

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2017.5.08

肥猪散中制何首乌的薄层鉴别方法研究

单乃荣,余 莲*,陈 幸

(广西兽药监察所,南宁 530001)

[收稿日期] 2017-01-21 [文献标识码]A [文章编号]1002-1280 (2017) 05-0037-04 [中图分类号]S853.76

[摘 要] 建立了肥猪散中制何首乌的薄层色谱(TLC)定性鉴别法。以制何首乌为对照药材,采用甲苯-乙酸乙酯-甲酸(15:2:0.8)为展开剂,在UV365 nm波长下检视,氨蒸气为显色剂,对肥猪散中制何首乌进行薄层色谱法鉴别。结果显示制何首乌斑点清晰,阴性无干扰。本方法简便、快速、准确、重现性好,可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 肥猪散;制何首乌;TLC;质量控制

Polygoni Multiflori Radix Praeparata by TLC Identification in Feizhu San

SHAN Nai-rong, YU Lian*, CHEN Xing

(Guangxi Institute of Veterinary Drug Control, Nanning 530001, China)

Corresponding author: Yulian, E-mail: 672829563@qq.com

Abstract: To establish a method of thin layer chromatography (TLC) identification for Polygoni Multiflori Radix Praeparata in Feizhu San. Using Polygoni Multiflori Radix Praeparata as contrast medicinal material, methylbenzene-ethyl acetate-methanoic acid (15:2:0.8) as developing reagent, inspected in ultraviolet light (365 nm), ammonia vapor as color developing reagent, to carry out experiment of TLC for Polygoni Multiflori Radix Praeparata in Feizhu San. The TLC chromatograms of Polygoni Multiflori Radix Praeparata is not only feasible with clear spots, good separation, and no interference. The method is simple, quick, accurate, reproducible and can be used for the quality control of Feizhu San.

Key words: Feizhu San; Polygoni Multiflori Radix Praeparata; TLC; quality control

肥猪散是由绵马贯众、制何首乌、麦芽和黄豆(炒)四味药材粉碎、过筛、混匀的散剂,收载于《中华人民共和国兽药典》2010年版二部的成方制剂,具有开胃、驱虫、催肥的功能,主要用于食少、瘦弱、生长缓慢的治疗^[1]。目前该产品质量标准中仅有性状、显微鉴别以及常规检查,不能有效的控制肥

猪散的质量。近年来未见有关肥猪散质量控制方面的报道。组方中的制何首乌来源于蓼科植物何首乌,干燥块根的炮制加工品,主要成分为二苯乙烯和蒽醌类^[1-4]。生、制首乌性味相同,功效主治不同。有研究表明生首乌和制首乌相比,生首乌结合蒽醌含量高,游离蒽醌含量低;生首乌的泻下作用

作者简介:单乃荣,兽医师,从事兽药残留检测与研究。

通讯作者:余 莲。E-mail: 672829563@qq.com

主要是由结合蒽醌引起的,经炮制后,结合蒽醌水解游离蒽醌,故其泻下作用明显降低,临床功效也发生了变化^[2],具有补肝肾,益精血,壮筋骨的功效^[1-3]。据黄权芳^[4]报道不同产地、气候环境生长的何首乌有效成分含量具有较大的差异;据周文杰^[5]、李正勇^[6]、梁洪华^[7]等报道制何首乌的质量问题比较严重,主要存在的问题是用同科或其它科属植物加工冒充或用生首乌染色,而且正品者的质量也参差不齐,严重影响药品质量。因此,本试验以肥猪散中制何首乌的化学成分蒽醌类为指标,建立了肥猪散的薄层色谱鉴别方法,对于提高肥猪散的质量控制水平和完善标准具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 上海精密科学仪器有限公司 YP802N 电子天平,感量 0.01 g;上海安亭电子仪器厂 ZF-2 型三用紫外仪,可见光、254 及 365 nm 紫外光源;微量移液器 5 μ L,美国 Drummond Microcaps[®] 微量毛细管;玻璃喷雾瓶;硅胶 H 薄层板,青岛海洋化工厂,厚 0.2~0.5 mm,批号 20130408;双槽玻璃展开缸。

1.2 试剂 制何首乌对照药材,批号为 121454-201104,中国食品药品检定研究所提供。甲醇、氢氧化钠、盐酸、乙酸乙酯、甲苯、甲酸、氨水为分析纯;试验用水为超纯水。

