

# 蛇床子中蛇床子素和欧前胡素的荧光薄层扫描法测定

孙文基 沙振方 高海

(陕西省药品检验所, 西安 710061)

**提要** 本文报告了用简便方法, 制备蛇床子中主要活性成分蛇床子素和欧前胡素对照品, 并用荧光薄层扫描法测定了含量。将蛇床子用乙醇浸泡, 上清液点于硅胶 G-CMCNa 薄层板上, 以正己烷-醋酸乙酯(7:3)展开, 在 365nm 紫外光的激发下, 使用 2 号滤光片, 进行线性扫描, 外标一点法计算含量。

**关键词** 蛇床子; 蛇床子素; 欧前胡素; 荧光薄层扫描法

蛇床子为伞形科植物蛇床(*Cnidium monnieri* (L.) Cuss.) 的干燥果实。主治皮肤湿疹、阴道滴虫、阳痿等症。药理实验表明<sup>(1,2)</sup>, 它具有性激素样作用, 乙醇提取物在体外有抑制絮状表皮癣菌、小芽胞菌等, 并对滴虫有较强的杀灭效力。

蛇床子中含有多种化学成分<sup>(3)</sup>, 主要为蛇床子素(osthol)和欧前胡素(imperatorin)。前者具有广谱抗菌作用<sup>(4)</sup>, 对须发癣菌有较强的活性, 并能较强地抑制小鼠被动皮肤过敏反应<sup>(5)</sup>, 临床治疗癣菌感染和阴道滴虫。后者具有抗菌、抗炎、解痉和显著的平喘作用<sup>(4,6)</sup>。二者为蛇床子的主要活性成分。

我们从蛇床子中分离到蛇床子素和欧前胡素, 它们具有在紫外光激发下产生荧光的物理特性。本文用荧光薄层扫描法测定了不同样品中二者的含量, 方法简便、快速, 为蛇床子的质量分析提供了检验方法。

## 实验部分

### 一. 仪器和药品

日本岛津 CS-930 型双波长薄层扫描仪, RD-2 型数据处理机; 微量点样毛细管(美国 Drummond); 硅胶 G(薄层层析用, 青岛海洋化工厂)。实验所用蛇床子经本所严智慧同志鉴定。

### 二. 蛇床子素和欧前胡素的分离和鉴定

蛇床子粗粉 1kg, 用 5 倍量乙醇浸泡 3 次, 醇浸液合并, 减压浓缩至少量, 分为油层(深绿色)和水层(浅黄色)。油层用石油醚萃取 3 次后放置, 析出大量结晶, 经无水乙醇反复重结晶, 得白色块晶约 7g, 为晶 A。母液放置后凝固, 以少量乙醇加热溶解, 放置后析出大量结晶, 用无水乙醇反复重结晶, 得浅黄色块晶约 5g, 为晶 B。

晶 A mp 82 ~ 3 °C; UV  $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$  nm(log E): 322 (2.8), 258 (2.3), 250 (2.2); IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3005, 1600, 1560, 1500, 823 (芳环, 二邻芳 H); 1720 (羰基); 2840, 1030 (甲氧基); 3050, 1670, 800 ( $\text{>C}=\text{CH}$ ); 2920, 2900, 2930, 2960, 1380, 1460 (C-H)。<sup>1</sup>H NMR ppm (TMS)( $\text{CDCl}_3$ ): 1.70 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.85 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.50 (d, J=7Hz, 2H,  $\text{>CH}_2$ -), 5.23 (t, J=7Hz, 1H, =CH-), 3.92 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.20 (d, J=9Hz, 1H,  $\text{C}_3$ -H),

7.30 (d, J=7Hz, 1H, C<sub>6</sub>-H), 6.85 (d, J=7Hz, 1H, C<sub>5</sub>-H), 7.62 (d, J=9Hz, 1H, C<sub>4</sub>-H)。MS(EI 源)m/z: 244 (M<sup>+</sup>), 229 (M-15), 213, 201, 189, 159, 131, 115。光谱数据与蛇床子素基本一致<sup>(1,4)</sup>。

