

中药新药异功散颗粒薄层鉴别及其稳定性考察

杨晓阳^{1,2}, 郭 勇¹, 王 欢¹, 赵 婷¹, 李 菲^{1*}, 侯金才^{1,3}

(1. 神威药业集团有限公司, 河北 石家庄 051430; 2. 河北省经典名方与现代中药质量过程控制重点实验室, 河北 石家庄 051430; 3. 云南省配方颗粒重点实验室, 云南 楚雄 675000)

摘要:目的: 确立异功散颗粒中人参、白术、陈皮、甘草的薄层鉴别方法, 并对其质量进行稳定性考察。方法: 采用 TLC 法对异功散颗粒中的药味进行鉴别, 通过影响因素试验、加速试验和长期试验考察异功散颗粒的稳定性。结果: TLC 斑点清晰、分离度良好且阴性无干扰。3 批制剂稳定性良好, 质量控制指标测定结果离散度符合要求, 其余检查项均符合中药颗粒剂要求。结论: 异功散颗粒具有良好的稳定性; 所建立的 TLC 方法专属性强、耐用性好, 可用于异功散颗粒的质量控制, 为其临床研究及上市提供了参考依据。

关键词: 异功散; TLC; 稳定性; 质量控制

DOI: 10.11954/ytctyy.202407017

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号: 1673-2197(2024)07-0087-04



Research on TLC and Stability of New Drug Yigong San Granules

Yang Xiaoyang^{1,2}, Guo Yong¹, Wang Huan¹, Zhao Ting¹, Li Fei^{1*}, Hou Jincai^{1,3}

(1. China Shineway Pharmaceutical Group Limited, Shijiazhuang 051430, China; 2. Hebei Key Laboratory of Quality Process Control of Classic Famous Prescription and Modern Chinese Medicine, Shijiazhuang 051430, China; 3. Yunnan Province Key Laboratory of Dispensing Granules, Chuxiong 675000, China)

Abstract: **Objective:** Establish TLC methods for *Ginseng*, *Atractylodes macrocephala*, *Tangerine peel*, *Licorice* in Yigong San granules, and inspect quality stabilization. **Methods:** TLC method was used to identify the medicinal taste in Yigong San granules, and the stability of Yigong San granules was investigated by influencing factor test, acceleration test and long-term test. **Results:** TLC spots were clear, well separated and negative without interference. The stability of the three batches of preparation was good, and the discreteness of the quality control index was in line with the requirements, and the other items were in line with the requirements of TCM granules. **Conclusion:** The established TLC method has strong specificity, good durability and can be used for quality control of Yigong San granules. The good stability of Yigong San granules provides reference for clinical research and marketing.

Keywords: Yigong San; TLC; Stabilization; Quality Control

异功散出自北宋著名儿科医家钱乙所著《小儿药证直诀》,原方由人参、茯苓、白术、陈皮、甘草等组成,研为细末,水煎服,主治小儿不思乳食、脾虚气滞。该方亦为四君子汤加陈皮而成,《名医方论》载方中“参、术、苓、草,甘温益胃,有健运之功,具冲和之德”,加陈皮意在行气化滞、醒脾助运,有补而不滞、补中有行的特点,可调节全身气机,使“正气存于内,邪不可干”,增强机体免疫力,调节阴阳平衡,百病皆可愈^[1-3]。现代临床中,可在该方药味上进行加

减组合,用于治疗小儿及成人消化系统类疾病、呼吸系统疾病、肿瘤疾病、贫血、不孕等,均有很好的疗效^[4-8]。因此,异功散具有非常重要的研究价值。

目前国家大力提倡开发中医药,并为此逐渐发布了一系列法律法规。中药新药的研发是重中之重,其稳定的生产工艺及质量评价指标更是衡量制剂质量与规范化大生产的关键一环。但是目前关于异功散的报道主要集中于临床应用,其质量评价及稳定性相关研究较少。为了在开发应用中有力支撑

收稿日期: 2023-08-21

基金项目: 河北省经典名方与现代中药质量过程控制重点实验室补助经费项目(236790057H)

