加味柴苓合剂的薄层鉴别及含量测定

★ 朱雪梅[1] 陈凌云[2] （1. 浙江省温州市中医院 温州 325000；2. 浙江省温州市药品检验所 温州 325000）

摘要：目的：研究并建立加味柴苓合剂质量标准。方法：采用薄层色谱法对加味柴苓合剂中的虎杖、桂枝进行定性鉴别，用高效液相色谱法测定制剂中黄芩苷的含量，采用 Alltech 色谱柱，检测波长：274 nm，流动相：甲醇-水-冰醋酸（50∶50∶1），流速：1 ml·min^{-1}。结果：薄层斑点明显，且重复性好；黄芩苷在 0.3635～3.635 μg 范围内与峰面积的线形关系良好，回归方程：回归方程：$Y=4.338\ 7\times10^{7}X-3.6969\times10^{5}$，$r=0.999\ 7$，平均回收率为 99.7%，*RSD* 为 1.21%，可见制备工艺可行，质量可靠。结论：该法简便、准确，重现性好，可作为加味柴苓合剂质量控制方法。

关键词：加味柴苓合剂；黄芩苷；虎杖；桂枝

中图分类号：R 286；R 927.1 **文献标识码**：A

加味柴苓合剂是由我院伤骨科创始人张崇权副主任医师提供的临床验方制成的，其处方由柴胡、黄芩、虎杖、桂枝、法半夏、白术、党参、茯苓、炙甘草、半枝莲、白花蛇舌草等 15 味药组成。此验方经过几十年数千例临床验证，配合西药治疗类风湿关节炎，能明显缓解患者症状，明显减轻西药的胃肠道反应等副作用，减轻病人痛苦，因此临床上我院伤骨科医师也一直沿用至今。笔者对加味柴苓合剂中的虎杖、桂枝进行定性鉴别，并用高效液相色谱法测定制剂中黄芩苷的含量，建立了可靠、准确、专属性强的质量控制方法。

1 仪器与材料

美国 Waters 高效液相色谱系统 ，515 泵，2487 紫外检测器，717 自动进样系统，柱温箱。黄芩苷对照品购自中国药品生物制品检定所（供含量测定用，批号：110715-200815）。加味柴苓合剂样品由浙

数元素含量最高；而江西隧川和湖南邵阳产了哥王中所含的 K、Ca、Al、Fe、S、Na、B、Cu、Cr、Co 等较多的微量元素含量较为接近。江西和湖南两地主要以山地红壤、山地黄红壤为主，土壤偏酸性[5]，而广西玉林土壤偏碱性，与前两者土壤性质差别较大。这表明药材所含元素与药材产地土壤等环境存在着较大的相关性。药材中元素含量与土壤的元素等关系有待进一步研究。

（2）由表 2 中元素测定分析得到，各地样品中含量高的元素基本一致。含量最高的分别为 K、Ca。此外，还含有丰富的 Mg、P、Fe、S 等元素。了哥王具有较好的抑菌抗炎、消肿[1～3]的临床功效与含有丰富的元素是分不开的。

（3）对人体有害的元素 As、Sn 均未检出，Hg、Pb、Cd 较高，均超出了《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》规定限量（Hg 0.2 mg/kg、Pb 5.0 mg/kg、Cd 0.3 mg/kg）。这主要与药材生长环境和采收加工等因素有着较大的关系。但重金属离子成为无机或有机配合物的活性中心，对人体疾病有显著的疗效[6]，故在加强重金属含量研究的同时，也应加强中药材重金属存在状态的研究，弄清存在形式及其对含量的影响；其次，更应研究重金属与药材有效成分含量、药物功效的相关性，弄清重金属在治疗疾病中的作用等。

参考文献

[1]浙江植物志编委. 浙江植物志（第四卷）[M]. 杭州：浙江科学技术出版社，199：255－256.

[2]方铝，朱令元，刘维兰，等. 了哥王片抗炎抑菌作用的试验研究[J]. 中国中医药信息杂志，2000，7(1)：28－29.

[3]杨振宇，杜智敏. 了哥王水煎液的抑菌作用研究[J]. 哈尔滨医科大学学报，40(5)：362－364.

[4]王文静，张红梅，李兴元. 不同产地金莲花中微量元素的测定[J]. 广东微量元素科学，2007，14(7)：37.

[5]江西植物志编辑委员会. 江西植物志[M]. 江西科学技术出版社，1993：9.

[6]汪学昭，于雁灵，陈瑶，等. 不同产地积雪草中的微量元素比较研究[J]. 广东微量元素科学，2000，7(1)：42.

