

q_i 组分*i*的比转化速率[(C)mol·C-mol⁻¹·h⁻¹]
 R_i 组分*i*的消耗速率[C-mol·L⁻¹·h⁻¹]
 V 细胞活性
 Y_{ij} 组分*i*转化为组分*j*的收率[C-mol·(C)mol⁻¹]
希腊字母 μ 比生长速率(h⁻¹)
角标 S 葡萄糖;X 生物量

参 考 文 献

1 Brodelius P,et al. FEBS Lett,1979,103:93
2 Rosevear A,et al. Adv Biochem Eng Biotechnol,1986, 31:37
3 Lindsey K,et al. FEBS Lett,1983,155:143

4 Anonymous. Biotechnol Newswatch,1982,2:1
5 McGregor W C, et al. In Membrane Separations in Biotechnol. Inc New York,1986. 303
6 元英进[博士论文]. 天津大学研究生毕业论文. 天津. 天津大学,1991
7 李绍芬. 化学与催化反应工程. 北京:化学出版社,1986
8 Van Gulik W M,et al. Biotechnol Bioeng,1992,40:863
9 Bailey J E, et al. Biochemical Engineering Fundamentals, McGraw-Hill, New York,1977. 396

(1995-07-12 收稿)

Study on Immobilization Plant Cell Culture and Release of Intracellular Metabolites

Yuan Qipeng, Yuan Yingjin, Hu Zongding

Membrane immobilization of *Catharathus roseus* (L.) G. Don cell culture was studded. Results showed that the production capacity can attain a higher level when the cell layer was 7~8mm thick. Stainless-steel screen(80μm)was suitable for immobilization of *C. roses* cell. Pressure pulse can enhance the release of intracellular metabolites. A method to determine allowable cell layer thickness was developed. The calculated value agreed well with experimental results.

薄层刮板-荧光分析法在中药复方制剂
质量控制中的应用

第二军医大学药学院(上海 200433) 李 玲* 刘明珠 徐卫明

摘 要 用薄层刮板-荧光分析法检测中药复方制剂之君药丁公藤 *Erycibe obtusifolia* Benth 的有效成分东莨菪亭(scopoletin)的含量,克服了薄层色谱干扰,取得了准确、可靠的结果。本文的研究为中药复方制剂的质量控制提供了一种较好的分析手段。

关键词 丁公藤 东莨菪亭 薄层刮板-荧光分析法 中药复方制剂

如何解决中药复方制剂的质量控制问题,一直是药物分析工作者比较关注的课题。特别是中药制剂组分繁多,成分复杂,如果不经分离或适当处理,很难获得准确可靠的结果。本课题在研究中药制剂藤络宁胶囊的质量标准时,采用薄层刮板-荧光分光光度法,对组方成分之一丁公藤的有效成分东莨菪亭^[1~4]进行了含量监测,克服了用薄层扫描

测定含量误差大、用 HPLC 法直接进样对色谱柱污染大等缺点,排除了复杂组分相互间的干扰,取得了准确可靠的结果。

1 材料与方法

1.1 仪器与试药:日立 3000 荧光分光光度计;XW-80A 旋涡混合器;80-2 离心沉淀器。化学试剂均为分析纯。

藤络宁胶囊由本院植化教研室提供;东

* Address: Li Ling, College of Pharmacy, The Second Military Medical College, Shanghai

莨菪亭对照品由本院植化教研室提供,经红外光谱、核磁共振确认,用 HPLC 检查,纯度为 100%。

1.2 薄层色谱条件:展开剂:苯-乙醚(1.1:1);薄层板:硅胶 H(40μ10×20cm,厚 0.6mm)。

1.3 荧光测定条件:激发光波长 347nm;荧光光谱波长 420nm;温度 25±1℃。

1.4 标准液和样品制备

1.4.1 标准液配制:精密称取经 105℃干燥至恒重的东莨菪亭对照品适量,用氯仿溶解,定量稀释成每 1ml 中含 80μg 的溶液备用。

1.4.2 样品液制备:取本品 20 粒,去壳后称重,精密称定相当于 5 粒胶囊的重量,溶解在 50ml 0.5%H₂SO₄ 溶液中,用氯仿提取 3 次(50、30、30ml),合并提取液,回收氯仿至干,精密加入 5.0ml 氯仿,溶解后作为供试品溶液。

1.5 测定方法:取上述两种溶液各 3.0μl,分别点于同一硅胶 H 薄层板上,用展开剂展开,取出,凉干,置紫外灯(365nm)下检视,画出与对照品色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点,定量刮取置离心管中,用无水乙醇提取 2 次(3、1.5ml),每次在旋涡混合器上混合 1min,置离心机中,以 2000r/min 离心约 10min,合并上清液置 5ml 量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,照荧光分析法(药典附录 27 页),在激发光波长 347nm 与荧光光谱波长 420nm 处测定荧光,读数,计算,即得。

2 结果

2.1 线性关系:精密吸取东莨菪亭对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0 和 5.0μl,按照含量测定方法中薄层色谱法点样、展开、刮板、提取和荧光分析法测定含量,结果表明点样浓度在 0.08~0.4μg/μl 内线性关系良好,回归方程为 $Y=8.8 \times 10^{-1} + 2.02 \times 10^2 X$,相关系数 $r=0.9998(n=5)$ 。

2.2 回收率:取 15 份样品,其中有 5 份分别加入东莨菪亭对照品 100μg;有 5 份分别加入 200μg;另外 5 份分别加入 300μg,同时做

样品对照,提取和测定方法等同,结果回收率分别为 100.72%,RSD=1.50%;100.40%,RSD=1.28%;100.10%,RSD=0.5%。

2.3 测定方法的重现性:取一定量的东莨菪亭对照品置棕色瓶中,用无水乙醇溶解,置 5℃下储存,按前述荧光分析法分别测定天内、天间、5 天、10 天以及重复 5 次的透光值(见表),测定结果表明此法重现性良好。

