

2

•上册•

中草药有效成分分析法



沙世炎 徐礼桑等 编著
人 民 卫 生 出 版 社

65405

中草药有效成分分析法

上 册

沙世炎 徐礼燊 编著
严敏如 曾纪琰 刘爱茹
周 同 惠 审 校

人 民 卫 生 出 版 社

内 容 简 介

中草药有效成分的分析,对整理和提高中草药的质量起着重要的作用。本书对常用中草药的有效成分的分析方法进行了文献整理,选择了较简便易行和较新的方法,按中草药成分及测定方法类别逐一介绍。

本书共收集了常用中草药约200种,分上、下两册,内容包括鉴别、杂质检查及含量测定等项目,重点为含量测定方法,供从事中草药研究、药物分析及其他药学工作者参考。

中草药有效成分分析法

上 册

沙世炎 徐礼燊 等编著

人 民 卫 生 出 版 社 出 版
(北京市崇文区天坛西里10号)

人 民 卫 生 出 版 社 印 刷 厂 印 刷
新 华 书 店 北 京 发 行 所 发 行

787×1092毫米16开本 17 $\frac{1}{2}$ 印张 409千字

1982年3月第1版第1次印刷

印数: 1—12,600

统一书号: 14048·4140 定价: 1.80元

前 言

在研究和使用中草药的过程中，如何保证药品的质量、提高疗效是急待解决的问题。而药品的质量与其有效成分的含量又有关，但迄今国内尚未见到有关中草药分析的专著。中国药典虽然收载了很多中草药品种，但列有含量测定的很少，因而满足不了全国各地在广泛使用中草药中保证药品质量的需要，为此，我们根据药典上收载的中草药品种，对其中已知有效成分的分析方法进行了系统的整理，以供中草药的研究、分析、栽培及药检工作者参考。

本书收集了常用中草药约 200 种，分上、下两册出版，为使本书内容比较充实，我们共查阅了 1907 至 1977 年的国内外文献，对于散见于国内不定期刊物上的有关资料亦尽量搜集，按有效成分及分析方法类别加以整理，并在各类方法中选择了一些简便易行或较新的方法作为例子。本书系按手册格式编写，每一实例均写出具体操作步骤，便于读者根据具体条件选用而不必逐一查阅原始文献，但为了节省篇幅，有些需要特殊试剂及设备，或较陈旧的方法仅列出文献，读者需要时可查阅原文献，对某些实用价值不大的方法及文献则从略。

由于我们水平有限，经验不足，书中的缺点和错误一定很多，切望读者批评指正。本书在编写中得到胡振凯同志及有关同志的大力支持，特此表示衷心感谢。

编 者

1981 年 3 月

目 录

前言·····〔4〕	地肤子·····100
一叶萩·····1	地骨皮·····101
丁香·····4	夹竹桃·····104
儿茶·····8	农吉利·····107
三分三·····11	赤芍·····108
三尖杉·····15	远志·····111
大蒜·····19	牡丹皮·····112
大黄·····21	鸡骨草·····115
小叶枇杷·····30	何首乌·····116
川芎·····33	芦荟·····117
马钱子(番木鳖)·····35	辛夷·····121
马兜铃·····47	杜仲·····124
毛冬青·····48	阿魏·····125
巴豆·····50	芸香·····127
云香草·····52	诃子·····130
元胡·····53	苦杏仁·····132
天花粉·····56	苦参·····136
贝母·····57	知母·····139
牛西西·····60	青叶胆·····140
乌头 附子·····61	青蒿·····141
丹参·····64	青黛·····143
少年红·····67	侧金盏花·····144
白头翁·····67	金荞麦·····150
白屈菜·····69	金银花·····151
白芷·····73	锡生藤·····160
白芥子·····77	佩兰·····162
石蒜·····77	鱼腥草·····163
四季青·····84	虎杖·····170
甘草·····86	贯众·····171
龙胆·····93	骨碎补·····173
仙鹤草·····94	萆拔·····174
当药·····96	枸杞子·····176
羊角拗·····97	穿山龙·····176
决明子·····98	莪术·····182
关白附·····99	徐长卿·····185

