

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.06.021

不同辅料宁神灵颗粒多信息梯度薄层质量比较

宋长国, 安丽娜, 蔡金凯, 韩治忠, 王立伟[△]

(承德燕峰药业有限责任公司, 河北 承德 067600)

摘要:目的 建立不同辅料宁神灵颗粒多信息梯度薄层质量对比的方法。方法 制备含糖型和不含糖型宁神灵颗粒供试品溶液。采用薄层色谱法, 分别以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(6:4:0.5, V/V/V)、三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(12:1:3:0.5, V/V/V/V)和三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(1:2:4:0.5, V/V/V/V)为梯度展开剂, 通过紫外光灯(365, 254 nm)、日光及透光检视显色前后各信息斑点的一致性。结果 共检出脂溶性、中极性和水溶性成分斑点 81 个, 归属于 30 余种化学成分, 且不同辅料供试品溶液不同条件下的斑点显示情况均一致。结论 该方法简便、快捷, 可多指标、快速对比不同辅料(含糖型、不含糖型)宁神灵颗粒的质量。

关键词:薄层色谱法; 梯度展开剂; 宁神灵颗粒; 含糖型; 不含糖型; 快速检测

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2022)06-0085-03

Quality Comparison of Ningshenling Granules with Different Excipients by Multi-Information Gradient Thin-Layer Chromatography

SONG Changguo, AN Lina, CAI Jinkai, HAN Zhizhong, WANG Liwei

(Chengde Yanfeng Pharmaceutical Co., Ltd., Chengde, Hebei, China 067600)

Abstract: Objective To establish a method for quality comparison of Ningshenling Granules with different excipients by multi-information gradient thin-layer chromatography (TLC). **Methods** The test solutions of Ningshenling Granules (sugar-containing type and sugar-free type) was prepared. The consistency of each information spots before and after color rendering was viewed under UV (365 nm and 254 nm), daylight and lights respectively with a mixture of cyclohexane-ethyl acetate-formic acid (6:4:0.5, V/V/V), trichloromethane-ethyl acetate-methanol-strong ammonia solution (12:1:3:0.5, V/V/V/V) and trichloromethane-ethyl acetate-methanol-strong ammonia solution (1:2:4:0.5, V/V/V/V) as gradient unfolding agents respectively by the TLC method. **Results** A total of 81 spots belonging to more than 30 compounds of fat-soluble, medium-polar and water-soluble components were detected, and the spots of test solutions with different excipients under different conditions were consistent. **Conclusion** The method is simple and rapid, which can quickly compare the quality of Ningshenling Granules with different excipients (sugar-containing type and sugar-free type) with multiple indicators.

Key words: TLC; gradient unfolding agent; Ningshenling Granules; sugar-containing type; sugar-free type; rapid detection

第一作者: 宋长国, 男, 汉族, 助理工程师, 研究方向为药品生产与检验, (电子信箱)songchangguo588@126.com。

[△]通信作者: 王立伟, 男, 满族, 大学本科, 工程师, 研究方向为中药检验及质量标准, (电子信箱)43372544@qq.com。

[2] 范建伟, 庄会芳, 李蔚群, 等. 脉络舒通颗粒 HPLC 指纹图谱及 5 个成分的含量测定[J]. 中国药师, 2021, 24(5): 946-949.

[3] 李翔, 刘皈阳, 马建丽, 等. 柴银口服液快速 HPLC 特征指纹图谱研究[J]. 中国药师, 2014, 17(1): 38-40.

[4] 张静, 郝建平, 王峰, 等. 6 种晋产野生葛根中葛根素、大豆苷和总黄酮含量比较[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(1): 99-102.

[5] 张建伟, 赵倩, 何希荣, 等. UPLC 测定银黄颗粒中绿原酸、咖啡酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素 6 种成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(18): 50-53.

[6] 赵诗怡, 渠亚蓉, 徐天龙, 等. 2015 版《中国药典》连翘项下连翘苷、连翘酯苷 A 测定方法的改进[J]. 中成药, 2018, 40(10): 2324-2327.

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典临床用药须知(中药成方制剂卷)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2017: 72-73.

[8] 谭红声, 覃洁萍, 朱智德, 等. 十味鹅黄颗粒 HPLC 指纹图谱及 8 种主要成分含量测定[J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(8): 826-832.

[9] 李勇军, 蒋礼, 何燕玲, 等. 金莲花胶囊高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 中国药业, 2018, 27(2): 23-25.

