

3.2.2 黄芪^[2]、赤芍^[3]

供试品溶液的制备:将黄芪、赤芍两组的各一份滤液,浓缩至 15mL,用水饱和正丁醇提取 3次,每次 15mL,合并正丁醇提取液,用氨试液提取 2次,每次 15mL,弃去氨液,正丁醇液水浴蒸干,用甲醇溶解并转移至 2mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

对照品溶液的制备:精密称取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成每 1mL含 1mg的溶液,作为黄芪对照品溶液;精密称取芍药苷对照品,加甲醇制成每 1mL含 2mg的溶液,作为赤芍对照品溶液。

黄芪甲苷、芍药苷的含量测定:照薄层色谱法(《中国药典》2005年版一部附录 V B)试验,吸取供试品溶液 4 μ L,对照品溶液 4 μ L,分别点于同一硅胶 G薄层板上,以氯仿-甲醇-水(13:6:2)(10C以下放置过夜)的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%的硫酸乙醇溶液,在 105C烘至斑点显色清晰,取出,照薄层扫描法(《中国药典》2005年版一部附录 V B)在 530 nm下进行扫描,测量供试品吸收度积分值与对照品吸收度积分值,计算。

3.3 结果

金银花、黄芪、赤芍传统工艺组、新技术组的总固体物和有效成分含量结果,见表 1。

4 结论

金银花、黄芪、赤芍等各药经真空气流进行细胞破壁后,用热水浸泡 1h,其成分便可溶出。

采用该新技术后,上述各药所提出的有效成分含量略高或相等于传统工艺;总固体物含量则前者明显低于后者,并且前者为澄清溶液,后者为混悬溶液,这也反映出药材采用新技术后,可减少淀粉、黏液质等无效成分的溶出。

通过本实验可以看出,中药植物药材采用真空气流进行

表 1 总固体物和有效成分含量对比表

Tab 1 The contrast table of solid content and effective constituent

样 品	总固体物 /(g/g生药)	绿原酸 /(mg/g生药)	黄芪甲苷 /(mg/g生药)	芍药苷 /(mg/g生药)
金银花 传统工艺组	0.2669	3.910		
新技术组	0.2455	4.120		
黄 芪 传统工艺组	0.2100		0.162	
新技术组	0.1400		0.168	
赤 芍 传统工艺组	0.2050			4.915
新技术组	0.1690			5.030

细胞破壁后,用热水浸泡即可替代传统长时间回流提取工艺。该技术将可大幅缩短生产工时,降低生产成本;此外,由于采用新技术后,浸出液更为澄清,为后续的提纯和制剂工艺提供了便利,节省了时间和辅料。

本实验只针对金银花、黄芪、赤芍进行了研究,以后我们还将对其他中药材和成方制剂进行更进一步的研究。

参考文献

- [1] ZHAO ZX, WEI Y, HAO RR, *et al* Improvement of technology to extract chlorogenic acid in Flos Lonicerae [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2004, 15(12): 829-830.
- [2] WAN W Z, QIN X. Technique and content determination of astragaloside IV in Bingdouling oral liquid [J]. Jiangxi Med J(江西医药), 2005, 40(1): 29-30.
- [3] LI SZ, LI SM. Determination of peoniflorin in Zhengchahuoyin granules by TLC-scanning [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2002, 33(4): 326.

收稿日期: 2006-05-15

有毒草药粉末六角莲的鉴定与分析

取华¹, 范蕾², 陈琴鸣², 朱筱芬², 李建良² (1. 缙云县人民医院, 浙江 缙云 321400; 2. 丽水市药品检验所, 浙江 丽水 323000)

摘要: 目的 研究未知有毒中药粉末六角莲的鉴定与分析方法。方法 显微鉴别、薄层色谱法、高效液相色谱法鉴别。结果 显微特征与六角莲粉末特征相同;薄层色谱显示在与对照药材及对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点;液相色谱显示样品主峰的保留时间与对照药材及对照品一致。结论 此三种方法能够有效鉴别六角莲;高效液相色谱法能将其有效成分鬼臼毒素和山奈素完好分离,为今后进行较详细的指纹图谱研究、含量测定研究和体液分析打下基础。

