

痹痛膏定性鉴别及方法耐用性研究

李素梅¹, 毕晓黎¹, 刘梦云², 李养学¹

(1. 广东省第二中医院/广东省中医药工程技术研究院,
广东省中医药研究开发重点实验室, 广东 广州, 510095;
2. 广州中医药大学, 广东 广州, 510405)

[摘要] 目的:建立痹痛膏的薄层定性鉴别方法并对其进行耐用性考察。方法:采用薄层色谱法鉴别痹痛膏中所含的威灵仙、两面针、续断。结果:所建立的薄层色谱方法能较好地鉴别出方中所含的威灵仙、两面针、续断,斑点清晰,对应良好,且阴性无干扰,方法耐用性考察结果显示,所建立的方法对不同薄层板、及不同温湿度适应性较好。结论:所建立的薄层色谱鉴别方法简便、专属性强、耐用性好,可作为痹痛膏的质量控制方法。

[关键词] 痹痛膏;威灵仙;两面针;续断;薄层色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2018.09.075

Qualitative identification of Bitong ointment and method ruggedness

LI Su-mei¹, BI Xiao-li¹, LIU Meng-yun², LI Yang-xue¹

(1. Guangdong Second Provincial Traditional Chinese Medicine Hospital, Guangdong Research Institute of Traditional Chinese Medicine Manufacturing Technology, Guangzhou 510095, Guangdong, China;
2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong, China)

Abstract: Objective: To investigate the qualitative identification of Bitong ointment by thin-layer chromatography (TLC) and the ruggedness of this method. Methods: TLC was performed for the identification of Clematis chinensis, Zanthoxylum nitidum, and teasel root in Bitong ointment. Results: The TLC method established in this study well identified Clematis chinensis, Zanthoxylum nitidum, and teasel root in Bitong ointment with clear TLC spots and high specificity, without interference from negative control. This method had good adaptability to thin-layer plate, temperature, and humidity. Conclusion: This TLC method is simple and has high specificity and good ruggedness and can be used as the method for the quality control of Bitong ointment.

Key words: Bitong ointment; Clematis chinensis; Zanthoxylum nitidum; teasel root; thin-layer chromatography

痹痛膏是由威灵仙、两面针、续断等多味中药组成,具有祛风除湿、温阳散寒、强筋壮骨的功效,临床上主要用于颈腰腿痛、四肢骨关节痛属于风寒湿痹证者。为较好地控制痹痛膏的质量,保证临床上用药的安全、有效,本研究采用薄层色谱法鉴别制剂中所含的威灵仙、两面针、续断,并对所建立的方法进行耐用性考察,为痹痛膏的质量控制提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器 KQ5200 DE型超声波清洗器(昆山);电热恒温水浴锅(上海);PBQ-II型薄层自动铺板器(重庆);卡玛ATS 4薄层自动点样仪(瑞士);卡玛Reprostar 3薄层成像拍照系统(瑞士)。

1.2 材料 威灵仙对照药材(批号:121189-201102)、两面针对照药材(批号:121014-201204)、续断对照药材(批号:

121033-201311)购于中国食品药品检定研究院;痹痛膏(批号:20151101、20151102、20151103)由广东省第二中医院制剂室生产提供,研究中所用甲醇、乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、浓氨试液等试剂均为分析纯,均购于广州化学试剂厂。

2 薄层定性鉴别

2.1 威灵仙的薄层色谱鉴别方法 威灵仙的薄层色谱鉴别方法参考文献[1]进行。取痹痛膏1贴,除去盖衬后,刮取药层,加乙醇50mL,加热回流提取1h,滤过,滤液蒸去乙醇,加水10mL,用石油醚(30℃~60℃)洗涤4次,每次15mL,弃去石油醚液,水液加乙醇20mL,盐酸3mL,再加热回流提取1h,放冷,用石油醚(60℃~90℃)25mL振摇提取,石油醚液蒸干后,残渣加无水乙醇10mL使溶解,制得供试液。另取威灵仙对照药材1g,加乙醇50mL,加热回流提取1h,滤过,滤液浓缩至20mL,加盐酸3mL,再加热回流提取1h,加水