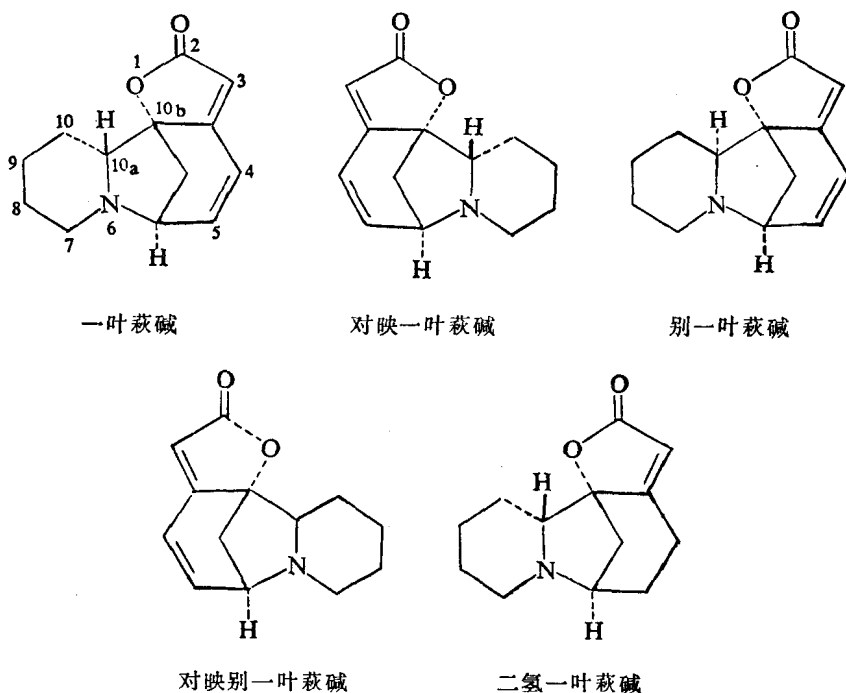
臭灵丹·····	187	紫菀·····	219
桃仁·····	188	曼陀罗(洋金花)·····	220
秦艽·····	189	篇蓄·····	224
秦皮·····	190	番泻叶·····	225
益母草·····	193	槐米·····	230
柴胡·····	195	鼠李·····	234
夏天无·····	198	满山红·····	237
野马追·····	200	照山白·····	242
雪上一支蒿·····	201	葶菜·····	244
雪胆·····	203	颠茄·····	245
菝葜·····	205	薄荷·····	251
猪毛菜·····	206	薤白·····	255
黄花夹竹桃·····	206	藜芦·····	255
黄芩·····	211	索引·····	261
旋覆花·····	213	中草药名词中文索引·····	261
栀子·····	215	中草药成分中文索引·····	263
葛根·····	216	中草药拉丁学名索引·····	267
紫花杜鹃·····	218	中草药成分英文索引·····	270

一 叶 萩

为一叶萩属植物一叶萩 (*Securineg a suffruticosa* Rehd.)、阿马米一叶萩 (*S. suffruticosa* Rehd. Var. *amamiensis* Furusawa) 及臭一叶萩 (*S. virosa* Pax•et Hoffm.) 等的叶和根皮。

【成分】 含一叶萩碱 (Securinine) 及其三个异构体即别一叶萩碱 (allosecurinine)、对映一叶萩碱 (virosecurinine)、对映别一叶萩碱 (viroallosecurinine) 以及维若*辛 (virosine) 和二氢一叶萩碱 (dihydrosecurinine) 等生物碱。对映一叶萩碱是一叶萩碱的光学对映体，别一叶萩碱是一叶萩碱在 C_{10a} 上的差向异构体，而对映别一叶萩碱是别一叶萩碱的光学对映体。

【结构】



【鉴别与检查】

注射液中一叶萩碱的鉴别及其分解产物的检查^[1]:

取硝酸一叶萩碱注射液 1 支，用氨水碱化后用氯仿提取 (5ml × 3)。提取液在 80℃ 以下水浴中蒸干，残渣以氯仿溶解，吸取此溶液适量 (约相当于一叶萩碱 200μg)，点在氧化铝薄层上，以不含醇的氯仿展开，趁溶剂未挥干之前在紫外光灯 (366nm) 下观察斑点所发生的荧光，一叶萩碱显黄色荧光。

Lutowski 等^[2]曾鉴别硝酸一叶萩碱注射液中的分解产物。这些产物先在硅胶 G 薄

* 维若辛结构尚未见到报导，其分子式为 $C_{12}H_{15}O_2N$

层上用甲苯-丙酮-乙醇-25%氨水(20:20:5:2)展开分出,再经硅胶柱层析分离后再用紫外和红外吸收光谱图鉴别。发现分解产物之一为2-羟基-(2-哌啶基)环己基-乙酸内酯和顺式羟基-2-(2-吡啶基)-环己基乙酸的混合物。

【含量测定】

一叶萩碱的测定

1. 紫外分光光度法

一叶萩中一叶萩碱的测定:

① 精密称取一叶萩叶粉末(40目)0.5g,置具塞锥形瓶中,以25%氢氧化铵溶液0.15ml润湿,放置1小时后精密加氯仿5ml,振摇1~2分钟,放置过夜,称重并补足损失的氯仿量。氯仿提取液经棉花过滤,弃去初滤液后精密量取此滤液1ml,置5ml三角瓶中,在约80℃的水浴上蒸发氯仿至干。残渣精密加乙醇0.5ml溶解,以微量注射器吸取此溶液100 μ l,点在氧化铝(200目,活度II~III级)薄层上,以不含醇的氯仿展开,俟溶剂前沿离原点15cm以上即取出薄层,立即置紫外光灯(366nm)下观察,划出一叶萩碱黄色荧光斑点的范围。用吸集器吸集一叶萩碱斑点范围内的氧化铝,精密加乙醇5ml洗脱,摇匀后倒入吸收池中,以薄层空白处氧化铝的乙醇洗脱液为空白,在波长255nm测量吸收度。按标准曲线(2~10 μ g/ml)计算生药中一叶萩碱的含量^[3]。

② 精密称取一叶萩生药粉末约2g,用甲醇回流提取(4 $\times$ 25ml,每次30分钟),合并提取液,过滤并用甲醇稀释至100.0ml。精密吸取此溶液50ml,蒸发至10ml,加5%硫酸溶液20ml并挥发去掉甲醇。用20%氢氧化铵溶液调节残留液至pH8并用氯仿提取(4 $\times$ 50ml)。提取液合并,用无水硫酸钠干燥并蒸发至干。残渣溶于10.0ml甲醇中。吸取此溶液100 μ l,点在whatman No.1滤纸上,用丁醇-浓盐酸-水(100:15:34)上行展开。滤纸在20℃干燥,在紫外光灯(约250nm)下确定一叶萩碱斑点位置(Rf $\approx$ 0.76),含一叶萩碱斑点的纸片用甲醇20ml洗脱1小时,在波长256nm测量吸收度。由标准曲线(20~140 μ g 一叶萩碱)计算含量^[4]。

