

萆薢配方颗粒薄层鉴别方法

本申请要求于 2023 年 07 月 04 日提交中国专利局、申请号为 202310812079.7、发明名称为“萆薢配方颗粒薄层鉴别方法”的中国专利申请 5 的优先权，其全部内容通过引用结合在本申请中。

技术领域

本发明涉及分析检测技术领域，尤其是涉及一种萆薢配方颗粒薄层鉴别方法。

背景技术

10 萆薢为百合科菝葜属植物黑果菝葜 *Smilax glauco-china* Warb 或长托菝葜 *Smilax ferox* Wall.ex Kunth 的干燥根茎。具有祛风利湿，解毒散肿的功效。用于风湿痹痛，关节不利，腰背疼痛，疮痈，皮肤风癣，痢疾等。

国家药品监督管理局公布的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求（征求意见稿）》规定中药配方颗粒所使用的原药材应固定基原。性状鉴别是鉴别二者的有效方法，配方颗粒是药材经炮制、煎煮、浓缩、干燥、总混、制粒工艺制成，煎煮后会破坏药材原有的性状特征，性状鉴别 15 方法并不适用配方颗粒的鉴别。

目前并无有效的方法能够鉴别萆薢（黑果菝葜）、萆薢（长托菝葜）配方颗粒，故则待建立一种能够将萆薢（黑果菝葜）、萆薢（长托菝葜） 20 配方颗粒进行区别的方法。

发明内容

有鉴于此，本发明要解决的技术问题在于提供萆薢配方颗粒薄层鉴别方法。

本文术语“包括”、“包含”和“具有”之间可互换使用，旨在表示方案的 25 包含性，意味着所述方案可存在除所列出的元素之外的其他元素。同时应当理解，在本文中使用“包括”、“包含”和“具有”描述，也提供“由……组成”方案。

本申请中，术语“和/或”，描述关联对象的关联关系，表示可以存在三种关系，例如，A 和/或 B，可以表示：单独存在 A，同时存在 A 和 B，

单独存在 B 的情况。其中 A,B 可以是单数或者复数。

本申请中,“至少一个”是指一个或者多个,“多个”是指两个或两个以上。“以下至少一项(个)”或其类似表达,是指的这些项中的任意组合,包括单项(个)或复数项(个)的任意组合。

5 应理解,在本申请的各种实施例中,下述各过程的序号的大小并不意味着执行顺序的先后,部分或全部步骤可以并行执行或先后执行,各过程的执行顺序应以其功能和内在逻辑确定,而不对本申请实施例的实施过程构成任何限定。

本发明旨在建立葶藶(黑果蒺藜)、葶藶(长托蒺藜)配方颗粒薄层
10 鉴别色谱方法,通过观察供试品薄层色谱图谱在某一比移值范围内是否存在荧光斑点,作为鉴别点,用于快速、有效鉴别葶藶(黑果蒺藜)、葶藶(长托蒺藜)配方颗粒。

本发明提供了一种葶藶配方颗粒薄层鉴别方法,包括:

A)取待测样品,溶剂溶解,得到供试品溶液;所述待测样品为黑果
15 蒺藜配方颗粒或长托蒺藜配方颗粒;

B)取白藜芦醇对照品,加溶剂溶解,得到对照品溶液;

C)取长托蒺藜对照药材,溶剂溶解,得到对照药材溶液;

D)将供试品溶液、对照品溶液和对照药材溶液进行薄层色谱检测,
薄层板为硅胶 G 薄层板;展开剂为甲苯-乙酸乙酯-甲酸;

