

· 论著 ·

心脑血管通胶囊的微乳薄层色谱鉴别

张 岩, 王 强, 任常顺, 郎轶咏 (解放军 202 医院, 辽宁 沈阳 110003)

[摘要] 目的 探讨微乳薄层色谱法同时分离鉴别心脑血管通胶囊中多种有效成分。方法 以聚酰胺薄膜为固定相, 微乳液为展开剂, 对方处中蓝萼香茶菜、葛根、丹参、川芎四味药材进行定性鉴别, 并考察了十二烷基硫酸钠 (SDS)、油相、水相等因素对分离效果的影响。结果 以含水量 75% 的微乳液 [SDS-正丁醇-正庚烷-水, g/g] 甲酸-丙酮 (5:1:1) 为展开剂, 可同时分离鉴别心脑血管通中的蓝萼香茶菜、葛根、丹参、川芎, 斑点清晰, 且阴性对照无干扰, 分离效果理想。结论 微乳薄层色谱法操作简便, 结果准确, 重现性好, 可同时分离鉴别中成药中的多种有效成分。

[关键词] 心脑血管通胶囊; 微乳液; 薄层色谱

[中图分类号] R284.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2015)06-0536-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.06.015

Microemulsion TLC identification of Xinnaomaitong capsule

ZHANG Yan, WANG Qiang, REN Changshun, LANG Yiyong (No.202 Hospital of PLA, Shenyang 110003, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the application of microemulsion thin layer chromatography (TLC) for separation and identification of various active components in Xinnaomaitong capsule. **Methods** The all-grass of *Bluecalyx japonese rabodisia*, root of *Pueraria lobata*, root and rhizome of *Salvia miltiorrhiza*, rhizome of *Ligusticum chuanxiong* in Xinnaomaitong capsule were separated and identified simultaneously with the polyamide film as stationary phase and the microemulsion as mobile phases. Different factors, such as the sodium dodecyl sulfate (SDS), oil phase and water phase which effect on the separation of the components were evaluated. **Results** The all-grass of *Bluecalyx japonese rabodisia*, root of *Pueraria lobata*, root and rhizome of *Salvia miltiorrhiza*, rhizome of *Ligusticum chuanxiong* in Xinnaomaitong capsule were separated and identified simultaneously with mobile phase of microemulsion: formic acid: acetone (5:1:1). The constituent of microemulsion was SDS: butyl alcohol: n-Heptane: water = 6.7:15.8:2.5:75.0 (g/g). The spots were clear, the negative control was no interference, and it showed an ideal separation. **Conclusion** Microemulsion TLC is simple, accurate, and reproducible. It can identify a variety of active components in traditional Chinese medicine simultaneously.

[Key words] Xinnaomaitong capsule; micromulsion; TLC

心脑血管通胶囊为解放军 202 医院制剂, 由蓝萼香茶菜、葛根、丹参、川芎四味中药经过提取加工制成, 具有活血化瘀、通脉消栓、改善微循环、抑制血小板凝集、增加心脑血管供血及供氧的功效, 主要用于冠心病、心绞痛、脑供血不足等缺血性心脑血管疾病的治疗。心脑血管通胶囊为醇提取物, 成分复杂, 原标准采用薄层色谱法分别对丹参、蓝萼香茶菜进行鉴别, 但操作复杂且重现性差, 分离效果欠佳。

微乳液是由表面活性剂、助表面活性剂、油相、水相等组分在适当配比下自生成成的无色透明、各向同性、低黏度的热力学稳定体系^[1]。在微乳色谱

中, 溶质的分配在固定相、微乳中油或水连续相及内核和界面膜等数相之间进行, 能减少气相相对分离结果的影响, 使微乳体系更加稳定。微乳薄层可同时分离鉴定性质差别较大和性质结构差别细微的各组分, 克服了常用层析方法一次只能鉴定某单一成分的缺憾, 为中药有效成分的分离鉴别提供了一种高效简捷的新方法^[2-5]。

本鉴别方法以含微乳液展开剂作为流动相, 聚酰胺薄膜为固定相, 研究心脑血管通胶囊的微乳薄层色谱, 对心脑血管通胶囊中葛根、川芎、蓝萼香茶菜及丹参 4 种有效成分进行分离和鉴定, 取得了较好的效果。

1 仪器与试药

1.1 仪器 UV-8 型三用紫外分析仪 (上海分析仪

[作者简介] 张 岩, 硕士研究生, 研究方向: 中药制剂分析. Tel: 13998126364

[通讯作者] 郎轶咏, 主管药师, 研究方向: 制剂分析. Tel: (024) 28853846; E-mail: langyiyong0452@126.com

器厂);FA2004 电子分析天平(上海天平仪器厂)。

1.2 试药 对照品:葛根素(批号 110752-200912)、阿魏酸(批号 110773-201012)、丹参酮ⅡA(批号 110766-200518)均购自中国药品生物制品检定所。对照药材:葛根对照药材(121175-200302)、川芎对照药材(120918-200809)、丹参对照药材(120923-200912)均购自中国药品生物制品检定所,蓝萼香茶菜采栽于辽宁鞍山千山,经第二军医大学**郑汉臣**教授鉴定为唇形科香茶菜属植物。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 微乳层析液 取十二烷基硫酸钠(SDS),精密称定,溶解于适量水中,分别加入表面活性剂、油相,再加水至足量,磁力恒温搅拌器搅拌混匀,放置 24 h,即得澄清透明的微乳液。将各种改性剂(如甲酸、丙酮等)加至不同组成的微乳液中,即得组成不同的微乳层析液。