[10] 沈晨, 魏婷婷, 韩国园, 等. 止动颗粒 UPLC 指纹图谱建立及 3 种成分测定[J]. 中草药, 2019, 50(2): 388-395.

[11] 邓秀平, 王佳, 张兵, 等. 清肺汤中 8 种有效成分同时测定及其指纹图谱研究[J]. 中草药, 2020, 51(5): 1242-1250.

[12] 肖何芳. 抗炎退热片高效液相色谱指纹图谱的建立及其 7 种成分含量测定[J]. 中国药业, 2020, 29(21): 62-66.

[13] 马迪迪, 巩丹丹, 孙国祥, 等. 三波长融合指纹图谱结合 6 组分定量和主成分分析评价银翘解毒片的质量[J]. 色谱, 2017, 35(7): 741-747.

[14] 朱日然. HPLC 法同时测定柴银口服液中 5 种成分的含量[J]. 药学研究, 2015, 34(9): 509-511.

[15] 李翔, 刘皈阳, 马建丽, 等. 波长切换 HPLC 法快速测定柴银口服液中绿原酸、葛根素和黄芩苷的含量[J]. 中国药房, 2014, 25(35): 3327-3329.

[16] 陈俊, 翟伟峰. 桑葛降脂丸 HPLC 指纹图谱及 7 个成分含量测定的研究[J]. 中国药师, 2021, 24(4): 789-793.

(收稿日期: 2021-05-31; 修回日期: 2021-09-01)

中药制剂多信息梯度薄层鉴别,即将中药指纹图谱^[1-3]的内涵引申到薄层鉴别领域,依据相似相容的溶解原则,将制剂中脂溶性、中极性、水溶性成分按非极性、中极性、极性的顺序,在组分、比例、极性不同的梯度展开溶剂中,通过反复吸附与解吸附,将有检测信息的大部分有效成分按极性大小在极少数的薄层板上及多种检视条件下获得尽可能多的斑点信息图谱^[4-6],由此组成从水溶性到脂溶性成分的多信息薄层色谱图,提供采用同一制备工艺而不同辅料制备的不同规格的制剂,作为质量对比的依据。宁神灵颗粒原料药包括柴胡、黄芩、大黄、半夏(制)、桂枝、甘草、龙骨、牡蛎等。其改辅料前为含蔗糖剂型,服用剂量大^[7];改辅料后为不含蔗糖剂型,服用剂量减小^[8],扩大了应用人群,给老年患者和糖尿病患者带来了福音。但仅以原质量标准的2项试管反应与常规检查^[7]无法全面、准确地反映制剂改辅料和规格前后质量的一致性。本研究中采用薄层色谱法对不同辅料(含糖型、不含糖型)样品中脂溶性、中极性和水溶性成分进行了检测与比较。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

KH-100B型超声波清洗仪(昆山禾创超声仪器有限公司);2F-2型三用紫外仪(上海安亭电子仪器厂);AX205DU型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为万分之一)。

1.2 试药

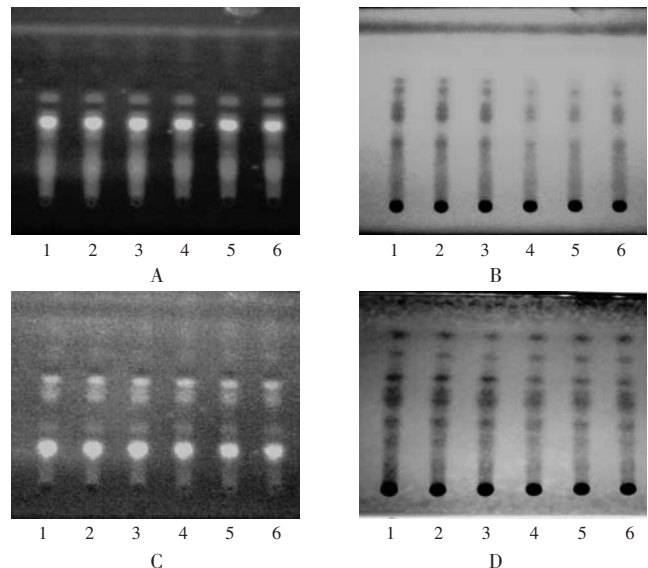
宁神灵颗粒(承德燕峰药业有限责任公司,含蔗糖型批号为201607001,201608002,201608003,编号S1-S3,不含蔗糖型批号为201608004,201608005,201608006,编号S4-S6);环己烷、乙酸乙酯、甲醇、甲酸、三氯甲烷、浓氨试液均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 脂溶性成分

