

# 大青葉



圖 1 大青葉外觀圖

## 1. 名稱

藥材正名：Isatidis Folium

中文名：大青葉

漢語拼音名：Daqingye

## 2. 來源

本品為十字花科植物菘藍 *Isatis indigotica* Fort. 的乾燥葉。夏、秋二季分2-3次採收，除去雜質，曬乾。

## 3. 性狀

本品多皺縮捲曲，有的破碎，上表面暗灰綠色，下表面葉中脈明顯凸出。完整葉片展平後呈長橢圓形至長圓狀倒披針形，長 5-20 cm，寬 1.5-7 cm；基部狹窄漸下延至葉柄呈耳狀；全緣或波狀，先端鈍；葉柄長 2-11 cm，淡棕黃色。質脆。氣微，味微酸、苦、澀（圖 1）。

## 4. 鑒別

### 4.1 顯微鑒別（附錄 III）

#### 橫切面

上下表皮均由 1 列類長方形細胞組成，葉肉柵欄組織和海綿組織分化不明顯。維管束外韌形，4-9 個，中間 1 個較大，每個維管束木質部和韌皮部均可見厚壁組織。薄壁細胞可見藍黑色素粒及不規則粒狀物（圖 2）。

## 粉末

綠棕色。藍黑色素粒存在於葉肉細胞中。不規則粒狀物，直徑30-110  $\mu\text{m}$ ，存在於葉肉細胞中。厚壁細胞成束。螺紋導管或網紋導管成群，直徑7-55  $\mu\text{m}$ 。表皮細胞垂周壁稍彎曲，成連珠狀增厚；氣孔不等式，副衛細胞3-4個(圖3)。

## 4.2 薄層色譜鑒別 [附錄IV(A)]

### 對照品溶液

#### 靛藍對照品溶液

取靛藍對照品(圖4)0.1 mg，溶解於1 mL 甲醇與二氯甲烷的混合溶液(1:9, v/v)中。

#### 靛玉紅對照品溶液

取靛玉紅對照品(圖4)0.1 mg，溶解於1 mL 甲醇與二氯甲烷的混合溶液(1:9, v/v)中。

### 展開劑

製備二氯甲烷－丙酮(97:3, v/v)的混合溶液。

### 供試品溶液

取本品粉末2.0 g，置50-mL錐形瓶中，加石油醚(60-80°C)20 mL，超聲(240 W)處理15分鐘，濾過，棄去濾液。取殘渣加二氯甲烷20 mL，超聲(240 W)處理15分鐘，濾過。取濾液轉移於50-mL圓底燒瓶中，用旋轉蒸發器減壓蒸乾，殘渣溶於3 mL 甲醇與二氯甲烷的混合溶液(1:9, v/v)，即得。

### 操作程序

照薄層色譜法[附錄IV(A)]進行。分別吸取靛藍對照品溶液60  $\mu\text{L}$ 、靛玉紅對照品溶液10  $\mu\text{L}$ 和供試品溶液9  $\mu\text{L}$ ，點於同一高效硅膠F<sub>254</sub>薄層板上。用上述新製備的展開劑展開約6 cm，取出，標記溶劑前沿，晾乾。置可見光下檢視，並計算R<sub>f</sub>值。

