

4 理化鉴别

4.1 供试品溶液的制备: 路边青含黄酮类成分山大青苷(cyrtophyllin)等^[5]。分别取上述 4 批样品粗粉各约 1 g, 分别加水 25 mL 煮沸 15 min, 滤过, 滤液于蒸发皿中水浴加热蒸干, 残留物用 80% 乙醇 10 mL 溶解, 滤过, 得供试品溶液。

4.2 TLC 试验: 取供试液 5 mL 水浴蒸干, 残渣用 1 mL 甲醇溶解, 点样 10 μ L 于硅胶 G 薄层板上, 用氯仿-醋酸乙酯-无水乙醇(9:6:1)展开约 8 cm, 挥干溶剂, 先于紫外光灯(365 nm)下观察, 后喷 0.2% 香草醛的 70% 硫酸溶液, 105 $^{\circ}$ C 加热约 3 min, 结果见图 4(C 和 D 供试品的 TLC 结果与 A 和 B 相似)。

4.3 UV 光谱测定: 取供试品溶液 1 mL, 用乙醇稀释 10~20 倍(视溶液的吸光度大小而定), 于岛津 UV-265 可见紫外分光光度计上作 UV 光谱, 可见(332 \pm 2) nm 处有一吸收峰, 275~288 nm 有另一吸收峰(图 5)。

5 讨论

5.1 利用路边青茎或根的横切面的组织特征均可作为药材鉴别手段。本品茎皮层的纤维群与根的内皮层石细胞群的发达程度与植物的老嫩有关。

5.2 4 批路边青的 TLC 有较好的重现性, 有鉴别意义。且其 UV 光谱中在(332 \pm 2) nm 处的吸收峰重现性较好, 可作为鉴别特征, 275~288 nm 吸收峰重现性较差, 说明不同批次商品之间所含成分有一定差异。

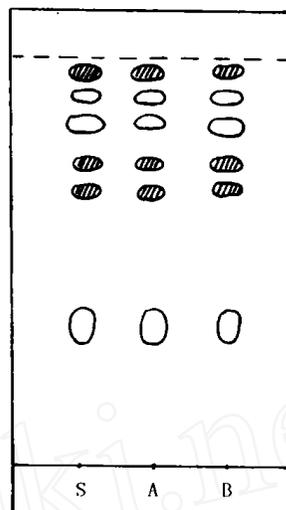


图 4 TLC 图

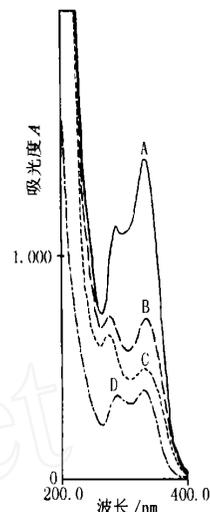


图 5 UV 光谱图

Fig. 4 Chromatogram of TLC Fig. 5 Spectrum of UV

References

- [1] Research Institute of Medicine Plants Resources Development, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union of Medical College. *Records of Chinese Materia Medica* (中药志) [M]. Vol V. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994.
- [2] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [3] Liu T S, Yi S Q. Studies of four Da Qing leaves [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1986 (4): 28-29.
- [4] Xie Z W. *Discussing Statement of Chinese Medicinal Material Species* (中药材品种论述) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1964.
- [5] Ma J Z, Ma L T, Zhang G T. Structure identification of chemical constituents from Shan Da Qing [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1979, 10(12): 1-3.

HPLC 法测定满山香中山柰素的含量

吕武清, 虞金宝, 宋友昕, 李才堂, 李 晶

(江西省中医药研究院中药研究所, 江西 南昌 330077)

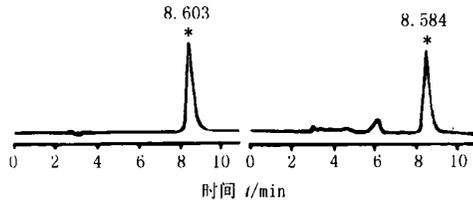
满山香为报春花科植物细梗香草 *Lysimachia capillipes* Hemsl 的干燥全草, 功能为祛风, 止咳, 调经, 用于感冒咳嗽, 气管炎, 哮喘, 月经不调, 神经衰弱^[1]。近几年有报道从细梗香草中分离得到香草内酯, 香草素, 胡萝卜苷, 琥珀酸, 槲皮素, 3, 4, 5, 5', 7-五羟基黄酮, 槲皮素-3-O- β D-吡喃葡萄糖苷和山柰素^[2]; 还含挥发油等^[3]。本实验对满山香中的山柰素进行了 HPLC 含量测定。

