

抗宫炎制剂中益母草薄层色谱鉴别的优化和改进

周青, 陈雯*, 李欣茹, 赵力

(贵州省食品药品检验所, 贵阳 550001)

摘要: **目的** 优化和统一抗宫炎制剂中益母草的薄层色谱鉴别方法。**方法** 以益母草对照药材和盐酸水苏碱为定性指标, 采用硅胶 G 薄层板, 以正丁醇-乙酸乙酯-盐酸(8:3:1.5)为展开剂, 喷以稀碘化铋钾试液-1% 三氯化铁乙醇溶液(2:1)混合溶液, 冷风吹干。**结果** 在日光下检视, 阴性样品的色谱未出现干扰斑点, 供试品色谱中, 在与对照药材相应的位置上, 显2个相同颜色的主斑点; 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。**结论** 采用该方法简便可行, 专属性强, 分离度好, 可用于抗宫炎制剂中益母草的薄层鉴别, 有助于控制该制剂中益母草的质量。

关键词: 抗宫炎制剂; 益母草; 盐酸水苏碱; 薄层色谱

0 引言

抗宫炎制剂包括抗宫炎片(分散片)、抗宫炎颗粒、抗宫炎胶囊(软胶囊)三种剂型, 其处方是由广东紫珠、益母草和乌药三味中药组成。抗宫炎制剂具有清热、祛湿、化瘀、止带的功效, 用于宫颈糜烂湿热下注所致的带下病, 症见赤白带下、量多臭味, 宫颈糜烂见上述症候者^[1-2], 是妇科常用中成药。抗宫炎制剂处方中君药广东紫珠, 为江西萍乡地区民间习用药, 最早被收载于1996年《江西省药材标准》^[3]; 可用于衄血, 咯血, 吐血, 便血, 崩漏, 外伤出血, 肺热咳嗽, 咽喉肿痛, 热毒疮疡, 水火烫伤^[4]。广东紫珠的化学成分包括黄酮类、酚酸类、三萜类和苯丙素类等数十种化合物, 其中以金石蚕苷和连翘酯苷B为主要代表的苯丙素类含量最高^[5-7]。方中臣药益母草, 具有活血调经, 利尿消肿, 清热解毒等功效, 临床上用于月经不调, 痛经经闭, 恶露不尽, 水肿尿少, 疮疡肿毒^[8]。益母草的主要化学成分包括生物碱、黄酮类、二萜、阿魏酸、多糖、挥发油等, 生物碱类成分约占益母草化学成分的0.11%~2.09%, 是益母草主要药效物质, 主要包括盐酸水苏碱和益母草碱, 其中尤以盐酸水苏碱的含量最高^[9-11]。因此盐酸水苏碱的薄层鉴别和含量测定也常常作为评价益母草药材和含益母草类中药的质量控制指标。

抗宫炎制剂现行质量标准中, 除个别厂家的抗宫炎软胶囊和抗宫炎分散片未建立益母草的薄层鉴别之外, 其余抗宫炎

片、抗宫炎胶囊和抗宫炎颗粒均建立了以盐酸水苏碱为指标的薄层鉴别项用以控制益母草的质量, 但方法不统一, 部分剂型处理较复杂。前期课题组对抗宫炎制剂进行盐酸水苏碱含量测定时发现, 广东紫珠中的盐酸水苏碱会对阴性造成干扰。目前关于广东紫珠中盐酸水苏碱的研究甚少, 课题组通过查阅相关文献和对广东紫珠进行盐酸水苏碱的含量测定证实了广东紫珠存在盐酸水苏碱, 如在薄层鉴别中仅以盐酸水苏碱作为对照品进行益母草药材质量的考察, 专属性不强, 不能全面反映益母草的质量。本文对抗宫炎制剂中益母草的薄层色谱鉴别方法进行改进和统一, 以益母草药材和盐酸水苏碱为对照物质, 建立专属性强、操作简便、耐用性好的薄层鉴别方法, 以期对抗宫炎制剂中益母草的质量进行有效控制, 为抗宫炎制剂的质量标准提高提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

薄层色谱自动点样仪(瑞士CAMAG公司); 电子分析天平(型号: Mettler AE240, 梅特勒-托利多公司); 液晶单频超声波清洗仪器; 智能水浴冷凝回流提取仪(德合创睿)。

