

五苓系列制剂中肉桂与桂枝的 TLC 和 GC-MS 分析

张幸福 张 炜 才 毛 杨凤梅 范莹莹

(青海省食品药品检验所, 西宁, 810016)

摘要 目的: 考察五苓制剂不同剂型组方药材的不同点, 为合理用药提供依据。方法: 采用薄层色谱鉴别和气相色谱-质谱联用的方法进行实验。结果: TLC 和 GC-MS 均能发现肉桂与桂枝的不同点, 五苓片与五苓胶囊的不同点。结论: 肉桂与桂枝的药效学成分有所不同, 五苓系列制剂中对肉桂与桂枝的使用应合理。

关键词 五苓制剂; 肉桂; 桂枝; 薄层色谱; 气相色谱-质谱联用

Compatibility with Cortex Cinnamomi and Cassia Twig in Wu Ling Preparations by TLC and GC-MS

Zhang Xingfu, Zhang Wei, Cai Mao, Yang Fengmei, Fan Yingying

(Qinghai Institute for Food and Drug Control, Xining 810016, China)

Abstract Objective: To study the different points in wuling Preparations and to provide the basis for rational use of drugs. **Methods:** TLC and GC-MS methods were used. **Results:** There are different between Cortex Cinnamomi and Cassia Twig, Capsules and tablets.

Conclusion: The use of Cortex Cinnamomi and Cassia Twig should be reasonable in Wu Ling Preparations.

Key Words Wu Ling preparations; TLC; GC-MS; Cortex Cinnamomi; Cassia Twig

中图分类号: R284.1 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2014.05.032

千古利水第一方五苓散, 由医圣张仲景创制, 其现代剂型五苓散、五苓胶囊和五苓片有相同的功能主治温阳化气和利湿行水, 用于阳不化气、水湿内停所致的水肿, 症见小便不利、水肿腹胀、呕逆泄泻、渴不思饮^[1-3]。但是组方中今五苓散和五苓胶囊用肉桂, 而古方五苓散和今五苓片用桂枝。我们运用 TLC 和 GC-MS 来鉴别研究五苓制剂中所用肉桂与桂枝的使用情况, 以期为该系列制剂的药效学物质基础和质量评价研究提供依据, 并对五苓系列制剂中肉桂与桂枝的正确使用提出建议。

1 仪器与材料

赛默飞世尔 Triplus GC-DSQ II 气相色谱-质谱联用仪, 赛默飞世尔 TR-1MS-30M 毛细管柱 (柱长 30 m, 内径 0.25 mm), 正己烷、乙腈等均为色谱纯, 其余试剂为分析纯。肉桂对照药材 (批号 121363-200401)、桂枝对照药材 (批号 121191-201103)、桂皮醛 (批号 110710-201016)、肉桂酸 (批号 110786-200503), 对照药材和对照品购于中国药品生物制品检定研究院, 提取挥发油的肉桂、桂枝药材由市场购得。五苓胶囊、五苓片样品为 2012 年国抽样品, 五苓散样品由实验室模拟制备。

2 方法与结果

2.1 五苓胶囊与五苓片中肉桂与桂枝的 TLC 鉴别分析^[4-8] 取五苓胶囊 4 g, 加乙醚 20 mL, 加热回流 30 min, 放冷, 滤过, 滤液挥去乙醚, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为胶囊供试品溶液; 取五苓片 50 片, 同胶囊方法制成五苓片的供试品溶液; 取肉桂、桂枝对照药材各 0.5 g, 同胶囊方法制成对照药材溶液; 取桂皮醛对照

品, 加乙醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 的对照品溶液; 再取肉桂酸对照品, 加环己烷制成每 1 mL 含 1 mg 的对照品溶液。吸取上述六种溶液各 5~10 μ L, 分别点于同一硅胶板 GF254 薄层板上, 以石油醚 (60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯 (9:1) 展开, 置紫外光灯 (254 nm) 下检视, 见图 1。

