

doi: 10. 11751/ISSN. 1002 - 1280. 2021. 1. 3

七星茶颗粒的薄层色谱鉴别研究

刘春蓉¹, 刘佳², 王亚芳^{2*}, 周艳飞², 钟昆芮², 巩浩², 杨彦平¹

(1 西安雨田农业科技有限公司, 西安 710075; 2 北京市兽药监察所, 北京 102629)

[收稿日期] 2020 - 07 - 13 [文献标识码] A [文章编号] 1002 - 1280 (2021) 01 - 0015 - 05 [中图分类号] S895. 3

[摘要] 建立控制七星茶颗粒中主要成分的薄层色谱鉴别方法。采用薄层色谱法对山楂、甘草、钩藤、薏苡仁进行定性鉴别, 更好的进行质量控制。所拟定的 TLC 色谱条件, 斑点分离效果佳, 稳定性和重现性良好, 专属性强, 阴性无干扰, 可用于产品的质量的控制。该方法定性明确可靠、操作简便、可供本品质量控制。

[关键词] 七星茶颗粒; 薄层色谱法; 山楂; 甘草; 钩藤; 薏苡仁

Study on Identification of Qixingcha Granules by TLC

LIU Chun - rong¹, LIU Jia², WANG Ya - fang^{2*}, ZHOU Yan - fei², ZHONG Kun - rui²,
GONG Hao², YANG Yan - ping¹

(1. Xi'an Rain Soil Technology, Xi'an 710075, China; 2. Beijing veterinary drug monitoring Institute, Beijing 102629, China)

Corresponding author: WANG Ya - fang, E - mail: wangyafang2002@aliyun.com

Abstract: To establish a thin layer chromatography of the main ingredient in Qixingcha Granules. The TLC method was used to identify hawthorn, glycyrrhiza, Gouteng and Yiyiren. The TLC spots were clear and reproducible, The method is simple, accurate and can be applied to the control of the products effectively.

Key words: Qixingcha Granules; TLC; hawthorn; glycyrrhiza; Gouteng; Yiyiren.

七星茶颗粒是由薏苡仁、稻芽、山楂、淡竹叶、钩藤、蝉蜕、甘草组方制成的中药颗粒剂, 具有开胃消滞、清热定惊的功效^[1], 为“小儿七星茶颗粒”^[2]人转兽产品, 原方收载于《中国药典》用于治疗小儿积滞化热, 消化不良, 不思饮食。研究表明其用于治疗积滞化热症仔猪的治疗具有可行性, 临床应用安全性好。经临床扩大试验, 证明在推荐剂量“每公斤饲料加入 4.0 g 七星茶颗粒, 连续用药 3 天”下可有效防治仔猪积滞化热证。按新兽药注册完成

技术评审(药学部分)并取得新兽药证书, 质量标准发布于中华人民共和国农业农村部公告第 253 号。

《中国药典》中“小儿七星茶颗粒”鉴别方法包含山楂、甘草两味药材的薄层鉴别, 本实验参考文献方法^[2~5]增加了薏苡仁、钩藤的薄层鉴别, 优化了山楂、甘草薄层鉴别条件, 方法更简便, 控制更全面, 是产品质量控制方法的有益补充。

1 材料

1.1 实验仪器及试剂 HZY - A100 电光分析天

作者简介: 刘春蓉, 从事兽药研究及质量控制。

通讯作者: 王亚芳。E - mail: wangyafang2002@aliyun.com

平(福州华志科学仪器有限公司);AUW220D 双量程电子天平(日本岛津);2F-2 三用紫外仪(上海安亭电子仪器厂);KQ2200 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);甲醇、乙醇、无水乙醇、乙酸乙酯、乙醚、三氯甲烷、石油醚、甲酸、醋酸、冰醋酸、氨水等均为分析纯、试验用水为纯化水;硅胶板自制。

