

天麻眩晕宁片的薄层色谱鉴别研究*

曹 瑞¹, 曹林林², 郭东艳¹, 柳小莉¹

(1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西中医学院制药厂, 陕西 咸阳 712046)

摘要:目的 建立天麻眩晕宁片的薄层色谱鉴别方法, 为提高制剂的质量提供依据。方法 采用薄层色谱法, 对方中制天麻、白芍、钩藤、泽泻等 12 味药进行鉴别。结果 在供试品色谱中, 与对照品或对照药材色谱相对应的位置上, 显示出相同颜色的斑点, 因此阴性对照无干扰。结论 所建立的方法简便、灵敏、专属性强, 可用于天麻眩晕宁片的质量控制。

关键词: 天麻眩晕宁片; 薄层色谱鉴别; 质量控制

中图分类号: R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2016)04-0026-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.04.006

天麻为兰科植物天麻的干燥块茎, 我国常用名贵中药材之一, 性辛、温、无毒, 具平肝熄风、通络止痛之效, 用于治疗头痛、头昏、眩晕、偏头疼、手足抽搐、小儿惊风、四肢痉挛、高血压、神经衰弱等^[1]天麻为天麻眩晕宁片的主药药物之一^[2]。

天麻眩晕宁合剂收载于《卫生部药品标准》^[3]天麻眩晕宁片是由天麻眩晕宁合剂改剂型而来, 由天麻、白芍、钩藤、泽泻、半夏(制)、白术、茯苓、竹茹、川芎、甘草(炙)、陈皮、生姜等十二味中药组成^[4], 具有祛痰定眩, 和胃止呕的功效, 临床上主要用于眩晕、恶心、呕吐、舌淡、苔白滑, 尤适用于美尼尔氏症^[5]。近年来有关天麻眩晕宁合剂的含量测定研究已有报道^[5-6], 但是薄层色谱研究报道较少, 而且原合剂的质量标准中, 仅对方中的钩藤、泽泻、干姜、天麻进行了薄层鉴别^[7], 为了更有效的控制该制剂的内在质量, 本实验拟在原合剂质量标准的基础上, 增加白术、茯苓、半夏、竹茹、甘草等药味的薄层色谱鉴别, 为提高制剂的内在质量提供依据。

1 材料

1.1 仪器

KH-400KDE 型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司), 定量毛细管, PTF-A500 电子天平(福州华志科学仪器有限公司), 双槽薄层层析缸。

1.2 试药

1.2.1 对照药材及对照品

川芎(批号: 120918-201411), 陈皮(批号: 120969-201109), 白术(批号: 120925-201310), 白芍(批号: 120905-201109), 半夏(批号: 121272-201404), 茯苓(批号: 121117-201308), 甘草(批号: 120904-2013180), 均购自中国食品药品检定研究院。阿魏酸(批号: 110773-201012), 芍药苷(批号: 110736-201438), 均购自中国食品药品检定研究院。

1.2.2 试药

天麻眩晕宁片(陕西中医药大学制药厂提供, 批号: 20130310, 20130325, 20130412); 处方中所用饮片购自昊源中药饮片有限公司, 均符合《中国药典》2010 年版一部各饮片项下有关规定; 所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 川芎的薄层鉴别^[8]

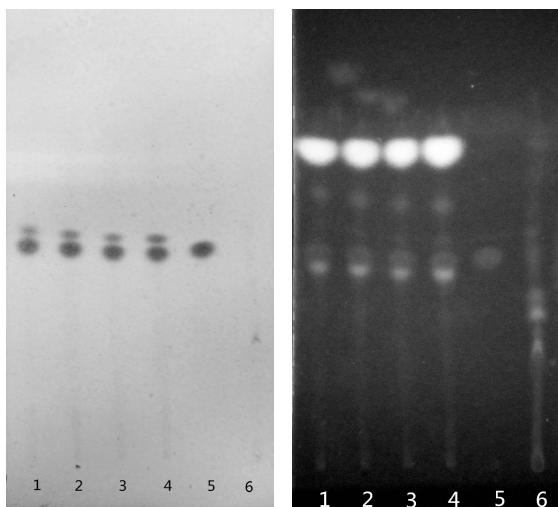
取天麻眩晕宁片 10 片, 除去包衣, 研细, 加水使溶解, 用浓氨试液调 pH 值至 9~10, 加二氯甲烷提取 3 次, 每次 10mL, 水液备用; 收集 CH₂Cl₂ 液置水浴中蒸干, 残渣加乙酸乙酯 0.5mL 使其溶解, 作为供试品溶液。以同法制备川芎阴性对照溶液。川芎对照药材溶液: 取川芎对照药材 0.3g, 加 C₂H₄Cl₂ 10mL, 超声 30min, 滤过, 将滤液挥干, 残渣中加入

