

# 抗菌消炎胶囊中知母薄层鉴别方法的改进

邓银爱<sup>1,2,3</sup>, 杨泽锐<sup>1,2,3</sup>, 刘星云<sup>2,3</sup>, 成金乐<sup>2,3\*</sup>

(1. 广州中医药大学中药资源科学与工程研究中心, 岭南中药资源教育部重点实验室, 广东广州 510006; 2. 国家中医药管理局中药破壁饮片技术与应用重点研究室, 广东中山 528437; 3. 中山市中智药业集团有限公司, 广东中山 528437)

**摘要** [目的]改进抗菌消炎胶囊中知母的薄层鉴别方法。[方法]以知母阴性、菝葜皂苷元为对照品,采用不同展开溶剂系统进行薄层色谱鉴别。[结果]改进后方法薄层色谱斑点清晰,重现性好,专属性好,阴性对照无干扰。[结论]改进后的方法快捷简便、重复性好、毒性小,可作为抗菌消炎胶囊中知母的鉴别方法。

**关键词** 抗菌消炎胶囊;知母;薄层鉴别

中图分类号 S286.0 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)15-0137-04

## Improvement of TLC Identification Method of *Rhizoma anemarrhenae* in Antibacterial and Anti-inflammatory Capsule

DENG Yin-ai<sup>1,2,3</sup>, YANG Ze-rui<sup>1,2,3</sup>, LIU Xing-yun<sup>2,3</sup>, CHENG Jin-le<sup>2,3\*</sup> (1. Research Center of Chinese Herbal Resource Science and Engineering, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine; Key Laboratory of Lingnan Traditional Chinese Medicine Resources Ministry of Education, Guangzhou, Guangdong 510006; 2. Key Laboratory of Cell-Broken Decoction Pieces Technology and Application, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Zhongshan, Guangdong 528437; 3. Zhongzhi Pharmaceutical Limited Company, Zhongshan, Guangdong 528437)

**Abstract** [Objective] The research aimed to improve the TLC identification methods of *Rhizoma anemarrhenae* in antibacterial anti-inflammatory capsule. [Method] With *Rhizoma anemarrhenae* negative and sarsasapogenin as reference substance, TLC was performed on *Rhizoma anemarrhenae* in different developing solvent. [Result] Improved method of TLC spots were clear, without negative interference, and the method was good reproducibility and good specificity. [Conclusion] The improved method is rapid, simple, accurate, reliable and suitable for the identification of *Rhizoma anemarrhenae* in antibacterial anti-inflammatory capsule.

**Key words** Antibacterial and anti-inflammatory capsule; *Rhizoma anemarrhenae*; TLC

抗菌消炎胶囊属中药复方制剂,由金银花、百部、大黄、大青叶、黄芩、知母及金钱草7味药组成,具有清热、泻火、解毒的功效,用于风热感冒、实火牙痛<sup>[1]</sup>。目前对抗菌消炎胶囊的质量研究比较完善,如使用HPLC法测定其黄芩苷、绿原酸、槲皮素、山柰素、大黄苷等含量<sup>[2-5]</sup>。原国家食品药品监督管理局国家药品标准(标准号YBZ13332006-2012Z)中,知母中菝葜皂苷元薄层鉴别的展开剂含苯,且知母阴性样品存在干扰,导致供试品的薄层鉴别方法专属性不强<sup>[6]</sup>,为进一步提高产品质量的可控性及减小有毒试剂对试验人员的伤害,笔者通过薄层色谱试验,对原方法进行改进,建立了该制剂安全、稳定、可控的新鉴别方法。

## 1 材料与方

### 1.1 材料

**1.1.1 仪器。**数控超声波清洗器(KQ-700DE型,昆山市超声仪器有限公司);电热恒温水浴锅(HH-S21044型,上海锦屏仪器仪表有限公司);电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);双槽展开缸(上海信宜仪器厂有限公司)。

**1.1.2 试剂。**乙醇、盐酸、环己烷、苯、丙酮、乙醇、硫酸、正庚烷、乙酸乙酯、正丁醇、冰醋酸、甲酸均为分析纯,广州化学试剂厂;硅胶G薄层层析预制板(青岛海洋化工有限公司);硅胶G薄层层析预制板(浙江台州市路桥四甲生化塑料厂);硅胶G薄层层析预制板(默克公司);薄层层析用硅胶G(青岛海洋化工有限公司)。