1.3 供试品 自配肥猪散样品 3 批,从广西玉林市药材市场购进原料药材,按《中华人民共和国兽药典》2010 年版二部收载的药材标准检验符合规定,按成方制剂肥猪散的处方投料,混合粉碎,过二号筛,混匀,即得^[1]。

1.4 阴性对照样品 未添加制何首乌的“肥猪散”同供试品制法制得。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备 取本品 10 g,加甲醇 50 mL,0.5%氢氧化钠液 5 mL,浸渍过夜,滤过,滤液蒸干,残渣加水 40 mL 溶解,加盐酸 4 mL,于水浴上加热 20 min,降温,用乙酸乙酯振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯层,蒸干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。

2.2 对照品药材溶液的制备 取制何首乌对照药材 0.3 g,同 2.1 项下的方法制成对照药材溶液。

2.3 制何首乌阴性对照溶液的制备 取不含制何首乌的“肥猪散”阴性对照样品,照 2.1 项下的方法,制成阴性对照溶液。

2.4 薄层鉴别 吸取上述三种溶液各 10 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 H 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(15:2:0.8)为展开剂,展开,取出,晾干。

2.5 显色和检视方式 分别置于紫外光灯(365 nm)下和用氨蒸气熏后,观察结果。

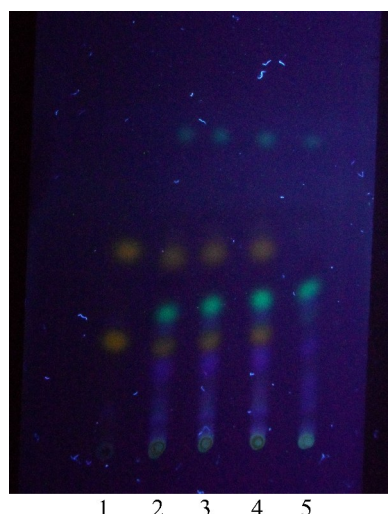
2.6 结果 色谱分离效果良好,斑点清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显示相同的两个橙黄色荧光斑点;置氨蒸气中熏后,斑点变为红色。阴性对照样品在与对照药材色谱相应的位置上无此斑点;置氨蒸气中熏后,无红色斑点。结果见图 1、图 2。

3 讨论

3.1 提取方法的选择 试验考察制何首乌中的主要有效成分游离蒽醌中大黄素和大黄素甲醚。参照大黄的薄层鉴别及借鉴乙肝扶正胶囊的薄层定性鉴别^[9]醇提法,提取分离过程中发现,供试样品中制何首乌的游离蒽醌溶于乙酸乙酯,不溶于部分含蒽醌类成分药材如大黄、虎杖等常用的乙醚或三氯甲烷,这个特点可与大黄、虎杖等药材相区别开来。方中制何首乌的处方量 2.8%,为提高其检出量,一是使用醇提冷浸法提取,避免处方中用量较大的黄豆受热时,使其所含的油脂成分遇热易析出,减少油脂吸附待测物质的干扰;二是利用大黄素和大黄甲醚等蒽醌类物质在碱性环境中溶解度较好的性质,用氢氧化钠^[9-11]溶解增加其提取率。通过大量的薄层条件和样品溶解前处理方法摸索试验,筛选出了分离效果较好,重复性高的薄层条件。

3.2 提取方法的优化 在样品的提取处理方法中考察了不同溶剂、溶剂用量比例及提取次数和时间。

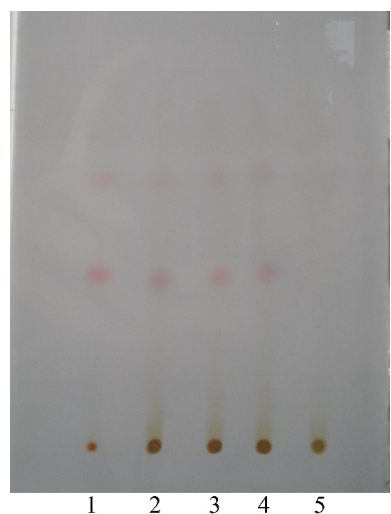
对肥猪散供试品分别用甲醇、乙酸乙酯、乙醇、50%乙醇、甲醇和 0.1%氢氧化钠液、甲醇和 0.5%氢氧化钠液提取进行了试验研究,结果甲醇和 0.5%