**晶 B** mp101 ~ 2 °C; UVλ<sub>max</sub><sup>MeOH</sup>nm (logE): 302 (2.6), 263 (2.7, sh), 250 (2.9), 243 (4.3)。IR(KBr)cm<sup>-1</sup>: 3050, 1620, 1580 (芳环), 870 (咪喃), 2960, 2930, 1470, 1380 (C-H), 1715 (羰基), 3100, 3080, 1670, 800 (>C=C-H)。<sup>1</sup>HNMR ppm (TMS)(CDCl<sub>3</sub>): 1.72 (s, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 4.92 (d, J=7Hz, 2H, -OCH<sub>2</sub>-), 5.6 (t, J=7Hz, 1H, -CH=), 6.4 (d, J=9.5Hz, 1H), C<sub>3</sub>-H, 6.8 (d, J=2.5Hz, 1H, C<sub>3</sub>'-H), 7.7 (d, J=2.5Hz, 1H, C<sub>2</sub>'-H), 7.3 (s, 1H, C<sub>5</sub>-H), 7.8 (d, J=9.5Hz, 1H, C<sub>4</sub>-H)。MS(EI 源)m/z: 270 (M<sup>+</sup>); 245 (M-15), 255, 217, 202 (基峰), 174, 146, 89, 69。光谱数据与欧前胡素一致<sup>(4)</sup>。

**三. 扫描条件**

(一) **激发波长和滤光片的选择** 分别固定仪器 1 号和 2 号滤光片, 试用汞灯的主要谱线 254, 265, 275, 297, 313, 334, 365nm 波长作为激发光, 分别照射薄层板的空白及二个对照品的斑点, 观察其信号值, 结果以 365nm 作为激发光, 使用 2 信号滤光片为好。

(二) **微机主要参数** 线性化因子 0, 累积号 8, 信号平均 8, 步进参数 Δy=0.05, X 宽度 0。

(三) **线性考察** 将准确配制的蛇床子素和欧前胡素的乙醇混合溶液, 用 2 μl 定量毛细管点样 2 ~ 8 μg, 展层后进行扫描测定, 以二者所得的峰面积为纵坐标, 以点样量为横坐标绘图, 如图 1。

由图中可见, 在 2 ~ 8 μg 范围内, 蛇床子素和欧前胡素均成一通过原点的直线, 线性回归方程 y<sub>A</sub>=(2.48x-0.021) × 10<sup>3</sup>, r=0.9994; y<sub>B</sub>=(0.5x-0.1) × 10<sup>3</sup>, r=0.9997。

**四. 生药分析**

(一) **提取** 称取蛇床子样品, 加 20 倍量乙醇, 依次放置 2, 4, 16, 40 h 及超声波振荡 40 min, 扫描后比较其面积值, 结果表明, 样品浸泡 16 h 即可提取完全。

(二) **样品测定** 精密称取干燥的蛇床子粉(40 目)约 1g, 置具塞瓶中, 准确加入乙醇 20ml, 振摇后放置过夜, 取上清液 2 μl 点样。同时点对照品混合溶液(各为 1mg/ml)2 μl 于硅胶 G-CMCNa 薄层板上, 用正己烷-醋酸乙酯(7:3)展开后, 于 365nm 波长紫外灯下观察荧光斑点位置, 再进行薄层荧光线性扫描(图 2), 用外标一点法计算含量, 结果见表 1。

Tab 1. Results of the analysis of samples

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Osthol (%)	2.2	2.6	3.0	2.6	2.0	3.2	2.8	1.1	0	0
Imperatorin (%)	2.5	2.4	2.5	1.8	2.2	2.4	2.1	0.8	0	0
Origin	Xian	Xian	Xian	Xian	Shan dong	Hunan	Hunan	*	**	***

\* Stem of the fruit; \*\* Leaf; \*\*\* Root.

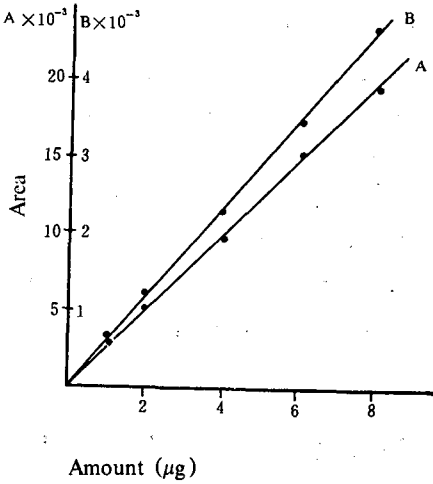


Fig 1 . Standard curves of the two components .  
A :Osthal ; B : Imperatorin .

