



· 临床研究 ·

壮、瑶药小槐花中异柠檬酚的分离鉴定及含量测定研究

郑集元 谭枚秀 (湖南中医药大学第二附属医院 湖南长沙 410000)

摘要:目的 研究壮、瑶药小槐花中异柠檬酚的分离鉴定及含量测定。方法 选取壮、瑶药小槐花作为研究对象,所有入选的药物均是经过我院中药药师鉴定,经过临床药物确定为小槐花,采用 HPLC 归一化法测定含量。结果 13kg 小槐花分离提纯获得 42mg;针对分离提纯的小槐花实施结构鉴定得出小槐花的为异柠檬酚化学结构;小槐花异柠檬酚平均含量为 0.037%。结论 壮、瑶药小槐花中的主要成分是异柠檬酚,且受到生长环境影响其含量会产生一定的差异。

关键词:壮、瑶药小槐花 异柠檬酚 分离鉴定 含量测定

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187 (2017) 01-080-01

小槐花(学名: *Desmodium caudatum*, 中药名: 清酒缸, 闽语: bbua caur), 为豆科落叶固氮植物, 生长在山地、山坡和林边, 为灌木^[1]。小槐花的采集时间一般在夏季和秋季^[2]。小槐花具有清热、凉血、散瘀的供销, 是临床上常用的一种中药药剂。在壮医和瑶医中均认为小槐花具有散瘀利水、通气道谷道、清热毒、健脾开胃等贡献, 是跌打损伤、胃痛、溃疡、水肿等治疗常用且有效的一种药物^[3]。为了进一步明确小槐花的药用价值, 本次研究中对壮、瑶药小槐花中异柠檬酚的分离鉴定及含量测定进行研究和分析, 现报道结果如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料: 针对本次壮、瑶药小槐花中异柠檬酚的分离鉴定及含量测定, 选取壮、瑶药小槐花作为研究对象, 所有入选的药物均是经过我院中药药师鉴定, 经过临床药物确定为小槐花。所有入选的小槐花生产地均为壮、瑶地区, 地处于广西鹿寨县, 对所有入选的小槐花生长环境、条件等进行统计学资料分析, $P < 0.05$, 差异无统计学意义, 可以进行临床异柠檬酚的分离鉴定和含量测定分析。

1.2 检测仪器: 本次研究中需要对壮、瑶药小槐花中异柠檬酚的分离鉴定及含量测定, 其中使用的主要仪器和设备如下: IR-470 红外光谱仪(日本岛津公司), DRX-500MHz 超导核磁共振仪(瑞士布鲁克公司), 岛津高效液相色谱仪 LC-20A, 色谱工作站 LC SOLUTION, 分析天平 XS205(海特勒托利多有限公司), ZDM-83-1 型电热熔点仪(江苏科教玻璃仪器厂), 数控超声波清洗器 KQ-500DB(昆明市超声仪器有限公司), 数显恒温水浴锅 HH-S2(金坛市医疗仪器厂), 循环水式多用真空泵 SHB-III(真州长城科工贸有限公司)。此外, 本次研究中所使用的主要试剂为: 异柠檬酚对照品是从小槐花中提取分离获得的, 并且采用 HPLC 归一化法测定含量 $> 98\%$ 后, 符合结构鉴定标准需求; HPLC 为色谱纯试剂; 其它试剂为分析纯试剂。

1.3 统计学处理: 本次研究数据采用 (n) 率 (%) 和 (±) 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 数据组间统计学处理比较采用 SPSS21.0 统计软件, 以卡方 (χ^2) 和 (t) 检验, $P < 0.05$, 表示统计学处理差异性明显, 有统计学意义。

2 方法结果

2.1 分离提纯方法和结果: 采用传统中药碾碎工艺将小槐花 13kg 药材进行粉碎处理, 以 101 倍 95% 乙醇回流提取的方式进行分离提取, 提取频率为 4 次/2h; 随后, 针对提出也进行减压回收, 得浸膏, 采用 85℃ 的石油醚进行乙酸乙酯萃取, 回收溶液实施柱层析处理, 搜集分流的 160 个流分, 采用薄层鉴定的方式确定流分合并, 最终反复实现柱层析, 实现小槐花的分离提纯, 得到小槐花 42mg。

