普通高等教育“十一五”国家级规划教材

18

全国高等医药院校药学类实验双语教材

中药分析实验与指导

（第2版）

Experiment and Guide for Pharmacology

主编 刘丽芳

中国医药科技出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
全国高等医药院校药学类实验双语教材

中药分析实验与指导（第2版）

Experiment and Guide for Pharmacology

主　编　刘丽芳
副主编　夏玉凤　杨　杰　许翔鸿　辛贵忠
编　者（以姓氏笔画为序）
刘丽芳　许翔鸿　杨　杰
辛贵忠　夏玉凤

中国医药科技出版社

内 容 提 要

本教材是全国高等医药院校药学类实验双语教材之一。根据高等医药院校药学类中药分析课程的基本要求，结合实验教学经验及中药分析的发展现状，在第一版的基础上修订而成。全书共分为七章，包括生物碱类成分的分析，黄酮类成分的分析，醌类成分的分析，皂苷类成分的分析，挥发油类成分的分析，其他类成分的分析，中药制剂质量分析等内容。采用中英文对照，便于双语教学。适合高等教育药学类、中药学类专业师生使用。

图书在版编目（CIP）数据

中药分析实验与指导/刘丽芳主编．—2版．—北京：中国医药科技出版社，2015.9
全国高等医药院校药学类实验双语教材
ISBN 978－7－5067－7747－6

Ⅰ．①中…　Ⅱ．①刘…　Ⅲ．①中药材—药物分析—实验—医学院校—双语教学—教材　Ⅳ．①R284.1－33

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2015）第 185597 号

美术编辑　陈君杞
版式设计　郭小平

出版　中国医药科技出版社
地址　北京市海淀区文慧园北路甲 22 号
邮编　100082
电话　发行：010－62227427　邮购：010－62236938
网址　www：cmstp. com
规格　787×1092mm 1/16
印张　9 3/4
字数　205 千字
初版　2003 年 8 月第 1 版
版次　2015 年 9 月第 2 版
印次　2015 年 9 月第 1 次印刷
印刷　三河市双峰印刷装订有限公司
经销　全国各地新华书店
书号　ISBN 978－7－5067－7747－6
定价　19.00 元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

序

教学是学校人才培养的中心环节，实验教学是这一环节的重要组成部分。《教育部、财政部关于“十二五”期间实施“高等学校本科教学质量与教学改革工程”的意见》要求进一步推进高等学校实验教学改革与创新，促进创新人才成长。《全国高等医药院校药学类实验双语教材》是中国药科大学自2005年以来坚持药学实践教学改革，突出提高学生动手能力、创新思维，通过承担教育部“世行贷款——21世纪初高等教育教学改革项目”等多项教改课题，逐步建设完善的一套与药学各专业学科理论课程紧密结合的高水平双语实验教材，也是普通高等教育“十一五”国家级规划教材。

本轮修订，适逢《全国高等医药院校药学类第四轮规划教材》及2015年版《中国药典》出版，整套教材的修订强调了与新版理论教材知识的结合，与2015年版《中国药典》、新版《药品质量管理规范》（GMP）等新颁布法典法规结合，为更好的服务于新时期高等院校药学教育与人才培养的需要，在上一版的基础上，进一步体现了各门实验课程自身独立性、系统性和科学性，又充分考虑到各门实验课程之间的联系与衔接，主要突出了以下特点。

1. 适应医药行业对人才的要求，体现行业特色 契合新时期药学人才需求的变化，使修订后的教材符合2015年版《中国药典》及新版GMP、新版GSP等国家标准、法规和规范以及新版国家执业药师资格考试大纲等行业最新要求。

2. 更新完善内容，打造教材精品 在上一轮教材基础上进一步优化、精炼和充实内容。紧密结合《全国高等医药院校药学类第四轮规划教材》，强调与实际需求相结合，进一步提高教材质量。