(2) 一叶萩碱注射液中一叶萩碱的测定^[8]:

精密量取硝酸一叶萩碱注射液适量,置容量瓶中,用蒸馏水稀释成每ml含硝酸一叶萩碱约8~10 μ g的溶液,以蒸馏水为空白,在波长255nm测量吸收度。按硝酸一叶萩碱水溶液在波长255nm的吸收系数(E_{1%¹})为646计算样品中的一叶萩碱含量。

如果硝酸一叶萩碱注射液中存在一叶萩碱的分解产物,则一叶萩碱可先在硅胶G薄层上用甲苯-丙酮-乙醇-25%氨水(20:20:5:2)展开。薄层板置紫外光灯(366nm)下观察以确定一叶萩碱部位。含一叶萩碱的斑点(40~200 μ g; Rf 0.76)用甲醇10ml洗脱,然后在波长256nm测量吸收度,计算样品中一叶萩碱的含量^[9]。

2. 比色法^[5]

标准曲线的绘制 精密称取一定量的 一叶萩碱标准品,用蒸馏水配制每ml含30 μ g的溶液。精密吸取此溶液0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0ml,分别置具塞三角瓶中并加蒸馏水至总体积为5ml。精密加入0.06%溴甲酚绿溶液(称取溴甲酚绿60mg,溶于100ml pH4.94的邻苯二甲酸氢钾缓冲溶液中)2ml和氯仿10ml,密塞振摇2分钟,移入分液漏斗中,避光静置,俟氯仿层完全澄清后分取氯仿溶液6.0ml于具塞刻度试管中,加0.05N氢氧化钾无水乙醇溶液1.0ml,密塞摇匀。以第一管为空白,在波长

620nm 测量吸收度。以吸收度对一叶萩碱量 (μg) 绘制标准曲线。

样品测定 精密称取一叶萩粉末 (40 目) 1g, 置具塞三角瓶中, 加浓氨水 0.3ml, 混匀后放置 1 小时, 精密加氯仿 10ml, 按紫外分光光度法①法提取一叶萩碱。精密吸取氯仿提取液的滤液 4ml, 置三角瓶中, 在约 80℃ 水浴上蒸发氯仿至干。残渣精密加无水乙醇 1ml, 密塞振摇, 放置约 1 小时 (并间隔振摇) 使一叶萩碱溶解 (有不溶杂质存在对测定无影响)。吸取此溶液 40~50 μl , 点在不含粘合剂的氧化铝 (200 目, II~III 级) 薄层 (20×5cm) 上, 以不含醇的氯仿展开, 俟溶剂前沿离薄层顶端约 1cm 时取出薄层板并立即在紫外光灯 (366nm) 下观察, 划出一叶萩碱斑点 (显黄色荧光) 的范围。用吸集器吸集一叶萩碱斑点处的氧化铝, 用约 15ml 氯仿洗入具塞三角瓶中, 在约 80℃ 水浴上蒸发氯仿至干。放冷, 精密加蒸馏水 5ml, 按标准曲线绘制项下, 自“精密加入 0.06% 溴甲酚绿溶液 2ml……起”, 依法测定吸收度 (以薄层空白处氧化铝经同样处理的溶液作空白)。由标准曲线计算一叶萩中一叶萩碱的百分含量。

Masaru 等^[10]利用一叶萩碱分子的内酯基团形成异羟肟酸盐进行比色。方法: 量取含一叶萩碱 (0.1~1mg) 的样品溶液 1ml, 加 2.4M 羟胺溶液 (调节到 pH7.0) 2ml, 摇匀。置 30℃ 水浴中加热 40 分钟后加 4M 盐酸溶液 1ml 和 10% 三氯化铁溶液 1ml, 混匀, 溶液立即冷却至 0℃, 在 15 分钟内在波长 520nm 测量吸收度。

Mikhno 报导金莲橙 O 离子对提取比色法^[11]。方法: 量取含一叶萩碱 (约 2mg) 的水溶液 1ml, 加醋酸盐缓冲溶液 (pH4.6) 9ml 和 0.1% 金莲橙 O 水溶液 5ml, 混匀。用氯仿 5ml 提取数次 (每次振摇 5 分钟), 直至取提取液 2~3 滴加 1% 硫酸甲醇溶液 3~4 滴不产生颜色为止, 合并提取液并用氯仿稀释至 50.0ml。精密量取此氯仿溶液 10ml, 加氯仿 10.0ml 和 1% 硫酸甲醇溶液 2.5ml, 显红紫色后用绿色滤光片测量吸收度。此方法可测定 0.1~2mg 硝酸一叶萩碱。测定范围与 pH 及溶剂有关。

3. 极谱法^[6]

标准曲线的绘制 精密称取一叶萩碱标准品约 108mg, 置 500ml 容量瓶中, 加 95% 乙醇 50.0ml 使一叶萩碱溶解后再加 1M 氯化铵溶液 50ml, 以蒸馏水稀释至刻度, 摇匀。倒入 Heyrovsky 型电解池中, 以饱和甘汞电极为参考电极并由氯化钾-琼脂盐桥与电解池接通, 样品溶液通氮气 [先经过亚铬及亚钒溶液除氧, 然后再经 95% 乙醇-水 (1:9) 溶液通入电解池] 10 分钟后将滴汞电极插入, 记录极谱图。用交点测量法测量波高。以一叶萩碱浓度对波高绘制标准曲线。