* 基金项目: 陕西省教育厅基金项目(2012JC11)

收稿日期: 2016-04-21

作者简介: 曹瑞(1986-), 女, 陕西咸阳人, 实验师, 研究方向: 中药新药质量标准。

乙酸乙酯 1mL 使其溶解。另取阿魏酸对照品加入乙酸乙酯制成浓度为 $0.5\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。吸取上述供试品 $5\mu\text{L}$ 和阴性溶液 $5\mu\text{L}$, 对照药材、对照品溶液各 $2\mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 展开剂为甲苯-三氯甲烷-甲醋酸乙酯-冰醋酸(6:5:2:1), 上行展开, 展距约 8cm, 取出, 晾干, 再喷以新配制的 1%三氯化铁和 1%铁氰化钾 (1:1) 的混合溶液显色或在 365nm 并在紫外灯下进行检视。结果见图 1、2: 供试品色谱中, 在与对照药材和对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照溶液在相应位置上则没有。



1~3.天麻眩晕宁片;4.川芎对照药材;5.阿魏酸对照品;6.阴性对照溶液

图1 川芎的薄层色谱图 (日光) 图2 川芎的薄层色谱图 (紫外)

2.2 陈皮的薄层鉴别^[9]

取 2.1 项下的碱液, 加稀 HCl 调 pH 值 2~3, 用乙酸乙酯提取 3 次, 每次 10mL, 合并乙酸乙酯液然后蒸干, 残渣中加甲醇 1mL 使其溶解, 作为供试品溶液。同法制成陈皮阴性对照溶液。陈皮对照药材溶液: 取陈皮对照药材 1g, 加入乙酸乙酯 20mL, 超声处理 30min, 滤过, 将滤液挥干, 残渣中加乙酸乙酯 0.5mL 使其溶解。吸取上述供试品 $5\mu\text{L}$ 、阴性溶液 $5\mu\text{L}$, 对照药材溶液各 $2\mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 展开剂为石油醚-乙酸乙酯(2:3), 上行展开, 取出, 晾干。再喷以 10%硫酸乙醇溶液, 105℃ 加热至斑点显色清晰。在供试品色谱中, 与对照药材色谱相应的位置上, 显两个相同的黄色斑点, 阴性对照溶液在相应位置则无斑点。结果见图 3。

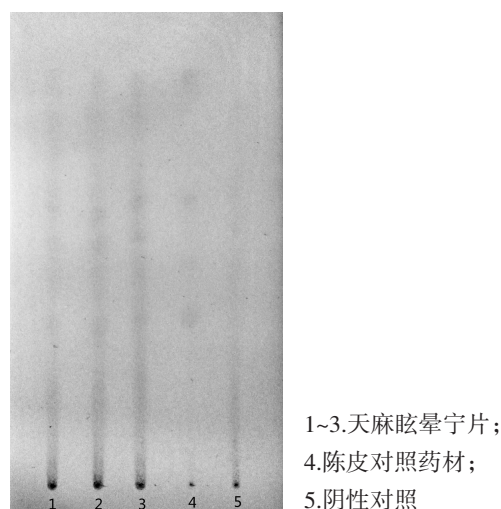


图3 陈皮的薄层色谱图(日光)

2.3 甘草的薄层鉴别^[10]

取 2.3 项下的供试品溶液作为甘草薄层鉴别的供试品溶液, 同法制成甘草阴性对照溶液。准确称取甘草对照药材 0.5g, 加水 15mL, 加热回流 1h, 放冷, 滤过, 滤液用正丁醇萃取两次, 每次 20mL, 合并正丁醇溶液, 置水浴中蒸干, 残渣加入甲醇 2mL 溶解, 得甘草对照药材溶液。取上述对照药材溶液 $2\mu\text{L}$, 供试品溶液、阴性对照液各 $10\mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 展开剂为乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2), 展开 13cm, 取出, 晾干, 再喷以 10%硫酸乙醇溶液, 105℃ 加热至斑点清晰。在供试品色谱中, 与对照药材色谱相应的位置上, 显示相同颜色的斑点。而阴性对照溶液中在相应位置上则没有。结果见图 4。