2.1.2 供试品溶液 取心脑血管通胶囊内容物 0.5 g,加入 5 ml 甲醇,超声提取 30 min,滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.1.3 对照药材溶液 分别取蓝萼香茶菜、葛根、川芎、丹参对照药材 2 g,加甲醇 10 ml,超声提取 30 min,过滤,取续滤液作为对照药材溶液。

2.1.4 阴性对照溶液 按心脑血管通处方比例制备阴性对照样品,依照供试品溶液的配制方法,配制各味药的阴性对照溶液。

2.1.5 对照品溶液 分别取葛根素、阿魏酸、丹参酮ⅡA 对照品适量,加甲醇配制成 0.2 mg/ml 的对照品溶液,超声振荡使之溶解,作为对照品溶液。

2.2 薄层色谱鉴别 分别吸取葛根素、阿魏酸、丹参酮ⅡA 对照液、各对照药材溶液、供试品溶液及各阴性对照溶液,均为 2 μ l,分别点于聚酰胺薄膜,直径为 1~2 mm。以微乳层析液为展开剂,于室温下预饱和 30 min,上行法展开,展程约 8 cm,取出晾干后,日光下,供试品色谱中,在与对照药材溶液和对照品溶液色谱相应位置上丹参酮ⅡA 显红色斑点,置紫外线(254 nm)下检视,蓝萼香茶菜显白色斑点,阿魏酸显蓝紫色斑点,川芎主斑点显亮白色,葛根素显暗白色斑点。

以含水量 75% 微乳液-甲酸-丙酮(5:1:1)为展开系统,心脑血管通胶囊薄层色谱见图 1。

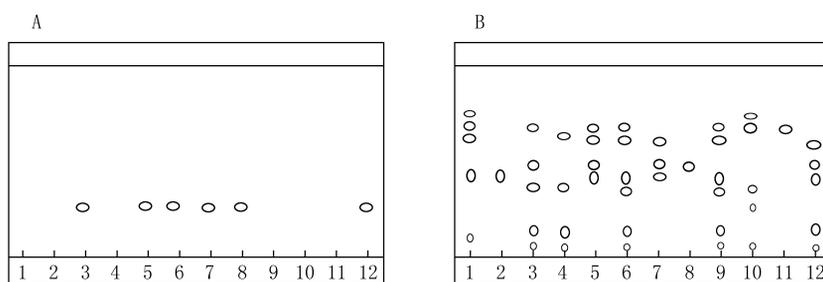


图 1 心脑血管通胶囊主成分鉴别微乳薄层色谱图

A.日光下检视;B.荧光下检视;1.川芎对照药材溶液;2.阿魏酸对照品溶液;3.川芎阴性对照溶液;4.蓝萼香茶菜对照药材溶液;5.蓝萼香茶菜阴性对照溶液;6.供试品溶液;7.丹参对照药材溶液;8.丹参酮ⅡA 对照品溶液;9.丹参阴性对照溶液;10.葛根对照药材溶液;11.葛根素对照品溶液;12.葛根阴性对照溶液

从图 1 可知,心脑血管通薄层色谱图中,供试品色谱所显各斑点的位置和荧光颜色与对照药材和对照品溶液的相同,各阴性对照液无此斑点。说明该微乳液体系适用于心脑血管通胶囊成分的鉴别。

3 讨论与小结

3.1 微乳展开体系的选择

3.1.1 SDS 对展开效果的影响 分别取 SDS 4、5、6、7、8、9 g 置 250 ml 三角烧瓶中,加 75.0 g 纯化水搅拌使溶解,再分别加入 15.8 g 正丁醇、2.5 g 正庚烷,混合均匀,即得微乳液。微乳液澄清、透明且不

分层。以微乳液为展开剂,按“2.2”项下方法进行薄层层析,各成分的 R_f 值见图 2。

由图 2 可见,阿魏酸、川芎、葛根素主斑点的 R_f 值随 SDS 量的增加而逐渐减小;丹参酮ⅡA、蓝萼香茶菜主斑点的 R_f 值随 SDS 量的增加而逐渐增大。SDS 为 6.7 g 时,各斑点的分离度最好,此时斑点最为清晰,无拖尾。

3.1.2 含水量对展开效果的影响 以上述微乳液-甲酸-丙酮(5:1:1)为展开剂微乳液进行层析,测定含水量对心脑血管通胶囊主成分斑点迁移的影响。各成分的 R_f 值见图 3。