供試品色譜應顯出與靛藍和靛玉紅色澤相同、R<sub>f</sub>值相應的特徵斑點或條帶。

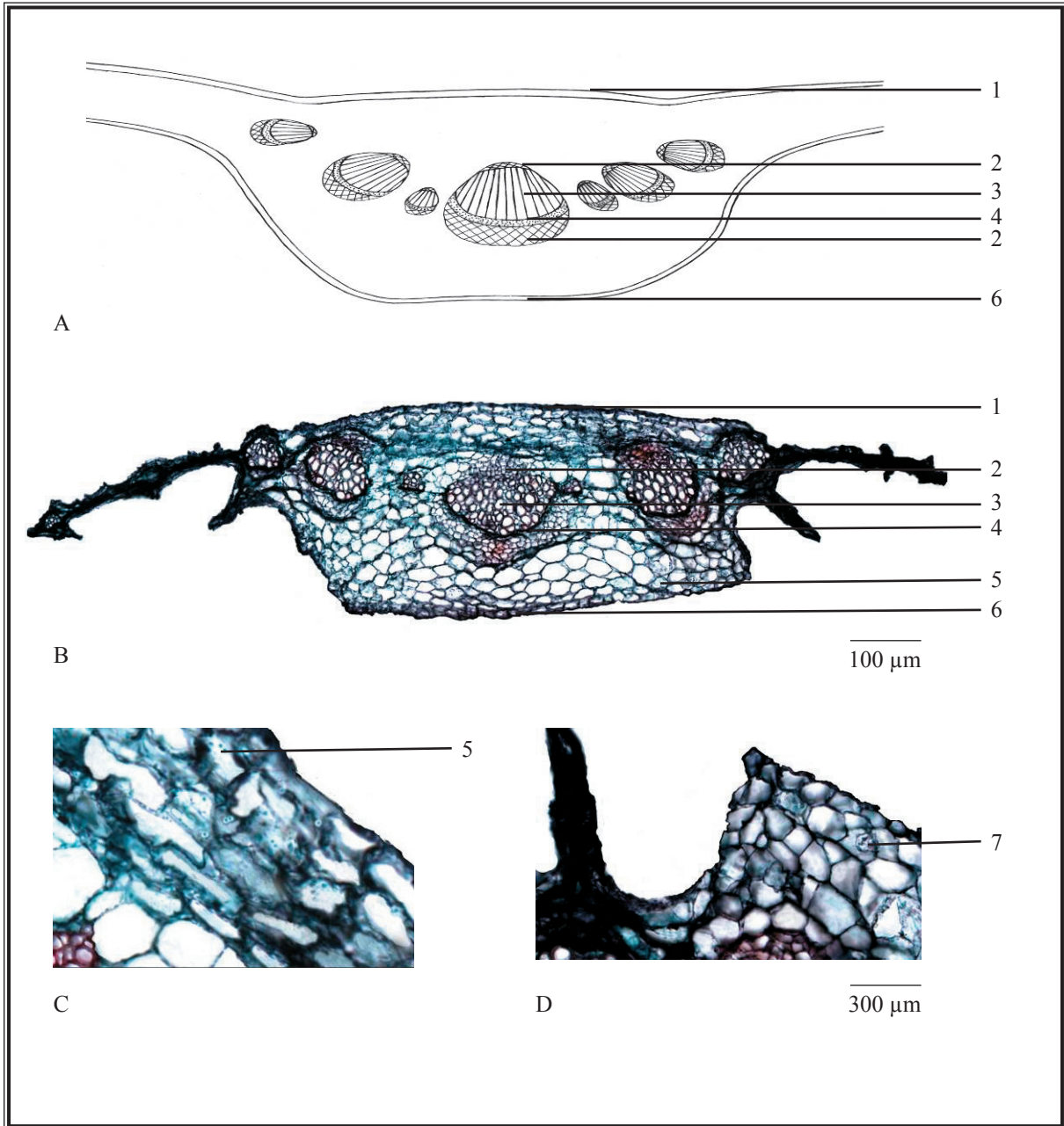


圖 2 大青葉橫切面顯微特徵圖

A. 簡圖 B. 橫切面圖 C. 藍黑色素粒 D. 不規則粒狀物

- 1. 上表皮細胞
- 2. 厚壁組織
- 3. 木質部
- 4. 韌皮部
- 5. 藍黑色素粒
- 6. 下表皮細胞
- 7. 不規則粒狀物

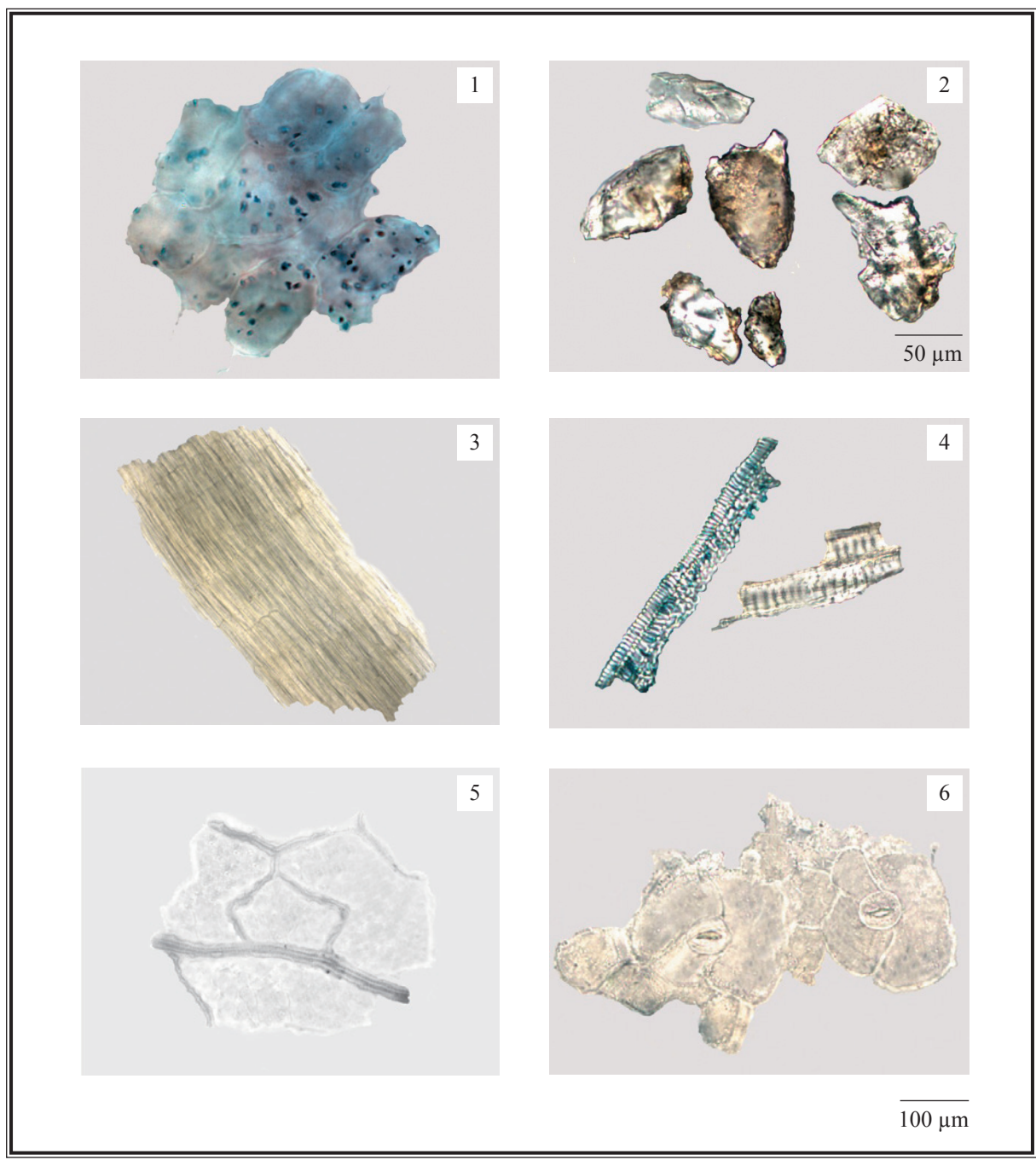


圖3 大青葉粉末顯微特徵圖(光學顯微鏡下)

- 1. 藍黑色素粒