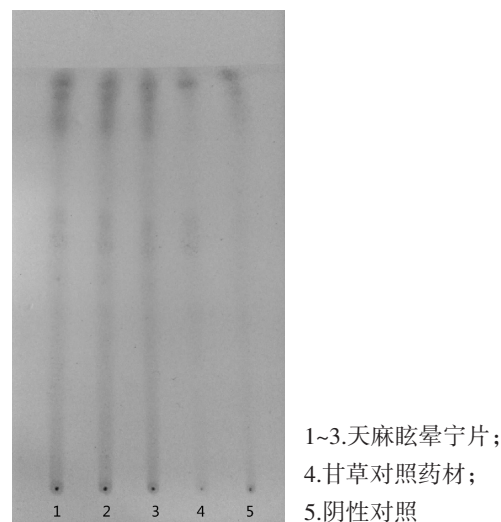


图4 甘草的薄层色谱图(日光)

2.4 白术的薄层鉴别^[11]

取天麻眩晕宁片剂 10 片,除去包衣,研细,加 20mL 水溶解,用乙醚提取 2 次,每次 15mL,挥干乙醚,残渣加 0.2mL 甲醇使溶解,作为供试品溶液;同法制成白术阴性对照溶液。取白术对照药材 0.5g,加水 30mL,煎煮 30min,滤过,滤液浓缩至约 10mL,加乙醚提取两次,每次 15mL,挥干乙醚,残渣中加入 0.2mL CH₃OH 使其溶解,作为对照药材溶液。取上述对照药材溶液 5 μ L,供试品溶液、阴性对照溶液各 15 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,展开剂为环己烷-乙酸乙酯-乙醚(1:1:1),展开,取出,晾干,并在紫外光灯(365 nm)下进行检视。供试品色谱中在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。而阴性对照溶液在与相应位置上则无相同斑点,结果见图 5。

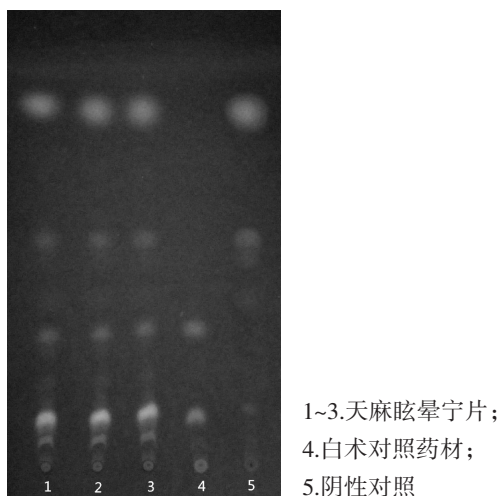


图 5 白术的薄层色谱图(紫外 365nm)

2.5 茯苓的薄层鉴别

取天麻眩晕宁片剂 10 片,除去包衣,研细,加入 20mL 水溶解,乙醚振摇提取 2 次,每次 20mL,合并乙醚液,残渣加入 1mL 甲醇使其溶解,作为供试品溶液,同法制成茯苓阴性对照溶液。茯苓对照药材溶液:取茯苓对照药材 0.5g,加入乙醚 25mL,超声 20min,滤过,然后蒸干滤液,残渣加 1mL 甲醇使其溶解,即得。取上述对照药材溶液各 5 μ L,供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,展开剂为甲苯-乙酸乙酯-甲酸(20:5:0.5),展开,取出,晾干,再喷以 2% 香草醛硫酸溶液-乙醇(4:1),105℃加热至斑点显色清晰。在供试品色谱中,与对照药材色谱相应的位置上,显示相同

颜色的斑点。而阴性对照溶液在相应位置上则没有,结果见图 6。

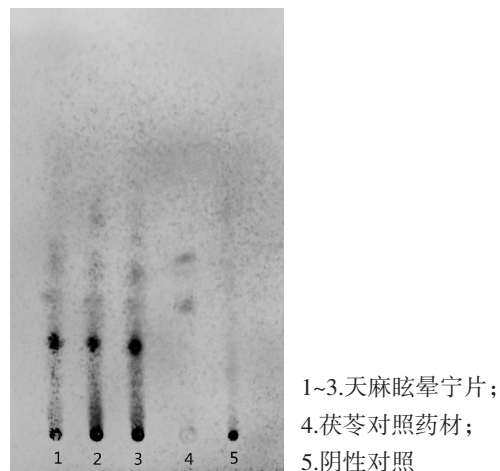


图 6 茯苓的薄层色谱图(日光)