1.2 试药与耗材

对照物质: 盐酸水苏碱(110712-201919)、益母草(120912-201209), 均购自中国食品药品检定研究院; 样品: 不同企业的

第一作者: 周青, 主管药师, 研究方向为中药检验及质量控制。

* 通信作者: 陈雯, 高级工程师, 研究方向为中药检验及质量控制。E-mail: 262927510@qq.com

抗宫炎片、抗宫炎分散片、抗宫炎胶囊、抗宫炎颗粒、抗宫炎软胶囊,样品具体信息详见表 1。

表 1 抗宫炎制剂样品信息表

序号	检品名称	批号	生产厂家
1	抗宫炎分散片	221001/3	A 企业
2	抗宫炎分散片	220602	B 企业
3	抗宫炎胶囊	20220105	C 企业
4	抗宫炎胶囊	220806	I 企业
5	抗宫炎颗粒	22022001	D 企业
6	抗宫炎片	22020101	E 企业
7	抗宫炎片	220606	F 企业
8	抗宫炎片	20220403	G 企业
9	抗宫炎片	221102	H 企业
10	抗宫炎软胶囊	220802	I 企业

硅胶 G 薄层板: 青岛海洋化工有限公司生产的硅胶 G 薄层板(批号: 20230802)、青岛海浪硅胶干燥剂有限公司生产的硅胶 G 薄层板(批号: 20230201)、南京全隆生物技术有限公司生产的硅胶 G 薄层板(批号: 20220616)。

乙醇、无水乙醇、盐酸、丙酮、正丁醇、乙酸乙酯、冰醋酸为分析纯, 中性氧化铝(100~200 目)、次硝酸铋、碘化钾、三氯化铁为分析纯, 水为纯化水。

1.3 方法

1.3.1 供试品溶液的制备

取片: 除去包衣, 研细, 取 2 g; 分散片: 包衣片除去包衣, 研细, 取 3 g; 颗粒: 本品 6 g, 研细; 胶囊: 内容物 1.5 g; 软胶囊: 内容物 3 g, 加乙醇 50 mL, 超声处理 50 min, 滤过, 滤液加在中性氧化铝柱(100~200 目, 5 g, 内径为 2 cm)上, 用乙醇 20 mL 洗脱, 收集滤液与洗脱液, 蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。

1.3.2 对照药材溶液的制备

取益母草对照药材 4 g, 加水 50 mL 煎煮 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 加乙醇 50 mL, 同法制成对照药材溶液。

1.3.3 对照品溶液的制备

取盐酸水苏碱对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。

1.3.4 阴性溶液的制备

按照抗宫炎片的处方组成, 称取其他药材浸膏适量(按配方比例折算), 按照 1.3.1 的方法制备缺益母草的阴性溶液、缺广东紫珠的阴性溶液以及缺益母草和广东紫珠的双阴性溶液。

1.3.5 显色及检视方法

在 105℃ 加热 10 min, 直至展开剂中残留的盐酸完全挥尽, 放冷。再喷以稀碘化铋钾试液-1% 三氯化铁乙醇溶液(2: 1)混合溶液, 冷风吹干。供试品色谱中, 在与对照药材相

应的位置上, 显相同颜色的 2 个主斑点; 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

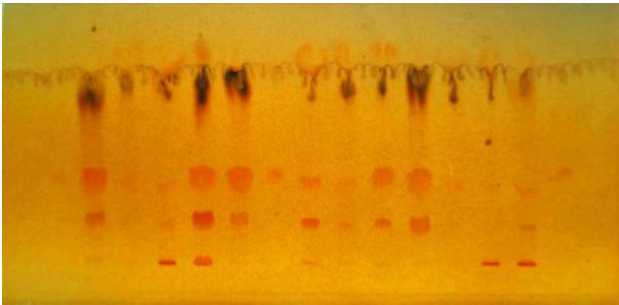
2 结果与分析

2.1 薄层色谱条件的考察

2.1.1 展开剂的考察

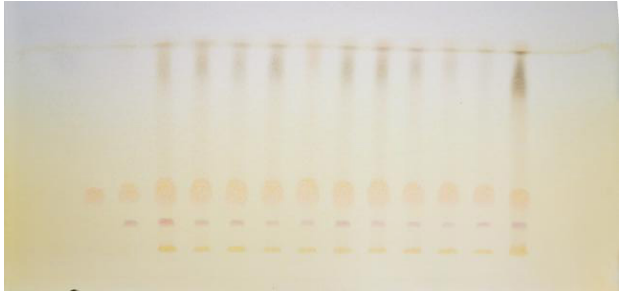
参考抗宫炎胶囊及软胶囊质量标准中益母草的薄层鉴别方法, 对两种展开剂进行考察, 见图 1。

展开剂 1



丙酮-无水乙醇-盐酸(10: 10: 1)