1.2 对照药材 山楂对照药材(批号:121626-201402)、甘草对照药材(批号:120904-201212)、薏苡仁对照药材(批号:12154-2013)、钩藤对照药材(批号:121254-201301)均购自中国食品药品检定研究院。

1.3 样品 七星茶颗粒,每 1 g 相当于原生药 3.461 g;河北地邦动物保健科技有限公司中试生产,批号分别为 20140609、20140610、20140611。

2 鉴别方法及结果

2.1 山楂的鉴别

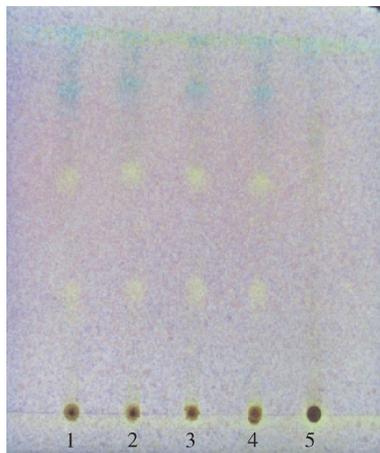
2.1.1 供试品溶液制备 取七星茶颗粒 7 g,研细,置锥形瓶中,加 2% 盐酸乙醇溶液 20 mL,浸渍 30 分钟,时时振摇,滤过,滤液蒸干,残渣加无水乙醇 5 mL 溶解,转移至离心管中,离心,取上清液,挥散至 1 mL,作为供试品溶液。

2.1.2 对照药材溶液制备 取山楂对照药材 1 g,加 2% 盐酸乙醇溶液 20 mL,超声 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加无水乙醇 5 mL 使溶解,转移至离心管中,离心,取上清液,挥散至 1 mL,作为对照药材溶液。

2.1.3 阴性对照溶液制备 取缺山楂的阴性样品,同供试品溶液制法操作,作为阴性对照溶液。

2.1.4 薄层条件及结果 吸取以上三种溶液各 6 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙醚-三氯甲烷-甲酸(5:5:1)为展开剂,展开,展距 8~10 cm,取出,晾干,在 105 $^{\circ}$ C 加热 15 min,趁热喷以溴酚蓝指示液。日光下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显两个相同的浅黄色斑点。阴性对照无干扰,结果见图 1。

2.1.5 重复性试验 吸取对照品溶液和供试品溶液各 6 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙醚



1 - 山楂对照药材;2 - 供试品 20140609;3 - 供试品 20140610;
4 - 供试品 20140611;5 - 阴性对照

1 - Hawthorn control; 2 - sample(Lots 20140609);
3 - sample(Lots 20140610); 4 - sample(Lots 20140611);
5 - Negative control solution

图 1 山楂的薄层色谱图

Fig 1 TLC of hawthorn

-三氯甲烷-甲酸(5:5:1)为展开剂,展开,三批供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显两个相同的浅黄色斑点,结果见图 2 展距 8~10 cm,取出,晾干,在 105 $^{\circ}$ C 加热 15 min,趁热喷以溴酚蓝指示液。日光下检视。

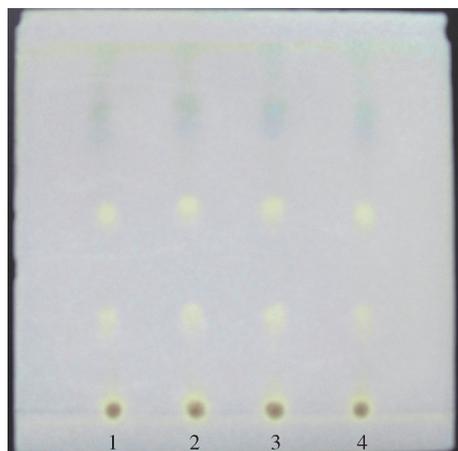
2.2 甘草的鉴别

2.2.1 供试品溶液制备 取七星茶颗粒 7 g,研细,加水 20 mL,温热使溶解,用乙酸乙酯振摇提取 2 次,每次 10 mL,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。