3. 坚持双语体系，强调素质培养 教材以实践教学为突破口，采用双语体系编写，有利于加快药学教育国际接轨，提高学生的科技英语水平，进一步提升学生整体素质。

《全国高等医药院校药学类实验双语教材》历经十年三轮建设，在各个时期广大编写教师的努力下，在广大使用教材师生的支持下日臻完善。本轮教材的出版，必将对推动新时期我国高等药学教育的发展产生积极而深远的影响。希望广大师生在教学实践中对本套教材提出宝贵意见，以便今后进一步修订完善，共同打造精品教材。

吴晓明
全国高等医药院校药学类规划教材常务编委会主任委员
二〇一五年八月

前　言

本版《中药分析实验与指导》实验双语教材是在全国高等医药院校药学类规划教材编委会的指导下，汲取上版教材的编写经验并结合实验教学实践的基础进行编写。本教材适合与《中药分析》、《中药制剂分析》等课程的课堂教学配套使用。编写过程中，在力求能够适应教育部建立有中国特色的药学高等教育体系新要求的基础上，对实验项目和内容进行了精心的选定和设计，进一步提高了教材的实用性和指导性。

本书共分八部分内容，即生物碱类成分的分析、黄酮类成分的分析、醌类成分的分析、皂苷类成分的分析、挥发油类成分的分析、其他类成分的分析、中药制剂质量分析和附录。本书有以下特点。

1. 内容较丰富，涵盖面广　包括了植物药各主要化学类型及不同剂型中药复方制剂质量分析等多方面的实验，共有实验 28 个，各校可根据具体条件和实际需要选择有关实验内容。

2. 强调实验方法的实用性和先进性　本教材的出版恰逢 2015 版《中国药典》的发行和实施，因此，所选的大部分实验都参考了最新版药典的方法和内容，并结合编委会成员的科研和教学经验，保证了实验内容的代表性、可操作性和重现性。

3. 强调现代分析方法的应用　本书所收载的实验分析方法主要为常用的薄层色谱法、高效液相色谱法、气相色谱法、紫外-可见分光光度法及液相色谱-质谱联用法等。

4. 强调对学生动手能力的培养　每个实验后有相关思考题和背景知识。为了便于学生参考和查阅，特别增加附录一章，所介绍内容包括常用中药质量分析方法、玻璃仪器的洗涤及各种洗液的配制法、常用溶剂的性质、色谱法预试中药化学成分和常用色谱显色剂及使用等。

由于编者的水平和经验有限，教材中可能存在疏漏、不足或不妥之处，敬请广大师生和读者提出宝贵意见，以便及时修正。

编　者
2015 年夏

试读结束：需要全本请在线购买： www.ertongbook.com

Preface

This edition of Experiment and Guide for Analysis of Chinese Medicines is edited on the basis of our experience of the first bilingual edition and experimental teaching practices. It is suggested to be used together with such classroom teaching textbook as Analysis of Chinese Medicines and Analysis of Chinese medicine preparation. Throughout the compiling of this textbook, we strive to accord with the new requirements of Ministry of Education on the construction of pharmacy higher education system with Chinese characteristic and design most of the items and contents of experiment carefully to further improve the practicability and guidance.

The textbook is divided into 7 chapters, including analysis of alkaloids, flavonoids, quinones, saponins, volatile oil, other chemical constituents and Chinese medicine preparations as well as appendix. The characteristics of the book are as follows:

1. It has an abundant content and covers a wide range of aspects, involving the qualitative and quantitative of principal chemical components of plant medicines and diverse forms of Chinese medicine preparations, totally 28 experiments, providing a selection for different colleges considering their practical need and equipment available.

2. Focusing on the practicability and modernity of experimental method. The publication of the book is coincides with the issue and implement of Chinese Pharmacopoeia (2015 edition). Therefore, most of the experiments were designed according to the latest Pharmacopoeia, and combined with our research and teaching experiences. It guaranteed the representative, operability and repeatability of the content.

3. Emphasizing on the application of mordern analytical methods. Analytical methods recorded in the textbook are mainly thin layer chromatography, high - performance liquid chromatography, gas chromatography, ultraviolet - visible chromatography and liquid chromatography - mass spectrometry.

