

生质体的分离、融合及基因克隆等生物技术,可将两个菌株的基因修饰成为新的、更具优点的菌株。这一研究领域将成为今后热点之一。新菌株在产生拮抗物质数量及质量上的增加,使其能够同时对两种以上土传病害有效,而且具有生长好、定殖快、更能适应不良环境的特点,从而对目标病原菌更具效果。

2.3 木霉处理与农业措施有机结合:据报道,单以木霉分生孢子处理土壤,对土传病害无防治效果^[3],这与我们在西洋参上的试验结果相同。一些在室内具有抑菌作用的菌株,往往田间施用效果不好,主要原因就是营养条件不具备,加入土壤中的个体不能很好地定殖并形成优势种群。因而应当对有机物及添加剂等木霉营养成分及种类加以研究。与有机物同时施入土壤中的这些添加剂,可为木霉菌提供营养,成为其营养载体,从而提高木霉在土壤中的各种能力,使其成为优势种群。同时,这些有机物也刺激土壤中原有木霉

菌的大量繁殖,与加入的木霉菌一起对病原菌的生存繁殖形成巨大的抑制作用^[6]。这些有机物还可以提高作物的抗病性,并促进其生长。

2.4 其他方面:木霉菌处理药用植物种子,防治土传病害,可借鉴农作物上已成功的先例,结合药用植物种子的特殊性进行有针对性研究。

开发木霉菌剂发酵、培养、生产新工艺,提高其田间应用效果;注意木霉制剂与化学杀菌剂的竞争力,如毒性、注册费用与时间及农民的认可性。

参考文献

- 1 Lewis J A, et al. Crop Protection, 1991, 10: 95
- 2 洪传学. 植物保护, 1993, 19(5): 35
- 3 Papavizas G C. Ann Rev Phytopathol, 1985, 23: 23
- 4 李 良, 等. 浙江农业大学学报, 1983, 9(3): 221
- 5 丁万隆, 等. 中草药, 1994, 25(4): 91
- 6 周新根, 等. 上海农业学报, 1994, 10(4): 53

(1996-08-29 收稿)

现代薄层色谱技术及其在生药分析中的应用

镇江市药检所(212003) 胡逸琴 陈 黎 刘勤超*

薄层色谱技术(TLC)目前已日趋成熟,并得到广泛应用。其在生药分析研究中亦有很重要的地位,这点仅从《中国药典》1995年版一部中45%的品种收载薄层鉴别就可见一斑。随着色谱技术的不断发展,尤其是现代TLC在生药分析中愈来愈广泛的运用,TLC具有更高的应用价值。笔者仅就现代薄层色谱发展技术及其在生药分析中的应用作一综述。

1 吸附剂

1.1 高效薄层色谱(HPTLC):采用更细(粒子范围5~10 μm)、更均匀的吸附剂作为固

定相,其板厚度100~250 μm,点样量仅需0.1~0.2 μL,展3~6 cm,展开时间3~20 min,最小检测量0.1~0.5 μg,较经典TLC可改善其分离度,提高灵敏度和重现性。其预制板尤其适用于定量测定。应用Merck高效硅胶板鉴别国产麻黄中麻黄生物碱类化合物,成功地分离了3对立体异构的6种生物碱,而用常规薄层板则不能将其很好分离^[1]。比较了高效板和普通板对阿片中20余种生物碱的薄层色谱鉴定,前者可检出13~17个斑点,后者仅能检出7~11个斑点^[2]。对14种蛇胆中胆汁酸成分进行了HPTLC,认为

* 郑州瑞达制药有限公司

胆汁酸以牛磺结合型为多,但因种属、产地等差异,胆汁酸的组成及相对含量均有一定差异^[3]。

1.2 反相薄层色谱(RPTLC):是利用化学键合反应,将烷基硅烷键合到硅胶表面,制成非极性固定相,用极性较大的液体作流动相进行分离分析的方法。可克服疏水板对溶剂系统的限制,其流动相含水量根据键合相不同可达20%~80%不等。常用展开剂是水和甲醇混合溶剂,其次是水和乙腈,并可使用强酸或强碱作流动相。本法可用于非极性、极性化合物的分离,甚至水溶性化合物的分离。并可按理论和预期方法选用溶剂系统,因为Rf值与流动相中的有机改性剂含量之间呈线性关系。本法回收率高,重现性好,薄板可重复使用。已用反相薄层扫描法分离蟾酥成分,测定脂蟾毒配基的含量,并对经典TLC法与RPTLC法进行了比较^[4](表1)。

