

化瘀止痛散的薄层鉴别研究

冯锁民¹ 宋琳¹ 翟西峰¹ 张存芳¹ 李惠民² 王宁¹ 徐璐¹

(1 西安医学院 药学院, 西安 710021; 2 商洛职业技术学院, 商州 726000)

摘要 按照新的药品注册管理办法要求,研究了化瘀止痛散的薄层鉴别方法。通过实验考察了供试品前处理工艺、筛选薄层鉴别的色谱条件,建立了化瘀止痛散中血竭、冰片、三七的薄层色谱方法。实验结果表明:该方法简便,专属性强,重现性好,可用于化瘀止痛散的定性质量控制。

关键词 化瘀止痛散; 血竭; 冰片; 三七; 薄层色谱

中图分类号 TQ461 文献标识码 A 文章编号 1672-4321(2014)04-0068-03

Study on TLC Quality Standard of Huayuzhitong Powders

Feng Suomin¹, Song Lin¹, Zhai Xifeng¹, Zhang Cunfang¹, Li Huimin², Wang Ning¹, Xu Lu¹

(1 Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China;

2 Shangluo Vocational and Technical College, Shangzhou 726000, China)

Abstract According to the new requirements of drug registration, TLC method was studied by experiment for Huayuzhitong Powders. through expediton of the sample pre-treatment process and picking TLC conditions, TLC method was established for the identification of Draconis Sanguis, Borneolum Syntheticum and Panax Notoginseng in Huayuzhitong Powders. The method is simple, strong specificity, good reproducibility, and can be used for quality control of qualitative Huayuzhitong Powders.

Keywords Huayuzhitong Powders; Draconis Sanguis; Borneolum Syntheticum; Panax Notoginseng; TLC

化瘀止痛散是由血竭、三七、冰片、乳香、没药、红花、儿茶等十多味中药经粉碎混合制成的正在使用的医院制剂,具有活血化瘀、止痛止血的作用。临床用于跌打损伤、血瘀止痛、外伤出血、疮疡不敛等疾病的治疗。为了加强该制剂的质量控制,按照新的医院制剂再注册管理办法要求,我们重点对方中的药材血竭、冰片、三七进行了薄层色谱鉴别方法的研究。

1 实验部分

1.1 仪器与材料

电子天平(ALC-210.4,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司);超声波清洗器(KQ5200E型,昆山市超声仪器有限公司);三用紫外分析仪(ZF-7型,上海嘉鹏科技有限公司);旋转蒸发器(RE-2000A,巩义市

予华仪器有限责任公司);电热鼓风干燥箱(DHG-9140B,上海安亭科学仪器有限公司)。

甲醇、乙酸乙酯、正丁醇、环己烷、乙醚、氨水(均为天津市东河红岩试剂厂生产,AR);硅胶 G(青岛海浪硅胶干燥剂厂,薄层层析用);羧甲基纤维素钠(上海山浦化工有限公司)。

化瘀止痛散(规格: 3g×6瓶,西安航天医院制剂室生产);龙血竭(批号: 090702,西双版纳药业有限责任公司);三七皂苷 R₁(批号: 110745-200617)、人参皂苷 Rg₁(批号: 0703-200119)、人参皂苷 Re(批号: 110754-200822),以上对照品均由中国药品生物制品检定院提供。

1.2 方法与结果

1.2.1 化瘀止痛散中血竭的薄层鉴别

(1) 供试品溶液的制备。取化瘀止痛散粉末约 3

收稿日期 2014-09-13

作者简介 冯锁民(1966-) 教授,博士,研究方向: 药物新制剂和临床药学, E-mail: 1095512691@qq.com

基金项目 陕西省教育厅产业化项目(2013JC05);国家级大学生创新创业训练计划项目(201311840003);商洛市科学技术研究发展计划项目(SK-2013-15)

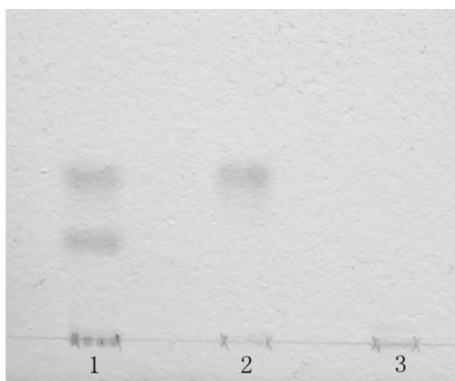
g 加乙醚 30 mL 于带塞锥形瓶中, 密塞 振摇 10min, 滤过, 作为供试品溶液。

