

- 11 Choi H K, *et al.* W O Patent 9634-110  
 12 Gibson O M, *et al.* Taxol Science and Applications. C R C Press, 1995; 71  
 13 Manfredi J J, *et al.* Cell Cycle Effects of Drugs, 1986; 287  
 14 Cen P L, *et al.* Sep Technol, 1993; 3(4): 58  
 15 Laonne C, *et al.* Biotech and Bioeng, 1987; 30: 8  
 16 Vermus M, *et al.* Biotech and Bioeng, 1993; 42: 747  
 (1998-02-16 收稿)

## Studise on the Two-liquid-phase Culture of Japanese Yew (*Taxus cuspidata*) for the Production of Paclitaxel

Wu Zhaoliang, Yuan Yingjin and Hu Zongding (Department of Biochemical Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072)

**Abstract** The integrated cultivation-separation of plant cells is a key technology in cell culture of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc. for the production of paclitaxel. Through the two-liquid-phase culture, effects of different organic solvents, their volume percentages, time of addition and phase toxicity on the growth of cells and yield of paclitaxel in cell culture of *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. Results showed that oleic acid and dibutylphthalate were suitable organic solvents. Suitable volume percentage of organic solvents was 8%, and time for the addition of organic solvent was at day 7 to day 10. Yield of paclitaxel in the two-liquid-phase culture was four times more than that of the control.

**Key words** paclitaxel two-liquid-phase culture cell of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.

## 四妙勇安汤中阿魏酸的含量分析

中国药科大学天然药化教研室(南京 210038) 蒋建勤\* 梁敬钰 杭亚军\*\*

**摘要** 利用薄层扫描法与薄层层离-分光光度法分析古方四妙勇安汤中阿魏酸的含量,采用硅胶 G-0.8%-CMC-Na 薄层板,以苯-乙酸乙酯-甲醇(16:4:1)外加 3 滴甲酸为展开剂,分别用岛津 CS-9000 型薄层扫描仪和 752 型紫外分光光度计测定四妙勇安汤中阿魏酸的含量,两种方法所测得的结果比较接近。

**关键词** 薄层扫描法 薄层层离-分光光度法 四妙勇安汤 阿魏酸 含量分析

四妙勇安汤(SMYAT)源于清代鲍相敖《验方新编》<sup>[1]</sup>,该方及其加味方用于红斑性肢痛症、动脉硬化性坏疽、坐骨神经痛、类风湿性关节炎等,是治疗血栓闭塞性脉管炎的有效验方。为研究该方的有效成分,我们利用薄层扫描法及薄层层离-分光光度法<sup>[2]</sup>测定了其醇提液中阿魏酸(FLA)的含量。

### 1 薄层扫描法

1.1 仪器与试剂:日本岛津 CS-9000 双波长薄层扫描仪,微量注射器,玻璃薄板(20 cm

× 20 cm, 20 cm × 10 cm),双槽玻璃层析缸,紫外灯,薄层层析硅胶 G(青岛海洋化工厂);阿魏酸标准品(中国药品生物制品检定所),所用药材由南京药材公司提供,经鉴定符合 1990 年版中国药典规定。

1.2 薄层板的制备:硅胶 G 10 g 加入 0.8% CMC-Na 溶液 30 mL,研磨至适合粘度,在 20 cm × 20 cm 洁净玻板上铺成均匀薄层,晾干后 70 °C ~ 80 °C 活化 0.5 h 置干燥器内备用。

\* Address: Jiang Jianqin, Department of Phytochemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing

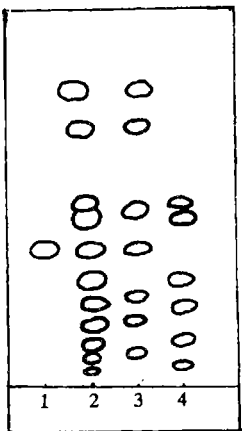
蒋建勤 女,硕士研究生,副教授。主要从事天然药物化学的教学和研究工作。参与完成国家自然科学基金资助项目 3 项。目前负责国家自然科学基金资助项目 1 项。已发表学术论文(第一、第二作者)10 余篇。