2.2 测定及结果: 针对分离提纯的小槐花实施结构鉴定, 其中 mp. $> 250^\circ\text{C}$, $R(\text{KBr})\text{cm}^{-1}$ 依次为 3445, 3029, 2981, 2842, 1625, 836。 ^1H NMR(500MHz, MeOD) 依次为 7.36(2H, d, $J=8.3\text{Hz}$, $H-1'$, $7'$), 6.83(2H, d, $J=8.3\text{Hz}$, $H-2'$, $6'$), 6.41(1H, d, $J=10.21\text{Hz}$, $H-2'$, $6'$), 5.96(2H, d, $J=8.5\text{Hz}$, $H-1'$, $8'$), 5.51(1H, d, $J=10.23\text{Hz}$, $H-2'$, $6'$), 5.02(1H, d, $J=13.25\text{Hz}$, $H-2'$, $7'$), 4.39(1H, d, $J=11.21\text{Hz}$, $H-3'$, $1'$), 1.06(6H, d, $J=11.23\text{Hz}$, $H-4'$, $5'$)。 ^{13}C NMR(125MHz, MeOD) 依次为: 197.58(C-

1), 16.35(C-4), 162.25(C-5), 169.25(C-8'), 158.02(C-9), 130.25(C-2', 6'), 120.25(C-1'), 129.25(C-1''), 115.25(C-4', 5'), 116.25(C-1''), 103.25(C-7), 102.58(C-9), 97.25(C-7), 85.35(C-2), 78.41(C-3''), 72.25(C-2), 59.25(C-4''), 29.25(C-5'')。最终经过检定得出小槐花的为异柠檬酚化学结构。

2.3 含量测定和结果: 完成对照品容易制备。选择 5mg 异柠檬酚对照品称定, 放置 10ML 的色量瓶中, 加入甲醇溶解液, 摇匀, 确定浓度为 0.55mg/ml, 留置备用。采用精密测量的方式取溶液 0.55mg/ml, 使用甲醇稀释至标准刻度, 摇匀, 留置备用, 最终得出 0.011mg/ml 对照溶液。完成试品溶液制备。精密称量 1g 小槐花粉末, 放置 25ml 的赛锥形瓶中, 精密加入 55% 甲醇 25ml, 采用超声仪器对其进行处理 50min, 放置, 冷却, 过滤, 摇匀, 静置, 微孔过滤, 取含量测定试品溶剂。经过精密度、稳定性和重复性式样确定, 最终对本次测量样品的含量进行测定, 其中三次测量含量的平均值为 0.037%。详见表 1。

表 1: 小槐花药材异柠檬酚含量测定结果 [%]

生长环境	一次测量	二次测量	三次测量	平均值
偏雨水	0.035	0.034	0.031	0.033
偏干旱	0.031	0.029	0.035	0.032
适宜	0.038	0.037	0.035	0.037

注: 与适宜环境组间比较 $P < 0.05$, 有统计学意义。

3 讨论

瑶药《桂药编》记载中: 小槐花全株治疗风湿痛, 咽喉炎, 胃痛, 痢疾, 消化不良, 小儿疳积。《湘蓝考》记载中: 小槐花治疗小儿疳积, 消化不良, 咽喉炎。壮药《滇省志》记载中: 小槐花治疗风湿痛, 咽喉炎, 痢疾, 消化不良, 贫血。《民族药志一》记载中: 根主治消化不良, 贫血。白音夫, 周雪梅, 周长凤, 等^[4]在其研究中对蒙古山萝卜的有效成分检定和分离的过程中提出不同地域的山萝卜药效含量存在差异性。而本次研究中得出只有适宜的生长环境才能够生产出高含量异柠檬酚的小槐花, 从而由于药物治疗。邵紫培, 赵莹, 袁洪水^[5]在其研究中使用含量测定中提出含量测定试药物药用价值评价的标准之一。壮、瑶小槐花药物中含有的异柠檬酚的含量越高表示其药用价值越高。本次研究中分离提纯出的小槐花试品的药用价值明显优于传统的小槐花植物。因此, 壮、瑶药小槐花中的主要成分是异柠檬酚, 且受到生长环境影响其含量会产生一定的差异。

参考文献

- [1] 温庆伟, 陈春霞, 梁杏梅, 等. 阳桃根中苯醌类化合物的分离鉴定与含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 11 (03): 70-73.
- [2] 陆国寿, 叶勇, 卢文杰, 等. 多叶越南槐中苦参碱与氧化苦参碱的分离鉴定及含量测定研究[J]. 广西医学, 2014, 08 (08): 1109-1112.
- [3] 高微, 刘布鸣, 陈明生, 等. 尖尾枫中毛蕊花糖苷的分离鉴定及含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 21 (01): 60-62.
- [4] 白音夫, 周雪梅, 周长凤, 等. 蒙古山萝卜有效成分的分离、鉴定及含量测定[J]. 西北药学杂志, 2014, 06 (03): 564-566.
- [5] 邵紫培, 赵莹, 袁洪水. 冬虫夏草菌的分离、鉴定及菌丝体多糖含量测定[J]. 食品科技, 2016, 11 (07): 175-179.