(2) 对照药材溶液的制备. 取血竭对照药材 0.1g 制法同(1)。

(3) 阴性对照液的制备. 按化瘀止痛散处方, 制备不含血竭的阴性对照 3g 提取方法同(1)。

(4) 薄层方法. 照薄层色谱法(附录 VI B)^[1] 试验 吸取供试品溶液、对照药材溶液、阴性对照溶液各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇(99:1) 为展开剂^[2], 饱和 15 min, 上行展开 6 cm, 取出 晾干。

(5) 薄层结果. 化瘀止痛散中血竭的薄层色谱结果如图 1. 从图 1 可以看出, 供试品色谱中 在与对照药材色谱相应位置上分别显粉红色的斑点, 阴性对照在相应位置无干扰斑点。



1 供试品; 2 血竭对照药材; 3 阴性对照
图 1 化瘀止痛散中血竭的薄层色谱图

Fig. 1 TLC of the Draconis Sanguis in Huayuzhitong Powders

1 sample; 2 draconis sanguis; 3 negative sample

1.2.2 化瘀止痛散中冰片的薄层鉴别

(1) 供试品溶液的制备. 取化瘀止痛散粉末约 3 g 加乙醚 30 mL 于带塞锥形瓶中; 密塞 振摇 10min, 滤过, 作为供试品溶液。

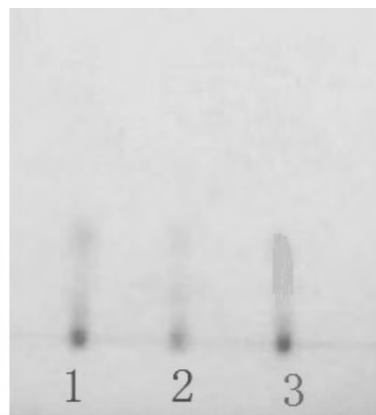
(2) 对照药材溶液的制备. 取冰片对照药材 0.1g 方法同(1)。

(3) 显色剂的配制. 取 5 g 香草醛, 用 10% 硫酸乙醇(取硫酸 2.85 mL, 加乙醇稀释至 50 mL, 即得) 100 mL 溶解^[2]。

(4) 薄层方法. 照薄层色谱法(附录 VI B)^[1] 试验 吸取供试品溶液、对照药材溶液各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯(20:1) 为展开剂^[3], 饱和 15 min, 上行展开 6 cm, 取出 晾干 喷以 5% 香草醛硫酸乙醇溶液 吹干。

(5) 薄层结果. 化瘀止痛散中冰片的薄层结果如图 2, 从图中可以看出供试品与对照品色谱相应位置

上显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照无干扰。



1 供试品; 2 冰片对照药材; 3 阴性对照
图 2 化瘀止痛散中冰片的薄层色谱图

Fig. 2 TLC of the Borneolum Syntheticum in Huayuzhitong Powders

1 sample; 2 borneolum syntheticum; 3 negative sample

1.2.3 化瘀止痛散中三七的薄层鉴别

(1) 供试品溶液的制备^[4-6]. 取化瘀止痛散粉末 3 g 加氯仿 30 mL 超声处理 30 min 滤过 药渣挥去氯仿 加 30 mL 甲醇 超声处理 30 min 滤过 滤液蒸干 加水 20 mL 溶解 转移至分液漏斗中 加水饱和的正丁醇溶液 30 mL 萃取 取正丁醇层 加氨试液洗三次(20 mL, 15 mL, 10 mL) 取正丁醇层蒸干 残渣加水 5 mL 使溶解 过 D-101 型大孔树脂 静态吸附 1 h, 用纯化水洗脱至无颜色 弃去洗脱液. 再用 40% 乙醇洗脱至无颜色 收集 40% 乙醇洗脱液 蒸干 残渣加 2 mL 甲醇溶解 作为供试品溶液。