20 E)置紫外光灯下检视,若供试品色谱中,若在 Rf 值为 $0.829 \pm 10\%$ 处有蓝色荧光斑点,则为长托蒺藜;若在 Rf 值为 $0.829 \pm 10\%$ 处无蓝色荧光斑点,则为黑果蒺藜。

本发明提供的葶藶配方颗粒薄层鉴别方法首先取待测样品,溶剂溶解,得到供试品溶液。

25 本发明所述步骤 A)具体为:取待测样品研磨后,采用甲醇超声提取,过滤,得到供试品溶液。

具体的,所述待测样品和甲醇的质量体积比为: 1g: 5-15mL。

所述超声的时间为 10~20min。

取白藜芦醇对照品,加溶剂溶解,得到对照品溶液。所述白藜芦醇对

照品的质量浓度为 0.1-2.0mg/mL。

取长托菝葜对照药材，溶剂溶解，得到对照药材溶液。

本发明优选具体为：

取长托菝葜对照药材加水煎煮后，再加入甲醇提取，超声，过滤，即
5 得；

具体的，所述长托菝葜对照药材、水和甲醇的质量比为
1g:10~20mL: 5~10mL。

将供试品溶液、对照品溶液和对照药材溶液进行薄层色谱检测。

优选为：吸取供试品溶液，对照品溶液，对照药材溶液，分别点于同
10 一硅胶 G 薄层板上，以展开剂展开，取出，晾干，紫外光灯下检视。所
述紫外光波长为 365nm。

按照本发明，展开剂为甲苯-乙酸乙酯-甲酸；

在本发明其中一部分优选实施方式中，所述甲苯-乙酸乙酯-甲酸的质量
15 比为 4:3:0.2。

本发明所述薄层板为硅胶 G 薄层板。可以选自天津思利达科技有限
公司可剪裁型薄层层析板，默克，青岛海洋化工厂分厂预制硅胶 G 板。
结果表明，该方法耐用性良好，均能达到鉴别要求。且在比移值（Rf）为
0.885、0.800、0.833 处萆薢（长托菝葜）颗粒呈荧光斑点，而萆薢（黑果
菝葜）颗粒无斑点，用以区分萆薢（长托菝葜）颗粒与萆薢（黑果菝葜）
20 颗粒。

置紫外光灯下检视，若供试品色谱中，若在 Rf 值为 $0.829 \pm 10\%$ 处有
蓝色荧光斑点，则为长托菝葜；若在 Rf 值为 $0.829 \pm 10\%$ 处无蓝色荧光斑
点，则为黑果菝葜。

其中所述 Rf 值为 $0.829 \pm 10\%$ ；优选的，所述 Rf 值为 0.747~0.885。
25 具体可以为 0.747、0.778、0.766、0.800、0.833、0.856、0.875、0.883、
0.885。

本发明所述薄层色谱点样量为 5~15 μ L。

本发明检视温度为 4°C~25°C。本发明的方法对不同温度的适应性较
好，且在比移值 0.856、0.875 处萆薢（长托菝葜）颗粒呈荧光斑点，而萆

藓（黑果菝葜）颗粒无斑点，用以区分藓（长托菝葜）颗粒与藓（黑果菝葜）颗粒。

本发明所述检视湿度为 32%rh~75%rh。本发明的方法对不同湿度的适应性较好，且在比移值（Rf）0.883、0.862 处藓（长托菝葜）颗粒呈
5 荧光斑点，而藓（黑果菝葜）颗粒无斑点，用以区分藓（长托菝葜）颗粒与藓（黑果菝葜）颗粒。

所述待测样品为黑果菝葜配方颗粒或长托菝葜配方颗粒。

本发明提供了一种藓配方颗粒薄层鉴别方法，包括：A)取待测样品，溶剂溶解，得到供试品溶液；所述待测样品为黑果菝葜配方颗粒或长
10 托菝葜配方颗粒；B)取白藜芦醇对照品，加溶剂溶解，得到对照品溶液；C)取长托菝葜对照药材，溶剂溶解，得到对照药材溶液；D)将供试品溶液、对照品溶液和对照药材溶液进行薄层色谱检测，薄层板为硅胶 G 薄层板；展开剂为甲苯-乙酸乙酯-甲酸；E)置紫外光灯下检视，若供试品
15 色谱中，若在 Rf 值为 0.829±10%处有蓝色荧光斑点，则为长托菝葜；若在 Rf 值为 0.829±10%处无蓝色荧光斑点，则为黑果菝葜。本发明建立的藓配方颗粒薄层鉴别色谱方法，通过观察薄层色谱图谱在指定比移值范围内是否存在荧光斑点，作为鉴别点，用以快速、有效鉴别藓配方颗粒。