- 2. 不規則粒狀物
- 3. 厚壁細胞
- 4. 螺紋導管
- 5. 表皮細胞
- 6. 不定式氣孔

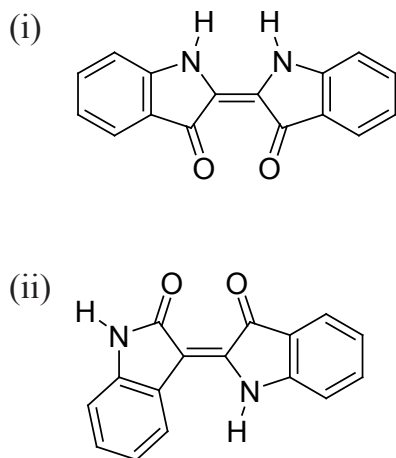


圖4 化學結構式 (i) 靛藍 (ii) 靛玉紅

#### 4.3 高效液相色譜指紋圖譜法(附錄 XII)

##### 對照品溶液

##### 靛藍對照品溶液 Std-FP (2 mg/L)

取靛藍對照品 0.2 mg，置 50-mL 量瓶中，溶解於 5 mL 甲醇與二氯甲烷的混合溶液(1:9, v/v) 中，加甲醇至刻度。精密吸取 1 mL 溶液於 2-mL 量瓶中，加甲醇至刻度。

