

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.02.021

多基源大黄药材的梯度全信息薄层色谱鉴别法研究

刘 勇, 安 静, 董占军[△]

(河北省人民医院药学部, 河北 石家庄 050051)

摘要:目的 建立多基源大黄药材的全信息薄层色谱鉴别法。方法 采用薄层色谱法, 分别以环己烷-乙酸乙酯-甲酸试液(12:3:0.1, V/V/V)、三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(8:2:4:1, V/V/V/V)、三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(8:5:3:0.5, V/V/V/V)、乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10:7:1:1, V/V/V/V)、三氯甲烷-甲醇-甲酸-水(10:3:0.2:0.3, V/V/V/V)为梯度展开剂, 通过365 nm、254 nm紫外光灯和日光检视3种基源大黄醇提、水提溶液中的脂溶性、中极性、水溶性成分显色前后的各信息斑点。结果 共检出脂溶性、中极性和水溶性成分斑点53个, 3种基源大黄提取溶液色谱中相同位置处的斑点一致。结论 所建立的方法简便、快捷、实用, 可多指标、快速鉴别大黄药材的质量, 识别大黄药材的真伪。

关键词:药用大黄; 掌叶大黄; 唐古特大黄; 全信息薄层色谱

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)02-0080-04

Identification of Multi-Original Rhei Radix et Rhizoma by Full-Information Thin-Layer Chromatography with Gradient Developer

LIU Yong, AN Jing, DONG Zhanjun

(Department of Pharmacy, Hebei General Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China 050051)

Abstract: Objective To establish a full-information thin-layer chromatography (TLC) method for multi-original Rhei Radix et Rhizoma. **Methods** TLC was adopted, and the information spots of fat-soluble, medium-polar and water-soluble components in the alcohol extraction solutions and water extraction solutions of three kinds of Rhei Radix et Rhizoma before and after color rendering were viewed under ultraviolet light 365 nm and 254 nm and sunlight with a mixture of cyclohexane-ethyl acetate-formic acid solution (12:3:0.1, V/V/V), of trichloromethane-ethyl acetate-methanol-strong ammonia solution (8:2:4:1, V/V/V/V), of trichloromethane-ethyl acetate-methanol-strong ammonia solution (8:5:3:0.5, V/V/V/V), of ethyl acetate-butanone-formic acid-water (10:7:1:1, V/V/V/V), of trichloromethane-methanol-formic acid-water (10:3:0.2:0.3, V/V/V/V) as the gradient developer respectively. **Results** A total of 53 spots of fat-soluble, medium-polar and water-soluble components were detected, and the spots at the same position in the TLC chromatogram of the three kinds of Rhei Radix et Rhizoma extraction solutions were the same. **Conclusion** The established method is simple, rapid and practical, which can quickly identify the quality and the authenticity of Rhei Radix et Rhizoma.

Key words: *Rheum officinale*; *Rheum palmatum*; *Rheum tanguticum*; full-information TLC

中药大黄为历版《中国药典》收载品种, 其基源药材有药用大黄、掌叶大黄、唐古特大黄^[1], 具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒、逐瘀通经、利湿退黄之功效, 临床多用于治疗实热积滞便秘、血热吐衄、目赤咽肿、痈肿疔疮、肠痈腹痛、瘀血经闭等症。中药大黄主含蒽醌类成分, 游离型蒽醌类包括大黄素、大黄酸、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素甲醚等成分, 结合型蒽醌类包括上述游离型成分与糖结合成的各种苷, 以及蒽酮类成分和二苯乙烯苷类成分^[2]等。进行定性鉴别和定量测定时, 多以脂溶性大黄素、大黄酚等苷元为指标性成分, 但操作烦琐、费时^[1,3-4]。目前多采用高效液相色谱 (HPLC) 指纹图谱及超高效液相色谱-飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS) 法^[5-6]分析3种基源大黄成分的差异, 但费用高昂。本研究中对3种不同基源大黄药