2.6 竹茹的薄层鉴别

取天麻眩晕宁片剂 10 片,除去包衣,研细,加入 70%乙醇 30mL 使其溶解,超声 40min,滤过,滤液浓缩蒸干,再加入 70%乙醇 2mL 溶解,作为供试品溶液,同法制成竹茹阴性对照溶液。对照药材溶液:取竹茹对照药材 1g,加入 70%乙醇 20mL,回流提取 40min,滤过,滤液浓缩蒸干,再加 70%乙醇 2mL 溶解,即得。吸取上述对照药材溶液 10 μ L、供试品溶液和阴性对照溶液各 15 μ L,点于同一硅胶 G 薄层板上,展开剂为正丁醇-冰醋酸-水(4:4:5),展开,取出,晾干,再喷以茚三酮溶液,105℃加热至斑点显色清晰。在供试品色谱中,与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。而阴性对照溶液在相应位置上则没有,结果见图 7。

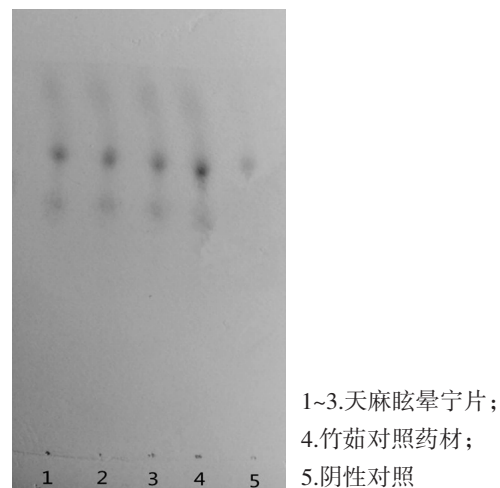


图 7 竹茹的薄层色谱图(日光)

2.7 半夏的薄层鉴别

取天麻眩晕宁片 10 片,除去包衣,研细,加盐酸 5mL 溶解,再加二氯甲烷 20mL,超声 20min,过滤,滤液蒸干,残渣中加入甲醇 1mL 使其溶解,作为供试品溶液,同法制成半夏阴性对照溶液。对照药材溶液:取半夏对照药材 1g,加甲醇 10mL,并加热回流 30min,滤过,滤液浓缩至 0.5mL。取上述对照药材溶液 5 μ L,供试品溶液、阴性对照溶液各 30 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,展开剂为正丁醇-冰醋酸-水(8:3:1),展开,取出,晾干,再喷以茚三酮试液,105℃加热至斑点显色清晰。在供试品色谱中,与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。而阴性对照溶液在相应位置上则没有,结果见图 8。

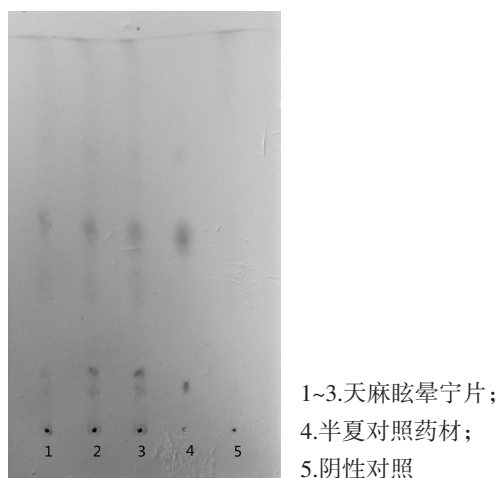


图 8 半夏的薄层色谱图(日光)

