

文章编号:1004—5570(2009)04—0105—04

吉祥草药材薄层色谱检测方法研究

周婵媛^{1,2}, 赵超^{2,3}, 陈华国^{2,3}, 周欣^{2,3}, 刘海^{1,2}

(1. 贵州大学 精细化工研究开发中心, 贵州 贵阳 550005; 2. 贵州师范大学 天然药物质量控制研究中心, 贵州 贵阳 550001; 3. 贵州师范大学 贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室, 贵州 贵阳 550001)

摘要:目的:建立吉祥草药材的薄层色谱鉴别方法。方法:吉祥草前处理后,分别以:1)氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(1.5:4:2.7:1);2)氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(2:4:2.4:1.2 下层)为展开剂,对吉祥草中割提皂苷元和割提5-B-D-吡喃葡萄糖皂苷进行薄层鉴别。结果:薄层色谱鉴别斑点清晰,能有效鉴别吉祥草中割提皂苷元和割提5-B-D-吡喃葡萄糖皂苷。

关键词:吉祥草;薄层色谱;割提皂苷元;割提5-O-β-D-吡喃葡萄糖皂苷
中图分类号:0657.7 **文献标识码:**A

Experimental research on TLC identification of *Reineckea carnea* (Andr.) Kunth

ZHOU Chan-yuan^{1,2}, CHEN Hua-guo^{1,3}, ZHOU Xin^{1,3*}, LIU Hai^{1,2}

(1. Research Center for Quality Control of Natural Medicines, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001, China; 2. Research and Development Center of Fine Chemicals of Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China; 3. Key Laboratory for Information System of Mountainous Areas and Protection of Ecological Environment, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001, China)

Abstract: Objective To establish methods of TLC identification for *Reineckea carnea* (Andr.) Kunth. Methods TLC identification and analysis was studied on the various extractions by different solvents. TLC system was performed for identifying kitigenin and neoaspidistrin respectively by :1) chloroform-ethyl acetate-methyl alcohol-water (1.5:4:2.7:1.1); 2) developed at room temperature with the phase of chloroform-ethyl acetate-methyl alcohol-water (1:2:1:0.2). Results TLC spots developed were fairly clear.

Key words: *Reineckea carnea* (Andr.) Kunth; TLC; kitigenin; kitigenin 5-O-β-D-glucopyranoside

吉祥草为百合科植物吉祥草(*Reineckia carnea* (Andr.) kunth)的全草,是我国西南地区常用的传统草药之一。以全草入药,全年可采,用于肺结核,

咳嗽咯血,慢性支气管炎,哮喘,风湿性关节炎;外用治跌打损伤,骨折等^[1]。作为贵州的常用苗药,吉祥草的各种制剂在临床上已取得较好疗效。近

收稿日期:2009-05-28

基金项目:贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目[黔科合中药专字[2006]5007号],贵州省科技计划项目(黔科合带帽字[2008]5005号)、贵州苗药公共技术服务建设[黔中小局发[2008]76号]

作者简介:周婵媛,女(1983.02-),汉族,贵州贵阳人,在读研究生,研究方向:天然产物化学。

*通讯作者:陈华国,男,硕士,讲师,研究方向:中药、民族药质量控制以及中药新药研发, E-mail:chenhuaguo1981@163.com

年来国内外关于吉祥草的研究报道主要是其化学成分方面的研究^[2,3,4],吉祥草质量标准的研究仅有[贵州省中药材、民族药材质量标准]关于其氯仿提取部位的薄层鉴别一篇报道^[5]。研究发现,吉祥草的甙体皂苷及甙体皂苷元有较强的生物活性,其中割提皂苷元等对环腺苷酸磷酸二酯酶的活性有抑制作用^[6-9]。本文在本实验室对吉祥草药材进行提取分离纯化其有效成分的基础上采用自制的割提皂苷元和割提 5-O- β -D-吡喃葡萄糖苷两个有效成分作为指标,首次建立了以有效成分进行吉祥草薄层色谱鉴别的方法,并对 10 批来自不同产地吉祥草药材进行鉴别,具有很好的实用意义,为其质量标准的建立提供依据。本实验方法可操作性强,简便易行,可用于吉祥草药材的鉴别及质量控制。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 GF254 预制硅胶板(青岛海洋化工厂分厂),赛多利斯 BP211 型电子天平(德国);双巢展开缸,FW-100 粉碎机, KQ-500DE 型数控超声清洗器,HH-6 型数显恒温水箱, RE-52 型旋转蒸发器,玻璃喷雾瓶(华西医科大学仪器厂),定量毛细管(迪马公司)

