

黑種草子

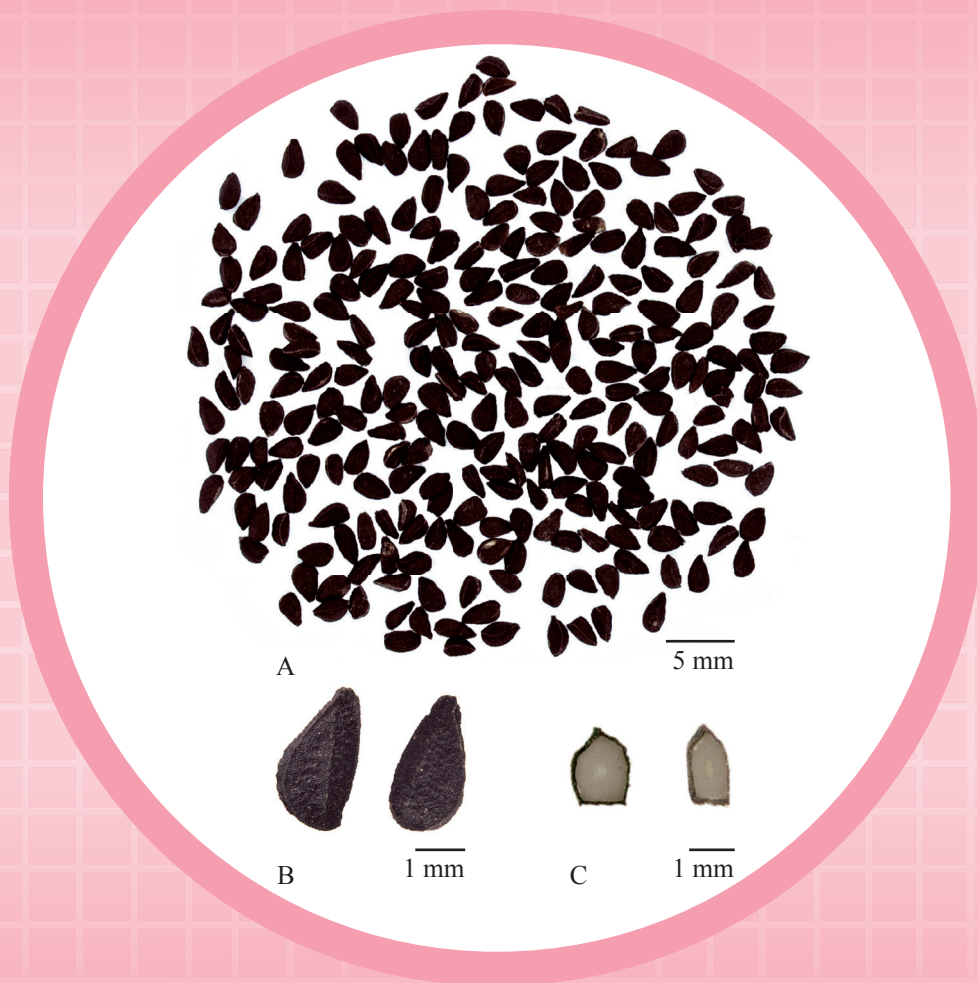


圖 1 黑種草子外觀圖

- A. 黑種草子
- B. 黑種草子放大圖
- C. 黑種草子切面放大圖

1. 名稱

藥材正名：Nigellae Semen

中文名：黑種草子

漢語拼音：Heizhongcaozi

2. 來源

本品為毛茛科植物腺毛黑種草 *Nigella glandulifera* Freyn et Sint. 的乾燥成熟種子。秋季採集，除去雜質，曬乾。

3. 性狀

本品呈三棱狀卵形，長 2.2-3.2 mm，寬 1.2-2.2 mm。表面黑色，粗糙，頂端較狹而尖，下端稍鈍，有不規則突起。質堅硬，切面呈灰白色，有油性。氣微香，味辛(圖 1)。

4. 鑒別

4.1 顯微鑒別(附錄 III)

