

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.19.013

安神补心片的薄层色谱鉴别

刘莉,李婷婷[△],王欣,孔卫东

(四川省成都市食品药品检验研究院,四川 成都 610045)

摘要:目的 提高安神补心片的质量标准,完善其薄层鉴别方法。方法 在现行安神补心片国家标准基础上,修订了五味子、首乌藤、女贞子的薄层色谱鉴别,并增订了石菖蒲、菟丝子的薄层色谱鉴别。结果 主斑点清晰,专属性强,阴性对照无干扰。结论 该方法操作简便易行,可行性良好且准确,可为该品种的质量控制提供有效保障。

关键词:安神补心片;五味子;首乌藤;女贞子;石菖蒲;菟丝子;薄层色谱鉴别

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)19-0043-03

TLC Identification of Related Herbal Medicines in Anshen Buxin Tablets

LIU Li, LI Tingting, WANG Xin, KONG Weidong

(Chengdu Institute for Food and Drug Control, Chengdu, Sichuan, China 610045)

Abstract: Objective To improve the quality standard of Anshen Buxin Tablets and improve its TLC identification method. **Methods** Based on the current national standard of Anshen Buxin Tablets, the TLC identifications of *Schisandrae Chinensis Fructus*, *Polygoni Multiflori Caulis* and *Ligustri lucidi Fructus* was revised, and the TLC identifications of *Acorus tatarinowii* and *Cuscutae Semen* were added. **Results** The main spots were clear and specific, and the negative sample solution had no interference. **Conclusion** The method is simple, feasible and accurate, which can provide effective guarantee for the quality control of this variety.

Key words: Anshen Buxin Tablets; *Schisandrae Chinensis Fructus*; *Polygoni Multiflori Caulis*; *Ligustri lucidi Fructus*; *Acorus tatarinowii*; *Cuscutae Semen*; TLC identification

安神补心片处方来源于国家标准^[1],由丹参、石菖蒲、五味子(蒸)、首乌藤、墨旱莲、合欢皮、菟丝子、女贞子、地黄、珍珠母10味中药组方,临床用于阴血不足、虚火内扰所致的心悸失眠,头晕耳鸣。安神补心片现有的质量标准较低,特别是薄层色谱鉴别仅涉及五味子、首乌藤、女贞子,且女贞子鉴别项中使用齐墩果酸作为指标成分,存在较大争议。本研究中以安神补心片为研究对象,对原标准中的五味子、首乌藤的薄层色谱鉴别进行了完善,新增了石菖蒲、菟丝子的薄层色谱鉴别,特别对其中女贞子薄层色谱鉴别存在的问题进行了改进,完善了安神补心片的质量标准。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

4型薄层色谱自动点样仪、薄层色谱成像及文件系统(瑞士卡玛公司);AEG220型电子天平(感量为0.1 mg,日本岛津公司);SK250H型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);HH-4型数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司);K-350型半自动凯氏定氮仪(瑞士Buchi公司)。

1.2 试剂

石菖蒲对照药材(批号为121098-201105),菟丝子对照药材(批号为121232-201102),首乌藤对照药材(批号为120939-201507),五味子对照药材(批号为120922-201309),女贞子对照药材(批号为111926-

201203),特女贞苷对照品(批号为111926-201203,含量为96.4%),五味子甲素标准品(批号为111764-201714,含量为99.3%),大黄素甲醚(批号为110758-201616,含量为99.0%), β -细辛醚对照品(批号为112018-201601,含量为96.8%),均由中国食品药品检定研究院提供;安神补心片(I,糖衣片,太极集团四川绵阳制药有限公司,批号为1806001;II,薄膜衣片,太极集团四川绵阳制药有限公司,批号为1710004,1803001;III,薄膜衣片,吉林百姓堂药业有限公司,批号为20161101;IV,薄膜衣片,比智高药业有限公司,批号为20170501;V,薄膜衣片,太极集团重庆桐君阁制药厂有限公司,批号为18080001,18090001);其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 五味子

取样品10片,除去包衣,研细,取2 g,精密称定,加三氯甲烷20 mL,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加三氯甲烷1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取五味子对照药材0.5 g,加三氯甲烷20 mL,同法制成对照药材溶液。再取五味子甲素对照品,加三氯甲烷制成每1 mL含2 mg的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(2015年版《中国药典(四部)》通则0502)试验,吸取上述溶液各5~10 μ L,分别点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上,以石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1, V/V/V)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,温度为15℃,