4. Putting emphasis on the cultivation of operation ability. There are background information and relative questions introduced at the end of each experiment. Especially an appendix was conceived to provide a reference easy to consult for students, consisting of quantitative methods of common Traditional Chinese Medicines (TCMs), wash-

ing procedure of glass apparatus and preparation of cleaning mixture, the property of commonly used solvents, thin layer chromatography conditions for TCMs with different components and the frequently used colorant in chromatography.

In condition with the limitation of our level and experiences, there must be some mistakes and defects in the textbook. Any criticism and advice are welcome.

The editorial board

Jul. 2015

目　录

第一章　生物碱类成分的分析 ………………………………………………… (1)

实验一　黄连中小檗碱的定性定量分析 ………………………………… (1)

Experiment 1　The Qualitative and Quantitative Analysis of Berberine in Coptidis Rhizoma …………………………………………………… (3)

实验二　附子中不同类型生物碱的定性定量分析 ………………………… (6)

Experiment 2　The Qualitative and Quantitative Analysis of Different Types of Aconite Alkaloids in Aconiti Lateralis Radix Praeparata ………… (8)

实验三　洋金花中阿托品类生物碱的定性定量分析 ……………………… (11)

Experiment 3　The Qualitative and Quantitative Analysis of Tropane Alkaloids in Daturae Flos ……………………………………………… (12)

实验四　高效液相色谱-质谱联用法测定千里光中阿多尼弗林碱的含量 …… (14)

Experiment 4　The Determination of Adonifoline in Senecionis Scandentis Herba by HPLC - MS ……………………………………………… (16)

第二章　黄酮类成分的分析 ………………………………………………… (18)

实验一　槐花中黄酮类成分的定性定量分析 ……………………………… (18)

Experiment 1　The Qualitative and Quantitative Analysis of Flavonoids in Sophorae Flos ……………………………………………………… (20)

实验二　山楂叶中黄酮类成分的定性定量分析 ……………………………… (24)

Experiment 2　The Qualitative and Quantitative Analysis of Flavonoids in Crataegi Folium ……………………………………………………… (26)

实验三　银杏叶中黄酮类成分的定性定量分析 ……………………………… (30)

Experiment 3　The Qualitative and Quantitative Analysis of Flavonoid Constituent in Ginkgo Folium ……………………………………………… (31)

实验四　蛇胆陈皮片中黄酮类成分的定性定量分析 ………………………… (34)

Experiment 4　The Qualitative and Quantitative Analysis of Flavonoid Constituents in Shedan Chenpi Tablets ………………………………… (35)

第三章　醌类成分的分析 …………………………………………………… (38)

实验一　大黄中蒽醌类化合物的定性定量分析 ……………………………… (38)

Experiment 1　The Qualitative and Quantitative Analysis of Anthraquinones in

Rhei Radix et Rhizoma …………………………………………… (41)
实验二　丹参中菲醌类化合物的定性定量分析 …………………………… (45)
Experiment 2　The Qualitative and Quantitative Analysis of Phenanthrene Quinone Constituents in Salvia Miltiorrhiza Radix et Rhizoma …… (47)
实验三　紫草中萘醌类化合物的定性定量分析 …………………………… (50)
Experiment 3　The Qualitative and Quantitative Analysis of Naphthoquinone Constituents in Arnebiae Radix …………………………………… (52)
实验四　三黄片中蒽醌类化合物的定性定量分析 ………………………… (55)
Experiment 4　The Qualitative and Quantitative Analysis of Anthraquinone Constituents in Sanhuang Tablets …………………………………… (56)

