

3 讨论

3.1 多次层析法是基于样品中被鉴别的成分甚微,且此成分在前几次展开中位于原点不动,而其它非鉴别的成分则随展开系统展开,如此反复多次,可以在原点保留了较多的需鉴别的成分,而又排除了其它成分的干扰,最终达到鉴别的目的。

3.2 多次层析法不同于一次性层析,一次层析无法使样品点样太多,对于含有被鉴别成分甚微的样品是难以鉴别的,而且样品中杂质成分随着样品点样量的增加而增多,加大了干扰,而多次层析法恰恰克服了一次层析这两个缺陷。多次层析法既不同于一次层析,

又不同于多次展开。多次展开仅增加了样品分离的手段,而不增加样品的点样量,不能有效地鉴别样品中含量甚微的成分。

3.3 多次层析法用于加味西黄丸,蟾酥在其中的含量为 0.17%;对于含蟾酥更少的中成药制剂也可用此法鉴别,只是展开剂系统可以根据组方药味及蟾酥量的不同进行选择。

3.4 由于多次层析的效果好,斑点边缘清晰、杂质成分干扰少,可以采用薄层扫描法进行含蟾酥成分的含量测定。

致谢:本文承蒙魏吉城研究员指导。

(1996-04-05 收稿)

薄层-导数荧光分光光度法测定香连丸、左金丸中小檗碱、巴马亭的含量

江苏省江宁县人民医院(211100)

陶美英*

中国药科大学

赵金慧

摘要 香连丸、左金丸其主药均为黄连,主要有效成分为小檗碱、巴马亭等生物碱。采用薄层-导数荧光法测定该类药中的有效成分,检出灵敏度高,点样量少,回收率好。

关键词 香连丸 左金丸 薄层-导数分光光度法 小檗碱 巴马亭

香连丸、左金丸都具有清热化湿,行气止痛的作用。其主药黄连中的有效成分是小檗碱、巴马亭等生物碱。该类药的含量测定文献报道不多^[1~6],用薄层-导数荧光法测定尚未见报道。我们选择了较合适的展开系统,进行导数荧光测定,杂质或共存物的干扰,可以通过波长和求导条件的选择加以清除。

1 仪器与试剂:

仪器:605 型-60 多功能荧光计;2537 Å 紫外分析仪,H66025J 超声清洗机,薄层自动铺板仪。试剂均为分析纯,硅胶 G(青岛海洋化工厂);对照品小檗碱、巴马亭由中国药科大学金蓉鸾教授提供。药品:原料药黄连、吴

茱萸、木香由南京市药材公司提供;香连丸(批号 880405,871201,860705)黄石制药厂;左金丸(批号 840113)武汉市中联制药厂。

2 方法与结果

2.1 样品液的制备:香连丸、左金丸、黄连、吴茱萸、木香粉碎,恒重,并同时炮制吴茱萸、制黄连。精称上述药品,置索氏提取器中,90%乙醇提取至无色,并定容到一定体积备用。

2.2 样品测定用薄板系统的制备:薄板的制备:0.7% CMC-Na;硅胶 G 和粘合剂的比例:1:3;板厚 0.6 mm;105℃活化 1.5 h,干燥器中冷却备用。

* Address: Tao Meiying, Jiangsu Provincial Jiangning County People's Hospital, Jiangning

薄板的处理:正丁醇每升用 2 g NaOH、1 g AgNO₃ 回流重蒸,冰醋酸重蒸处理,水为重蒸水。用上述处理过的正丁醇-冰醋酸-水(7:1:2)跑空板(未点样的薄层板);跑到顶端后取出晾干,105℃活化 30 min。