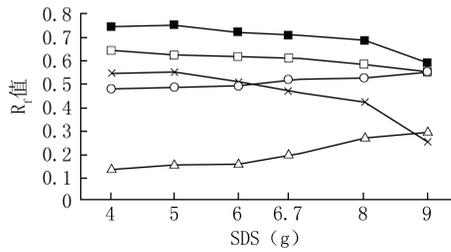


图2 心脑血管胶囊主成分 R_f 值与 SDS 量的关系图

×: 阿魏酸; □: 川芎; △: 蓝萼香茶菜;
○: 丹参酮 II A; ■: 葛根素

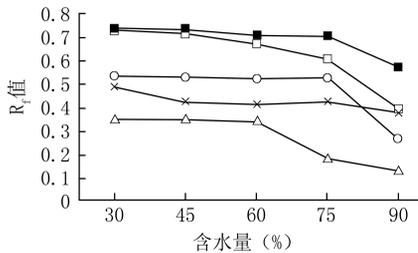


图3 心脑血管胶囊主成分 R_f 值与微乳液含水量的关系图

×: 阿魏酸; □: 川芎; △: 蓝萼香茶菜;
○: 丹参酮 II A; ■: 葛根素

由图3可知,各主成分斑点的 R_f 值随微乳中含水量的增加而下降,但分离效果随含水量的增加而改善,且展开时间缩短。结合斑点效果和分离度以及时间等因素综合考虑,选择含水量75%的O/W型微乳液作为展开剂最为适宜。

3.1.3 油相对展开效果的影响 保证展开剂 SDS:正丁醇:油相(0.27:0.63:0.10)+75%水-微乳液组分不变的条件下,改变油相的种类,分别考察正戊烷、正己烷、正庚烷和正辛烷4种油相对展开效果的影响。当薄层色谱中使用正辛烷时,各药物的 R_f 值降低,分离不完全,正戊烷和正己烷的层析结果显示,扩散和拖尾现象严重。因此,选择油相分离度较大的正庚烷为微乳液,分离效果较好。

3.1.4 4种助表面活性剂对分离效果的影响 微乳薄层色谱法中常加入助表面活性剂以改善分离效果,在保证 SDS:正丁醇:油相(0.27:0.63:0.10)+75%水-微乳液组分不变的条件下,考察正丁醇、异丙醇、乙醇、甲醇4种助表面活性剂对展开效果的影响。

结果显示,加入异丙醇使得微乳液分层,故异丙醇不能作为助表面活性剂。随着助表面活性剂碳链的增长,各组分的 R_f 值逐渐减小,可解释为碳链较短的助表面活性剂被吸附入表面活性剂极性端的一

侧,碳链较长的助表面活性剂则嵌入表面活性剂的碳链中^[3],与非极性物质竞争表面活性剂分子上的非极性基团,使得表面活性剂对非极性物质的作用力减弱,因而非极性物质的 R_f 值增加。当以甲醇、乙醇作为助表面活性剂时,丹参酮 II A 拖尾严重,且各斑点分离度不好。因此,选用正丁醇作为助表面活性剂最为适合。

3.1.5 改良剂对分离效果的影响 保证展开剂 SDS:正丁醇:正庚烷(0.27:0.63:0.10)+75%水-微乳液组分不变的情况下,本实验考察了多种改良剂,如甲酸、乙酸、氨水等对展开效果的影响。结果表明,乙酸、氯仿的加入不能改善层析结果中的拖尾现象,甲酸的加入可明显改善斑点的拖尾现象。对不同比例的甲酸进行考察,葛根素的 R_f 值随着甲酸比例的减少而减少,并且斑点的拖尾现象逐渐改善。而其余斑点的 R_f 值随着甲酸比例的减少而呈先增加后减少的走势。在微乳液与甲酸比例为5:1时斑点圆整,分离度好。实验中发现加入丙酮可使分离效果更好且可缩短展开时间,并且在微乳液、甲酸、丙酮三者比例为5:1:1时分离效果最好。因此,选择含水量为75%微乳液-甲酸-丙酮(5:1:1)的层析液为展开剂。

3.2 小结 本实验采用单因素考察法分别考察了微乳液中油相、水相、表面活性剂、助表面活性剂对展开效果的影响,同时为改善微乳展开系统的展开效果,在微乳液中添加了改良剂,并考察了不同改良剂对展开效果的影响。确定了心脑血管薄层色谱以微乳液(SDS-正丁醇-正庚烷-水=6.7:15.8:2.5:75.0,g/g)-甲酸-丙酮(5:1:1)为展开剂,可以有效地分离出心脑血管胶囊中的丹参、葛根、川芎、蓝萼香茶菜4种主成分,并且色谱斑点圆而集中,无拖尾现象。

【参考文献】

- [1] 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.
- [2] 陈培栋.微乳色谱应用研究进展[J].中国药房,2007,18(34):2706.
- [3] 唐洪梅,闫雪,李得堂.微乳TLC法分离鉴定肠激安方中多种有效成分[J].中国药房,2009,20(21):1633-1635.
- [4] 陈珏,齐炼文,李萍.微乳及其在中药分析中的应用[J].药学进展,2013,37(9):441-448.
- [5] 郎铁咏,王强,姜同英,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.

[收稿日期] 2014-09-24 [修回日期] 2015-06-08

[本文编辑] 李睿