样品测定 精密称取一叶萩生药粉末 (40 目) 0.5g, 置具塞三角瓶中, 加浓氨水 0.15ml 润湿, 搅匀, 放置 1 小时后精密加氯仿 5ml, 轻摇 1~2 分钟, 称定重量, 放置过夜。滴加氯仿至原重量, 提取液经塞以小团棉花的漏斗滤入 25ml 三角瓶中, 置水浴上蒸去氯仿*后, 精密加 95% 乙醇 1ml 以溶解一叶萩碱, 再精密加 0.2M 氯化铵溶液 5ml 及蒸馏水 4ml, 摇匀, 倒入 Heyrovsky 型电解池中, 照标准曲线绘制的实验条件及步骤记录于极谱图并测量波高, 然后由标准曲线查得相应的一叶萩碱浓度, 计算出生药中一叶萩碱的含量。

4. 气相色谱法

一叶萩中一叶萩碱和别一叶萩碱的测定: ^[7]

* 如描绘出的极谱波起始曲线不平滑, 可再加数滴无水乙醇, 再次蒸发至干, 即可消除此现象。

称取生药样品 1 份，加二氯乙烷 5 份和 10% 氢氧化铵溶液 0.1 份，冷浸 1 昼夜，过滤，用 3 份二氯乙烷洗净并反复提取 3 次。洗液与滤液合并，浓缩至体积约为原来的 1/10，过滤。滤液用 1~2 份 10% 硫酸提取 3 次。硫酸液用浓氨水中和后用氯仿提取。提取液用无水硫酸镁干燥，然后在水浴上减压蒸去溶剂，再置干燥器中减压放置一夜，所得的结晶或铈状物即为粗生物碱。称取此粗生物碱 10.0mg，置具塞试管中，用甲醇 0.90ml 溶解，加氢硼化钠 5mg 振摇，溶解后在室温置 30 分钟，加冰醋酸 0.02ml 酸化，加二乙胺 0.08ml，室温放置 2 小时。与一定量的内标物菲混合，用微量注射器吸取此溶液 2~3 μ l，注入层析柱（长 2.25m，内径 4mm 的不锈钢柱，填充涂有 1.5% SE 30 的 Chromosorb W）内，在下列条件下进行气相层析分离：氢火焰离子化检测器，柱温 175℃，检测器温度 200℃，样品气化室温度 300℃，氮气流速 28ml/min。峰面积由峰高乘半宽度计算，由所得的一叶萩碱或别一叶萩碱与菲的峰面积比，从标准曲线（由一叶萩碱及别一叶萩碱与菲的重量比 0.5~0.2 对应的峰面积比绘制而成）上查得相应的重量比，计算生药中生物碱各自的含量。

注意：一叶萩碱及别一叶萩碱必须用氢硼化钠还原为二氢衍生物后才能在上述气相层析分离条件下显示清晰而无拖尾的层析峰，否则一叶萩碱虽然出现单一的峰而别一叶萩碱则因发生部分热分解而不能得到单一的峰。

参 考 文 献

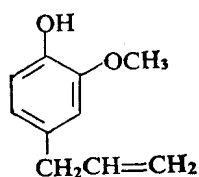
1. 章育中，中国医学科学院药物研究所资料，1974
2. J. Lutomski, et al., Herba pol., 19, 327, 1973
3. 陈未名等，中国医学科学院药物研究所资料，1964
4. M. Adamska, et al., Herba pol., 14, 134, 1968
5. 中国医学科学院药物研究所，薄层层离法及其在中草药分析中的应用，115 页，科学出版社，1978
6. 曾纪琰，分析化学，3, 23, 1975
7. 斎藤清一，他，薬學雜誌，84, 1126, 1964
8. 中国医学科学院药物研究所药厂资料，1978
9. J. Lutomski, et al., Herba pol., 18, 330, 1972
10. A. Masaru, et al., Arch. pract. pharm., 25, 215, 1965
11. V. Mikhno, Farmatsevt. zh., 20, 26, 1965; C. A. 64, 11029e, 1966

丁 香

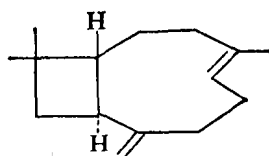
为桃金娘科植物丁香 *Syzygium aromaticum* (L) Merr. et Perry (Eugenia caryophyllata Thunb.) 的花蕾。

【成分】含挥发油。油中含丁香酚 (eugenol), β -丁香烯 (β -caryophyllene), 乙酰丁香酚 (acetyleugenol) 等。

【结构】



丁香酚



β-丁香烯

【鉴别】

1. 气相层析法

层析柱长3m, 内径4mm, 柱温180℃或200℃, Shimalite B (30~60目) 为担体, 涂有30%沥青为固定相, 用氮气为流动相, 流速为60ml/min 可检出丁香酚^[1]。

另有油中^[2]及制剂中^[3]丁香酚的鉴别。

2. 薄层层析

(1) 丁香酚及异丁香酚的鉴别:

