

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.23.013

石榴皮药材的快速多信息梯度薄层鉴别方法

付莉¹, 韩桂茹^{1△}, 兰新财², 赵丽丽²

(1. 河北省药品检验研究院, 河北 石家庄 050011; 2. 浙江金大康动物保健品有限公司, 浙江 金华 301016)

摘要:目的 建立石榴皮药材的快速、多信息薄层鉴别方法。方法 采用薄层色谱(TLC)法进行定性鉴别, 分别以环己烷-乙酸乙酯-浓氨试液(5:3:0.5, V/V/V)、三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(8:2:4:0.5, V/V/V/V)和三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(1:2:4:0.5, V/V/V/V)为梯度展开剂, 通过紫外光灯(365 nm)、日光和透过灯光检视石榴皮的信息斑点。结果 共检出脂溶性、中极性和水溶性成分斑点17个。结论 该方法简便、快捷、实用, 可多指标、快速鉴别石榴皮药材的真伪, 控制质量。

关键词:石榴皮; 多信息; 梯度展开剂; 薄层色谱法; 质量控制

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)23-0049-03

Identification of *Granati Pericarpium* by Rapid and Multi-Information TLC Method with Gradient Developer

FU Li¹, HAN Guiru¹, LAN Xincan², ZHAO Lili²

(1. Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang, Hebei, China 050011; 2. Zhejiang Jindakang Animal Health Products Co., Ltd., Jinhua, Zhejiang, China 301016)

Abstract: Objective To establish a rapid and multi-information thin layer chromatography(TLC) method for the identification of *Granati Pericarpium*. **Methods** TLC method was used for qualitative identification. Spots of *Granati Pericarpium* were viewed under UV (365 nm), the daylight and the lights respectively with cyclohexane-ethyl acetate-strong ammonia solution(5:3:0.5, V/V/V), trichloromethane-ethyl acetate-methanol-strong ammonia solution(8:2:4:0.5, V/V/V/V), trichloromethane-ethyl acetate-methanol-strong ammonia solution(1:2:4:0.5, V/V/V/V) were taken as gradient developer solution respectively. **Results** A total of 17 component spots of the liposolubility, intermediate polar and water-soluble from *Granati Pericarpium* were detected. **Conclusion** This method is simple, rapid and practical, which can be used to identify the authenticity of *Granati Pericarpium* rapidly with multiple indexes and control its quality.

Key words: *Granati Pericarpium*; multi-information; gradient developer; TLC; quality control

石榴皮是临床止泻常用药材, 具有涩肠止泻^[1-3]、带下、虫积腹痛。其主要含鞣质类和黄酮类化合物^[5], 如止血、驱虫^[4]之功效, 用于久泻、久痢、便血、脱肛、崩漏、没食子酸、鞣花酸等, 黄酮类化合物包括木犀草素、山奈

第一作者: 付莉, 女, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为中药检验及质量标准, (电话)0311-67305193(电子信箱)374574128@qq.com。

△通信作者: 韩桂茹, 女, 大学本科, 主任药师, 研究方向为中药新药开发与质量标准, (电子信箱)hanguiru@126.com。

置上显相同的棕红色荧光斑点; 在与黄芩对照药材溶液色谱相应位置上显相同的蓝色荧光斑点; 在与甘草苷对照品溶液色谱相应位置上显相同的黄色荧光斑点。展开剂为乙酸乙酯-丙酮-无水甲酸-水供试品溶液色谱有条带重叠, 且整体 R_f 值较高; 展开剂为乙酸乙酯-正丁醇-无水甲酸-水, 各条带虽分离相对较好, 但展开系统中含有正丁醇, 气味较大, 且有神经毒性; 展开剂为乙酸乙酯-丙酮-无水甲酸-水时, 各条带分离度好, 整体 R_f 较合理。故选择乙酸乙酯-丙酮-无水甲酸-水作为“一板多药”鉴别的展开系统。

综上所述, 所建立的“一板多药”鉴别方法, 简单、高效, 专属性强, 可同时定性鉴别小柴胡颗粒中的柴胡、黄芩、甘草, 完善和提升了其质量标准。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 574-577.