展开剂 2



正丁醇-乙酸乙酯-盐酸(8: 3: 1.5)

图 1 益母草展开剂考察

经试验, 两种展开剂均能达到较好的分离度, 但展开剂 1 展开时, 展开前沿会出现不规整斑点, 展开剂 2 展开时, 展开前沿为规整的线条, 斑点清晰, 美观, 故选择展开剂 2 作为益母草薄层鉴别展开剂。

2.1.2 显色剂的考察

采用硅胶 G 薄层板, 正丁醇-乙酸乙酯-盐酸(8: 3: 1.5)为展开剂, 考察两种种显色剂。

显色剂 1: 先喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 再喷以稀碘化铋钾试液-碘化钾碘试液(1: 1)混合溶液, 冷风吹干。

显色剂 2: 喷以稀碘化铋钾试液-1% 三氯化铁乙醇溶液(2: 1)混合溶液, 冷风吹干。

经试验, 显色剂 1 显色时需要用到两种显色剂, 操作步骤较为繁琐, 且 10% 硫酸乙醇中的硫酸残留会对稀碘化铋钾试液-碘化钾碘试液(1: 1)混合溶液的显色有一定的影响, 显色

剂 2 作为显色剂时显色清晰，斑点保留时间长，故选择稀碘化铋钾试液-1% 三氯化铁乙醇溶液(2：1)混合溶液作为益母草薄层鉴别显色剂。

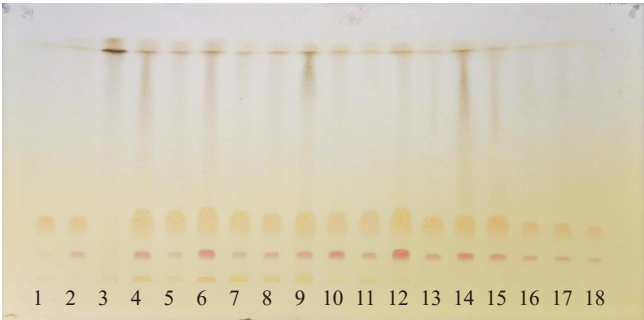
2.1.3 温度的考察

按正文所述色谱条件，取样品溶液、双阴性样品溶液、对照药材溶液、对照品溶液分别点于同一硅胶 G 板，于温度 40℃

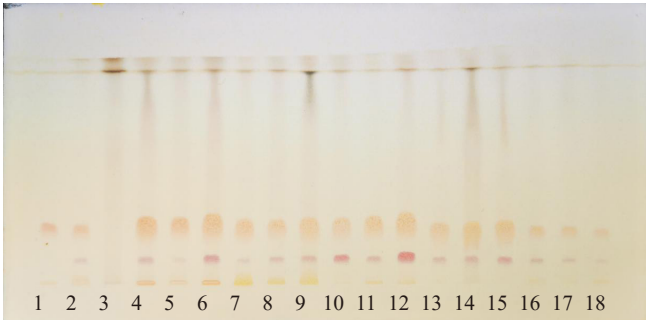
和 4℃ 下展开，结果斑点分离好，阴性无干扰(见图 2)。

2.1.4 湿度的考察

按正文所述色谱条件，取样品、双阴性样品溶液、对照药材溶液、对照品溶液分别点于同一硅胶 G 板，于高湿(72%)、低湿(32%)下展开，结果斑点分离好，阴性无干扰(见图 3)。



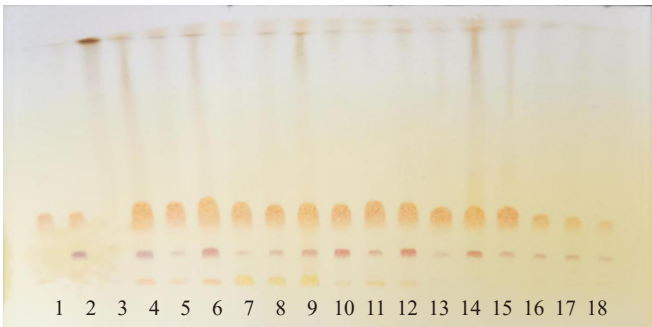
益母草耐用性考察 - 高温(40℃)



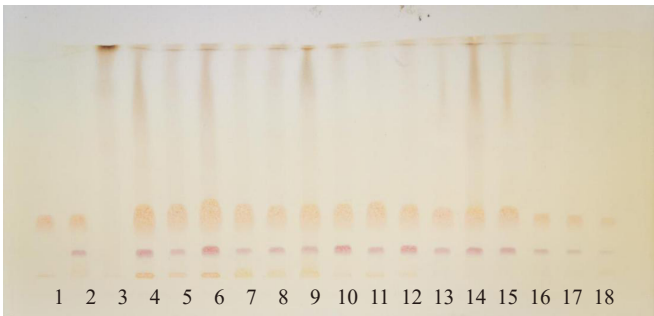
益母草耐用性考察 - 低温(4℃)