① 样品点在浸有二甲基甲酰胺-丙酮 (1:3) 的硅胶G薄层 (60℃干燥) 上, 用己烷-乙酸乙酯 (17:3) 或环己烷-乙酸乙酯 (5:1) 展开, 可使丁香酚与异丁香酚分开, 喷0.5%香草醛或茴香醛的硫酸液而检出 (喷后薄板在105℃加热15分钟)^[4]。

② 硅胶G 25g 与12.5%硝酸银溶液70ml 混合, 铺成0.3mm的薄层60℃活化30分钟, 用含1%甲醇的苯展开后, 喷香草醛试剂, 在140℃加热而检出^[5]。

(2) 挥发油中丁香酚的鉴别:^[6]

样品5~10μg 点在硅胶F₂₅₄薄层上, 用正己烷-氯仿 (3:2) 展开后, 喷下列显色剂:

① CNTNF——9-二氰次甲基-2, 4, 7-三硝基芴 (9-dicyanomethylene-2, 4, 7-trinitrofluorene) 2g 溶于丙酮100ml, 用前制备。

② TNB——1, 3, 5-三硝基苯 (1, 3, 5-trinitrobenzen 2g 溶于丙酮100ml, 用前制备。

③ DPPH——2, 2-二苯基-1-苦基肼 (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 15mg 溶于25ml 氯仿, 喷后立即将板于110℃加热5~10分钟。

④ Gibb试剂——2, 6-二溴醌氯胺 (2, 6-dibromoquinone chlorimide) 0.4g 溶于甲醇100ml。喷后, 薄板在氨气中熏。

⑤ 香草醛-硫酸——香草醛1g 溶于100ml 硫酸。

⑥ 浓硫酸。

⑦ 呋喃-硫酸——2%呋喃溶于62.5%硫酸。喷后薄板在110~120℃加热15~30分钟。

⑧ 变色酸试剂——浓硫酸15ml 慢慢加到含变色酸 (4, 5-二羟基-2, 7-萘二磺酸) 1g 的15ml 水中。喷后薄板在110~120℃加热15~20分钟。

⑨ 三氯化锑-五氯化锑试剂——25%三氯化锑氯仿液与20%五氯化锑氯仿液等量混合。

⑩ NBDF——对硝基偶氮氟硼酸盐 1g 溶于丙酮 100ml。喷后薄层再喷 0.1N 氢氧化钾甲醇溶液。

丁香酚与以上各显色剂可显各种颜色而检出。

3. 纸层析^[7]

样品点在 Schleicher & Schüll No. 2045b 纸上, 用含 10% 水的正丙醇或正丁醇展开, 显色剂为醋酸 2-萘胺 (2-naphthylamine acetate)。此法很灵敏, 0.05mg 丁香酚 (橙色点)、0.01mg 异丁香酚 (黄色点) 即可检出。

4. 颜色反应^[8]

丁香的乙醚提取液稀释后, 加浓硫酸显红色。

【含量测定】

丁香酚的测定:

1. 紫外分光光度法

丁香油或制剂中丁香酚的测定:

(1) 丁香油 0.08g 与 95% 乙醇 25ml 混合, 取 5ml, 用乙醇稀释至 50ml。吸取此液 10ml 两份, 分别注入 50ml 容量瓶中 (一瓶加有 5ml 1N 氢氧化钾乙醇溶液), 用乙醇稀释至刻度, 在波长 296nm 测吸收度^[9] (以不含碱的溶液作空白)。

(2) 取丁香油或制剂 60mg 与 1N 氢氧化钠溶液 3ml 及乙醇 15ml 混合, 振摇 5 分钟, 在沸水浴上加热 15 分钟, 时时振摇, 放冷, 用乙醇稀释至 250ml, 吸取此液 10ml 两份, 1 份加 1N 氢氧化钠溶液 1ml, 用水稀释至 100ml (另一份加 0.1N 硫酸溶液 2ml 并稀释至 100ml, 作为空白)。在波长 296nm 测溶液的吸光度^[10]。

2. 红外光谱法

丁香酚及邻丁香酚的测定: ^[11]

丁香酚及邻丁香酚的最大吸收分别在 1078cm^{-1} 及 1150cm^{-1} , 可分别作丁香酚及邻丁香酚的定量。

3. 比色法

丁香或油中丁香酚的测定:

(1) 3, 5-二氯-对-苯醌-氯亚胺法^[12]

丁香油 1ml 溶于异丙醇 5ml, 加 pH8.6 的磷酸盐缓冲液 2ml 及试剂 (0.05% 3, 5-二氯-对-苯醌-氯亚胺的异丙醇溶液) 1ml, 混匀, 5 分钟后颜色最深, 再放 15 分钟, 在波长 635nm 测吸收度。

(2) 二甲基-对-苯二胺 (dimethyl-p-Phenylenediamine) 法^[13]

取丁香油 500mg 置分液漏斗中, 加 5% 氢氧化钠溶液 10ml 及乙醚 10ml, 振摇 10 分钟, 静置, 分出醚层; 水层用稀硫酸酸化, 用乙醚振摇提取丁香酚, 醚提取液减压蒸干, 残渣用 0.5% 乙醇溶解并稀释至 1 升, 取此液 20ml, 用 0.5% 乙醇稀释至 100ml, 吸取 2ml 置具塞试管中, 加 pH8.0 Sørensen 磷酸盐缓冲液 (M/15 磷酸氢二钠溶液 9.5ml 与 M/15 磷酸二氢钾溶液 0.5ml 混匀) 2ml 及 0.05% 盐酸二甲基-对-苯二胺溶液 0.5ml 及异丁醇 3ml 混匀, 加 0.02% 次氯酸钠溶液 0.2ml, 剧烈振摇 5 分钟, 室温放置 5 分钟, 分出异丁醇层于试管中, 加无水乙醇 0.2ml, 在 610nm 测吸收度, 用蒸馏水同样操作作为空白。