(2) 对照药材溶液的制备. 取三七对照药材 0.5 g 加水 5 滴 拌匀, 再加以水饱和的正丁醇 5 mL, 密塞 振摇 10 min 放置 2 h 滤过 滤液加三倍量以正丁醇饱和的水 摇匀 放置使分层 取正丁醇层 蒸干 残渣加甲醇 2 mL 使溶解 作为对照药材溶液。

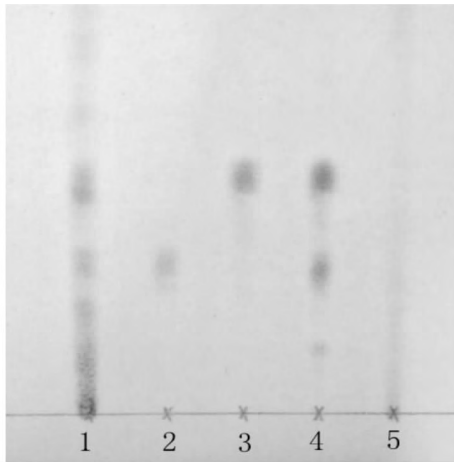
(3) 阴性对照溶液的制备. 取按化瘀止痛散处方制备的不含三七的阴性对照 3g 制备方法同(1)。

(4) 对照品溶液的制备. 取人参皂苷 R_{g_1} 及三七皂苷 R_1 对照品, 加甲醇各制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液 作为对照品溶液。

(5) 显色剂的配制. 取 1 mL 硫酸溶液 缓缓加入 9 mL 纯化水中 即得。

(6) 薄层色谱法. 照薄层色谱法(附录 VI B)^[1] 试验 吸取上述 6 种溶液各 1 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水(65:35:10) 10 $^{\circ}$ C 以下放置 12 h 后的下层溶液为展开剂, 饱和 15 min, 上行展开 8 cm, 取出 晾干 喷以上述显色剂 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。

(7) 薄层结果. 化瘀止痛散中三七的薄层色谱如图3. 从图3可以看出供试品色谱中, 在与对照药材色谱和对照品色谱相应位置上分别显相同颜色的斑点, 阴性对照在相应位置无斑点干扰.



1 供试品; 2 三七皂苷 R_{g1} ;
3 人参皂苷 R_{g1} ; 4 三七对照药材; 5 阴性对照

图3 化瘀止痛散中三七的薄层鉴别图

Fig. 3 TLC of the Panax Notoginseng in Huayuzhitong Powders

1 sample; 2 notoginseng saponins R_{g1} ; 3 ginsenosides R_{g1} ;
4 Panax Notoginseng; 5 negative sample

2 讨论

2.1 化瘀止痛散中血竭的展开系统和点样方式的选择

为了获得理想的薄层效果, 对化瘀止痛散中的血竭的点样方式分别按表1进行了两种点样方式的比较. 结合薄层结果, 最终筛选出条带状点样为化瘀止痛散中血竭的点样方式.

同时对化瘀止痛散中血竭的薄层展开溶剂系统分别按表1进行了实验, 从3种展开剂的薄层结果中可以看出以氯仿-甲醇(99:1)做为展开剂展开后, 供试品在对照品相应位置上斑点清晰可见, 无干扰, 因此最终选用氯仿-甲醇(99:1)作为化瘀止痛散中血竭的薄层展开系统.

2.2 化瘀止痛散中三七样品处理方法选择

为了获得理想的薄层效果, 对化瘀止痛散中三七样品的处理方法分别按表2进行3种方法的比较. 结合薄层结果最终选出正文方法1.2.3中(1)为化瘀止痛散中三七样品的最佳处理方法. 该方法制得的供试品溶液薄层斑点圆整, 清晰, 分离度好.

