



· 论 著 ·

软肝颗粒的制备和薄层色谱鉴别研究

周玲芝 李足意 (浏阳市中医医院药剂科 湖南浏阳 410300)

摘要: **目的** 介绍软肝颗粒的制备工艺,并建立其薄层鉴别方法。**方法** 采用薄层色谱法,对软肝颗粒中的黄芪、丹参、三七、枳壳进行定性鉴别。**结果** 组方中 4 味药材的薄层鉴别显示,供试品斑点清晰,与对照品位置一致,阴性对照无干扰。**结论** 制备工艺简便,鉴别方法简便可行,可为软肝颗粒的质量控制提供依据。

关键词: 软肝颗粒 质量标准 薄层鉴别

中图分类号: TQ461 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187 (2017) 20-052-02

基金项目: 湖南省教育厅高校科研项目 (15C1043)

Research on Preparation TLC Identification of Ruangan Granules

ZHOU Lingzhi Department of Pharmacy, Chinese Medicine Hospital, Liu Yang 410300, China

Abstract: **Objective** The study was aimed to establish a thin layer chromatography (TLC) method of Ruangan Granules. **Methods** TLC identification method was performed to identify Astragali Radix, Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma, Notoginseng Radix et Rhizoma, Aurantii Fructus. **Results** The TLC identification of four species from the prescription showed that the spots of the test samples were clear and consistent with the control ones. **Conclusion** The TLC identification method established by our study is simple and feasible, which can provide scientific basis for the quality control of the preparation.

Key words: Ruangan Granules Quality Standard TLC Identification

软肝颗粒为我院中医的经验处方软肝汤经过传统工艺制备而成的医院制剂,全方由叶下珠、醋鳖甲、黄芪、三七、丹参等十二味中药组成。具有祛瘀软坚,疏肝健脾的功效,适用于慢性肝炎,肝硬化,证属肝郁脾虚,气血瘀滞者^[1]。其制备工艺简单,便于服用,疗效确切。本研究采用薄层色谱鉴别法对制剂中的黄芪、丹参、枳壳和贵重药材三七进行定性鉴别,为改制剂质量标准的制定提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

ZF-1 型紫外光灯 (上海顾村电光仪器厂); HWS-12 型数显电热恒温水浴锅 (上海一恒科学仪器有限公司); KQ2200 型超声波清洗机 (昆山市超声仪器有限公司); ESJ182-4 型电子分析天平 (沈阳神宇龙腾天平有限公司)。以上仪经质监部门校验均合格。佳能 550D 数码相机 (佳能中国有限公司)。

1.2 材料

硅胶 G 板 (青岛海洋化工厂,薄层色谱用); 叶下珠、醋鳖甲、黄芪、三七等试验药材 (均购自湖南金实堂中药饮片有限公司,并经鉴定均符合《中华人民共和国药典》2015 年版一部规定); 三批软肝颗粒 (本院制剂室提供,批号: 20160725, 20160911, 20161105, 10g/袋); 阴性样品 (按处方比例,除去被检药材同法制备而成); 黄芪甲苷对照品 (批号 110781-200613)、丹参对照药材 (批号 110855-201210)、三七对照药材 (批号 120941-201108)、枳壳对照药材 (批号 120981-201104),以上对照品和对照药材均购自中国食品药品检定研究院; 所用试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 软肝颗粒的制备

取处方量十二味药材,三七粉碎成细粉,备用; 叶下珠等其余药味加水煎煮两次,第一次加 10 倍水,煎煮 2 小时; 第二次加 8 倍水,煎煮 1.5 小时,滤过,合并滤液,减压浓缩成相对密度为 1.25-1.30 (60℃) 的稠膏,真空干燥 (60~70℃,真空度 -0.06~-0.08Mpa)。取干膏约 450g,加入三七细粉,糊精 500g、甜菊素 2g,共同混匀,粉碎成细粉,用 80% 乙醇制粒,干燥,12 目筛整粒,即得。