材进行了梯度全信息薄层色谱鉴别研究。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

KH-800KDE型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司); ZF-2型三用紫外分析仪(上海市安亭电子仪器厂); 硅胶G薄层板、硅胶GF₂₅₄薄层板(青岛海洋化工有限公司, 规格为100 mm×100 mm, 厚度为0.20~0.25 mm)。

1.2 试剂

大黄对照药材(批号为120984-200301)、掌叶大黄对照药材(批号为121249-201304)、唐古特大黄对照药材(批号为120902-200609)、土大黄苷对照品(批号为110794-201909, 含量>98%), 均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇、环己烷、乙酸乙酯、甲酸、三氯

第一作者: 刘勇, 男, 硕士研究生, 副主任药师, 研究方向为中药标准及质量控制, (电子信箱)ly0637@163.com。

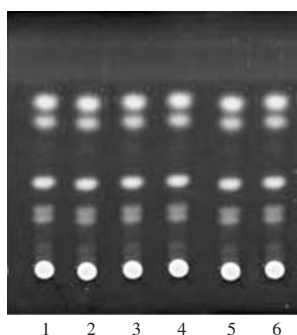
[△]通信作者: 董占军, 男, 硕士, 主任药师, 研究方向为医院药学, (电子信箱)13313213656@126.com。

甲烷、浓氨试液、丁酮均为分析纯,水为纯化水。土大黄药材(国药乐仁堂河北汇编业有限公司,批号为17051401)。

2 方法与结果

2.1 醇提取溶液中脂溶性成分薄层色谱鉴别

取大黄、掌叶大黄、唐古特大黄对照药材各0.2 g,精密称定,分别加甲醇3 mL,超声(功率250 W,频率40 kHz,下同)处理15 min,取上清液,即得对照药材醇提取溶液。精密吸取上述3种溶液各5~6 μL ,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-甲酸试液(12:3:0.1, V/V/V)为展开剂,展开,取出,用热风吹干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果3种对照药材醇提取溶液色谱中,在相同位置显示相同的亮黄色荧光斑点(图1)。



1,2. 药用大黄 3,4. 掌叶大黄 5,6. 唐古特大黄

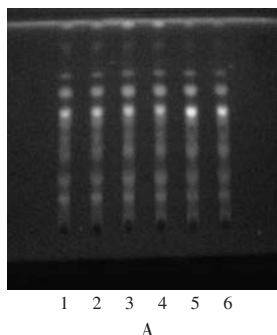
图1 3种基源大黄醇提取溶液中脂溶性成分薄层色谱图

1,2. *Rheum officinale* 3,4. *Rheum palmatum* 5,6. *Rheum tanguticum*

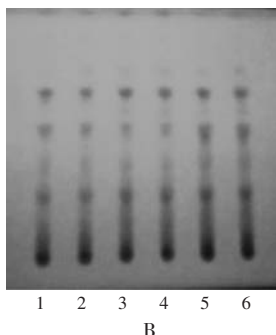
Fig. 1 TLC chromatograms of the fat-soluble components in the methanol-extraction solution from three origins of Rhei Radix et Rhizoma

2.2 醇提取溶液中中极性成分薄层色谱鉴别

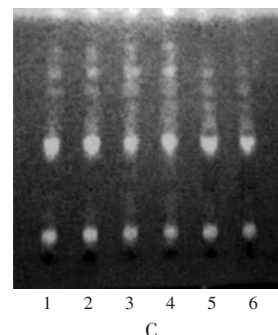
精密吸取2.1项下3种溶液各3~5 μL ,分别点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(8:2:4:1, V/V/V/V)为展开剂,展开,



A



B



C

1,2. 药用大黄 3,4. 掌叶大黄 5,6. 唐古特大黄

A. 紫外灯(365 nm) B. 紫外灯(254 nm) C. 显色后紫外灯(365 nm)

图2 3种基源大黄醇提取溶液中中极性成分薄层色谱图

1,2. *Rheum officinale* 3,4. *Rheum palmatum* 5,6. *Rheum tanguticum*

A. Ultraviolet light (365 nm) B. Ultraviolet light (254 nm) C. Ultraviolet light after color rendering (365 nm)

Fig. 2 TLC chromatograms of the middle-polar components in the methanol-extraction solution from three origins of Rhei Radix et Rhizoma

