

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.11.020

乳核散结胶囊中相关药材薄层色谱鉴别

张雪梅¹, 张刘伟¹, 梁宗锁^{2,3}, 彭玉婷³, 刘景玲^{3,Δ}

(1. 西北农林科技大学化学与药学院, 陕西 咸阳 712100; 2. 浙江理工大学生命科技学院, 浙江 杭州 310038; 3. 西北农林科技大学生命科技学院, 陕西 咸阳 712100)

摘要:目的 建立乳核散结胶囊中相关药材的薄层色谱(TLC)定性鉴别方法。方法 采用 TLC 法对乳核散结胶囊中相关药材进行定性鉴别。结果 TLC 法可检测出柴胡、鹿衔草、当归、黄芪,且斑点清晰,无拖尾,阴性对照无干扰。结论 该方法专属性强、简便,且重复性好,可用于乳核散结胶囊的质量控制。

关键词:乳核散结胶囊;柴胡;鹿衔草;当归;黄芪;薄层色谱法

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)11-0070-04

TLC Identification of Related Drugs in Ruhe Sanjie Capsules

ZHANG Xuemei¹, ZHANG Liuwei¹, LIANG Zongsuo^{2,3}, PENG Yuting³, LIU Jingling³

(1. School of Chemistry and Pharmacy, Northwest A&F University, Xianyang, Shaanxi, China 712100; 2. School of Life Science, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou, Zhejiang, China 310038; 3. School of Life Science, Northwest A&F University, Xianyang, Shaanxi, China 712100)

Abstract: Objective To establish a qualitative identification method for the determination of related drugs in Ruhe Sanjie Capsules by thin layer chromatography(TLC). **Methods** Qualitative identification of related drugs in Ruhe Sanjie Capsules was performed by TLC. **Results** TLC could detect *Bupleurum chinense*, *Pyrola calliantha* H. Andres, *Angelica sinensis* and *Astragalus membranaceus*(Fisch.) Bunge. The spots were clear without tailing, and negative solution had no interference. **Conclusion** This method is specific, simple, and reproducible, and can be used for quality control of Ruhe Sanjie Capsules.

Key words: Ruhe Sanjie Capsules; *Bupleurum chinense*; *Pyrola calliantha* H. Andres; *Angelica sinensis*; *Astragalus membranaceus*(Fisch.) Bunge; thin layer chromatography

乳核散结胶囊由当归、黄芪、柴胡、淫羊藿等10味中药材组方,与2015年版《中国药典(一部)》中的乳核

散结片的配方一致,具有舒肝活血、祛痰软坚功效,可用于治疗乳房肿块结节、质软或中等硬、经前疼痛加剧、乳

第一作者:张雪梅,女,在读硕士研究生,主要从事中药材的加工工作,(电子信箱)577589905@qq.com。

Δ通信作者:刘景玲,女,博士研究生,讲师,主要从事药用植物规范化栽培和次生代谢调控工作,(电子信箱)jinglingliu-sm@Nwsuaf.edu.cn。

表3 样品含量测定结果(mg/g)

批号	丁香酚	细辛脂素	批号	丁香酚	细辛脂素
20170903	1.19	2.22	20180502	1.03	2.11
20180312	0.73	1.02	180907	1.70	1.89
180316	0.84	1.65			

3 讨论

试验中对对照品混合溶液进行光谱扫描,发现丁香酚吸收波长为283 nm,细辛脂素最大吸收波长为287 nm,根据样品中2个主成分的含量、峰面积及其他物质的影响,确定检测波长为287 nm。

前处理过程中,分别用甲醇、稀乙醇处理样品,结果甲醇处理后得到的样品杂质最少,有效成分也提取完全。试验中分别采用甲醇-水、乙腈-水为流动相,以甲醇-水为流动相时,细辛脂素峰形较差,且出峰时间长;以乙腈-水为流动相时,峰形尖锐对称。考虑到丁香酚和细辛脂素出峰时间相差较大,故采用梯度洗脱法。

参考文献:

[1] 纪飞. 根管治疗联合丁细牙痛胶囊治疗慢性牙髓炎的疗

效观察[J]. 全科口腔医学电子杂志, 2016, 3(11): 23-24.

[2] 国家药典委员会. 国家药品标准新药转正标准·第84册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2011: 42-43.

[3] 王金玲. 丁香叶生药学初探及其活性部位的研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学.

[3] 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: 230-231.

[4] 王懿, 黄伟, 孙蓉. 基于功效和毒性的细辛化学成分研究进展[J]. 中国药物警戒, 2013, 10(1): 36-38.

