的展开剂、试用多个展开系统,均未将丹皮酚与桂皮醛分开。最终选用 2005 年版中国药典中桂附地黄丸项下丹皮酚的检测方法,用盐酸酸性 5% 三氯化铁乙醇溶液显色,加热至斑点显色清晰,结果样品、丹皮酚对照品均显蓝褐色斑点,阴性对照样品、桂皮醛对照品均未显色(图 1)。马钱苷的显色曾分别试用 10% 硫酸乙醇液、5% 香草醛硫酸溶液、2% 香草醛 10% 硫酸乙醇液,结果显示,用香草醛硫酸溶液显色,灵敏度高,且芍药苷与马钱苷斑点的颜色鲜于 10% 硫酸乙醇液,但硫酸溶液腐蚀性强,快检车上不便携带,最终选用 2% 香草醛 10% 硫酸乙醇液,即避免了硫酸溶液的腐蚀性,又可达到香草醛显色的灵敏度。

参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2005. Vol II (一部): 556
- 2 LIU Xun-hong(刘训红), WANG Yu-xi(王玉玺), FANG Ke-hui(房克慧), *et al* TLC of Chinese Medicine(中药材薄层色谱鉴别). Tianjing(天津): Tianjing Science and Technology Press(天津科学技术出版社), 1990. 286

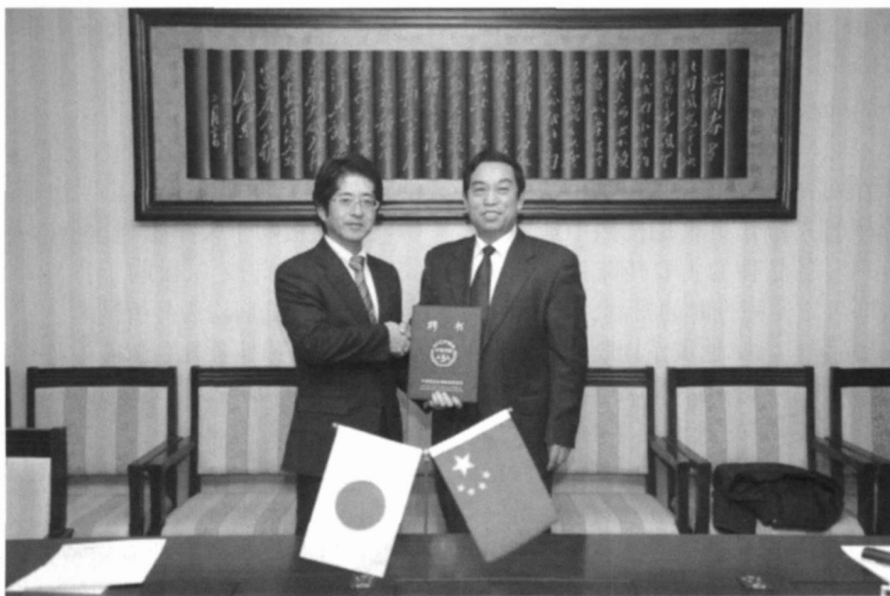
(本文于 2008 年 11 月 5 日收到)

中检所聘任日本国立医药品食品卫生研究所本间正充博士为客座研究员

2009 年 1 月 8 日上午,中国药品生物制品检定所(以下简称中检所)举行仪式,聘任日本国立医药品食品卫生研究所(NHS)本间正充博士为客座研究员。

本间正充博士表示对被聘为中检所的客座研究员感到非常荣幸,愿意为中检所安评中心的发展、促进与 NHS 以及与相关国际组织的交流合作做出自己的努力。

随后,李云龙所长代表中检所为本间正充博士颁发了客座研究员聘任证书。



中检所人事处蓝煜处长、外事处李玲处长以及安评中心李波主任、王秀文副主任、遗传毒理室负责人王雪博士出席了聘任仪式。

附本间正充博士简介:

本间正充(Honma Masamitsu),男,1959 年 9 月出生,医学博士。1983 年 3 月毕业于千叶大学药系药学专业,1989 年 3 月获东京大学医学博士学位。现任日本国立医药品食品卫生研究所变异遗传部第一室室长。

(中国药品生物制品检定所人事处供稿)