

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.11.008

川牛膝药材及其成方制剂薄层鉴别方法研究

宋国红, 李 卿[△]

(重庆市中药研究院, 重庆 400065)

摘要:目的 改进2015年版《中国药典(一部)》川牛膝药材及其制剂的薄层鉴别方法。方法 在与《中国药典》相同层析条件下,改进川牛膝药材及制剂中供试品溶液制备方法。结果 在现行《中国药典》层析条件下,川牛膝药材及与川牛膝配伍的不同剂型、不同入药方式、不同生产工艺的中药成方制剂,均检出与杯苋甾酮对照品相应的特征斑点,薄层色谱分离良好,斑点清晰。结论 改进后的薄层鉴别方法效果良好,为药典的修订提供了参考。

关键词: 中国药典; 川牛膝; 薄层鉴别

中图分类号: R282.71; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)11-0025-02

Study on Identification Method for Herb and Preparation of *Cyathula officinalis* by TLC

Song Guohong, Li Qing

(Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing, China 400065)

Abstract: **Objective** To improve the TLC identification method for herb and preparation of *Cyathula officinalis* in *Chinese Pharmacopoeia* (2015 edition, Volume I). **Methods** The experiments were carried out under the chromatographic conditions in *Chinese Pharmacopoeia*, the preparation methods of test solution of *Cyathula officinalis* and its preparations were improved. **Results** Under the current chromatographic conditions of *Chinese Pharmacopoeia*, in the *Cyathula officinalis* and prescriptions of different dosage forms, different drug used methods and different production techniques of *Cyathula officinalis*, the corresponding characteristic spots were detected with the control sample of cyasterone. The TLC was well separated and the spots were clear. **Conclusion** The improved TLC identification method has better effect, which can provide a reference for the revision of *Chinese Pharmacopoeia*.

Key words: *Chinese Pharmacopoeia*; *Cyathula officinalis*; TLC

川牛膝 *Cyathula officinalis* Kuan 是川产道地药材之一,其性善下行,可引血(火)下行,既能逐瘀通经,又能补益肝肾^[1],为历版《中国药典》收载,在中医临床配方及中成药制剂中广泛应用,发挥着重要作用^[2-4]。2015年版《中国药典(一部)》川牛膝药材中鉴别项下收载以川牛膝对照药材和杯苋甾酮对照品为阳性对照的薄层鉴别方法,与川牛膝配伍的中药成方制剂有数十种,在薄层鉴别方法项下,有的收载有川牛膝的薄层鉴别方法,有的未收载;在收载有川牛膝薄层鉴别方法的中药制剂中,有的以川牛膝对照药材为阳性对照,有的以杯苋甾酮对照品为阳性对照,特征性不完全一致。川牛膝化学成分主要为甾体皂苷类、皂苷类、异黄酮类、脂肪酸类及多糖类化合物等,川牛膝中杯苋甾酮有促进蛋白质合成、抗血小板聚集等活性,已作为川牛膝药材及中药成方制剂重要特征性成分^[5-6]。在试验过程中发现,按照现行标准进行试验,川牛膝药材薄层色谱分离清楚,斑点清晰,但操作过程不易控制;该方法用于川牛膝中药成方制剂进行薄层鉴别时,大部分上市品种供试品不能达到纯化效果,色谱鉴别困难,斑点不清晰,易造成判断偏差。本试验中针对现行方法的不足,改进了试验方法,修订后的方法斑点清晰、准确、专属性强。现报道如下。

1 仪器与试剂

仪器:薄层成像色谱仪(瑞士卡玛公司);HH-S型水浴锅(巩义市予华仪器有限责任公司);BP211D型电子天平(德国 Satorius 公司);中性氧化铝(上海陆都化学试剂厂);D101型大孔树脂(天津市海光化工有限公司);硅胶 G 板(青岛海洋化工厂)。

试药:川牛膝对照药材(批号为 121065-20110)、杯苋甾酮对照品(批号为 111804-201303),均由中国食品药品检验检测研究院提供;天麻祛风补片,独活寄生合剂,穿龙骨刺片,痛风定胶囊,腰痛宁胶囊,瘀血痹胶囊,瘀血痹颗粒,均购自零售药房。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

取样品适量(相当于川牛膝药材 2 g),加 80 mL 乙醇,水浴回流 1 h,滤过,回收乙醇,加水 50 mL 溶解,过 D101 大孔树脂柱(长 10 cm,内径 1 cm),用 100 mL 水洗脱,弃去水洗液,再用 50% 乙醇 80 mL 洗脱,收集 50% 乙醇洗脱液,回收乙醇,再加 50 mL 水溶解,继用 40 mL 水饱和正丁醇提取 2 次,正丁醇液用 40 mL 氨试液洗涤 2 次,弃去氨试液,回收正丁醇,用乙醇 1 mL 溶解,作为供试品溶液。取川牛膝对照药材 2 g,加 60 mL 水,提取 1 h,滤过,用 40 mL 水饱和正丁醇提取 2 次,正

第一作者:宋国红(1979-),女,大学本科,主管药师,研究方向为药物调剂和药事管理,(电话)023-89029141。

[△]通信作者:李卿,男,大学本科,副主任药师,研究方向为中药新药开发及质量标准,(电子信箱)qingl666@sina.com。

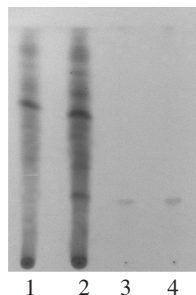
丁醇液用 40 mL 氨试液洗涤 2 次,弃去氨试液,回收正丁醇,加乙醇 1 mL 溶解,作为川牛膝对照药材溶液。取杯苋甾酮对照品适量,加乙醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.2 薄层色谱鉴别