2.2 薄层色谱鉴别

2.2.1 黄芪的薄层鉴别^{[2]-[4]}: 取本品适量,研细,称取 5g,加甲醇 50ml,加热回流 1 小时,过滤,滤液蒸干,残渣加水 30ml 使溶

解,用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次,每次 30ml,合并正丁醇液,用 1% 氢氧化钠溶液洗涤 2 次,每次 20ml,再用正丁醇饱和的水洗至中性,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为供试品溶液。另取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液。另取缺黄芪的阴性样品 5g,同法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2015 年版通则 0502) 试验,分别吸取上述两种溶液各 5μl,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水 (10:20:11:5) 10℃ 以下放置 2 小时的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105℃ 烘至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点 (见图 1)。



1. 缺黄芪阴性样品
2. 黄芪甲苷对照品
3-5. 供试品溶液

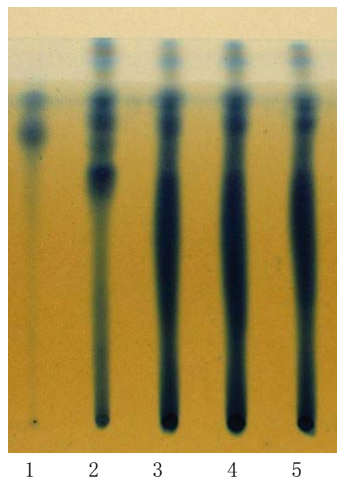
图 1: 黄芪的薄层色谱鉴别图

Figure 1. TLC identification of Astragali Radix

2.2.2 丹参的薄层鉴别^{[5]-[6]}: 取本品适量,研细,称取 5g,加乙醇 100ml,加热回流 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加水 40ml 使溶解,用石油醚 (60~90℃) 40ml 振摇提取,取水层,加稀盐酸调节 pH 值至 2~3,摇匀,加乙醚振摇提取 2 次,每次 30ml,合并乙醚提取液,滤液挥干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为供试品溶液。另取丹参对照药材 0.5g,加甲醇 20ml,超声处理 20 分钟,滤过,滤液浓缩至 1ml,作为对照药材溶液。另取缺丹参的阴性样品 5g,同法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2015 年版通则



0502) 试验, 吸取上述两种溶液各 $2\mu\text{l}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸 (2:2:3:0.5:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 铁氰化钾溶液和 2% 三氯化铁溶液等量混合溶液 (临用前配)。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点 (见图 2)。

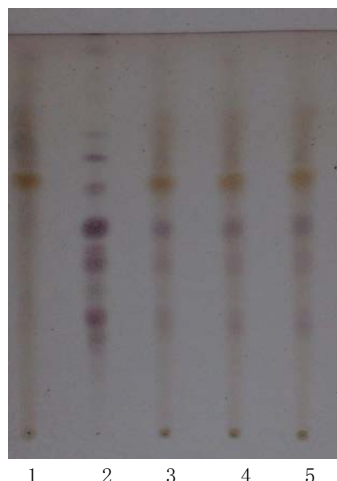


1. 缺丹参阴性样品;
2. 丹参对照药材;
3-5. 供试品溶液

图 2: 丹参的薄层色谱鉴别图

Figure 2. TLC identification of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*

2.2.3 三七的薄层鉴别^[7]: 取本品适量, 研细, 称取 5g, 加水 1ml, 搅匀, 再加水饱和正丁醇 50ml, 密塞, 振摇 10 分钟, 放置 2 小时, 离心, 取上清液, 加 3 倍量的正丁醇饱和的水, 摇匀, 放置使分层 (必要时离心), 取正丁醇层, 蒸干, 残渣加甲醇 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取三七对照药材 0.5g, 同法制成对照药材溶液。另取缺三七的阴性样品 5g, 同法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2015 年版通则 0502) 试验, 吸取上述两种溶液各 $4\mu\text{l}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水 (15:40:22:10) 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, 在 105℃ 烘至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点 (见图 3)。