3 讨论

天麻眩晕宁片是陕西中医学院制药厂研制的纯中药制剂,主要由天麻、钩藤、泽泻、半夏、白术、茯苓、陈皮、竹茹、川芎、白芍、生姜、甘草等 12 味中药组成,方中陈皮、生姜提取挥发油;白芍、茯苓、甘草、竹茹和陈皮生姜的药渣采用水煎法提取活性成分;泽泻、钩藤、白术、半夏、川芎采用渗漉法提取活性成分,处方中活性成分类型复杂,性质各异,干扰因素多。在制备川芎的供试品时发现,其活性成分用氨水调成碱性后,再用二氯甲烷液进行制备,干扰少,操作方法较药典简单易行且斑点较好。但是在鉴别中发现川芎中有效成分阿魏酸按药典方法鉴别发现其斑点不清晰,其原因可能是因为显色剂硫酸乙醇鉴别阿魏酸专属性不高,或是其展开剂展开能力差。后参考有关筛选阿魏酸的展开剂的文献[12],采用其文献结果以甲苯-三氯甲烷-醋酸乙酯-冰醋酸(6:

5:2:1)为展开剂,并喷以新配制的 1%三氯化铁和 1%铁氰化钾(1:1)的混合溶液,其分离效果好,斑点清晰,专属性强,重复性好。故采用该展开剂专属鉴别川芎。对复方中半夏进行薄层鉴别时,参考保和口服液^[13]中半夏的鉴别方法,即将处方采用二氯甲烷超声提取并以石油醚-苯-乙酸乙酯-冰醋酸(10:20:7:0.5)为展开剂展开,置紫外灯下检视时发现对照药材斑点不清晰,且供试品和阴性斑点一致,将半夏的对照药材采用药典方法甲醇回流,以正丁醇-冰醋酸-水(8:3:1)为展开剂展开,喷以茚三酮试液发现斑点整齐清晰,故采用两种方法结合来鉴别半夏。其原因可能是因为处方较保和口服液更为复杂,干扰成分较多,掩蔽半夏的活性成分,导致供试品难以检视斑点,也可能是其提取液二氯甲烷和展开剂的极性对于半夏的提取不佳,而采用药典中对照药材的鉴别方法结果较好,斑点清晰,故采用两者结合的方法。对复方中白术进行薄层鉴别时,采用两种方法进行优选:一种是加乙醇超声提取,以氯仿-甲醇-醋酸乙酯(8:5:2)为展开剂展开,并置紫外灯(365nm)下进行检视^[14-15];另一种是参考肠胃清口服液^[16]中白术的鉴别方法,即加乙醚提取,以环己烷-乙酸乙酯-乙醚(1:1:1)为展开剂展开,置紫外灯(365nm)下检视,发现乙醇提取的方法中斑点的 Rf 值较大, Rf>0.8,而乙醚萃取的斑点 Rf 值在 0.2~0.8 之间,较为合适,故选用第 2 种方法作为白术的薄层鉴别方法。本实验提供了天麻眩晕宁片剂中 8 味药材的定性鉴别方法,加上原标准中 4 味药材的鉴别,能够更加准确、简便的鉴别处方中各药味,为提高制剂的质量标准提供依据。

参考文献:

- [1] 王亚男,林生,陈明华,等. 天麻水提取物的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(12):1775-1780.
- [2] 唐志书,王梅,史亚军,等. HPLC 测定眩晕宁胶囊中天麻素的含量[J]. 现代中医药,2005,25(5):66,78-79.
- [3] 张亚强,李林军. 天麻眩晕宁颗粒质量标准研究[J]. 陕西中医,2009,30(6):729-730.
- [4] 肖珮. 天麻眩晕宁合剂中天麻素的 HPLC 法测定[J]. 陕西中医,2012,33(9):1228-1229.
- [5] 刘峰. HPLC 法测定天麻眩晕宁合剂中天麻素和芍药苷的含量[J]. 药学研究,2014,33(7):386-388.
- [6] 赵成. HPLC 法测定天麻眩晕宁合剂中天麻素的含量[J]. 安徽医药,2008,12(1):23-24.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准(WS3-B-2661-97)[S]. 天麻眩晕宁合剂,1997:14.(下转第 34 页)

- [10] 夏提古丽·阿不利孜,贾晓光,熊元君,等. 八角莲的研究进展[J]. 新疆中医药,2010,28(3):69-72.
- [11] 赵立春,何颖,岳桂华,等. 八角莲属药用植物化学成分及生理活性研究进展 [J]. 中国民族民间医药,2009,18(13):37-39.
- [12] 秦小波. 中国八角莲属植物的研究进展 [J]. 资源开发与市场,2012,28(11):1018-1019,1043.
- [13] 张艳君,冯川. 八角莲活性成分鉴别及其抗癌活性研究 [J]. 吉林医药学院学报,2013,34(4):241-244.
- [14] 张敏,施大文. 八角莲类中药抗单纯疱疹病毒作用的初步研究[J]. 中药材,1995,18(6):306-307.
- [15] 吕敏,苏艳芳,郭增军,等. 八角莲属植物化学成分及生物活性研究概况[J]. 西北药学杂志,2006,22(3):152-153.
- (编辑:徐建平)

