

18种中草药中痕量锆的定量测定

大连医科大学生化教研室(116027) 刘彦* 马克里 三寅** 崔肇春***

摘要 用混酸(发烟硝酸+浓硫酸)回流消化中草药样品, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 共沉淀富集锆, 苯基荧光酮-溴化十六烷基三甲胺(CTMAB)胶束增溶分光光度法测定了18种中草药中的锆含量, 灵芝和白花蛇舌草含量较高, 分别为2.46和0.35 $\mu\text{g/g}$ 。本法检出界限为198ng/g, 变异系数为0.89%, 在不同中草药中的回收率为91%~93%。

关键词 中草药 锆含量 苯基荧光酮-溴化十六烷基三甲胺

已知灵芝和人参保健佳品有较高的锆含量^[1]。中草药中的锆含量是人们所关心的问题, 有些中草药能提高人体免疫功能, 因而具有保健作用。已发现人工合成的有机锆化合物能激活T细胞使之释放干扰素- γ , 后者又能激活巨噬细胞介异的肿瘤细胞毒^[2]。这就提出了中草药中锆含量是否与其保健作用有关。因此测定中草药中锆含量的研究工作很有必要。

中草药中锆含量的分析报道较少, 因超微量的锆不能用原子吸收法测定。样品在原子化阶段, 其中的锆被氧化成 GeO 或与卤素形成 GeCl_4 和 GeCl_2 挥发损失, 使测定结果误差太大^[3]。虽然近期文献报道^[4], 采用钯涂层的石墨管, 使锆在原子化前与钯牢固地结合成稳定化合物而避免了锆的挥发损失, 超微量锆的测定受仪器和特殊条件限制而难于普遍推广。

苯基荧光酮-溴化十六烷基三甲胺(CTMAB)胶束增溶分光光度法是测定微量锆的一种很灵敏的方法^[5], 但很难检测中草药中超微量锆。有报道 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 共沉淀富集锆可明显增加锆的检出范围^[6]。现将两法合并, 采用混酸回流消化, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 共沉淀富集锆, 苯基荧光酮-CTMAB胶束增溶显色法测定中草药中超微量锆。方法简便、精密度高、便于推广。

1 材料与试剂

18种中草药从大连市同仁堂药店购置, 经大连市药检所中药室任伟同志鉴定为: 灵芝, 多孔菌科植物赤芝*Ganoderma lucidum* (Leyss, ex Fr.) Karst 全株; 其余见表2。

光谱纯 GeO_2 、苯基荧光酮、CTMAB购置上海化学试剂商店, 其余试剂为国产分析纯。

2 方法

将中草药碾碎, 随机取样, 准确称取3g置250ml圆底磨口烧瓶中, 混酸(5ml浓 H_2SO_4 , 15ml发烟硝酸)小火回流消化至不冒 NO_2 烟雾为止。此时消化液应为淡黄色, 如试样难消化, 可补加发烟硝酸3~5ml继续消化。将消化液冷至室温, 加5ml H_2O_2 (30%), 小火加热, 反应完毕后冷至室温, 完全转移至烧杯中, 于冰水浴下, 滴加饱和 NaOH 中和至pH为2~4, 加10ml 3.8% $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 于中和液中, 在pH计控制、磁力搅拌下, 依次用25%、10% NaOH 调pH至7.5, 此时铁与锆一起共沉淀, 继续搅拌5min使沉淀完全, 2400r/min离心10min, 弃上清液得共沉淀物。

将沉淀物用3mol/L HCl 溶解, 并完全转移至125ml分液漏斗中, 加浓盐酸使盐酸浓度为9mol/L, 充分摇匀后用10ml CCl_4 萃取2次, 合并 CCl_4 层萃取液, 用9mol/L盐酸洗涤, 除掉上层洗液。准确移取10.0ml蒸馏水于 CCl_4 层中进行反萃取。精确移取5.0ml水层萃取液

