

# Studies on Chemical Constituents in Leafs of *Clerodendron fragrans*

GAO Li-ming<sup>1</sup> , WEI Xiao-mei<sup>2</sup> , HE Yang-qing<sup>1</sup>

( 1. Chemistry & chemical Engineering College ,Northwest Normal University ,Lanzhou 730070 ,Gansu ,China ;  
2. Department of Basic Course ,Gansu Agricultural University ,Lanzhou 730070 ,Gansu ,China )

[ Abstract ] **Objective** :To separate and identify the constituents from *clerodendron fragrans*. **Method** :The constituents were isolated and purified with chromatographic methods ,identified by NMR ,MS ,IR. **Result** : $\beta$ -sitosterol ( 1 ) ,clerosterol ( 2 ) ,daucosterol ( 3 ) ,caffeic acid ( 4 ) ,kaempferol ( 5 ) , 5 , 4'-dihydroxy-kaempferol-7-*O*- $\beta$ -rutoside ( 6 ) , acteoside ( 7 ) and leucoseptoside A ( 8 ) , were isolated and identified. **Conclusion** :Compound 7 and 8 were identified for the first time from *Clerodendron fragrans*.

[ Key words ] *clerodendron fragrans* ; acteoside ; leucoseptoside A

[ 责任编辑 李 禾 ]

## 醋制延胡索微粉提取条件的研究

张永欣 , 张 颖 , 张启伟

( 中国中医研究院 中药研究所 北京 100700 )

[ 摘要 ] 目的 对影响醋制延胡索微粉提取的诸因素进行考察 ,为醋制延胡索微粉的应用奠定基础。方法 采用单因素试验方法 ,以活性成分延胡索乙素为指标 ,高效液相色谱法测定其含量。Diamondsil C<sub>18</sub> 色谱柱 ,流动相乙腈-三乙胺磷酸盐缓冲溶液 ( pH 7.0 ) ( 50 : 50 ) ,检测波长 280 nm。结果 实验得出醋制延胡索微粉提取条件为 :温度为 60 ℃ ,提取时间 30 min ,加水量 20 倍。结论 微粉的提取效率比饮片煎煮的要高约 10%。但微粉提取用水量少 ,提取时间短 ,温度低。在工业化生产中可以降低能耗 ,提高经济效益。

[ 关键词 ] 醋制延胡索 ; 微粉 ; 提取条件 ; 延胡索乙素 ; 高效液相色谱法

[ 中图分类号 ] R 283.3 [ 文献标识码 ] A [ 文章编号 ] 1001-530X ( 2003 ) 10-0951-03

中药延胡索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎。其功能为活血 , 利气 , 止痛 , 主要用于治疗胸肋、腕腹疼痛 , 经闭痛经 , 产后瘀阻 , 跌打肿痛<sup>[ 1 ]</sup> , 2000 年版《中国药典》在其炮制项下记载了醋制延胡索。醋制延胡索可增强活血 , 利气 , 止痛作用<sup>[ 2 ]</sup>。

为了便于药材中成分的提取溶出及提高药材利用率 , 采用超微粉碎技术将中药饮片粉碎成微粉。但微粉的提取受到哪些因素的影响 , 尚有待系统研究。本实验以醋制延胡索为研究对象 , 选择其中活性成分延胡索乙素为指标 , 对水的提取温度、提取时

间、用水倍数进行了考察 , 并与醋制延胡索及其煎剂进行了比较 , 为醋制延胡索微粉的应用提供依据。

### 1 仪器、试剂和试样

Agilent 1100 泵高效液相色谱仪 , 包括四元溶剂泵 , 脱气机 , 柱温箱 , 光电二极管阵列检测器 , 自动进样器及软件 ( 美国 ) , HHS11-2 型水浴 ( 上海医疗器械五厂 ) , LD4-2 型离心机 ( 北京医用离心机厂 ) , Sartorius 2004MP 型天平 ( 德国 )。

液相色谱流动相所用乙腈 ( HPLC / Spectro , Te-dia ) , 超纯水 , 无水乙醇 , 甲醇 , 磷酸 , 三乙胺 , 乙醚等均均为分析纯。延胡索乙素对照品购于中国药品生物制品检定所 ( 批号 0726-9906 , 供含量测定用 )。

醋制延胡索及微粉由同仁堂饮片厂提供。

### 2 方法学考察

[ 收稿日期 ] 2003-02-15

[ 通讯作者 ] 张启伟 Tel ( 010 ) 64014411-2966

2.1 色谱条件 Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱( 4.6 mm×250 mm ,5 μm 迪马公司 ),柱温 35 ℃ ;流动相乙腈-三乙胺磷酸缓冲溶液( pH 7.0 )( 50:50 ) ,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup> ;检测波长 280 nm。

三乙胺磷酸缓冲溶液的配制方法 :取 0.01 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸水溶液 ,滴加三乙胺 ,调节 pH 至 7.0。