橫切面

種皮表皮由 1 列細胞組成，大小不一，類長方或不規則長圓形，多切向延長，外壁大多向外突起呈乳突狀或延伸似非腺毛狀，壁稍厚，染色前呈暗棕色；角質層甚薄，隱約可見細密顆粒狀紋理。種皮薄壁組織由 3-4 列細胞組成，長方形或形狀不規則，略切向延長。內表皮細胞 1 列，扁平，棕色。外胚乳為 1 列長方形細胞，徑向延長，有時呈頽廢狀。內胚乳細胞多角形，充滿糊粉粒。子葉 2 枚，細胞多角形或類圓形，最外層細胞略徑向延長，充滿糊粉粒。維管束小，位於內胚乳外層中央(圖 2)。

Tamaricis Cacumen
西河柳
Geranii Caroliniani Herba
野老鸛草

大血藤
Sargentodoxae Caulis
Polygonati Rhizoma
黃精

紅早蓮
Hyperici Ascyri Herba
巴豆(生)
Crotonis Fructus (unprocessed)

Deinagkistrodon (Agkistrodon)
蕘蛇
Valerianae Radix et Rhizoma
纈草

Fici Pumilae Receptaculum
廣東王不留行
Impatientis Caulis
鳳仙透骨草

紫萁貫眾
Osmundae Rhizoma
長春花
Catharanthi Rosei Herba

黑種草子

粉末

灰黑色。種皮表皮細胞暗棕色，表面觀呈多角形，大小不一，外壁側面觀呈乳突狀。種皮內表皮細胞棕色，表面觀呈長方形、類方形或類多邊形，垂周壁連珠狀增厚，平周壁有細密網狀紋理。胚乳細胞呈多邊形，含油滴及糊粉粒。油滴極多，圓形，透明，以蘇丹 III 染色後呈淡紅色。糊粉粒多見，透明，以碘染色後呈紅棕色。子葉細胞長方或類長方形。導管罕見，細小，主要為螺紋導管(圖 3)。

