

萱草根素(Hemerocallin)的定性检验 —薄层层析法*

西北农学院畜牧兽医系 王建华

指导教师 段得贤教授 李绍君工程师

摘 要

萱草属植物根粉的氯仿提取物,除去乙醚、丙酮可溶部分,残渣用丙酮—碱提取。提取液通过硅胶薄层层析和三氯化铁无水乙醇显色,与标准品对照,定性检验萱草根素。对九十份样品的检验结果证明:该法较简便可靠。野黄花菜根、北黄花菜根、北萱草根和小黄花菜根均为阳性;而黄花菜根、萱草根、千叶萱草根和长苞萱草根均为阴性。阳性结果的样品中,因种类、产地或季节不同而表现出含量的变化。

我国的萱草属植物(*Hemerocallis*)种类繁多,广泛栽培或野生。其根部供药用,有利尿、消肿、通乳等功能^[1,2]。但萱草属某些种的根皮中含有天然有毒物质——萱草根素(Hemerocallin),曾因使用不当而引起病人中毒死亡^[3]。据报道在青海、甘肃、陕西、山西、河南、安徽、浙江、山东、辽宁等省的部分地区,常因家畜(主要是羊)采食有毒萱草属植物根发生急性中毒,由于无法解救而死亡。本病多发生于冬春季节,损失相当严重^[4,5,6,7,8]。陈昌等^[9,10]、邹康南等^[11]及本文作者^[12]曾用常规方法提取分离鉴定有毒成分并做毒性试验,来证实某种萱草属植物根中是否含有萱草根素。这种方法虽然确实可靠,但操作十分复杂,需要耗费大量资金、人力和时间,不便于推广应用。为此,我们根据萱草根素的理化性质和提取分离特点,结合薄层层析新技术,对八种不同产地不同月份的九十份样品进行了薄层层析试验。

*本文为研究生毕业论文的一部分,全部论文曾在陕西省畜牧兽医学会家畜中毒病学术报告会上宣读,并于1982年元月和7月分别通过了毕业论文答辩和硕士论文答辩。

在论文撰写过程中曾得到安宝珠、鲁安泰、扈文杰、林秉诚、崔中林、曹光荣等老师的熟情指导,王曼同志协助部分工作,特此致谢!

材料与方法

一、材料

被检样品：萱草属八种不同产地不同月份的植物根，共九十份（见表1）。分别在60℃以下干燥并碾成粉末（20目）。

硅胶GF：上海产；粒度，小于260目；批号，750525。按常规方法制板（5×20）。

萱草根素标准品：本实验室制备^[12]。

丙酮-碱溶液：用丙酮、10%氢氧化钠溶液按8：2的比例充分混合后静置。取用上层溶液，PH10左右。

试剂及药品为分析纯或化学纯。

二、检验方法

（一）样品处理：分别取被检样品2克，放入150毫升三角烧瓶，加氯仿50—70毫升，在60—70℃水浴上加热回流提取4—6小时，提取液浓缩成膏，再用乙醚、丙酮依次洗除杂质，沉淀物加1毫升丙酮-碱溶液提取，提取液供检验用。

（二）三氯化铁-无水乙醇试验

阳性——提取液呈棕色或桔黄色，遇2%三氯化铁无水乙醇溶液，立即变绿色，逐渐变紫黑色，有墨绿色沉淀。

阴性——提取液呈淡黄色或近无色，遇2%三氯化铁无水乙醇溶液不变色，有棕色沉淀。

（三）薄层层析

吸附剂：硅胶GF。展开剂：（I）无水乙醇-丙酮（63：37），（II）甲醇-乙酸乙酯（1：1）。展开方式：倾斜上行。显色剂：2%三氯化铁无水乙醇溶液。

分别取丙酮-碱提取液约1微升，滴于薄层一端，用萱草根素丙酮-碱溶液作对照，经展开剂（I）或（II）展开。当展开剂前沿离开原点15厘米时，取出薄板，喷洒显色剂，观察斑点的颜色变化。在同一薄层板上，出现与萱草根素标准品斑点的Rf值一致、显色结果相同的样品为阳性，否则为阴性。