表1 RPTLC和TLC测定脂蟾毒配基效果比较

	展开剂	展距 (cm)	分离度 (Rs)	斑点情况	定位法
RPTLC	乙腈-水 (1:1)	8	>1	所有斑点色 谱峰对称	荧光 熄灭
TLC	丙酮-氯仿- 环己烷 (3:3:4)	15	<1	斑点扩散严 重甚至拖尾	化学 显色

为探讨佛手散可否分煎,在TLC中采用两种分离机制(吸附和分配)的薄层板进行对照,结果表明合煎和分煎液的TLC图谱完全一致,提示二者无区别,认为可分煎^[5]。

反相离子对TLC:指在反相板上分离,流动相中加入离子对试剂,如十二烷基硫酸钠等阴离子型反离子,可作为碱性药物的反离子,形成离子对,溴化四丁基胺等阳离子型反离子可与酸性药物形成离子对。在RPTLC中引入离子对,可增加选择性,提高分离度。

在对不同产地、不同采收时间的蔓荆子中牡荆素和对羟基苯甲酸的分析中,用反相离子对TLC进行定量测定。采用RP-18,F₂₅₄高效反相板,用70%四氢呋喃水溶液,含0.1%四丁基溴化铵(TBABr),浸泡后干燥。

展开剂为四氢呋喃-水(46:54)(含0.1%TBABr)。本实验展开剂中加入TBABr离子对试剂,使两组得到良好的分离^[6]。

RPTLC法主要用于生物碱类、氨基酸类、脂肪酸类、甙类及体液中药物的分析测定。

2 展开方式

2.1 多次展开(multiple development):系同方向多次展开,溶剂系统可调整亦可不调整,每次展开后应挥尽流动相。如不调整流动相,在展开方向上斑点被压缩,分离度增加。如流动相不变,极性改变,则可使不同极性组分分次分离。

对党参方生脉饮中五味子醇甲采用HPTLC多次程序展开,发现展距逐次加大,其分离效能随展开次数增加呈上升趋势,5次展开时Rf值最大^[7]。

2.2 二维二相展开(直角双向展开):为提高分离度及消除色素对比色测定的干扰,对蒜芪口服液中黄芪甲甙含量进行了二维TLC比色测定。两次展开互为垂直方向,第1次以氯仿-甲醇-水(下层液)为展开剂;第2次以氯仿-甲醇-丙酮展开,碘蒸汽显色,根据标准品斑点的交叉点定位供试品中黄芪甲甙区域^[8]。在鉴定安宫牛黄丸中黄连品种时采用二维TLC方法,并根据TLC的扫描指纹图谱,提取量化指标,进而运用模糊聚类分析方法定种^[9]。

2.3 线性小孔展开:在薄层板近底边1cm处,每隔3mm,吸一2mm孔,使溶剂上升速度减慢,改进斑点形状,使斑点集中,复杂成分易分离。采用小孔线性技术(SHL)对生脉饮中五味子醇甲进行分离,设孔间距为d,随着d的减小,Rf值不断增大。常规TLC展开不能观察到清晰的五味子醇甲斑点,采用SHL技术,d=2mm,则可分离得到4个斑点^[10]。

2.4 过压薄层展开(OPTLC):采用专门的薄层色谱仪,属密闭型TLC,流动相由泵系统压入,其速度恒定。整个展开过程没有蒸汽

相,毛细管作用消失,边缘作用消失,可通过调节流速和室温选择分离条件。本法主要用于氨基酸及其衍生物、多肽类的分离分析。应用长距离 OPTLC 技术对 8 种呋喃香豆素异构体混合物进行了分离^[11]。对胆汁中胆红素也进行了分析^[12]。

