

· 中药工业 ·

骨痹敌薄膜衣片中4种药材的薄层色谱法鉴别[△]胡锦涛¹, 王小平^{1*}, 白吉庆¹, 王兴海²

(1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西中医药大学制药厂, 陕西 咸阳 712038)

[摘要] **目的:** 建立骨痹敌薄膜衣片中三七、黄芪、骨碎补和没药的薄层鉴别方法。**方法:** 采用对照品、对照药材双对照鉴别三七, 以正丁醇-乙酸乙酯-稀氨溶液(5→50)(4:1:5)上层溶液为展开剂, 喷以10%硫酸乙醇溶液, 在105℃加热至斑点清晰, 在可见光下检视; 采用对照药材对照鉴别黄芪, 以正丁醇-乙酸乙酯-稀氨溶液(5→50)(4:1:5)上层溶液为展开剂, 取出, 晾干, 在紫外灯(254 nm)下检视; 采用柚皮苷为对照, 鉴别骨碎补, 以三氯甲烷-甲醇-水-冰乙酸(13:4:1:1.5)为展开剂, 喷以1%三氯化铝(AlCl_3)溶液, 在紫外灯(365 nm)下检视; 采用对照药材对照鉴别没药, 以环己烷-丙酮(9:2)为展开剂, 在紫外灯(365 nm)下检视。**结果:** 4种药材的TLC中, 供试品色谱中, 在与对照品或对照药材色谱相应的位置上均显相同颜色的斑点, 且阴性对照均无干扰。**结论:** 所建立的4种药材的TLC鉴别方法简便可行、专属性强、重复性好, 可用于骨痹敌薄膜衣片中三七、黄芪、骨碎补和没药的薄层鉴别。

[关键词] 骨痹敌薄膜衣片; 薄层色谱法; 三七; 黄芪; 骨碎补; 没药

Study on TLC of Four Kinds of Chinese Herbs in Gulaodi Filmcoated Tablet

HU Jinping¹, WANG Xiaoping^{1*}, BAI Jiqing¹, WANG Xinghai²

(1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;

2. Shaanxi University of Chinese Medicine pharmaceutical factory, Xianyang 712038, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a TLC method to identify Notoginseng Radix et rhizoma, Astragali Radix, Drynariae Rhizoma and Myrrha of Gulaodi filmcoated tablet. **Methods:** Using the herb of Notoginseng Radix et rhizoma, ginsenoside Rb_1 , ginsenoside Re, ginsenoside Rg_1 , notoginsenoside R_1 as references, and the n-butyl alcohol-ethyl acetate-dilute ammonia solution(5→50)(4:1:5) upper solution as the developing solvent, the developed chromatograms were sprayed with 10% sulfuric acid-ethanol solution, at 105℃ heating to spot to show a color clear. Notoginseng Radix et rhizome were visible in the chromatograms. Using the herb of Astragali Radix as reference, and the n-butyl alcohol-ethyl acetate-dilute ammonia solution(5→50)(4:1:5) upper solution as developing solvent, Astragali Radix was identified under UV(254 nm). Using the naringin as reference, and the chloroform-methanol-water-acetic acid(13:4:1:1.5) as the developing solvent, the developed chromatogram was spraying with 1% aluminium trichloride solution, Drynariae Rhizoma was visible under UV(365 nm). Using the herb of Myrrha as reference, and the cyclohexane-acetone(9:2) as the developing solvent, Myrrha was detected under UV. **Results:** The TLC spots of four kinds of Chinese herbs in samples were visible at the corresponding positions of reference substances or reference herbs without negative interference. **Conclusion:** The TLC methods of four kinds of Chinese herbs were simple, feasible, specific and reproducible, which can be used for the identification of Notoginseng Radix et rhizoma, Astragali Radix, Drynariae Rhizoma and Myrrha of Gulaodi filmcoated tablet.