结 果

一、凡三氯化铁-无水乙醇试验阳性的丙酮-碱提取液，经薄层层析后，均呈现与萱草根素标准品相似的圆形或椭圆形黄色斑点。喷洒显色剂后，各斑点变灰绿色，并逐渐变绛紫色。用展开剂（I）或（II）展开后的Rf值分别为0.82和0.79。其它成分则停留在原点或原点附近。凡三氯化铁-无水乙醇试验阴性的丙酮-碱提取液，无上述薄层图谱（图1）。

二、九十份样品的定性检验结果见表1。由表1可知，尽管各种的产地和月份并不

相同,但野黄花菜根、北黄花菜根、小黄花菜根和北萱草根的检验结果均为阳性,而黄花菜根、萱草根、千叶萱草根和长苞萱草根的检验结果都是阴性。检验中发现,取用同样数量的阳性提取液,经薄层层析并显色后,因各样品的种类、产地和月份不同,它们的显色深浅程度及斑点大小并不完全一致。

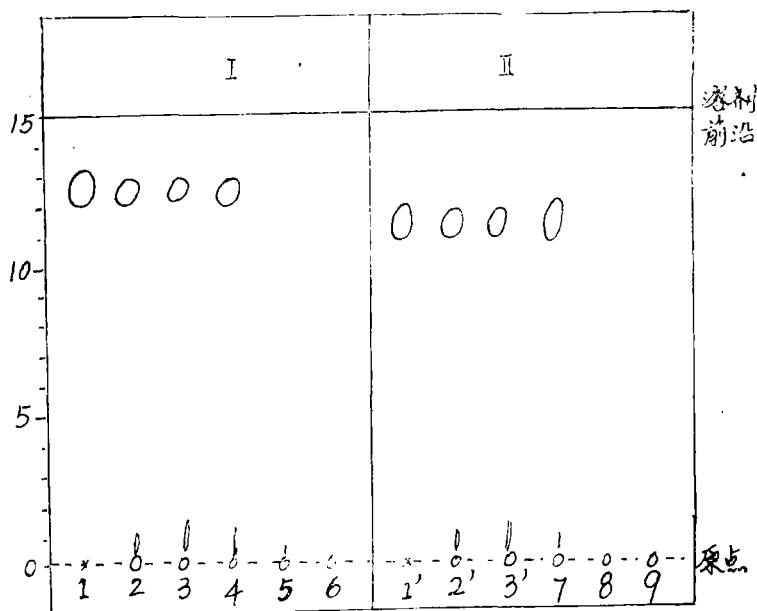


图1 八种萱草根提取液的薄层图谱

吸附剂: 硅胶GF。展开剂: (I) 无水乙醇-丙酮 (63,37), (II) 乙酸乙酯-甲醇 (1:1); 显色剂: 2%三氯化铁无水乙醇溶液。样品: 1, 1' 萱草根素 丙酮-碱溶液。2, 2' 野黄花菜根提取液。3, 3' 北黄花菜根提取液。4, 北萱草根提取液。5, 黄花菜根提取液。6, 千叶萱草根提取液。7, 小黄花菜根提取液。8, 萱草根提取液。9, 长苞萱草根提取液。

小结与讨论

一、三氯化铁-无水乙醇试验: 凡苯酚类物质均能与三氯化铁试剂起显色反应。但由于羟基在苯环或萘环上联接的数目和位置不同,遇三氯化铁时则显示不同的颜色。如蓝色(甲苯酚),暗紫色(间苯酚),紫黄色沉淀(α -萘酚),淡绿色沉淀(β -萘酚)等^[12,13,14]。萱草根素的分子结构(图2)中含有四个羟基,联接在2,2'-联萘的1,1'位和5,5'位上。因而具有遇三氯化铁试剂起显色反应的一般性质。陈昌等试验证明:萱草根素为弱酸性物质,在酒精溶液中遇三氯化铁试剂显绿色,渐渐变紫色,在乙醇钠溶液中显绿色^[9]。我们选用2%三氯化铁-无水乙醇溶液为显色剂,配合薄层层析法,检验萱草根素。结果证明,这种方法反应迅速,显色清楚,容易辨认。显色检验结果与薄层层析试验结果以及自然发病情况或报道的资料完全符合。由此可见,用三氯化