吸取供试品溶液 5 ~ 10 μ L、对照药材溶液和对照品溶液各 5 μ L,点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇(10:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷 10% 硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,日光下检视。供试品溶液色谱中,与川牛膝对照药材溶液色谱和杯苋甾酮对照品溶液色谱相应位置上,显相同颜色的斑点。色谱图见图 1。

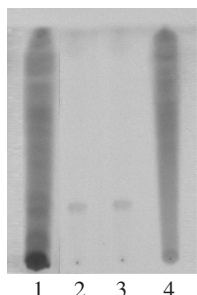
2.3 特征性鉴别

参照 2015 年版《中国药典(一部)》川牛膝药材的鉴别方法,供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱和对照品溶液色谱相应位置上,色谱带分离不清晰,斑点不明确,不能显示明显的特征斑点,色谱图见图 2。采用改进后的供试品溶液制备方法,在相同层析条件下展开、检视,结果色谱分离良好,斑点清晰;以川牛膝药材配伍的中药成方制剂,采用改进后的试验方法,结果在拟订层析条件下,色谱分离度好,在与杯苋甾酮对照品溶液相应位置上,斑点颜色一致,清晰可见。



1. 供试品溶液
2. 川牛膝对照药材溶液
3. 对照品溶液
4. 缺川牛膝阴性样品溶液

图1 川牛膝薄层色谱图



1. 缺川牛膝阴性样品溶液
2. 供试品溶液
3. 川牛膝对照药材溶液
4. 对照品溶液

图2 药典方法川牛膝薄层色谱图

2.4 验证试验

取天麻祛风补片、独活寄生合剂、穿龙骨刺片、痛风定胶囊、腰痛宁胶囊、瘀血痹胶囊、瘀血痹颗粒等 10 个不同上市销售的与川牛膝配伍的中药成方制剂样品适量(相当于川牛膝药材 2 g),按供试品溶液制备方法进行试验。结果 10 批次样品中,均检出与杯苋甾酮对照品相应的特征斑点。

3 讨论

川牛膝药材供试品溶液制备:药典方法采用甲醇回流提取,过中性氧化铝柱,甲醇-乙酸乙酯(1:1)洗脱,改进后的方法采用加水提取,水饱和正丁醇萃取,氨试

液洗涤,改进后的方法与现行方法比较,操作性更强,易于掌握,控制,利于推广应用。

与川牛膝配伍的中药成方制剂供试品溶液的制备:药典收录了数十个与川牛膝配伍的中药成方制剂,剂型包括酏剂、膏剂、片剂、胶囊剂、丸剂等,川牛膝入药方式有生药直接粉碎、水煎煮提取、乙醇回流提取、乙醇渗漉入药等多种,制剂成型工艺各不相同,辅料亦有差异,选用不同处理方法^[7-12]。药典方法用甲醇回流提取、过中性氧化铝柱;甲醇提取,三氯甲烷再萃取;样品加水溶解,乙醚除杂,再用三氯甲烷萃取;样品乙醇回流提取,过大孔树脂,水饱和正丁醇提取,氨试液洗涤。结果表明,改进后的供试品溶液制备方法,各个不同剂型、不同入药方式、不同生产工艺的上市产品,供试品溶液色谱纯化效果理想,色谱分离良好,斑点清晰。

原药典收录的川牛膝鉴别方法:某些展开系统中用到甲苯等剧毒溶剂,通过改进供试品溶液制备方法后,选用更具代表性的杯苋甾酮作为鉴别川牛膝的对照品,避免了剧毒试剂的使用,对操作人员和管理人员都有很好的保护作用,在生产和质量控制中方法专属性更强,判断准确性更高。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 38.
- [2] 李成, 马新建. 道地药材之怀牛膝、川牛膝的本草考证[J]. 中医学报, 2011, 26(11): 1336-1337.
- [3] 叶品良, 彭娟, 刘娟. 川牛膝研究概况[J]. 中医药学报, 2007, 35(2): 51-53.
- [4] 黎万寿, 陈幸, 王晓阳. 川牛膝的品质研究[J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(4): 18-20.
- [5] 孔飞飞, 郭良君, 谭兴起. 川牛膝中杯苋甾酮的提取、分离及纯化工艺研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(18): 2023-2026.
- [6] 谭玉柱, 童婷婷, 潘晓丽. 川牛膝的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 成都中医药大学学报, 2011, 34(3): 75-77.
- [7] 郭晶, 孙传鑫, 王秋红. 川牛膝化学拆分组分性味药理学评价——川牛膝化学拆分组分降血脂作用研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(7): 16-19.
- [8] 刘晶晶, 陈幸. 大孔吸附树脂富集纯化川牛膝中杯苋甾酮的研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(9): 2274-2275.
- [9] 李金亭, 胡正海. 牛膝类药材的生物学与化学成分的研究进展[J]. 中草药, 2006, 37(6): 952-956.
- [10] 卢树杰, 张纲, 甄兰敏. 舒筋通络颗粒中牛膝的薄层色谱鉴别[J]. 中国药业, 2010, 19(6): 26.
- [11] 何颖, 谷勇, 侯杰荣. 牛膝与川牛膝及华泽兰牛膝的鉴别[J]. 实用中医药杂志, 2011, 27(8): 562-563.
- [12] 徐金凤, 孙妍, 张洪娟. 续断接骨丸制剂工艺和质量标准薄层鉴别方法的研究[J]. 黑龙江中医药, 2014, 43(3): 47-48.

(收稿日期: 2017-12-09; 修回日期: 2018-01-04)