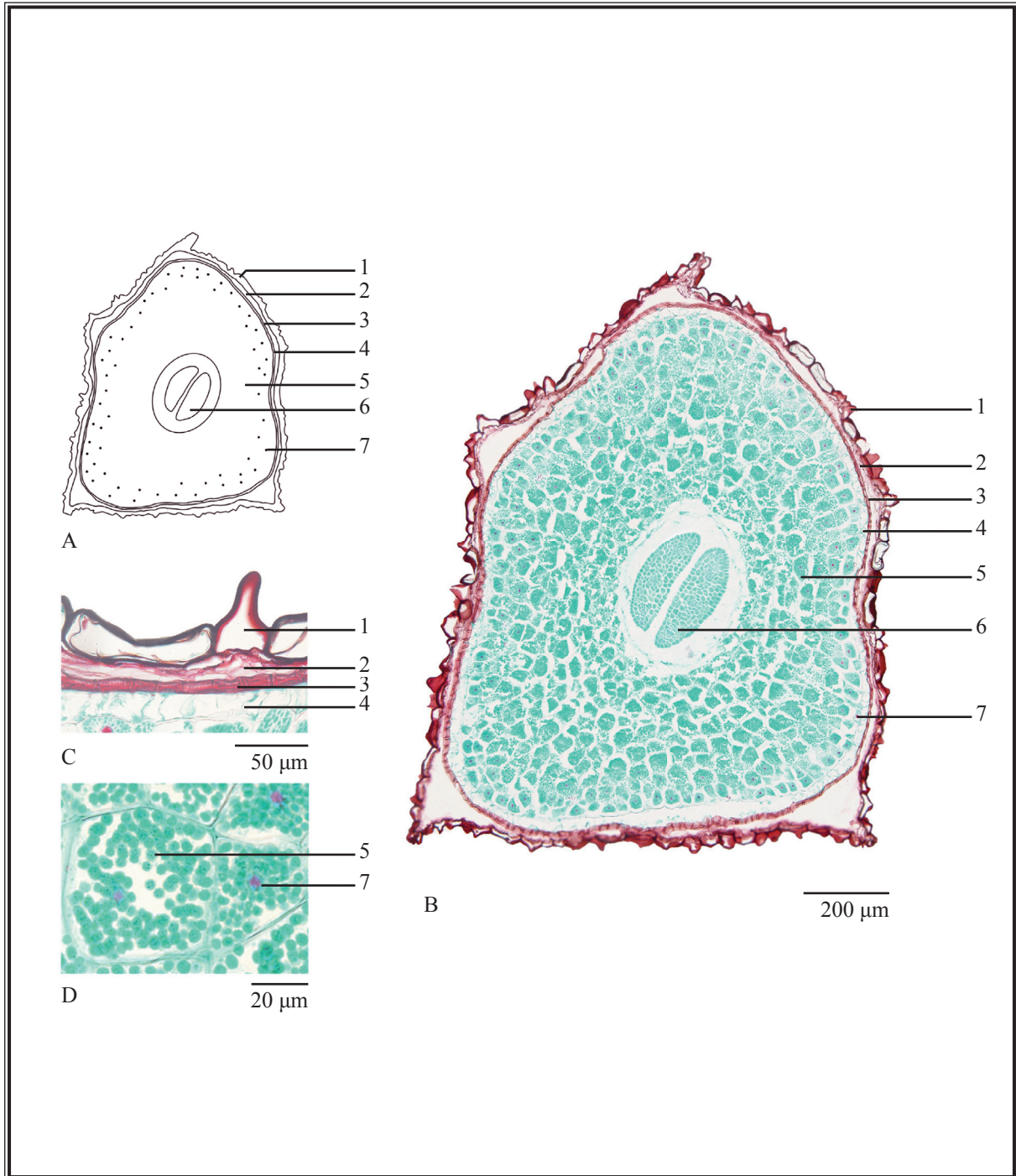


圖 2 黑種草子橫切面顯微特徵圖

A. 簡圖 B. 橫切面圖 C-D. 橫切面放大圖

- 1. 種皮表皮 2. 種皮薄壁組織 3. 種皮內表皮
- 4. 外胚乳 5. 內胚乳 6. 子葉 7. 維管束

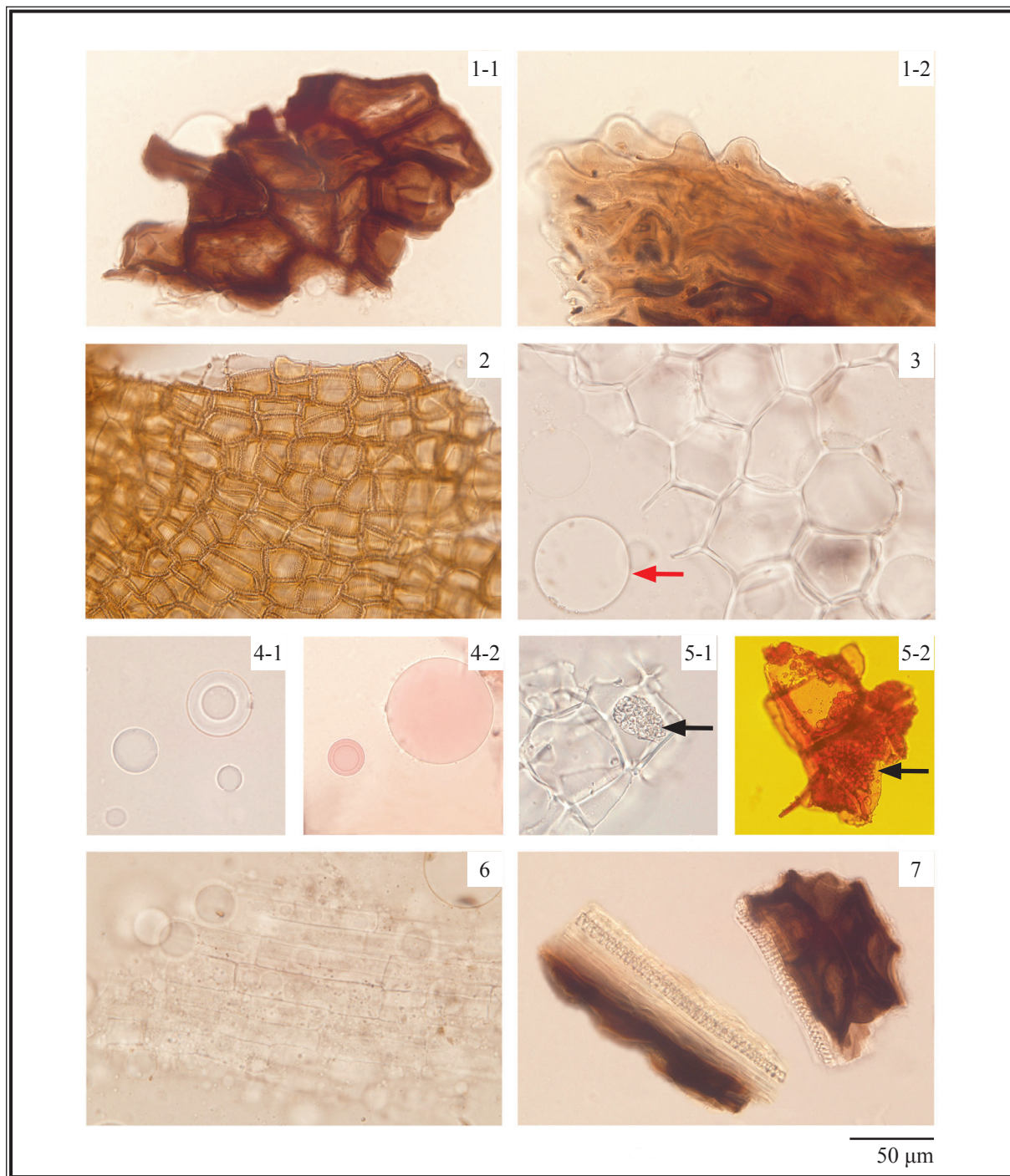


圖 3 黑種草子粉末顯微特徵圖(光學顯微鏡下)

1. 種皮表皮細胞(1-1 表面觀，1-2 側面觀)
2. 種皮內表皮細胞 3. 內胚乳細胞及油滴(→)
4. 油滴(4-1 無染色，4-2 以蘇丹 III 染色)
5. 糊粉粒(5-1 無染色，5-2 以碘染色)
6. 子葉細胞 7. 螺紋導管

4.2 薄層色譜鑒別 [附錄 IV (A)]

對照品溶液

常春藤皂苷元對照品溶液

取常春藤皂苷元對照品(圖 4) 1.0 mg，溶解於 1 mL 甲醇中。

展開劑

製備乙酸乙酯 – 正己烷 – 甲酸(5:3:0.1, v/v)的混合溶液。

顯色劑

取硫酸 10 mL，緩緩加至 90 mL 乙醇中。

供試品溶液