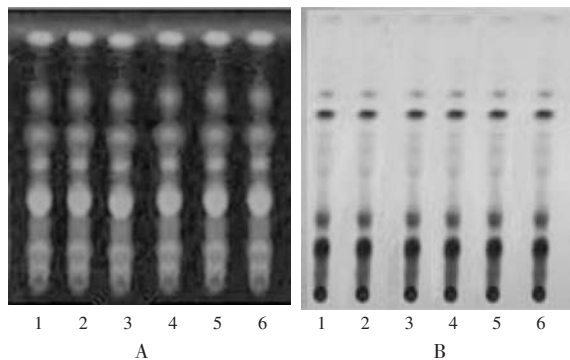
取出,用热风吹干,置紫外光灯(365 nm)下检视,结果3种对照药材醇提取溶液色谱中,在相同位置上显相同的荧光斑点(图2 A)。置紫外光灯(254 nm)下检视,结果3种对照药材醇提取溶液色谱中,在相同位置上显示相同的棕褐色斑点(图2 B);喷以10%硫酸乙醇溶液,再以105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视,结果3种对照药材醇提取溶液色谱中,在相同位置上显示相同的荧光斑点(图2 C)。

2.3 水提取溶液中中极性成分薄层色谱鉴别

取大黄、掌叶大黄、唐古特大黄对照药材各0.5 g,精密称定,分别加水40 mL,小火煎煮20 min,以棉花滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇2 mL使溶解,即得对照药材水提取溶液。吸取上述3种溶液各4~5 μL ,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(8:5:3:0.5, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,用热风吹干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果3种对照药材水提取溶液色谱中,在相同位置上显示相同的荧光斑点(图3 A)。喷以5%香草醛硫酸溶液-乙醇溶液(1:6, V/V),再以105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰,置日光下检视,结果3种对照药材水提取溶液色谱中,在相同位置上显示相同颜色的斑点(图3 B)。

2.4 醇提取溶液中水溶性成分薄层色谱鉴别

精密吸取2.1项下3种溶液各3~5 μL ,分别点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上,以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10:7:1:1, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,热风吹干。置紫外光灯(365 nm)下检视,结果3种对照药材水提取溶液色谱中,在相同位置上显示相同的荧光斑点(图4 A);置紫外光灯(254 nm)下检视,3种对照药材水提取溶液色谱中,在相同位置上显示相同的棕褐色斑点(图4 B)。

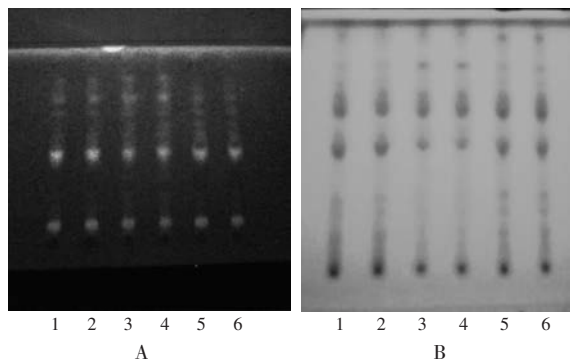


1,2. 药用大黄 3,4. 掌叶大黄 5,6. 唐古特大黄
A. 紫外灯(365 nm) B. 显色后日光

图3 3种基源大黄水提取溶液中中极性成分薄层色谱图

1,2. *Rheum officinale* 3,4. *Rheum palmatum* 5,6. *Rheum tanguticum*
A. Ultraviolet light (365 nm) B. Sunlight after color rendering

Fig.3 TLC chromatograms of the middle-polar components in the water-extraction solution from three origins of Rhei Radix et Rhizoma



1,2. 药用大黄 3,4. 掌叶大黄 5,6. 唐古特大黄
A. 紫外灯(365 nm) B. 紫外灯(254 nm)

