

多种药材的增荧光薄层鉴别研究

李晓燕¹, 韩桂茹², 许红辉¹, 李向军¹, 封淑华² (1.河北以岭医药研究院, 石家庄 050035; 2.河北省药品检验所, 石家庄 050011)

摘要: 目的 拓宽薄层鉴别检测途径, 提高中药成方制剂中的薄层鉴别增订率。方法 将各药材的样品溶液点于薄层板上, 展开后, 进行不同方式的增荧光反应研究。结果 药材中多种无检测信息的成分呈现出不同颜色的荧光, 斑点清晰, 检测灵敏度提高, 信息量增大。结论 本研究有效拓宽了薄层鉴别检测途径, 使多种无检测信息的中药材, 能够被高灵敏度、准确地进行定性和定量控制。

关键词: 薄层鉴别; 增荧光反应; 荧光斑点; 中药材

中图分类号: R931.5

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)02-0153-04

Study on the TLC Identification of Several Herbal Drugs by Increasing Fluorescence Reaction

LI Xiaoyan¹, HAN Guiru², XU Honghui¹, LI Xiangjun¹, FENG Shuhua² (1.Hebei Yiling Medicine Institute, Shijiazhuang 050031, China; 2.Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To broaden TLC identification detection way, improve the detection ratio of herbal drugs in Chinese traditional patent preparations. **METHODS** Apply the sample solution in thin plate, after developing, study increasing fluorescence reaction by different ways. **RESULTS** The various components that without detection information in herbal drugs showed different color fluorescence and clear spots, which improved detection sensitivity and provided more detection information. **CONCLUSION** The study effectively broadened TLC identification application fields, made several herbal drugs that without detection information be able to be qualitative and quantitative controlled with high sensitivity and accuracy.

KEY WORDS: TLC identification; increasing fluorescence reaction; fluorescence spots; Chinese herbal drugs

目前在国家各类中药制剂质量标准中, 其药材的薄层鉴别增订率低, 平均约为处方中药材总量的 30%, 无法全方位监控制剂质量。尤其是提取制剂, 药材的显微特征已不复存在, 显微鉴别对其束手无策, 若薄层鉴别再寻找不到特征性检测信息, 就无法控制制剂质量, 将造成一些不法经营者在药品的生产过程中偷工减料, 以劣代优、以假充真的情况发生, 轻者贻误患者的病情, 重者直接危害患者的健康。为拓宽薄层鉴别检测途径, 提高中药成方制剂中的薄层鉴别增订率, 本试验对多种无检测信息的中药材进行了增荧光研究, 并获得理想的结果。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); ZF-2 型三用紫外仪(上海安亭电子仪器厂)。

1.2 试剂

蟾酥对照药材(批号: 121132-20001)、白术对照药材(批号: 120925-200708)、连翘对照药材(批号: 120908-200310)、人工牛黄对照药材(批号: 121197-200502)、乌药对照药材(批号: 1096-200001)、茵陈对照药材(批号: 120950-200706)、牡丹皮对照药材(批号: 121490-200501)、香附对照药材(批号: 121059-200706)均购自中国药品生物制品检定所; 其他相应的药材, 由安国以岭中药饮片有限公司提供。所用试剂、试药均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 蟾酥的荧光薄层鉴别

取蟾酥药材粉末 0.05 g, 加甲醇 3 mL, 超声处理 15 min, 取上清液作为供试品溶液。另取蟾酥对照药材 0.05 g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验, 吸取上述二种溶液各 2 μ L, 分别点于同一 GF₂₅₄ 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(4:6:0.2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254, 365

作者简介: 李晓燕, 女, 高级工程师 Tel: (0311)85901590 E-mail: sjzyllyx@163.com

nm)下检视,无任何检测信息斑点;喷以10%硫酸乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,分别显4个相同颜色的荧光斑点。结果见图1。

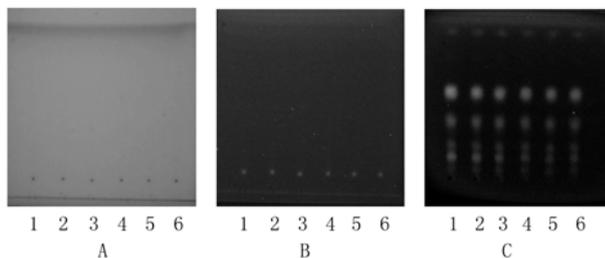


图1 蟾酥薄层色谱图

A-254 nm; B-365 nm; C-10%硫酸乙醇显色后(365 nm); 1~3-样品; 4~6-对照药材

Fig 1 TLC chromatogram of Bufonis Corium

A-254 nm; B-365 nm; C-after 10% sulfuric acid ethanol developed (365 nm); 1-3-sample; 4-6-reference drug