表1 八种不同产地不同月份萱草根的检验结果

种 名	产 地	月 份	结果	种名	产 地	月份	结果
野黄花草根	吴旗刘渠子	1—12, 4,7,9	+	黄 花 菜 根	安康张畔	4,9	—
北萱草根	临漂三岔	6,9	+		石泉石梯	4,9	—
小黄花草根	山西雁北	9	+		佛平县城	4,9	—
北黄花草根	长安五台	4,7,9,11	+		阳平关	5,9	—
同 上	淳化西坡	4,7,9	+		马蹄湾	5,9	—
同 上	淳化城前	7,9	+		马鞍山	5,9	—
					兵马俑	7,9	—
千叶萱草根	武功西农	5,9,11	—	萱 草 根	安康张畔	4,9	—
长苞萱草根	同 上	5,9,11	—		石泉东岳沟	4,9,11	—
黄 花 菜 根	淮阳城关	5,9	—		佛平十里铺	4,9	—
	南阳刘庄	4,9	—		汉中石马	4,9	—
	南阳张庄	8	—		武都安化	5,9	—
	南阳魏山镇	8	—		横县河	5,9	—
	东园子南队	4,9	—		马蹄湾	5,9	—
	东园子北队	4,9	—		马鞍山	5,9	—
	大力石马	3,9	—		安徽一号	4,9,11	—
	蒲城五里堡	3,9	—		安徽二号	4,9,11	—
	渭南城关	3,9	—				
	武功西林	4,7,9,11	—				

注：+ 示阳，含萱草根素。
- 示阴，不含萱草根素。

铁无水乙醇做检验萱草根素的显色剂是适用的。

二、薄层层析是近二十年来发展起来的一种分析方法，目前已广泛应用于中草药有效成分的定性和定量测定以及某些有毒物质的定性检验。经反复试验，萱草根素丙酮-碱溶液，在硅胶GF薄层上，分别用无水乙醇-丙酮(63：37)或甲醇-乙酸乙酯(1：1)展开，分离效果较好，即能把萱草根素单独的分离出来。综合萱草根素的提取分离特点以及它遇三氯化铁试剂能迅速显色的通性和

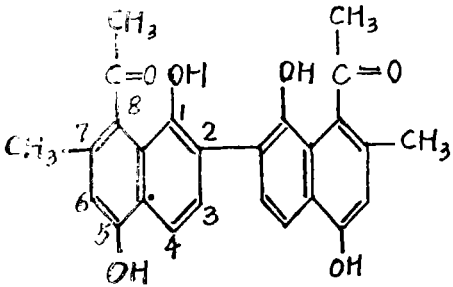


图2 萱草根素 (Hemeiocallin) 的综合萱草根素的提取分离特点以及它遇三氯化铁试剂能迅速显色的通性和

个性,把萱草属植物根粉的氯仿提取物,洗除部分杂质后,再用丙酮-碱溶液提取,提取液经硅胶薄层展开,以萱草根素丙酮-碱溶液作对照,用2%三氯化铁无水乙醇溶液显色,能检查有无萱草根素存在。这种方法较简便,灵敏度为1:10000—15000,用样量小,结果准确。可用于各种不同产地不同月份萱草属植物根的定性检验。对深入研究家畜萱草根中毒病发生的地区特性和季节性以及对本病预防和诊断都有参考价值。

三、西北农学院牧医系等^[8]和刘屿等^[7]均报道小黄花菜根能使羊只中毒,表现瞳孔散大,失明,肢体瘫痪,膀胱麻痹,最终死亡等典型症状。但没有证实小黄花菜根中的有毒成分。本文用薄层层析法首次从小黄花菜 (*Hemerocallis minor Mill*) 根中检验出萱草根素,进一步扩大了对小黄花菜根的认识。

