

# TLC法快速筛选抗风湿类中成药中的化学药品

邓树勇, 马启龙, 燕, 朱莉明

(宁夏回族自治区固原市药品检验所, 固原 756000)

**摘要** 目的: 建立抗风湿类中成药制剂非法添加化学药品的快速检测方法。方法: 采用 TLC法进行初步筛选。结果: 筛选出的阳性样品经确认为非法添加化学药品。结论: 本方法具有良好的灵敏度和专属性, 能对抗风湿类中成药非法添加化学药品进行快速筛选。

**关键词:** TLC法; 快速筛选; 抗风湿类中成药; 非法添加; 化学药品

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)10-1719-03

## Rapid screening of TLC antirheumatic traditional Chinese medicines of add chemicals

DENG Shu-yong MA Qi-long DING Yan ZHU Li-ming

(Ningxia Hui Autonomous Region Guyuan Institute for Drug Control Guyuan 756000 China)

**Abstract Objective** To establish a TLC rapid screening method for antirheumatic traditional Chinese medicine with illegally added chemicals **Methods** Using TLC method to conduct the preliminary screening **Results** The positive sample sieved out is confirmed to be illicitly added chemicals **Conclusion** This method has good sensitivity and specificity, and can screen the type of Antirheumatic traditional Chinese medicines with illicitly added chemicals rapidly.

**Key words** TLC; rapid screening; antirheumatic traditional Chinese medicines; chemicals

风湿性疾病是以关节、肌肉、软组织、神经等疼痛为主要症状, 病程多呈慢性, 甚至终生, 病程多有反复发作, 对症治疗的主要药物是甾体类和非甾体类抗炎药。但这些药物长期大量服用大都有严重不良反应。甾体类药物可引起肾上腺皮质功能亢进症、诱发加重感染和消化系统损害; 非甾体类可引起消化系统、造血系统、中枢系统等损害, 因此患者多选择药性温和的中成药来治疗风湿病, 但不法厂商为增加产品疗效, 非法添加甾体类和非甾体类化学药品。

有文献报道确认中成药非法添加化学药品的 HPLC和 LC-MS检测方法<sup>[1~4]</sup>, 而抗风湿类中成药非法添加化学药品的快速筛选方法未见有报道, 本文采用 TLC法建立对抗风湿类中成药可能添加的甾体类和非甾体类化学药品进行快速筛选, 为打击制售这类假劣药品提供技术支持, 也可运用于药品检测车。

### 1 仪器与试药

ZF-2型三用紫外仪(上海市安亭电子仪器厂); 硅胶 GF 254薄层层析板(青岛海洋化工厂); 双氯芬酸钠对照品(批号: 100334-200302); 吡罗昔康对照品(批号: 0177-9802); 吲哚美辛对照品(批号: 100258-200403); 萘普生对照品(批号: 10198-0002); 布洛芬对照品(批号: 0179-9702); 醋酸地塞米松对照品(批号: 0122-9403); 醋酸泼尼松对照品(批号: 012-9204); 保泰松对照品(批号: 100481-200601); 甲芬那酸对照品(批号: 100190-200402)(以上由中国药品生物制品检定所提供)。二氯甲烷、氯仿、乙醚、甲醇、乙酸乙酯、乙酸均为分析纯。供试品风湿定片、风湿痹康胶囊等 12品种 34批次均在市场购买。

### 2 方法

#### 2.1 溶液制备

供试品溶液: 取一次口服用量的胶囊剂内容物、

片剂或颗粒剂, 研细, 加氯仿-甲醇(8:2)溶液 10 mL, 振摇 5 min, 滤过, 取滤液作为供试品溶液。

对照品溶液: 各取上述 9 种对照品适量, 加氯仿-甲醇(8:2)溶液溶解并稀释成各含  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液。

## 2.2 薄层色谱条件<sup>[5]</sup>

方法 A: 硅胶 GF 254 薄层层析板; 氯仿-乙酸乙酯-乙酸(30:10:0.5); 点样量: 5  $\mu\text{L}$ ; 室温。分别吸取供试品溶液和对照品溶液各 5  $\mu\text{L}$ , 点于同一硅胶 GF 254 薄层板上, 以氯仿-乙酸乙酯-乙酸(30:10:0.5)为展开剂, 展开后, 晾干, 分别置 254 nm 和 365 nm 紫外光下检视。