10mL,放冷,用石油醚(60℃~90℃)25mL振摇提取,石油醚液蒸干,残渣加无水乙醇10mL使溶解,制得威灵仙对照药材溶液。再取缺威灵仙的阴性样品1贴,按照威灵仙供试液的制备方法,制得威灵仙阴性对照液,按照薄层色谱法试验(《中国药典》2015年版四部通则0502),分别吸取上述供试液、阴性对照液各5 μ L、对照药材溶液15 μ L,点样于同一自制硅胶G薄层板上,配制甲苯-乙酸乙酯-甲酸(7:2.5:0.5)作为展开剂,展开晾干后,以10%硫酸乙醇溶液作为显色剂,在105℃加热,使斑点显色清晰,置紫外光灯(波长为365nm)下检视。供试品色谱中,在与威灵仙对照药材色谱相应的位置上,斑点对应较好,且阴性对照不存在干扰。(见图1-1)

2.2 两面针的薄层色谱鉴别方法 取痹痛膏1贴,除去盖衬后,刮取药层,加乙醇40mL,超声处理提取40min,滤过,滤液蒸至近干,加水20mL稀释,滤过,滤液加稀盐酸调节pH值至2~3,再用三氯甲烷振摇提取2次,每次30mL,将三氯甲烷液合并,蒸干,残渣加三氯甲烷1mL使溶解,制得供试液。另取两面针对照药材0.5g,加水100mL,加热煮沸30min,滤过,滤液蒸至近干,加硅藻土适量吸附后,置水浴锅上蒸干,转移至锥形瓶中,自“加乙醇40mL”起,同法制成两面针对照药材溶液。再取缺两面针的阴性样品1贴,按照两面针供试品溶液的制备方法,制得两面针阴性对照液,按照薄层色谱法试验(《中国药典》2015年版四部通则0502),分别吸取上述供试液、阴性对照液各15 μ L、对照药材溶液4 μ L,点样于同一自制硅胶G薄层板上,配制三氯甲烷-甲醇-浓氨试液(30:1:0.2)^[1]为展开剂,展开晾干后,以10%硫酸乙醇溶液作为显色剂,置紫外光灯(波长为365nm)下检视。供试品色谱中,在与两面针对照药材色谱相应的位置上,斑点清晰,对应较好,且阴性对照不存在干扰。(见图1-2)

2.3 续断薄层色谱鉴别方法 取痹痛膏1贴,除去盖衬后,刮取药层,加甲醇80mL,超声处理提取30min,滤过,将滤液浓缩至约5mL,加水5~10mL使之溶解,通过AB-8大孔吸附树脂柱(内径为1.5cm,柱高为12cm),先用30%乙醇100mL洗脱,弃去洗脱液,再用70%乙醇100mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇1mL使溶解,制得供试液。另取续断对照药材0.5g,加水100mL,加热煮沸30min,滤液浓缩至约5mL,自“通过AB-8大孔吸附树脂柱”起,同法制成对照药材溶液。再取缺续断的阴性样品1贴,按照续断供试品溶液的制备方法,制得阴性对照液。按照薄层色谱法试验(《中国药典》2015年版四部通则0502),分别吸取上述供试液、阴性对照液各5 μ L、对照药材溶液2 μ L,点样于同一自制硅胶G薄层板上,配制正丁醇-乙酸乙酯-稀氨水(5→50)(4:1:5)^[2]的上层溶液为展开剂,置浓氨试液饱和的展开缸中展开,取出晾干后,以10%硫酸乙醇溶液作为显色剂,在105℃加热,使斑点显色清晰。供试品色谱中,在与续断对照药材色谱相应的位置上,斑点对应良好,且阴性对照不存在干扰。(见图1-3)