第四章　皂苷类成分的分析 …………………………………………… (59)
实验一　柴胡中皂苷类成分的定性定量分析 ……………………………… (59)
Experiment 1　The Qualitative and Quantitative Analysis of Saponins in Bupleuri Radix ………………………………………………… (61)
实验二　甘草中甘草酸的定性定量分析 …………………………………… (63)
Experiment 2　The Qualitative and Quantitative Analysis of Glycyrrhizic Acid in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma ……………………………… (65)
实验三　三七中皂苷类成分的定性定量分析 ……………………………… (67)
Experiment 3　The Qualitative and Quantitative Analysis of Saponins in Notoginseng Radix et Rhizoma ……………………………………… (69)
实验四　玉屏风口服液的定性定量分析 …………………………………… (71)
Experiment 4　The Qualitative and Quantitative Analysis of Yupingfeng Mixture … (73)

第五章　挥发油类成分的分析 ………………………………………… (76)
实验一　薄荷素油的定性定量分析 ………………………………………… (76)
Experiment 1　The Qualitative and Quantitative Analysis of Peppermint Oil ……… (78)
实验二　丁香中丁香酚的定性定量分析 …………………………………… (80)
Experiment 2　The Quantitative and Qualitative Analysis of Eugenol in Caryophylli Flos ………………………………………………… (82)
实验三　莪术油的定性定量分析 …………………………………………… (84)
Experiment 3　The Qualitative and Quantitative Analysis of Zedoary Furmeric Oil … (85)
实验四　麝香祛痛气雾剂中活性成分的定性定量分析 ……………………… (87)
Experiment 4　The Qualitative and Quantitative Analysis of Active Components in Shexiang Qutong Aerosol ……………………………………… (89)

第六章　其他类成分的分析 …………………………………………… (92)
实验一　高效液相色谱法测定女贞子中特女贞苷的含量 …………………… (92)
Experiment 1　The Determination of Specnuezhenide in Ligustri Lucidi

Fructus by HPLC …………………………………………………… (93)
实验二 HPLC 法测定厚朴中木脂素类成分含量…………………………… (95)
Experiment 2 The Determination of Lignins in Magnoliae Officinalis
Cortex by HPLC ………………………………………………… (96)
实验三 高效液相指纹图谱法鉴定何首乌药材 …………………………… (98)
Experiment 3 The Identification of Polygoni Multiflori Radix by HPLC
Fingerprinting ………………………………………………… (99)
实验四 高效液相色谱法测定金银花中绿原酸的含量 ……………………… (102)
Experiment 4 The Determination of Chlorogenic Acid in Lonicerae Japonicae
Flos by HPLC ………………………………………………… (103)

第七章 中药制剂质量分析 …………………………………………………… (106)
实验一 双黄连口服液的质量分析 ……………………………………… (106)
Experiment 1 The Quality Analysis of Shuanghuanglian Mixture ……………… (107)
实验二 元胡止痛片的质量分析 ………………………………………… (109)
Experiment 2 The Quality Analysis of Yuanhu Zhitong Tablets ……………… (110)
实验三 六味地黄丸的质量分析 ………………………………………… (112)
Experiment 3 The Quality Analysis of Liuwei Dihuang Pills ………………… (114)
实验四 复方丹参滴丸的质量分析 ……………………………………… (116)
Experiment 4 The Quality Analysis of Compound Danshen Dripping Pills ……… (117)

附录 ……………………………………………………………………… (120)
附录一 常用中药质量分析方法 ………………………………………… (120)
附录二 玻璃仪器的洗涤及各种洗液的配制方法 ………………………… (128)
附录三 常用溶剂性质 …………………………………………………… (129)
附录四 色谱法预试中药化学成分 ……………………………………… (131)
附录五 常用色谱显色剂及使用 ………………………………………… (132)

第一章
生物碱类成分的分析

实验一　黄连中小檗碱的定性定量分析

【实验目的】

1. 熟悉离子对反相高效液相色谱法的原理和方法。

2. 掌握生物碱类样品制备方法和生物碱的通性。

【实验原理】

离子对色谱法测定的对象通常是常规反相色谱难以实施的分析对象，如极性的离子型化合物。它是将一种或几种与待分离组分分子电荷相反的离子，该离子具有大小不等的非极性基团或侧链，称为对离子或者反离子，加入到流动相中，使其与待测组分离子形成疏水型离子对化合物，再通过缓冲系统维持待测组分离子与反离子形成中性的离子对，通过控制待测组分离子在反相色谱中的保留行为，从而实现对离子型化合物反相分离的目的。