作者简介: 杨晓阳(1992—),女,硕士,神威药业集团有限公司工程师,研究方向为中药新药及经典名方开发。

通讯作者: 李菲(1983—),女,神威药业集团有限公司高级工程师,研究方向为药品质量及工艺。E-mail: 214724147@qq.com

中药新药异功散的质量可控性和工艺稳定性,本研究特开展异功散颗粒薄层鉴别及其稳定性研究,为其临床应用和上市提供参考依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

安捷伦 LC-1260 型高效液相色谱仪,美国安捷伦公司;Thermo Ultimate 3000 高效液相色谱仪,赛默飞世尔(中国)有限公司;YMC-Triait- C_{18} 色谱柱,日本维美希;HT-300BQ 型超声波清洗器,济宁恒通超声电子设备有限公司;HH-S8 型 A 电热恒温水浴锅,北京科伟永兴仪器有限公司;MS-105DU/AL-204 型电子分析天平,METTLER TOLEDO;TG16-WS 型离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;101-1E135 型电热鼓风干燥箱,北京市永光明医疗仪器有限公司;PEPROSTARS 型薄层色谱照相仪,CAMAG。

1.2 材料

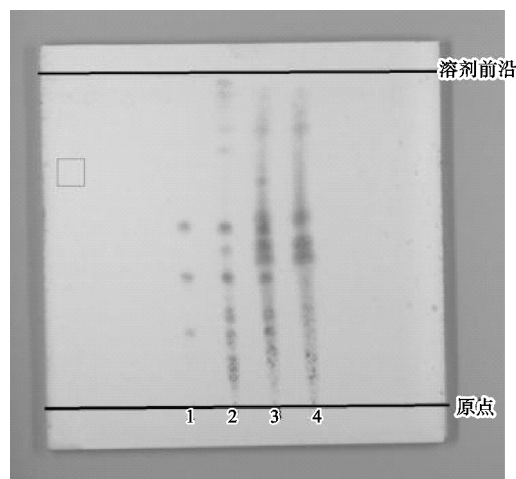
对照品人参皂苷 R_{g_1} (批号 110703-201832)、人参皂苷 R_e (批号 110754-202028)、人参皂苷 R_{b_1} (批号 110704-202028)、甘草苷(批号 111610-201908)、橙皮苷(批号 110721-201818)、甘草酸铵(批号 110731-201720)、人参(批号 120917-201712)、白术(批号 120925-201812)、陈皮(批号 120969-201510)、甘草(批号 120904-201620),均购自中国食品药品检定研究院;乙腈、甲醇、磷酸购自美国 Fisher 公司,色谱纯;水为娃哈哈纯净水;正丁醇、三氯甲烷、浓硫酸、乙醚、石油醚、乙酸乙酯、三氯化铝、醋酸氢钠、盐酸、冰醋酸等其他试剂均为分析纯;硅胶板购自青岛永海/海洋硅胶有限公司。

本研究中所用样品均为神威药业集团有限公司生产,异功散颗粒(批号 20200713、21033061、21033062、21033063)、缺人参阴性样品(批号 20071713)、缺白术阴性样品(批号 20071714)、缺陈皮阴性样品(批号 20071712)、缺甘草阴性样品(批号 20071711)。

2 方法与结果

2.1 质量标准研究—薄层鉴别

2.1.1 人参 取本品(20200713)和缺人参阴性样品(批号 20071713)各 2g,研细,参照 2020 年版《中华人民共和国药典》一部“人参健脾丸”项下人参的薄层鉴别法,索提改为超声,展开剂由三氯甲烷—甲醇—水(13:6:2)改为三氯甲烷—甲醇—水(13:7:2),结果见图 1。所得色谱斑点清晰,供试品与对照品和对照药材斑点对应良好,阴性无干扰。



注:1. 人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 混合对照品;2. 人參对照药材;3. 供試品;4. 缺人参阴性样品。