取本品粉末 0.5 g，置 100-mL 圓底燒瓶中，加甲醇 25 mL 和鹽酸 2.5 mL，加熱回流 1 小時，冷卻至室溫。濾過，取濾液轉移於 25-mL 量瓶中，殘渣用適量甲醇洗滌，合併提取液，加甲醇至刻度，即得。

操作程序

照薄層色譜法 [附錄 IV (A)] 進行。分別吸取常春藤皂苷元對照品溶液 2 μ L 和供試品溶液 10 μ L，點於同一高效硅膠 F₂₅₄ 薄層板上。將薄層板置雙槽層析缸一槽中，加上述新製備的展開劑於另一槽內，預先飽和 15 分鐘，再將展開劑小心傾入置薄層板的槽中，展開約 8 cm，取出，標記溶劑前沿，晾乾。均勻噴上顯色劑，在約 105°C 加熱，直至斑點或條帶清晰可見(約 10 分鐘)。置可見光下檢視，並計算 R_f 值。

Tamaricis Cacumen
西河柳

大血藤
Sargentodoxae Caulis

紅早蓮
Hyperici Ascyri Herba

Deinagkistrodon (Agkistrodon)
蕘蛇

Fici Pumilae Receptaculum
廣東王不留行

紫萁貫眾
Osmundae Rhizoma

野老鸛草
Geranii Caroliniani Herba

Polygonati Rhizoma
黃精

巴豆(生)
Crotonis Fructus (unprocessed)