【实验器材】

1. 仪器　高效液相色谱仪－紫外检测器，ODS 反相色谱柱，微量进样器，展开缸等。

2. 试药与试剂　黄连药材，小檗碱对照品，高效硅胶 G 薄层板，色谱纯乙腈，磷酸二氢钾溶液，十二烷基硫酸钠，磷酸，环己烷，乙酸乙酯，异丙醇，甲醇，水，三乙胺。

【实验步骤】

1. 定性分析　称取黄连粉末 0.25g，置于 50ml 的三角烧瓶中，加甲醇 25ml，水浴超声处理 30 分钟，滤过，取滤液作为供试品溶液。取黄连对照药材 0.25g，同上法制成对照药材溶液。再取盐酸小檗碱对照品，加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液，作为对照品溶液。吸取上述三种溶液各 1μl，分别点于同一高效硅胶 G 薄层板上，以环己烷: 乙酸乙酯: 异丙醇: 甲醇: 水: 三乙胺（3: 3.5: 1: 1.5: 0.5: 1）作为展开剂，置用浓氨试液预饱和 20 分钟的展开缸内，展开，取出，晾干，置紫外光灯于 365nm 波长下检视。

黄连样品与对照药材色谱相应的位置上，显示 4 个以上相同颜色的荧光斑点；与小檗碱对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

试读结束：需要全本请在线购买： www.ertongbook.com

2. 定量分析

（1）色谱条件　色谱柱：十八烷基硅烷键合相硅胶色谱柱；流动相：乙腈：0.05mol/L 磷酸二氢钾溶液（50∶50）（每 100ml 中加十二烷基硫酸钠 0.4g，再以磷酸调节 pH 值为 4.0）为流动相；检测波长：345nm。

（2）对照品溶液的制备　取盐酸小檗碱对照品适量，精密称定，加甲醇制成浓度为 90.5μg/ml 的溶液。

（3）样品溶液的制备　黄连粉末，过二号筛，取上述粉末约 0.2g，精密称定，置具 100ml 塞锥形瓶中，精密加入甲醇－盐酸（100∶1）的混合溶液 50ml，密塞，称定重量，超声处理 30 分钟，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 2ml，置 10ml 量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

（4）测定法　分别精密吸取小檗碱对照品溶液与黄连供试品溶液各 10μl，注入液相色谱仪，测定，以盐酸小檗碱对照品的峰面积为对照，通过外标一点法测定黄连中小檗碱的含量。

【实验记录】

1. 简要记录实验过程和出现的问题并讨论。

2. 计算小檗碱的含量，并根据文献资料讨论本实验结果中可能存在的其他黄连生物碱的峰面积及其保留时间。

【思考题】

1. 反相离子对色谱法需要加入何种类型的反离子？

2. 反相离子对色谱法适用于哪些类型化合物的含量测定？

【相关资料】

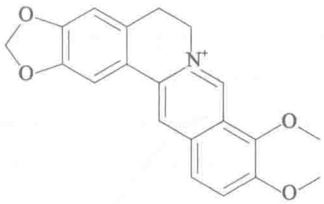
1. 药材来源　中药黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云连 *Coptis teeta* Wall. 的干燥根茎。以上三种分别习称“味连”、“雅连”、“云连”。

2. 化学成分　黄连含多种生物碱，主要含小檗碱，又称黄连素，约为 5%～8%，其次含黄连碱、表小檗碱、巴马亭、药根碱、非洲防己碱、甲基黄连碱等。本实验色谱条件下，表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱色谱峰的相对保留时间如下：