在上述色谱条件下 ,延胡索乙素、醋制延胡索微粉水提取物色谱图见图 1。经光电二极管阵列检测器软件检查 ,样品中延胡索乙素峰纯度符合要求。

2.2 线性范围的考察 精密称取延胡索乙素对照品 2.54 mg ,配制成每 1 mL 含 0.127 mg 的对照品溶液 ,备用。分别精密吸取 2 ,4 ,6 ,8 ,10 μL 进样。以峰面积积分值为纵坐标 ,进样量( μg )为横坐标 ,计算回归方程为  $Y = 834.5X - 3.59$  ,  $r = 0.9999$ 。进样量在 0.25~1.27 μg 与峰面积呈线性。因截距很小 ,采用外标一点法计算含量。

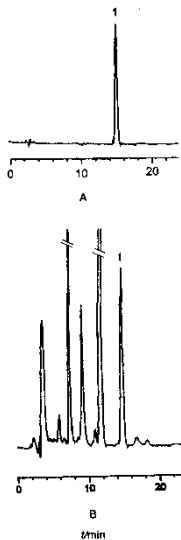


图 1 延胡索乙素对照品和微粉浸提物液相色谱图谱  
A. 延胡索乙素对照品 B. 微粉浸提物  
1. 延胡索乙素

2.3 精密度试验 取样品溶液 1 份 ,连续进样 6 次 ,测定峰面积平均值为 717.32 ,RSD=0.27%。

2.4 稳定性考察 取新鲜制备的样品溶液立即进样 ,并于 1 ,2 ,4 ,8h 时进样分析 ,计算含量平均值为 0.055 0% ,RSD=1.98%。

2.5 重复性试验 用 1 批样品 ,称取 5 份 ,按样品溶液制备方法制备 ,进样分析 ,计算含量平均值为 0.054 5% ,RSD=0.34%。

2.6 回收率试验 取已测定含量的样品 6 份 ,分别加入对照品一定量( 0.274 0 mg ) ,按样品溶液制备方法制备 ,进样分析 ,结果见表 1。

表 1 延胡索乙素加样回收试验结果

| 样品量 /g   | 含量 /mg  | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|----------|---------|---------|--------|--------|--------|
| 0.500 82 | 0.272 9 | 0.566 6 | 107.2  | 105.9  | 1.99   |
| 0.500 74 | 0.272 9 | 0.555 3 | 103.1  |        |        |
| 0.502 40 | 0.273 8 | 0.571 1 | 108.5  |        |        |
| 0.502 21 | 0.273 7 | 0.560 6 | 104.7  |        |        |
| 0.503 89 | 0.274 6 | 0.565 8 | 106.3  |        |        |
| 0.505 25 | 0.275 4 | 0.565 5 | 105.9  |        |        |

### 3 影响微粉提取诸因素的考察

3.1 提取温度 固定加水量( 1:20 ) ,浸泡时间( 30 min )等条件 ,考察 40 ,60 ,80 ,100 ℃ 等不同浸泡温度 ,测定含量 ,结果见表 2。根据测定结果 ,确定最佳提取温度为 60 ℃。

表 2 不同温度对微粉中延胡索乙素提取的影响

| 温度/℃ | 含量/mg·g <sup>-1</sup> |
|------|-----------------------|
| 40   | 0.304                 |
| 60   | 0.467                 |
| 80   | 0.345                 |
| 100  | 0.323                 |

3.2 提取时间 固定提取温度( 60 ℃ ) ,加水量( 1:20 )等条件 ,考察 5 ,15 ,30 ,60 min 等不同提取时间 ,测定含量。结果见表 3。根据测定结果 ,确定提取时间为 15~30 min 为宜。

表 3 不同提取时间对微粉中延胡索乙素提取的影响

| 时间/min | 含量/mg·g <sup>-1</sup> |
|--------|-----------------------|
| 5      | 0.317                 |
| 15     | 0.442                 |
| 30     | 0.447                 |
| 60     | 0.406                 |

3.3 加水量 固定提取温度( 60 ℃ )和提取时间( 15 min )等条件 ,考察加水量( 10 ,20 ,40 ,70 倍 ) ,测定含量 ,结果见表 4。根据测定结果 ,以选择 20 倍加水量即可。

表 4 不同加水量对微粉中延胡索乙素提取的影响

| 加水倍数 | 含量/mg·g <sup>-1</sup> |
|------|-----------------------|
| 10   | 0.071 6               |
| 20   | 0.464                 |
| 40   | 0.467                 |
| 70   | 0.446                 |