##### 靛玉紅對照品溶液 Std-FP (6 mg/L)

取靛玉紅對照品 0.3 mg，溶解於 50 mL 甲醇中。

##### 供試品溶液

取本品粉末 0.6 g，置 50-mL 離心管中，加乙酸乙酯 40 mL，超聲(240 W)處理 1 小時，離心 10 分鐘(約 3000 × g)。取上清液轉移於 250-mL 圓底燒瓶中，用旋轉蒸發器減壓蒸乾。殘渣溶於 25 mL 甲醇，用 0.45- $\mu$ 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 250 nm；4.6 × 250 mm 十八烷基鍵合硅膠(5  $\mu$ 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)	水 (%, v/v)	乙腈 (%, v/v)	洗脫
0 – 10	80 → 78	20 → 22	綫性梯度
10 – 20	78 → 45	22 → 55	綫性梯度
20 – 45	45 → 43	55 → 57	綫性梯度
45 – 60	43 → 40	57 → 60	綫性梯度

**系統適用性要求**

吸取靛藍對照品溶液 Std-FP 和靛玉紅對照品溶液 Std-FP 各 20 μL，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：靛藍和靛玉紅的峰面積相對標準偏差均應不大於 5.0%；靛藍峰和靛玉紅峰的保留時間相對標準偏差均應不大於 2.0%；理論塔板數按靛藍峰和靛玉紅峰計算分別應不低於 60000 和 40000。

供試品測試中 2 號峰和 3 號峰分別與其鄰近峰之間的分離度均應不低於 1.0 (圖 5)。

**操作程序**

分別吸取靛藍、靛玉紅對照品溶液 Std-FP 和供試品溶液各 20 μL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。測定對照品溶液 Std-FP 色譜圖中靛藍峰和靛玉紅峰的保留時間，及供試品溶液色譜圖中 3 個特徵峰 (圖 5) 的保留時間。在相同液相色譜條件下，與相對照品溶液 Std-FP 色譜圖中二成份峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中靛藍峰和靛玉紅峰。二色譜圖中靛藍峰和靛玉紅峰的保留時間相差均應不大於 2.0%。按附錄 XII 公式計算特徵峰的相對保留時間。

大青葉提取液 3 個特徵峰的相對保留時間及可變範圍見表 2。

**表2 大青葉提取液 3 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	0.71	± 0.03
2 (靛藍)	0.87	± 0.03
3 (指標成份峰，靛玉紅)	1.00	-

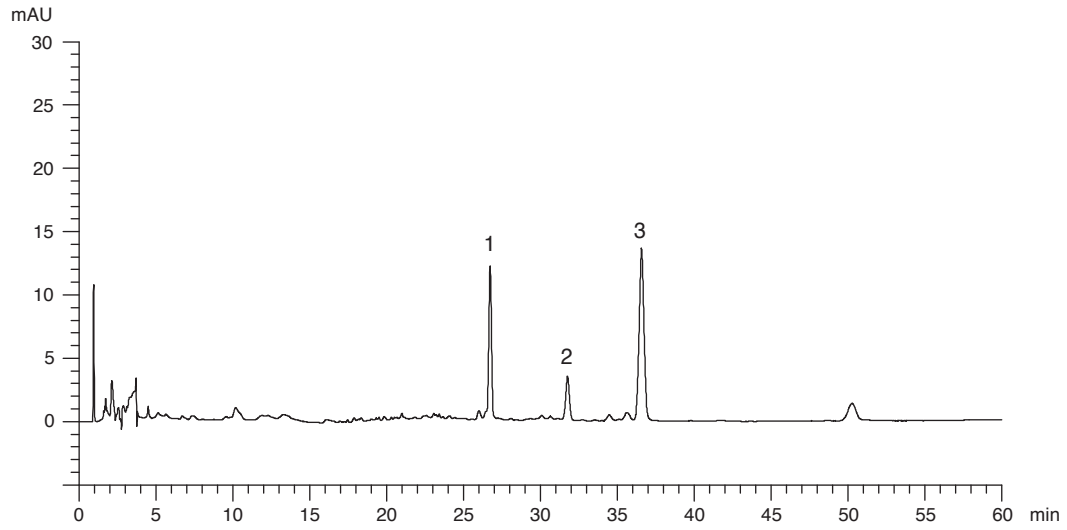


圖5 大青葉提取液對照指紋圖譜

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3個特徵峰(圖5)。

## 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 XVIII)：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21.0%。

酸不溶性灰分：不多於7.5%。

5.7 水分 (附錄 X)

烘乾法：不多於13.0%。



## 6. 浸出物 (附錄 XI)

水溶性浸出物(冷浸法)：不少於3.0%。

醇溶性浸出物(冷浸法)：不少於22.0%。

## 7. 含量測定

照附錄 IV (B) 進行。

### 7.1 靛玉紅含量測定

#### 對照品溶液

靛玉紅對照品儲備液 *Std-Stock* (30 mg/L)