2.2.2 对照药材溶液制备 取甘草对照药材 0.2 g,加乙醚 20 mL,超声处理 30 min,滤过,弃去滤液,药渣加甲醇 10 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,用乙酸乙酯振摇提取 2 次,每次 10 mL,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液。

2.2.3 阴性对照溶液制备 取缺甘草药材的阴性样品,同供试品溶液制法操作,作为阴性对照溶液。

2.2.4 薄层条件及结果 吸取以上三种溶液各 4 μ L,分别点于同一 1% 氢氧化钠硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:1)为



1 - 山楂对照药材; 2 - 供试品 20140609;

3 - 供试品 20140610; 4 - 供试品 20140611

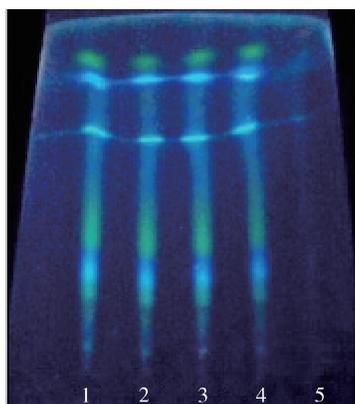
1 - Hawthorn control; 2 - sample(Lots 20140609);

3 - sample(Lots 20140610); 4 - sample(Lots 20140611)

图 2 山楂鉴别重复性试验

Fig 2 TLC of hawthorn

展开剂, 展开, 展距 16 ~ 20 cm, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 °C 加热至斑点显色清晰, 置紫外光灯(365 nm)下检视。三批供试品在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同的颜色的荧光斑点。阴性对照无干扰, 结果见图 3。



1 - 甘草对照药材; 2 - 供试品 20140609; 3 - 供试品 20140610;

4 - 供试品 20140611; 5 - 阴性对照

1 - Glycyrrhiza control; 2 - sample(Lots 20140609);

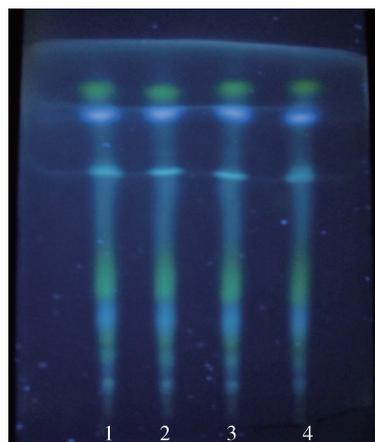
3 - sample(Lots 20140610); 4 - sample(Lots 20140611);

5 - Negative control solution

图 3 甘草的薄层色谱图

Fig 3 TLC of glycyrrhiza

2.2.5 重复性试验 吸取对照品溶液和供试品溶液各 4 μL, 分别点于同一 1% 氢氧化钠硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯 - 甲酸 - 冰醋酸 - 水(15:1:1:1) 为展开剂, 展开, 展距 16 ~ 20 cm, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 °C 加热至斑点显色清晰, 置紫外光灯(365 nm)下检视。三批供试品在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同的颜色的荧光斑点, 结果见图 4。



1 - 甘草对照药材; 2 - 供试品 20140609;

3 - 供试品 20140610; 4 - 供试品 20140611

1 - Glycyrrhiza control; 2 - sample(Lots 20140609);

3 - sample(Lots 20140610); 4 - sample(Lots 20140611)