本发明薄层鉴别方法，通过供试品薄层色谱与长托菝葜对照药材薄层
20 色谱相比，与对照药材斑点一致则为藓（长托菝葜）颗粒；与对照药材在比移值在 0.747~0.885 处相同位置，无绿色荧光斑点则为藓（黑果菝葜）颗粒。

本发明公开了藓（长托菝葜）颗粒、藓（黑果菝葜）颗粒的薄层鉴别方法构建及应用，本方法稳定性好、精密度高、重现性好、便捷且易
25 于掌握。

附图说明

图 1 点样量考察；

图 2 专属性考察；

图 3 为不同薄层板考察-天津思利达；

- 图 4 不同薄层板考察-默克;
图 5 不同薄层板考察-青岛海洋;
图 6 不同温度-4°C;
图 7 不同温度-25°C;
5 图 8 不同湿度-32%;
图 9 不同湿度-75%;
图 10 多批次验证;
图 11 为对比例 1 的方法结果图;
图 12 为对比例 2 的方法结果图;
10 图 13 为本发明对比例 3 的方法结果图;
图 14 为本发明对比例 4 的方法结果图。

具体实施方式

为了进一步说明本发明,以下结合实施例对本发明提供的一种贯众药材、饮片、标准汤剂、配方颗粒 UPLC 特征图谱构建方法进行详细描述。
15 加热板、研钵、薄层成像系统: CAMAG TLC Visualizer、硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂;天津思利达科技有限公司;默克)
甲醇、甲苯、乙酸乙酯、甲酸均为分析纯,水为超纯水(实验室自制)。
白黎芦醇(中国食品药品检定研究院,批号:111535-201703,含量以 99.4%计),长托菝葜对照药材(四川省维克奇生物科技有限公司,批
20 号:ycwkq22022805),萆薢(长托菝葜)配方颗粒,批号:2211074、2211075、2211076、2211077,萆薢(黑果菝葜)配方颗粒,批号:2212082、2212083、2212084、2212085。

实施例 1

取本品粉末 1g,研细,加甲醇 10ml,超声 20min,滤过,取滤液作
25 为供试品溶液。取对照药材 1g,加水 20ml,煎煮半小时,滤过、蒸干,加甲醇 10ml,超声 20min,滤过,取滤液作为对照药材溶液。另取白黎芦醇对照品,加甲醇制成每 1ml 含 0.2mg 的对照品溶液。

照薄层色谱法(通则 0502)试验,吸取上述两种溶液各 15μl,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(4:3:0.2)为展开剂,

展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与白黎芦醇对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

实施例2 方法学考察

2.1 点样量考察

5 在以上拟定的实验条件下,分别取白黎芦醇对照品溶液和菝葜供试品溶液各5 μ l、10 μ l、15 μ l点在同一硅胶G薄层板上,结果见图1,当对照药材溶液点样5-15 μ l,供试品溶液点样5-15 μ l时,均可达到理想效果。且在比移值(Rf)0.747处菝葜(长托菝葜)颗粒呈荧光斑点,而菝葜(黑果菝葜)颗粒无斑点,用以区分菝葜(长托菝葜)颗粒与菝葜(黑果菝葜)颗粒。

10 图1点样量考察。注:1~3为白黎芦醇,点样量依次为5 μ l,10 μ l,15 μ l;4~6为菝葜(长托菝葜)对照药材,点样量依次为5 μ l,10 μ l,15 μ l;7~9为菝葜(长托菝葜)颗粒(2211074),点样量依次为5 μ l,10 μ l,15 μ l;10~12为菝葜(黑果菝葜)颗粒(2212082),点样量依次为5 μ l,10 μ l,15 μ l。