*Address: Liu Yan, Department of Biochemistry, Dalian Medical University, Dalian

辽宁师范大学化学系生化教研室 *通讯联系人

于10ml容量瓶中,加0.03%苯基荧光酮(0.03g溶于50ml无水乙醇和5ml 1.5mol/L H₂SO₄中,用无水乙醇定容至100ml) 2ml,0.9%CTMAB(0.9g溶于50ml三蒸水中,加9mol/L H₂SO₄ 1ml,溶解后用三蒸水定容至100ml) 1.5ml,9mol/L H₂SO₄ 1ml,摇匀,补加三蒸水至刻度。10min后于514nm测吸光度(751-紫外可见分光光度计,上海分析仪器厂)。随同试剂空白作参比,依据校正曲线定锆。

3 结果与讨论

3.1 中草药消化:样品在消化过程中,如何避免锆的一氧化物和氯化物挥发损失是准确分析的关键。中草药很难消化,消化过程中产生大量的NO₂气体,使消化不能在加盖或密闭的容器中进行,加上消化时间很长,这样敞口消化必然造成锆大量地挥发丢失,使测定结果误差很大,见表1。党参中加一定量锆进行敞口消化,锆的回收率仅为62.3%,回流消化则避免锆的挥发损失,使回收率增加到91.1%。

样品置于装了回流冷凝管的圆底烧瓶中,先加浓H₂SO₄使中草药炭化,然后加发烟硝酸再进行消化,缩短消化时间,增加回收率,见表1。如灵芝消化时间缩短,回收率,由93.3%增加到95.1%。在水中加一定量锆随同中药消化,由于消化时间短(仅2h)使敞口消化锆回收率降低幅度小,见表1。

用浓HNO₃(63%)消化样品,由于消化过程中酸消耗,水生成量增加,酸浓度降低,使消化中途停止,需进行浓缩,方可再加浓HNO₃进一步消化^[1]。本文用发烟硝酸(100%)代替浓HNO₃进行消化,可免去浓缩一步。无论原子吸收法还是苯基荧光酮显色法测定植物、食品中超微量的锆,样品消化预处理都是准确测定的关键,因此本文提出的样品消化中应注意的问题将有普遍意义。

3.2 Fe(OH)₃共沉淀富集锆:中草药中锆的分布不均一,很难保证每次随机取样均衡。为了尽可能缩小取样误差和使中草药中超微量锆进入检测界限,需增加消化样品量,从而使被中和后的消化液体积很大,锆浓度低于苯基荧光酮-CTMAB测定锆的检出浓度。用Fe(OH)₃共沉淀富集锆,缩小检测体系的体积,增大锆浓度,使超微量锆的测定得以实施。

3.3 校正曲线及精密度:精确称取0.1400g GeO₂(光谱纯,称前于110℃干燥2h),按文献^[7]方法配成5μg/ml的锆标准液。准确移取不同量锆标准液,同样品消化液定锆方法测得锆的校正曲线,其相关系数r=0.9995,线性范围为0.02~0.5μg/ml。本法检出界线是198ng/g。分析精密度,在50ml蒸馏水中加5μg Ge,与样品测定方法同样操作,重复测6次,变异系数为0.89%。

3.4 样品测定结果:18种中草药中灵芝锆含量最高,为2.46μg/g,其次是白花蛇舌草,锆含量为0.353ng/g,见表2。该测定值与文献^[1]测定灵芝的相一致。本法测定结果除灵芝外其余均未见文献报道,中草药中含超微量的锆,灵芝中锆含量比其它的中草药约高几倍到几十倍,这提示锆与灵芝的保健作用可能有关。本文测得灵芝干品中锆含量为2460ng/g,而文献^[4]报道灵芝水提取物中锆含量<4ng/g。说明灵芝中的锆只有极少量进入水煎液中,人们通常服用灵芝的煎液,在煎液中β-葡聚糖是主要成分之一^[8],β-葡聚糖能激活巨噬细