(3) 偶氮磺胺酸法^[14]

样品的二甲基甲酰胺溶液(含丁香酚 50~100mg)分次加入离子交换柱(10g 弱碱性阴离子交换树脂 Amberlite IR-45, 用水湿润装柱, 用 50ml 4% 碳酸钠溶液再生, 用水洗柱, 再用 30ml 二甲基甲酰胺洗, 除去水)中, 用二甲基甲酰胺洗, 收集洗脱液 100ml 于容量瓶中, 摇匀, 用偶氮磺胺酸试剂(F. Feigl, Spot tests in Organic analysis, 5th ed., P. 308, 1956)显色, 即取 3ml 亚硝酸钠溶液加 3ml 磺胺酸溶液、0.1ml 样品溶液及 3ml 碳酸氢钠溶液, 15 分钟后在 500nm 测定吸收值。

(4) 三氯化铁-铁氰化钾法^[15]

丁香粉 250mg 置于 250ml 广口瓶中, 加水 25ml 进行水蒸气蒸馏, 收集馏出液 150~175ml, 加水使成 200ml。取此液 100ml 入比色管中, 加 25 滴试剂(0.074% 三氯化铁液与 0.1% 铁氰化钾液等量混合), 另一比色管中放 100ml 丁香酚溶液(20mg/100ml), 加 25 滴试剂作为对照标准。放置 15 分钟后比色测定。

4. 容量法

(1) 丁香及制剂中丁香酚的测定:^[16]

此法测甲氧基: 取制剂样品 2~50mg, 与酚 0.5g、碘化钾 2~4g 及磷酸 4ml 混合, 在二氧化碳中于 150℃ 加热 1.5 小时, 产生碘代甲烷, 于二氧化碳中蒸馏出, 吸收于 10ml 溴液(醋酸钾 10g 溶于冰醋酸 100ml 中, 加溴 4ml)中, 加 25% 醋酸钠溶液 10ml, 混匀, 用水 100ml 稀释, 多余的溴用 3 滴甲酸破坏, 溶液无色, 加 2N 硫酸溶液 10ml 酸化, 加碘化钾 1g, 5 分钟后用 0.05N 硫代硫酸钠标准溶液滴定所放出的碘, 淀粉作指示剂。

(2) 丁香中丁香酚的测定^[17]:

① 游离丁香酚的测定:

丁香粉 0.3~0.4g 加水 150ml, 蒸馏, 收集蒸馏液 125ml, 用氯化钠饱和, 用石油醚(40~60℃)提取 3 次, 合并提取液(≈50ml), 用 10% 氢氧化钾溶液 15, 5, 5ml 提取, 合并硷提取液, 用石油醚洗, 提取液转入碘瓶中, 加热除去溶剂, 放冷, 加 0.2N 碘-碘化钾溶液 25ml, 放置 30 分钟, 用硫代硫酸钠标准溶液滴定。

② 总丁香酚的测定:

将上述蒸馏液的石油醚提取液用 25ml 10% 氢氧化钾溶液振摇 5 分钟, 蒸去石油醚, 再在蒸气浴上加热 1 小时(乙酰丁香酚皂化成丁香酚), 放冷, 用石油醚 25, 10, 10ml 提取, 合并提取液, 用 10% 氢氧化钾溶液洗, 同上滴定。

(3) 丁香油中丁香酚的测定^[18]:

油 1g 于具塞玻璃瓶中, 加 3% 氢氧化钠溶液 25ml, 振摇(如丁香酚含量高, 则油可完全溶解, 否则液体变成混浊), 加溴化钠 22g, 振摇 5 分钟, 放置 30 分钟, 时时振摇, 用干滤纸过滤, 取滤液 20ml, 用 0.5 或 0.2N 盐酸溶液滴定, 甲基橙为指示剂, 滴定至近终点时加一层乙醚以除去混浊。丁香酚的量(mg) = $(32/20) \times \text{ml}_{\text{HCl}} \times 164 + 40$ 。

5. 临界溶液温度法(critical solution temperature method)

丁香油中游离及总丁香酚的测定^[19]:

取样品(5~10mg)置于毛细管中与适当的参考液体如丙二醇, 乙二醇或液体石蜡混合, 在 Kofler 微量熔点测定器中测定弯液面消失时的温度。样品中丁香酚的含量可

用校正曲线计算。此测定仅用 15 分钟，误差 $\pm 0.45\%$ 。

6. 重量法

丁香油中丁香酚的测定⁽²⁰⁾：

取丁香油 1.5g，加 5% 碳酸钠溶液 20ml，在水浴上加热 15 分钟，冷却，用 20ml 低沸点石油醚振摇，分去石油醚。丁香酚钠盐置于带塞量筒中，用 5% 碳酸钠溶液稀释至 30ml，再用硫酸盐及戊烷的混合液分解，吸出一定量置已知重量的称量瓶中，蒸去溶剂，称重。

