

表 1 热炎宁胶囊、半枝莲药材中野黄芩苷的
测定结果($n=5$)

Table 1 Scutellarin in Reyanning Capsula
and *S. baraata* ($n=5$)

热炎宁胶囊 批 号	野黄芩苷/ (mg·粒 ⁻¹)	RSD/ %	半枝莲 批 号	野黄芩苷/ (mg·g ⁻¹)	RSD/ %
040907	1.88	0.2	01	8.33	0.2
050302	1.90	0.3	02	8.43	0.4
050401	1.91	0.4	03	8.35	0.8

乙醇、70%甲醇、70%乙醇、50%甲醇、50%乙醇、30%甲醇、30%乙醇和水)进行了考察。由于野黄芩苷在甲醇中的溶解性较好,结果制剂与药材中均以70%甲醇回流30 min 提取最完全。

3.2 检测波长的选择:选择了野黄芩苷对照品的最大紫外吸收波长 335 nm,检测灵敏度高、专属性强。

3.3 流动相系统的选择:分别用甲醇-水、甲醇-水-冰醋酸、甲醇-水-冰醋酸-四氢呋喃、乙腈-水、乙腈-水-冰醋酸以不同比例进行考察,结果表明乙腈-水-冰醋酸这一流动相系统色谱峰峰形好,柱效高,可达到理想的分离度。

References:

- [1] State Standard of Drug (国家药品标准) [S]. 2002.
- [2] Xiao H T, Li X. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activities of *Scutellaria baraata* [J]. *Res Inf Tradit Chin Med* (中药研究与信息), 2005, 7 (4): 20-22.
- [3] Jiang X L, Gu Z L. Chemical constituents and pharmacological activities of *Scutellaria baraata* [J]. *Chin Wild Plant Resour* (中国野生植物资源), 2004, 23(1): 3-5.
- [4] Zou J L, Wu Q N. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activities of *Scutellaria baraata* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2005, 16(2): 149-151.

微乳薄层色谱法鉴别甘草的研究

崔淑芬^{1,2}, 林焕冰³, Frank S. C. Lee⁴, 王小如^{2,4}

(1. 深圳职业技术学院 应用生物技术系, 广东 深圳 518055; 2. 厦门大学化学化工学院 现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005; 3. 南方医科大学 药理学教研室, 广东 广州 510515; 4. 国家海洋局第一海洋研究所 青岛现代分析技术及中药标准化重点实验室, 山东 青岛 266061)

甘草为重要的常用中药,素有“国老”之称,具止咳化痰、解毒清热、缓急止痛及调和诸药等作用,俗称“十方九草”,在临床上有大量的应用。《中国药典》2005 年版收录的甘草药材有 3 种:乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat. 和光果甘草 *G. glabra* L. 不同种类的甘草成分有一定的区别^[1],而采用现有的药典方法并不能区分不同种类的甘草^[2]。微乳薄层色谱是近几年发展的薄层色谱新方法^[3~5],处于方法的初创阶段。笔者所在的课题组对微乳薄层色谱进行了系统的理论和应用研究,本实验研究微乳薄层色谱应用于 3 种甘草药材的鉴别。

1 仪器与材料

GAMAG Linomat 5 半自动点样仪, CAMAG ReproStar 3 薄层色谱数码成像系统;聚酰胺薄膜(浙江台州四青生化材料厂);Grant XB14 超声波清洗机;滤膜(美国 Millipor Corporation, 孔径 0.45 μm)。

表面活性剂十二烷基硫酸钠(SDS)为分析纯(Bio. Basic. Inc.)。正丁醇、甲酸、正庚烷和甲醇皆为分析纯,国产试剂。水为超纯水。对照品甘草苷(质量分数为 96.4%)由厦门大学傅博强博士制备,甘草查耳酮甲(质量分数为 99.1%)由厦门大学王巧娥博士制备。