展开系统:展开系统所需的正丁醇,冰醋酸,水的处理同上。其比例为:正丁醇-冰醋酸-水-三乙胺(7:1:2:1)。

2.3 薄层检查样品:在同一块板上点样,展开,在 2537 Å 紫外分析仪上观察荧光,见图 1。

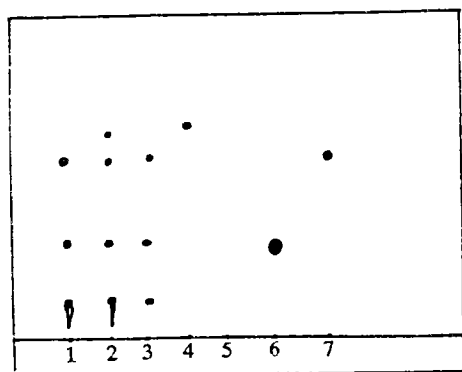


图 1 样品 TLC 图

1-香连丸 2-左金丸 3-黄连 4-吴茱萸 5-木香
6-巴马亭 7-小檗碱

2.4 一阶荧光导数测定波长的选择:精密吸取小檗碱标准乙醇溶液(1.0 mg/mL),巴马亭标准乙醇液(1.0 mg/mL)点板,展开,定斑,刮斑于具塞离心玻璃管中,加无水乙醇 5 mL,超声波振荡 2 h,离心 15 min,吸取上清液于比色杯中,在 650 型-60 荧光计上测荧光强度。

荧光条件:单色光狭缝 2.1 nm;激发波长 λ_{EX} :355 nm(小檗碱); λ_{EX} :344(巴马亭);发射波长 λ_{EM} :均为 480 nm~600 nm;每隔 1 min 测定 1 次。经选择得出波长的组合见表 1、2。所以小檗碱的 λ_{EX} (nm):355; λ_{EM} (nm):509、513、560、564。巴马亭的 λ_{EX} (nm):344; λ_{EM} (nm):495、499、565、569。

2.5 标准曲线的制备及范围:小檗碱:标准液浓度 1.063 mg/mL。回归方程为 $\Delta(\Delta F)$

表 1 小檗碱的波长组合

波长 λ nm	$F_{\text{空}}$	$\Delta F_{\text{空}}$	$\Delta(\Delta F_{\text{空}})$	$F_{\text{标}}$	$\Delta F_{\text{标}}$	$\Delta(\Delta F_{\text{标}})$
$\lambda_1=509$	0.017			0.458		
		-0.001			0.040	
$\lambda_2=513$	0.016			0.498		
			0			0.067
$\lambda_3=560$	0.007			0.459		
		-0.001		0.027		
$\lambda_4=564$	0.006		0.432			

$F_{\text{空白}}$:指在相应小檗碱处取一块大小相当的硅胶,经平行操作而得溶液的荧光强度。

$F_{\text{标}}$:指标准品所得斑点,经上述操作后的所得溶液的荧光强度。

表 2 巴马亭波长组合

波长 λ nm	$F_{\text{空}}$	$\Delta F_{\text{空}}$	$\Delta(\Delta F_{\text{空}})$	$F_{\text{标}}$	$\Delta F_{\text{标}}$	$\Delta(\Delta F_{\text{标}})$
$\lambda_1=495$	0.020			0.175		
		0			0.046	
$\lambda_2=499$	0.020			0.221		
			0			0.072
$\lambda_3=565$	0.008			0.374		
		0			-0.026	
$\lambda_4=569$	0.008			0.348		

$=0.0124X+0.0056, r=0.9988$ (X 为点样量),线性范围为:2.66 μg ~6.91 μg 。

巴马亭:标准液浓度 730 mg/L。回归方程为 $\Delta(\Delta F)=0.0102X-0.030533, r=0.9987$ (X 为点样量),线性范围为:4.38 μg ~7.3 μg 。

2.6 回收率试验:精密称取香连丸、左金丸粉末适量 3 份,其中二份分别加定量的小檗碱和巴马亭,另一份留作空白。在同前面一样的条件下用 60 mL 90%乙醇平行提取 12 h,浓缩到 5 mL。

在同一块板上各点标准品 3、7.5 μL 二份及相同体积的上述样品提取液,展开,刮板,洗脱,测出荧光强度。得小檗碱和巴马亭的回收率如下:巴马亭的回收率($n=3$),香连丸 98.38%,左金丸 98.5%。小檗碱的回收率($n=3$),香连丸 96.4%,左金丸 100.3%。

2.7 样品的含量测定:分别称取研细混匀的香连丸,左金丸粉末适量,同前处理,测得含量见表 3。

2.8 稳定性试验:测定程序同前:结果表明,在 24 h 内巴马亭和小檗碱的含量不变。

3 讨论

3.1 提取条件的选择:a)提取方法:分别考

察了冷浸,超声波振荡,索氏提取器提取等方法。结果表明索氏提取器提取最快,最完全。

表3 样品中各组分的含量(%)