取样品3 g,研细,分别加甲醇10 mL,超声(功率为200 W,频率为50 kHz,下同)处理10 min,滤过,滤液蒸干,加甲醇(无糖型加1 mL,有糖型加0.5 mL)使溶解,即得供试品溶液。吸取上述2种供试品溶液4~6 μ L,分别点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(6:4:0.5, V/V/V)为展开剂,展开,取出,热风吹干。置紫外光灯(365 nm和254 nm)下检视,在2种供试品溶液色谱相应位置显相同颜色的荧光斑点(图1 A、图1 B);喷以10%硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视,在2种供试品溶

液色谱相应位置显相同颜色的荧光斑点(图1 C);再将薄层板置暗室中,透过灯光检视,在2种供试品溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点(图1 D)。



1-3. S1-S3 供试品溶液 4-6. S4-S6 供试品溶液

A. 紫外光灯(365 nm) B. 紫外光灯(254 nm) C. 显色后紫外光灯(365 nm) D. 显色后暗室透光

图1 脂溶性成分薄层色谱图

1-3. S1-S3 Test solution 4-6. S4-S6 Test solution

A. UV lamps (365 nm) B. UV lamps (254 nm) C. UV lamps (365 nm) after color rendering D. Darkroom light transmission after color rendering

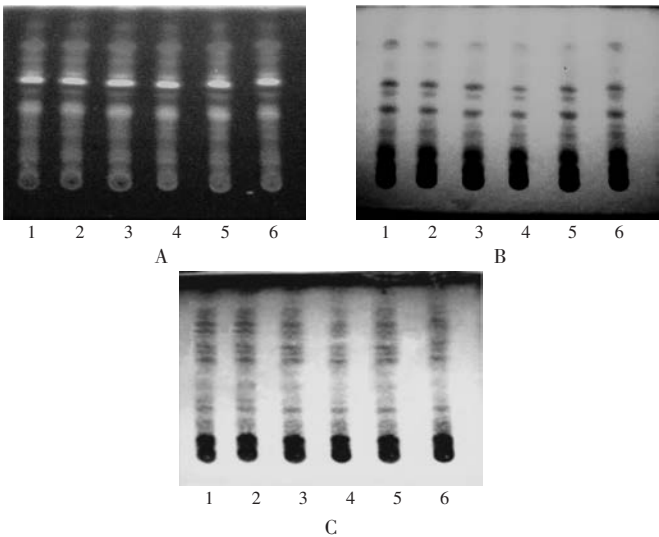
Fig.1 TLC chromatograms of fat-soluble components

2.2 中极性成分

吸取2.1项下2种供试品溶液各4~6 μ L,分别点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(12:1:3:0.5, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,热风吹干。置紫外光灯(365, 254 nm)下检视,在2种供试品溶液色谱相应位置显相同颜色的荧光斑点(图2 A、图2 B);喷以5%香草醛硫酸溶液-乙醇(1:6, V/V), 105 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰,将薄层板置暗室中,透过灯光检视,在2种供试品溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点(图2 C)。

2.3 水溶性成分

吸取2.1项下2种供试品溶液各4~6 μ L,分别点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(1:2:4:0.5, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,热风吹干。置紫外光灯(365, 254 nm)下检视,在2种供试品溶液色谱相应位置显相同颜色的荧光主斑点(图3 A、图3 B);喷以10%硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰,日光及365 nm紫外光灯下检视,在2种供试品溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点(图3 C、图3 D);再将薄层板置暗室中,透过灯光检视,在



1-3. S4-S6 供试品溶液 4-6. S1-S3 供试品溶液
A. 紫外光灯(365 nm) B. 紫外光灯(254 nm) C. 显色后暗室透光

图2 中极性成分薄层色谱图

1-3. S4-S6 Test solution 4-6. S1-S3 Test solution
A. UV lamps (365 nm) B. UV lamps(254 nm) C. Darkroom light
transmission after color rendering