参 考 文 献

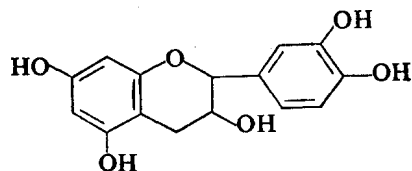
1. A. Takaaki, et al., J. Chem. Soc. Japan, Ind. Chem. Sect., 65, 1565, 1962
2. British Standards Institution, B S 2073, 1976. 26pp; Anal. Abstr., 32, 4C52, 1977
3. W. Van den Bossche, et al., Verh. K. vlaam. Acad. Geneesk. Belg., 37, 42, 1975; Anal. Abstr., 31, 2E5, 1976
4. K. C. Guven, et al., Eczacilik Bult., 12, 185, 1970; Anal. Abstr., 21, 3710, 1971
5. G. M. Nano, et al., J. Chromat., 21, 349, 1966
6. J. E. Forrest, et al., Ibid., 65, 439, 1972
7. F. Meyer, et al., Arch. Pharm., 290, 109, 1957
8. W. Schut, Chem. Weekblad, 22, 344, 1925
9. M. El-Sayed, et al., Pharmazie, 31, 361, 1976
10. J. C. Demetrius Jun., et al., J. Am. Pharm. Ass. Sci. Ed., 49, 523, 1960
11. Ya. V. Rashkes, et al., Zhur. Anal. Khim., 17, 751, 1962; Anal. Abstr., 10, 2765, 1963
12. M. S. Karawya, et al., Am. Perfumer Cosmetics, 82, 55, 1967; Anal. Abstr., 16, 1955, 1969
13. M. Konosuke, J. Pharm. Soc. Japan, 81, 1013, 1961
14. F. A. Wagner, et al., J. Pharm. Sci., 51, 365, 1962
15. P. N. Van Eck, Pharm. Weekblad, 60, 905, 1923
16. D. Malysz, et al., Acta Pol. Pharm., 24, 307, 1967; Anal. Abstr., 15, 5560, 1968
17. A. R. S. Kartha, et al., Perfum. Essent. Oil Res., 56, 375, 1965; Anal. Abstr., 13, 5648, 1966
18. H. W. Van Urk, Pharm. Weekblad, 62, 667, 1925
19. R. Fischer, et al., Arzneimittel-Forsch., 5, 137, 1955
20. R. Reich, E. Nahr-Genussm., C. A., 4, 812, 1910

儿 茶

为豆科金合欢属植物儿茶 *Acacia catechu* (L) Willd. 树干的干浸膏。

【成分】 含儿茶鞣酸、d-儿茶素 (catechin) 及表儿茶素 (epicatechin)。

【结构】



【鉴别】

1. 点滴试验^[1]

在滤纸上，点上一滴样品溶液，加试剂（含有1%盐酸的0.5%对二甲氨基苯甲醛乙醇溶液）1滴，斑点直径约3mm，儿茶素即显紫色，灵敏度为1 μ g。

2. 薄层层析^[2]

点一定量样品的甲醇浸泡液于硅胶G薄层上，以氯仿-甲醇-甲酸（8:2:0.08）为展开剂，展开后取出薄层，晾干，在紫外光灯下观察。（图1）

【含量测定】

儿茶素的测定：

1. 比色法

生药中儿茶素的比色测定：

(1) 香草醛-盐酸法^[3]：

样品1g置沙氏提取器中以甲醇提取，提取液加甲醇稀释到50ml，然后取一定体积点于滤纸上，以苯-丙醇-醋酸-水（4:2:1:1）展开，同时点以儿茶素标准品作对照，用香草醛-盐酸试剂显色（10%香草醛甲醇溶液与35%盐酸用时按2:1混合），确定滤纸上儿茶素的位置（Rf约0.25），将滤纸上儿茶素斑点切下，置五氧化二磷的减压干燥器中于90℃干燥6小时，再用甲醇2ml提取，然后加入香草醛-盐酸试剂5ml，15分钟后在500nm测量吸收度。儿茶素浓度在100~500 μ g/2ml范围内，吸收度与浓度成直线关系。

(2) 4-二甲氨基肉桂醛法^[4]：

取适量儿茶素样品（标准曲线在20~100 μ g范围）于50ml容量瓶中，加3N盐酸甲醇溶液12ml，加甲醇并稀释到50ml，并向此溶液中加入2.0ml 4-二甲氨基肉桂醛试剂

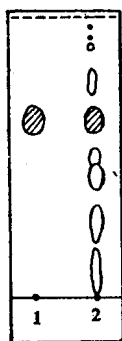


图1 儿茶的薄层层析图

1. 儿茶素 2. 儿茶浸泡液

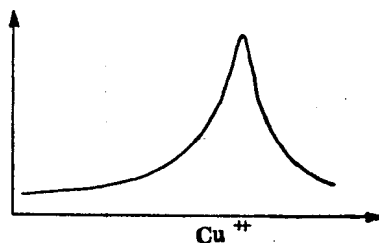


图2 儿茶素滴定曲线

(0.3g 试剂加 3.5ml 浓盐酸, 溶于 100ml 甲醇中), 混匀后置于 1cm 吸收池中, 放置约 13~15 分钟后, 每半分钟在 638nm 测量吸收度一次, 直至达到最高值, 然后自标准曲线计算儿茶素含量。

