

微乳薄层色谱在中药成分分析中的应用

房德敏¹, 高颖¹, 严震², 周波²

1. 天津市天津医院 药剂科, 天津 300211

2. 天津医科大学, 天津 300385

摘要: 微乳薄层色谱展开效果好、色谱性能稳定、重现性良好, 已用于中药材、中药饮片和中成药中黄酮、皂苷、生物碱和糖类等成分的分离鉴定。随着现代分析手段的逐步规范, 微乳薄层色谱也应逐步走向规范化, 在分析过程中, 借鉴各种优化方法对影响微乳薄层色谱行为的因素进行筛选, 提高分析效能, 拓宽其在中药成分分析中的应用范围。从微乳薄层色谱法的特点和优势、微乳液形成规律、所分析成分的种类、品种分布、微乳液的种类及其比例等方面综述微乳薄层色谱在中药成分分析中的应用进展, 为中药(单味和复方)专属性鉴别方法的研究提供参考。

关键词: 微乳薄层色谱; 中药; 微乳液; 分析; 薄层色谱

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)09-1852-05

Application of microemulsion thin layer chromatography in analysis on constituents of Chinese materia medica

FANG De-min¹, GAO Ying¹, YAN Zhen², ZHOU Bo²

1. Department of Pharmacy, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China

2. Tianjin Medical University, Tianjin 300385, China

Key words: microemulsion thin layer chromatography (METLC); Chinese materia medica (CMM); microemulsion; analysis; thin layer chromatography (TLC)

薄层色谱法是药物分析中广为应用的经典方法, 随着现代分析技术的不断发展, 薄层色谱技术也向着更灵敏、更准确的方向发展。近年来, 微乳在药学领域中的研究日益增多, 从作为给药体系到用于天然药物的提取和分离鉴定, 从化学药物到中药材、中药饮片和中药制剂, 研究的深度和广度不断拓展。胶束体系和微乳体系皆属含表面活性剂的缔合胶体, 微乳薄层色谱(microemulsion thin layer chromatography, METLC)是对传统薄层色谱方法的提高和改进, 其在中药有效成分的分析中所显示的优势使其逐渐成为中药色谱分析中研究的热点之一。微乳是由表面活性剂(surfactant)、助表面活性剂(cosurfactant)、油和水按适当比例自发形成的无色透明、各向同性、低黏度的热力学稳定体系。微乳体系较胶束体系具有更大的增溶量和超低界面张力, 更有利于提高色谱的分离效率。本文结合微乳液形成规律的相关研究, 分别从微乳薄层色谱的特

点和优势、应用现状等方面对微乳薄层色谱在中药成分分析中的应用价值进行概述, 为中药(包括单味和复方)专属性鉴别方法的研究提供参考。

1 微乳薄层色谱法用于中药成分分析的特点和优势

近 10 年来, 已有 30 余篇文献报道应用微乳液作为薄层色谱的展开剂, 收到了良好的效果。微乳薄层色谱作为新兴的鉴别方法, 在中药有效成分的分析中越来越显示出独特的优势: ①分离效果显著增高, 能够提供较多的化学信息, 反映原料与制剂间的关系, 可作为中药制剂质量控制中指纹图谱建立的参考方法; ②避免了传统薄层色谱法中不同极性溶剂提取分离、多次萃取等繁琐步骤, 可大大节省实验时间和提高实验结果的重复性; ③对性质结构差别较大和差别细微的各类组分可同时进行分离鉴定, 克服了经典薄层色谱方法一次只能鉴定某单一成分的缺点; ④微乳液点样量更小, 使斑点的荧光强度得到明显的增强, 因而检测的灵敏度也

收稿日期: 2011-01-12

作者简介: 房德敏(1962—), 女, 天津市人, 主任药师, 研究方向为药事管理与临床药学。

Tel: (022)28317052 Fax: (022)28312613 E-mail: fdm-wx@sohu.com

得以提高,斑点清晰、圆而集中、不拖尾;⑤不使用刺激性强、挥发性大的有机溶媒,减少了环境污染,降低了实验成本。

2 微乳液形成规律的相关研究

在配制微乳液时,各个相之间的组成和比例对微乳液的稳定性、结构和展开效果影响较大。因此,研究微乳液的形成规律具有极其重要的理论价值和实际意义,可为微乳液的开发应用提供一定的理论指导。微乳液中常用的表面活性剂分为:阴离子表面活性剂,如十二烷基硫酸钠(SDS)、十六烷基磺酸钠(AS);阳离子表面活性剂,如十六烷基三甲基溴化铵(CATB)、氯化十六烷基吡啶(CPC)、双十八烷基二甲基氯化铵(DOD-MAC);两性表面活性剂,如十二烷基甜菜碱($C_{12}BE$);非离子型表面活性剂,如聚氧乙烯月桂醚(Brij35)。助表面活性剂通常为 $C_4\sim C_8$ 的一元醇,如正丁醇、正丙醇、异丙醇、异戊醇、正戊醇等。油相通常为正己烷、环己烷、正庚烷、正辛烷、正辛醇等。