Valerianae Radix et Rhizoma
纈草

Impatientis Caulis
鳳仙透骨草

Catharanthi Rosei Herba
長春花

黑種草子

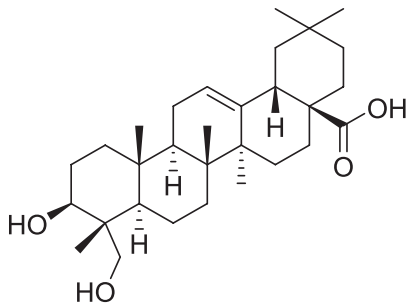


圖 4 常春藤皂苷元化學結構式

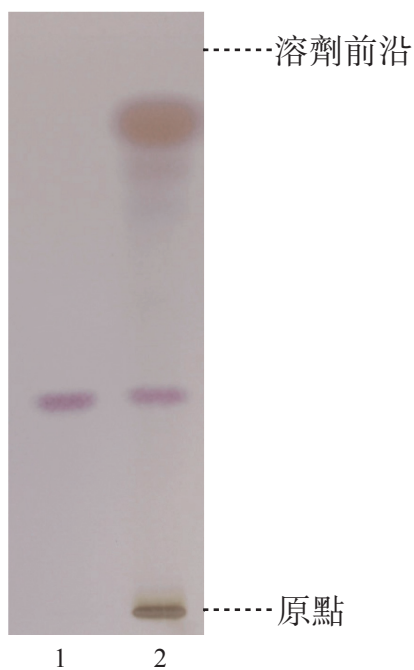


圖 5 黑種草子提取液對照高效薄層色譜圖(顯色後在可見光下檢視)

1. 常春藤皂苷元對照品溶液 2. 供試品溶液

供試品色譜應顯出與常春藤皂苷元色澤相同、 R_f 值相應的特徵斑點或條帶(圖 5)。

4.3 高效液相色譜指紋圖譜法(附錄 XII)

對照品溶液

常春藤皂苷元對照品溶液 *Std-FP* (200 mg/L)

取常春藤皂苷元對照品 0.2 mg，溶解於 1 mL 甲醇中。

供試品溶液

取本品粉末 0.5 g，置 100-mL 圓底燒瓶中，加甲醇 25 mL 和鹽酸 2.5 mL，加熱回流 1 小時，冷卻至室溫。濾過，取濾液轉移於 25-mL 量瓶中，殘渣用適量甲醇洗滌，合併提取液，加甲醇至刻度，用 0.45- μ m 微孔濾膜 (PTFE) 濾過，即得。

色譜系統

液相色譜：二極管陣列檢測器，檢測波長 210 nm；4.6 \times 250 mm 十八烷基鍵合硅膠 (5 μ m) 填充柱；流速約 1.0 mL/min。色譜洗脫程序如下(表 1)：

表 1 色譜洗脫條件

時間 (分鐘)	0.1% 磷酸 (%, v/v)	乙腈 (%, v/v)	洗脫
0 – 30	95 \rightarrow 60	5 \rightarrow 40	綫性梯度
30 – 40	60 \rightarrow 30	40 \rightarrow 70	綫性梯度
40 – 60	30 \rightarrow 20	70 \rightarrow 80	綫性梯度

系統適用性要求

吸取常春藤皂苷元對照品溶液 *Std-FP* 10 μ L，注入液相色譜儀，至少重複 5 次。系統適用性參數的要求如下：常春藤皂苷元的峰面積相對標準偏差應不大於 5.0%；常春藤皂苷元峰的保留時間相對標準偏差應不大於 2.0%；理論塔板數按常春藤皂苷元峰計算應不低於 160000。

供試品測試中 6 號峰與鄰近峰之間的分離度應不低於 1.5 (圖 6)。

操作程序

分別吸取常春藤皂苷元對照品溶液 Std-FP 和供試品溶液各 10 μ L，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。測定對照品溶液 Std-FP 色譜圖中常春藤皂苷元峰的保留時間，及供試品溶液色譜圖中 7 個特徵峰(圖 6)的保留時間。在相同液相色譜條件下，與相對照品溶液 Std-FP 色譜圖中常春藤皂苷元峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中常春藤皂苷元峰。二色譜圖中常春藤皂苷元峰的保留時間相差應不大於 2.0%。按附錄 XII 公式計算特徵峰的相對保留時間。