### 4 样品测定

样品溶液的制备 取微粉样品约 2 g ,精密称

定 ,置具塞三角瓶中 ,准确加入蒸馏水 40 mL ,称重 ,振摇分散后置 60 ℃ 水浴中 ,浸泡 15 min。取出放冷 ,称重 ,补至原重。摇匀 ,离心( 2 000 r·min<sup>-1</sup> )20 min。精密吸取上清液 25 mL ,氨水碱化( pH 13 ) ,用乙醚萃取 3 次( 15 ,10 ,10 mL ) ,合并醚萃取液 ,脱水 ,除去乙醚 ,残渣用无水乙醇溶解 ,转移至 10 mL 量瓶中定容 ,摇匀 ,滤过 ,供色谱分析。

测定的 3 批样品结果见表 5。

表 5 微粉样品测定结果

| 饮片<br>编号 | $d_{50}$<br>$/\mu\text{m}$ | 水分<br>$/\%$ | 延胡索乙素含量<br>$/\%$ | 提取率 <sup>1)</sup><br>$/\%$ |
|----------|----------------------------|-------------|------------------|----------------------------|
| 1        | 7.68                       | 9.08        | 0.050 1          | 89.6                       |
| 2        | 6.63                       | 9.38        | 0.050 7          | 90.7                       |
| 3        | 6.37                       | 8.72        | 0.048 4          | 86.6                       |

注 :<sup>1)</sup>微粉浸提出的含量除以醋制延胡索饮片中的含量

### 5 饮片煎液与微粉浸提液色谱指纹图谱的初步比较

取饮片煎液与微粉浸提液的碱化后乙醚萃取物甲醇溶液进样 ,在上述色谱系统 ,以乙腈-三乙胺磷酸盐( pH 7.0 )梯度洗脱 ,测定了上述 2 个样品的指纹图谱。经比较 ,二者存在的色谱峰基本相同。

### 6 讨论

6.1 延胡索的有效成分为生物碱 ,主要为紫堇碱、四氢巴马亭(其消旋体即为延胡索乙素)、海罂粟

碱、 $\alpha$ -别隐品碱、普鲁托品、四氢黄连碱、四氢小檗碱等。延胡索乙素含测方法近年来报道的主要为高效液相色谱法<sup>[3,4]</sup>和毛细管电泳法<sup>[5,6]</sup>。在参考文献的基础上建立了本文的高效液相色谱测定方法。

6.2 本文比较了微粉浸提液碱化后乙醚萃取的次数 ,发现萃取 3 次即可。

6.3 从测定的结果看 ,微粉的提取效率比饮片煎煮的要高约 10%。因为延胡索醋制后生物碱与醋酸成盐 ,易溶于水 ,所以饮片煎出率也较高。但微粉提取用水量少 ,提取时间短 ,温度低。在工业化生产中可以降低能耗 ,提高经济效益。

[致谢] 微粉粒度测定的结果由本所分析化学室闫寒、章军提供。

### [参考文献]

[1] 中国药典.一部.2000.108  
[2] 原思通.医用中药饮片学.北京:人民卫生出版社,2001.355  
[3] 龚青,周蒂,王碧娟.HPLC法测定延胡索中延胡索乙素的含量.中国现代应用药学,2000,17(14):315.  
[4] 杨天展.高效液相色谱法测定胃得康散中延胡索乙素含量.时珍国医国药,2000,11(1):31.  
[5] 张强,柳全文,田景振.高效毛细管区带电泳测定克心疼缓释片中的延胡索乙素.药物分析杂志,2001,21(1):53.  
[6] 姜舜尧,宋景政,周明昊,等.高效毛细管电泳测定宁夏天无药材中延胡索乙素的含量.中国药学杂志,2000,35(5):336.

## Study on Extraction Conditions for Minute Powder of Processed Rhizome of Corydalis with Vinegar

ZHANG Yong-xin , ZHANG Ying , ZHANG Qi-wei

( Institute of Chinese Materia Medica , China Academy of Traditional Chinese Medicine , Beijing 100700 , China )

[ Abstract ] **Objective** : To examine the factors in extracting the minute powder of processed rhizome of Corydalis with vinegar for its application. **Method** : The one-way variation analysis was used for experimental design. Tetrahydropalmatine was determined with HPLC method. The samples were separated on a Diamonsil C<sub>18</sub> column with mobile phase of acetonitrile-TEA phosphate buffer ( pH 7.0 ) ( 50:50 ) and detection wavelength was 280nm. **Result** : The extraction conditions were established as follows : extraction temperature is 60 ℃ , water-added amount is 20 times the weight of the powder , and extraction time is 30 minutes. **Conclusion** : The extraction rate of the trahydropalmatine in the minute power is about 10% higher than that of the processed rhizome with vinegar. But less water amount , less time , and lower temperature were needed for extraction. The application of minute powder can reduce energy consumption and raise economic benefit in industrial production.

[ Key words ] processed rhizome of corydalis with vinegar ; minute powder ; tetrahydropalmatine ; HPLC

[ 责任编辑 李 禾 ]