在合适的条件下,筛选表面活性剂、油和助表面活性剂及其配比能够实现以较低的表面活性剂的用量形成微乳。一般微乳形成的区域大小与表面活性剂和助表面活性剂的总量成正比,与油的用量成反比,与助表面活性剂的用量成反比。马超平等^[1]以铁氰化钾为电化学探针,用循环伏安法测定了十二烷基三甲基溴化铵(DTAB)-醇-庚烷-水体系微乳液的扩散系数,同时用电导率法研究了微乳液的结构及结构变化,考察了醇的种类、质量分数对微乳区形成的影响;绘制了不同条件下DTAB微乳体系的拟三元相图,并探讨了体系的微乳化作用规律。结果表明,当醇(正丁醇)固定时,随着醇量增加,微乳区面积先增大后减小;醇的链长不同,体系的微乳区类型及面积分数均不同,随着醇碳链的增长,微乳区面积先增大后减小。当使用SDS-正丁醇-正庚烷-水体系时,要形成W/O型的微乳液,配比应该遵循:正丁醇的质量分数在25%~60%,正庚烷的质量分数在0~80%,同时含水量增加,对微乳液体系的稳定不利;含水量越低,越有利于微乳液的形成和稳定^[2]。王玉林等^[3]发现表面活性剂浓度越大,得到的中相微乳液体积越大,形成中相微乳液时需要醇的量明显增加,但其消失时需要的醇量较小。中相微乳液形成和消失时对应的单位质量表面活性剂需要的醇量随表面活性剂浓度的增加而减小,烷烃碳链越短、脂肪醇碳链越长、盐溶液浓度

越大,越有利于中相微乳液的形成。侯长军等^[4]也证明了当使用CTAB-正丁醇-正辛烷-水体系形成W/O型微乳液时,助表面活性剂、有机溶剂、盐溶液质量浓度对该微乳液体系的微乳区域都会产生影响,温度对微乳区域几乎没有影响;且当CTAB-正丁醇质量比为1:2,(CTAB+正丁醇)-正辛烷质量比为4:6时(滴加蒸馏水前),能够得到较大且稳定的微乳区域。对于单一醇体系,在一定链长范围内,醇类作为助表面活性剂,链长的比链短的醇具有更好的助表面活性作用。主要原因是随着醇碳链长度增加,其疏水作用增强,对于油的增溶能力增加,使微乳区域的面积增大。因此,选择正戊醇作为研究体系的助表面活性剂较好^[5]。

3 微乳薄层色谱在中药成分分析中的应用现状

3.1 分析成分的种类及品种分布

表1列出了近10年微乳薄层色谱在中药成分分析中的应用现状。可见,微乳薄层色谱已用于中药中黄酮、皂苷、生物碱等成分的分离鉴定。从检测指标的选择来看,大多以分析黄酮类成分为主。对于复方制剂中性质差别小的组分分离效果较好,如三黄颗粒中的大黄酸和大黄素。

3.2 微乳液的组成及比例

微乳液是一个复杂的多组分体系,可变因素较多,明确哪些因素对色谱分离的选择性有重要影响而哪些因素相对较小,对提高分离效率至关重要。在近10年的文献报道中,微乳展开剂除水外,绝大部分是由SDS-正丁醇-正庚烷所构成,李琳等^[23]以SDS-正丁醇-正庚烷(27:63:10)分离鉴别黄蜀葵花;刘连芬等^[14]以SDS-正丁醇-正庚烷(39:52:9)分离鉴别肥肉草;刘德芳等^[18]以SDS-正丁醇-正己烷按(13.77:15.6:2.7)分离鉴别银杏叶;用于甘草鉴别的最佳微乳(0.23 mol/L SDS+16%正丁醇+11%甲醇+2.4%正庚烷)展开剂在室温下可稳定4个月以上^[26]。另外,在微乳展开剂中添加改性剂能消除斑点的拖尾,改善分离效果,常用的改性剂有甲醇、无水乙醇、甲酸、乙酸、醋酸乙酯、丙酮、乙酰丙酮等。