2.4 稳定性试验:将待测样品溶液置棕色瓶中,分别在室温和 5℃下储存,定期测定含量。结果表明,样品置室温下储存 3d 之内稳定,置 5℃下储存 2 周没有明显变化。

表 测定方法的重现性

方法	透光值	RSD(%)
重复 5 次	56.91	0.27
	56.89	
	57.27	
	56.96	
	57.01	
隔日	56.45	0.69
间日	56.78	0.27
5 日	56.41	0.74
10 日	57.37	0.46

3 讨论

众所周知,中药成分十分复杂,而本方由 6 味中药组成,如果选用 HPLC 法直接进样测定含量,理论上是可行的,但提取液中几十种组分对色谱柱污染严重,代价昂贵;如果选用薄层色谱扫描法测定含量,由于该法重现性差而带来较大误差。因此本文尝试了选用薄层色谱法分离提纯,经刮板后再用荧光分析法测定含量的色谱-光谱

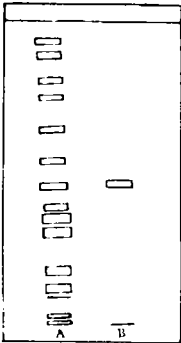


图 1 薄层色谱图
A 样品 B 对照品

联用法,取得较为理想的测定结果。

本文试验成败的关键是薄层色谱的分离和荧光光谱的确定。如果薄层色谱分离的不好,将会增加刮板的难度和误差。因此本文反复筛选了几十种展开剂,最后确定用苯-乙醚

(1.1:1)作为展开剂,取得非常满意的结果(图1)。由于制剂中东莨菪亭含量较低,对刮板后的提取液进行紫外扫描,基本见不到吸收峰。而东莨菪亭具有较强的荧光,考虑到荧光分析法灵敏度高,取样量少,只要控制好测定温度,既能提高测定方法的专属性,又能解决含量低测定难度大的问题,但荧光分析法主要应注意的是在获得较强荧光的同时要避免溶剂 Raman 散射光的干扰。本文试验的结果表明东莨菪亭的乙醇溶液荧光最强,此溶液的激发光谱(图2)显示在 236、256、300 和 347nm,分别用这 4 个波长作激发光源,所得

到的荧光光谱(420nm)完全相同(图3),尤其以 347nm 作为激发光源测得的荧光强度最强,而且还避开了无水乙醇 Raman 散射光(389nm)的干扰(图4)。因此本文最终确定用无水乙醇作溶剂,在激发光波长 347nm 和荧光光谱波长 420nm 处测定东莨菪亭的含量。从含量测定的方法学考察结果(见结果项下)可以看出,本文采用的薄层刮板-荧光分析法不仅避免了复杂组分之间的相互干扰,而且还提高了分析方法的灵敏度和准确度,在中药复方制剂的质量控制中,本文的方法不失为一种可借鉴的好方法。

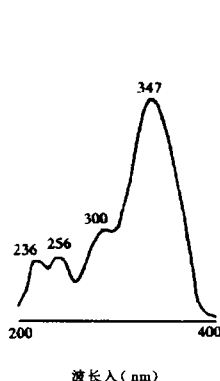


图2 东莨菪亭的激发光光谱

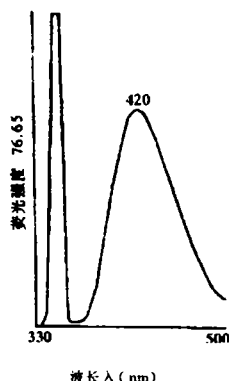


图3 东莨菪亭的荧光光谱
(激发光波长 347nm)

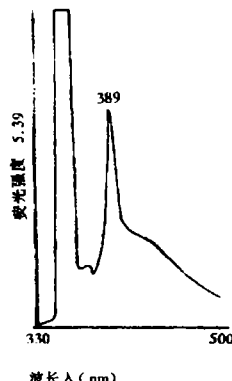


图4 无水乙醇的 Raman 散射
光光谱(激发光波长 347nm)

参 考 文 献

- 1 叶惠珍,等. 中草药,1981,12(5):5
- 2 陈泽乃,等. 中草药,1986,17(9):2

- 3 郑宏业,等. 药检工作通讯,1979,9(6):292
- 4 朱惠兰,等. 中草药,1984,15(10):30

(1995-10-31 收稿)

Application of Thin Layer Chromatograph-Fluorescent Method in Quality Control of Herbal Preparations

Li Ling, Liu Mingzhu, and Xu Weiming

A thin layer chromatograph-fluorescent method was used to assay content of scopoletin in *Erycibe obtusifolia* Benth. . The method showed that it not only can minimize analytical errors in thin layer scan and column contamination in HPLC, but also eliminated mutual interference of components in the preparation. It provides a good assay technique for quality control of hebal preparations. The method was carried out on thin layer plates of silica gel H(40 μ) with benzene-ether(1.1:1) as the developer, at an excitation spectrum of 347nm, fluorescence spectrum of 420nm and a temperture of 25 $^{\circ}$ ±1 $^{\circ}$ C.

The method showed good linearity($r=0.9998, n=5$) in the range of 0.08~0.40 μ g/ μ l of scopoletin and the average recovery was 98.52%~102.67% with RSD<1.5%($n=5$).

~~~~~

**更正:**本刊第3期第169页文题中的“金钱莲”,应为“金线莲”;右倒数第14行《中草大辞典》应为《中药大辞典》;中文目次页中右半栏第1行中“金钱莲”应为“金线莲”。