图 1 人參 TLC 鉴别

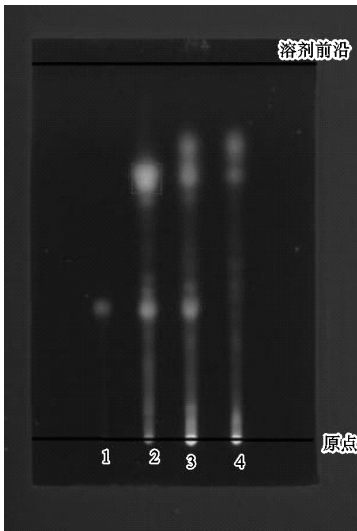
2.1.2 白术 取本品(20200713)和缺白术阴性样品(批号 20071714)各 1g,研细,参照 2020 年版《中华人民共和国药典》一部“四君子颗粒”项下白术的薄层鉴别法。更换展开系统,环己烷—丙酮(4:1)更换为乙酸乙酯—石油醚(60~90℃)(5:2),样品点样量加到 7 μ L,结果见图 2。所得色谱斑点清晰,供试品与对照药材斑点对应良好,阴性无干扰。



注:1. 白术对照药材;2. 供試品;3. 缺白术阴性样品。

图 2 白术 TLC 鉴别

2.1.3 陈皮 取本品(20200713)和缺陈皮阴性样品(批号 20071712)各 0.2g,研细,参照 2020 年版《中华人民共和国药典》一部“补中益气丸”项下陈皮的薄层鉴别法,结果见图 3。所得色谱斑点清晰,供试品与对照药材斑点对应良好,阴性无干扰。

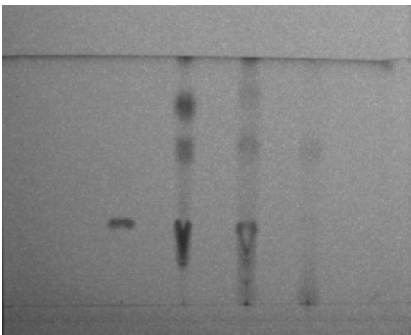


注:1. 橙皮苷对照品;2. 陈皮对照药材;3. 供试品;4. 缺陈皮阴性样品。

图3 陈皮 TLC 鉴别

2.1.4 甘草 取本品(20200713)和缺甘草阴性样品(批号 20071711)各 2g,研细,参照 2020 年版《中华人民共和国药典》一部“补中益气丸”项下甘草的薄层鉴别法,结果见图 4。所得色谱斑点清晰,供试品与对照药材斑点对应良好,阴性无干扰。

2.2 稳定性考察



注:1. 甘草酸铵对照品;2. 甘草对照药材;3. 供试品;4. 缺甘草阴性样品。

图4 甘草 TLC 鉴别

2.2.1 影响因素考察 根据初步拟定的异功散颗粒质量标准、《中药、天然药物稳定性研究技术指导原则》、2020 年版《中华人民共和国药典》四部通则 9001 指导原则,对模拟市售包装(铝塑复合膜)异功散颗粒一批(批号 20200713)进行影响因素实验。考察试验条件为高温试验:温度(50±2)℃,湿度(60±5)%;高湿试验:温度(25±2)℃,湿度(90±5)%;强光照射试验:照度(4500±500)lx。取样时间为 0、5、10、20、30d。考察项目为性状、水分、含量,结果见表 1。除高温使样品结块儿以外,其余项目符合规定。

表 1 影响因素实验结果

项目	0d	5d			10d			20d			30d		
		高温	高湿	强光	高温	高湿	强光	高温	高湿	强光	高温	高湿	强光
水分(%)	7.6	7.6	7.6	7.8	7.9	7.8	7.7	8.0	7.7	7.7	7.8	7.6	7.7
甘草苷(mg/袋)	20.8	20.8	20.8	21.6	20.0	20.8	20.8	21.6	20.8	20.8	20.8	21.6	20.0
橙皮苷(mg/袋)	61.6	60.8	58.4	62.4	52.8	57.6	61.6	63.2	54.4	60.8	59.2	63.2	53.6
甘草酸(mg/袋)	46.4	45.6	45.6	46.4	44.8	46.4	46.4	46.4	45.6	46.4	46.4	46.4	45.6
人参皂苷 Rb ₁ (mg/袋)	6.9	7.3	7.4	7.0	7.6	7.4	7.4	7.0	7.8	7.4	7.4	7.0	7.8