薄层色谱鉴别中指标性成分的选择与微乳液组成见表2。可见,SDS-正丁醇-正庚烷(27:63:10或39:52:9)在微乳展开剂中所占的比例较高,用于分离鉴定黄酮类、生物碱和蒽醌类成分等。现有对微乳展开剂的优化方法的选择大多从单纯改变含水量进行考察,如70%~75%含水量的微乳体系最

表 1 微乳薄层色谱在中药成分分析中的应用

Table 1 Application of METLC in analysis on constituents of CMM

类型	中 药	检测指标
中 药 材 及 其 加 工 品	银杏叶 ^[6] 、金钱草和风寒草 ^[7] 、板栗壳 ^[8] 、青梅 ^[9-10] 、菟丝子 和苦丁茶 ^[11] 、桑叶 ^[12]	芦丁
	苦荞 ^[13] 、肥肉草 ^[14] 、栎树叶、果实和果壳 ^[15] 、槐花、槐米、 炒槐米、槐角、槐角炭 ^[16-17] 、银杏叶 ^[18] 、火棘叶和果实 ^[19] 、 罗布麻叶 ^[20] 、山楂 ^[21]	芦丁、槲皮素
	杜仲花、叶、皮和种子及其产品 ^[22]	槲皮素、杜仲黄酮 A、杜仲黄酮 B
	黄芩、酒黄芩 ^[16]	黄芩苷
	罗布麻叶 ^[20]	异槲皮苷
	山楂 ^[21] 、黄蜀葵花 ^[23] 、无梗五加果 ^[24]	金丝桃苷
	金银花 ^[25]	绿原酸
	不同种类及不同产地的甘草 ^[26]	甘草苷、甘草查耳酮甲
	葛根和葛花 ^[27]	葛根素、大豆苷元
	化橘红 ^[28]	柚皮苷
	槐米 ^[29]	糖类
	黄连及其炮制品 ^[30]	盐酸药根碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀
中药制剂	银杏叶注射剂 ^[6]	芦丁
	复方芦丁片 ^[16]	芦丁、槲皮素
	银黄片、银黄口服液、牛黄解毒片、防风通圣丸、清热解毒 口服液、双黄连口服液 ^[16]	黄芩苷
	香连丸、万氏牛黄清心丸、万应胶囊、消渴灵颗粒、石斛夜 光丸、颈复康冲剂 ^[30]	盐酸药根碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀
	抗感冒颗粒剂、防风通圣丸 ^[31]	黄芩苷、绿原酸、大黄素、大黄酚、 防风、甘草
	复方石韦胶囊 ^[32]	苦参碱和氧化苦参碱、黄芪甲苷
	三黄颗粒 ^[33]	大黄酸、大黄素、大黄酚、黄芩苷、 绿原酸、小檗碱
	苏氏接骨胶囊 ^[34]	柚皮苷、菟丝子

适合黄酮类化合物的鉴别分离。崔淑芬^[35]对微乳薄层色谱的优化方法进行了探索,提出了“单纯形法优化改性胶束辅助微乳展开剂优化法”。

4 结语与展望

薄层鉴定是中药及其制剂质量控制中常用的方法之一,微乳色谱作为常规色谱的补充,在中药材品种鉴别、药材定性鉴别、定量、成分研究、中药质量标准的制定与改进等方面应用广泛。目前,微乳展开剂的优化方法尚无系统的理论指导,含水量

改变的优化方法只能改变微乳各成分的绝对浓度,而微乳各成分的相对比例没有改变,存在明显的缺陷。另外,微乳各成分的改变对分离选择性的影响方面报道较少,难以得出具体结论,有待进一步深入研究。随着现代分析手段的逐步规范,微乳薄层色谱也应逐步走向规范化,在分析过程中,借鉴各种优化方法对影响微乳薄层色谱的因素进行筛选,提高薄层色谱的分析效能,不断完善中药材及其制剂的质量标准,拓宽其在中药分析中的应用前景。

表 2 微乳薄层色谱在中药鉴别应用中微乳液组成及比例

Table 2 Constituents and ratios of microemulsion in METLC application to CMM identification