表1 不同消化方法对锆回收率的影响

样品 (3g)	锆含量 (μg/3g)	外加 锆 (μg)	b回收率%(m±SD)		
			消化方法		
			(I)	(II)	(III)
水	—	24.45	98.3±1.1	96.5±1.5	—
灵芝	6.3	24.45	95.1±1.5	80.4±4.2	93.6±1.5
党参	0.6	24.45	91.1±1.2	62.3±8.5	—
黄芪	0.45	24.45	91.1±0.74	—	—

I-混酸回流消化(先H₂SO₄后HNO₃), II-混酸敞口消化, III-混酸回流消化(先HNO₃后H₂SO₄), a-消化时间2h; b-实验次数=3。

表2 中草药中锗的含量($\bar{x} \pm SD$)

样 品	实验次数	锗含量(ng/g , 干重)
灵芝 <i>Ganoderma lucidum</i>	3	2460 $\pm$ 893
白花蛇舌草 <i>Oldenlandia diffusa</i>	3	353 $\pm$ 25
白芍 <i>Paeonia lactiflora</i>	3	213 $\pm$ 20
党参 <i>Codonopsis pilosula</i>	3	190 $\pm$ 36
当归 <i>Angelica sinensis</i>	3	167 $\pm$ 15
黄芪 <i>Astragalus membranaceus</i>	3	157 $\pm$ 11
穿心莲 <i>Andrographis paniculata</i>	2	147 $\pm$ 15
半枝莲 <i>Scutellaria barbata</i>	2	146 $\pm$ 15
菟丝子 <i>Cuscuta chinensis</i>	2	140 $\pm$ 12
杜仲 <i>Eucommia ulmoides</i>	2	107 $\pm$ 20
何首乌 <i>Polygonum multiflorum</i>	2	90 $\pm$ 10
丹参 <i>Salvia miltiorrhiza</i>	2	87 $\pm$ 15
三棱 <i>Sparaganium stolonifesium</i>	2	85 $\pm$ 5
小蓟 <i>Cirsium setosum</i>	2	80 $\pm$ 5
仙茅 <i>Curculigo orchioides</i>	2	80 $\pm$ 10
淫羊藿 <i>Epimedium grandiflorum</i>	2	73 $\pm$ 12
补骨脂 <i>Psoralea corylifolia</i>	1	70
天门冬 <i>Asparagus cochinchinensis</i>	1	67

胞,提高机体非特异性免疫力^[9],在灵芝抗癌保健作用中起着重要作用。由此可见,如果说超微量的锗即使对灵芝保健作用有影响,那么这种影响也极可能是次要的。

参 考 文 献

1 Kawamata S, et al. Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 1987, 23(5): 390
2 Suzuki F, et al. Anticancer Res, 1986, 6: 177
3 Johnson DJ, et al. Anal Chim Acta, 1973, 67: 79
4 陈则树,等.分析化学,1991,19(2): 1405
5 Luke C L, et al, Anal Chem, 1956, 28: 1273
6 Donaldson E M. Talanta, 1974, 31: 997
7 陈雁君,等.微量元素,1991(3): 58
8 Miyazaki T, et al. Chem Pharm Bull, 1981, 29: 12, 3611
9 Suzuki I, et al. Int J Immuno-Pharmacol, 1990, 12: 63, 975

(1994-04-26收稿)

夏枯草临床新用

河南省驻马店地区中医院(463000) 刘天麟

夏枯草清肝火,散郁结,临床多用于肝火上炎之目赤肿痛及痰火结聚之瘰癧,瘰癧等。近又用于肝阳上亢之高血压等。笔者近几年从民间单方中用于治疗手足皲裂、手脱皮等,方法简便,疗效显著。

1 手足皲裂

夏枯草30g,白芨15g,共研细末,猪油调膏。先用夏枯草60g,煎水洗患处,再敷以药膏,纱布包扎,1次/d,连用3~7d可愈。如患者王某,男49岁。每年入冬后手足粗糙,皲裂,有时裂纹渗血,痛苦不堪,经用上法7d后皲裂消失,皮肤洁净而愈。1年后随访未复发。曾治36例,34例痊愈,总有效率为94.4%。