四、在定性检验中发现,各取用同样量的阳性丙酮-碱提取液同时检验,它们的显色深浅程度及薄层层析后的斑点大小不完全一致。这说明同是含萱草根素的样品,由于它们的种类、产地和采集的月份不同,表现出含量变化的迹象。关于萱草根素含量变化的规律性,尚需要进一步研究。

五、对九十份萱草属植物根粉的定性检验结果表明,萱草根素在不同种萱草根中的存在有明显的差异,而不同产地不同月份的同种萱草根则是一致的。结合自然发病情况,我们认为,家畜萱草根中毒病发生的季节性主要是因为:①冬春季节,其它牧草大部分枯死,放牧羊只因饥饿而用前蹄刨食有毒萱草属植物根所引起。夏秋季节,牧草旺盛,羊自然不刨食其根,故未发现中毒病例。②春季移栽萱草植物时,摘除的老根未经恰当处理,或者在春耕时,田埂边缘上种植的含毒萱草植物根被翻露出来,家畜采食后所引起^[4-12]。

主要参考文献

- [1] 中国科学院西北植物研究所:《秦岭植物志》,第一卷(第一册)种子植物,330—333。科学出版社,1976。
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会:《中国植物志》第十四卷,52—62。科学出版社,1980。
- [3] 黎磊石等:中药萱草根(“藜芦”)的毒性与解毒,《寄生虫病研究资料汇编》(1959):291—299。上海科学技术出版社,1961。
- [4] 万友仁:羊金针菜根中毒调查报告,陕西省科学技术情报研究所、中国畜牧兽医学学会年会论文摘要选(79),1980。
- [5] 李进昌:耕牛黄花菜根中毒病例报告。《浙江畜牧兽医》(4):48,1980。
- [6] 东阿县畜牧兽医站:绵羊吃萱草根(黄花菜根)引起中毒的报导。《山东畜牧兽医》(3):39,1980。
- [7] 刘屿等:绵山羊黄花根中毒报告。《中国兽医》杂志,7(3):21—22,1981。
- [8] 西北农学院牧医系、延安农校等:陕北“羊瞎眼病”小黄花菜 (*Hemerocallis*

- minor Mill*) 根中毒的调查研究。科技资料 1—2 期合刊; 43—48, 1977。
- [9] 陈昌等: 萱草根的研究 Ⅱ、治疗血吸虫病有效成分的初步分离和鉴定。《药学报》, 9 (10): 579—586, 1962。
- [10] 黄兰荪等: 萱草根素的结构。《科学通报》, 19 (2): 93—94, 1974。
- [11] 邹康南、杨效镛等: 羊北萱草 (*H. esculenta* Koidz) 根中毒 (瞎眼病) 的研究。《甘南科技》(1): 1—12, 1980。
- [12] 王建华: 萱草属不同种植物根的毒性研究。《西北农学院学报》(2), 1982。
- [13] 上海市卫生防疫站编著: 《卫生防疫检验》, 823页, 上海科学技术出版社, 1964年版。
- [14] 中国科学院药物研究所著: 《薄层层离及其在中草药分析中的应用》。科学出版社, 1978年版。
- [15] 《有机分析点滴试验》(英译), 燃料化学工业出版社, 1972年版。

The Qualitative Test Of The Hemerocallin with Chromatography

Wang Jian-hua

Tutors: Duan Dei-xian Li shao-jun

Abstract

The chloroform extraction from the powder of the *Hemerocallis* roots got rid of the parts dissolved in ether and acetone, and then the residues were extracted with basic acetone whether the extractive liquid included the Hemerocallin was determined by means of the chromatography with silica GF with the trichlorated iron in absolute alcohol in comparison with refined hemerocallin. The test results from 90 specimens of hemerocallin roots revealed that the test method was simple, convenient and accurate. The roots of *H. altissima* Stout, *H. lilio-asphodelus* emend Hyland, *H. minor* Mill and *H. esculenta* Koidz were all positive. The roots of *H. fulva* Linn, *H. citrina* Baroni, *H. fulva* L. var. *Kwanso* Renei and *H. fulva* L. var. *Longibracteata* S. C. Chen, J. H. Weng are all negative. In the positive specimens, there existed some changes in hemerocallin content according to the differences of their species, locations and seasons.