关键词: 有毒草药粉末;六角莲;显微特征;薄层色谱;高效液相色谱;鉴定分析

中图分类号: R282.71.3 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)01-0033-03

Identification and Analysis of Unknown Toxic Herbal Medicinal Powders *Dioscorea peltata*

DING Yirhuang¹, FAN Lei², CHEN Qinming², ZHU Xiaofen², LI Jianliang² (1. People's Hospital of Jinyu, Jinyun

ABSTRACT OBJECTIVE To develop a method for identification and analysis of the unknown toxic herb medicinal powders *Dysosma pleiantha* (Hance) Woodson. **METHODS** By means of microscopic identification and physicochemical analysis such as TLC and HPLC. **RESULTS** The unknown powders had the same microscopic character with *Dysosma pleiantha* (Hance) Woodson, and the same chromatograms with reference substance of *Dysosma pleiantha* (Hance) Woodson reference substance and standard reference substances of kaempferol and podophyllotoxin by TLC and HPLC. **CONCLUSION** The established method can effectively identify the unknown herbal powders. The established HPLC method completely separates kaempferol and podophyllotoxin in *Dysosma pleiantha* (Hance) Woodson and this method can be used to fingerprint chromatogram research, quantitative analysis of the herbs and their residues in body.

KEY WORDS unknown toxic herb medicinal powders; *Dysosma pleiantha* (Hance) Woodson; microscopic character; TLC; HPLC; identification and analysis

使用民间草药或者通过草药医生使用草药较为普遍,因而服用有毒草药而中毒甚至死亡的事件时有发生。近年来,我们每年均会遇到因服用草药中毒而引起的医疗纠纷,患者以及卫生部门甚至司法部门需通过检验服用的药粉其来源及毒性,以确定事件的性质。为探索未知中药粉末的鉴定方法,为中毒患者及医疗机构的解救,卫生行政部门和司法部门对中毒事件的断定提供依据,十分需要对中药药物进行鉴定。笔者介绍有毒草药粉末——六角莲的鉴定与分析方法,并就未知中药粉末的鉴定与分析进行讨论。

1 仪器与试剂

美国 HP1100 高效液相色谱仪; 超声波处理器 (上海必能信超声有限公司, CQ-250 型); 电子天平 (北京赛多利斯 BS110S 型)。鬼臼毒素 (批号: 111645-200301)、山奈素对照品 (批号: 110861-200304) 均由购自中国药品生物制品检定所, 六角莲对照药材来自丽水市药品检验所标本室 (采自浙江省遂昌县)。甲醇为色谱纯, 水为重蒸蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

有毒药材粉末供试品为食品药品监管部门转患者家属投诉的检品。患者购自街头草药摊, 服用后中毒到医院抢救, 后死亡, 造成纠纷需鉴定药材。根据患者介绍为仙草 (土名), 即八角金盘, 结合患者中毒症状及本地药材资源分布情况, 经分析, 初步定为六角莲。

2 方法与结果

2.1 性状

供试品: 浅黄色粉末, 气微, 味苦。

对照药材粉末: 浅黄色, 气微, 味苦。两者比较无明显差异。

2.2 显微鉴别

粉末黄棕色。石细胞极多, 散在或成群, 少数几无色, 类圆形、类方形、类三角形或不规则形, 长 $70\sim 185\mu\text{m}$, 直径 $42\sim 115\mu\text{m}$, 壁厚 $5\sim 37\mu\text{m}$, 孔沟大多清晰, 多呈分支状, 纹孔大多清晰, 多呈分支状, 纹极密 (图 1a)。纤维成束或散在, 黄绿色或无色, 直径 $15\sim 50\mu\text{m}$, 壁厚 $4\sim 19\mu\text{m}$, 孔沟致密, 有的层纹细密, 不很明显 (图 1b)。厚壁细胞众多, 无色, 类长

