

柿叶袋泡剂质量控制的实验研究

甄汉深¹,李凌云²,郑跃年³,唐维宏⁴

(1 广西中医学院,南宁 530001; 2 贵州省黔西南州药检所,兴义 562400;
3 广西桂林三金制药集团,桂林 541000; 4 广西北海市中医医院,北海 536000)

摘要:对柿叶袋泡剂采用显微和理化方法进行定性鉴别,并测定其齐墩果酸的含量。

关键词:柿叶袋泡剂;薄层扫描;齐墩果酸

中图分类号:R284.1 文献标识码:B 文章编号:1005-9903(1999)05-0016-03

Experimental Studies on the Quality Control of Shiyedaipaoji

ZHEN Han-shen, LI Ling-yun, ZHENG Yue-nian, TANG Wei-hong

(Guangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanning, 530001)

Abstract: Microscopic and physical-chemical methods were used in the qualitative study of Shiyedaipaoji. The content of oleanic acid were determined by TLC-scanner.

Key words: Shiyedaipaoji; TLC-scanner; oleanolic acid

柿叶来源于柿科植物 *Diospyros Kaki* Thunb. 的干燥叶,收载于《广西中药材标准》中^[1],其具有清肺止咳,凉血止血,活血化瘀,降血压之功效。用于咳喘,肺气胀,各种内出血,高血压,脑动脉硬化症,冠心病。据报道^[1],柿叶除含有齐墩果酸外,尚含有鞣质、酚类、树酯、黄酮甙、香豆精、有机酸、氨基酸、还原糖等成分。把其加适当辅料制成袋泡剂,为一种新型的降压、治疗脑动脉硬化症,冠心

病的制剂。本文就其质量控制的方法进行研究,报道如下。

1 仪器与材料

1.1 仪器 CS-9000 双波长飞点快速扫描仪(日本岛津);点样用定量毛细管(Drummond Scientific co USA);PBQ-I 型薄层自动铺板器(重庆南岸新力实验电器厂)。

1.2 药材 收集自广西全州县郊区,经本院周子静教授鉴定,柿叶为柿科植物 *Disopyros*

Kaki Thunb. 的干燥落叶。

1.3 药品与试剂 齐墩果酸对照品(中国药品生物制品检定所)。硅胶 G(青岛海洋化工厂);其余试剂均为分析纯。柿叶袋泡剂(本院研制品)。

2 方法与结果

2.1 显微定性鉴别 取柿叶原药材粉末装片作阳性对照,取柿叶袋泡剂研成细粉,装片置显微镜下观察,确定本品的显微特征:上表皮细胞多角形,垂周壁较平直,下表皮细胞垂周壁多稍弯曲;草酸钙方晶直径 $8\sim 30\mu\text{m}$ 。

2.2 薄层色谱鉴别 样品供试液制备 取柿叶袋泡剂适量,研成粉末,过 80 目筛,称取约 5g,以 95%乙醇 50ml,回流提取 3h,过滤,滤液用石油醚萃取 3 次(每次 5ml),合并萃取液,挥干石油醚,残渣用无水乙醇 5ml 溶解。

柿叶阳性对照液制备 称取柿叶粉末约 5g,余下按上制备。

柿叶阴性对照制备 称取无柿叶的袋泡剂粉末约 3g,制法同上。

齐墩果酸对照液制备 取齐墩果酸对照液适量,加氯仿制成 0.5mg/ml 的对照液。

分别取上述四种溶液适量,点于同一块硅胶 G-0.7%CMC-Na(1:3)薄层板上,以苯-乙酸乙酯(3:1)为展开剂,展开,展距 12cm,晾干后,喷以 10%硫酸乙醇液,于 90℃ 烘 10min,在可见光下观察,样品与阳性对照、化学对照在相同的 R_f 值位置均为红色斑点;在紫外光(254nm 或 365nm)为黄色荧光斑点。而阴性对照在此处无斑点。详见图 1。

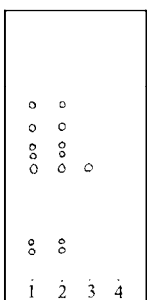


图 1 柿叶袋泡剂中柿叶的 TLC 图谱

1. 柿叶袋泡剂样品液
2. 柿叶阳性对照液
3. 齐墩果酸对照液
4. 阴性对照液

2.3 齐墩果酸含量测定^[3]

2.3.1 层析条件 取硅胶 G 加 0.7% CMC-Na(1:3),用电动搅拌器搅匀后,用自动铺板器铺板,规格 $10\text{cm}\times 20\text{cm}\times 0.5\text{mm}$,晾干,110℃ 活化 1h 置干燥器中备用。展开剂、显色剂同 2.2 项。