黄连生物碱	相对保留时间
表小檗碱	0.71
黄连碱	0.78
巴马汀	0.91
小檗碱	1.00

小檗碱是一种常见的异喹啉生物碱，存在于小檗科等四个科十个属的许多植物中。

小檗碱是一种季铵生物碱，黄色针状晶体（乙醚）；熔点 145℃；溶于水，难溶于苯、乙醚和三氯甲烷。小檗碱盐在水中的溶解度较小，如盐酸盐为 1∶500，硫酸盐为1∶30。



小檗碱

3. 功能与主治　黄连性寒味苦，归心、脾、胃、肝、胆、大肠经。具有清热燥湿，泻火解毒的作用。其中的小檗碱是常用的治疗肠道感染的植物抗生素。

Experiment 1　The Qualitative and Quantitative Analysis of Berberine in Coptidis Rhizoma

Purpose

1. To understand the principle and the method of ion pair reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC) method.

2. To study the sample preparation method and the general character of the alkaloids.

Principle

Ion pair chromatography is a separate method for determination of a certain kind of analytes, such as the polar and ionic compounds, that are difficult using in the mode of regular reversed – phase chromatography. It is using one or more of so called "ion pair reagent", which generally possess a nonpolar side chain with opposite charge against the analytes. When added into the mobile phase, the ion pair reagent will combine analytes in a specified buffer solution and form hydrophobic complex, which could be retained in the reverse phase of the column, but the original analytes not. This method allows utilizing the traditional mode of reverse phase high performance liquid chromatography to separate the ionic compounds.

Conditions

1. Apparatus　High performance liquid chromatograph, octadecyltrimethoxysilane column, microsyringe and developing chamber.

2. Reagents and materials　Powder of Coptidis Rhizoma, berberine hydrochloride CRS (chemical reference substance), cyclohexane, ethyl acetate, isopropanol, methanol, triethylamine TLC plate of silica gel G, sodium dodecyl sulfate, sodium dodecyl sulfate, phosphoric acid, acetonitrile (chromatographic pure) and water.

Experimental Procedure

1. Qualitative analysis　To 0. 25g of the powder of Coptidis Rhizoma, add 25ml of methanol, ultrasonicate for 30 minutes, filter and use the filtrate as the sample solu-

tion. Prepare a solution of 0. 25g of Coptidis Rhizoma reference drug in the same manner as the reference drug solution. Dissolve a quantity of berberine hydrochloride CRS in methanol to produce a solution containing 0. 5mg per ml as the reference solution. Use silica gel G as the coating substance and a mixture of cyclohexane, ethyl acetate, isopropanol, methanol, water and triethylamine (3∶3. 5∶1∶1. 5∶0. 5∶1) as the mobile phase. Apply separately to the plate 1μl of each of the above three solutions. After developing in a chamber pre – equilibrated with vapor of strong ammonia test solution (TS) for 20 minutes and removal of the plate, dry in air, examine under ultraviolet light at 365nm. The four fluorescent spots in the chromatogram will obtain with the sample solution correspond in position and color to the fluorescent spots in the chromatogram obtained with the reference drug solution, and one of which corresponds to the spot in the chromatogram obtained with the reference solution.

2. Quantitative analysis

(1) Chromatographic system and system suitability Use octadecylsilane bonded silica gel as the stationary phase and a mixture of acetonitrile and 0. 05mol/L solution of potassium dihydrogen phosphate (per 100ml add 0. 4g of sodium dodecyl sulfate, and adjust to pH 4. 0 by phosphoric acid) (50∶50) as the mobile phase. As detector a spectrophotometer set at 345nm. The number of theoretical plates of the column is not less than 5000, calculated with reference to the peak of berberine hydrochloride.

(2) Reference solution Weigh accurately a quantity of berberine hydrochloride CRS, dissolve in methanol to produce a solution containing 90. 5μg per ml as the reference solution.

(3) Test solution Weigh accurately 0. 2g of the powder (through No. 2 sieve) to a 100ml of stopper conical flask, add accurately 50ml of a mixture of methanol and hydrochloric acid (100∶1), weigh and ultrasonicate for 30 minutes, cool and weigh again, replenish the loss of the solvent with methanol, mix well and filter. Measure exactly 2ml of the successive filtrate to a 10ml volumetric flask, dilute with methanol to volume, mix well, filter and use the successive filtrate as the sample solution.