**1.1.3 试药。**菝葜皂苷元对照品(中国药品生物制品检定所,批号110744-201310);抗菌消炎胶囊(中山市恒生药业有限公司,批号20130305、20131004、20131201、20140201、20140301、20140401、20140405、20140506、20140701、20140702);抗菌消炎胶囊知母阴性制剂(中山市恒生药业有限公司,批号DP20131101)。

## 1.2 方法

### 1.2.1 溶液的制备。

**1.2.1.1 供试品溶液的制备。**取抗菌消炎胶囊内容物3g,加乙醇20mL,加热回流40min,滤过,滤液加盐酸1mL,加热回流1h,浓缩至约10mL,加水10mL,用环己烷20mL振摇提取,提取液蒸干,残渣加环己烷1mL使溶解,作为供试品溶液。

**1.2.1.2 对照品溶液的制备。**取菝葜皂苷元对照品,加环己烷制成1mg/mL的溶液,作为对照品溶液。

**1.2.1.3 阴性对照溶液的制备。**取抗菌消炎胶囊知母阴性制剂3g,按“1.2.1.1”供试品溶液制备方法制备。

**1.2.2 原标准知母的薄层鉴别方法。**按照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录VI B)试验,吸取“1.2.1.1”供试品溶液4μL及“1.2.1.2”对照品溶液5μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以苯-丙酮(9:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以8%香草醛无水乙醇溶液与70%硫酸溶液的混合液(0.5:5.0),在100℃加热至斑点显色清晰,日光下检视。

**1.2.3 改进后知母的薄层鉴别方法。**按照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录VI B)试验,吸取“1.2.1.1”供试品溶液4μL及“1.2.1.2”对照品溶液各5μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-异丙醇-浓氨试液(9.5:0.5:

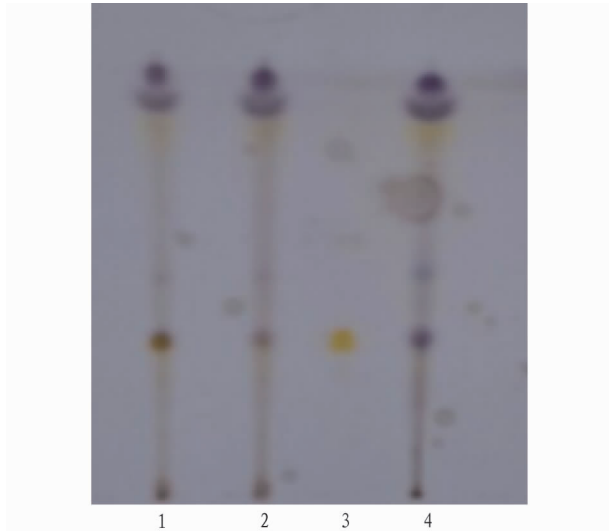
**作者简介** 邓银爱(1992—),女,广东江门人,硕士研究生,研究方向:现代中药创新。\*通讯作者,教授,博士生导师,从事现代中药新药研究。

**收稿日期** 2017-03-31

0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以8%香草醛无水乙醇溶液-70%硫酸溶液(1:10)的混合溶液,在100℃加热至斑点显色清晰,日光下检视。

## 2 结果与分析

**2.1 原标准与改进后知母的薄层鉴别色谱图** 原标准供试品色谱中(图1),在与对照品色谱Rf值相应的位置上显示不同颜色的斑点,与阴性对照样品色谱相同颜色的斑点存在较大的阴性干扰。改进后供试品色谱中(图2),在与对照品色谱相应的位置上显示相同颜色的斑点,且阴性样品色谱Rf值相应的位置上无斑点,说明该方法专属性强,不存在阴性干扰,分离度好。

