1.1 仪器与试剂:美国 ALLTECH-426 型输液泵, ELSD500 型检测器;数据工作站(天津先明科技开发公司);甲醇为色谱纯;熊果酸对照品(含量为 99.1%,中国药品生物制品检定所提供);六味地黄丸(浓缩丸,连云港康缘制药有限公司出品,批号为 980505,980508,980509)。

1.2 色谱及检测条件:色谱柱:ALLTIMA C₁₈ 5 μ;流动相:甲醇-水(80:20);流速:0.5 mL/min;进样量 10 μL;ELSD 检测器漂移管温度:80℃,气流速:1.98 L/min。

1.3 对照品溶液的制备:精密称取熊果酸对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 中含 0.05 mg 的溶液,作为对照品溶液。

1.4 供试品溶液的制备:取六味地黄丸(浓缩)适量,研细,精密称定 5 g,置烧瓶中,加乙醚 100 mL,温水回流提取 2 h,放冷,滤过,残渣用乙醚洗涤 2 次,每次 20 mL,合并滤液,蒸干,残渣加甲醇溶解并定量转移至 5 mL 量瓶中,作为供试品溶液。

1.5 线性范围考察:精密吸取上述对照品溶液 5.0,10.0,15.0,20.0 μL,注入液相色谱仪中,以峰面积的自然对数为横坐标,以浓度的自然对数为纵坐标,进行线性回归,其回归方程为:Y=0.238X-3.116,r=0.995,线性范围为 0.25~1.0 mg。

1.6 稳定性试验:取熊果酸对照品溶液 10 μL,每

隔 2 h 进样一次,12 h 内峰面积无明显改变。

1.7 加样回收率:精密称取已知含量的六味地黄丸(浓缩)定量加入熊果酸对照品,求得熊果酸的平均回收率 99.97%。

1.8 样品测定:分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪中,将峰面积及浓度自然对数用外标法计算。结果熊果酸含量为 0.058%(980505),0.031%(980508),0.026%(980509)。

2 讨论

2.1 使用 ELSD 检测器,漂移管的温度和载气流速是实验的两个关键参数,通过反复实验,确定了本实验的参数条件。

2.2 熊果酸成分紫外吸收为末端吸收,λ_{max}=203.6 nm,因受试剂影响,使用紫外检测器分析很难进行;薄层扫描法定量,实验得知该方法稳定性和重现性相对较差,且操作时间长,步骤繁琐。而 ELSD 检测,与紫外吸收强弱无关,试剂在检测器中全部蒸发,不干扰检测,灵敏度、稳定性及重现性均符合含量测定的要求,且方法简便易行。

参考文献

- 1 冯埃生,等. 药物分析杂志,1996,16(6):414
- 2 中华人民共和国药典. 一部. 北京:化学工业出版社,1995:447

(1998-10-12 收稿)

对 1995 版药典黄芪薄层鉴别法的探讨

南京军区南京总医院(210002) 谢虞升 李汉保 宋炳生

黄芪中主要成分为黄芪甲苷,按药典上规定的 TLC 检识,在日光和紫外光灯下,与对照品斑点相比,均不明显,改用文献^[1]报道的方法后,结果明显,且操作过程比药典法略简单,建议能否改用文献法作为黄芪的薄层鉴别法。

1 仪器和试剂

仪器:UV-1 紫外分析仪,薄层硅胶 G 板(青岛海洋化工厂)。

试药:黄芪(安徽亳州)、黄芪甲苷(中国药品生物制品检定所),试剂为分析纯。

2 方法和结果

2.1 标准品液制备:精密称取黄芪甲苷约 2 mg,置 2 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀备

用。浓度:1.15 mg/mL。

2.2 样品液制备:a)药典法^[2]:取黄芪粉末 3 g,精密称定,加甲醇 20 mL,置水浴上加热回流 1 h,滤过,滤液加于已处理好的中性氧化铝柱(100~120 目,5 g,内径 10~15 mm)上,用 40%甲醇液 100 mL 洗脱,收集洗脱液,置水浴上蒸干。残渣加水 30 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用水洗涤 2 次,每次 20 mL,弃去水液,正丁醇液置水浴上蒸干,残渣加甲醇溶解,定容 2 mL。

b)文献法:取黄芪粉末 3 g,精密称定,加甲醇 50 mL,回流提取 2 次,每次提取 1 h,滤过,合并滤

(下转第 225 页)