方形, 末端平截或斜尖, 长 $165\sim 718\mu\text{m}$, 直径 $28\sim 240\mu\text{m}$, 壁厚 $3\sim 12\mu\text{m}$, 孔沟稀疏, 单斜纹孔或呈人字形, 木化、微木化或非木化 (图 1c)。草酸钙簇晶 (图 1d₁) 散在或存在于薄壁细胞中, 直径 $27\sim 42\mu\text{m}$ (图 1d₂)。表皮细胞表面观类长方形或类多角形, 黄棕色, 壁薄, 无色垂周壁略细波状 (图 1e)。导管主要为网纹导管 (图 1f)。淀粉粒单粒, 多类圆形, 直径 $1\sim 12\mu\text{m}$, 脐点状、短条状或十字状, 层纹未见 (图 1g)。

以上显微特征与对照药材及文献^[1]均相同。故鉴定为六角莲。见图 1。

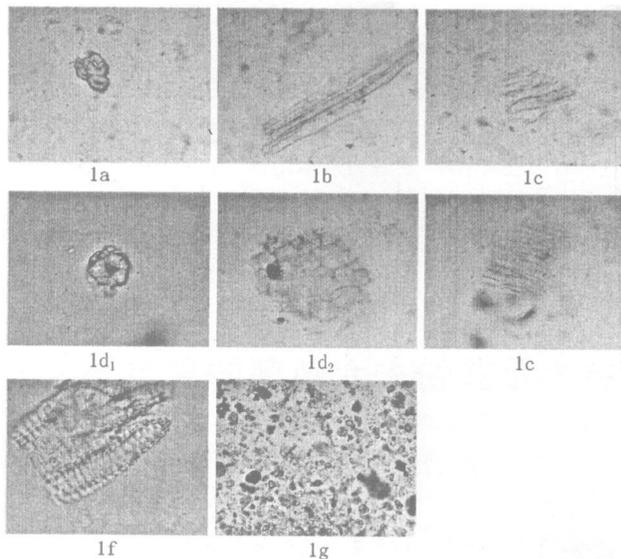


图 1 六角莲粉末特征图

Fig 1 Powder of *Dysosma pleiantha* (Hance) Woodson

2.3 薄层色谱鉴别

取供试品和对照药材各 1g, 分别加乙醇适量于索氏提取器中提取至无色为止, 挥去乙醇至约 1mL, 作为供试品溶液和对照药材溶液。另取鬼臼毒素对照品适量, 加乙醇制成每 1mL 含 2mg 的溶液, 作为对照品溶液。取上述三种溶液各 10 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-乙酸乙酯 (60:40) 为展开剂, 展开, 取出, 凉干, 喷以硫酸-乙醇 (50:50) 显色剂, 于 120 $^{\circ}\text{C}$ 加热约 5min 至显清晰的斑点。结果, 供试品色谱

中,在与对照药材色谱的相应位置上显 3 个相同颜色的斑点,在与对照品相应位置上显相同颜色的斑点。见图 2。

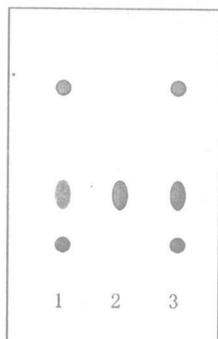


图 2 样品 (1)、鬼臼毒素 (2) 和对照药材 TLC 色谱图

Fig 2 TLC chromatograms of sample (1), podophyllotoxin (2) and reference crude drug (3)

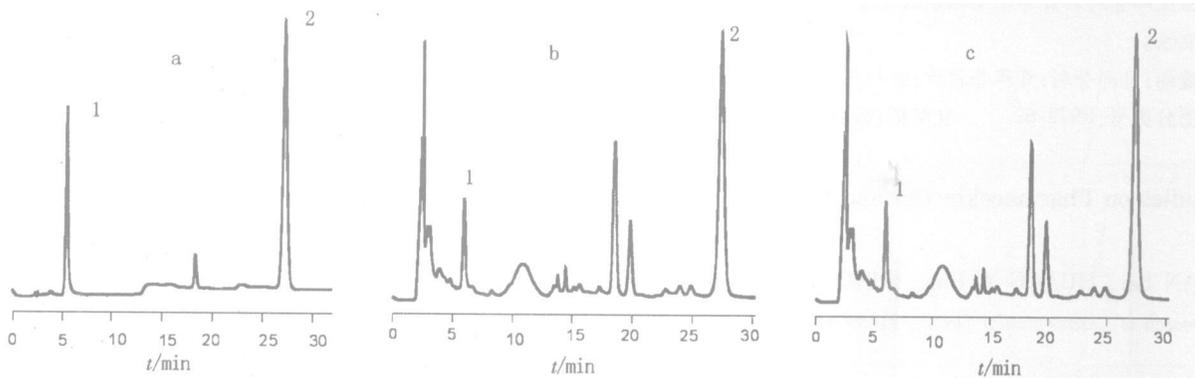


图 3 对照品 (a)、对照药材 (b) 和样品 (c) 的色谱图

Fig 3 HPLC chromatograms of reference substance (a), reference crude drug (b) and sample (c)