注：1. 盐酸水苏碱，2. 为益母草对照药材，3. 为缺益母草和广东紫珠的双阴性样品，4~18. 抗宫炎制剂样品。

图 2 温度的考察



益母草耐用性考察 - 高湿(72%)



益母草耐用性考察 - 低湿(32%)

注：1. 盐酸水苏碱；2. 益母草对照药材；3. 缺益母草和广东紫珠的双阴性样品；4~18. 抗宫炎制剂样品

图 3 湿度的考察

2.2 方法学验证

2.2.1 专属性考察

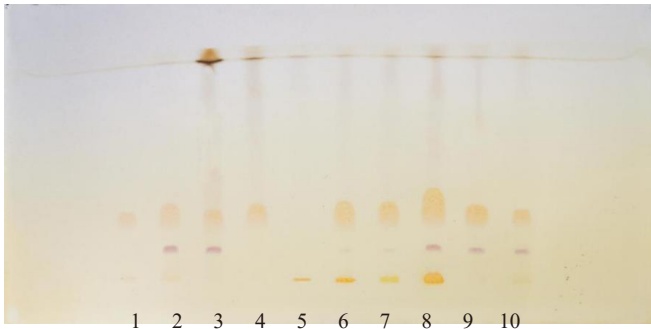
取抗宫炎片、胶囊、分散片、颗粒、软胶囊样品、益母草对照药材、盐酸水苏碱对照品、缺益母草的阴性对照、缺广东紫珠的阴性对照、缺益母草和广东紫珠的双阴性对照，同正文所述方法制得供试品溶液、对照药材溶液、对照品溶液及阴性对照溶液，分别取上述溶液各 10 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，按照 1.3 项下的方法进行展开和显色(见图 4)。

结果发现，在缺广东紫珠的阴性溶液色谱中与盐酸水苏碱对照品相应的位置上，出现了相同颜色的斑点，而缺益母草和广东紫珠的双阴性对照溶液在对应位置则无相应斑点的干扰，故最终确立缺益母草和广东紫珠的双阴性对照。

2.2.2 耐用性

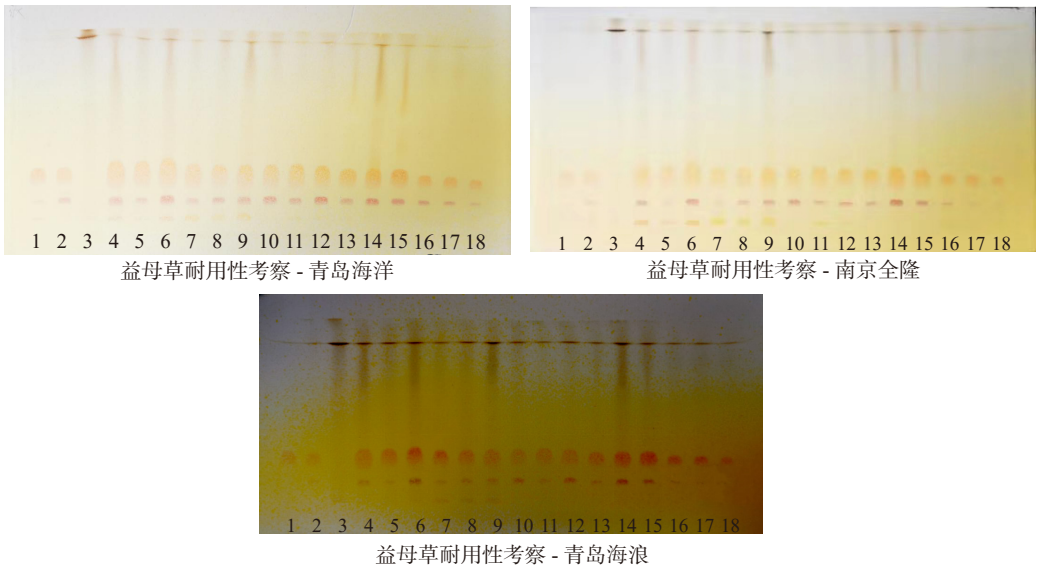
按正文所述色谱条件，取样品溶液、双阴性对照溶液、对

照药材溶液、对照品溶液分别点于青岛海洋化工有限公司、青岛海浪硅胶干燥剂有限公司、南京全隆生物技术有限公司生产的硅胶 G 薄层板上，结果斑点分离好，阴性无干扰(见图 5)。