2.2 白术的荧光薄层鉴别

取白术药材粉末0.5 g,加甲醇5 mL,超声处理10 min,取上清液作为供试品溶液。另取白术对照药材0.5 g,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典2005年版一部附录VI B)试验,吸取上述二种溶液各4 μL,分别点于同一GF₂₅₄薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(8:2:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254, 365 nm)下检视,254 nm下有检测信息斑点,斑点比较弱,斑点数目少,365 nm下几乎无检测信息斑点;喷以10%硫酸乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰,再置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,分别显多个相同颜色的荧光主斑点。结果见图2。

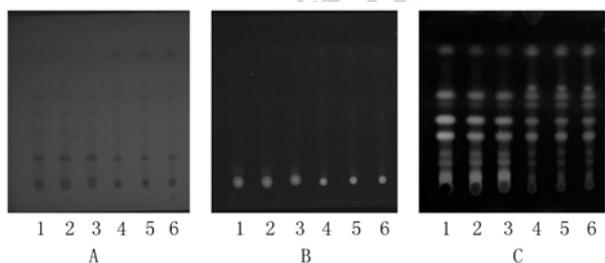


图2 白术薄层色谱图

A-254 nm; B-365 nm; C-10%硫酸乙醇显色后(365 nm); 1~3-样品; 4~6-对照药材

Fig 2 TLC chromatogram of Atractylodis Macrocephalae Rhizoma

A-254 nm; B-365 nm; C-after 10% sulfuric acid ethanol developed (365 nm); 1-3-sample; 4-6-reference drug

2.3 连翘的荧光薄层鉴别

取连翘药材粉末0.4 g,加甲醇5 mL,超声处理10 min,取上清液作为供试品溶液。另取连翘对照药材0.4 g,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典2005年版一部附录VI B)试验,吸取上述二种溶液各4 μL,分别点于同一GF₂₅₄薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(10:2:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254, 365 nm)下检视,无清晰的检测信息斑点;喷以10%硫酸乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,分别显相同颜色的荧光斑点。结果见图3。

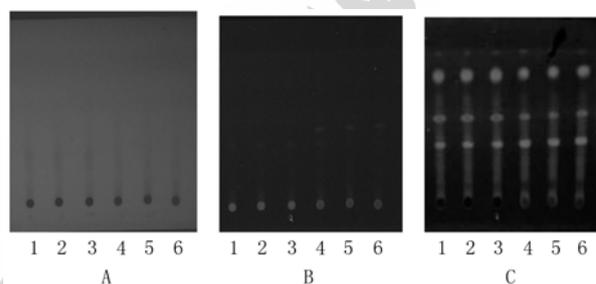


图3 连翘薄层色谱图

A-254 nm; B-365 nm; C-10%硫酸乙醇显色后(365 nm); 1~3-样品; 4~6-对照药材

Fig 3 TLC chromatogram of Forsythiae Fructus

A-254 nm; B-365 nm; C-after 10% sulfuric acid ethanol developed (365 nm); 1-3-sample; 4-6-reference drug

2.4 人工牛黄的荧光薄层鉴别

取人工牛黄粉末0.15 g,加甲醇6 mL,超声处理10 min,取上清液作为供试品溶液。另取人工牛黄对照药材0.15 g,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典2005年版一部附录VI B)试验,吸取上述二种溶液各2 μL,分别点于同一GF₂₅₄薄层板上,以A环己烷-乙酸乙酯-醋酸-甲醇(10:25:2:3)或B乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(7:3:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254, 365 nm)下检视,无任何检测信息斑点;喷以10%硫酸乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。A展开剂的供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,分别显2~3个相同颜色的荧光斑点,见图4; B展开剂的供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,分别显4个相同颜色的荧光斑点,见图5。

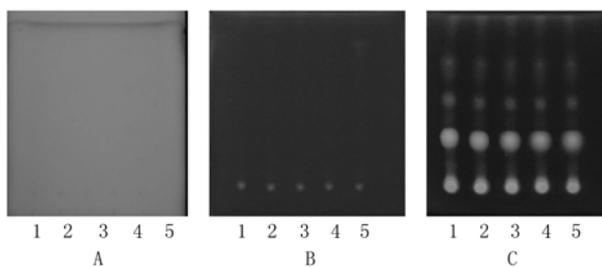


图4 人工牛黄薄层色谱图(A 展开剂)

A-254 nm; B-365 nm; C-10%硫酸乙醇显色后(365 nm); 1-3-样品; 4-5-对照药材

Fig 4 TLC chromatogram of Bovis Calculus Artifactus (mobile phase A)