1 山萘素; 2 鬼臼毒素 1 kaempferol 2 podophyllotoxin

供试品与对照药材的色谱图一致。供试品色谱图中显示与山萘素、鬼臼毒素相对应的色谱峰。

3 结论

综合上述鉴别结果,结合当地植物分布情况以及用药者的对植物的介绍,可以确证该未知样品为六角莲 *Diosma pleiantha* (Hance) Woodson 而非八角莲及其他近似种。

4 讨论

4.1 六角莲为小檗科植物六角莲 *Diosma pleiantha* (Hance) Woodson 的干燥根茎及根,土名八角金盘、六角莲、金盘托荔枝等,民间与同属植物八角莲 *D. versipellis* (Hance) M. Cheng ex Ying 混用,其根和根茎有毒。其主要化学成分为木脂素类、甾体化合物和糖类,其中木脂素类(鬼臼毒素等)为该类药物中毒的主要成分,因此本实验选择鬼臼毒素和山萘素为检测对象。

4.2 对山萘素和鬼臼毒素分别进行紫外扫描以选取最佳检测波长。结果山萘素在 379、274、221 nm 处均有最大吸收,鬼臼毒素在 206 nm 和 290 nm 处有最大吸收。由于鬼臼毒素在 379 nm 处肯定无最大吸收,故不作考虑。于是分别考察 4 个波长处两成分分离情况及峰型,结果在 206、274 nm 及

2.4 液相色谱鉴别

2.4.1 色谱条件 色谱柱: Luna C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: A: 甲醇、B: K₂HPO₄ 溶液 (0.1 mol · L⁻¹); 梯度洗脱, 洗脱条件: 0 min A-B (40:60); 9 min A-B (50:50); 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长: 290 nm; 柱温: 25°C。

2.4.2 对照品溶液的制备 取鬼臼毒素对照品 5 mg 山萘素对照品 0.5 mg 置 25 mL 量瓶中,加 80% 的甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4.3 供试品溶液的制备 取供试品约 0.2 g 精密加入 80% 甲醇 25 mL,称定重量,超声处理 60 min,放冷至室温,用 80% 甲醇补足减失的重量,滤过,用 0.45 μm 滤膜滤过,即得。

2.4.4 对照药材溶液的制备 同“2.4.3”。

2.4.5 液相色谱结果 精密吸取供试品溶液、对照药材溶液和对照品溶液各 10 μL 注入液相色谱仪,得色谱图见如图 3。

221 nm 处基线波动大且在此波长处有吸收的成分也较多,故最终选择 290 nm 为检测波长。

曾经选择甲醇-水-磷酸 (600:400:0.5) 为流动相,结果鬼臼毒素峰型歪斜,故改用甲醇-K₂HPO₄ 溶液 (0.1 mol · L⁻¹) (50:50) 试验,发现两成分峰形均好且基线平稳,只是山萘素峰出峰时间过早导致分离度低,故改用比例为 40:60 得到山萘素完好分离,但此系统令鬼臼毒素出峰时间延后至 40 min 之后,结合样品图谱,于是改为本方法中的梯度洗脱。

4.3 由于本地植物分布与用药者描述的佐证,可以确认为六角莲。如仅为未知样品,还需对近似品种进行比较。

4.4 本实验采用 HPLC 同时确定山萘素和鬼臼毒素两种主要成分,为今后进行较详细的指纹图谱研究、含量测定研究和体液分析打下基础。

参考文献

- [1] ZHANG M, SHI D. The descriptions and microscopy identification of three allied species of *Nyctanthes versipellis* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2001, 24 (2): 89-93

收稿日期: 2006-04-03