黑種草子提取液 7 個特徵峰的相對保留時間及可變範圍見表 2。

表 2 黑種草子提取液 7 個特徵峰的相對保留時間及可變範圍

峰號	相對保留時間	可變範圍
1	0.35	± 0.03
2	0.37	± 0.03
3	0.38	± 0.03
4	0.58	± 0.03
5	0.74	± 0.03
6 (指標成份峰，常春藤皂苷元)	1.00	-
7	1.05	± 0.03

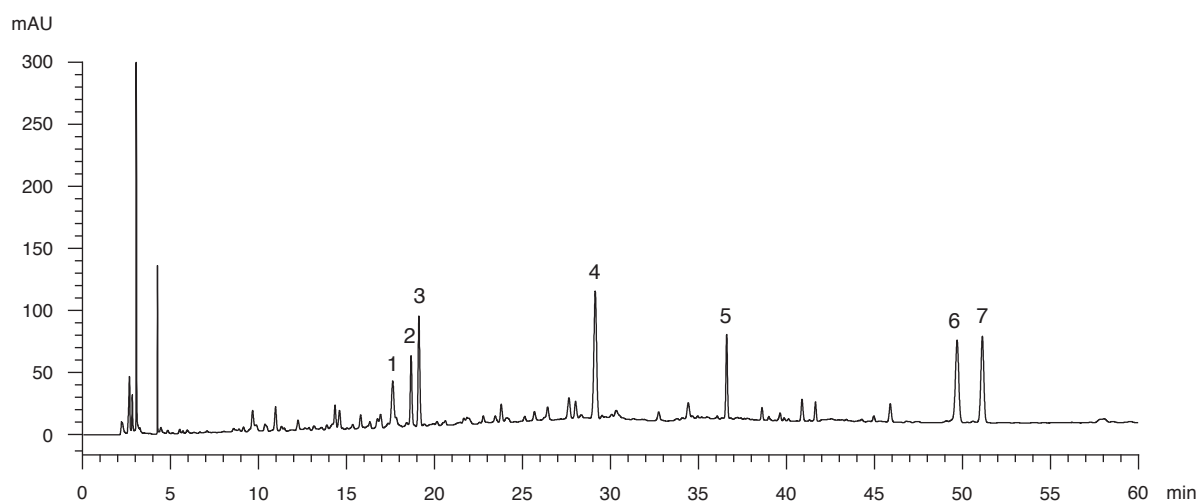


圖 6 黑種草子提取液對照指紋圖譜

供試品色譜圖中應有與對照指紋圖譜相對保留時間範圍內一致的 7 個特徵峰(圖 6)。

5. 檢查

5.1 重金屬(附錄 V)：應符合有關規定。

5.2 農藥殘留(附錄 VI)：應符合有關規定。

5.3 霉菌毒素(附錄 VII)：應符合有關規定。

5.4 二氧化硫殘留(附錄 XVI)：應符合有關規定。

5.5 雜質(附錄 VIII)：不多於 2.0%。

5.6 灰分(附錄 IX)

總灰分：不多於 5.0%。

酸不溶性灰分：不多於 1.0%。

5.7 水分(附錄 X)

甲苯法：不多於 7.0%。

6. 浸出物(附錄 XI)

水溶性浸出物(冷浸法)：不少於 13.0%。

醇溶性浸出物(冷浸法)：不少於 27.0%。

7. 含量測定

照附錄 IV (B) 進行。

對照品溶液

常春藤皂苷元對照品儲備液 *Std-Stock* (1000 mg/L)

精密稱取常春藤皂苷元對照品 5.0 mg，溶解於 5 mL 甲醇中。

常春藤皂苷元對照品溶液 *Std-AS*

精密吸取常春藤皂苷元對照品儲備液適量，以甲醇稀釋製成含常春藤皂苷元分別為 50、100、200、250、300 mg/L 系列的對照品溶液。

供試品溶液

精密稱取本品粉末 0.5 g，置 100-mL 圓底燒瓶中，加甲醇 25 mL 和鹽酸 2.5 mL，加熱回流 1 小時，冷卻至室溫。濾過，取濾液轉移於 25-mL 量瓶中，殘渣用適量甲醇洗滌，合併提取液，加甲醇至刻度，用 0.45- μ m 微孔濾膜 (PTFE) 濾過，即得。