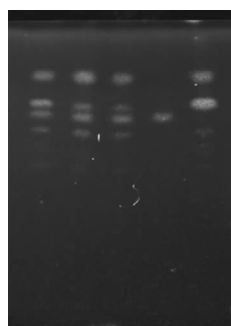


图1-1 威灵仙

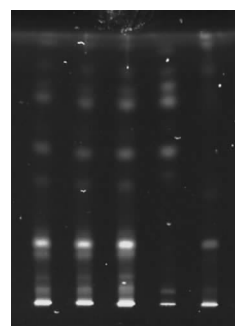


图1-2 两面针

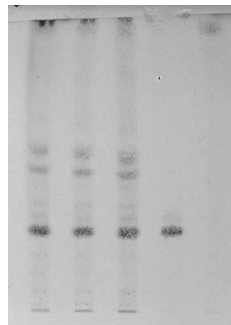


图1-3 续断

1~3—供试品;
4—对照药材;
5—阴性对照品

图1 自制硅胶G薄层板图

3 薄层色谱法耐用性考察

3.1 不同硅胶G薄层板的比较 选取浙江台州硅胶G预制板,分别按拟定的试验方法试验。结果表明,所建立的威灵仙、两面针、续断薄层色谱鉴别方法在不同硅胶G薄层板上都可以达到较好的分离效果。(见图2)

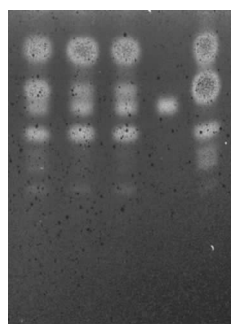


图2-1 威灵仙

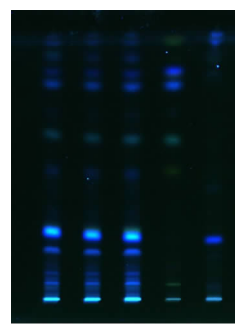


图2-2 两面针

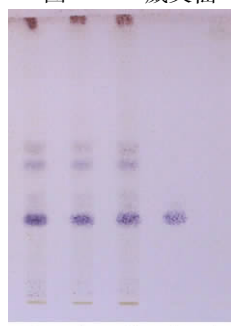


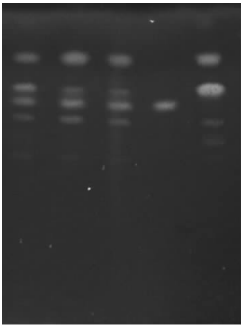
图2-3 续断

1~3—供试品;
4—对照药材;
5—阴性对照品

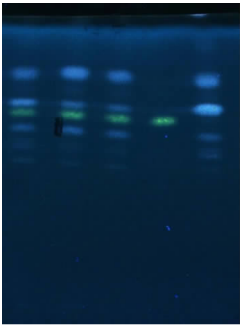
图2 不同硅胶G薄层板图

3.2 不同温度、湿度环境下薄层板的比较 取点样后的自制硅胶 G 薄层板,分别在 4℃(湿度:25%、75%)和 25℃(湿度:25%、75%)的环境下进行展开,结果表明所建立的威灵

仙、两面针、续断薄层色谱鉴别方法对不同温度、湿度的适应性较好。(见图 3)