[5] 曹洒, 李亚敏, 戴王强, 等. 高效液相色谱法测定细辛不同药用部位细辛脂素的含量[J]. 湖北中医药大学学报, 2018, 20(4): 42-44.

[6] 张水馨. 从细辛中分离细辛脂素工艺研究[J]. 中医学报, 2016, 31(2): 255-257.

[7] 陈岳蓉, 李普衍, 刘海青. 藏药七味诃子散中有效成分丁香酚的含量测定[J]. 中国药事, 2017, 31(2): 165-169.

[8] 周燕萍, 瞿娇, 杨全伟, 等. 癌痛巴布剂中细辛脂素释放度和离体透皮率的测定[J]. 中国药房, 2016, 27(4): 482-484.

[9] 张玉昆, 冯月男, 孙思邈, 等. 固本安神胶囊质量标准研究[J]. 中国药业, 2019, 28(13): 33-35.

(收稿日期: 2019-09-19)

房胀痛等症状^[1-2]。目前,仅有少数关于其功效类似中成药的鉴别方法^[3-4]。2015年版《中国药典(四部)》中,仅有乳核散结片中当归和淫羊藿的定性鉴别,未曾提到其他药材。为有效控制此制剂的有效性和内在质量,本研究中采用薄层色谱(TLC)法分别对其中柴胡、鹿衔草、当归、黄芪进行定性鉴别,为《中国药典》中乳核散结片质量标准的修正和完善提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

AUW120型分析天平(日本岛津公司,精度为0.1mg);RE-52AA型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);KQ-250B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为250W,频率为40kHz);MH-2000型调温型电热套(北京科伟永兴仪器有限公司);SHB-ⅢS型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);XMTD-8222型电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司);DHG-9240A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);KDC-140HR型高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);DK-8D型三孔电热恒温水槽(上海齐欣科学仪器有限公司);薄层层析硅胶G板(青岛海洋化工厂,规格为10cm×10cm);薄层层析硅胶H板(青岛海洋化工厂,规格为10cm×20cm)。

1.2 试药

当归对照药材(批号为120927-201516),黄芪甲苷对照品(批号为110781-200613),柴胡皂苷a对照品(批号为110777-201510),鹿衔草对照药材(批号为121211-201202),均购自中国食品药品检定研究院;乳核散结胶囊(杨凌华盛生物制药有限公司,批号分别为170201,170301,170302,20180303,150808,20171101,170806,规格为每粒0.43g);水为蒸馏水;对二甲氨基苯甲醛粉末;石油醚、甲醇、三氯甲烷、正丁醇、浓氨水、乙酸乙酯、乙醇、硫酸、甲苯、甲酸乙酯、甲酸、正己烷等试剂均为分析纯。

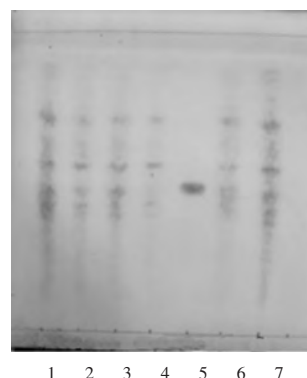
2 方法与结果

2.1 柴胡

溶液制备:取5批样品各10g,研细,置锥形瓶中,加60~90℃石油醚50mL,超声处理20min^[5-7],滤过。取滤渣,置水浴上挥尽残留的石油醚,加甲醇50mL,加热回流30min,滤过,滤渣用少量甲醇洗涤,将洗液与滤液合并,并浓缩至干,残渣加水10mL,加热使其溶解^[8-9],放冷,溶液置离心管中离心10min(10000r/min),取离心后的上清液,于分液漏斗中,加三氯甲烷,振摇提取2次,每次15mL,弃去三氯甲烷液,水液再用饱和的正丁醇振摇提取3次(10,10,5mL),合并正丁醇提取液,最后用氨试液提取3次(15,15,5mL),弃去氨液,将

正丁醇液蒸干,残渣加甲醇1mL使溶解,作为供试品溶液^[10-11]。另取柴胡皂苷a对照品,加甲醇制成质量浓度为1mg/mL的溶液,作为柴胡对照品溶液^[7,12-13]。另取不含柴胡的阴性对照样品,按供试品溶液制备方法配制阴性对照品溶液。

薄层色谱鉴别:参考2015年版《中国药典(四部)》0502通则中TLC法^[14],吸取上述溶液各10μL^[15],分别点于已饱和30min的同一硅胶G薄层板上^[12]。以乙酸乙酯-乙醇-浓氨试液-水(8:2:0.5:1,V/V/V/V)为展开剂^[16],展开,取出,晾干,再次进行二次展开,取出,晾干;喷以2%对二甲氨基苯甲醛40%硫酸溶液,用热风吹至斑点显色为止^[17]。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,而阴性对照品溶液在相应位置上并未检出斑点^[18]。详见图1。