1 仪器与药品

HP-1100 高效液相色谱仪(美国), HP 化学工作站, DAD 检测器, 四元梯度泵, SimplicityTM 个人型超纯水系统(Millipore 公司), CQ-250 超声波清洗仪(上海船舶电子设备研究所), 山柰素对照品(含量测定用, 批号: 0861-9901, 中国药品生物制品检定所), 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。满山香经江西中医学院中药鉴定教研室杨雄志副教授鉴定为报春花科植物细梗香草 *L. capillipes* Hemsl 的干燥全草。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[4]: 色谱柱: A Iltech C₁₈ (250 mm × 4.6 mm); 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸(47:53); 流速: 1 mL/min; 检测波长^[5]: 368 nm; 柱温: 室温。在此条件下山柰素在约 8.6 min 有一色谱峰, 见图 1。



* -山柰素

* -kaempferol

图 1 山柰素对照品(A)和满山香(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of kaempferol reference substance (A) and *L. capillipes* sample (B)

2.2 对照品溶液制备: 精密称取经五氧化二磷干燥过夜的山柰素对照品 14.5 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为储备液。精密吸取上述对照品溶液适量, 加甲醇制成约 0.04 mg/mL 的溶液作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取满山香粉末 1.5 g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加甲醇适量, 回流提取 3 h, 蒸干, 残渣加甲醇 20 mL、盐酸 0.5 mL 在水浴上煮沸回流 30 min, 放冷后转移至 25 mL 量瓶中, 用甲醇洗涤圆底烧瓶, 洗液并入量瓶中, 加甲醇至刻度, 精密吸取 10 mL, 加入已处理好的聚酰胺柱(80~120 目, 3 g, 内径 1.5 cm)上, 用水 50 mL 洗脱, 弃去水液, 再以甲醇 100 mL 洗脱, 收集甲醇洗液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并加至 5 mL, 摇匀, 即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系的考察: 精密称取上述储备液 1, 2, 4, 6, 8, 10 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释成 0.029, 0.058, 0.116, 0.174, 0.232, 0.290 mg/mL。分别吸取 10 μ L, 注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件测定对照品峰面积。将山柰素浓度与峰面积进行回归处理, 回归方程为: $Y = 21399.7X - 102.2$, $r = 0.9997$, 山柰素在 0.029~0.290 mg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4.2 稳定性试验: 精密吸取供试品溶液 10 μ L, 按上述色谱条件, 在 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 h 测定山柰素峰面积值, 结果 RSD 为 1.8% ($n = 6$)。

2.4.3 精密度试验: 精密吸取供试品溶液 10 μ L, 按上述色谱条件, 重复进样 5 次, 测定山柰素峰面积值, 结果 RSD 为 0.8%。

2.4.4 重现性试验: 取同一样品, 共 6 份, 制成供试品溶液, 按上述色谱条件进行测定山柰含量, 计算, 结果 RSD 为 2.7%。

2.4.5 加样回收率试验: 精密称取同一样品满山香粉末 1.0 g, 共 5 份, 置索氏提取器, 各精密加入山柰素对照品溶液(0.518 mg/mL) 1 或 2 mL, 加甲醇提取 3 h, 余同“供试品溶液的制备”项下操作, 制成供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 97.3%, RSD = 2.8%。

2.5 样品测定结果: 分别精密称取不同产地满山香药材, 照“供试品溶液的制备”项下方法制备, 精密吸取上述对照品溶液与各供试品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 结果见表 1。

表 1 满山香中山柰素含量测定结果($n = 3$)

Table 1 Content of kaempferol in *Herba Lysimachiae Capillipe* ($n = 3$)

产地	山柰素含量/%
江西赣州	0.021
湖南益阳	0.085
江西吉安	0.055
安徽亳州	0.015

3 小结

3.1 满山香药材回流提取后经 HPLC 分析, 样品中山柰素含量极低; 水解样品含量较高, 说明山柰素基本上是与糖结合成苷存在, 因此, 采用正交试验法对提取、水解条件进行了研究, 分别考察了加甲醇量、提取时间、加酸量和水解时间 4 个因素。选择 4 因素 3 水平 L₉(3⁴) 正交表优化提取、水解条件; 得出了用 40 mL 甲醇, 回流提取 3 h, 提取液蒸干, 加甲醇 20 mL 使溶解, 加盐酸 0.5 mL, 水解 30 min 的最佳提取、水解条件。本品加酸在甲醇溶液中水解用水浴加温保持沸腾即可, 用电炉直火加热含量降低, 山柰素在水解剧烈情况下可能易破坏。

3.2 样品经提取、水解后杂质较多, 提取液呈深棕色, 因此, 需对样品中的杂质进行预处理。由于山柰素微溶于水, 溶于热乙醇、乙醚^[5], 提取液通过采用调酸、调碱后用醋酸乙酯或乙醚萃取, 结果山柰素在乙醚和醋酸乙酯溶液中的转移率较低。通过采用大孔吸附树脂、氧化铝柱色谱分离, 均未达到纯化目的; 改用聚酰胺柱色谱分离, 分别以水、甲醇、乙醇、丙酮洗脱, 结果以甲醇洗脱完全, 而且样品除去了大部分杂质。