精密稱取靛玉紅對照品 1.5 mg，溶解於 50 mL 甲醇中。

靛玉紅對照品溶液 *Std-AS*

精密吸取靛玉紅對照品儲備液適量，以甲醇稀釋製成含靛玉紅分別為 0.1、1、1.5、3、4 mg/L 系列的對照品溶液。

#### 供試品溶液

精密稱取本品粉末 0.25 g，置 50-mL 離心管中，加甲醇 20 mL，超聲 (240 W) 處理 30 分鐘，離心 10 分鐘 (約  $3000 \times g$ )。取上清液轉移於 50-mL 量瓶中，重複提取 1 次，合併上清液，加甲醇至刻度，用 0.45- $\mu\text{m}$  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 291 nm；4.6 × 250 mm 十八烷基鍵合硅膠 (5  $\mu\text{m}$ ) 填充柱；流速約 1.0 mL/min。流動相為乙腈 - 水 (60:40, v/v) 的混合溶液；流程約 30 分鐘。

#### 系統適用性要求

將靛玉紅對照品溶液 *Std-AS* (1.5 mg/L) 20  $\mu\text{L}$ ，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：靛玉紅的峰面積相對標準偏差應不大於 5.0%；靛玉紅峰的保留時間相對標準偏差應不大於 2.0%；理論塔板數按靛玉紅峰計算應不低於 12000。

供試品測試中靛玉紅峰與鄰近峰之間的分離度應不低於 1.5。

### 標準曲線

將靛玉紅系列對照品溶液 Std-AS 各 20  $\mu\text{L}$ ，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。以靛玉紅的峰面積與相應濃度作圖。從相應 5 點的標準曲線得斜率、截距與相關系數。

### 操作程序

將供試品溶液 20  $\mu\text{L}$ ，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。與靛玉紅對照品溶液 Std-AS 色譜圖中靛玉紅峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中靛玉紅峰。二色譜圖中靛玉紅相應峰的保留時間相差應不大於 2.0%。測定峰面積，按附錄 IV (B) 公式計算供試品溶液中靛玉紅的濃度 (mg/L)，並計算樣品中靛玉紅的百分含量。

### 限度

按乾燥品計算，本品含靛玉紅 ( $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ ) 不少於 0.020%。

## 7.2 靛藍含量測定

### 對照品溶液

靛藍對照品儲備液 Std-Stock (27 mg/L)

精密稱取靛藍對照品 2.7 mg，溶解於 100 mL 2% 水合氯醛二氯甲烷溶液中。

靛藍對照品溶液 Std-AS

精密吸取靛藍對照品儲備液適量，以 2% 水合氯醛二氯甲烷溶液稀釋製成含靛藍分別為 0.44、1.76、4.40、6.60、8.80 mg/L 系列的對照品溶液。

### 供試品溶液

精密稱取本品粉末 0.1 g，置 50-mL 錐形瓶中，加 2% 水合氯醛二氯甲烷溶液 25 mL，超聲 (240 W) 處理 90 分鐘。濾過，取濾液轉移於 25-mL 量瓶中，加 2% 水合氯醛二氯甲烷溶液至刻度，用 0.45- $\mu\text{m}$  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 604 nm；4.6  $\times$  250 mm 十八烷基鍵合硅膠 (5  $\mu\text{m}$ ) 填充柱；流速約 1.0 mL/min。流動相為甲醇 - 水 (62:38, v/v) 的混合溶液；流程約 20 分鐘。

### 系統適用性要求

將靛藍對照品溶液 Std-AS (4.40 mg/L) 10 μL，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：靛藍的峰面積相對標準偏差應不大於5.0%；靛藍峰的保留時間相對標準偏差應不大於2.0%；理論塔板數按靛藍峰計算應不低於6000。

供試品測試中靛藍峰與鄰近峰之間的分離度應不低於1.5。

### 標準曲線

將靛藍系列對照品溶液 Std-AS 各 10 μL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。以靛藍的峰面積與相應濃度作圖。從相應5點的標準曲線得斜率、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。與靛藍對照品溶液 Std-AS 色譜圖中靛藍峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中靛藍峰。二色譜圖中靛藍相應峰的保留時間相差應不大於2.0%。測定峰面積，按附錄 IV (B) 公式計算供試品溶液中靛藍的濃度 (mg/L)，並計算樣品中靛藍的百分含量。

### 限度

按乾燥品計算，本品含靛藍 (C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 不少於0.030%。