方法 B: 硅胶 GF254 薄层层析板; 二氯甲烷-乙醚-甲醇-水(385:60:15:2); 点样量: 5  $\mu\text{L}$ ; 室温。分别吸取供试品溶液和双氯芬酸钠、萘普生、吡罗昔康、吲哚美辛 4 种对照品溶液各 5  $\mu\text{L}$ , 点于同一硅胶 GF254 薄层板上, 以二氯甲烷-乙醚-甲醇-水(385:60:15:2)为展开剂展开, 晾干, 置 254 nm 紫外光下检视。

## 2.3 最低检出限测定

取以上 9 种对照品, 用氯仿-甲醇(8:2)溶液分别配制成各含 10, 1.0, 0.1, 0.01  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 不同浓度的溶液, 按“2.2”项下方法 A 检测, 最低检出限结果: 布洛芬为  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 保泰松为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 其他 7 种对照品均为  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

## 2.4 对照品的 TLC 色谱

取上述对照品溶液各 5  $\mu\text{L}$ , 点于同一硅胶 GF 254 薄层板上, 按“2.2”项下方法 A 展开。在 365 nm 紫外光下, 吡罗昔康和吲哚美辛有黄色荧光, 甲芬那酸有蓝色荧光。不同人员测试 4 次, 计算各对照品的  $R_f$  值, 结果见图 1 表 1。

表 1 对照品的  $R_f$  值

Tab 1  $R_f$  of reference substances

对照品 (reference substance)	1	2	3	4	平均 (average)
双氯芬酸钠 (diclofenac sodium)	0.65	0.69	0.67	0.67	0.67
吡罗昔康 (piroxicam)	0.55	0.59	0.51	0.53	0.55
吲哚美辛 (indomethacin)	0.53	0.55	0.50	0.55	0.53
萘普生 (naproxen)	0.69	0.69	0.63	0.64	0.66
布洛芬 (ibuprofen)	0.81	0.79	0.80	0.77	0.79
醋酸地塞米松 (dexamethasone acetate)	0.26	0.31	0.24	0.27	0.27
醋酸泼尼松 (prednisone acetate)	0.20	0.26	0.21	0.21	0.32
保泰松 (phenylbutazone)	0.91	0.91	0.87	0.76	0.86
甲芬那酸 (mefenamic acid)	0.86	0.87	0.86	0.79	0.84

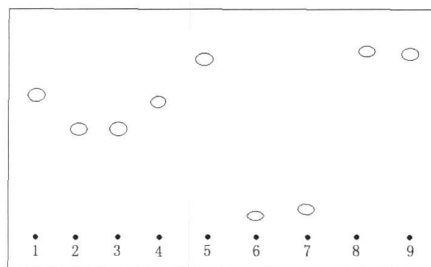


图 1 对照品 TLC 图

Fig 1 TLC chromatography of reference substances

- 1 双氯芬酸钠 (diclofenac sodium)
- 2 吡罗昔康 (piroxicam)
- 3 吲哚美辛 (indomethacin)
- 4 萘普生 (naproxen)
- 5 布洛芬 (ibuprofen)
- 6 醋酸地塞米松 (dexamethasone acetate)
- 7 醋酸强的松 (prednisone acetate)
- 8 保泰松 (phenylbutazone)
- 9 甲芬那酸 (mefenamic acid)

结果表明, 上述 9 种对照品的  $R_f$  值均在 0.2~0.9 之间, 按本方法检测均能够展开, 但存在多组对照品的  $R_f$  值相近的现象 (双氯芬酸钠与萘普生、吡罗昔康与吲哚美辛、保泰松与甲芬那酸的  $R_f$  值相近), 不能在本法中区别开, 其中, 甲芬那酸在 365 nm 紫外光下有蓝色荧光可与保泰松互相鉴别。双氯芬酸钠与萘普生、吡罗昔康与吲哚美辛按“2.2”项下方法 B 进一步鉴别。结果双氯芬酸钠与萘普生、吡罗昔康与吲哚美辛相能相互区分, 如图 2。

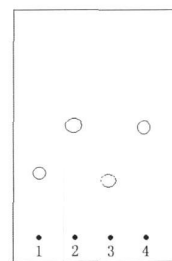


图 2 方法 B TLC 图

Fig 2 TLC chromatography of the method B

1. 双氯芬酸钠 (diclofenac sodium)
2. 萘普生 (naproxen)
3. 吡罗昔康 (piroxicam)
4. 吲哚美辛 (indomethacin)