1.2 材料 割提皂苷元和割提 5-O- β -D-吡喃葡萄糖皂苷(自制)通过波谱解析技术(IR、¹H-NMR、¹³C-NMR、MS)分析,鉴定其结构;吉祥草药材(产地:贵州扎佐、贵阳、平镇、六枝、孟关、牛郎关;广西玉林;云南昭通;云南昆明)经贵州师范大学天然药物质量控制研究中心陈华国老师鉴定为吉祥草(*Reineckia carnea* (Andr.) kunth)的全草;乙醇、正丁醇、石油醚、乙酸乙酯、甲醇、氯仿、为分析纯;水为蒸馏水;自制 5% 硫酸乙醇溶液。

2 方法与结果

2.1 割提 5-O- β -D-吡喃葡萄糖皂苷的鉴别

将阴干后的吉祥草粉碎成粗粉,取药材粉末 2g,加入 75% 乙醇 60mL 水浴回流 2 次,每次 1h,滤过,合并滤液,将滤液浓缩近干,用水 40 mL 溶解,转移置分液漏斗中,用石油醚萃取 3 次(20 mL, 10 mL, 10 mL),弃去石油醚液,再用水饱和的正丁醇萃取 3 次(各 20 mL),分取正丁醇萃取液,挥去溶剂,残渣加 3mL 甲醇溶解,作为供试品溶液。精

表 1 吉祥草产地及收集时间

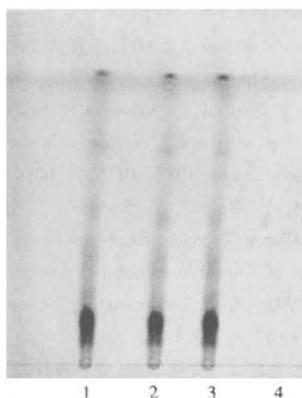
Tab. 1 Habitats and collection period of *Reineckia carnea* (Andr.) kunth

No.	产地	收集时间
1	云南昭通	2008. 8
2	云南昆明	2008. 8
3	广西玉林	2008. 6
4	贵州开阳县平镇	2008. 10
5	贵州修文县扎佐	2008. 10
6	贵阳牛郎关	2008. 3
7	贵州. 贵阳. 顺海.	2008. 3
8	贵州. 六枝	2008. 10
9	贵州. 贵阳. 孟关	2008. 3
10	贵州. 息烽	2008. 3

密称取割提 5-O- β -D-吡喃葡萄糖皂苷对照品适量,加甲醇制成每 1mL 含 0. 8mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版,附录 VI B)实验,吸取上述两种溶液液各 5 μ L 点样于预制硅胶 GF254 层析板上,将薄层板置展开缸中预饱和 15min 后,以氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(1:2:1:0.2),上行展开。展距约 10cm,取出,晾干,喷以 5% 硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,于可见光下观察,在相同的比移值处吉祥草供试液和割提 5-O- β -D-吡喃葡萄糖皂苷呈现相同颜色的斑点,见图 1。