Study on TLC Identification and HPLC Fingerprint of *Dysosma versipellis*

LU Xueping, MEI Shuangxi, PENG Lingfang, LU Lihe, LI Xiaohui

(Yunnan Baiyao Group Innovation and R&D Center/Yunnan Institute of Materia Medica/Yunnan Province Company
Key Laboratory for TCM and Ethnic Drug of New Drug Creation, Kunming 650111, China)

ABSTRACT: **Objective** To establish the TLC identification method and HPLC fingerprint of *Dysosma versipellis* to provide better specificity test method for the quality control. **Methods** The sample solution was prepared by ultrasonic extraction with ethyl acetate, and the chloroform-methanol-water (9:1:0.1) was used as an expansion system, and the development of 13cm, 10% sulfuric acid ethanol solution was used as the chromogenic reagent; Thermo Acclaim™ 120 C₁₈ (4.6×250 mm, 5μm) was used with acetonitrile-0.05% phosphoric acid water solution as mobile phase in a gradient mode at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was 203 nm and the temperature of column was set at 36°C. Similarity evaluation system for chromatographic fingerprint of TCM was applied to analysis different batches of *Dysosma versipellis* samples. **Results** The TLC identification method and HPLC fingerprint of *Dysosma versipellis* was established, eleven mutual peaks which separation in good condition were selected as the fingerprint peaks in 10 batches sample. **Conclusion** This method is simple and reliable, can be used for the identification and quality control of *Dysosma versipellis*.

KEY WORDS: *Dysosma versipellis*; thin layer chromatography; HPLC fingerprint; quality control

(上接第 29 页)

- [8] 张明,张涛,吕卓,等. 桂枝茯苓软胶囊质量标准研究[J]. 陕西中医,2014,35(9):1249-1250,1254.
- [9] 陈伟民,潘琳琳,陈丽岚,等. 润肺合剂的薄层色谱鉴别方法研究[J]. 嘉兴学院学报,2014,26(6):112-115.
- [10] 张义生,梁惟俊,范彦博,等. 调脂康口服液的薄层色谱鉴别[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(7):556-558.
- [11] 贺涛,谭亚芹,韩雪梅. 蒿芩清胆颗粒的薄层色谱鉴别[J]. 中华中医药学刊,2008,26(9):1995-1997.
- [12] 罗音久,曾忠良. 脑生片中阿魏酸薄层色谱鉴别展开剂的选择[J]. 时珍国医国药,2009,20(4):973.
- [13] 郑国华,沈雪梅,唐国涛. 保和口服液薄层色谱研究[J]. 时珍国医国药,1999,10(6):447-448.
- [14] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:96-97.
- [15] 李耀荣,徐青青,莫玉芳,等. 益气通鼻颗粒中白术鉴别方法探讨[J]. 药物鉴定,2009,18(24):32-33.
- [16] 陈海云,吴珺,袁易,等. 肠胃清口服液的薄层色谱鉴别[J]. 中国药业,2012,21(1):28-29.
- (编辑:徐建平)

Study on the TLC Identification Method for Tianma Xuanyunning Tablets

CAO Rui¹, CAO Linlin², GUO Dongyan¹, LIU Xiaoli¹

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

2. Pharmaceutical Factory of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

ABSTRACT: **Objective** To establish a TLC identification method for the Tianma Xuanyunning Tablets, and to provide the basis for improving the quality standard of the preparation. **Methods** Twelve kinds of Chinese medicine crop, such as *Gastrodia elata*, *Radix paeoniae alba* and *Uncaria*, *Alisma Orientals* in this prescription were identified by TLC. **Results** In the chromatograms of the tested products, the same color spots were shown in the corresponding position of the chromatograms for the control article or the crude drugs as control, and there was no interference in the negative control. **Conclusion** The method is simple, sensitive and specific for the quality control of Tianma Xuanyunning Tablets.

KEY WORDS: Tianma Xuanyunning Tablets; TLC; quality control