甘草药材由中国亿利资源集团公司提供,由中国医学科学院药用植物研究所林寿全教授鉴定品种。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备:将甘草生药适当粉碎后过 60 目筛。精密称取甘草药材粉末 0.4 g,加入 50%甲醇溶液 40 mL,冷浸 10 h 后超声提取 30 min,离心。上清液挥干,加 2 mL 甲醇定容,过 0.45 μm 滤膜,滤液作为供试品溶液和 2.0 mg/mL 的甘草苷对照品溶液和 2.0 mg/mL 的甘草苷对照品溶液。

2.2 对照品溶液的配制:以甲醇为溶剂,配制 2.0 mg/mL 的甘草查耳酮甲对照品溶液。

2.3 微乳展开剂的配制:笔者对甘草的微乳展开剂

收稿日期:2006-08-08

基金项目:国家自然科学基金重点项目(20235020)

作者简介:崔淑芬(1969—),女,辽宁抚顺人,副教授,博士,主要从事中草药及海洋药物研究。

Tel: (0755) 26731146 E-mail: shufencui@163.com

进行了优化(具体过程和方法另文发表),最佳微乳组成:0.23 mol/L SDS+16%正丁醇+11% 甲醇+2.4%正庚烷。按照上面的微乳配方把一定量的 SDS 溶解于适量水中,然后加入正庚烷、正丁醇和甲酸等,搅拌均匀,定容,超声 30 min 即得澄清透明的微乳液。该微乳展开剂在室温下可稳定 4 个月以上。

2.4 薄层色谱试验条件:每个药材供试品溶液(或对照品溶液)用 CAMAG Linomat 5 半自动点样仪带状点样 1.5 μ L 于聚酰胺薄膜上,点样后即展开,上行方式展开,展距为 95 mm。待溶剂前沿到达指定位置后,取出薄层板,晾干。进行 366 nm 荧光数码相机摄像,Wincats 软件自动进行数据处理。

2.5 不同种类甘草的微乳薄层色谱荧光图像:3 个不同种类甘草(乌拉尔甘草、胀果甘草、光果甘草)用微乳做流动相的荧光图像(见图 1)。可以看出,微乳色谱结果斑点清晰、集中、不扩散、不拖尾,荧光明亮。乌拉尔甘草、胀果甘草和光果甘草样品中都有绿色的甘草苷荧光斑点,可以作为鉴别甘草的基本特征,而甘草不同种类的微乳薄层色谱荧光图像区别亦很明显。化学成分研究结果表明唯有胀果甘草中含有甘草查耳酮甲^[1],这和微乳薄层色谱图像的结果一致。

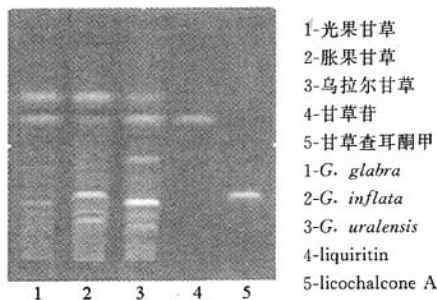


图 1 甘草的微乳薄层色谱荧光图像
Fig. 1 Microemulsion TLC fluorescent image of *Radix Glycyrrhizae*

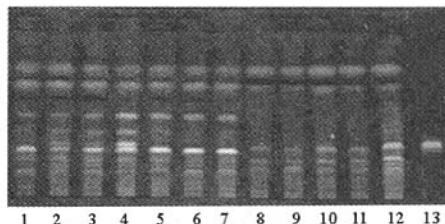
2.6 不同产地胀果甘草和乌拉尔甘草的鉴别:甘草在全球有 29 种 6 变种。其中我国产 17~18 种 3 变种。乌拉尔甘草是中药甘草的主要品种,主产于内蒙古、甘肃、新疆等地。胀果甘草与光果甘草主产于新疆和甘肃。在进行样品收集时,发现市场上流通的光果甘草很少,只在新疆库尔勒市收集到光果甘草,这说明,在中国,乌拉尔甘草和胀果甘草这两个品种是主流品种。笔者采用微乳薄层色谱法对不同产地的胀果甘草和乌拉尔甘草进行了鉴别。见表 1 和图 2。