2.3.2 对照液制备 精密称取齐墩果酸对照品 2.50mg,置 5ml 容量瓶中,加氯仿制成 0.50mg/ml 对照液。

2.3.3 样品液制备^[2] 取柿叶袋泡剂,研成粉末,过 80 目筛,60℃ 烘 6h,精密称取粉末约 6g,置索氏提取器中,加 95%乙醇回流提取至无色,提取液浓缩至约 30ml,用 95%乙醇定容至 50ml。再加盐酸 5ml,回流水解 1h,定容至 50ml。滤过,精密量取滤液 5ml,先后用 5ml 石油醚萃取 10 次。合并萃取液,挥干石油醚,残渣用无水乙醇溶解,定容至 5ml,即得供试液。

2.3.4 薄层定性 在同一块薄层板上,分别点对照液和样品液适量,按上述条件展开,展距 12cm,晾干后,喷显色剂。90℃ 烘 10min,结果参看定性图 1。

2.3.5 薄层扫描条件 对上述 R_f 值相同斑点,在 370~760nm 波长范围内进行光谱扫描,结果表明样品与齐墩果酸对照在 535nm 波长处有最大吸收,而在 650nm 波长处吸收较小,故采用 $\lambda_s = 535\text{nm}$, $\lambda_R = 650\text{nm}$,双波长反射法锯齿扫描。见图 2。

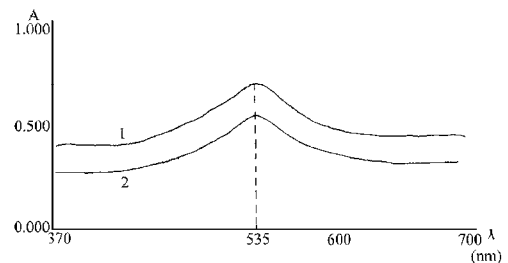


图 2 齐墩果酸光谱扫描图

1. 齐墩果酸对照品
2. 柿叶袋泡剂样品

2.3.6 线性关系考察 用定量毛细管分别精密吸取齐墩果酸对照液 2,3,4,5,6 μl 点样,按上述条件展开、显色、烘干,扫描测定峰面积,得回归方程:

$$Y = 14522.6x + 13668, r = 0.9998$$

表明齐墩果酸点样量在 $1 \sim 3 \mu\text{g}$ 之间与斑点峰面积呈良好线性关系。

2.3.7 精密度试验 同一样品斑点连续扫描 5 次,测得峰面积的 $RSD = 0.42\%$;同一样品在同一薄层板上不同位置点样测定,结果 $RSD = 1.06\%$, ($n = 5$)。

2.3.8 稳定性试验 取供试液,按上述条件点样、展开、显色、烘干后,从 10min 起测定,每隔 30min 测定一次其峰面积,直至 2h,结果表明齐墩果酸在 2h 内基本稳定 ($RSD = 1.59\%$, $n = 5$)。

2.3.9 样品测定 用定量毛细管分别精密吸取样品供试液 $4 \mu\text{l}$,齐墩果酸对照液 $2 \mu\text{l}$, $3 \mu\text{l}$,分别点于同一薄层板上,按上述条件展开、显色、烘干,扫描测定其峰面积,按外标两点法计算,结果见表 1。

表 1 柿叶袋泡剂中齐墩果酸含量测定结果 %

样品批号	\bar{x}	RSD
970301	0.25	3.26
970302	0.30	1.89
970303	0.28	3.45
970304	0.33	2.47
970305	0.26	1.92

2.3.10 加样回收 分别精密称取齐墩果酸对照品适量,加入样品中,按样品测定项下方法进行测定,结果见表 2。

表 2 柿叶袋泡剂中齐墩果酸加样回收测定

样品编号	含量 mg	测得总量 mg	回收率 %	\bar{x} %	RSD %
1	14.29	28.77	96.5		
2	15.03	29.76	98.2	98.2	1.2
3	14.03	23.94	99.1		
4	14.24	23.99	97.5		
5	14.84	24.79	99.5		

注:1,2 加入对照品量为 15.00mg;3,4,5 加入量为 10.00mg

3 讨论

3.1 柿叶除含有齐墩果酸外,尚含有多种成分,其中有丰富的维生素 C 等。本品采用经霜之落叶为原料,一般认为经霜柿叶的质量较好^[1]。齐墩果酸稳定,重现性好,而且还具有消炎抗菌、降血脂、降血糖的药理作用与本制剂的功效相一致,因此选用齐墩果酸作为定量指标有一定的实际意义。

3.2 在薄层扫描中,显色烘干后应用大小相同干净玻璃板盖在薄层板上,周围用胶布密封,在 2h 内测定完毕,否则会影响测定结果。

参考文献:

- [1] 广西卫生厅. 广西中药材标准[M]. 南宁:广西科技出版社,1992:244
- [2] 甄汉深,张三平,唐维宏. 柿叶鉴别的实验研究[J]. 中国中药杂志,1997,22(7):417
- [3] 甄汉深,黄珊映,唐维宏. 双波长薄层扫描法测定柿叶中齐墩果酸含量[J]. 中草药,1998,29(9):627

(收稿日期:1999-02-05)