\*\* 本校 97 届毕业生

1.3 层析条件:展开剂:苯-乙酸乙酯-甲醇(16:4:1)加3滴甲酸,室温上行展开,展距16 cm。

1.4 扫描参数:双波长反射法锯齿形扫描,阿魏酸样品  $\lambda_s = 290$  nm,  $\lambda_R = 350$  nm,  $S_x = 7$ 。

1.5 标准曲线的制备:精密称取阿魏酸5.56 mg于10 mL容量瓶中加甲醇至刻度,摇匀后置冰箱中备用。精密吸取阿魏酸标准品1.0、2.0、3.0、4.0  $\mu$ L点于同一块薄层板上,展开后取出晾干,



1-阿魏酸 2-样品 3-当  
归 4-缺当归样品

定位后在薄层扫描仪上测定斑点的面积积

分值,然后以点样量  $C(\mu\text{g})$  为横坐标,峰面积积分值  $A$  为纵坐标进行回归,结果表明阿魏酸在  $0.556 \mu\text{g} \sim 2.224 \mu\text{g}$  之间有良好的线性关系,回归方程  $A = 41679.0 C + 17267.7$ ,  $r = 0.994$

1.6 精密度试验:在同一块薄层板上点相同量的标准溶液6个点,展开后测定,平均积分为41435.6,  $RSD = 2.56\%$

1.7 稳定性测试:取标准曲线上4  $\mu$ L阿魏酸斑点作稳定性测试,5、30 min、1、2、24 h各测定一次,结果表明,阿魏酸在2 h内稳定,而在较长时间阿魏酸的稳定性降低。

1.8 回收率测定:分别点样品液40  $\mu$ L加入阿魏酸标准品液1  $\mu$ L,另以40  $\mu$ L样品液为对照,按照测定方法进行回收率试验,结果  $\bar{x}$  为95.33%,  $RSD$  为4.78% ( $n = 5$ )。

1.9 样品分析:药材干燥至恒重,按原方<sup>[1]</sup>所定比例,称取十分之一方剂量的药材,加30 mL 95%乙醇冷浸过液。用微量注射器分别吸取40  $\mu$ L  $\sim$  50  $\mu$ L样品液点于薄层板上,并随标准品溶液2、4  $\mu$ L点样于样品点两侧,展

开,扫描测定,每个样品测定3次,取平均值,对照标准曲线求出阿魏酸含量。结果见表1。

表1 SMYAT中阿魏酸的含量( $n = 3$ )

样品	含量	$\bar{x}(\%)$	$RSD(\%)$
1	0.00654	0.00648	3.58
2	0.00670		
3	0.00668		
4	0.00644		
5	0.00613		

## 2 薄层层离-分光光度法

2.1 仪器与药品:752分光光度计,pH缓冲液,Folin试剂(磷钨酸-磷钼酸试剂)。

2.2 薄层层析条件:同前法。

2.3 显色方法:吸取一定量阿魏酸乙醇液,加蒸馏水至1 mL,pH 10缓冲液2 mL,Folin试剂0.5 mL和5%无水碳酸钠溶液1 mL,于70  $^{\circ}$ C水浴中加热5 min,冷却后在室温下用分光光度计在690 nm处测定。

2.4 标准曲线的制备:精密称取阿魏酸标准品5.77 mg于10 mL容量瓶中,用甲醇定容,分别吸取5、10、20、30、40  $\mu$ L点于硅胶板上,同前法展开,紫外灯下定位后,刮取阿魏酸色点于带塞试管中,并取同面积的空白硅胶作对照,分别加入乙醇使成100  $\mu$ L,再加蒸馏水至1 mL,按2.3法进行比色测定。以吸收度值为纵坐标、以阿魏酸含量( $\mu\text{g}$ )为横坐标进行回归,结果表明阿魏酸在  $2.88 \mu\text{g} \sim 23.08 \mu\text{g}$  之间有良好的线性关系。回归方程为  $A = 0.176 C + 0.03$ ,  $r = 0.999$ 。