从图 2 可以看出,不同产地的胀果甘草都表现出相似的特征,即在 Rf 为 0.3 左右都有显绿色荧光

表 1 甘草样品来源

Table 1 Sources of *Radix Glycyrrhizae*

样品编号	种 类	种植方式	采收时间	产 地
1	乌拉尔甘草	野生	2001.8	新疆和静哈密
2	乌拉尔甘草	野生	2002.9	内蒙额济纳旗
3	乌拉尔甘草	野生	2002.9	内蒙亿利巴音乌素
4	乌拉尔甘草	野生	2002.10	内蒙亿利上海庙
5	乌拉尔甘草	野生	2002.11	甘肃兰州
6	乌拉尔甘草	野生	2002.9	青海贵德
7	乌拉尔甘草	中国药品生物制品检定所对照药材		
8	胀果甘草	野生	2002.5	新疆干固
9	胀果甘草	野生	2002.5	新疆和硕
10	胀果甘草	人工	—	新疆南疆
11	胀果甘草	野生	2003.7	新疆库尔勒
12	胀果甘草	中国药品生物制品检定所对照药材		



各轨道样品 1~12 顺序同表 1 样品编号,13 轨道为甘草查耳酮甲
Sequence (1—12) of sample on track is same to sample number in Table 1, track 13 is marker licochalcone A

图 2 不同产地甘草的 366 nm 荧光图像
Fig. 2 Identification of different species of *Radix Glycyrrhizae* from various habitats using microemulsion TLC fingerprint image under UV light 366 nm

的甘草查耳酮甲;而不同产地的乌拉尔甘草亦表现出相同的特征,即在 Rf 值为 0.28 和 0.48 有两个强烈的蓝色荧光斑点。这些特征可以区别这两种甘草。另外,不同产地的胀果甘草中甘草查耳酮甲斑点强弱不等,表明不同产地样品的差异。乌拉尔甘草除在 Rf 值为 0.28 和 0.48 有两个共同的蓝色荧光斑点外,不同产地的荧光图像有所不同,内蒙产乌拉尔甘草有更多的荧光斑点,是否可根据这个特征鉴别不同产地的乌拉尔甘草,还需要进一步扩大试验样本及做这些斑点的化学成分鉴别。

3 讨论

在正相微乳薄层色谱中,展开剂为极性很大的微乳水溶液。随着展开距离的增大,会出现两个“溶剂前沿”:第一溶剂前沿是水、盐等组成的溶剂前沿,第二溶剂前沿是含表面活性剂微乳的前沿。这样,样品中的糖类、氨基酸等亲水性物质多数迁移较快,多集中在第一溶剂前沿和第二溶剂前沿之间,而中药有效成分多在原点和第二溶剂前沿之间进行分离。在甘草的微乳薄层色谱中,供试液的制备只需用甲

醇溶液提取,省却了传统薄层色谱法中的不同极性溶剂提取分离、多次萃取等繁琐“清洗”步骤,而所得薄层图像明亮清晰,各成分分离很好。因此可大胆推测,由于微乳溶液的组成特点,决定了微乳薄层色谱可省略多数供试液的前处理“清洗”步骤,大大节省实验时间和提高结果的重现性。