2.2 专属性考察

按照以上供试品制备方法分别制备白黎芦醇对照品溶液、对照药材溶液、菝葜(长托菝葜)颗粒供试品溶液、菝葜(黑果菝葜)颗粒供试品溶液、阴性溶液,进行薄层鉴别实验,结果见图2,阴性样品对白黎芦醇、菝葜(长托菝葜)颗粒供试品溶液、菝葜(黑果菝葜)颗粒供试品溶液无干扰,该方法专属性较好。且在比移值(Rf)0.788处菝葜(长托菝葜)颗粒呈荧光斑点,而菝葜(黑果菝葜)颗粒无斑点,用以区分菝葜(长托菝葜)颗粒与菝葜(黑果菝葜)颗粒。

25 图2专属性考察。注:1为阴性对照;2为白黎芦醇;3为长托菝葜对照药材;4为菝葜(长托菝葜)颗粒(2211074);5为菝葜(黑果菝葜)颗粒(2212082)。

2.3 耐用性的考察

2.3.1 不同薄层板的比较

选取天津思利达科技有限公司可剪裁型薄层层析板,默克,青岛海洋

化工厂分厂预制硅胶 G 板，分别按拟定的试验方法进行试验，见图 3~5。结果表明，该方法耐用性良好，均能达到鉴别要求。且在比移值 (Rf) 为 0.885、0.800、0.833 处萆薢 (长托菝葜) 颗粒呈荧光斑点，而萆薢 (黑果菝葜) 颗粒无斑点，用以区分萆薢 (长托菝葜) 颗粒与萆薢 (黑果菝葜) 颗粒。

结果如图 3，图 3 为不同薄层板考察-天津思利达。注：1 为白黎芦醇；2 为长托菝葜对照药材；3 为萆薢 (长托菝葜) 颗粒 (2211074)；4 为萆薢 (黑果菝葜) 颗粒 (2212082)。图 4 不同薄层板考察-默克注：1 为白黎芦醇；2 为长托菝葜对照药材；3 为萆薢 (长托菝葜) 颗粒 (2211074)；4 为萆薢 (黑果菝葜) 颗粒 (2212082)。图 5 不同薄层板考察-青岛海洋，注：1 为白黎芦醇；2 为长托菝葜对照药材；3 为萆薢 (长托菝葜) 颗粒 (2211074)；4 为萆薢 (黑果菝葜) 颗粒 (2212082)。

2.3.2 不同温度的比较

取点样后的薄层板，分别在低温 4℃和常温 25℃的温度环境下进行展开。由图 6~7 可看出，该方法对不同温度的耐用性较好。且在比移值 0.856、0.875 处萆薢 (长托菝葜) 颗粒呈荧光斑点，而萆薢 (黑果菝葜) 颗粒无斑点，用以区分萆薢 (长托菝葜) 颗粒与萆薢 (黑果菝葜) 颗粒。图 6 不同温度-4℃。注：1 为白黎芦醇；2 为长托菝葜对照药材；3 为萆薢 (长托菝葜) 颗粒 (2211074)；4 为萆薢 (黑果菝葜) 颗粒 (2212082)。图 7 不同温度-25℃，注：1 为白黎芦醇；2 为长托菝葜对照药材；3 为萆薢 (长托菝葜) 颗粒 (2211074)；4 为萆薢 (黑果菝葜) 颗粒 (2212082)。

2.3.3 不同湿度的比较

取点样后的薄层板，分别在 32%和 75%的湿度环境下进行展开，见图 8~9 由图可看出，该方法对不同湿度的适应性较好。且在比移值 (Rf) 0.883、0.862 处萆薢 (长托菝葜) 颗粒呈荧光斑点，而萆薢 (黑果菝葜) 颗粒无斑点，用以区分萆薢 (长托菝葜) 颗粒与萆薢 (黑果菝葜) 颗粒。