2.2 割提皂苷元的鉴别

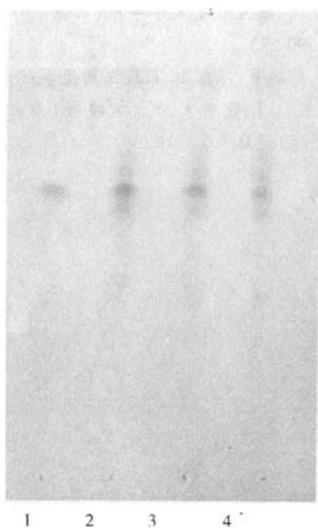
准确称取吉祥草粉碎样(40 目)5 g,加入 75% 的乙醇 60mL,置 L 水浴回流 2 次,每次 1h,合并提取液,过滤,滤液减压蒸馏至约 25 mL(无醇味)后,用乙醚萃取 3 次(除去脂溶性杂质),水饱和正丁醇水溶液萃取 3 次,将正丁醇层减压蒸干,残渣用水溶解,经一定量的 s-8 型大孔树脂吸附,先用水洗脱,除去糖类、蛋白质等水溶性杂质。再分别用 30%, 80% 的乙醇洗脱,收集 80% 部分洗脱液,合并,水浴蒸干。残渣用甲醇溶解,定容,作为供试品溶液。精密称取割提皂苷元对照品适量,加甲醇制成每 1mL 含 0. 8mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版,一部附录 VI B)实验,吸取上述两种溶液液各 5 μ L 点样于预制硅胶 GF254 层析板上,将薄层板置展开缸中预饱和 15 min 后,以氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(1.5:4:2.7:1),上行展开。展距约 10cm,取出,晾干,喷以 5% 硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,于可见光下观察,在相同的比移值处吉祥草供试液和割提皂苷元呈现相同颜色的斑点,见图 2。



展开系统:氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(2:4:2.4:1.2 下层)样品依次为:1,2,3 试液;4 割提 5-O- β -D-吡喃葡萄糖皂苷;显色方法:5% 硫酸乙醇溶液 105 $^{\circ}$ C 加热 5min 后日光下观察

图1 割提 5-O- β -D-吡喃葡萄糖皂苷对照品和吉祥草供试液薄层色谱图

Fig.1 TLC of kitigenin 5-O- β -D-glucopyranoside and sample solution



展开系统:氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(1.5:4:2.2:1)样品依次为:1 割提皂苷元;2,3,4 为供试液显色方法:5% 硫酸乙醇溶液 105 $^{\circ}$ C 加热 5min 后日光下观察

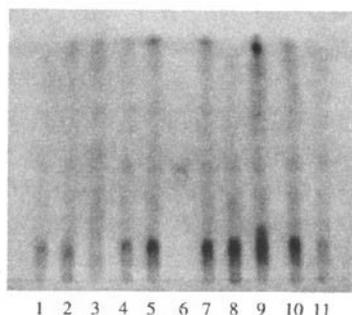
图2 割提皂苷元和吉祥草供试液薄层色谱图

Fig.2 TLC of kitigenin and sample solution

2.3 10批吉祥草样品薄层色谱图(图3,图4)

3 讨论

3.1 由于吉祥草中皂苷类化合物结构十分相似,

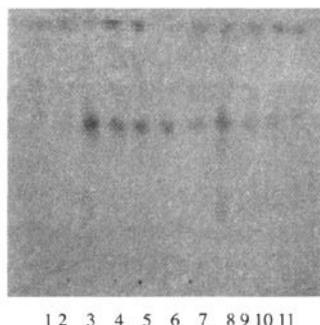


展开系统:氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(1:2:1:0.2)样品依次为:

1. 云南昭通;2. 云南.昆明;3. 广西.玉林;4 贵州.开阳.平镇;5. 贵州.修文.扎佐;6. 割提皂苷元对照品;
7. 贵州.牛郎关;8. 贵州.贵阳.顺海.;9. 贵州.六枝 10. 贵州.孟关. 11. 贵州.息烽

图3 割提 5-O- β -D-吡喃葡萄糖皂苷对照品和 10 批不同地方吉祥草供试液薄层色谱图

Fig.3 TLC of kitigenin 5-O- β -D-glucopyranoside and 10 batches of *Reineckia carnea* (Andr.) kunth



展开系统:氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(1.5:4:2.2:1)样品依次为:

1. 云南昭通; ;2. 云南.昆明;3. 广西.玉林 4. 贵州.开阳.平镇;5. 贵州.修文.扎佐;6. 割提皂苷元对照品;
7. 贵州.牛郎关;8. 贵州.贵阳.顺海;9. 贵州.六枝;10. 贵州.孟关;11. 贵州.息烽

图4 割提皂苷元对照品和 10 批不同地方吉祥草供试液薄层色谱图

Fig.4 TLC of kitigenin and 10 batches of *Reineckia carnea* (Andr.) kunth

在进行对照品薄层鉴别时,很难将所需化合物与其他杂质分开,干扰成分多,且硫酸显色的背景干扰大。因此对其薄层鉴别带来了很大的困难,本实验通过大量的薄层条件和样品的前处理方法的摸索试验,得出了薄层效果较好,重复性好的薄层条件。但由于吉祥草药材的色素较重,在考察割提皂苷元的薄层鉴别时,干扰严重,但通过用大孔树脂吸附并分别用水和不同比例的乙醇洗脱后,可除去

大部分杂质。提取方法考察了水浴回流和超声,其中回流提取效果较好。

考察了多种展开剂,分别选用氯仿-甲醇-水(8:2:0.2),(7:3:0.3);正丁醇-乙酸乙酯-水(1:1:2,上层),氯仿-正丁醇-甲醇-水(13:10:10:8,下层)等进行实验,层析效果均不理想。后分别用氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(1:2:1:0.2)和氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(1.5:4:2.7:1)作为为展开剂,分别鉴别吉祥草中的割提5-O- β -D-吡喃葡萄糖皂苷和割提皂苷元,各斑点分离较好,斑点清晰,且重显性较好。

3.2 实验对10批不同产地样品进行了鉴别,结果表明吉祥草药材因不同地方和不同时间采集导致其质量有所不同。从图3、图4看出,各地吉祥草药材供试液分别与割提5-O- β -D-吡喃葡萄糖皂苷和割提皂苷元两对照品在相同位置上的斑点显色情况不同。其中贵州各地的吉祥草药材差别较小,云南泽通及昆明地区的吉祥草药材的供试液中与对照品位置相同的斑点显色也较淡,而广西玉林收集的吉祥草药材其供试液中与对照品位置相同的斑点显色较明显。

3.3 综上所述,本法操作简便,方法稳定,专属性强,可作为吉祥草药材的质量的有效鉴别方法。

参考文献:

[1] 邱德文,杜江,田振华,等.中华本草苗药卷[M].贵阳:

贵州科技出版社.2005:254.

- [2] 刘海,吉祥草化学成分研究[D].贵州大学硕士学位论文,2008:16-34.
- [3] K. Iwagoe, T. Konishi, S. Kiyosawa. Studies on the constituents of the aerial parts of *Reineckia carnea* Kunth [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1987, 107(2): 140-149.
- [4] T. Kanmoto, Y. Mimaki, Y. Sashida, T. Nikaido, K. Koike, T. Ohmoto. Steroidal constituents from the underground parts of *Reineckea carnea* and their inhibitory activity on cAMP phosphodiesterase [J]. *Chem. Pharm. Bull.*, 1994, 42(4): 926-931.
- [5] 贵州省药品监督管理局编.贵州省中药材、民族药材质量标准[S].贵阳:贵州科技出版社2003:151.
- [6] Kanmoto T, et al.. *Recurvosides A -E*, new polyhydroxylated steroidal saponins from *Nolina recurvata* stems on Tetrahydro [J]. *Chem Pharm Bull*, 1994, 42(4): 926.
- [7] 曹晖,肖艳华,王绍云,等.油桐叶和根化学成分的研究[J].西南师范大学学报(自然科学版),2008,33(2): 30-32.
- [8] 彭镡心,刘圆,瞿燕,等.通舒口服液液中丹参和川芎的薄层鉴别[J].西南农业大学学报(自然科学版),2005, 27(5):590-595.
- [9] 邓国栋,郁建平,郑宝山. TLC法测定茶叶多糖日单糖组成研究[J].西南农业大学学报(自然科学版), 2004,26(6):703-705.