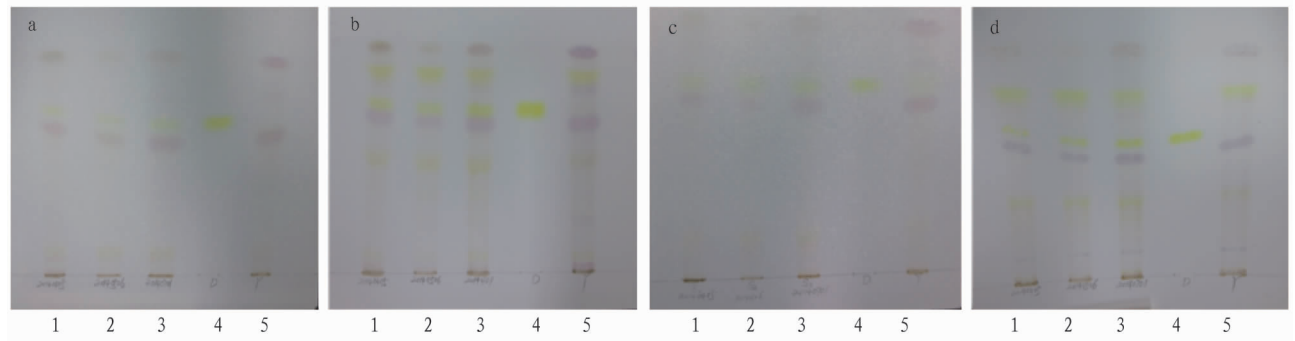


注:1. 供试品 20140201;2. 供试品 20140301;3. 菝葜皂苷元对照品;4. 阴性对照品

Note:1. Test article 20140201;2. Test article 20140301;3. Sarsasapogenin reference substance;4. Negative reference substance

图1 原标准的知母薄层色谱

Fig.1 TLC of original standard *Rhizoma anemarrhenae*

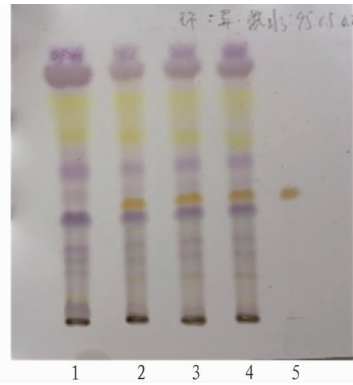


注:a. 硅胶G自制玻璃手铺板;b. 台州铝箔预制板;c. 青岛玻璃预制板;d. 默克铝箔预制板。1. 抗菌消炎胶囊 20140405;2. 抗菌消炎胶囊 20140506;3. 抗菌消炎胶囊 20140701;4. 菝葜皂苷元对照品 110744-201310;5. 知母阴性对照 DP20131101

Note:a. Silicone G homemade glass hand plate;b. Taizhou aluminum foil prefabricated panels;c. Qingdao glass prefabricated panels;d. Merck aluminum foil prefabricated panels. 1. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20140405;2. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20140506;3. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20140701;4. Sarsasapogenin reference substance 110744-201310;5. Negative control DP20131101 of *Rhizoma anemarrhenae*

图3 不同薄层板耐用性考察

Fig.3 Durability study of different thin layer plate



注:1. 知母阴性对照;2. 抗菌消炎胶囊 20130305;3. 抗菌消炎胶囊 20140201;4. 抗菌消炎胶囊 20140506;5. 菝葜皂苷元对照品

Note:1. Negative control of *Rhizoma anemarrhenae*;2. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20130305;3. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20140201;4. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20140506;5. Sarsasapogenin reference substance