图 8 不同湿度-32%，注：1 为白黎芦醇；2 为长托菝葜对照药材；3 为萆薢 (长托菝葜) 颗粒 (2211074)；4 为萆薢 (黑果菝葜) 颗粒 (2212082)。

图 9 不同湿度-75%，注：1 为白黎芦醇；2 为长托菝葜对照药材；3

为葶藶（长托菝葜）颗粒（2211074）；4为葶藶（黑果菝葜）。

2.3.4 验证

取4批长托菝葜、4批黑果菝葜供试品进行薄层鉴别验证，结果见图10，结果表明，发明建立的方法能够准确区别葶藶（长托菝葜）颗粒、葶藶（黑果菝葜）颗粒。比移值（Rf）为0.776葶藶（长托菝葜）颗粒有一明显的蓝色斑点，可利用该荧光斑点对二者进行区分。

图10 多批次验证。注：1为白黎芦醇；2为长托菝葜对照药材；3-6为葶藶（长托菝葜）颗粒（2211074、2211075、2211076、2211077）；7-10为葶藶（黑果菝葜）颗粒（2212082、2212083、2212084、2212085）。

2.4 葶藶（长托菝葜）配方颗粒、葶藶（黑果菝葜）配方颗粒鉴别点Rf确定。

将薄层色谱方法学考察中各项比移值数据汇总，结果见表1。根据汇总结果，确定葶藶（长托菝葜）颗粒、葶藶（黑果菝葜）颗粒鉴别斑点比移值（Rf）应在10%范围内，规定值为0.829。

表1 方法学考察比移值汇总

项目	比移值	平均值	RSD%
点样量	0.747		
专属性	0.778		
思利达薄层板	0.885		
默克薄层板	0.800		
海洋薄层板	0.833	0.829	6.25
不同温度-4	0.856		
不同温度-25	0.875		
不同湿度-32%	0.883		
不同湿度-51%	0.862		

多批次验证

0.766

对比例 1

取本品颗粒 2g，加甲醇 50ml，加热回流 1 小时，滤过，滤液蒸干，残渣加水 25ml 使溶解，用乙醚 25ml 洗涤，弃去乙醚液，水液加盐酸 2ml，
5 加热回流 1.5 小时，放冷，用乙醚振摇提取 2 次，每次 25ml，合并乙醚液，挥干，残渣加三氯甲烷 1ml 使溶解，作为供试品溶液。另取萆薢药材 5g，加水 50ml，煮沸 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 50ml，同法制成药材对照溶液。照《薄层色谱法操作规程》（XLS-09-OP-2897）试验，吸取上述两种溶液各 5 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯
10 甲烷-丙酮（9：1）为展开剂，预平衡 30 分钟，展开，取出，晾干，喷以 10%磷钼酸乙醇溶液，在 105℃加热至斑点显色清晰，置日光下检视，供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

图 11 为对比例 1 的方法结果图。注：1、3 长托菝葜对照药材溶液；2 为萆薢（长托菝葜）颗粒溶液；4 为萆薢（黑果菝葜）颗粒溶液。结果
15 表明，采用上述薄层鉴别方法，萆薢（黑果菝葜）、萆薢（长托菝葜）颗粒无明显荧光斑点，不能将二者进行鉴别。

对比例 2

取本品粉末 1g 加正丁醇 10ml、超声 20min，滤过，取滤液作为供试品溶液。照薄层色谱法（通则 0502）试验，吸取上述两种溶液各 15 μ l，
20 分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以甲苯-乙酸乙酯-甲酸（4:3:0.2）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

图 12 为对比例 2 的方法结果图。注：1、3 长托菝葜对照药材溶液；2 为萆薢（长托菝葜）颗粒溶液；4 为萆薢（黑果菝葜）颗粒溶液。
25 结果表明，采用上述薄层鉴别方法，萆薢（黑果菝葜）颗粒、萆薢（长托菝葜）颗粒无明显差异，不能将二者进行区分。