图 4 甘草鉴别重复性试验

Fig 4 TLC of glycyrrhiza

2.3 钩藤的鉴别

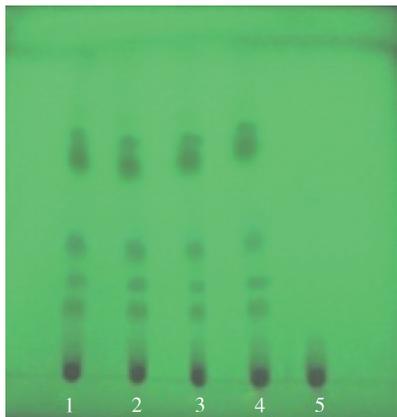
2.3.1 供试品溶液制备 取七星茶颗粒 10 g, 研细, 加水 30 mL, 温热使溶解, 用浓氨试液调节 pH 值至 9, 用三氯甲烷振摇提取 3 次, 每次 25 mL, 合并三氯甲烷液, 挥干, 残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。

2.3.2 对照药材溶液制备 取钩藤对照药材 1 g, 加浓氨试液 1 mL 润湿, 加三氯甲烷 20 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液用 3% 硫酸溶液振摇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并酸液, 用浓氨试液调节 pH 值至 9 ~ 10, 再用三氯甲烷振摇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并三氯甲烷液, 蒸干, 残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。

2.3.3 阴性对照溶液制备 取缺钩藤药材的阴性

样品,同供试品溶液制法操作,作为阴性对照溶液。

2.3.4 薄层条件及结果 吸取以上三种溶液各 15 μL,分别点于同一 GF₂₅₄ 薄层板上,以石油醚(60~90℃)-丙酮(6:4)为展开剂,展开,展距 8~10 cm。取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视,供试品色谱在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,结果见图 5。



1 - 钩藤对照药材;2 - 供试品 20140609;3 - 供试品 20140610;
4 - 供试品 20140611;5 - 阴性对照
1 - Gouteng control; 2 - sample(Lots 20140609);
3 - sample(Lots 20140610); 4 - sample(Lots 20140611);
5 - Negative control solution

图 5 钩藤的薄层色谱图

Fig 5 TLC of Gouteng

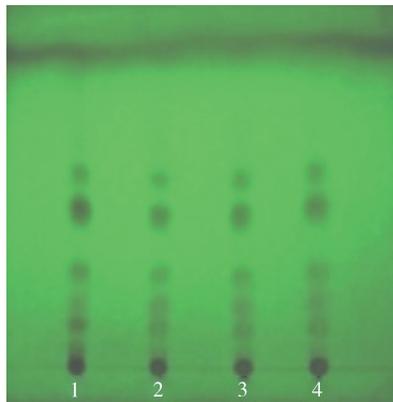
2.3.5 重复性试验 吸取对照品溶液和供试品溶液各 15 μL,分别点于同一 GF₂₅₄ 薄层板上,以石油醚(60~90℃)-丙酮(6:4)为展开剂,展开,展距 8~10 cm。取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视,供试品色谱在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,见图 6。

2.4 薏苡仁的鉴别

2.4.1 供试品溶液制备 取七星茶颗粒 5 g,研细,置分液漏斗中,加水 20 mL,摇匀,加乙酸乙酯振摇提取 2 次,每次 15 mL,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。

2.4.2 对照药材溶液制备 取薏苡仁对照药材 1 g,加乙酸乙酯 30 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液。

2.4.3 阴性对照溶液制备 取缺薏苡仁药材的阴



1 - 钩藤对照药材;2 - 供试品 20140609;
3 - 供试品 20140610;4 - 供试品 20140611
1 - Gouteng control; 2 - sample(Lots 20140609);
3 - sample(Lots 20140610); 4 - sample(Lots 20140611)

图 6 钩藤鉴别重复性试验

Fig 6 TLC of Gouteng

性样品,同供试品溶液制法操作,作为阴性对照溶液。

2.4.4 薄层条件及结果 吸取以上三种溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90℃)-乙醚-冰醋酸(83:17:0.5)为展开剂,展开,展距 8~10 cm,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,105℃加热至斑点显色清晰,在紫外光灯(365 nm)下检视,供试品色谱在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,结果见图 7。