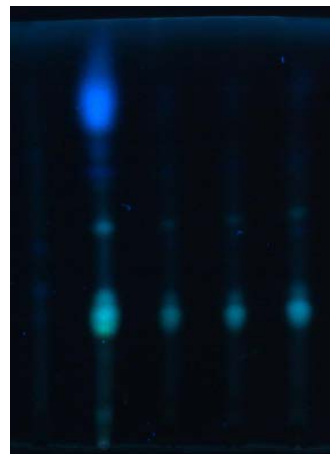
1. 缺三七阴性样品;
2. 三七对照药材;
3-5. 供试品溶液

图 3: 三七的薄层色谱鉴别图

Figure 3. TLC identification of *Notoginseng Radix et Rhizoma*

2.2.4 枳壳的鉴别: 取本品适量, 研细, 称取 5g, 加水 40ml, 超声处理 10 分钟, 过滤, 滤液用乙醚振摇提取 2 次, 每次 20ml, 弃去乙醚液, 再用乙酸乙酯振摇提取 2 次, 每次 20ml, 合并乙酸乙酯液, 置水浴上蒸干, 残渣加甲醇 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取枳

壳对照药材 0.25g, 同法制成对照药材溶液。另取缺枳壳的阴性样品 5g, 同法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2015 年版通则 0502) 试验, 吸取供试品溶液 $10\mu\text{l}$, 对照药材溶液 $5\mu\text{l}$, 分别点于同一 0.5% 氢氧化钠的硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-甲醇-水 (10:1.7:1.3), 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 三氯化铝乙醇溶液, 在 105℃ 加热 5 分钟, 置紫外光灯 (365nm) 下检视。供试品色谱上, 在与对照药材色谱相应的位置上, 有相同颜色的荧光斑点 (见图 4)。



1. 缺枳壳阴性样品;
2. 枳壳对照药材;
3-5. 供试品溶液

图 4: 枳壳的薄层色谱鉴别图

Figure 4. TLC identification of *Aurantii Fructus*

3 结论

3.1 软肝汤是我院治疗证属肝郁脾虚、气血瘀滞型慢性肝炎的经验处方, 具有使用时间长、安全性高、疗效显著的特点, 在群众中有良好的临床基础。软肝颗粒是按照软肝汤的处方, 采用中医药传统工艺制备而成。作为院内制剂, 虽然安全性高且采用传统工艺制备而成, 但是依然需要采用简单、快速、准确的鉴别方法对其生产过程进行质量控制。本研究采用薄层鉴别技术对其进行了质量控制, 所建立的薄层方法分离效果好、斑点清晰、重现性好、无空白干扰、可操作性强, 可为软肝颗粒质量标准的制定提供科学的依据, 以便其更安全、有效地为患者使用。

3.2 本研究中 4 种药材的鉴别方法均参考了药典中单味药材的薄层鉴别内容, 但是复方制剂干扰成分较多, 影响薄层鉴别的准确性。本研究优化了黄芪甲苷和丹参的薄层方法, 将黄芪鉴别所用的展开剂三氯甲烷改为二氯甲烷, 降低了对操作者的身体损害。在丹参的薄层鉴别中采用一次展开的方法, 较药典相比简化了操作流程, 节省检验时间和试剂。建立了以对照药材为对照组的枳壳薄层鉴别方法, 可为枳壳的定性鉴别研究提供借鉴和参考。

参考文献

- [1] 王书杰, 蒋伟, 张南会, 陈隆桂, 郭维军. 软肝汤治疗慢性肝病气滞血瘀证患者 40 例短期临床疗效观察 [J]. 中医药导报, 2015, 21(3):79-80.
- [2] 孙艳, 周晓兵, 顾苏俊, 杨洁. 参芪颗粒的质量标准研究 [J]. 解放军药学学报, 2005, 21(5):363-365.
- [3] 陈来景, 张善杰, 岳随有. 参芪胶囊中黄芪、人参的鉴别 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2010, 8(1):162.
- [4] 罗定强, 乔蓉霞, 张国跃. 养阴降糖片中黄芪的薄层色谱法鉴别 [J]. 医药导报, 2009, 28(3):367.
- [5] 吴皓东, 李燕, 张景丽, 陈良. 免煎颗粒与中药饮片薄层鉴别及含量测定的对比研究 [J]. 新疆中医药, 2017, 35(4):55-57.
- [6] 张永丽, 王超, 李艳英, 黄能听. 中药复方莲松异搏停片的定性定量方法研究 [J]. 药物分析杂志, 2014, 39(7):1269-1273.
- [7] 国家药典委员会. 中国药典: 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.