

Content of astragaloside in Guhanyangshengjing tablets was determined by TLC-scanning together with its percentage of transfer. Results indicated that the content of astragaloside was 0.099% (RSD=1.74%) and the percentage of transfer was 51.88%.

用生物检定法测定大蒜油中大蒜辣素和大蒜新素的含量

湖南医药工业研究所(长沙 410014) 周重阳* 陈海波 罗艳 邓青 赵棠

摘要 利用大蒜提取物中大蒜辣素和大蒜新素具有抗菌作用这一特点,用生物检定方法进行检测,结果与气相色谱法测得结果一致。

关键词 大蒜油 大蒜辣素 大蒜新素 生物检定

大蒜属百合科植物大蒜 *Allium sativum* L.。大蒜中多种化学成分都有药用价值,其中大蒜油中的大蒜辣素和大蒜新素是很好的抗菌药物,对白色念珠菌、隐球菌等有明显的抑制作用,对细菌引起的痢疾疗效确切,对呼吸道、消化道、脑膜炎、肠道等疾病有效率达80%~90%,是一种疗效好,毒副作用小,有发展前途的天然抗菌药物。我们报道的是用生物检定法中的三剂量法测定大蒜油中大蒜辣素和大蒜新素含量的研究。

1 材料

原材料:湖南湘阴县产紫皮大蒜; β -环糊精(陕西志丹县生物化工厂生产, β -CD)。

生物检测材料:试验菌:大肠杆菌[CM-CC(B)44103]。

培养基:Ⅵ培养基(1995版《中华人民共和国药典》附录73页)。

对照品:大蒜油(山东苍山县大蒜制品厂)。

2 提取和制备

2.1 大蒜油的提取:取去紫皮独蒜1000g,用JJ-2组织破碎匀浆机破碎,加蒸馏水1500

mL。水蒸汽蒸馏下收集馏液约200mL,静置,分出部分油层,剩余溶液用氯仿萃取2次,取两次氯仿层合并,于水浴上回收氯仿。残留物与挥发油合并得大蒜油。

2.2 大蒜油包结物的制备:将大蒜油和 β -CD加入到饱和45%乙醇中,水浴70℃搅拌至无油滴,静置,过滤,取沉淀物于40℃下干燥,得白色大蒜油粉,即大蒜油 β -环糊精包结物。

3 用生物检定法测定其抗菌物质含量

检定方法按照《中华人民共和国药典》1995版二部附录70~74页进行;配制检定培养基和大肠杆菌增菌培养基;制备合适的菌悬液;在半无菌室完成滴样操作。

3.1 制备无菌双碟

3.1.1 标记无菌双碟,每个无菌双碟加入溶化好的Ⅵ号培养基20mL,让其自然凝固,作底层。

3.1.2 将计算好的大肠杆菌菌悬液0.05mL加入另外50mLⅥ号培养基中,摇匀,每个双碟加入5mL。摇匀作菌层,备用。

3.2 标准品和样品的制备:大蒜油中以大蒜

* Address: Zhou Chongyang, Huanan Medical Industry Institute, Changsha

辣素和大蒜新素具有抗菌作用,且油中两者的相对含量约为 77.8%。用 20%浓度的乙醇为溶剂和稀释剂,将大蒜油粉和对照品大蒜油按 1:0.8 剂距按高、中、低计算并稀释,得相对含量分别为:样品大蒜油粉为 t,则 $dt_1=3.2\%$, $dt_2=4.0\%$, $dt_3=5.0\%$ 。标示量(AT)为 76%。对照品大蒜油为 s,则 $ds_1=3.2\%$,则 $ds_2=4.0\%$,则 $ds_3=5.0\%$ 。

3.3 滴样和培养;在制备好的每一个双碟中以等距离均匀安置无菌钢管 6 个,间隔滴入样品和对照品高、中、低 3 剂量,盖上陶瓦盖,37℃ 恒温箱培养 18 h,量取抑菌圈直径(Y),并进行数理统计。

3.4 计算和统计结果;按《中华人民共和国药典》1995 版二部附录 X IV)生物检定统计法三剂量法统计结果,将培养好的双碟量取抑

菌圈直径并计算抑菌结果,见表 1。

表 1 大蒜油包结物抑菌结果

	ds ₁	ds ₂	ds ₃	dt ₁	dt ₂	dt ₃	ΣY _m	
Y (mm)	16.05	16.30	16.50	16.10	16.30	16.45	97.70	
	16.10		16.50	16.05	16.15	16.40	97.50	
	16.05	16.30	16.30	16.20	16.45	16.50	97.70	
	16.30	16.20	16.45	16.20	16.35	16.60	98.30	
	16.40	16.40	16.50	16.20	16.30	16.55	98.40	
	16.40	16.45	16.60	16.15	16.35	16.60	98.65	
	15.95	16.55	16.50	16.20	16.45	16.50	97.80	
	15.90	16.20	16.45	16.15	16.35	16.50	97.70	
	15.95	16.35	16.55	16.30	16.40	16.55	98.15	
		16.40						
	ΣY _(K)	145.10	147.15	148.35	145.55	147.10	148.65	881.80
		s ₁	s ₂	s ₃	t ₁	t ₂	t ₃	