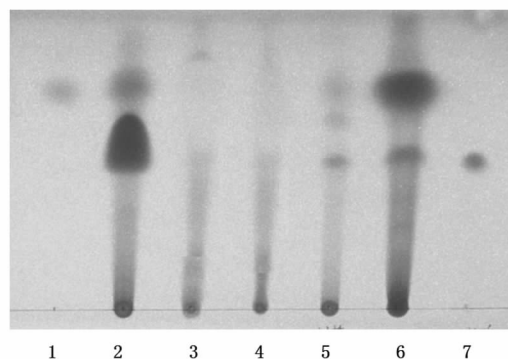


图 1 五苓胶囊、五苓片、肉桂、桂枝的 TLC 特征斑点

注: 1、桂皮醛 2、五苓胶囊 3-4、五苓片 5、桂枝药材 6、肉桂药材 7、肉桂酸

2.2 五苓散、五苓胶囊与五苓片中挥发性成分的 GC-MS 分析比较^[9-12]

2.2.1 气相和质谱条件 柱温为程序升温, 初始温度为 50 $^{\circ}$ C, 保持 10 min, 以 5 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 80 $^{\circ}$ C; 再以 8 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 110 $^{\circ}$ C, 保持 10 min; 再以 1.8 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 160 $^{\circ}$ C; 再以 2.5 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 200 $^{\circ}$ C; 再以 5 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 240 $^{\circ}$ C, 保持 7 min。进样口温度: 250 $^{\circ}$ C; 传输线温度: 250 $^{\circ}$ C; 离子源温度: 250 $^{\circ}$ C; 流量: 1.0 mL/min; 溶剂延迟时间: 3.5 min; 扫描模式: 全扫描/Full scan。

2.2.2 溶液的制备 取肉桂和桂枝药材粉碎成细粉。分别称取约 0.01 g, 置 1 000 mL 圆底烧瓶中, 加纯化水 500 mL, 加沸石少许, 上端接挥发油测定器, 自上端加满纯化水, 用移液器加正己烷 3 mL 至挥发油测定器上端, 与水液分层。调节温度, 保持收集馏出液 2 h, 冷却, 收集正己烷液, 用无水硫酸钠过滤, 分别得到肉桂与桂枝对照药材的挥发油; 取按五苓散处方比例配制的模拟样品, 称取约 0.01 g, 置 1 000 mL 圆底烧瓶中, 加纯化水 500 mL, 加沸石少许, 同对照药材的方法提取模拟五苓散的挥发油; 取五苓胶囊和五苓片样品, 称取约 0.01 g, 置 1 000 mL 圆底烧瓶中, 加纯化水 500 mL, 加沸石少许, 同对照药材的方法制备五苓胶囊和五苓片的挥发油。

2.2.3 测定法 分别精密吸取对照药材挥发油、模拟散剂挥发油和胶囊剂、片剂挥发油各 1 μ L, 注入气相色谱-质谱联用仪, 测定, 即得。将 GC-MS 所得的质谱信息用质谱数据库 NIST0.8 进行计算机检索, 同时采用人工图谱解析, 按各色谱峰的质谱裂解图与库、对照药材和文献核对, 判定出肉桂、桂枝、五苓散模拟制剂、五苓胶囊、五苓片的主要特征峰。见图 2 和表 1。

表 1 各药材的特征峰表

峰序号	峰保留时间 (min)	气质对比验证峰归属
1	21.45	肉桂, 桂枝(主峰)
3	27.60	肉桂, 桂枝
4	35.65	肉桂
5	37.20	肉桂