1-3,6-7. 供试品溶液(批号分别为20180303,170301,150808,20171101,170806) 4. 阴性对照品溶液 5. 柴胡皂苷a对照品溶液

图1 柴胡薄层色谱图

2.2 鹿衔草

溶液制备:取3批样品各5g,加甲醇50mL,加热回流30min,滤过,将滤液蒸干,残渣加水10mL,加热使其溶解^[19],用水饱和正丁醇进行振摇提取3次(10,10,5mL),合并正丁醇提取液,蒸干,残渣加甲醇1mL使溶解,作为供试品溶液^[10,20]。另取鹿衔草对照药材0.5g,加甲醇10mL,超声处理30min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1mL使其溶解,作为对照药材溶液^[21]。另取不含鹿衔草的阴性样品,按供试品溶液制备方法配制阴性对照品溶液。

薄层色谱鉴别:参考2015年版《中国药典(四部)》0502通则中TLC法^[14],吸取上述溶液各10μL^[15],分别点于已饱和30min的同一硅胶G薄层板上,以甲苯-甲酸乙酯-甲酸(5:4:0.5,V/V/V)上层溶液为展开剂^[21],展开,取出,晾干,再次展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇液^[1],在60℃烘至斑点显色清晰。日光下观察,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,而阴性对照品溶液在相应位置上未检出斑点^[18]。置紫外光灯(365nm)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荧光斑点,而阴性对照品溶液在相应位置上未检出斑点^[18]。详见图2。

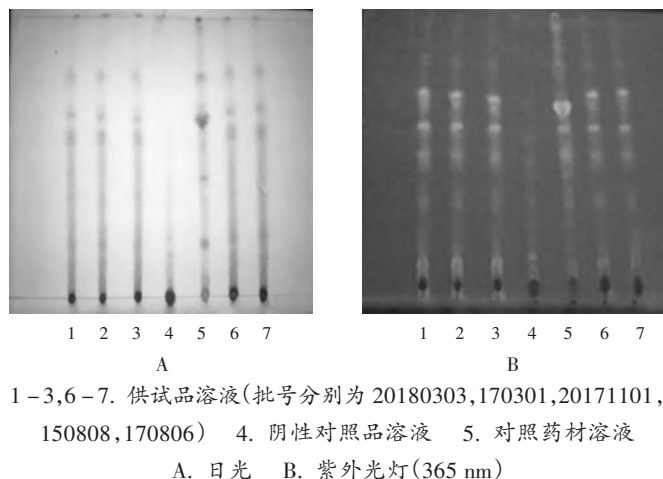


图2 鹿衔草薄层色谱图

2.3 当归

溶液制备:取3批样品各10 g,研细,置锥形瓶中,加石油醚(60~90℃)50 mL,超声20 min^[5-7],滤过,滤液挥至约0.5 mL,作为供试品溶液。另取当归对照药材1 g,加石油醚(60~90℃)15 mL,超声处理20 min,滤过,滤液挥至约1 mL,将其作为对照药材溶液^[8]。另取不含当归的阴性样品,按供试品溶液制备方法配制阴性对照品溶液^[22]。

薄层色谱鉴别:参考2015年版《中国药典(四部)》0502通则中TLC法^[14],吸取上述溶液各2 μL^[15],分别点于已饱和30 min的同一硅胶G薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(9:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干^[23],置紫外光灯(365 nm)下检视^[24]。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荧光斑点,而阴性对照品溶液在相应位置上未检出斑点^[18]。详见图3。

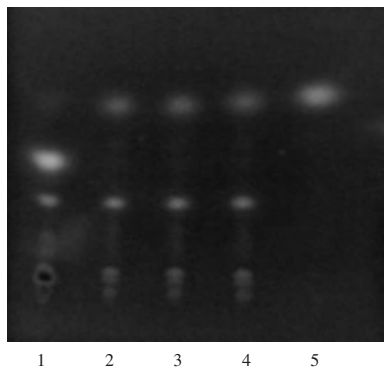


图3 当归薄层色谱图(紫外光灯365 nm)