薄层色谱有别于其他色谱技术,除了都有固定相和流动相外,还存在气相。气相会对分离结果产生显著影响。常规薄层色谱多采用几种有机溶剂组成的混合溶剂,各种有机溶剂的挥发性不同,使得展开过程更加复杂。在甘草微乳薄层展开过程中,进行了单槽和双槽展开缸、未饱和与饱和 30~80 min 的比较实验。实验结果表明,展开室的形状和饱和情况对甘草各成分的分离几乎没有影响。关于甘草微乳薄层色谱展开特点的原因探究,笔者认为可能是因为微乳作为展开剂时,主要成分为水,表面活性剂形成的微乳挥发性不大,微乳展开剂长期放置亦可保持成分稳定。而展开过程亦因为展开剂成分的稳定,所以展开室的形状和饱和情况对分离效果没有什么影响。另外,也考察了温度和湿度对展开效果的影响。实验结果表明,30%~90% 相对湿度的分离效果几乎没有差异。这一特点和微乳展开剂大量水分组成相联系,亦可以很容易得到解释。温度考察在 15~30℃ 进行,设置了 4 个温度水平:15、20、25、30℃,结果显示温度对甘草微乳薄层影响不大。

微乳薄层色谱具有明显的荧光增强增稳效应^[6],而色彩鲜明的荧光信息对薄层色谱具有特别

突出的意义。在甘草的微乳薄层鉴别中,由于微乳的荧光增强效应,无需衍生即可根据丰富的荧光信息进行鉴别。而甘草的传统薄层色谱则需要硫酸乙醇喷雾、加热等步骤才能得到荧光图像。

综上所述,微乳薄层色谱由于在供试品制备、展开、衍生等步骤所表现出来的优于传统薄层色谱的优点,使其重现性大大提高。微乳薄层色谱用于不同种类的甘草鉴别,方法简单经济,图像形象直观,无需衍生即可区分《中国药典》收录的 3 种甘草药材。

本研究样品收集得到厦门大学一开元区高新技术研究开发基地王文慎经理的帮助,以此表示感谢。

References:

- [1] Hu J F, Shen F J. A survey of the studies on chemical constituents of *Glycyrrhiza* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与实践), 1996, 8 (3): 77-91.
- [2] Committee of National pharmacopoeia. *Thin layer Chromatography Images of Chinese Materia Medica* (中药薄层色谱彩色图集) [M]. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Publishing House, 1993.
- [3] Kang C, Wen L Y, Ding Z B, et al. Application of microemulsions to the thin layer chromatographic analysis of alkaloids [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2000, 28 (2): 137-141.
- [4] Kang C, Wen L Y, Ding Z B, et al. Studies on separation and identification of flavonoid composition with microemulsion thin layer chromatography [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2000, 20 (2): 121-125.
- [5] Kang C, Wen L Y, Ding Z B, et al. Studies on separation and identification of *Rhizoma Coptidis* drugs based on microemulsion thin layer chromatography [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25 (5): 262-265.
- [6] Cui S F, Fu B Q, Lee F S C, et al. Application of microemulsion thin layer chromatography fingerprinting of licorice (*Glycyrrhiza* spp.) [J]. *J Chromatogr B*, 2005, 828 (1-2): 33-40.

丹参不同提取工艺的研究

于沈晶,殷文广,修志龙*

(大连理工大学环境与生命学院 生物科学与工程系,辽宁 大连 116024)

丹参是唇形科鼠尾草植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根和根茎,具有祛瘀止痛、活血通经、清心除烦之功效,主治冠心病、心绞痛、心烦不眠、月经不调、经闭、痛经等症^[1]。丹参中主要含有以丹参酮和丹参醌为主的脂溶性二萜类化合物和以丹参酚酸为主的水溶性多聚酚酸类化合物。现有的丹参有效成分提取工艺,如水醇法、蒸馏法、石硫醇法、

透析法、离子交换法,往往只注重考察某种单一成分的量,忽略了多种成分的复合作用。本研究考察了不同的提取方法对丹参提取液体外抗氧化作用和体内耐缺氧能力的影响,希望能为丹参提取工艺的选择提供一些参考。

1 材料与仪器

丹参药材购于大连美罗大药房(产地:安徽亳

收稿日期:2006-08-02

作者简介:于沈晶(1979—),女,沈阳人,硕士研究生,主要从事中药成分分离提取及塑料降解的研究工作。

* 通讯作者 修志龙 Tel/Fax: (0411) 84706369 E-mail: zhixiu@dlut.edu.cn