3 讨论

刘林亚^[13]通过对中药肉桂、桂枝化学成分的对比研究后认为: 二者的化学组成基本相同, 但肉桂中桂皮醛含量高于桂枝, 肉桂与桂枝解表作用的主要成份基本相同, 其化学研究的结果未能支持肉桂不解表的结论。同时他通过对桂枝、肉桂药理作用的对比研究, 认为桂枝、肉桂水煎液均呈现解热作用及镇痛作用, 作用无显著性差异。何姣^[14]认为二者脂溶性化学成分在薄层图谱上有明显区别。说明肉桂与桂枝是有一定区别的。袁鹏飞^[15]对桂枝、肉桂化学成分进行指纹图谱研究后认为, 桂枝和肉桂之间的差异要高于桂枝或肉桂同类药材之间的差异, 其相似度评价结果表明, 桂枝和肉桂指纹图谱轮廓相似, 绝大部分桂枝、肉桂指纹图谱的相似度高于 0.9, 提示两者有很大的相似性。并认为桂皮醛和桂皮酸峰面积的比值可以用来区分大部分桂枝和肉桂, 桂皮醇、桂皮酸、2-甲氧基桂皮酸在桂枝中的平均峰面积高于肉桂, 而 2-羟基桂皮醛、香豆素、桂皮醛、2-甲氧基桂皮醛在肉桂中的平均峰面积

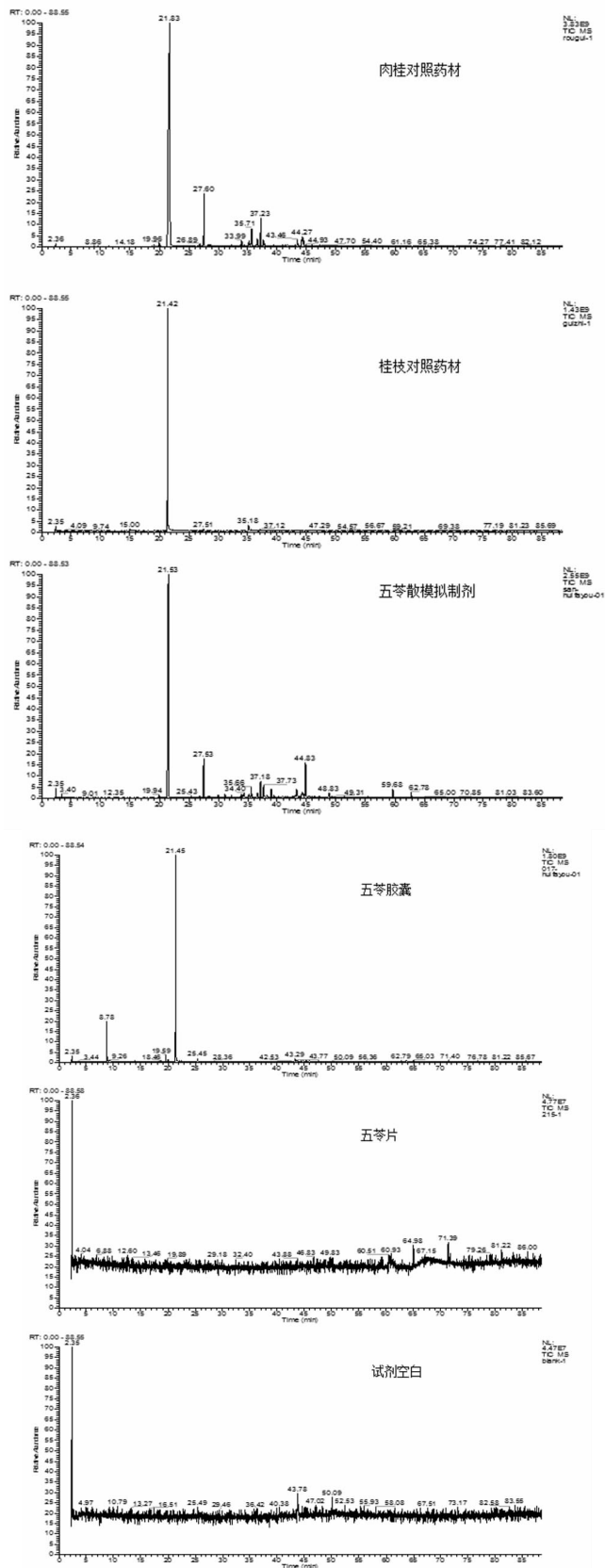


图 2 五苓系列制剂中挥发油的总离子流图

高于桂枝。吴芳^[9]对五苓系列制剂中挥发油的 GC 指纹图谱研究后认为, 五苓片中桂枝挥发油的主要色谱 (下接第 645 页)