表1 化瘀止痛散中血竭的展开系统和点样方式选择

Tab. 1 selection developing system and sample mode of draconis sanguis

展开剂	点样方式	薄层结果
氯仿-甲醇(19:1)	点状点样	拖尾严重, 不清晰
氯仿-甲醇(19:1)中加几滴酸	点状点样	拖尾严重, 不清晰
氯仿-甲醇(99:1)	条带状点样	斑点集中, 圆整, 清晰可见

表2 化瘀止痛散中三七样品处理方法的选择

Tab. 2 Choice sample treatment method of panax notoginseng

样品处理方法	展开系统	薄层结果	原因分析
①药典方法 ^[1] : 水润湿, 水饱和的正丁醇提取, 加正丁醇饱和的水分层, 萃取正丁醇层蒸干, 残渣加甲醇溶解	三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10) 10℃以下放置的下层溶液	斑点显色不清晰, 分离不开	适于单味药材, 本品药味多相互干扰
②取化瘀止痛散3g, 加氯仿30mL, 超声30min, 滤过, 药渣挥去氯仿, 加30mL甲醇, 超声处理30min, 滤过, 滤液蒸干, 加水20mL溶解, 加水饱和的正丁醇溶液30mL萃取, 取正丁醇层, 加氨试液洗三次(10mL×3), 取正丁醇层蒸干, 残渣加甲醇1mL使溶解.	三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10) 10℃以下放置的下层溶液	斑点分离度不高, 显色比①清晰	提出的成分太多, 干扰结果
③正文1.2.3中(1)所用方法	三氯甲烷-甲醇-水(65:35:10) 10℃以下放置12h后的下层液	斑点显色清晰, 分离度好	方法②样品经D-101型大孔树脂富集纯化, 杂质少, 斑点集中

(下转第77页)

- 1057-1110.
- [18] 余睿方, 戴希. Z_2 拓扑不变量与拓扑绝缘体 [J]. 物理 2011, 40(7): 462-468.
- [19] Rundong Li, Jing Wang, Xiao-Liang Qi, et al. Dynamical axion field in topological magnetic insulators [J]. Nature Physics 2010, 6: 284-288.
- [20] Qi X L, Hughes T L, Zhang S C. Topological field theory of time-reversal invariant insulators [J]. Phys Rev B, 2008, 78: 195424-195466.
- [21] Wilczek F. Two applications of axion electrodynamics [J]. Phys Rev Lett, 1987, 58: 1799-1802.
- [22] R. Cameron, G. Cantatore, A. C. Melissinos, et al. Search for nearly massless, weakly coupled particles by optical techniques [J]. Phys Rev D, 1993, 47: 3707.
- [23] Peccei R D, Quinn H R, CP Conservation in the Presence of Pseudoparticles [J]. Phys Rev Lett, 1977, 38: 1440-1443.
- [24] Kim J E. Light pseudoscalars, particle physics and cosmology [J]. Phys Rept, 1986, 150: 1-177.
- [25] Kim J E. Weak-interaction singlet and strong CP invariance [J]. Phys Rev Lett, 1979, 43: 103-107.
- [26] 戴元本. 相互作用的规范理论 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2006: 474-494.
- [27] Dine M, Fischle W, Srednicki M. A simple solution to the strong CP problem with a harmless axion [J]. Phys Lett B, 1981, 104: 199-202.
- [28] Kim J E, Carosi G. Axions and the strong CP problem [J]. Rev Mod Phys, 2010, 82: 557-602.

(上接第 70 页)

3 结论

本实验所用的化瘀止痛散由于药味较多, 相互干扰的因素较多, 经多次试验, 试用了多种供试品制备方法和展开系统, 摸索出了化瘀止痛散中血竭、三七、冰片专属性较高的薄层鉴别方法, 该方法简便, 专属性强、重现性好, 可用于化瘀止痛散的定性质量控制。

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, 2010: 附录 34, 133, 136, 11.

- [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中药薄层色谱彩色图集 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
- [3] 秦华珍, 邓家刚, 陈勇, 等. 黄龙肝脂消颗粒质量标准的实验研究 [J]. 中成药, 2004, 26(7): 535-538.
- [4] 孟琼, 陈治宇. 三七总皂苷提取分离及分析方法研究进展 [J]. 承德医学院学报, 2010, 27(2): 198-199.
- [5] 许梅, 郭敏. 舒心络胶囊薄层色谱定性鉴别研究 [J]. 中国药业, 2012, 21(5): 24-25.
- [6] 于建, 陆继伟, 王珂, 等. 复方丹参片和复方丹参颗粒中三七薄层色谱鉴别的研究 [J]. 中国药品标准, 2012, 13(4): 249-251.