微乳液种类及各组分比例		指标成分	来源	参考文献
SDS-正丁醇-正庚烷 (27:63:10)	黄酮类	芦丁	金钱草、风寒草、菟丝子、苦丁茶	7, 11
		芦丁、槲皮素	苦荞、槐花、槐米、炒槐米、槐角、槐角炭、复方芦丁片	13, 16
		芦丁、槲皮素、异槲皮苷	罗布麻叶	20
		金丝桃苷	黄蜀葵花	23
		黄芩苷	黄芩、酒黄芩、银黄片、银黄口服液、牛黄解毒片、清热解毒口服液、双黄连口服液、抗感冒颗粒剂、防风通圣丸、三黄颗粒	16, 31, 33
	生物碱类	葛根素、大豆苷元	葛根和葛花	27
		柚皮苷	化橘红、苏氏接骨胶囊	28, 34
		苦参碱和氧化苦参碱	复方石韦胶囊	32
		盐酸小檗碱	三黄颗粒	33
		盐酸药根碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀	黄连及其炮制品、香连丸、万氏牛黄清心丸、万应胶囊、消渴灵颗粒、石斛夜光丸、颈复康冲剂	30
	有机酸	绿原酸	金银花、抗感冒颗粒剂、三黄颗粒	25, 31, 33
	苷类	黄芪甲苷	复方石韦胶囊	32
	蒽醌类	大黄酸、大黄素、大黄酚	防风通圣丸、三黄颗粒	31, 33
	糖类	D-果糖、D-葡萄糖、D-半乳糖、L-鼠李糖、D-木糖、D-甘露糖、L-阿拉伯糖	槐米芸香苷水解糖	29
SDS-正丁醇-正庚烷 (39:52:9)	黄酮类	芦丁	银杏叶、银杏叶注射剂、板栗壳、青梅、桑叶	6, 8-10, 12
		芦丁、槲皮素	肥肉草、栎树叶、果实和果壳、火棘叶和果实	14-15, 19
		芦丁、槲皮素、金丝桃苷	山楂	21
		槲皮素、杜仲黄酮 A、杜仲黄酮 B	杜仲花、叶、皮和种子及其产品	22
SDS-正丁醇-正庚烷 (13.77:15.6:2.7)	黄酮类	芦丁、槲皮素	银杏叶	18
SDS-正丁醇-正己烷 (27:63:10)	黄酮类	芦丁、槲皮素	槐米	17
0.23 mol/L SDS-16%正丁醇-11%甲醇-2.4%正庚烷	黄酮类	甘草苷、甘草查耳酮甲	不同种类及不同产地的甘草	26
CTAB-正丁醇-正庚烷 (2.25:6.75:1.0)	有机酸	绿原酸	金银花	25
	黄酮类	柚皮苷	化橘红	28
CPC-OP-正戊醇-正己烷-水 (8.5:7.4:1.9:0.8:167.4)	有机酸	绿原酸	金银花	25
	黄酮类	柚皮苷	化橘红	28