2. 紫外分光光度法⁽⁵⁾

取样品溶液 (约 5mg/ml) 20~80 μ l, 点于硅胶 G 薄层上 (130℃ 活化 90 分钟), 以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水 (5:3:1:1) 展开 45 分钟, 取出, 待干后置紫外光灯下观察斑点, 从薄层上挖取棕色斑点 ($R_f \approx 0.98$) 的硅胶, 用甲醇 2ml 提取, 并用新配制的试剂 (60% 硝酸 5ml 及 70% 高氯酸 45ml 加甲醇至 100ml) 稀释至 10ml, 放置 15~30 分钟, 过滤, 滤液在 346nm 测量吸收度, 以薄层上相应位置的空白硅胶同样处理作对照。或将甲醇提取液加甲醇稀释至 10ml (即不用试剂稀释), 过滤后在 280nm 测量吸收度。

3. 氧化-还原滴定法⁽⁶⁾

利用儿茶素结构中邻位双酚羟基与 Cu^{2+} 在非水介质中的氧化性质进行测定。

方法: 精确称取一定量样品配成 0.1M 的无水甲醇溶液, 吸取 0.4ml 置于含 25% 甲酸的 80ml 乙腈中, 以导数电位法, 使用铂电极和甘汞电极, 用 1ml 自动滴定管以 0.1M 醋酸铜的丙酸溶液滴定, 并记录滴定曲线, 滴定曲线最高点就是终点 (图 2), 1 克分子儿茶素消耗 2 克分子醋酸铜。

4. 库伦滴定法⁽²⁾

生药中儿茶素的测定。

酚羟基的邻、对位上的氢易为溴素所取代, 儿茶素结构上的酚羟基亦具有这种性质, 因此可用溴库伦法进行滴定。

电解池: H 型电解池 (图 3), 阳极与阴极用垂熔玻璃片隔开, 阴阳两个电极皆为 1cm² 铂片, 电解时工作电极位于搅拌器转子上方, 以保证充分搅拌。

终点指示装置: 如图 4 所示, 两个相同的铂丝电极, 插在电解池发生溴素的阳极区

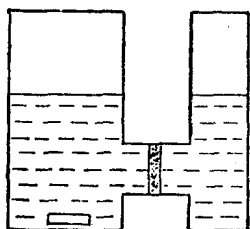


图 3 H型电解池

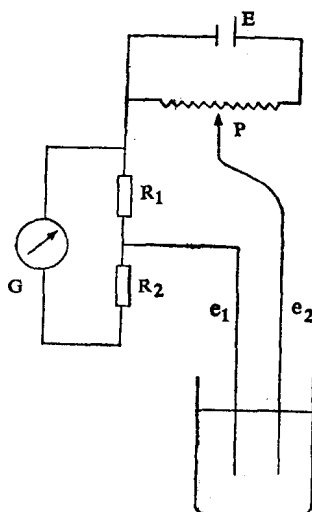


图 4 终点指示装置

G. 检流计 e_1 、 e_2 . 铂丝电极 R_1 、 R_2 .
电阻 P. 电位器 E. 1.5V 干电池

中, 两极之间施加一个很小的电压。

滴定方法: 在H型电解池阳极区放置8~10ml 电解液〔2N 盐酸溶液-1M 溴化钾溶液-乙醇 (15:15:10)〕, 阴极区亦加同一电解液, 使两边液面相等, 通以适当电流 (1~2mA) 进行空白电解以消除电解液中杂质, 然后加入纯品乙醇溶液 (1mg/ml) 以恒电流发生溴素进行滴定, 用死停法指示终点, 开始电解时检流计指针不动, 当检流计指针移动的位置与空白滴定时移动位置相同时即为终点, 记录电解时间, 由下式计算 n 值:

$$n = \frac{i \cdot t \cdot M}{W \cdot F}$$

i : 电解电流 (mA)

t : 电解时间 (Sec)

M : 儿茶素分子量 (289.25)

W : 加入电解池纯品量 (mg)

F : 法拉第常数 (96483 库伦/当量)

生药中儿茶素的测定:

提取: 准确称取约0.1g 儿茶样品 (80目), 置于10ml 磨口具塞试管中, 加入10.0ml 氯仿-甲醇 (1:1), 塞紧, 用力振摇5分钟, 放置过夜, 然后取上清液进行薄层分离。

分离: 用微量注射器吸取上述提取液20~30 μ l 点于硅胶G薄层上, 用氯仿-甲醇-甲酸 (4:1:0.04) 展开后, 取出薄层, 在室温放置30分钟, 待薄层上儿茶素斑点显出后即将此斑点上硅胶刮下, 进行测定。

滴定: 与测定 n 值方法相似, 在进行空白滴定后的电解池阳极区加入从薄层上刮下的硅胶, 并通以恒定电流进行电解, 同时记录电解时间, 由下式算出儿茶素含量:

$$\text{儿茶素}\% = i \cdot t \cdot 7.493 \times 10^{-4} / W$$

i = 电解电流 (mA)

t = 电解时间 (Sec)

W = 点于薄层上样品量 (mg)

参 考 文 献

1. G J Kapadia, et al, J Chromatog 12, 420, 1963
2. 徐礼桑等, 药学报 15, 636, 1980
3. 木村康一, 他, 薬学雑誌 78, 325, 1958
4. M Thies, et al, Mikrochim Acta (1), 9, 1971
5. L Fontanelli, et al, Farmaco Ed prat 24, 719, 1969
6. N Delaporte, et al, Anal Chim Acta 59, 273, 1972

三 分 三

为茄科东莨菪属植物锐萼东莨菪 *Scopolia acutangula* C. Y. Wu et C. Chen, Mss.