2.4 黄芪

溶液制备:取3批样品各10 g,研细,置锥形瓶中,

加石油醚(60~90℃)50 mL,超声处理20 min^[5-7],滤过;取滤渣,置水浴上挥尽残留的石油醚,加甲醇50 mL,加热回流30 min,滤过,滤渣用少量甲醇洗涤,与滤液合并,浓缩至干,剩余残渣加水10 mL,加热使溶解^[8],放冷,溶液置离心管中离心10 min(转速为3 500 r/min),取上清液置分液漏斗中,加三氯甲烷,振摇提取2次,每次15 mL,弃去三氯甲烷液^[25]后的水液再用水饱和的正丁醇振摇提取3次(10,10,5 mL),合并正丁醇提取液,最后用氨试液提取3次(15,15,5 mL),弃去氨液^[10],将正丁醇液蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取黄芪甲苷对照品,加甲醇分别制成质量浓度为1 mg/mL的溶液,作为对照品溶液^[7,11-12]。另取不含黄芪的阴性样品,按供试品溶液制备方法配制阴性对照品溶液。

薄层色谱鉴别:参考2015年版《中国药典(四部)》0502通则中TLC法^[14],吸取空白样品和供试品溶液各10 μL^[15],对照品溶液5 μL,分别点于已饱和30 min的同一硅胶H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^[26-28],展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液^[29],在105℃烘至斑点显色清晰。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,而阴性对照品溶液在相应位置上未检出斑点^[18]。详见图4。

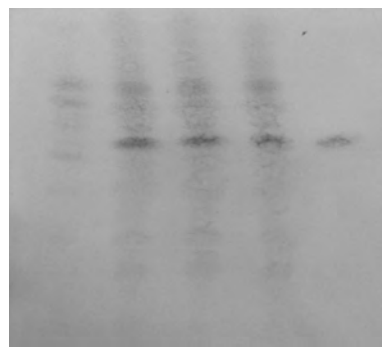


图4 黄芪薄层色谱图

3 讨论

在TLC鉴别中,主要是要利用吸附剂对样品中各个组分吸附能力的不同,以及展开剂对这些样品的解吸附能力的不同,达到使各组分分离的目的^[30]。以TLC进行定性鉴别时,常会出现人为误差或对一些条件选择不合理,如点样操作的熟练程度、把握点样的浓度、溶液制备、展开剂比例等,均会导致试验不成功。

主药柴胡的TLC鉴别中,对展开剂、显色剂和干燥方法进行了研究。最初采用乙酸乙酯-三氯甲烷-甲醇-浓氨试液-水(10:5:5:1:1, V/V/V/V/V)为展开

剂,展开,取出,晾干,喷以2%对二甲氨基苯甲醛40%硫酸乙醇溶液,在60℃烘至斑点显色^[3]。60℃烘出来的薄层板只有对照品溶液显红色,供试品溶液呈现黑色,后换成热风烘干,但供试品溶液仍未显2015年版《中国药典》中所描述的与供试品溶液颜色相同的斑点。故从展开剂、显色剂方面进行改进。以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2, V/V/V),在10℃以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以2%对二甲氨基苯甲醛的40%硫酸溶液^[30],并在60℃加热,置日光下检视^[21]。供试品溶液色谱中点与点之间的分离度不够,斑点不够清晰,存在拖尾现象。故最终调整展开剂,同时选择引入浓氨水来解决拖尾问题,且适当控制点样的浓度和点样量,浓度过高易拖尾,过低斑点不明显。将浓度进行适当稀释,同时点的斑点小一些,且进行二次跑板以解决分离度的问题。在此过程中,还出现边缘效应问题,曾采用2种方法解决:点板尽量不要往薄层板边缘点;在饱和和展开剂的过程中把通风橱关掉,尽量无风,同时保持低温,以减小边缘效应的出现。

鹿衔草的TLC鉴别中,最初选用甲苯-乙酸乙酯-甲酸(8:2:0.5, V/V/V)上层溶液为展开剂,结果不理想,因此参照《中国药典》中展开剂的比例进行调整,最后选用甲苯-甲酸乙酯-甲酸(5:4:0.5, V/V/V)上层溶液为展开剂,展开结果良好,无干扰。需要注意的是,对照品溶液用的是水晶兰苷,极易分解,不宜长时间放置,最好现配现用;点板用10 cm×10 cm的硅胶G板太小,存在边缘效应。故换用10 cm×20 cm的薄层板(划成10 cm×15 cm的薄层板备用),长边作为点板处,首尾距离边缘处稍远。

综上所述,相同药材在不同的中成药中TLC鉴别方法不一定通用,且单一味药和复方药中的同一种药材的鉴别方法也有差异,需根据具体情况分析,摸索和探究找出一种最适合的方法。