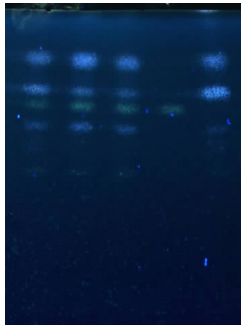
(T:4℃ RH:25%)
图 3-1 威灵仙



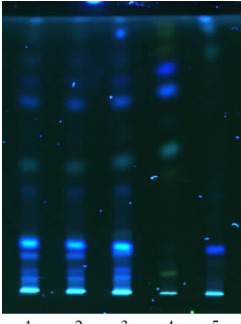
(T:4℃ RH:75%)
图 3-2 威灵仙



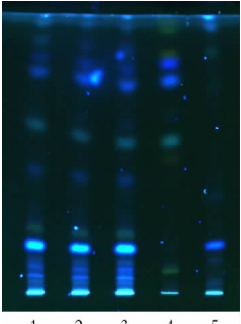
(T:25℃ RH:25%)
图 3-3 威灵仙



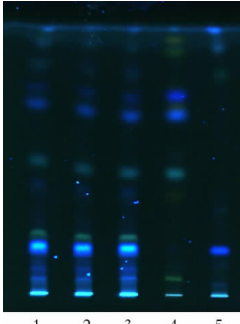
(T:25℃ RH:75%)
图 3-4 威灵仙



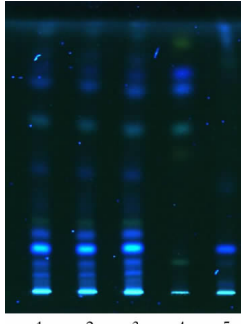
(T:4℃ RH:25%)
图 3-5 两面针



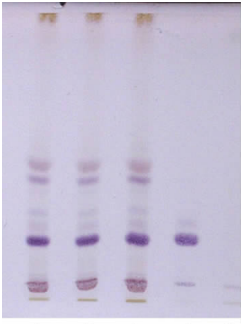
(T:4℃ RH:75%)
图 3-6 两面针



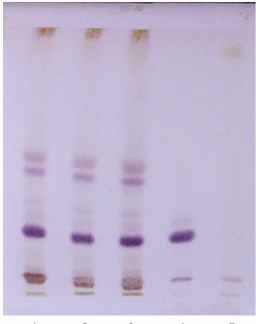
(T:25℃ RH:25%)
图 3-7 两面针



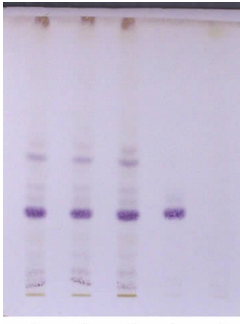
(T:25℃ RH:75%)
图 3-8 两面针



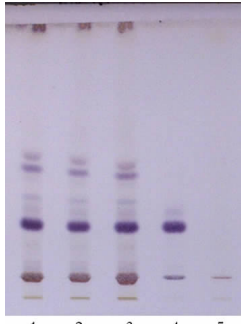
(T:4℃ RH:25%)
图 3-9 续断



(T:4℃ RH:75%)
图 3-10 续断



(T:25℃ RH:25%)
图 3-11 续断



(T:25℃ RH:75%)
图 3-12 续断

1~3—供试品;4—对照药材;5—阴性对照品
图 3 不同温度、湿度环境下的薄层色谱图

4 讨 论

威灵仙薄层色谱鉴别过程中,曾参考《中国药典》2015 年版一部威灵仙项下薄层鉴别方法,薄层色谱中鉴别斑点存在有干扰,且分离度不够,导致阴性有干扰,通过试验摸索,用石油醚(30℃~60℃)液洗涤去除干扰,并将展开剂调整为甲苯-乙酸乙酯-甲酸(7:2.5:0.5),斑点分离度有所改善,对应良好,且阴性无干扰。续断薄层色谱鉴别中,通过 AB-8 大孔吸附树脂纯化后,减少了基质及方中其他成分对鉴别斑点的干扰。所建立的威灵仙、两面针、续断薄层色谱鉴别方法在不同硅胶 G 薄层板、以及不同温度

(4℃、25℃)、不同湿度(25%、75%)条件下均可达到较好分离,表明所建立的薄层色谱鉴别方法耐用性较好。本研究所建立的威灵仙、两面针、续断薄层色谱鉴别方法简便、专属性强、耐用性好,可作为痹痛膏的质量控制方法。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:169-250.
[2] 李素梅,毕晓黎、李养学,等. 复方三芪丹胶囊质量标准的研究[J]. 江西中医药,2012,43(2):595-561.

(收稿日期:2018-03-22)