Fig. 2 TLC chromatograms of medium-polar components

2种供试品溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点(图3E)。

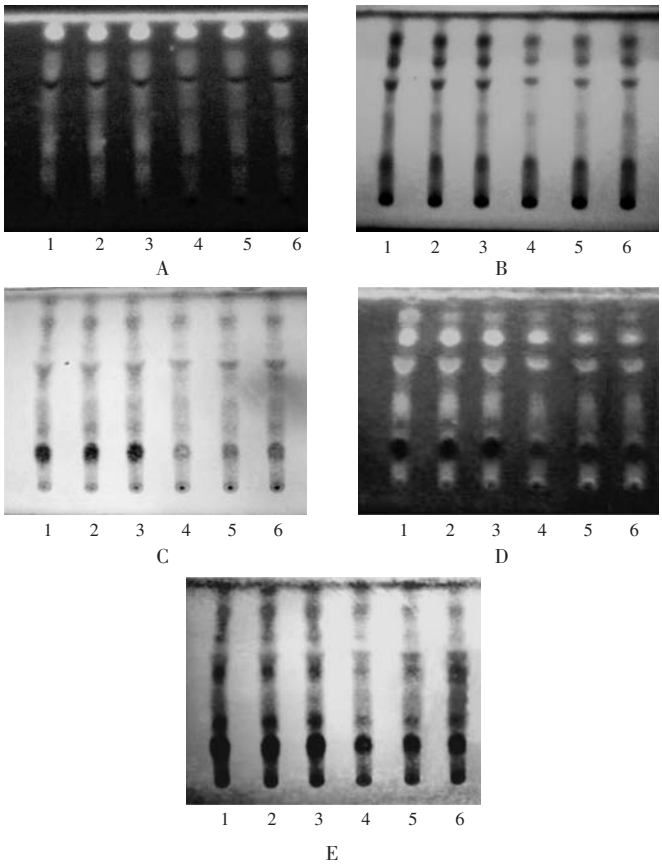
3 讨论

3块薄层板、12张色谱图上,共检出信息斑点约81个,涉及30余种中药化学成分。在4种检视条件下,第一块薄层板共检出脂溶性信息斑点约28个,至少为14种化学成分;第二块薄层板在3种检视条件下,共检出中极性信息斑点约18个,至少为15种化学成分;在5种检视条件下,第三块薄层板共检出水溶性信息斑点约35个,至少为7种化学成分。表明本抽检方法虽快速、简单,但也能获得较丰富的样品信息。

对比显色前和显色后紫外光灯(365 nm)下荧光斑点和透过灯光检视的颜色斑点,从其斑点颜色、强度、大小、比移值(R_f)及个数说明这些斑点并非同一化学成分,虽在薄层板上相互重叠,但在各自检视条件下却互不干扰,均能呈现出各自清晰的斑点。利用该特点,大幅提升了检视信息量,实现了凭借3块薄层板、数十毫升展开剂就可检测同一供试品溶液从脂溶性到水溶性成分的数十种成分斑点,不但具有指纹图谱的质量对比效果,而且斑点颜色各异、清晰,可直观判断质量的一致性,在制药行业的应用价值较高。相较指纹图谱,该方法更简便、快捷、高效,成本更低,适用于快速检查。

参考文献

[1] 杜云,顾维,王俐,等. HPLC-DAD法同时测定茵黄



1-3. S1-S3 供试品溶液 4-6. S4-S6 供试品溶液
A. 紫外光灯(365 nm) B. 紫外光灯(254 nm) C. 显色后日光
D. 显色后紫外光灯(365 nm) E. 显色后暗室透光

图3 水溶性成分薄层色谱图

1-3. S1-S3 Test solution 4-6. S4-S6 Test solution
A. UV lamps (365 nm) B. UV lamps(254 nm) C. Sunlight after
color rendering D. UV lamps(365 nm) after color rendering
E. Darkroom light transmission after color rendering

Fig. 3 TLC chromatograms of water-soluble components

- 合剂中绿原酸、栀子苷、黄芩苷和大黄酸的含量[J]. 中华中医药杂志,2017,32(3):1344-1346.
- [2] 王晓亚,甄亚钦,王鑫国,等. HPLC同时测定吴茱萸配方颗粒中4种成分的含量[J]. 中药材,2017,40(2):392-394.
- [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,2020:192-193,641.
- [4] 赵丽丽,缪雪荣,兰新财,等. 绵马贯众药材的快速多信息薄层鉴别方法研究[J]. 中国兽药杂志,2020,54(4):52-55.
- [5] 牛丽颖,王鑫国,安丽娜,等. 一种半枝莲药材及其水提取物的多信息梯度薄层鉴别方法:中国,ZL201510627568.0[P]. 2017-06-23.
- [6] 付莉,韩桂茹,兰新财,等. 石榴皮药材的快速多信息梯度薄层鉴别方法[J]. 中国药业,2020,29(23):49-51.
- [7] WS₃-B-1529-93,中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂(第八册)[S].
- [8] YBZ05102017,国家食品药品监督管理局国家药品标准[S].

(收稿日期:2021-03-18;修回日期:2021-11-11)