A-254 nm; B-365 nm; C-after 10% sulfuric acid ethanol developed (365 nm); 1-3-sample; 4-5-reference drug

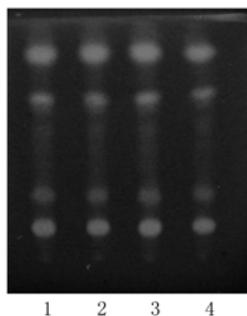


图5 人工牛黄薄层色谱图(B 展开剂)

1-2-样品; 3-4-对照药材

Fig 5 TLC chromatogram of Bovis Calculus Artifactus (mobile phase B)

1-2-sample; 3-4-reference drug

2.5 乌药的荧光薄层鉴别

取乌药药材粉末 0.3 g, 加甲醇 4 mL, 超声处理 10 min, 取上清液作为供试品溶液。另取乌药对照药材 0.3 g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验, 吸取上述二种溶液各 4 μ L, 分别点于同一 GF₂₅₄ 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(8:2:0.2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254, 365 nm)下检视, 无任何检测信息斑点; 喷以 10%硫酸乙醇溶液, 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 分别显 9 个相同颜色的荧光斑点。结果见图 6。

2.6 茵陈的荧光薄层鉴别

取茵陈药材粉末 0.4 g, 加甲醇 8 mL, 超声处理 10 min, 取上清液作为供试品溶液。另取茵陈对照药材 0.4 g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验,

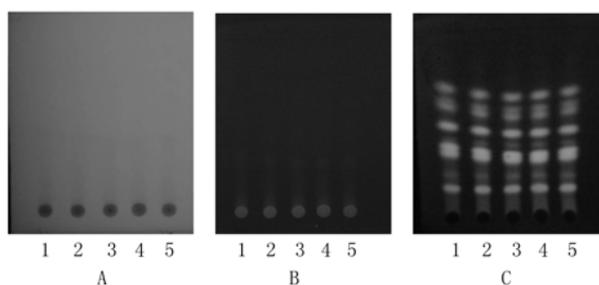


图6 乌药薄层色谱图

A-254nm; B-365nm; C-10%硫酸乙醇显色后(365nm); 1-2-对照药材; 3-5-样品

Fig 6 TLC chromatogram of Linderae Radix

A-254 nm; B-365 nm; C-after 10% sulfuric acid ethanol developed (365 nm); 1-2-reference drug; 3-5-sample

吸取上述两种溶液各 4 μ L, 分别点于同一 GF₂₅₄ 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯(7:3) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254, 365 nm)下检视, 254 nm 下无检测信息斑点, 365 nm 下有 1 个清晰的红色信息斑点; 喷以 10%硫酸乙醇溶液, 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 分别显 4 个相同颜色的荧光斑点。结果见图 7。

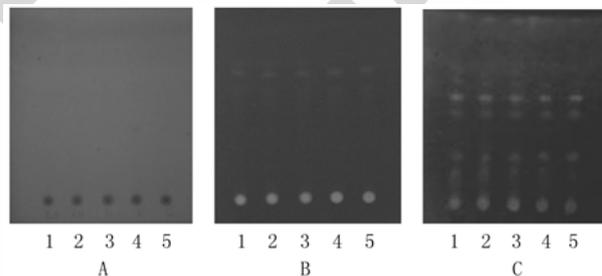


图7 茵陈薄层色谱图

A-254 nm; B-365 nm; C-10%硫酸乙醇显色后(365 nm); 1-3-样品; 4-5-对照药材

Fig 7 TLC chromatogram of Artemisiae Scopariae Herba

A-254 nm; B-365 nm; C-after 10% sulfuric acid ethanol developed (365 nm); 1-3-sample; 4-5-reference drug

2.7 牡丹皮的荧光薄层鉴别

取牡丹皮药材粉末 0.01 g, 加甲醇 10 mL, 超声处理 10 min, 取上清液作为供试品溶液。另取牡丹皮对照药材 0.01 g, 同法制成对照药材溶液。再取丹皮酚对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 20 μ g 溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验, 吸取上述三种溶液各 3 μ L, 分别点于同一 GF₂₅₄ 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-丙酮-甲酸(8:2:1:0.2)为展开剂, 展

开,取出,晾干,置紫外光灯(254, 365 nm)下检视, 254 nm 下高浓度的样品和对照药材有微弱信息斑点, 低浓度对照品无相应斑点, 365 nm 下样品、对照药材及对照品均无任何信息斑点; 喷以 1%三氯化铝乙醇溶液后, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照品与对照药材色谱相应的位置上, 分别显相同颜色的荧光斑点。结果见图 8。