(4) Procedure Inject accurately 10μl of each of the reference solution and the sample solution, respectively, into the column for determination and calculate the content.

Experimental Records

1. Record the process, the phenomena and the problems of the experiment, and discuss them briefly.

2. Calculate the content of berberine, and according to the literature to discuss possible existing any other coptis alkaloids based on the HPLC results of this experiment and report their retention time and area of the peak.

Questions

1. What type of ion reagent should be added to the mobile phase in the ion pair reversed phase chromatography?

2. What type of compounds is suitable for the ion pair reversed phase chromatography?

Background Information

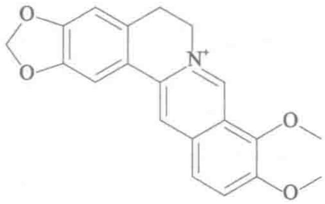
1. Origins　Coptidis Rhizoma is called "huanglian" in China, whichis the dried rhizome of *Coptis chinensis* Franch. , *Coptis deltoidea* C Y. Cheng et Hsiao or *Coptis teeta* Wall. (Fam. Ranunculaceae), commonly known as "Wei – lian", "Ya – lian" or "Yun – lian", respectively.

2. Chemical constituents　Multiple alkanoids were isolated from Coptidis Rhizoma, such as berberine (about 5% ~ 8%), coptisine, epiberberine, palmatine, jatrorrhizine, columbamine and worenine.

In the conditions of this experiment, the relative retention times for berberine, coptisine, epiberberine and palmatine are as following:

Compound (peak)	Relative retention time
Epiberberine	0. 71
Coptisine	0. 78
Palmatine	0. 91
Berberine	1. 00

Berberine is an isoquinoline alkaloid in quartermary ammonium form. And it exists in many plants that belong to more than ten genera in four families, such as berberidaceae. In ether, berberine produces yellow needle crystal with melt point of 145℃. Berberine is soluble in water, insoluble in benzene, ether and chloroform. However, Berberine salt has small solubility in water, such as the hydrochloride is 1∶500 and the sulfate is 1∶30.



berberine

3. Actions and indications　The property of Coptidis Rhizoma is *cold* and the flavor is bitter, and the meridian tropism is in heart, spleen, stomach, liver, gallbladder and large intestine meridians. The actions of this herb are to clear *heat* and dry dampness, purge *fire* and remove toxia. Berberine contained in this herb is an important plant antibiotics widely used for the treatment of intestinal infection.

实验二　附子中不同类型生物碱的定性定量分析

【实验目的】

1. 掌握反相高效液相色谱法测定生物碱的原理和方法。

2. 掌握反相高效液相色谱法常见流动相的使用注意事项。

【实验原理】

反相高效液相色谱属于反相液相色谱，即固定相的极性小于流动相的一种色谱分析方法。保留特性取决于分析物的疏水性，疏水性强的分析物保留强。现代高效液相色谱大多为是化学键合相，它对反相常见的极性流动相有良好的化学稳定性和热稳定性，色谱柱的柱效高，寿命长，重现性好，可分析的化合物多，几乎覆盖所有类型的有机化合物。

【实验器材】

1. 仪器　液相色谱仪－紫外检测器，ODS 反相色谱柱，微量进样器，展开缸等。

2. 试药与试剂　附子药材粉末，新乌头原碱对照品，苯甲酰乌头原碱对照品，苯甲酰次乌头原碱对照品，新乌头碱对照品、次乌头碱对照品、乌头碱对照品，异丙醇，二氯甲烷，乙醚，硅胶 G 薄层板正己烷，乙酸乙酯，甲醇，氨水，碘化铋钾试液，乙腈，四氢呋喃，醋酸铵，冰醋酸，色谱纯乙腈，水。