进行大样本随机前瞻性研究,使结果更具客观性。

参考文献

- [1] Xu Y, Wang LM, He J, et al. Prevalence and Control of Diabetes in Chinese Adults[J]. JAMA, 2013, 310(9): 948-959.
- [2] 卢敏, 陈青, 骆合德, 等. 2 型糖尿病血脂成份与动脉粥样硬化的相关性分析[J]. 心脑血管病防治, 2012, 12(3): 223-225.
- [3] 吴旋, 陈云欢, 汪欣, 等. 早期动脉硬化危险因素分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(12): 1492-1493.
- [4] 吕琳, 于珮, 苏悦, 等. 不同类型高血压间 2 型糖尿病患者动脉硬化的变化[J]. 中华临床医师杂志, 2012, 6(3): 631-634.
- [5] 赵雷, 王汐, 刘莉, 等. 老年高血压与颈动脉结构性重构及血脂关系的研究[J]. 医学综述, 2013, 19(10): 1901-1903.
- [6] 李中南, 方朝晖, 李远思, 等. 高血压对老年糖尿病患者下肢血管病变的影响[J]. 中国临床保健杂志, 2006, 9(4): 319-320.
- [7] 范学明, 胡华清, 陆琨, 等. 高血压合并 2 型糖尿病患者动态血压与 CAVI 和 ABI 变化及相关性分析[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2012, 2(4): 52-55.
- [8] 徐秀梅, 穆玉明, 翟虹, 等. 高血压合并糖尿病患者内皮功能、血流参数、内中膜厚度与动脉硬化的关系[J]. 中华老年学杂志, 2013, 33(19): 4671-4673.
- [9] 吴炎, 孙岩, 王薇, 等. 新诊断 2 型糖尿病患者动脉弹性的改变及意义[J]. 广东医学, 2013, 34(17): 2649-2651.
- [10] 杨光燃, 李红兵, 袁申元, 等. 糖尿病患者感觉神经功能与下肢动脉病变的关系[J]. 中国糖尿病杂志, 2003, 11(6): 399-401.
- [11] 谢新荣, 马春苏, 欧玉明, 等. 2 型糖尿病患者足部自主神经功能与下肢动脉血管病变相关性的研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2013, 21(3): 246-248.

(上接第 641 页)

峰不明显,分析认为是与药材的质量、贮藏时间及条件、制剂工艺等因素均有关。

由薄层图谱看出:五苓胶囊中能检出桂皮醛与肉桂酸的特征斑点,且与肉桂药材斑点一致;片剂检出微弱的肉桂酸的特征斑点,与桂枝药材的特征斑点不完全对应;肉桂和桂枝对照药材均能检出肉桂酸和桂皮醛的特征斑点,但是桂枝药材中的 2 个特征斑点要弱于肉桂中的,肉桂与桂枝的区别在于肉桂药材多了一个特征斑点,提示肉桂和桂枝的化学成分有所差异,借此可将肉桂药材与桂枝药材初步区分开来。根据 GC-MS 结果分析,肉桂与桂枝相比,桂枝的特征峰数明显少于肉桂。模拟制剂中能检出全部肉桂的特征峰数。五苓胶囊能检出肉桂的主峰(桂皮醛)。五苓片基本未检出桂枝的特征峰,可能与其工艺有关。结果表明肉桂与桂枝,五苓散模拟制剂、五苓胶囊与五苓片的挥发性成分有区别。桂枝的挥发性成分从数量和强度上均小于肉桂,肉桂挥发油中桂皮醛含量高于与桂枝挥发油中桂皮醛的含量。因此,五苓胶囊和五苓片作为具有相同功能主治的同源药方,建议统一二者所用肉桂或桂枝。