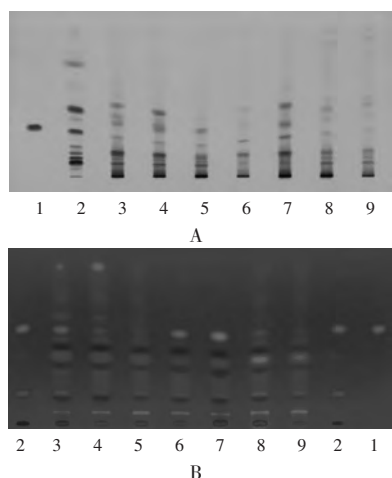
第一作者:刘莉,女,硕士研究生,副主任药师,研究方向为药物分析,(电子信箱)liuli2807@sina.com。

[△]通信作者:李婷婷,女,硕士研究生,主管药师,研究方向为药物分析,(电话)028-85362592。

相对湿度为50%，置紫外光灯(254 nm)下检视。供试品溶液色谱中，在与对照药材溶液和对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点。详见图1 A。

2.2 首乌藤

取样品10片，除去包衣，研细，加甲醇30 mL，超声处理30 min，滤过，滤液挥干，残渣加无水乙醇1 mL使溶解，作为供试品溶液。另取首乌藤对照药材1 g，同法制成对照药材溶液。再取大黄素甲醚对照品适量，制成甲醇的饱和溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法(2015年版《中国药典(四部)》通则0502)试验，吸取上述溶液各5~10 μ L，分别点于同一硅胶G薄层板上，以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)–甲酸乙酯–甲酸(15:5:1, V/V/V)的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，温度为15 $^{\circ}$ C，相对湿度为50%，置紫外光灯(254 nm)下检视。供试品溶液色谱中，在与对照药材溶液和对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光主斑点。详见图1 B。



1. 对照品溶液 2. 对照药材溶液 3-9. 供试品溶液
A. 五味子 B. 首乌藤

图1 五味子及首乌藤薄层色谱图

2.3 石菖蒲

取样品30片，研细，置蒸馏管中，加水约30 mL，摇匀，水蒸气蒸馏，收集馏出液约50 mL置锥形瓶(预先装入水5 mL)中，蒸馏管中残渣备用，馏出液用石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)振摇，提取2次，每次50 mL，合并提取液，残渣挥至近干，残渣加乙酸乙酯1 mL使溶解，作为供

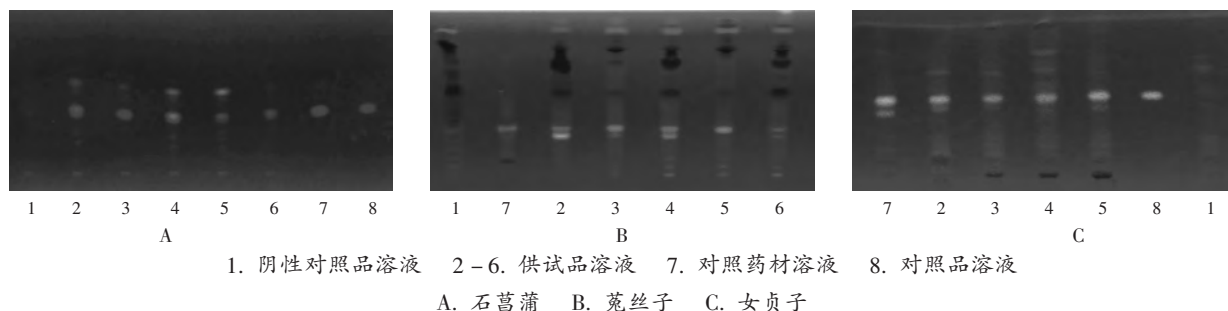
试品溶液。另取石菖蒲对照药材1 g，加乙酸乙酯5 mL，超声处理15 min，滤过，滤液作为对照药材溶液。再取 β -细辛醚对照品适量，加乙酸乙酯制成每1 mL含0.5 mg溶液，作为对照品溶液。参照安神补心片中除石菖蒲外，取其他9味药材组方比例和工艺制备缺石菖蒲阴性样品，按供试品溶液制备方法制得缺石菖蒲阴性对照品溶液。照薄层色谱法(2015年版《中国药典(四部)》通则0502)试验，吸取上述溶液各10~20 μ L，分别点于同一硅胶G薄层板上，以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)–乙酸乙酯(4:1, V/V)为展开剂，展开，取出，晾干，喷以醋酸溶液，温度为15 $^{\circ}$ C，相对湿度为50%，稍干后立即置紫外光灯(254 nm)下检视。供试品溶液色谱中，在与对照药材溶液和对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光主斑点，阴性对照无干扰。详见图2 A。