2.2.2 加速稳定性考察 根据 2020 年版《中华人民共和国药典》四部通则 9001 指导原则,将 3 批市售包装异功散颗粒(批号 21033061、21033062、21033063)于恒温恒湿(40℃±2℃,75%±5%)条件下进行考察,结果在各取样时间各项指标均无明显变化,证明异功散颗粒质量稳定、可控,见表 2、表 3。

表 2 稳定性—加速实验结果

批号	时间 (月)	性状	鉴别				溶化性	粒度	装量差异	微生物 限度	特征 图谱
			人参	白术	陈皮	甘草					
21033061;	0	◆	+	+	+	+	◆	◆	◆	◆	◆
	1	◆	-	-	-	-	◆	-	◆	-	◆
21033062;	2	◆	-	-	-	-	◆	-	◆	-	◆
	3	◆	-	-	-	-	◆	-	◆	-	◆
21033063	6	◆	+	+	+	+	◆	◆	◆	◆	◆

注:◆为符合规定;+为呈正反应;-为未检测。

表 3 稳定性—加速实验各项指标

项目	21033061					21033062					21033063				
	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6
水分(%)	4.4	3.8	4.6	4.4	3.7	4.2	4.0	4.4	4.1	3.7	4.7	4.0	4.5	4.8	3.9
甘草苷(mg/袋)	20.8	22.2	23.6	22.1	22.9	21.6	22.4	22.8	22.7	22.5	20.8	21.5	23.5	22.1	22.5
橙皮苷(mg/袋)	65.8	63.2	69.5	68.1	60.8	63.6	60.2	62.3	66.7	65.5	63.6	64.1	63.2	67.6	63.4
甘草酸(mg/袋)	48.0	45.3	50.8	43.2	42.6	45.6	45.2	50.0	45.7	40.9	44.8	43.2	49.5	42.9	41.9
人参皂苷 Rb ₁ (mg/袋)	8.6	7.1	7.8	7.3	9.7	6.7	6.9	7.7	7.4	8.9	8.8	9.2	9.4	9.5	10.5

2.2.3 长期稳定性考察 根据2020年版《中华人民共和国药典》四部通则9001指导原则,将三批市售包装异功散颗粒(批号21033061、21033062、21033063)于恒温恒湿(25℃±2℃,60%±5%)条件下进行考察,结果在各取样时间各项指标均无明显变化,证明异功散颗粒质量稳定、可控,暂定效期24个月,见表4、表5。

表4 稳定性—长期实验结果											
批号	时间/月	性状	鉴别				溶化性	粒度	装量差异	微生物限度	特征图谱
			人参	白术	陈皮	甘草					
21033061; 21033062; 21033063	0	◆	+	+	+	+	◆	◆	◆	◆	◆
	3	◆	-	-	-	-	◆	-	◆	-	◆
	6	◆	+	+	+	+	◆	◆	◆	◆	◆
	9	◆	-	-	-	-	◆	-	◆	-	◆
	12	◆	+	+	+	+	◆	◆	◆	◆	◆
	18	◆	-	-	-	-	◆	-	◆	-	◆
	24	◆	+	+	+	+	◆	◆	◆	◆	◆

注:◆为符合规定;+为呈正反应;-为未检测。

表 5 稳定性—长期实验各项指标																				
项目	21033061							21033062							21033063					
	0	3	6	9	12	18	24	0	3	6	9	12	18	24	0	3	6	9	12	18
水分(%)	4.4	4.3	3.6	3.8	3.9	4.3	4.2	4.2	4.3	3.5	3.9	3.9	4.3	4.2	4.7	4.5	3.9	4.1	4.2	4.7
甘草苷(mg/袋)	20.8	21.6	23.2	20.8	23.1	21.9	21.5	21.6	22.3	22.4	20.7	22.4	21.3	21.4	20.8	21.4	21.8	21.6	21.6	21.3
橙皮苷(mg/袋)	65.8	66.8	61.6	70.5	65.6	71.8	67.5	63.6	66.8	68.0	67.7	65.0	68.5	65.7	63.6	65.8	65.8	70.9	62.0	67.6
甘草酸(mg/袋)	48.0	42.3	43.2	44.4	48.1	44.2	45.3	45.6	43.5	41.8	42.6	45.8	44.5	46.5	44.8	42.4	40.3	43.7	43.8	41.5
人叁皂苷 Rb ₁ (mg/袋)	8.6	7.4	9.1	10.7	7.6	7.5	9.6	7.7	7.4	8.5	8.3	7.7	7.8	7.9	8.8	9.4	10.7	10.7	9.4	9.3