图2 改进后的知母薄层色谱

Fig.2 TLC of improved *Rhizoma anemarrhenae*

## 2.2 方法学考察

**2.2.1 专属性考察。**试验发现,在抗菌消炎胶囊供试品色谱中,在与菝葜皂苷元对照品色谱相应的位置上显示相同颜色的斑点,而知母阴性对照色谱中,在相应位置上无干扰,表明该方法对菝葜皂苷元的鉴别具有专属性<sup>[7]</sup>。

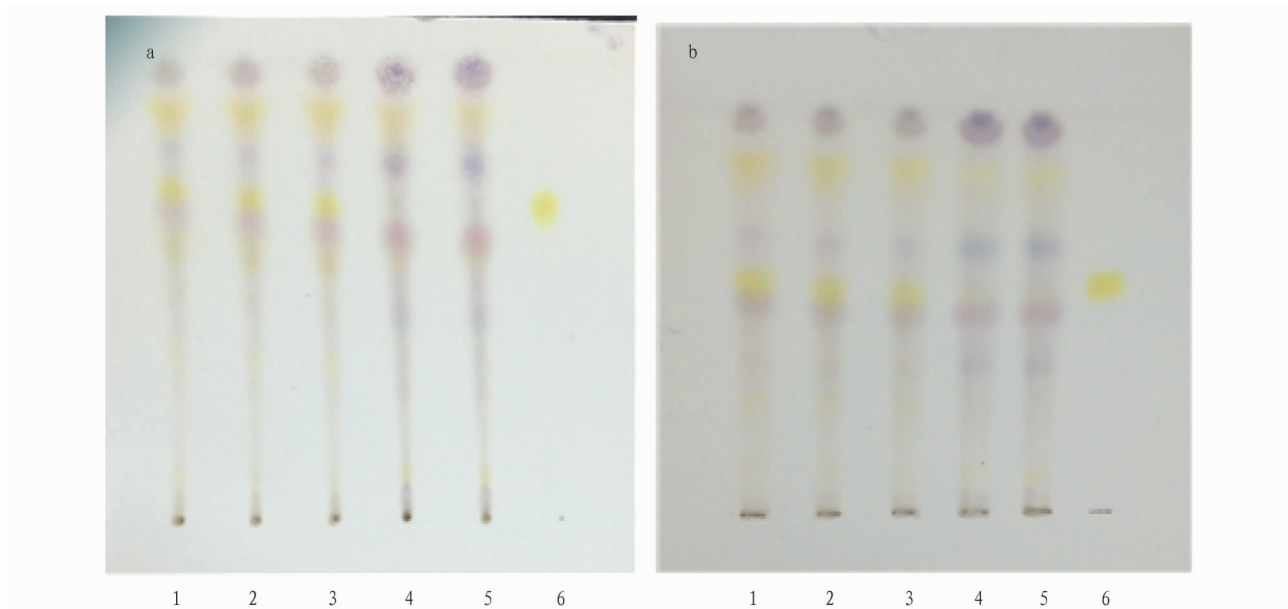
**2.2.2 耐用性考察。**

**2.2.2.1 不同薄层板。**选取了自制玻璃手铺板、台州硅胶G预制铝箔板、默克硅胶GF254预制铝箔板、青岛硅胶G预制玻璃板分别按“1.2.3”方法进行试验,结果表明(图3),这些不同硅胶板均能达到鉴别的要求,而由于玻璃板展开时间较长,默克板价格较昂贵,综合考虑选择台州硅胶G预制铝箔板进行后续考察。

**2.2.2.2 点样方式考察。**采用圆点状和条带状点样方式,

各样品色谱的斑点均能有效分离(图4),表明该方法对不同

点样方式具有耐用性。



注:1. 抗菌消炎胶囊 20140405;2. 抗菌消炎胶囊 20140506;3. 抗菌消炎胶囊 20140701;4,5. 知母阴性对照 DP20131101;6. 菝葜皂苷元对照品 110744-201310

Note:1. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20140405;2. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20140506;3. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20140701;4,5. Negative control DP20131101 of *Rhizoma anemarrhenae*;6. Sarsasapogenin reference substance 110744-201310

图4 圆点状(a)和条带状(b)点样方式耐用性考察

Fig.4 Durability study of dotted(a) and stripped(b) spotting way

**2.2.2.3 点样量考察。**分别取供试品溶液 2、4、5、10  $\mu\text{L}$ , 对照品溶液及阴性对照溶液按“1.2.2”方法取 5  $\mu\text{L}$  进行点样, 进行考察。在与对照品色谱相应的位置上均显相同颜色的斑点, 表明该方法对点样量的小变动具有耐用性。而由图 5 可知, 供试品溶液点样量为 2、4  $\mu\text{L}$  时, 供试品色谱与对照品色谱相应位置的斑点颜色较淡; 点样量为 10  $\mu\text{L}$  时, 则载样量过大, 斑点有扩散; 点样量为 5  $\mu\text{L}$  时, 供试品色谱与对照品色谱相应的斑点形状、大小相当。因此, 拟确定供试品溶液的点样量为 5  $\mu\text{L}$ 。