1 - 薏苡仁对照药材;2 - 供试品 20140609;3 - 供试品 20140610;
4 - 供试品 20140611;5 - 阴性样品
1 - Yiyiren control; 2 - sample(Lots20140609);
3 - sample(Lots20140610); 4 - sample(Lots20140611);
5 - Negative control solution

图 7 薏苡仁的薄层色谱图

Fig 7 TLC of Yiyiren

2.4.5 重复性试验 吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60 ~ 90 $^{\circ}\text{C}$) - 乙醚 - 冰醋酸(83:17:0.5)为展开剂, 展开, 展距 8 ~ 10 cm, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰在紫外灯(365 nm)下检视, 供试品色谱在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 见图 8。



1 - 薏苡仁对照药材; 2 - 供试品 20140609;
3 - 供试品 20140610; 4 - 供试品 20140611
1 - Yiyiren control; 2 - sample (Lots 20140609);
3 - sample (Lots 20140610); 4 - sample (Lots 20140611)

图 8 薏苡仁鉴别重复性试验

Fig 8 TLC of Yiyiren

3 讨论与结论

七星茶颗粒处方来源于人药《中国药典》中“小儿七星茶颗粒”, 是由薏苡仁、稻芽、山楂、淡竹叶、钩藤、蝉蜕、甘草七味药材提取精制制成的中药颗粒剂。《中国药典》“小儿七星茶颗粒”对山楂和甘草进行了薄层色谱鉴别。

研究增加了钩藤的薄层鉴别方法。对展开剂进行了优化研究, 参照《中国药典》^[2] 2010 增补版“小儿七星茶口服液”方法展开剂为石油醚(60 ~ 90 $^{\circ}\text{C}$) - 三氯甲烷(3:7), 其中的三氯甲烷有蓄积毒性, 对人体危害较大, 研究中将其更换为丙酮, 调

整为石油醚(60 ~ 90 $^{\circ}\text{C}$) - 丙酮(6:4), 结果显示钩藤对照药材及供试品色谱中各对应斑点分离度好, 斑点圆整、无拖尾, 达到了满意的分析效果。

研究通过薄层色谱法对山楂、甘草、钩藤、薏苡仁四味药材进行了定性鉴别, 结果表明, 所拟定的 TLC 色谱条件, 分离效果佳, 稳定性和重现性良好, 专属性强, 阴性无干扰, 可用于产品的质量

参考文献:

- [1] 张淳, 胡思源, 成金乐, 等. 小儿七星茶口服液与保和口服液对照治疗小儿积滞乳食内积证的临床研究[J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(12): 2621 - 2624.
Zhang Ch, Hu S Y, Cheng J L, et al. Clinical Research of Xiao'er Qixingcha Oral Liquid Treating Pediatric Stagnation Food Accumulation Syndrome Controlled with Baohe Oral Liquid[J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014, 41(12): 2621 - 2624.
- [2] 中华人民共和国药典(2010年版一部). [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
Chinese Pharmacopoeia (Part 1) 2015 edition [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010.
- [3] 中国兽药典委员会. 《中华人民共和国兽药典(二部)》2015年版[S].
People's Republic of China veterinary pharmacopoeia, Chinese Veterinary Pharmacopoeia Commission (Part 2) 2015 edition [S].
- [4] 杜利云, 却翎, 莫亚雄. 清肠通便胶囊的薄层色谱鉴别[J]. 云南中医中药杂志, 2008(04): 45 - 46.
Du L Y, Que L, Mo Y X. TLC Identification of Qingchang Tongbian Capsules [J]. Yunnan Journal of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2008(04): 45 - 46.
- [5] 崔东焕, 南善姬, 崔龙哲. 风痛安胶囊的薄层色谱定性鉴别[J]. 中国药业, 2008(16): 42 - 43.
Cui D H, Nan S J, Cui L Z. Qualitative Identification of Fengtongan Capsules by Thin Layer Chromatography [J]. China Pharmaceuticals, 2008(16): 42 - 43.

(编辑: 陈希)