（收稿日期：2008-09-27 责任编辑：曹征）

江西中医药 http://www.ajutcm.com

江温州中医院制剂室生产，批号：20080615，20080810，20080912。甲醇为色谱纯，冰醋酸为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 虎杖的鉴别 取加味柴苓合剂 20 ml，加乙醚 15 ml，振摇提取，分取乙醚层，挥去乙醚至 2 ml，作为供试品溶液。同法制得缺虎杖药材的阴性对照溶液。另取大黄素对照品（中检所，批号：756-8912），加乙醚作为对照品溶液。照薄层色谱法（附录Ⅵ B）试验，吸取上述溶液各 10 μl，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以苯-乙酸乙酯-甲醇-甲酸-水（60∶20∶4∶1∶10）的上层溶液为展开剂（1），展开，取出，晾干，置紫外光灯（365 nm）下检视。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同的黄色荧光斑点，置氨蒸气中熏后，日光下检视，黄色斑点变为红色。阴性对照溶液在此无斑点。

2.2 桂枝的薄层鉴别 取加味柴苓合剂 20 ml，用乙醚萃取 3 次，每次 15 ml，合并乙醚萃取液，挥干，加乙酸乙酯 0.5 ml 使溶解，作为供试品溶液。同法制得缺桂枝药材的阴性对照溶液。另取桂皮醛对照品，加乙醇制成每 ml 含 1 μl 的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（附录Ⅵ B）试验，吸取供试品溶液 10 μl 、对照品溶液 1～2 μl，分别点在同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以石油醚（60～90 ℃）-乙酸乙酯（17∶3）为展开剂（2），展开，取出，晾干，喷以 0.2% 2,4-二硝基苯肼乙醇试液. 在供试品试液色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同的橙红色斑点。阴性对照溶液在此无斑点。

3 含量测定

本方中黄芩用量较大，且其中含有的黄芩苷的化学性质稳定，测定方法简便，故在用高效液相色谱法进行含量测定时选择制剂中的黄芩苷为指标。

3.1 色谱条件[1] Alltech 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；检测波长：274 nm；流动相：甲醇-水-冰醋酸（50∶50∶1）；流速：1 ml·min^{-1}；柱温：35 ℃；进样量：10 μL。

3.2 对照品溶液的制备

精密称取黄芩苷对照品 38.18 mg（含量 95.2%），置于 200 ml 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，即得对照品溶液，浓度为 0.1817 mg·ml^{-1}，用微孔滤膜（0.45 μm）滤过，进样。

3.3 样品溶液的制备 精密量取样品 1 ml，置于 50 ml 量瓶中，加 50% 的甲醇适量，超声处理 15 分钟，放置至室温，加 50% 甲醇稀释至刻度，摇匀，离心，取上清液用微孔滤膜（0.45 μm）过滤，弃去初滤液，收集续滤液，制成样品溶液。

3.4 空白实验 取除黄芩以外的各原药材，按处方量制备合剂，照 3.3 项下方法制备空白对照溶液，微孔滤膜（0.45 μm）滤过，进样。结果色谱图中与黄芩苷对应的位置无色谱峰，说明缺位空白对照无干扰。

3.5 方法的适用性 分别取样品溶液、黄芩苷对照品溶液和阴性对照溶液各 10 μl，按上述色谱条件分别进样，测定，结果黄芩苷基线分离良好，样品溶液中其他成分对黄芩苷含量测定无干扰，黄芩苷的保留时间为 18.870 min。

3.6 线性关系的考察 分别精密吸取对照品溶液 2、4、6、8、10、15、20 μL 注入液相色谱仪，以黄芩苷对照品进样量（μg）为横坐标 X，以峰面积积分值为纵坐标 Y，绘制标准曲线，进行回归，得线形回归方程 $Y=4.338\ 7\times10^{7}X-3.696\ 9\times10^{5}$，$r=0.999\ 7$，线性范围为 0.3635～3.635μg。

3.7 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液，重复进样 6 次，每次进样体积 10 μL，测定黄芩苷的峰面积，计算得其 *RSD* 为 0.5%（$n=6$）。

3.8 稳定性试验 精密吸取样品溶液 10 μL，室温放置，分别在 2、4、6、8、12、16 h 按上述条件测定，测定峰面积。其峰面积的 *RSD* 为 0.4%（$n=6$），结果表明该样品溶液在 16 h 内稳定。

3.9 重现性试验 按样品提取方法分别制备 6 份样品溶液，按上述色谱条件测定，结果样品中黄芩苷含量的 *RSD* 为 1.4%（$n=6$），表明其重现性较好。

3.10 加样回收率实验 分别精密量取样品 0.5 ml，共 6 份，分别精密加入黄芩苷对照品溶液（0.1817 mg·ml^{-1}）10.5 ml，按 3.9 项下制备，按样品测定方法测定，外标法计算黄芩苷的回收率，结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果（$n=5$）