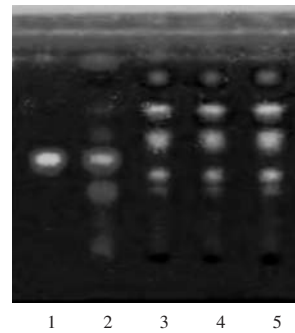
图4 3种基源大黄甲醇提取溶液中水溶性成分薄层色谱图

1,2. *Rheum officinale* 3,4. *Rheum palmatum* 5,6. *Rheum tanguticum*
A. Ultraviolet light (365 nm) B. Ultraviolet light (254 nm)

Fig.4 TLC chromatograms of the water-soluble components in the methanol-extraction solution from three origins of Rhei Radix et Rhizoma

2.5 醇提取溶液中水溶性成分与土大黄苷薄层色谱鉴别

取土大黄苷对照品适量,加甲醇制成质量浓度为0.3 mg/mL的土大黄苷对照品溶液;另取土大黄药材0.1 g,加甲醇3 mL,超声处理15 min,取上清液,即得土大黄药材供试品溶液。精密吸取2.1项下3种溶液各2~3 μ L、土大黄苷对照品溶液2 μ L、土大黄药材供试品溶液2~3 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-甲酸-水(10:3:0.2:0.3, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,用热风吹干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果3种对照药材醇提取溶液色谱中,在与土大黄苷对照品溶液色谱相应位置上,土大黄药材供试品溶液色谱显示相同颜色的荧光斑点,3种基源大黄药材均无相应荧光斑点呈现;同时3种基源大黄醇提取溶液



1. 土大黄苷 2. 土大黄 3. 药用大黄 4. 掌叶大黄
5. 唐古特大黄

图5 土大黄苷、土大黄和3种基源大黄醇提取溶液中水溶性成分薄层色谱图

1. Rhapontin 2. *Rumex madaio* 3. *Rheum officinale*
4. *Rheum palmatum* 5. *Rheum tanguticum*

Fig.5 TLC chromatograms of the water-soluble components in the methanol-extraction solution from Rhapontin, *Rumex madaio*, and three origins of Rhei Radix et Rhizoma

在相应位置显示相同的荧光斑点(图5)。

3 讨论

全信息是指在脂溶性成分的检测部分,其薄层板的最前沿已无任何信息斑点呈现,而在水溶性成分的检测部分在薄层板的基线处也不再有明显的斑点残痕,说明所有的信息斑点都已包括在梯度薄层展开范围内。梯度是指将高效液相梯度洗脱的内涵引申到中药薄层色谱鉴别领域,采用相似相容的极性梯度展开剂将药材中的脂溶性、中极性、水溶性成分展开后,将具有检测信息的大部分有效成分按极性大小,在极少数的薄层板上及不同的检视条件下,获得尽可能全的斑点信息图谱,由此组成1套从脂溶性到水溶性成分的全信息薄层色谱图,从而进行药材与制剂的多信息质量评价。

大黄的薄层色谱鉴别一直采用脂溶性苷元为指标^[7-9]。本研究中初次提供了中极性和水溶性成分的42种新鉴别特征点,加上6个脂溶性信息斑点和土大黄苷鉴别中的5个信息斑点,共53个信息斑点。结果显示,3种基源大黄的斑点均完全一致,以其中任一基源的大黄对照药材为对照,均不影响结果判断。同一块薄层板,在不同检视条件下呈现的信息斑点不一样,虽然相互重叠,但在各自检视条件下互不干扰,做到了斑点互补,提高了检测信息量,大幅度提升了3种基源大黄的薄层色谱鉴别指标,利于市售药材、复方制剂的质量检测与评价。其中土大黄苷的检测手段,还可识别真伪大黄药材。

与已有相关指纹图谱^[10-11]比较,本研究中仅需几块薄层板,少许提取溶剂和展开剂,即可发挥指纹图谱的类似质控效果,不但检测信息量大、结果直观,而且方法简便、快捷、效率高。