度约为40%；湿度2为盆土湿润，土壤湿度约为70%，用塑料膜或玻璃盖后，原叶体上无或少有水膜；湿度3为土壤湿度近于饱和或过饱和状态，用塑料膜或玻璃盖后，塑料膜和玻璃上具水珠或水滴，原叶体上具一层水膜，试验结果表明在3种土壤湿度中，以湿度3(土壤湿度近于饱和或过饱和)为好，形成幼孢子体快，较湿度1(约40%的土壤湿度)提前5~10 d进入幼孢子期；湿度1，其原叶体发育慢，色黄，部分出现死亡；湿度2(土壤湿度约70%)，其生长情况介于上述两者之间，稍加管理，幼孢子体便能健壮生成。

2.3 不同基质对幼孢子体根系发育的影响：从表1看出，各基质对孢子萌发、产生幼孢子体无甚差异，但根系发育不同，其中以基质4为好，根多，较粗壮，移栽易于成活，通常丛成活率95%以上，其余3种，根系相对较细弱，移栽时须特别小心，方能保证高成活率。

2.4 幼孢子体的移栽与管理：当幼孢子体2~3 cm时进行。移栽基质用1份过筛园土+2份过筛腐殖质土混合，作成宽1 m的平畦或高畦。用小木棍将疏松的畦土按行距10 cm压或划一深1~1.5 cm的横沟，用镊子夹

起幼孢子体，按每5~10 cm放一小丛，用沟土使其稳正，用细孔喷壶小心喷淋湿润并搭棚遮荫，生长中视土壤墒情适时喷淋，保持土壤湿润，幼孢子体便能正常生长，产生孢子。

3 小结

经实验，江南星蕨在蛭石、珍珠岩、河沙及园土与腐殖质土混合等基质上均能正常萌发，产生幼孢子体，但以1份过筛园土与2份过筛腐殖质土混合为好，其根系发育好，移栽易于成活。为了便于原叶体更好地发育，保持土壤湿度近于饱和状态，原叶体表面适当保持一层水膜，创造易于精卵结合的环境，有利于幼孢子体的形成。

江南星蕨是药用兼观赏的蕨类植物，可用分株繁殖，但孢子繁殖能快速地获得大量种苗，且易于被人们所掌握，值得生产上采用。

参考文献

- 1 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编. 下册. 北京: 人民卫生出版社, 1983: 36
- 2 邵莉楣, 等. 观赏蕨类的栽培与用途. 北京: 金盾出版社, 1994: 66

(1998-07-13 收稿)

(上接第192页)

液，回收乙醇至干，残渣加水50 mL，加热使溶解，放冷，移至分液漏斗中，用乙醚提取3次(30、30、20 mL)，弃去乙醚，水层挥去乙醚后，用水饱和的正丁醇提取3次(30、30、20 mL)，合并正丁醇提取液，用正丁醇饱和的1%氢氧化钾溶液洗涤3次，每次20 mL，继以水饱和的正丁醇洗涤至中性，正丁醇液置水浴上蒸干，残渣加甲醇溶解，定容2 mL。

2.3 黄芪甲苷的TLC检识：取对照品液及药典法、文献法提取样品液，点于硅胶G板上。对照品液及两法提取的样品液各点20 μL，共点两块板，一号板用药典法氯仿-甲醇-水(13:7:2)为展开剂，二号板用文献法正丁醇-乙酸异戊酯-水(4:1:5)为展开剂。展开后，吹干，用10%硫酸乙醇液显色，在105℃加热约5 min，观察显色斑点。结果见表1。

3 讨论

3.1 从TLC结果可看出，文献法明显，易于对有效成分的鉴别，而药典法不很明显，难以作出判断，这可能与提取方法及展开系统有关。操作方法文献法比药典方法略简单，不经过柱子。

3.2 建议药典改用文献^[1]法作为黄芪的薄层鉴别。

表1 薄层层析的比较

组别		日光下 (棕褐色斑点)	UV灯下 (橙黄荧光斑点)
一号板	对照品	明显	明显
(药典	文献法	明显	明显
展开剂)	药典法	看不见	不明显
二号板	对照品	明显	明显
(文献	文献法	明显	明显
展开剂)	药典法	不明显	不明显

参考文献

- 1 秦海林, 等. 中国中药杂志, 1995, 20, (4): 266
- 2 中国药典. 一部. 1995版: 272

(1998-07-14 收稿)