- [2] 吴秀清, 周娟. 小柴胡颗粒质量标准研究[J]. 中国药业, 2009, 18(18): 31-32.
- [3] 张惠萍, 方宜. 小柴胡颗粒质量控制方法的研究[J]. 中国药业, 2004, 13(9): 39-40.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 374-377.
- [5] 刘莉, 李婷婷, 王欣, 等. 安神补心片的薄层色谱鉴别[J]. 中国药业, 2019, 28(19): 43-45.
- [6] 宋国红, 李卿. 川牛膝药材及其成方制剂薄层鉴别方法研究[J]. 中国药业, 2018, 27(11): 25-26.
- [7] 李腾, 高展, 孙玉侠, 等. 柴胡及其制剂中皂苷类成分的研究[J]. 中成药, 2011, 33(11): 1840-1843.
- [8] 刘密新, 吴筑平, 杨成对, 等. 中药复方中柴胡皂苷 A 和 D 的 LC/MS/MS 研究[J]. 质谱学报, 2000, 21(3): 77-78.
- [9] The Japanese Pharmacopoeia Commission. The Japanese Pharmacopoeia(17th Edition)[M]. Tokyo: Ministry of Health, Labour and Welfare, 2016: 1988-1990.

(收稿日期: 2020-05-08; 修回日期: 2020-06-26)

酚、槲皮素、芹菜素和柚皮素及其与糖结合成的苷类等,包括脂溶性、中极性和水溶性成分。石榴皮的薄层鉴别鲜有报道,目前多以鞣酸类成分为指标^[6-8],以酸性展开剂进行鉴别。2015 年版《中国药典(一部)》石榴皮药材的薄层鉴别方法^[9]烦琐、费时,且需有机溶剂 110 mL。有机溶剂的蒸干严重污染环境,且检测信息单一,不利于质量的控制。若供试品溶液不经反复萃取、除杂、排除鞣酸聚合物,以酸性展开剂展开的薄层色谱图中都会出现部分斑点拖尾^[6],很难获得所有斑点都分离良好的色谱图。为给石榴皮药材及其不同工艺制备的多种制剂提供简便、快捷、低成本、高效率的多信息鉴别方法,本研究中对 10 批石榴皮药材进行了快速多信息梯度薄层鉴别研究。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

KH-100B 型超声波清洗仪(昆山禾创超声仪器有限公司,功率为 200 W,频率为 50 kHz);2F-2 型三用紫外仪(上海安亭电子仪器厂);AX205DU 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司,精度为万分之一)。

1.2 试药

石榴皮药材由浙江金大康保健品有限公司提供,经河北省药品检验研究院段吉平中药师鉴定为正品;石榴皮对照药材(批号为 121043-201304,中国食品药品检定研究院);环己烷、乙酸乙酯、甲醇、三氯甲烷(分析纯,天津市百世化工有限公司);浓氨试液(分析纯,石家庄市华迪化工工贸有限公司)。

2 方法与结果

2.1 石榴皮药材脂溶性成分

取石榴皮药材和对照药材各 0.5 g,研细,分别加 70% 甲醇 2 mL,超声处理 20 min,取上清液作为供试品溶液和对照药材溶液。吸取供试品溶液和对照药材溶液各 6~8 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-浓氨试液(5:3:0.5, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试

品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光主斑点;再喷以 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,供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光主斑点;再在日光下检视,供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的主斑点。详见图 1。

2.2 石榴皮药材中极性成分

吸取 2.1 项下供试品溶液和对照药材溶液各 6~8 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(8:2:4:0.5, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视,供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光主斑点;再喷以 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,供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光主斑点;再置暗室内透过灯光检视,供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的主斑点。详见图 2。