2.5 加样回收率试验:分别吸取样品液30  $\mu$ L点于薄层板上,再分别吸取标准品液5、10、15、20  $\mu$ L加于样品点上,再以30  $\mu$ L样品液点为对照,同前法展开,刮取阿魏酸色点于试管中同上法显色,离心后取上清液比色,结果,  $\bar{x} = 99.93\%$ ,  $RSD = 2.50\%$  ( $n = 4$ )。

2.6 样品测定:按1.9项下样品液制备方法,取30  $\mu$ L  $\sim$  40  $\mu$ L样品液点样,同前法展开后刮取阿魏酸色点于试管中,再取同样大小的硅胶斑点做空白,同前法显色后离心沉淀,取上清液进行比色测定,每个样品测定3次,取平均值。结果  $\bar{x}$  为0.00630%,  $RSD$  为2.63% ( $n = 5$ )。

四妙勇安汤是实用古代名方,其有效成分的含量未见文献报道。我们采用两种方法测定该方醇提液中阿魏酸的含量,所得结果比较接近,说明方法比较合理、可靠。

### Assay of Ferulic Acid (FLA) in Simiaoyongan Decoction

Jiang Jianqin, Liang Jingyu, Hang Yajun, *et al.* (Department of Phytochemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

**Abstract** The content of ferulic acid in Simiaoyongan Decoction (SMYAD), a traditional recipe originated in the late Qing Dynasty containing a decoction of four wonderfully effective herbal drugs for the safe recovery of arteriosclerotic gangrene and erythromelalgia etc., was determined by TLC-scanning and TLC-spectrophotometry. The sample solution was spotted on silica gel G plate and the developing solvent was benzene : ethyl acetate : methanol (16 : 4 : 1) and 3 drops of formic acid. There was no significant difference between the results obtained by the two methods.

**Key words** TLC-scanning TLC-spectrophotometry Simiaoyongan decoction ferulic acid

- 1 鲍相敷. 验方新编. 二卷. 天津, 天津科技出版社, 89
- 2 吕瑞绵, 等. 中草药, 1980; 11(9): 395

(1997-08-13 收稿)

## 止淋胶囊中牡丹酚质控标准的研究

天津医科大学药学院(300070) 李惠芬\* 王丽洁

**摘要** 止淋胶囊中牡丹酚是其主要有效成分之一,根据牡丹酚易随水蒸气馏出的特点,提取分离并应用紫外分光光度法对其进行了定性定量分析,通过引进助色团-OH,使波长长移,消除了空白干扰,加样回收率 98.75% ( $n=6$ ),  $RSD=0.68\%$ 。

**关键词** 止淋胶囊 牡丹酚 水蒸气蒸馏 助色团 紫外分光光度法

中药止淋胶囊是由牡丹、爵床等多味中药组成,具有补脾益肾、解毒利湿、活血化瘀的作用,经过 30 多年临床应用于慢性肾盂肾炎治疗,证明疗效确切,但其质量标准未见报道。笔者研究发现,用原工艺生产的成药已不含牡丹酚(paeonol)。改进工艺后生产的样品检出了牡丹酚<sup>[1~6]</sup>,为工艺改进提供了实验数据,为该药建立了质控标准,结果准确可靠。

### 1 仪器和试剂

岛津 UV-240 紫外分光光度计;牡丹酚标准品(中国药品生物制品检定所),止淋胶囊、牡丹皮及阴性对照品(天津中医学院第二

附属医院);所用试剂均为分析纯。

### 2 实验方法

2.1 供试液的制备:取止淋胶囊 5 粒,去胶囊皮后精密称定内药 1.3600 g 以水蒸气蒸馏,收集馏出液 450 mL,置于 500 mL 容量瓶中,精密移取 5 mol/L NaOH 溶液 10 mL,加水稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液;以同样方法制备改进工艺后的样品、阳性及阴性对照液。

牡丹酚标准品溶液制备:精称牡丹酚标准品 0.0150 g,用 0.1 mol/L NaOH 溶液定容 100 mL,摇匀,使之成为 0.15 mg/mL 溶液,作为标准溶液。

\* Address: Li Huifen, College of Pharmacy, Tianjin University of Medical Sciences, Tianjin