批号	组分	1	2	3	平均值(%)
香连丸	860705 小檗碱	3.617	3.49	3.72	3.63
	巴马亭	3.01	3.25	3.02	3.09
	871201 小檗碱	3.42	3.46	3.57	3.48
左金丸	巴马亭	2.27	2.56	2.29	2.37
	880405 小檗碱	3.32	3.35	3.59	3.42
左金丸	巴马亭	2.94		2.50	2.72
	840113 小檗碱	4.26	5.14	4.54	4.65
	巴马亭	3.38	2.97	3.25	3.20

b)提取溶剂:分别考察了甲醇、乙醇、盐酸-甲醇(1:100)、盐酸-乙醇(1:100)等提取溶剂,因甲醇毒性大,价格贵,而盐酸-甲醇,盐酸-乙醇提取液杂质太多,故选用

(90%)乙醇最好。

c)荧光条件:由于荧光分析法灵敏度很高,配制溶液的溶剂、容器都要影响荧光的测量,所以我们对溶剂和玻璃仪器均进行了处理。

参考文献

1 焦庆方,等.中国药科大学学报,1987,18(3):179
2 杨维稼,等.中草药,1986,17(6):47
3 张秀琴,等.中成药研究,1987,(2):14
4 徐国钧,等编.生药学.北京:人民卫生出版社,1987.178
5 于如赓,等编.分析化学.下册.北京:人民卫生出版社,1986.68
6 李玲,等.中草药,1996,27(5):275

(1996-10-22 收稿)

鸡内金、鸽内金、鹌鹑内金淀粉酶活力比较

南京中医药大学(210029) 潘金火
镇江市中药厂 欧阳臻

鸡、鸭、鹅等家禽内金是常用的助消化良药。据有关文献报道,鸭内金的淀粉酶活力是鸡内金的6倍;鹅内金的淀粉酶活力是鸡内金的7.5倍^[1]。其它禽类动物的内金是否亦具有相似的淀粉酶活力,这必将引起人们的关注,我们选择了在农村具有较大养殖规模的肉鸽和鹌鹑作为考察对象,测定了鸡内金(来自家鸡 *Gallus gallus domesticus* Brisson 的干燥砂囊内膜)、鸽内金(来自家鸽 *Columba livia domestica* Gmelin 的干燥砂囊内膜)、鹌鹑内金(来自鹌鹑 *Coturnix coturnix japonica* 的干燥砂囊内膜)的淀粉酶活力,并计算了各自的比活力,现将实验方法和结果报道如下:

1 实验材料、仪器和试剂

- 1.1 材料:鸡内金20g购自南京中医药大学门诊部;鸽内金、鹌鹑内金各50个由大丰县大中镇多种经营服务公司提供。各药材均经中药鉴定室刘训红副教授鉴定。
- 1.2 仪器:上海产751G型可见-紫外分光光度计,恒温水浴箱。
- 1.3 试剂:底物溶液:1%马铃薯支链淀粉溶液(以pH 5.6的磷酸缓冲液配制);显色剂:3,5-二硝基水

杨酸溶液(1.60g NaOH溶于70mL水中,再加入1.0g 3,5-二硝基水杨酸及3.0g酒石酸钾钠,用水稀释至100mL);标准溶液:麦芽糖溶液(36.0mg麦芽糖加水至100mL,1μmol麦芽糖/mL)。

2 方法和结果

将鸡内金、鸽内金、鹌鹑内金分别粉碎后,过60目筛,60℃左右烘至恒重,精密称取上述3种药材细粉各约0.5g置10mL容量瓶中,加pH 5.6的磷酸缓冲液至刻度,摇匀后静置30min。取4支试管按下表1操作^[2],当对3种样品进行测定后由下式分别计算各自的比活力Q:

$$Q = \frac{(A_{\text{样}} - A_{\text{空白}}) \times \text{标准管中麦芽糖的 } \mu\text{mol 数}}{(A_{\text{样}} - A_{\text{空白}}) \times 3(\text{min}) \times W(\text{g})} \times 20(\text{倍})$$

实验结果见表2。

3 讨论和小结

肉鸽与鹌鹑是近几年兴起的具有较大经济价值的家禽类,在我省大丰、东台、射阳等地已规模饲养,仅大丰一县1994年内鸽、鹌鹑的产量合计约100万只,盐城地区每年都要向东南亚地区出口大量家禽肉类罐头,鸽内金、鹌鹑内金产量很大,由于用药习惯问题,这些家禽内金基本上当废物丢弃。通过以上