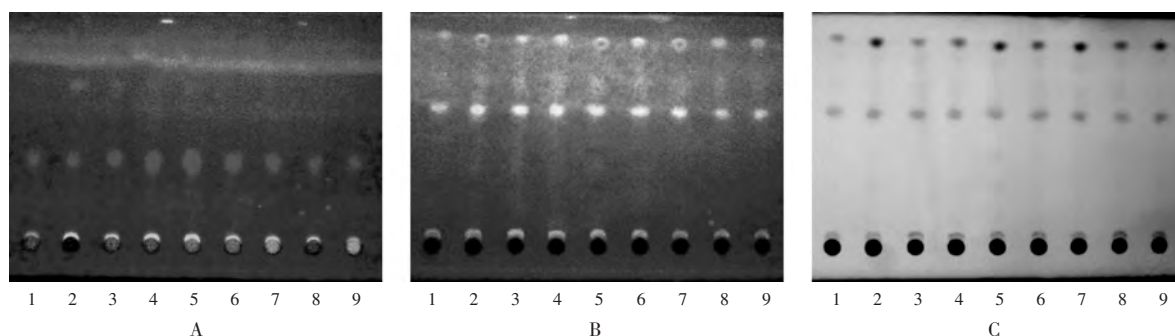
2.3 石榴皮药材水溶性成分

吸取 2.1 项下供试品溶液和对照药材溶液各 6~8 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(1:2:4:0.5, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光主斑点;再喷以 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,供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光主斑点;再置暗室内透过灯光检视,供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的主斑点。详见图 3。

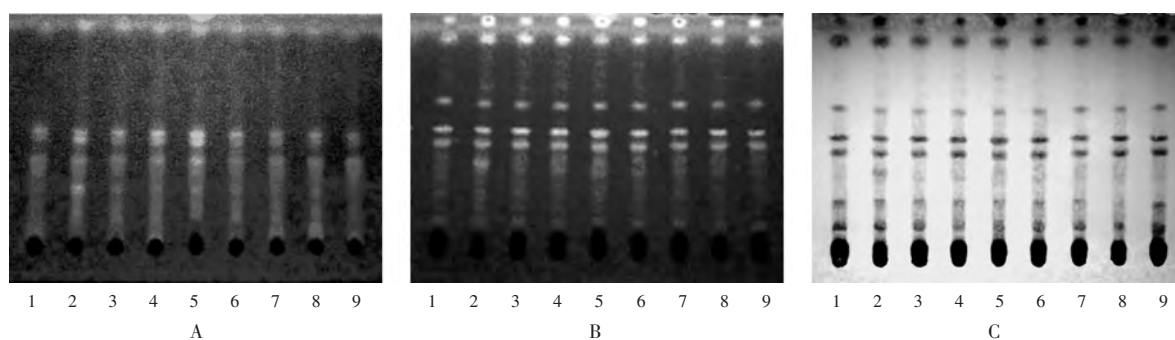
3 讨论

3.1 定义中药材梯度多信息薄层鉴别

是将高效液相梯度洗脱的含义引申到中药薄层鉴

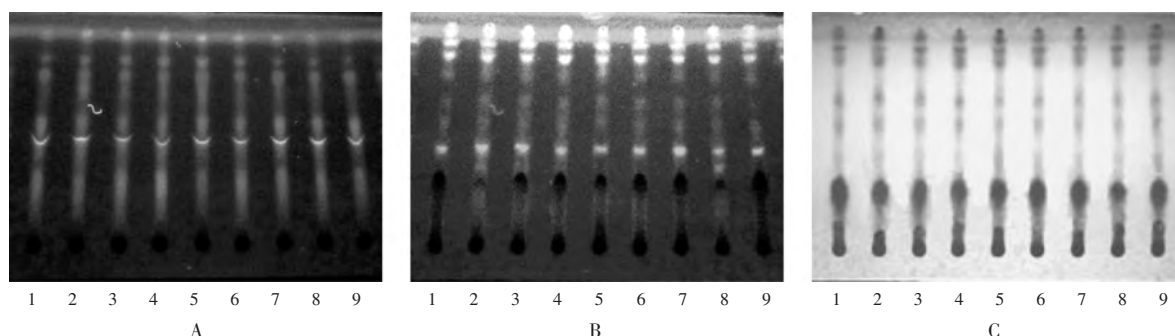


1. 对照药材溶液 2~9. 石榴皮药材溶液
A. 365 nm 紫外光灯下 B. 显色后 365 nm 紫外光灯下 C. 显色后日光下
图 1 石榴皮脂溶性成分薄层色谱图