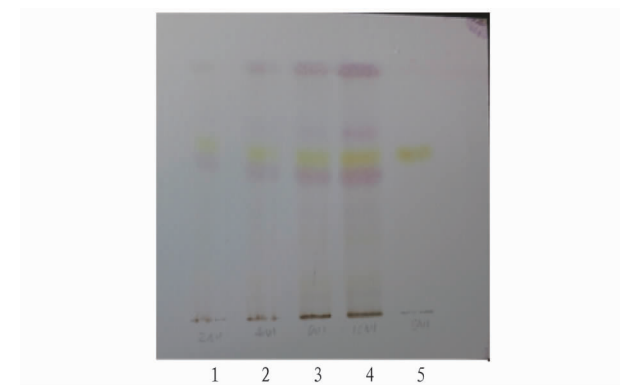
**2.2.2.4 不同温度考察。**选取在常温(10~30  $^{\circ}\text{C}$ )和低温(4~10  $^{\circ}\text{C}$ )条件下展开, 各斑点均能有效分开。相比低温条件, 常温条件下的斑点分离度较好(图 6)。

**2.2.2.5 重复性考察。**分别取 10 批不同生产时期的抗菌消炎胶囊产品进行检测, 结果表明(图 7), 改进后方法重复性好<sup>[8]</sup>。

### 3 结论与讨论

抗菌消炎胶囊为中药复方制剂, 成分复杂, 在对抗菌消炎胶囊的质量检测中发现, 知母的鉴别方法存在以下问题: ①专属性低, 存在明显的阴性干扰。用原方法鉴别, 抗菌消炎胶囊中的菝葜皂苷元的斑点颜色与对照品颜色不一致, 而与阴性对照品溶液色谱相应位置斑点颜色一致。②展开剂中苯的毒性大, 不利于试验人员的身体健康。

鉴于上述情况, 该研究参考有关文献, 通过反复试验, 确定了改进后的方法。改进后的薄层鉴别方法展开时间短, 斑



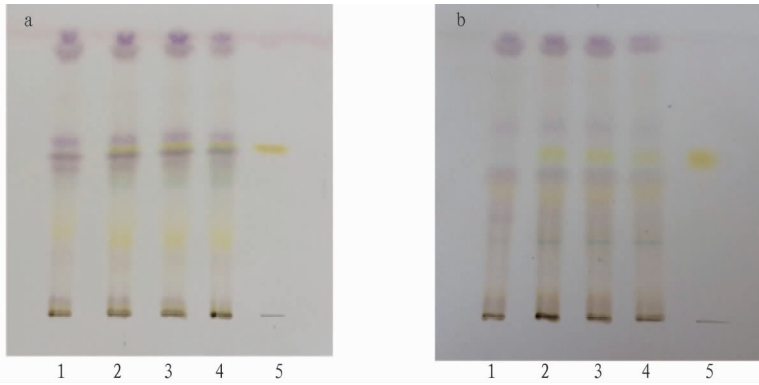
注:1. 抗菌消炎胶囊 20140506, 2  $\mu\text{L}$ ;2. 抗菌消炎胶囊 20140506, 4  $\mu\text{L}$ ;3. 抗菌消炎胶囊 20140506, 5  $\mu\text{L}$ ;4. 抗菌消炎胶囊 20140506, 10  $\mu\text{L}$ ;5. 菝葜皂苷元对照品 110744-201310

Note:1. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20140506, 2  $\mu\text{L}$ ;2. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20140506, 4  $\mu\text{L}$ ;3. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20140506, 5  $\mu\text{L}$ ;4. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20140506, 10  $\mu\text{L}$ ;5. Sarsasapogenin reference substance 110744-201310

图5 点样量耐用性考察

Fig.5 Durability study of sample size

点显色清晰, 分离度好, Rf 值适中, 重复性好, 展开溶剂不含有毒试剂苯, 减轻了对试验人员的身体伤害, 有效地解决了原标准中知母鉴别的缺点, 为抗菌消炎胶囊质量标准的改进提供了一定依据, 可作为抗菌消炎胶囊中知母的鉴别方法。