样品量/ml	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率（%）	平均回收率（%）	*RSD*（%）
0.5	1.865	1.908	3.75	98.8		
0.5	1.865	1.908	3.77	99.8		
0.5	1.865	1.908	3.78	100.4	99.7	1.21
0.5	1.865	1.908	3.73	97.7		
0.5	1.865	1.908	3.78	100.4		
0.5	1.865	1.908	3.79	100.9		

3.11 样品测定 取不同批号的加味柴苓合剂 3 份，按 3.3 项下进行样品溶液的制备，按 3.1 项下色谱条件进行 HPLC 分析，进样体积 5 μL，按外标法计算含量，测定结果见表 2。

江西中医药 http://www.ajutcm.com

乌药的本草学考证

★ 温中京[1] 陈海委[2] (1. 浙江省富阳市中医院 富阳 311400;2. 浙江中医药大学药学院 杭州 310053)

摘要:对乌药的始载本草、名称和分布、品种、药用部位以及功效主治等作了较详细的本草学考证。

关键词:乌药;本草学考证;文献研究
中图分类号:R 282.7 **文献标识码**:A

乌药为樟科植物乌药(Lindera aggregata (Sims) Kosterm.)的干燥块根。其性味辛温,归肺、脾、肾、膀胱经。乌药为传统的理气药,具有顺气止痛,温肾散寒的功效,广泛用于胸腹胀痛,气逆喘急,膀胱虚冷,遗尿尿频,疝气,痛经等[1]。现代药理研究揭示,乌药对胃肠道平滑肌有兴奋和抑制的双向调节作用,能升高血压及发汗,抗肿瘤、抗炎、抗疲劳、抗风湿、镇痛等。为了更好地开发和利用乌药资源,指导临床安全,合理,有效地用药,有必要对乌药的本草记载进行综合整理研究。

1 始载本草考证

乌药作为药用,一般认为是始载于唐代的《本草拾遗》,也有认为是宋代的《开宝本草》或者《嘉佑本草》。笔者查阅大量文献,仅有《植物名实图考》一例载"乌药,嘉佑本草始著录"[2],故此可能性较小。而查阅尚志钧先生辑释的《本草拾遗》[3],其中并无乌药的记载,而其辑复的《开宝本草》中始有乌药的记载,且在乌药项下明确标有"今附",即表明乌药入药始载于《开宝本草》[4]。《开宝本草》是在参阅《本草拾遗》等著作的基础上编修的,书中大量引用陈藏器对于某些药物的记述,如薏苡仁、合欢等,若乌药始载于《本草拾遗》,《开宝本草》定会引用,而乌药项下没有任何前人的记述。《浙江药用植物志》在"附注"中提出"乌药,始载《开宝本草》"[5],《中国木本药用植物》以及《中华本草》也有类似的观点。故笔者认为乌药应始载于《开宝本草》。

2 名称与分布考证

2.1 *文献名* 乌药自始载《开宝本草》以来,大多文献便沿用"乌药"名称。但《开宝本草》同时记载:"一名旁其"。"乌药"之名缘何而来?《本草纲目》中明确指出"乌以色名",同时,李时珍也解释了之所以叫"旁其"是叶状似鳑鲏鲫鱼而俗称为鳑鲏树的"音讹也",而"鳑鲏"的由来也得到《本草汇言》的证实:"叶尖而微圆,面青色白,状类鳑鲏"[6,7]。此外,李时珍云:"南人亦呼为矮樟,其气似樟也",由此可知,南方地区称乌药为"矮樟",气味与樟树相似。其它本草著作中,乌药的别名也有很多,如

表 2 加味柴苓合剂中黄芩苷的含量测定结果 (n=3)

批号	样品的含量/mg·ml^{-1}
20080615	3.73
20080810	3.94
20080912	3.98

4 讨论

上述实验中,虎杖、桂枝的鉴别专属性强,重现性好,操作简便,故正式纳入加味柴苓合剂质量标准中。

本实验采用 HPLC 测定加味柴苓合剂合剂中黄芩苷的含量,选择黄芩苷的最大吸收波长 274 nm 作为检测波长。选用 Alltech 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),分别采用不同比例的流动相进行色谱分离,结果表明以甲醇-水-冰醋酸(50∶50∶1)为流动相,黄芩苷峰与相邻峰均可完全分离,指标成分的保留时间比较恰当。选用甲醇做溶剂,超声震荡提取,可将黄芩苷提取完全。所得溶液干扰杂质峰小,不污染色谱柱,便于分析。

本实验提取方法简单,分析快速,精密度高,重现性好,且空白实验无干扰,可较好控制本品的质量。

参考文献

[1]国家药典委员会编. 中华人民共和国药典一部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:456,355,418-419.

(收稿日期:2008-11-04 责任编辑:查青林)

江西中医药 http://www.ajutcm.com