注：1. 盐酸水苏碱；2. 益母草对照药材；3. 缺广东紫珠阴性对照；4. 缺益母草阴性对照；5. 缺益母草和广东紫珠双阴性对照；6. 抗宫炎颗粒；7. 抗宫炎片；8. 抗宫炎胶囊；9. 抗宫炎分散片；10. 抗宫炎软胶囊

图 4 益母草鉴别专属性考察



注: 1. 盐酸水苏碱; 2. 益母草对照药材; 3. 缺益母草和广东紫珠的双阴性样品; 4~18. 抗宫炎制剂样品

图 5 益母草鉴别耐用性考察

3 讨论与结论

按照拟定的薄层鉴别方法,本研究对不同厂家的抗宫炎制剂进行益母草薄层鉴别检查,结果显示,不同企业生产的抗宫炎制剂存在斑点个数和颜色深浅的不一致,部分样品甚至仅有盐酸水苏碱对照品相对应的斑点,而缺少与益母草药材对应的斑点,说明该成分含量差异较大,这与课题组对抗宫炎制剂进行盐酸水苏碱含量测定结果相符合,分析原因得出可能存在益母草药材质量的差异,同时不排除生产企业存在少投料和掺伪投料的可能。广东紫珠和益母草分别为抗宫炎制剂的君药和臣药,其质量的好坏对于抗宫炎制剂的影响极大。抗宫炎制剂质量标准中仅以盐酸水苏碱的薄层鉴别无法全面反映处方中益母草的质量,其相关专属性实验也表明广东紫珠中存在的盐酸水苏碱会对其结果的判定产生干扰,故有必要建立专属性强的薄层鉴别方法。

在中药制剂的鉴别中,薄层色谱鉴别法凭借其设备简易、操作便捷的显著优势,成为了主要鉴别方法之一。然而,该方法的鉴别结果易受到多种因素的影响,诸如供试品制备方法、展开剂的选择以及显色方式等。本研究聚焦于益母草的薄层色谱鉴别,着重对展开剂和显色方式进行了优化。在原有盐酸水苏碱对照品的基础上,增加益母草对照药材作为对照物质,全面考察了温度、湿度以及硅胶 G 板对薄层鉴别方法的影响。实验结果显示,双阴性对照无干扰情况出现,并且在不同温度、不同湿度条件下,使用不同厂家的硅胶 G 薄层板时,在薄层色谱图的相应位置上均能呈现出相同颜色的斑点,斑点清晰可辨,分离度良好。本研究建立的方法可为抗宫炎制剂中益母草薄层鉴别的修订提供有力依据,同时也为抗宫炎制剂的整体质量评价与控制提供

极具价值的参考,助力提升抗宫炎制剂质量把控的科学性与准确性,推动相关药品质量标准的完善与更新。

参考文献

[1] 高会影,赵艳玲,陈丽丽,等.抗宫炎片和壳聚糖宫颈炎菌膜治疗慢性宫颈炎的有效性研究[J].河北医药,2021,43(08):1200-1203.

[2] 常俊丽,李俊勇.抗宫炎片联合左氧氟沙星治疗慢性盆腔炎的临床研究[J].现代药物与临床,2020,35(07):1373-1376.

[3] 江西省卫生厅.江西省中药材标准[S].南昌:江西科学技术出版社,1997:24-26.

[4] 中华人民共和国国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].北京:中国医药科技出版社,2020:45.

[5] 徐云辉,蒋学阳,徐健,等.广东紫珠的化学成分[J].中国药科大学学报,2016,47(03):299-302.

[6] 毕红玉,付辉政,周志强,等.广东紫珠叶乙酸乙酯部位的化学成分研究[J].中国药学杂志,2018,53(21):1810-1814.

[7] 中华人民共和国国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].北京:中国医药科技出版社,2020:303.

[8] 阮金兰,杜俊蓉,曾庆忠,等.益母草的化学、药理和临床研究进展[J].中草药,2003,11(11):15.

[9] 乔晶晶,吴啟南,薛敏,等.益母草化学成分与药理作用研究进展[J].中草药,2018,49(23):5691-5704.

[10] 罗淑荣,麦路,朱兆仪.益母草中生物碱的分离及含量测定[J].中国中药杂志,1985,10(01):32.

[11] 邓岫,王涛,吴春华,等.益母草黄酮类成分的分离与鉴定[J].中国药物化学杂志,2013,(03):209-212,234.