## 2.5 样品测定及判定方法

取供试品溶液和对照品溶液各 5  $\mu\text{L}$ , 点于同一硅胶 GF 254 薄层板上, 以氯仿-乙酸乙酯-乙酸(30:10:0.5)为展开剂, 展开后, 晾干, 分别置 254 nm 和 365 nm 紫外光下检视。如供试品溶液所显的斑点的颜色和位置与对照品溶液所显的颜色和位置一致时, 提示该样品可能添加了相应对照品中的化学药品, 可更进一步进行高效液相、液-质联用等方法确证; 无相应斑点时, 表明该样品未添加相应对照品中的化学药品。

### 3 结果与讨论

**3.1** 我们使用此方法对 12 种 34 批次的抗风湿类中成药进行检测, 结果表明, 未添加上述对照品的中成药的薄层色谱中在与对照品相应位置均未出现斑点, 而发现 2 批供试品溶液中出现与对照品溶液所显斑点的位置和颜色一致, 通过高效液相检测, 与怀疑添加药品的对照品保留时间一致。样品送中国药品生物制品检定所通过液-质联用检测, 确定该供试品添加双氯芬酸钠。说明该法专属性强, 能快速筛选非法添加药品, 为打击制售假劣药品提供技术支持。

**3.2** 在方法学研究中, 考虑到不法分子可能添加的化学药品是甾体类和非甾体类抗炎止痛药, 并且添加药品价格相对比较便宜, 因此, 我们选用了甾体类 2 种、非甾体类 7 种的对照品, 经采用不同的展开系统进行展开, 尽可能在一种方法下使 9 种对照品都得到展开的效果, 经过多次试验, 最终确定采用氯仿-乙酸乙酯-乙酸 (30: 10: 0.5) 为展开剂。然后通过供试品、供试品+对照品进行实验, 证明供试品的成分对于对照品的检测无干扰, 方法简单快速、分离明显, 建议用此方法作为抗风湿类中成药添加化学药品的快速筛选方法, 此法也适用于药品检测车。

**3.3** 由于所添加化学药品的量应达到缓解症状的用量, 而各对照品的正常用量均远高于本方法的最低检出限, 因此, 本文采用一次的口服量为供试品的取样量, 能保证检出添加的化学药品。实验证明, 振荡 5 min 即能提取所添加化学药品; 溶剂采用氯仿-甲醇 (8: 2), 能完全溶解上述 9 种对照品。

**3.4** 在实际检测中, 为使操作更加快速简便, 可将

9 种对照品混合制成 1 种或 2 种对照品混合溶液, 不影响检测结果。

**3.5** 薄层色谱法只能初步快速筛选可能添加的化学药品, 要进一步鉴定还需要通过二极管阵列检测器-高效液相色谱或液-质联用, 以确定所添加的化学药品种类及含量<sup>[6]</sup>。

### 参考文献

- 1 LIU Fu-yan (刘福艳), XIE Yuan-chao (谢元超), LIYU-qin (李毓秋), *et al* LC-ESI-MS determination of naproxen and indometacin illegally mixed into anti-rheumatism traditional Chinese medicine preparations (液相色谱-离子阱质谱联用法检测抗风湿类中药制剂中非法掺入的萘普生、吲哚美辛). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2008, 28(8): 1276
- 2 XIA Rui (夏瑞), CHE Bao-quan (车宝泉). RP-HPLC identification of corticosteroids in Chinese material medicine preparation (RP-HPLC 方法鉴别中药制剂中的糖皮质激素). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2008, 28(2): 316
- 3 WANG Lian-shui (王连水), JIANG Jian-guo (姜建国), ZHANG Xi-nuo (张西如), *et al* Detection of prednisone acetate and diazepam mixed in to drug by the liquid chromatography-mass spectrometry method (液相色谱-质谱联用法检测药品非法添加醋酸泼尼松和地西洋). *Chin Pharm Aff* (中国药事), 2008, 22(4): 326
- 4 LI Xia-yan (李晓燕), RAN Xiao-jing (冉晓静). Studies on identification for pioglitazone hydrochloride mixed in Jiangtang capsules (降糖胶囊中非法掺入盐酸吡格列酮成分的检测). *Chin Pharm Aff* (中国药事), 2008, 22(8): 706
- 5 ChP (中国药典). 2005 Vol II (二部): Appendix (附录): 27
- 6 LI Ya-qin (李亚琴), QIAN Li-hua (钱丽华), SHEN Lan-hui (申兰慧). TLC for detection of gelligite added in antidiabetic traditional Chinese medicine (薄层色谱法快检降糖中药添加的格列齐特). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2008, 28(2): 319

(本文于 2009 年 1 月 14 日收到)