

附录 V B 薄层色谱法

薄层色谱法系将供试品溶液点样于薄层板上，经展开、检视后所得的色谱图，与适宜的对照物按同法所得的色谱图作对比，用于药品的鉴别或杂质检查的方法。

1. 仪器与材料

(1) 薄层板

自制薄层板 除另有规定外，玻璃板要求光滑、平整，洗净后不附水珠，晾干。最常用的固定相有硅胶 G、硅胶 GF₂₅₄、硅胶 H 和硅胶 HF₂₅₄，其次有硅藻土、硅藻土 G、氧化铝、氧化铝 G、微晶纤维素、微晶纤维素 F₂₅₄ 等。其颗粒大小，一般要求粒径为 5~40 μm 。

薄层涂布，一般可分为无黏合剂和含黏合剂两种。前者系将固定相直接涂布于玻璃板上，后者系在固定相中加入一定量的黏合剂，一般常用 10%~15% 煅石膏 ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 在 140℃ 加热 4 小时)，混匀后加水适量使用，或用羧甲基纤维素钠水溶液 (0.2%~0.5%) 适量调成糊状，均匀涂布于玻璃板上。使用涂布器涂布应能使固定相在玻璃板上涂成一层符合厚度要求的均匀薄层。

商品薄层板 分普通薄层板和高效薄层板，如硅胶薄层板、硅胶 GF₂₅₄ 薄层板、聚酰胺薄膜和铝基片薄层板等。高效薄层板的粒径一般为 5~7 μm 。

(2) 点样器 同纸色谱法项下。

(3) 展开容器 应使用适合薄层板大小的玻璃制薄层色谱展开缸，并有严密的盖子，底部应平整光滑，或有双槽。

(4) 显色剂 见各品种项下的规定。可采用喷雾显色、浸渍显色或置适宜试剂的蒸气中熏蒸显色，用以检出斑点。

(5) 显色装置 喷雾显色要求用压缩气体使显色剂呈均匀细雾状喷出；浸渍显色可用专用玻璃器皿或用适宜的玻璃缸代替；蒸气熏蒸显色可用双槽玻璃缸或适宜大小的干燥器代替。

(6) 检视装置 为装有可见光、短波紫外光 (254nm)、长波紫外光 (365nm) 光源及相应滤片的暗箱，可附加摄像设备供拍摄色谱用，暗箱内光源应有足够的

光照度。

2. 操作方法

(1) 薄层板制备

自制薄层板除另有规定外，将 1 份固定相和 3 份水在研钵中按同一方向研磨混合，去除表面的气泡后，倒入涂布器中，在玻璃板上平稳地移动涂布器进行涂布（厚度为 0.2~0.3mm），取下涂好薄层的玻璃板，置水平台上于室温下晾干后，在 110℃活化 30 分钟，即置有干燥剂的干燥箱中备用。使用前检查其均匀度（可通过透射光和反射光检视）。

商品薄层板临用前一般应在 110℃活化 30 分钟。聚酰胺薄膜不需活化。铝基片薄层板可根据需要剪裁，但须注意剪裁后的薄层板底边的硅胶层不得有破损。如在贮放期间被空气中杂质污染，使用前可用适宜的溶剂在展开容器中上行展开预洗，110℃活化后，放干燥器中备用。

(2) 点样 除另有规定外，用点样器点样于薄层板上，一般为圆点，点样基线距底边 2.0cm，样点直径为 2~4mm（高效薄层板为 1~2mm），点间距离可视斑点扩散情况以不影响检出为宜，一般为 1.0~2.0cm（高效薄层板可不小于 5mm）。点样时必须注意勿损伤薄层板表面。

(3) 展开 展开缸如需预先用展开剂饱和，可在缸中加入足够量的展开剂，必要时在壁上贴两条与缸一样高的宽滤纸条，一端浸入展开剂中，密封顶盖，使系统平衡或按各品种项下的规定操作。

将点好供试品的薄层板放入展开缸中，浸入展开剂的深度为距薄层板底边 0.5~1.0cm（切勿将样点浸入展开剂中），密封顶盖，待展开至适宜的展距（如：20cm 的薄层板，展距一般为 10~15cm，高效薄层板展距一般为 5 cm 左右），取出薄层板，晾干，按各品种项下的规定检测。

展开可以单向展开，即向一个方向进行；也可以进行双向展开，即先向一个方向展开，取出，待展开剂完全挥发后，将薄层板转动 90°，再用原展开剂或另一种展开剂进行展开；亦可多次展开。

(4) 显色与检视 荧光薄层板可用荧光猝灭法；普通薄层板，有色物质可

直接检视，无色物质可用物理或化学方法检视。物理方法是检出斑点的荧光颜色及强度；化学方法一般用化学试剂显色后，立即覆盖同样大小的玻璃板，检视。

3. 系统适用性试验

按各品种项下要求对检测方法进行系统适用性试验，使斑点的检测灵敏度、比移值 (R_f) 和分离效能符合规定。

(1) **检测灵敏度** 系指杂质检查时，供试品溶液中被测物质能被检出的最低量。一般采用对照溶液稀释若干倍的溶液与供试品溶液和对照溶液在规定的色谱条件下，在同一块薄层板上点样、展开、检视，前者应显示清晰的斑点。

(2) **比移值 (R_f)** 系指从基线至展开斑点中心的距离与从基线至展开剂前沿的距离的比值。鉴别时，可用供试品溶液主斑点与对照品溶液主斑点的比移值进行比较，或用比移值来说明主斑点或杂质斑点的位置。

除另有规定外，比移值 (R_f) 应在 0.2~0.8 之间。

(3) **分离效能** 鉴别时，在对照品与结构相似药物的对照品制成混合对照溶液的色谱图中，应显示两个清晰分离的斑点。考察分离效能可采用下列溶液：将杂质对照品用供试品自身稀释对照溶液溶解制成混合对照溶液；也可将杂质对照品用待测组分的对照品溶液溶解制成混合对照溶液；或者采用供试品以适当的降解方法获得的溶液。上述溶液点样展开后的色谱图中，应显示清晰分离的斑点。

4. 测定法

(1) **鉴别** 可采用与同浓度的对照品溶液，在同一块薄层板上点样、展开与检视，供试品溶液所显主斑点的颜色（或荧光）与位置 (R_f) 应与对照品溶液的主斑点一致，而且主斑点的大小与颜色的深浅也应大致相同。或采用供试品溶液与对照品溶液等体积混合，应显示单一、紧密的斑点；或选用与供试品化学结构相似的对照品与供试品溶液的主斑点比较，两者 R_f 应不同，或将上述两种溶液等体积混合，应显示两个清晰分离的斑点。

(2) **杂质检查** 可采用杂质对照品法、供试品溶液的自身稀释对照法或杂质对照品法与供试品溶液自身稀释对照法并用。供试品溶液除主斑点外的其他斑点应与相应的杂质对照品溶液或系列浓度杂质对照品溶液的主斑点比较，或与供

试品溶液的自身稀释对照溶液或系列浓度自身稀释对照溶液的主斑点比较，不得更深。

通常应规定杂质的斑点数和单一杂质量，当采用系列自身稀释对照溶液时，也可规定估计的杂质总量。