[Keywords] Gulaodi filmcoated tablet; TLC; Notoginseng Radix et rhizoma; Astragali Radix; Drynariae Rhizoma; Myrrha

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2016.8.024

骨痹敌注射液已收载于《部颁中药·成方制剂》第二十册, 作为经过中医辨证组方的中药复方制剂, 其由三七、黄芪、骨碎补、乳香和没药组成, 具有益气养血、补肾壮骨、活血化瘀的功能, 在骨

[△] [基金项目] 陕西省咸阳市科学技术研究发展计划项目(2012K06-07)

* [通信作者] 王小平, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 中药质量评价及新药开发研究; Tel: (029) 38185165, E-mail: wangxiaoping323@126.com

关节结核、肺结核等各种结核病以及瘤型麻风病的治疗中不易产生耐药性,且效果明显^[1]。骨痹敌薄膜衣片是在原骨痹敌注射液的基础上改进剂型而制成的制剂。骨痹敌注射液标准中鉴别项下仅有三七的鉴别,制样过程较复杂、耗时,且该展开系统用于骨痹敌薄膜衣片中三七的鉴别,斑点分离度不好。本次研究重新建立了骨痹敌薄膜衣片中三七的薄层鉴别方法,增加了黄芪、骨碎补和没药的薄层鉴别方法,可为骨痹敌薄膜衣片的质量控制提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

BT125D型双量程电子分析天平(德国赛多利斯);KQ-300VDE型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);ZF-90多功能暗箱式紫外透射仪(上海宝山顾村电光仪器厂)。

1.2 试药

三七皂苷 R_1 、人参皂苷 Rb_1 、人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 、三七对照药材、膜荚黄芪对照药材、骨碎补对照药材、乳香对照药材、天然没药对照药材(中国食品药品检定研究院,批号分别为110745-201318, 110704-201424, 110703-201529, 110754-201525, 120941-201409, 121462-201304, 121169-201304, 120970-201305, 120967-201405);硅胶 G(化学纯,青岛海浪硅胶干燥剂厂);羧甲基纤维素钠(分析纯,天津市科密欧化学试剂开发中心);其他试剂均为分析纯(天津市天力化学试剂有限公司)。

骨痹敌薄膜衣片(批号分别为150601, 150603, 150605)由陕西中医药大学制药厂提供。

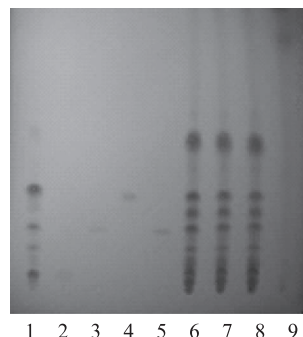
2 方法与结果

2.1 硅胶 G 薄层板的制备及预处理

将1份硅胶 G 加3份5‰的羧甲基纤维素钠的水溶液,在研钵中用研杵沿一个方向研磨混合,调成均匀糊状物,倒入涂布器中,在玻板上平稳地以直线移动涂布器进行涂布(薄层厚度为0.2~0.3 mm)。取下涂好的玻板于室温在水平台上晾干,在110℃活化30 min,置干燥箱中备用。使用前在反射光和透射光下检视,表面应均匀、平整、光滑、无麻点、无气泡、无破损及污染。

2.2 三七的 TLC 鉴别

取本品适量,研细,取5 g,加水10 mL,润湿,加用水饱和的正丁醇20 mL,超声30 min,取上清液,蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液^[2]。另取三七对照药材1 g,同法制成对照药材溶液。再取人参皂苷 Rb_1 、人参皂苷 Re 、人参皂苷 Rg_1 、三七皂苷 R_1 对照品适量,分别加甲醇制成质量浓度分别为4、4、4、1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。吸取上述溶液各5 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-乙酸乙酯-稀氨溶液(5→50)(4:1:5)上层溶液为展开剂,置氨蒸气饱和层析缸中展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品和对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,见图1。



注:1.三七对照药材;2.人参皂苷 Rb_1 对照品;3.人参皂苷 Re 对照品;4.人参皂苷 Rg_1 对照品;5.三七皂苷 R_1 对照品;6~8.供试品;9.阴性对照。

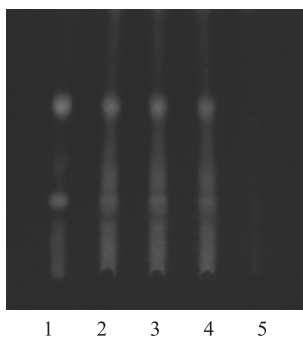
图1 三七 TLC 图

2.3 黄芪的 TLC 鉴别

取黄芪对照药材1 g,加水10 mL,润湿,加用水饱和的正丁醇20 mL,超声30 min,取上清液,蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,制成对照药材溶液。同法制备阴性对照溶液。吸取2.2项下的供试品溶液^[2]和上述溶液各5 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-乙酸乙酯-稀氨溶液(5→50)(4:1:5)上层溶液为展开剂,置氨蒸气饱和层析缸中展开,取出,晾干,置紫外灯(254 nm)下,检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰,见图2。