2 手脱皮

此类患者常双手脱皮,干燥,每年春秋各1次。其脱皮均为手掌面,但无瘙痒,故排除鹅掌风。取夏枯草100g,水煎2次,泡洗双手,2次/d,每

次30min,连用10~15d。如患者杜某,女,42岁。述其双掌脱皮6年余,每年春、秋季各1次。虽经服维生素E及中药养血清热制剂无效。经用上法洗10d后痊愈。至今3年未复发。曾用本法治疗手脱皮百余例,均痊愈。

3 体会

手足皲裂、手脱皮均为气血不能濡养肌肤,致干燥皲裂;肤失所养,则皮不能存。夏枯草入肝养血,清火散结,李时珍云:“此物生血”。楼全善谓其:“补厥阴血脉”。盖本品一则补肝血,使肌肉、筋脉、皮肤得到阴血濡养;二则清肝火,解内热,使热清而不再耗阴,阴液足则肌肤得养,故皲裂,脱皮当症得愈。

(1994-05-13收稿)

Ce, Cl, S), cultivate calculus of *B. grunniens* L. contained ten trace elements (Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, P, Nd, Cl, S). Three species calculus all contained seven trace elements (Na, K, Ca, Fe, Cu, Cl, S), and the differences of their content were no significant.

(Original article on page 293)

The Quantitative Analysis of Trace Germanium in 18 Kinds of Chinese Medicinal Herbs

Liu Yan, Ma Keli, Wang Yin, et al

By digestion with concentration sulfate acid and fuming nitric acid under refluxing coprecipitation with $\text{Fe}(\text{OH})_3$, colorimetry with phenylfluorone-cetyl trimethyl ammonium bromide (CTMAB), germanium (Ge) contents of 18 kinds of Chinese medicinal herbs were determined. The Ge contents in *Ganoderma lucidum* and *oldenlandia diffusa* were higher than those of others (2.46 and 0.35×10^{-8} , respectively). In this method, the recoveries of Ge added to various herbs were in the range of $91\% \sim 93\%$. The detection limit and coefficient variation were 198 ng/g and 0.89% , respectively.

(Original article on page 295)

In Vitro Dissolution Test of Flavonoid Pilulae from Gegen

Guo Jianping, Zhao Tongying, et al

Flavonoid Pilulae from Gegen were prepared by melting method. Using PEG 4000 and PEG 6000 as carrier. Series of studies on the in vitro release kinetics were carried out. PEG4000 : PEG6000 ratio had no effect on the release kinetics. PEG 4000 : flavonoids ratio had an evident effect on the release properties of the pilulae, the higher the ratio, the faster the release rate. But when the PEG 4000 : flavonoids ratio exceeded $10:1$, a reverse effect could be seen. Compared with "Gegen flavonoids" tablets, "Yufengxingxin" tablets (release half time, $T_{50} = 94.79 \text{ min}$), the pilulae gave a much fast release characteristic ($T_{50} = 11.56 \text{ min}$).

(Original article on page 298)

Studies on the Pharmacology of Extracts of Tianshan Mountain Mountainash (*Sorbus tianschanica*)

Li Dimin, Chen Jian

It has got good effects that aqueous extracts of *Sorbus tianschanica* Rupr (AQ-ESTR) used for the treatment of chronic bronchitis, Pulmonary tuberculosis and edema etc in folk medicine. The pharmacological experiment showed that AQESTR had antiechoic effect on mice induced by ammonia water, expectorant effect and antiasthmic effect on guinea pig induced by mixture of Ach-histamine. Cardiac Pharmacological experiment also showed AQESTR Produced significant bradycardia in mice. At the dose of 25 mg/kg , AQ-ESTR decreased the heart rate and Prolonged the P-R interval of ECG in vivo, AQESTR decreased the contractive force of isolated atrial muscles rabbits in dose-dependent manner.

(Original article on page 302)