3.3 从测定结果分析, 各批次药材含量差别较大, 药材中山柰素含量与产地、采收季节关系如何有待

于进一步研究。

References

- [1] Jiangxi Provincial Health Bureau. *Chinese Medicinal Material Standards of Jiangxi Province* (江西省中药材标准) [M]. Nanchang: Jiangxi Science and Technology Press, 1997.
- [2] Xie C, Xu L Z, Zhao B A. Studies on chemical constituents of *Herba Lysimachiae Capillipe* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(2): 81-83.
- [3] Ding Z H, Wu J Y. Compounds of volatile oil in *Herba Lysimachiae Capillipe* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1989, 11(2): 209-214.
- [4] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I.
- [5] Information Center of Chinese Herbal Medicine, State Pharmaceutical Administration of China. *Handbook of Active Constituents in Phytochemistry* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.

《中华人民共和国药典》中苦参和延胡索药材的薄层色谱探讨

罗 杰

(广州白云山中药厂, 广东 广州 510515)

薄层色谱以其色彩丰富、直观、印象深刻的可见光或荧光色谱图, 且操作简便易行的特点^[1]被广泛用于中药材和中药制剂鉴别和指纹图谱的研究。有些中药材、中成药质量标准中的含量测定及薄层鉴别, 存在方法不合理, 操作复杂繁琐, 重现性差的现象。这和在制定标准时, 只重工艺的优化, 忽略质量标准的优化有关。其实检测方法的优化同一个工艺优化一样重要, 一个优秀检验方法不但具有良好的操作性和重现性, 同样也具有减轻工作量和降低成本的作用。现对《中华人民共和国药典》(简称药典) 2000 年版一部中苦参、延胡索药材的薄层鉴别进行色谱条件的优化对比实验。

1 实验器材

玻璃展开槽(双槽), 薄层色谱用硅胶 G(青岛海洋化工厂), 延胡索对照药材(0928-9904), 苦参药材(广州市药材公司)经广州市药品检验所刘伯英老师鉴定。

2 实验方法

2.1 苦参供试品溶液和苦参碱、槐定碱对照品溶液的制备: 按药典 2000 年版一部苦参项下的制备方法制备。

2.1.1 药典色谱条件 I^[2]: 见彩 8, 图 1-A, C。改用紫外光 365 nm 下显示参照图见彩 8, 图 1-B, D。

2.1.2 色谱条件 II: 点样量: 各 5 μL ; 薄层板: 硅胶 G; 展开剂: 甲苯-醋酸乙酯-三乙胺(25:10:1), 于展开槽, 另一槽放置浓氨, 饱和 15 min。显色: 置碘蒸气蒸后, 于 365 nm 下检视。见彩 8, 图 1-E。

2.1.3 色谱条件 III: 点样量: 各 5 μL ; 薄层板: 2%

NaOH 溶液制备的硅胶 G 薄层板; 展开剂: 醋酸乙酯-甲醇-水-氨(30:5:1:2)。显色: 置碘蒸气熏后, 于 365 nm 下检视。见彩 8, 图 1-F。

2.2 延胡索供试品溶液、延胡索乙素对照品溶液的制备: 按药典 2000 年版一部延胡索药材项下制备方法制备。

2.2.1 药典色谱条件 IV^[2]: 见彩 8, 图 2-A, B。

2.2.2 色谱条件 V: 点样量: 各点 3 μL ; 薄层板: 硅胶 G 薄层板; 展开剂: 环己烷-醋酸乙酯(2:1); 显色剂: 碘蒸气熏, 挥走碘后, 置紫外光 365 nm 下检视。见彩 8, 图 2-C。

3 讨论

苦参的薄层色谱图分析: 药典的色谱条件, 色谱的重现性不理想, 斑点拖尾, 见彩 8, 图 1-A, C。产生这种情况与采用双展开系统展开有关, 一般情况下采用双展开剂展开, 会存在一个重现性问题, 在展完第 1 个展开剂时, 应放置多久后才用第 2 个展开剂展开, 虽然每次放置时间可确定, 但薄层的湿度却是不一样的。因为薄层板放置挥干的程度不但和时间、温度有关, 更决定于环境的湿度, 一旦薄层板的湿度和环境的湿度达到某种平衡, 放置时间就变得无意义了, 因此很难通过放置时间来保证薄层板的湿度大致一样, 这样色谱的重现性问题难以解决。同样该色谱的显色也存在类似问题, 每次显色难以保证 2 种显色剂的比例, 两种显色剂的覆盖是否均匀, 如彩 8, 图 1-A, C, F, 造成同一板显色后的斑点、底板颜色不均匀。还有展开剂 S2 的配制也需放置较长时间才完全分层, 非常耗时^[2]。色谱条件 II, III, 解决了苦