2.5 胶束薄层色谱(MTLC):是用低浓度表面活性剂水溶液或非极性有机溶剂并含少量水为展开剂。表面活性剂在水中可形成胶束,胶束的存在能使不溶或微溶于水的有机化合物溶解度增加。

运用非离子表面活性剂(0.1%聚乙二醇辛基苯基醚),在荧光分光光度计上测得厚朴酚的荧光强度增加了 15~20 倍^[13]。

3 结论

随着自动点样仪、自动程度多次展开仪、薄层扫描仪、过压薄层色谱仪、旋转薄层色谱仪的加入,现代 TLC 正逐步实现自动化,加

上与其它仪器分析方法(如富立叶变换红外、拉曼、质谱等)直接联用以及 HPLC、RPTLC 等方法的广泛应用,TLC 的前景将更为看好,在生药分析中的应用定是大有可为的。

参考文献

- 1 张建生,等. 药物分析杂志,1992,12(1):38
- 2 姜世贤,等. 药物分析杂志,1995,15(3):46
- 3 曾常青,等. 中药材,1996,19(3):140
- 4 张子忠,等. 天然产物研究与开发,1991,3(3):65
- 5 王新宏,等. 中成药,1996,18(12):34
- 6 张子忠,等. 药物分析杂志,1995,15(2):13
- 7 刘文英,等. 中国药科大学学报,1993,24(12):78
- 8 丁 蓁,等. 中国中药杂志,1995,20(6):349
- 9 邱 欣,等. 中成药,1985,17(12):11
- 10 刘文英,等. 中国药科大学学报,1993,24(12):78
- 11 Boty L. J Planar Chromatogr-mod TLC,1991,4(2):115
- 12 陈执中,等. 沈阳药学院学报,1989(3):218
- 13 刘万军,等. 中国中药杂志,1991,16(2):101

(1997-03-17 收稿)

对目前中药处方剂量过大问题的建议

湖南岳阳石油化工总厂职工医院(414014)

沈霞群

笔者从事中药工作 20 多年,在长期的临床调剂工作中,深感目前中药汤剂煎煮的剂量有越来越大的倾向,特别是一些外科及肿瘤科处方用量已大大超过药典的规定,如细辛常开 12 g,川、草乌各 15 g,桂枝剂量多达 30 g;一些贵重药:如全蝎用量 10 g;天麻常在 30~50 g 之间……;而川、草乌的主要成分是乌头碱,常用量是 3~9 g。乌头碱有局部麻醉作用,对各种神经末梢及中枢神经系统先兴奋后麻痹,小剂量使心跳变慢,大剂量则引起心率不齐甚至纤维性颤动;桂枝辛温助热,温经通脉,常用量 3~9 g,如此大剂量容易伤阴动血,使人大汗淋漓,迫血妄行。有的处方药物多达 20 多味,既有解表药、消导药;又有重镇药、补气补阴药,汤剂重量多达 200 g 以上。

笔者认为:中药成分复杂,药味偏多偏杂,抓不住主要矛盾,反而延误病情。在煎煮过程中,药物与药物之间可能会发生不良反应,许多药物的化学成

分尚未完全为人们所知,急待于今后的研究与探讨。川乌、草乌每付 12 g 以上,连服几天,临床上多次发生过积蓄中毒现象:患者出现四肢发冷,口唇面发麻症状;加之有时药材没有严格按照炮制规范操作,就更加重了中毒的机会。以细辛为例:细辛主含挥发油,其主要成分为甲基丁香酚、黄樟醚、优香芹酮、细辛酮,细辛挥发油对人的舌粘膜有局部麻醉、镇痛作用,能引起呼吸兴奋,并能对抗因吗啡所引起的呼吸抑制,能使麻醉动物血压下降,而煎剂使血压上升,其用量内服是 1.5~5 g,能祛风散寒止痛,温肺祛痰;煎水漱口外用治牙痛,常用量 3~7 g,极量内服 6 g,故古人有“细辛不过钱”之说,而在实际处方中,常见到超过 5 g,甚至升到 10~12 g,曾发生过细辛过量中毒之例。笔者认为,细辛内服用量超过 5 g 是不妥当的,即使正常健康人也不可多服久服,否则等于火上加油,会使病情恶化。《中华人民共和国药典》

(下转附 1 页)