1. 对照药材溶液 2~9. 石榴皮药材溶液
A. 365 nm 紫外光灯下 B. 显色后 365 nm 紫外光灯下 C. 显色后暗室内灯光下

图2 石榴皮中极性成分薄层色谱图



1. 对照药材溶液 2~9. 石榴皮药材溶液
A. 365 nm 紫外光灯下 B. 显色后 365 nm 紫外光灯下 C. 显色后暗室内灯光下

图3 石榴皮水溶性成分薄层色谱图

别领域,将中药材中的脂溶性、中极性、水溶性成分,依据相似相溶的溶解定律,按非极性、中极性、极性的梯度顺序,将药材中的大部分有效成分,按极性大小,在极少数的薄层板上,多种检视条件下,获得尽可能全的斑点信息图谱,得到从脂溶性成分到水溶性成分的多信息薄层色谱图和鉴别方法。

3.2 3种不同极性的梯度展开剂选择

在3块薄层板上,检出的主斑点是不一样的,说明检出的是极性不同的成分;且每块薄层板上,各自3种检视条件下,检出的成分不完全相同;由图3A至图3B可知,亮蓝色荧光斑点形状不同,证明不是同一种成分,发挥了不同检视条件下的信息斑点互补;3块薄层板共检出互不重合的信息斑点17个,经确认这些斑点均无没食子酸。

3.3 优势

本方法简便、快捷,药材与对照药材只需用含水甲醇超声处理,上清液点样,展开,在不同检视条件下检视即可;只需药材与对照药材各0.5g,前处理溶剂4mL,时间20min,与2015年版《中国药典(一部)》记载的石榴皮薄层鉴别需药材3g、提取溶剂110mL、总提取溶剂220mL(加上对照药材的提取)、时间3h、且斑点单一相比,该薄层鉴别方法具有节约资源、提高效率、减少环境污染、提升质量监督指标的实用价值。本鉴别方法

与已报道方法的不同之处还在于,非极性、中极性和水溶成分的展开剂都是碱性的,而已报道方法展开剂都是酸性或偏酸性的,碱性展开剂使一些酸性物质的酯键水解成盐,以离子体形式存在,克服了多酚羟基化合物或其聚合体的拖尾现象,使各斑点收缩、集中,而呈现出的各成分虽相互交叉,但在不同检视条件下,互不干扰,都能呈现出清晰的颜色斑点或荧光斑点。

参考文献:

- [1] 刘金茂. 石榴皮解毒止泻[J]. 医药与保健, 1998, 6(4): 45.
- [2] 曾洁. 应用诃子、石榴皮治疗腹泻经验举隅[J]. 南京中医药大学学报(自然科学版), 2007, 23(3): 196-197.
- [3] 陈长寅. 石榴皮汤治疗婴幼儿腹泻35例[J]. 湖北中医杂志, 1986(6): 23.
- [4] 郭好水. 石榴皮驱蛔虫[N]. 民族医药报, 2002-06-28(002).
- [5] 杨建雯, 杨剑兵, 吴双凤, 等. 石榴皮中化学成分及其生物学活性研究进展[J]. 化工设计通讯, 2019, 45(7): 144-145.
- [6] 刘延泽, 李海霞. 石榴皮中丹宁类成分的薄层色谱鉴别[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(8): 481.
- [7] 龙云惠, 黄兆龙, 郭亚力, 等. 用薄层层析法检测石榴皮的鞣质[J]. 红河学院学报, 2005, 3(6): 25-26.
- [8] 王克英. 石榴皮中没食子酸定性定量方法研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(15): 1171-1172.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 93-94.

(收稿日期: 2019-11-11; 二次修回日期: 2020-07-11)