2.4 骨碎补的 TLC 鉴别

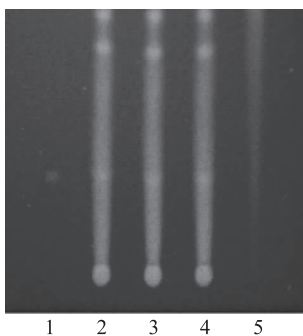
取本品适量,研细,取5 g,加甲醇30 mL,超



注：1. 黄芪对照药材；2~4. 供试品；5. 阴性对照。

图2 黄芪 TLC 图

声 30 min, 过滤, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取柚皮苷对照品, 加甲醇制成质量浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 作为对照品溶液。按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。吸取上述溶液各 $5 \mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水-冰乙酸(13:4:1:1.5)为展开剂^[3], 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 三氯化铝溶液, 置紫外灯(365 nm)下, 检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照无干扰, 见图 3。



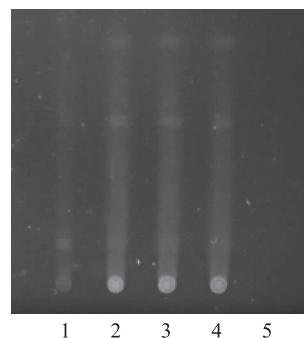
注：1. 柚皮苷对照品；2~4. 供试品；5. 阴性对照。

图3 骨碎补 TLC 图

2.5 没药的 TLC 鉴别

取本品适量, 研细, 取 5 g, 加 70% 乙醇 20 mL, 回流提取 1 h, 过滤, 滤液蒸干, 另取没药对照药材 1 g, 分别加石油醚 20 mL, 超声 30 min, 过滤, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 分别作为供试品溶液和对照药材溶液。按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。吸取上述溶液各 $5 \mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-丙酮(9:2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(365 nm)下, 检视。供试品色谱中, 在与对照药材相应位置上显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照无干

扰, 见图 4。



注：1. 没药对照药材；2~4. 供试品；5. 阴性对照。

图4 没药 TLC 图

3 结论

本试验通过反复优选提取方法和展开条件, 建立的骨痹敌薄膜衣片中三七、黄芪、骨碎补和没药 4 种药材的 TLC 鉴别方法简便可行、快捷准确、专属性强、重复性好, 可作为骨痹敌薄膜衣片中三七、黄芪、骨碎补和没药的定性鉴别方法。

4 讨论

薄层色谱法是中药复方制剂定性鉴别的主要方法, 具有专属性强、易于操作等特点^[4], 故骨痹敌薄膜衣片中 4 种药材的定性鉴别均采用 TLC 法。

在三七的鉴别中, 曾参考 2015 年版《中华人民共和国药典》三七药材鉴别项下的方法^[5], 但该方法的制样过程繁琐、耗费时间, 因此本试验参照文献[2]的方法, 并在此基础上对制样方法进行改进, 采用 2.2 项下的方法鉴别三七, 在可见光下检视, 斑点清晰, 无阴性干扰。

在黄芪的鉴别中, 曾参考 2015 年版《中华人民共和国药典》黄芪药材鉴别项下的方法^[5], 但该方法的制样过程复杂, 可操作性不强, 因此本试验参照文献[2]的方法, 并在此基础上对制样方法进行改进, 同时对是否喷显色剂、检视波长等进行优化, 采用 2.3 项下方法鉴别黄芪, 在紫外灯(254 nm)下检视, 斑点清晰, 无阴性干扰。在骨碎补的鉴别中, 参考文献[3]中的方法, 并在此基础上对制样方法进行改进, 简化过程, 节省时间, 得到的斑点清楚, 且无阴性干扰。

在骨碎补的鉴别中参考文献[3]中的方法, 并在此基础上对制样方法进行改进, 简化过程, 节省时间, 得到的斑点清晰, 且无阴性干扰。

(下转第 1066 页)