2.4 菟丝子

取石菖蒲鉴别项下残渣，离心，取上清液，用石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)50 mL，振摇提取，弃去石油醚液，水液用乙酸乙酯振摇提取2次，每次30 mL，水液备用，合并乙酸乙酯液，蒸干，残渣加甲醇2 mL使溶解，作为供试品溶液。另取菟丝子对照药材1 g，加水50 mL煎煮30 min，放冷，滤过，自“滤液用石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)50 mL”起，同法制成对照药材溶液。参照安神补心片中除菟丝子外，取其他9味药材组方比例和工艺制备缺菟丝子阴性样品，按供试品溶液制备方法制得缺菟丝子阴性对照品溶液。照薄层色谱法(2015年版《中国药典(四部)》通则0502)试验，吸取上述2种溶液各5~10 μ L，分别点于同一硅胶G薄层板上，以乙酸乙酯–无水甲酸–水(20:2:3, V/V/V)为展开剂，温度为15 $^{\circ}$ C，相对湿度为50%，展开，取出，晾干，喷以5%亚硝酸钠60%的乙醇溶液，置紫外光灯(254 nm)下检视。供试品溶液色谱中，在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点，阴性对照无干扰。详见图2 B。

2.5 女贞子

取菟丝子鉴别项下水液，用水饱和的正丁醇振摇提取2次，每次50 mL，合并正丁醇液，蒸干，残渣加甲醇5 mL使溶解，作为供试品溶液。另取女贞子对照药材1 g，加水50 mL，煎煮30 min，滤过，滤液用水饱和和正



1. 阴性对照品溶液 2-6. 供试品溶液 7. 对照药材溶液 8. 对照品溶液
A. 石菖蒲 B. 菟丝子 C. 女贞子

图2 石菖蒲、菟丝子及女贞子薄层色谱图

丁醇振摇提取2次,每次50 mL,合并正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇2 mL使溶解,作为对照药材溶液。再取特女贞苷对照品适量,加甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。参照安神补心片中除女贞子外,其他9味药材组方比例和工艺制备缺女贞子阴性样品,按供试品溶液制备方法制得缺女贞子阴性对照品溶液。照薄层色谱法(2015年版《中国药典(四部)》通则0502)试验,吸取上述溶液各1~5 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2, V/V/V)10℃以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,加热至斑点显色清晰,温度为15℃,相对湿度为50%,置紫外光灯(254 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液和对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光主斑点,阴性对照无干扰。详见图2C。

3 讨论

薄层色谱法一直为药品质量标准控制最简单、科学且有效的检测手段,由于其操作方便,检测手段多样化,在中药材和中成药的定性分析中应用十分广泛。使用关键点在于对样品的前处理,展开剂、显色剂及薄层色谱板载体的选择,故在方法学研究中需根据具体药品制剂中药材的使用情况,对方法进行适当地调整或改进,如调整薄层色谱展开剂系统、显色剂的更换或选择适合的薄层色谱载体使薄层鉴别更清晰,阴性对照无干扰,其色谱图的重复性好^[12-31]。

五味子的薄层色谱鉴别为原标准已有项目,本研究中,对原标准方法进行了验证,但硅胶G板碘蒸气中显色效果不佳,斑点不清晰。参照2015年版《中国药典》五味子药材项下有关内容^[4-6],将薄层板由硅胶G板更换为硅胶GF₂₅₄板,显色方式由碘蒸气显色更换为紫外光灯(254 nm)下检视,效果较理想,并增加了五味子对照药材作为参考,能更好地鉴定安神补心片中的五味子,其色谱图更加清晰、明确。