参考文献

- [1] 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

- [12] 赵向东, 杨荣礼, 连美玲, 等. 老年糖尿病性周围神经病变与下肢动脉病变[J]. 中国临床康复, 2005, 9(27): 16-17.
- [13] 李哲, 王世东, 赵进喜, 等. 2735 例 2 型糖尿病证候分布特点及“壮火食气”病机探讨[J]. 世界中医药, 2013, 8(5): 488-490.
- [14] 庞博, 赵进喜, 王世东, 等. 祝谌予诊疗糖尿病学术思想与临证经验[J]. 世界中医药, 2013, 8(2): 174-178.
- [15] 孙丽. 从脾论治糖尿病血管病变[J]. 光明中医, 2012, 27(4): 699-701.
- [16] 李建武, 邢运凯, 李博兴, 等. 益气活血通络法中药内服加薰洗治疗对糖尿病下肢动脉血管病变的影响[J]. 世界中医药, 2013, 8(2): 159-161.
- [17] 李彩萍, 王娟. 2 型糖尿病病人大血管病变与性别关系的分析[J]. 内蒙古医学院学报, 2009, 31(4): 410-411.
- [18] 衡卫军, 卢姗, 马向华, 等. 吸烟指数与新发 2 型糖尿病动脉粥样硬化相关因素的研究[J]. 南京医科大学学报:自然科学版, 2013, 33(11): 1597-1599.
- [19] 胡圆圆. 吸烟与 2 型糖尿病血管并发症[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2011, 31(1): 64-68.
- [20] 李娟, 沈兴平, 邹森彪, 等. 吸烟对 2 型糖尿病患者血清细胞黏附分子水平和氧化应激的影响[J]. 中国全科医学, 2009, 12(10): 846-849.
- [21] 李志超, 宁显忠, 胥向红, 等. 女性绝经后血清雌激素水平与颈动脉粥样硬化的关系[J]. 广东医学, 2010, 31(23): 3110-3111.
- [22] 韩海玲, 孙玉芹, 宋文刚, 等. 雌激素及脂蛋白水平与绝经后女性冠状动脉病变评分之间相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(30): 4739-4742.

(2013-11-24 收稿 责任编辑:曹柏)

社, 2010: 127, 259, 533.

- [2] 国家药典委员会. 国家药品标准. 新药转正标准[S]. 第 64 册, 69.
- [3] 卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂. 第 10 册, 22.
- [4] 章为, 丁野, 李文莉, 等. 茵陈五苓糖浆质量标准研究[J]. 中国药师, 2012, 15(1): 33-35.
- [5] 高光恩, 宋燕西. 五苓散薄层扫描法鉴定[J]. 沈阳药学院学报, 1991, 8(2): 99-101.
- [6] 袁祥慧, 杨惠莲. 高效液相色谱法测定五苓片中肉桂酸含量[J]. 中国药业, 2011, 20(9): 18-19.
- [7] 袁祥慧, 杨帆, 杨惠莲. 五苓片中桂枝、茯苓的薄层色谱鉴别[J]. 海峡药学, 2010, 22(6): 59-60.
- [8] 赵晓霞, 周黎明, 张清波. 五苓散的质量标准研究[J]. 中国药事, 2010, 24(1): 30-32.
- [9] 吴芳, 郭增, 罗定强, 等. 五苓系列制剂中挥发油的 GC 指纹图谱研究[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(8): 1355-1358.
- [10] 郑茜, 韩柳, 林美好, 等. 清胃止痛微丸挥发油化学成分的气相色谱-质谱分析[J]. 医药导报, 2013, 32(6): 786-788.
- [11] 冯善涛, 张媛媛, 任利. 圣愈超微粉颗粒中挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 世界中医药, 2011, 6(3): 266-267.
- [12] 黄慧莲, 林涛, 熊梅, 等. 龙脑樟枝叶中挥发油化学成分 GC-MS 分析[J]. 世界中医药, 2012, 7(5): 453-455.
- [13] 刘林亚. 中药桂枝、肉桂化学成份的对比研究[J]. 四川中医, 2001, 19(1): 17-19.
- [14] 何姣. 肉桂、桂枝薄层鉴别方法之改进初探[J]. 中国药品标准, 2008, 9(1): 34-35.
- [15] 袁鹏飞, 尚明英, 蔡少青. 桂枝、肉桂化学成分指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(19): 2917-2921.

(2013-12-10 收稿 责任编辑:曹柏)