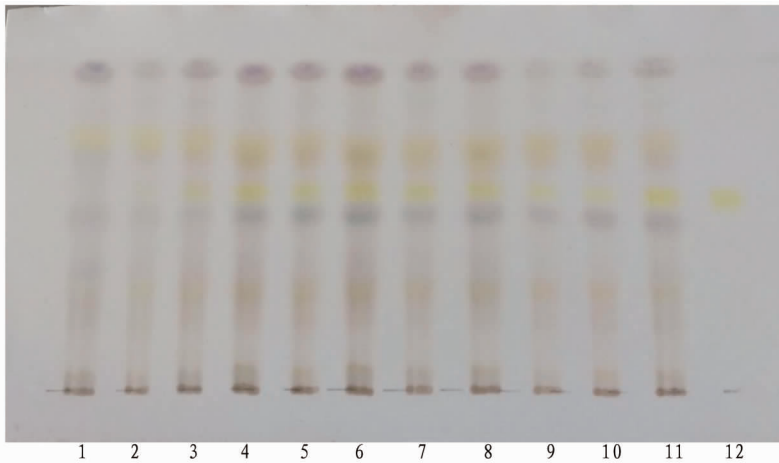


注:1. 知母阴性对照 DP20131101;2. 抗菌消炎胶囊 20140301;3. 抗菌消炎胶囊 20140405;4. 抗菌消炎胶囊 20140506;5. 菝葜皂苷元对照品 110744-201310

Note:1. Negative control DP20131101 of *Rhizoma anemarrhenae*;2. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20140301;3. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20140405;4. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20140506;5. Sarsasapogenin reference substance 110744-201310

图6 6 °C(a)和27 °C(b)温度下耐用性考察

Fig.6 Durability study at 6 °C(a)and 27 °C (b)temperature



注:1. 知母阴性对照 DP20131101;2. 抗菌消炎胶囊 20130305;3. 抗菌消炎胶囊 20131004;4. 抗菌消炎胶囊 20131201;5. 抗菌消炎胶囊 20140201;6. 抗菌消炎胶囊 20140301;7. 抗菌消炎胶囊 20140401;8. 抗菌消炎胶囊 20140405;9. 抗菌消炎胶囊 20140506;10. 抗菌消炎胶囊 20140701;11. 抗菌消炎胶囊 20140702;12. 菝葜皂苷元对照品 110744-201310

Note:1. Negative control DP20131101 of *Rhizoma anemarrhenae*;2. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20130305;3. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20131004;4. Antibacterial and anti-inflammatory capsules 20131201;5. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20140201;6. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20140301;7. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20140401;8. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20140405;9. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20140506;10. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20140701;11. Antimicrobial and anti-inflammatory capsules 20140702;12. Sarsasapogenin reference substance 110744-201310

图7 10批产品重复性考察

Fig.7 Repeatability study of ten batches products

## 参考文献

- [1] 高玉琼,张译文,刘建华,等. 抗菌消炎胶囊质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(14):90-92.
- [2] 黄铭,黄冬梅. HPLC法测定抗菌消炎胶囊中黄芩苷的含量[J]. 中国民族民间医药,2010(19):31-32.
- [3] 潘成学,申小静,陈洪宝. 高效液相色谱法测定抗菌消炎胶囊中绿原酸的含量[J]. 中国药师,2006,9(2):148-149.
- [4] 陈健. HPLC法测定抗菌消炎胶囊中槲皮素和山柰素的含量[J]. 西北药学杂志,2016,31(4):383-385.

- [5] 赵吉平,刘爱萍. 抗菌消炎胶囊中土大黄苷的薄层鉴别及HPLC鉴别方法研究[J]. 中国药事,2012,26(6):620-622.
- [6] 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.
- [7] 黄兰芷,王曙宾. 连防感冒颗粒中防风薄层鉴别方法改进[J]. 中南药学,2007,5(2):149-150.
- [8] 胡曙晨,马雪红,李新霞,等. 肉桂子药材的薄层鉴别方法研究[J]. 西北药学杂志,2014,29(2):111-114.