参考文献

- [1] 马超平, 莫春生, 廖勇, 等. 十二烷基三甲基溴化铵/醇/庚烷/水微乳化作用研究 [J]. 日用化学工业, 2008, 38(2): 74-78.
- [2] 冯建, 张朝平. 十二烷基硫酸钠/正丁醇/正庚烷/水微乳液性质研究 [J]. 日用化学工业, 2007, 37(1): 5-9.
- [3] 王玉林, 解爱华, 冯一民. 十二烷基磺酸钠/醇/烷/NaCl水溶液四元体系微乳液相行为研究 [J]. 浙江化工, 2008, 39(8): 10-14.
- [4] 侯长军, 刁显珍, 唐一科, 等. 十六烷基三甲基溴化铵/正丁醇/正辛烷/水油包水型微乳体系的相行为 [J]. 化学工程, 2008, 36(4): 41-44.
- [5] 李瑞, 梁杰. 双生表面活性剂/醇/烷/水微乳液体系的研究 [J]. 贵州科学, 2008, 26(4): 18-22.
- [6] 刘珍, 梁冰, 赵志刚, 等. 银杏叶提取液及注射剂的微乳薄层色谱分析法研究 [J]. 中华实用医药杂志, 2005, 5(9): 841-842.
- [7] 付泽华, 杜颖川, 仲开德, 等. 微乳薄层色谱用于金钱草中黄酮类成分分离鉴定 [J]. 现代医药卫生, 2009, 25(7): 1039-1040.
- [8] 刘义庆. 板栗壳中黄酮类生物活性成分的提取与微乳薄层分离分析 [J]. 江汉大学学报: 自然科学版, 2008, 36(4): 33-35.
- [9] 韩明, 曾庆孝, 肖更生, 等. 青梅黄酮类化合物的微乳薄层色谱分离鉴定 [J]. 林产化学与工业, 2006, 26(2): 53-56.
- [10] 韩明, 曾庆孝, 肖更生, 等. 微乳层析分离鉴定青梅提取物中的黄酮类成分 [J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2005, 33(6): 85-88.
- [11] 郭浩杰. 两种中药黄酮类成分的微乳薄层色谱鉴别 [J]. 浙江中医杂志, 2010, 45(1): 51-53.
- [12] 李升锋, 徐玉娟, 陈智毅, 等. 微乳薄层层析法分离桑叶中的黄酮类化合物 [J]. 食品科学, 2008, 29(6): 87-89.
- [13] 周瑞雪. 苦荞总黄酮提取分离及质量控制研究 [D]. 太原: 山西医科大学, 2006.
- [14] 刘连芬, 钱关泽, 杨淑贞. 肥肉草黄酮的提取及微乳液薄层分析 [J]. 聊城大学学报: 自然科学版, 2008, 21(4): 66-69.
- [15] 梁淑芳, 韩冰, 帖周峰, 等. 栎树黄酮类化合物的提取及微乳薄层色谱分析 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(1): 186-190.
- [16] 康纯, 闻莉毓, 丁仲伯. 微乳薄层色谱用于黄酮类成分分离鉴定的研究 [J]. 药物分析杂志, 2000, 20(2): 121-124.
- [17] 周璇, 宋粉云, 钟兆健. 薄层色谱扫描法测定槐米中的芦丁和槲皮素 [J]. 中国实验方剂杂志, 2006, 12(8): 14-16.
- [18] 刘德芳, 王伯初. 银杏叶黄酮的微乳高效薄层色谱指纹图谱 [J]. 重庆大学学报: 自然科学版, 2005, 28(10): 115-118.
- [19] 梁淑芳, 马绒利, 马柏林. 火棘黄酮类化合物的提取及微乳薄层色谱分离鉴定 [J]. 西北林学院学报, 2003, 18(3): 60-62.
- [20] 韩利文. 中药罗布麻叶及其有效部位的质量控制方法研究 [D]. 太原: 山西医科大学, 2005.
- [21] 梁淑芳, 马耀光, 马柏林. 山楂黄酮的薄层色谱分离鉴定研究 [J]. 林产化学与工业, 2003, 23(4): 86-88.
- [22] 马柏林, 梁淑芳, 董娟娥, 等. 杜仲黄酮的微乳薄层色谱分离鉴定研究 [J]. 西北林学院学报, 2001, 16(2): 72-74.
- [23] 李琳, 刘志辉, 钱芳. 黄蜀葵花药材黄酮类成分的微乳薄层色谱定性鉴别研究 [J]. 中国新药杂志, 2009, 18(5): 451-453.
- [24] 冯颖, 孟宪军, 王建国, 等. 无梗五加果多糖与黄酮类化合物的研究 [J]. 林产化学与工业, 2007, 27(4): 51-54.
- [25] 戈早川, 王淑红, 熊英. 金银花的微乳液薄层色谱分离方法研究 [J]. 分析实验室, 2003, 22(增刊): 184-186.
- [26] 崔淑芬, 林焕冰, Lee F S C, 等. 微乳薄层色谱法鉴别甘草的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(4): 540-542.
- [27] 张亚梅, 王俊儒, 张普照, 等. 葛根异黄酮的快速分离检测方法研究 [J]. 西北植物学报, 2006, 26(4): 819-822.
- [28] 戈早川, 熊英, 王淑红. 微乳液薄层色谱用于化橘红药材分离鉴定的研究 [J]. 分析实验室, 2003, 22(增刊): 155-157.
- [29] 孙悦, 张茜, 毕静文, 等. 微乳薄层色谱用于糖分离的研究 [J]. 化学分析计量, 2010, 19(1): 74-76.
- [30] 康纯, 闻莉毓, 丁仲伯, 等. 微乳薄层色谱用于黄连类药物分离鉴定的研究 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(5): 262-265.
- [31] 闻璃毓, 康纯. 微乳 TLC 同时分离鉴定 2 种成药的多种成分 [J]. 中成药, 2001, 23(2): 94-96.
- [32] 孙悦, 叶建成, 梁生旺, 等. 微乳液在苦参其中成药薄层色谱分析中的应用研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 2018-2020.
- [33] 郎铁咏, 王强, 张晓莉, 等. 三黄颗粒的微乳薄层色谱法鉴别 [J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(6): 469-472.
- [34] 高颖, 房德敏, 王巨存, 等. 苏氏接骨胶囊中骨碎补和菟丝子的质量控制 [J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(4): 333-335.
- [35] 崔淑芬. 微乳薄层色谱及其在中药甘草指纹图谱质量控制方面的应用研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2006.