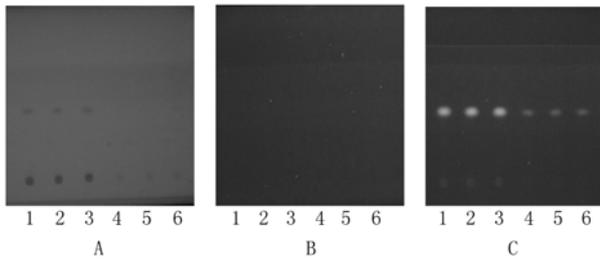


图 8 牡丹皮薄层色谱图

A-254 nm; B-365 nm; C-1%三氯化铝乙醇显色后(365 nm); 1-2-高浓度样品; 3-高浓度对照药材; 4-6-低浓度对照品

Fig 8 TLC chromatogram of Moutan Cortex

A-254 nm; B-365nm; C-after 1% aluminium trichloride ethanol developed (365 nm); 1-2-high concentration sample; 3-high concentration reference drug; 4-6-low concentration reference substance

2.8 香附的荧光薄层鉴别

分别取生香附与醋制香附药材粉末各 0.5 g, 分别加甲醇 4 mL, 超声处理 10 min, 分别取上清液作为供试品溶液。另取香附对照药材 0.5 g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验, 吸取上述 3 种溶液各 4 μ L, 分别点于同一 GF₂₅₄ 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(10:2:0.2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254, 365 nm)下检视, 254 nm 下样品和对照药材呈现 2 个不清晰的信息斑点, 365 nm 下呈现 1 个信息斑点, 但香附对照与醋香附信息很弱; 喷以 10%硫酸乙醇溶液, 105℃加热至斑点显色清晰, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 分别显一个相同颜色的荧光斑点。结果见图 9。

3 讨论

从 8 种药材增荧光前后的薄层色谱图对比分析, 增荧光之前, 不论 254 nm 还是 365 nm 下,

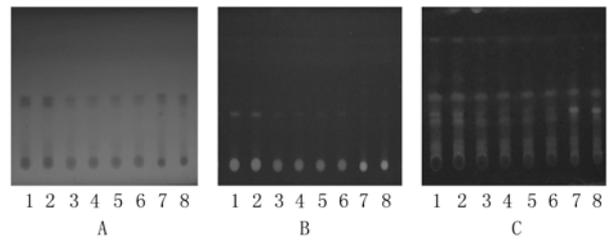


图 9 香附薄层色谱图

A-254 nm; B-365 nm; C-10%硫酸乙醇显色后(365 nm); 1-2-生香附; 3-6-香附对照; 7-8-醋制香附

Fig 9 TLC chromatogram of Cyperi Rhizoma

A-254 nm; B-365 nm; C-after 10% sulfuric acid ethanol developed (365 nm); 1-2-raw Cyperi Rhizoma; 3-6-Cyperi Rhizoma reference drug; 7-8-Cyperi Rhizoma processed with vinegar

都无清晰的检测信息呈现, 无法对结果做出判断, 但增荧光之后, 信息量大幅度增多, 灵敏度提高, 如乌药呈现出 8~9 个蓝、绿色荧光斑点; 白术呈现出 5~6 个蓝、绿色荧光斑点; 连翘呈现出 3 个黄与亮蓝色荧光斑点等, 斑点清晰, 强度很高, 可用于定性与定量研究。

以该思路为契机, 曾分别试以胆酸和丹皮酚为测定指标, 对制剂中的人工牛黄和牡丹皮进行了荧光扫描定量测定^[1-2], 并获得理想结果。解决了既无紫外吸收、又无荧光的甾体化合物简便、快捷、高灵敏度的含量测定以及无荧光化合物丹皮酚的荧光扫描定量测定问题。

通过多种药材的增荧光研究, 本试验有效拓宽了薄层鉴别检测途径, 使原本无任何检测信息的中药材, 能够被灵敏、准确地进行定性和定量监控。对提高中药成方制剂的薄层鉴别增订率, 无疑是一项非常有使用价值的探讨研究。

本试验简便、快捷地对蟾酥、白术、连翘、人工牛黄与乌药的薄层荧光鉴别, 为同行在增订中药制剂的薄层鉴别时提供参考。

REFERENCES

- [1] LI X J, HAN G R, WU G, et al. Content determination of cholic acid in Fufang Anfenwan'an tablet by fluorescence TLCS [J]. China Pharm(中国药业), 2009, 18(17): 17-18.
- [2] LI X Y, XU H H, HAN G R, et al. Studies of determination for trace paeonol by excited fluorescence TLC scan [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药杂志), 2011, 33(1): 199-202.

收稿日期: 2010-05-20