对比例 3

取本品粉末 1g，研细，加甲醇 10ml，超声 20min，滤过，取滤液作为供试品溶液。取对照药材 1g，加水 20ml，煎煮半小时，滤过、蒸干，加甲醇 10ml，超声 20min，滤过，取滤液作为对照药材溶液。

照薄层色谱法（通则 0502）试验，吸取上述两种溶液各 15 μ l，分别
5 点于同一硅胶 G 薄层板上，以石油醚-乙酸乙酯（17:3）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

图 13 为本发明对比例 3 的方法结果图。其中，1、3 长托菝葜对照药材溶液；2 为萆薢（长托菝葜）颗粒溶液；4 为萆薢（黑果菝葜）颗粒溶
10 液。

结果表明，采用上述薄层鉴别方法，萆薢（长托菝葜）颗粒与萆薢（黑果菝葜）颗粒斑点无明显差异，不能将二者进行鉴别。

对比例 4

取本品粉末 1g，研细，加甲醇 10ml，超声 20min，滤过，取滤液作为供试品溶液。取对照药材 1g，加水 20ml，煎煮半小时，滤过、蒸干，
15 加甲醇 10ml，超声 20min，滤过，取滤液作为对照药材溶液。

照薄层色谱法（通则 0502）试验，吸取上述两种溶液各 15 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-丙酮（10:0.3）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，与对照药材
20 色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

图 14 为本发明对比例 4 的方法结果图。1、3 长托菝葜对照药材溶液；2 为萆薢（长托菝葜）颗粒溶液；4 为萆薢（黑果菝葜）颗粒溶液。

以上所述仅是本发明的优选实施方式，应当指出，对于本技术领域的
25 普通技术人员来说，在不脱离本发明原理的前提下，还可以做出若干改进和润饰，这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

权 利 要 求

- 1、一种葶藶配方颗粒薄层鉴别方法，包括：
 - A)取待测样品，溶剂溶解，得到供试品溶液；所述待测样品为黑果
5 菝葜配方颗粒或长托菝葜配方颗粒；
 - B)取白藜芦醇对照品，加溶剂溶解，得到对照品溶液；
 - C)取长托菝葜对照药材，溶剂溶解，得到对照药材溶液；
 - D)将供试品溶液、对照品溶液和对照药材溶液进行薄层色谱检测，
薄层板为硅胶 G 薄层板；展开剂为甲苯-乙酸乙酯-甲酸；
 - 10 E)置紫外光灯下检视，若供试品色谱中，若在 Rf 值为 $0.829 \pm 10\%$
处有蓝色荧光斑点，则为长托菝葜；若在 Rf 值为 $0.829 \pm 10\%$ 处无蓝色荧
光斑点，则为黑果菝葜。
- 2、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述步骤 A) 具体为：
取待测样品加入甲醇，超声，得到供试品溶液；所述超声时间为 10~20min；
15 所述待测样品和甲醇的质量体积比为：1g: 5-15mL。
- 3、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，步骤 B) 所述溶剂为
甲醇；所述白藜芦醇对照品的质量浓度为 0.1-2.0mg/mL。
- 4、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述步骤 C) 具体为：
取长托菝葜对照药材加水煎煮后，再加入甲醇提取，超声，过滤，即
20 得；
所述长托菝葜对照药材、水和甲醇的质量比为 1g:10~20mL: 5~10mL。
- 5、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述薄层色谱点样量
为 5~15 μ L。
- 6、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，步骤 D) 所述甲苯-
25 乙酸乙酯-甲酸的质量比为 4:3:0.2。
- 7、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，步骤 E) 所述紫外光
波长为 365nm。
- 8、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，步骤 E) 检视温度为
4°C~25°C。

9、根据权利要求 8 所述的方法，其特征在于，步骤 E) 所述檢視湿度为 32%rh~75%rh。

10、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述 Rf 值为 0.747~0.885。