3 讨论

3.1 薄层鉴别方法选择

本研究所选择的薄层鉴别方法均参考《中华人民共和国药典》中与异功散组方相似或包含异功散所有药味的中成药鉴别方法,并比较这些方法在异功散药味中的鉴别适用程度,从而选出最佳鉴别方法。本研究选出的薄层鉴别方法均可快速、准确地呈现其特征斑点,且阴性无干扰,重现性良好。不推荐参考单味药材的鉴别方法作为参考,易出现斑点覆盖、阴性干扰的情况。异功散中茯苓鉴别选取了3种参考方法,均未找出该药味的鉴别特征,因此在异功散质量标准中去掉该药味的薄层鉴别。

3.2 含量测定指标性成分选择

本研究含量测定质量指标性成分参考《中华人民共和国药典》,拟应用于大生产的质量控制,所选成分应稳定且含量不宜过低,还应考虑其作为主要药效活性成分。因此,根据本方中君、臣、佐、使的地位,首选君药人参当中的指标性成分人参皂苷作为质量控制的首要成分。但在研究过程中发现人参皂苷类成分在水提取物中含量较低,实验结果显示人参皂苷R_{g₁}、R_e不符合方法学验证要求,因此仅选择含量较高的人参皂苷R_{b₁}作为该方的含量测定成分。臣药白术和茯苓的高效液相含量测定成分不易提取,且《中华人民共和国药典》中未规定其含量测定指标,因此不规定其含量测定成分。佐药陈皮中的橙皮苷及使药甘草中的甘草苷、甘草酸成分含量高且稳定性好,且为主要药效活性成分,推荐作为质量控制指标性成分。

4 结论

本研究所建立的异功散薄层鉴别方法,可快速、准确地对其药味进行特征鉴别,斑点清晰、分离度及重现性良好,可作为异功散的质量控制指标。异功散颗粒3批样品在加速及长期条件下,各检查项均符合《中华人民共和国药典》中“颗粒剂”项下标准,其含量测定结果离散度符合要求,证明该品种稳定性良好,符合大生产要求。

综上,本研究对异功散颗粒薄层鉴别及其稳定性进行了较为详细、完整的研究,并获得了较为可靠的研究结果,可为该方临床研究及上市提供有效的参考依据和数据支撑。

参考文献:

- [1] 黄朝忠,吴成哲.异功散在恶性肿瘤患者应用中的体会[J].云南中医中药杂志,2014,35(3):26-27.
- [2] 曾庆祥,袁诚伟.异功散及其加味方对小儿脾虚证患者临床疗效及免疫功能的影响[J].中医杂志,2003,20(3):197-198.
- [3] 王瑞华.加味异功散治疗功能性消化不良52例体会[J].中医临床杂志,2004,21(6):551.
- [4] 唐希军.异功散加味治疗糖尿病性胃轻瘫临床观察[J].中医临床研究,2016,8(14):60-61.
- [5] 杨以琳,魏丹蕾.加味异功散治疗脾虚夹湿型感冒后咳嗽临床观察[J].中医临床研究,2011,3(2):24-25,27.
- [6] 王赛赛,姚圆圆,卢雯雯,等.加味异功散在结直肠癌肝转移转化化疗中的应用研究[J].浙江中医杂志,2019,54(8):583-584.
- [7] 刘济,韩媛媛.异功散加减联合重组人促红细胞生成素治疗慢性病贫血的疗效研究[J].中西医结合研究,2017,9(4):175-178.
- [8] 何洁丽.寿胎异功散联合黄体酮治疗肾虚血瘀型早期先兆流产疗效观察[J].现代中西医结合杂志,2017,26(14):1568-1570.

(编辑:陈湧涛)