【实验步骤】

1. 定性分析　取苯甲酰新乌头原碱对照品、苯甲酰乌头原碱对照品、苯甲酰次乌头原碱对照品，加异丙醇－二氯甲烷（1:1）混合溶液制成每 1ml 各含 1mg 的混合溶液，作为单酯型生物碱对照品溶液。取新乌头碱对照品、次乌头碱对照品、乌头碱对照品，加异丙醇－二氯甲烷（1:1）混合溶液制成每 1ml 各含 1mg 的混合溶液，作为双酯型生物碱对照品溶液。取附子粉末 2g，加氨试液 3ml 润湿，加乙醚 25ml，超声处理 30 分钟，滤过。滤液挥干，残渣加二氯甲烷 0.5ml 使溶解，作为样品溶液。吸取供试品溶液和对照品溶液各 5～10μl，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以正己烷－乙酸乙酯－甲醇（6.4:3.6:1）为展开剂，置氨蒸气饱和 20 分钟的展开缸内，展开，取出，晾干，喷以稀碘化铋钾试液显色，日光下检视。

2. 定量分析

（1）色谱条件与系统适应性试验　色谱柱：C_{18}柱；流动相：以乙腈－四氢呋喃（25:15）为流动相 A，以 0.1mol/L 醋酸铵溶液（每 1000ml 加冰醋酸 0.5ml）为流动相 B，按下表中的规定进行梯度洗脱：

时间（分钟）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0～48	15→26	85→74
48～49	26→35	74→65
49～58	35	65
58～65	35→15	65→85

检测波长：235nm；理论板数按苯甲酰新乌头原碱峰计算应不低于3000。

（2）对照品溶液的制备　单酯型生物碱：取苯甲酰新乌头原碱对照品、苯甲酰乌头原碱对照品、苯甲酰次乌头原碱对照品适量，精密称定，加异丙醇－二氯甲烷（1∶1）混合溶液制成每1ml各含10μg的混合溶液，为单酯型生物碱对照溶液；双酯型生物碱：取新乌头碱对照品、次乌头碱对照品、乌头碱对照品适量，精密称定，加异丙醇二氯甲烷（1∶1）混合溶液制成每1ml各含5μg的混合溶液，为双酯型生物碱对照溶液。

（3）样品溶液的制备　取附子粉末（过三号筛）约2g，精密称定，置100ml具塞锥形瓶中，加氨试液3ml，精密加入异丙醇－乙酸乙酯（1∶1）混合溶液50ml，称定重量，在水温25℃以下超声处理30分钟，放冷，再称定重量，用异丙醇－乙酸乙酯（1∶1）混合溶液补足减失的重量，摇匀，滤过。精密量取续滤液25ml，40℃以下减压回收溶剂至干，残渣精密加入异丙醇－二氯甲烷（1∶1）混合溶液3ml溶解，滤过，取续滤液，即得。

（4）测定法　分别精密吸取对照品溶液与样品溶液各10μl，注入液相色谱仪，进行测定。以外标一点法计算上述六种生物碱的含量。

【实验记录】

1. 简要记录实验过程、实验现象及出现问题并讨论。

2. 计算六种生物碱的含量，并分别计算三种双酯型生物碱以及三种单酯型生物碱的总量。

【思考题】

1. 本实验中含量测定部分流动相B为何要使用醋酸铵并调节pH？

2. 附子的含量测定中为何要同时测定单酯型和双酯型生物碱的含量？

【相关资料】

1. 药材来源　附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx 的子根的加工品。经加工炮制为盐附子、黑附子（黑顺片）、白附片、淡附片、炮附片等。

2. 化学成分　乌头含乌头碱、新乌头碱以及次乌头碱等双酯型乌头生物碱。在乌头子根加工炮制为附子的过程中，双酯型乌头生物碱逐步水解为毒性较小的单酯型乌头生物碱，如苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱等生物碱。单酯型乌头生物碱又可以水解为毒性更小的胺醇类碱，如乌头原碱、新乌头原碱、次乌头原碱。

图1－1　乌头碱加工炮制过程中的水解反应

试读结束：需要全本请在线购买： www.ertongbook.com