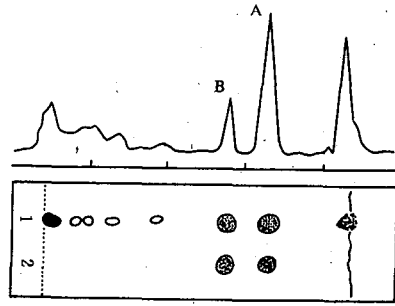


Fig 2 . The TLC and TLCS chromatograms.  
Silica gel G - CMCNa Plate ; *n* - hexane - ethyl acetate  
(7 :3) .Excitation wavelength :365 nm ,Filter No. 2 .  
A .Osthol ;B : Imperatorin . 1 .Sample ;2 .Standard substances .

五. 回收率试验

取同一蛇床子样品约 0.5g 三份,精密称定。将其一份按上法测定含量,其余二份分别加入已知量的蛇床子素和欧前胡素对照品乙醇溶液,按样品测定方法测其含量,重复进行 3 次,求其平均值,最后计算回收率,结果如表 2。

Tab 2 . Recovery of osthol and imperatorin added to crude drugs

Added (mg)		Found (mg)		Recovery (%) (n = 3)	
Osthol	Imperatorin	Osthol	Imperatorin	Osthol	Imperatorin
0	0	11.52	12.71	-	-
10.05	19.58	21.32	31.78	97.5	96.9
20.14	39.82	31.74	52.43	100.4	99.7
		Average		98.9	98.3

六. 精密度试验

将同一样品溶液点于不同薄层板上,展层后扫描测定,依所得面积值计算重现性,求得变异系数(n = 12),蛇床子素 CV = 2.7%,欧前胡素 CV = 2.9%。将同一点各扫描 12 次求其变异系数,蛇床子素 CV = 0.13%,欧前胡素 CV = 0.27%。

讨 论

一. 由于受 C<sub>7</sub> 位甲氧基的影响,在 365 nm 激发波长下,蛇床子素的荧光强度约为欧前胡素的 4 倍。前者为亮蓝色荧光,后者为黄色荧光。

二. 用荧光薄层扫描法测定蛇床子中蛇床子素和欧前胡素的含量, 专属性强, 操作简便、快速, 干扰少, 数据稳定。用双波长锯齿扫描法(检测波长 320nm, 参比波长 270nm)也可测定蛇床子中蛇床子素和欧前胡素的含量, 但操作不及荧光线性扫描简便、快速。

三. 本文用薄层层析法检查了蛇床子植物的果实、花、叶、茎、根皮及根木质部, 发现除果实外其它部位均不含蛇床子素和欧前胡素。可见蛇床子的有效成分只存在于果实中, 证实了蛇床子用药部位的正确性。

致谢 西安近代化学研究所袁忠智、陈驹高级工程师代测核磁共振谱, 赵晓文同志代测质谱。本所严智慧同志鉴定原生药。

### 参 考 文 献

1. 向仁德、傅晓红. 蛇床子化学成分的研究(I). 中草药 1984; 15: 14.
2. 吴葆杰. 中药药理学. 北京: 人民卫生出版社, 1983: 277.
3. 秦清之, 他. 中国产蛇床子 あよびいせのクマ 成分してフヒユ. 薬学雑誌 1972; 92: 1289.
4. 江纪武、肖庆祥. 植物药有效成分手册. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 1986; 792: 603.
5. 陈志春, 等. 蛇床子素抗变态反应的研究. 药学报 1988; 23: 96.
6. 向仁德、傅晓红. 蛇床子化学成分的研究(II). 中草药 1986; 17: 2.

## DETERMINATION OF OSTHOL AND IMPERATORIN IN *CNIDIUM MONNIERI* (L.) CUSS BY FLUOROMETRY TLC SCANNING

WJ Sun, ZF Sha and H Gao

(Shaanxi Provincial Institute for Drug Control, Xian 710061)

**ABSTRACT** The main active constituents—— osthol and imperatorin were isolated from *Cnidium monnieri* (L.) Cuss and then used as standards for their determination in the crude drug by fluorometry TLCS.

The fructus *Cnidii* was macerated with ethanol overnight and the ethanolic extract was spotted on a silica gel G - CMC Na plate. The plate was developed with *n*-hexane-ethyl acetate (7:3). The spot was excited by light of 365 nm, and determined in a Shimadzu CS-930 TLC scanner using a No. 2 filter. The peak areas of the two components were obtained, external standard method was used in the determination.

The root, stem, leaf and flower of this plant were shown to contain no osthol and imperatorin, and the seed was found to contain 2.0 ~ 3.2% of osthol and 1.8 ~ 2.5% of imperatorin.

**Key words** *Cnidium monnieri* (L.) Cuss.; Osthol; Imperatorin; Fluorometry TLC scanning