3.4.1 通过剂间变异分析和可靠性检验得表 2 中各项结果。

表 2 大蒜油包结物含量测定的可靠性检验结果

变异来源	自由度	差方和	方差	F	P
试品间	1	0.0097407	0.0097407	<1	>0.05
回归	1	1.12006944	1.12006944	112.05518*	<0.01
偏离平行	1	0.000625	0.000625	<1	>0.05
二次曲线	1	0.00689815	0.00689815	<1	>0.05
反向二次曲线	1	0.00689815	0.00689815	<1	>0.05
剂间	5	1.143082	0.2286164	22.87148*	<0.01
碟间	8	0.208572	0.0260715	2.60827	>0.05
误差	40	0.399828	0.0099957(s ²)		
总计	53	1.751482			

$F(1,40,0.05)=4.08$ $F(1,40,0.01)=7.31$

通过数理统计分析,回归非常显著($P<0.01$),偏离平行、二次曲线、反向二次曲线均不显著($P>0.05$),实验结果成立。组内差异非常显著($P<0.01$),分除组内差异,可以减少实验误差。

各项差方和如下:

差方和(总)=1.751482 $f=9\times6-1=53$

差方和(剂)=1.143082 $f=6-1=5$

差方和(碟)=0.208572 $f=9-1=8$

差方和(误差): $1.751482-1.143082-0.208572=0.399828$ $f=53-5-8=40$

3.4.2 通过对大蒜辣素相对含量及可信限的计算得大蒜包结物中大蒜新素和大蒜辣素的相对含量为 76.26%,其可信限为 72.81%

~79.88%与文献报道的气相色谱法分析所测含量相近,说明用生物检定法测定大蒜油中抗菌物质的含量方法可行。

4 结论与小结

4.1 大蒜油中含有大量的抗菌物质,是一种天然的抗菌药物,但由于大蒜油具有挥发性,有特异性气味,且长时间不易消失;大蒜油在空气中容易氧化变质,对粘膜有较强的刺激性,由于这样一些特点,大蒜的药用开发一直进展很慢,我们利用 β-环糊精的分子特点^[1],对大蒜提取物中的大蒜油进行包结,用生物方法和气相色谱法测定,得到了相似的结果,说明我们使用的工艺是可行的^[2]。

4.2 大蒜油含量测定法有薄层层析分析法、

气相色谱法^[3]等多种,通过多年的实践,证明这些方法都是可行的。但这些方法中,有些需要高级的仪器,或比较昂贵的分析试剂。基于这种情况,我大大们对用生物检定法测定大

蒜油中抗菌物质的含量进行了一些探索和研究,并用气相色谱法比较(表 3),测得结果基本相似。

表 3 大蒜包结物中主要成分的相对含量

样品	主要成分的相对含量(%)					
	1	2	3	4	5	6
大蒜包结物(0.1 g+0.5 mL 甲醇)	4.52	2.41	34.91	5.32	42.67	2.48
大蒜油(9 mL 油+0.5 mL 甲醇)	5.13	2.55	34.10	5.60	43.76	1.54

注:1-二烯丙基一硫化物 2-甲基烯丙基二硫化物 3-二烯丙基二硫化物(大蒜辣素) 4-甲基烯丙基三硫化物 5-二烯丙基三硫化物(大蒜新素) 6-未鉴定(下同)

4.3 本生物检定法用 20%的乙醇作溶解介质是根据文献报道采用的,同时在实验室进行了验证和抑菌作用考察。

1 张崇璞,等. 药学通报,1987,22(2):101
2 沈联慈,等. 中草药,1992,23(10):518
3 张立萍,等. 中成药,1989,11(5):35

(1996-01-14 收稿)

参 考 文 献

薄层扫描法测定茶多酚中咖啡因的含量

广东省中医研究所(广州 510095) 刘法锦* 孙冬梅 陈路林

摘 要 用薄层扫描法对茶多酚中咖啡因的含量进行测定,方法简便,结果准确,重现性好,平均回收率 100.1%,RSD%=2.90,最低检测限为 0.1 μg。
关键词 茶多酚 咖啡因 薄层扫描

茶多酚是从茶叶中提取分离得到的一种多酚类化合物复合体,近年研究表明茶多酚具有多种药效^[1],在食品、化妆品等方面用途也较广泛。由于茶叶中咖啡因的含量较高,在提取茶多酚时,咖啡因也随之提取出来,这样影响了茶多酚的药效及用途,同时也限制了茶多酚及其产品的出口。我们采用薄层扫描法,在 276 nm 波长处进行吸收扫描,对茶多酚中的咖啡因进行定量,方法简便、灵敏、稳定、快速,重现性好。

1 仪器、试剂及试剂

薄层扫描仪Ⅱ(CAMAG) Compaq 486 计算机系统,NANOMAT Ⅲ点样仪(CAM-

AG),定量点样毛细管(CAMAG)。PBQ-Ⅱ薄层自动铺板器(重庆),硅胶 G(青岛海洋化工厂),咖啡因对照品(中国药品生物制品检定所),茶多酚(广东英德英南科技联营实业有限公司生产,生产日期:1994-09-18),所用试剂均为分析纯。

2 实验条件的选择

2.1 对照品溶液的制备:取咖啡因对照品,精密称定,用甲醇制成 1 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。
2.2 样品供试液的制备:取茶多酚样品约 0.1 g,精密称定,置 5 mL 量瓶中,加甲醇溶解稀释至刻度,摇匀,作为样品供试液。

* Address: Liu Fajin,Guangdong Provencial Institute of Traditional Chinese Medicine,Guangzhou
• 20 •