色譜系統

液相色譜：二極管陣列檢測器，檢測波長 210 nm；4.6 × 250 mm 十八烷基鍵合硅膠 (5 μ m) 填充柱；流速約 1.0 mL/min。色譜洗脫程序如下 (表 3)：

表 3 色譜洗脫條件

時間 (分鐘)	0.1% 磷酸 (%, v/v)	乙腈 (%, v/v)	洗脫
0 – 30	95 → 60	5 → 40	綫性梯度
30 – 40	60 → 30	40 → 70	綫性梯度
40 – 60	30 → 20	70 → 80	綫性梯度

系統適用性要求

將常春藤皂苷元對照品溶液 *Std-AS* (200 mg/L) 10 μ L，注入液相色譜儀，至少重複 5 次。系統適用性參數的要求如下：常春藤皂苷元的峰面積相對標準偏差應不大於 5.0%；常春藤皂苷元峰的保留時間相對標準偏差應不大於 2.0%；理論塔板數按常春藤皂苷元峰計算應不低於 160000。

供試品測試中常春藤皂苷元峰與鄰近峰之間的分離度應不低於 1.5 (圖 7)。

標準曲綫

將常春藤皂苷元對照品溶液 Std-AS 各 10 μL ，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。以常春藤皂苷元的峰面積與相應濃度作圖。從相應 5 點的標準曲綫得斜率、截距與相關系數。

操作程序

將供試品溶液 10 μL ，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。與常春藤皂苷元對照品溶液 Std-AS 色譜圖中常春藤皂苷元峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中常春藤皂苷元峰(圖 7)。二色譜圖中常春藤皂苷元相應峰的保留時間相差應不大於 5.0%。測定峰面積，按附錄 IV (B) 公式計算供試品溶液中常春藤皂苷元的濃度 (mg/L)，並計算樣品中常春藤皂苷元的百分含量。

限度

按乾燥品計算，本品含常春藤皂苷元 ($\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$) 不少於 0.75%。

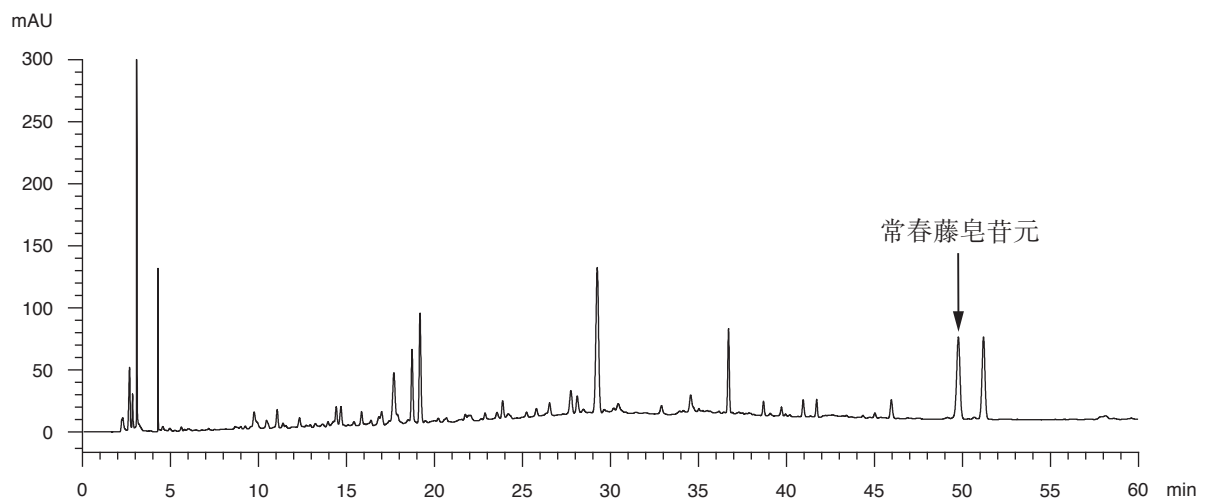


圖 7 黑種草子提取液對照含量測定色譜圖