首乌藤的薄层色谱鉴别为原标准已有项目,本研究表明,原展开剂展开斑点分离度不够好,后将展开剂修订为石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1, V/V/V)的上层溶液^[41265,883,15-61],可达到较好分离。同时考虑了大黄素甲醚为首乌藤的主要化学成分,故增加了大黄素甲醚对照品作为评定依据,可更明确地鉴别样品中首乌藤主斑点。

石菖蒲的薄层色谱鉴别为新增订内容。参考2015年版《中国药典(一部)》石菖蒲药材及成方制剂安神补心丸及安神补心颗粒项下石菖蒲的薄层色谱鉴别及相关文献^[4191,882-883,16-71],经优化,建立了石菖蒲的薄层鉴别方法。此方法专属性强,斑点清晰,分离效果好,稳定性及重复性均良好,阴性对照无干扰,可用于安神补心

片中石菖蒲的定性鉴别。

菟丝子的薄层色谱鉴别为新增订内容。参考2015年版《中国药典(一部)》菟丝子药材及成方制剂安神补心丸及安神补心颗粒项下菟丝子的薄层色谱鉴别及相关文献^[41883,309,17],经优化,制订了菟丝子的薄层鉴别方法。此方法针对性强,斑点清晰,分离效果好,稳定性及重复性均良好,阴性对照无干扰,可用于安神补心片中菟丝子的定性鉴别。

女贞子的薄层色谱鉴别为原标准收载项目,本研究表明,按原标准规定方法检验,无法检测出齐墩果酸斑点。故参考2015年版《中国药典(一部)》女贞子药材及有关文献^[4145,18-10],经优化,重新建立了女贞子的薄层鉴别方法,选择了女贞子所特有的成分特女贞苷作为参考对照品,可更明确地鉴别出样品女贞子主斑点。此方法针对性强,斑点清晰,分离效果好,稳定性及重复性均良好,阴性对照无干扰,可用于安神补心片中女贞子的定性鉴别。

本研究中地黄、合欢皮的薄层色谱定性鉴别参考了《中国药典》及相关文献,经反复试验,供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上,主斑点不对应,或阴性对照有干扰。效果均不理想,仍需进一步研究。

综上所述,在安神补心片现行质量标准的基础上,完善了五味子、首乌藤薄层色谱鉴别,改进了女贞子薄层色谱鉴别,增加了石菖蒲、菟丝子的薄层色谱鉴别,建立的方法简单易行、高效快捷、有效可控,为完善和提升安神补心片的质量标准提供了依据,也为辨别伪劣药品提供了参考。

参考文献:

- [1] WS-11407(ZD-1407)-2002,中华人民共和国国家药品监督管理局国家中成药标准汇编(中成药地方标准上升国家标准部分). 内科心系分册[S].
- [2] 周涓,杨瑜珍,陈华杏,等. 荆防除湿茶薄层色谱鉴别研究[J]. 中国药业,2017,26(9):22-26.
- [3] 温馨,江耀伦,陈素珍,等. 大七厘散中大黄及当归薄层鉴别方法改进[J]. 中国药业,2017,26(14):7-9.
- [4] 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.
- [5] 邵陆. 安神补心胶囊薄层层析研究[J]. 中成药,1996(4):48.
- [6] 杨永华,陈艳军,刘奕晖. 安神补心颗粒剂质量标准的研究[J]. 湖南中医学院学报,1997,17(2):50-52.
- [7] 彭维,郑文燕,苏畅,等. 安神补心颗粒质量标准提高研究[J]. 中药材,2013,36(8):1343-1347.
- [8] 黄新革,王武朝. 中药女贞子的化学成分研究进展[J]. 国际药学研究杂志,2011,38(1):47-51.
- [9] 徐芳琴,马晨超,曹金一,等. 露源胶囊中枸杞子、女贞子的薄层色谱鉴别研究[J]. 中国药业,2016,25(20):57-59.
- [10] 周扬,刘力,徐德生. 女贞子饮片中特女贞苷的薄层色谱鉴别[J]. 中国药业,2013,22(19):27-29.

(收稿日期:2019-04-03)