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: 324, 1094-1095.
- [2] 伍劲华. 肾衰合剂对慢性肾衰整体功能代偿及微炎症状态的影响[J]. 新中医, 2007, 39(7): 84-85.
- [3] 田广林, 袁翠英, 郭洋静, 等. 乳核内消颗粒薄层鉴别方法的研究[J]. 河南大学学报(医学版), 2018, 37(3): 163-165.
- [4] 欧阳林旗, 肖小芹, 邓桂明, 等. 乳核片质量标准薄层色谱法初步研究[J]. 临床合理用药杂志, 2018, 11(13): 114-116.
- [5] 徐 鹏. 健脑灵片的薄层鉴别方法研究[J]. 中国民族民间医药, 2008(8): 26-27.
- [6] 刘锐玲, 曲婷丽, 赵正保. 小儿吐泻宁散的薄层色谱鉴别方法研究[J]. 山西医科大学学报, 2010, 41(2): 137-139.

- [7] 广州中一药业有限公司. 乳核散结片的质量控制方法: CN200410051238. 3[P]. 2005-03-02.
- [8] 沈 伟, 辛玲歌. 三香乳增消汤剂治疗乳腺增生128例[J]. 陕西中医, 2012, 33(7): 781-782.
- [9] 罗爱勤, 陈泽锋. HPLC法测定肾石通颗粒中槲皮素的含量[J]. 中国执业药师, 2012, 9(3): 17-19.
- [10] 陈永京. 乳核散结片治疗乳腺病600例临床分析[J]. 医学信息: 下旬刊, 2009, 1(6): 135-136.
- [11] 万子扬, 欧阳爱军. 五黄膏质量标准研究[J]. 江西中医学院学报, 2004, 16(1): 51-52.
- [12] 谭 杰, 李月平, 秦德松. 薄层色谱法用于补中益气丸中柴胡定性鉴别的研究[J]. 科技视界, 2013(16): 174.
- [13] 马 宁. 补中益气丸质量标准提高及其指纹图谱研究[D]. 兰州: 甘肃中医学院, 2014.
- [14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 57-59.
- [15] 李媛媛. 复方黄柏妇炎胶囊的制备工艺及质量标准研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2016.
- [16] 谢东浩, 贾晓斌, 安益强, 等. 春柴胡与药典柴胡薄层色谱的比较[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(6): 1334-1335.
- [17] 闫春风, 刘井利, 朱 磊, 等. 柴芩软胶囊质量标准研究[J]. 中国医药导报, 2013, 10(27): 100-103.
- [18] 刘文亮, 石 原, 赛春梅, 等. 酸枣仁颗粒薄层鉴别方法研究[J]. 黑龙江医药, 2013, 26(1): 10-11.
- [19] 李养学, 谭志灿, 李素梅, 等. 复方归芍胶囊质量标准研究[J]. 江西中医药, 2013, 44(12): 49-52.
- [20] 倪 艳, 刘 霞, 李先荣, 等. 男康片的薄层色谱鉴别研究[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(7): 409-411.
- [21] 魏 芬. 乳核散结片治疗肝郁气滞型经前期综合征的临床观察[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2007.
- [22] 金美花, 崔雄日, 刘 林. 龙脑心胶囊中主要药味的薄层色谱鉴别[J]. 中国药业, 2005, 14(12): 54.
- [23] 赵电红, 谢来洪, 郑利光. 口腔溃疡散Ⅱ号的薄层色谱定性鉴别研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(7): 1649-1650.
- [24] 温 馨, 江耀伦, 陈素珍, 等. 大七厘散中大黄及当归薄层色谱鉴别方法改进[J]. 中国药业, 2017, 26(14): 7-9.
- [25] 黎海英, 杨海宏, 谢有连. 苏南山肚痛丸中血竭薄层色谱的鉴别[J]. 中国中医药咨讯, 2010, 2(15): 240.
- [26] 何 娟, 何秀英. 黄芪四物汤颗粒的质量标准研究[J]. 中国中医药科技, 2009, 16(3): 217-219.
- [27] 贾献慧, 王晓静, 王惟江. 黄芪益肾胶囊的质量标准研究[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(9): 528-531.
- [28] 赵 敏, 吴 浪, 安全双, 等. 鹿衔草配方颗粒质量标准的研究[J]. 中成药, 2013, 35(1): 148-150.
- [29] 张永昕, 李莎恩, 俞 发, 等. 补中益气丸中相关药味的薄层鉴别补充研究[J]. 中国药业, 2018, 27(22): 17-20.
- [30] 黄樱华, 李德堂. 启窍治聋丸的薄层色谱鉴别[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(8): 1982-1983.

(收稿日期: 2019-09-16)