- 工艺及免疫活性[J]. 东北林业大学学报, 2014(9): 158-160 + 163.
- [8] Kim, Kyung-Woon¹; Song, Kwon-Ho¹; Lee, Ji-Min¹, et al. Effects of TGF β 1 and extracts from Cervus korean TEMMINCK var. mantchuricus Swinhoe on acute and chronic arthritis in rats. [J]. Journal of Ethnopharmacology. 2008(No. 2). 280-283
- [9] Kim, Kanp-Sung; Choi, Yoo-Haeng; Kim, Kyung-Ho, et al. Protective and anti-arthritic effects of deer antler aqua-acupuncture (DAA), inhibiting dihydroorotate dehydrogenase, on phosphate ions-mediated chondrocyte apoptosis and rat collagen-induced arthritis [J]. International immunopharmacology. 2004(No. 7). 963-973.
- [10] 宗颖, 张辉, 牛晓晖, 等. 梅花鹿茸生物碱类成分及其对小鼠脾细胞增殖的影响[J]. 中药材, 2014(5): 752-755.
- [11] 姜红, 乐国伟, 尹晓平, 等. 马鹿茸血酶解肽体内免疫功能及抗氧化功能关系的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(5): 757-760.
- [12] 马立芹, 乐国伟, 钱佳, 等. 马鹿茸血疏水性肽的分离及组分3的免疫活性[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(2): 99-102.
- [13] 王华, 林喆, 刘强, 等. 鹿茸寡肽的制备及其促成骨细胞的增殖作用[J]. 高等学校化学学报, 2008, 20(9): 1791-1796.
- [14] 段冷昕, 马吉胜, 翁梁, 等. 鹿茸总多肽对维A酸致骨质疏松大鼠的防治作用[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(4): 264-267.
- [15] 李银清, 赵雨, 唐仁能, 等. 梅花鹿茸胶原酶解物对去势大鼠骨质疏松症防治作用的实验研究[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(4): 578-581.
- [16] 李银清, 赵雨, 孙晓迪, 等. 梅花鹿茸胶原酶解物对维甲酸致大鼠骨质疏松防治作用的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(6): 759-762.
- [17] 李召, 宋振岚, 徐晓艳, 等. 不同加工工艺鹿茸组分对慢性再生障碍性贫血患者骨髓造血细胞体外增殖影响的比较[J]. 沈阳药科大学学报, 2014(9): 715-720.
- [18] Jian-Hua Lin; Ling-Xiao Deng; Zhao-Yang, et al. Pilose Antler Polypeptides Promote Chondrocyte Proliferation Via The Tyrosine Kinase Signaling Pathway [J]. Journal of Occupational Medicine and Toxicology. 2011, 6: 4652-4659.
- [19] 翁梁, 周秋丽, 王丽娟, 等. 鹿茸多肽促进表皮和成纤维细胞增殖及皮肤创伤愈合[J]. 药学学报, 2001, 36(11): 817-820.
- [20] 张郑瑶, 段冷昕, 周秋丽, 等. 梅花鹿茸多肽的化学结构及生物活性[J]. 高等学校化学学报, 2012, 33(9): 2000-2004.
- [21] 周秋丽, 刘永强, 王颖, 等. 梅花鹿茸和马鹿茸多肽化学性质及生物活性比较[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(10): 699-702
- [22] 郑策, 施安国, 杨福合. 茸鹿饲养业展望[N]. 中国畜牧兽医报, 2016-02-21007.
- [23] 2014 中国鹿业发展报告[A]. 第六届(2015)中国鹿业发展大会论文汇编[C]. 辽宁: 西丰, 2015: 15

(收稿日期 2016-03-27)

(上接第 1050 页)

在没药的鉴别中, 参考文献[5-6]的方法, 并在此基础上对其展开条件进行优化, 以环己烷-丙酮(9:2)为展开系统, 得到的斑点清晰, 且重复性好。

2015年版《中华人民共和国药典》采用气相色谱法对乳香进行定性鉴别^[5], 但该方法仅以 α -蒎烯对照品进行对照, 有一定的局限性。而本文采用专属性好、简单方便的TLC法对其进行鉴别。通过对制样方法、展开条件等优化, TLC展开效果仍不理想, 在供试品色谱中, 不能完全显示出与对照药材相应位置上的斑点, 这可能与制剂过程中乳香的处理有关, 故乳香的薄层鉴别方法未纳入正文。对于乳香的TLC鉴别方法有待进一步探索。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药成·方制剂: 第二十册[S]. 北京: 中华人民共和国药典委员会: 1998.
- [2] 王术玲. 人参、三七、黄芪的薄层色谱鉴别[J]. 中国药品标准, 2003, 4(2): 48-50.
- [3] 王跃生, 李计萍. 骨碎补中柚皮甙的薄层定性定量方法的研究[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(11): 685-686.
- [4] 许梅. 薄层色谱法在中药复方制剂中的应用[N]. 中国中医药报, 2015-3-26(6).
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [6] 周本杰, 张笑云, 李梅, 等. 骨伤酒中没药及红花的薄层色谱鉴别[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(9): 803-804.

(收稿日期 2015-12-22)