1.制何首乌对照药材;2.肥猪散①;3.肥猪散②;
4.肥猪散③;5.缺制何首乌的阴性对照样品

1.Polygoni Multiflori Radix Praeparata as contrast medicinal material;
2.Feizhu San①; 3. Feizhu San②; 4.Feizhu San③;
5.Negative sample without Polygoni Multiflori Radix Praeparata

图 1 制何首乌的薄层色谱鉴别结果(紫外 365 nm 检测)
Fig 1 TLC chromatograms of Polygoni Multiflori Radix Praeparata(UV365 nm)



1.制何首乌对照药材;2.肥猪散①;3.肥猪散②;
4.肥猪散③;5.缺制何首乌的阴性对照样品

1.Polygoni Multiflori Radix Praeparata as contrast medicinal material;
2. Feizhu San①; 3.Feizhu San②;4.Feizhu San③;
5.Negative sample without Polygoni Multiflori Radix Praeparata

图 2 制何首乌的薄层色谱鉴别结果(氨蒸气熏后)
Fig 2 TLC chromatograms of Polygoni Multiflori Radix Praeparata(react with ammonia vapor)

氢氧化钠液提取对其薄层分离效果较好。

称取肥猪散 10 g 3 份,分别加入 10、30、50 mL 的甲醇,各加入 0.5% 氢氧化钠液 5 mL 提取,试验结果表明甲醇 50 mL 和 0.5% 氢氧化钠液 5 mL 最佳。

称取肥猪散 10 g 5 份,4 份分别浸泡 1、6、12、24 h 后提取,1 份超声 30 min 后提取,结果表明:供试品溶液提取 24 h 最佳。

称取肥猪散 10 g 3 份,将提取液蒸干后第 1 份加水 20 mL 和 1 mL 盐酸,第 2 份加水 40 mL 和盐酸 2 mL,第 3 份加水 40 mL 和盐酸 4 mL 加热酸化 20 min,结果表明:加入水 40 mL 和盐酸 4 mL 提取的效果最佳。

3.3 展开剂的优化 先后试验了不同组分展开剂,石油醚(30~40℃)-醋酸乙酯-冰醋酸(9:2:0.1)^[7]、石油醚(30~40℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)^[12]、甲苯-乙酸乙酯-甲酸(15:2:1)^[8]、正己烷-醋酸乙酯(5:1)^[10]、甲苯-乙酸乙酯-甲酸(15:2:1)的结果相对较好,但供试样品展开结果中仍有两个斑点太近且有一杂质斑点干扰,经调整甲酸用量为 0.8 mL,分离度达到薄层色谱鉴别的要求,

经调整取样量和点样量,结果以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(15:2:0.8)作为本品的展开系统,使之达到供试品和对照药材的薄层色谱鉴别斑点清晰、圆整、无拖尾、并且对照药材制何首乌的斑点与供试品中制何首乌的斑点大小相近。

3.4 对照品药材的选择 中药材的有效成分是复杂的,单一的化学对照品不能完全体现药材整体特性,对照品药材的选择应能反映药材相关化学物质的整体信息(位置、次序、颜色等)。在选择对照品药材的试验中比较了何首乌对照药材与制何首乌对照药材,供试品溶液、对照药材溶液均定量制备,在薄层板上定量点样,则样品的色谱结果不仅可以回答“有”或“没有”,即“真”与“伪”的问题,还可以直观、粗略地进行量化评价,相比较没有规定量化的显微鉴别,在一定程度上提供优劣的信息。结果表明:虽然何首乌对照药材的结果与供试品中制何首乌的斑点大小相近,但与未添加制何首乌的阴性样品比较有一处干扰的红色斑点存在,而制何首乌对照药材无相同颜色的斑点,所以选择制何首乌为指标对照药材。

薄层色谱法(TLC)是一种快速、灵敏、高效地分离微量物质的方法,是最简单的色谱技术之一,具有操作方便、设备简单、分离效率高、专属性好、分析速度快、色谱参数易调整等特点,在药物分析中应用广泛^[8]。通过紫外、化学显色等方式,可以多层次地呈现药材特征,特别是通过化学显色,可以将分析结果以直观的彩色图像表达出来。因此,即使在液相色谱技术普及的今日,薄层色谱仍具有其独特的应用价值。该方法简便、快速、结果准确、重现性好,对于完善产品质量标准,提高药品质量具有现实意义。

参考文献:

- [1] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典 2010 年版二部[S]. Commission of Chinese Veterinary Pharmacopoeia. Veterinary pharmacopoeia of People's Republic of China volume II 2010 edition[S].
- [2] 张挺,吕圭源,陈素红,等. 炮制前后何首乌蒽醌类含量的比较研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2009, 33(6): 872-873. Zhang T, Lu G Y, Chen S H, Comparative observation of processed and crude Polygoni Multiflori Radix on anthraquinone content[J]. Journal of Zhejiang Chinese Medical University, 2009, 33(6): 872-873.
- [3] 张国庆,陈万生,纪松岗,等. 高效毛细管电泳法分离模拟混合的何首乌中 7 种蒽醌类成分的研究[J]. 药学实践杂志, 1999, 17(6): 352-354. Zhang G Q, Chen W S, Ji S G, et al. Separation of mLinlic-mixed 7 kinds of anthraquinone derivatives in polygonum multiflorum thunb by high performance capillary electrophoresis[J]. The Journal of Pharmaceutical Practice, 1999, 17(6): 352-354.
- [4] 黄权芳,林兴,韦振源. 两种广西产何首乌炮制前后二苯乙炔苷和大黄素的含量考察[J]. 广西中医药, 2011, 34(6): 52-54. Huang Q F, Lin X, Wei Z Y. Determination of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-beta-D-glucoside and Emodin Content of processed and crude Polygoni Multiflori Radix of different origin of Guangxi[J]. Guangxi Journal of Traditional Chinese Medicine, 2011, 34(6): 52-54.
- [5] 周文杰,饶伟文,唐朝阳. 市售制何首乌的质量考察[J]. 首都医药, 2006, 13(24): 40. Zhou W J, Rao W W, Tang C Y. Observation on the qualities of

Polygoni Multiflori Radix Praeparata in market[J]. Capital Medicine, 2006, 13(24): 40.

- [6] 李正勇,刘薇莉,张克,等. 成药中含大黄与制何首乌质量标准的探讨[J]. 陕西中医, 2002, 23(6): 549-550. Li Z R, Liu W L, Zhang K, et al. Studying prepared Chinese medicine quality standard through detection of Polygoni Multiflori Radix Praeparata and Rhei Radix Et Rhzoma[J]. Shaanxi Journal of Traditional Chinese Medicine, 2002, 23(6): 549-550.
- [7] 梁洪华,王军栋. 心安宁片中葛根、山楂、制何首乌 TLC 鉴别和大黄素含量测定研究[J]. 中国药品标准, 2005, 6(4): 50-53. Liang H H, Wang J D. TLC Identification for Radix Puerariae and Fructus Crataegi and Radix Polygoni Multiflori Preparata and the Quantitative Analysis of Emodin by HPLC in Xin'an Ning Tablets[J]. Drug Standards of China, 2005, 6(4): 50-53.
- [8] 魏文鹏. 乙肝扶正胶囊的薄层定性鉴别[J]. 中成药, 2003, 25(5): 428-429. Wei W P. Qualitative analysis of ingredient in Yigangfuzheng capsule[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2003, 25(5): 428-429.
- [9] 张新乐,吴铁,许碧莲,等. 加碱提取何首乌中大黄素工艺的探讨[J]. 现代医药卫生, 2007, 23(7): 974-975. Zhang X L, Wu T, Xiu B L, et al. Extracting Technology of adding for emodin from Radix Polygoni Multiflori[J]. Journal of Modern Medicine & Health, 2007, 23(7): 974-975.
- [10] 程新萍,吉金燕,杨悦. 乌贞胶囊质量标准研究[J]. 西北药学杂志, 2011, 26(1): 33-35. Cheng X P, Ji J Y, Yang Y. Study on the quality control of Wuzhen capsules[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2011, 26(1): 33-35.
- [11] 段淑娥,李敏. 中草药中蒽醌化合物的研究进展[J]. 西安文理学院学报, 2005, 8(1): 24-28. Duan S E, Li M, et al. Advance in anthraquinone of Chinese herbal Medicine[J]. Journal of Xi'an University of Arts & Science, 2005, 8(1): 24-28.
- [12] 赵益业,张雁,黄辉庆. 清脂颗粒中制首乌与山楂的鉴别研究[J]. 陕西中医, 2008, 29(8): 1063-1065. Zhao Y Y, Zhang Y, Huang H Q. Identification of Polygoni Multiflori Radix Praeparata and Crataegi Fructus in Qingzhi granules[J]. Shaanxi Journal of Traditional Chinese Medicine, 2008, 29(8): 1063-1065.

(编辑:陈希)