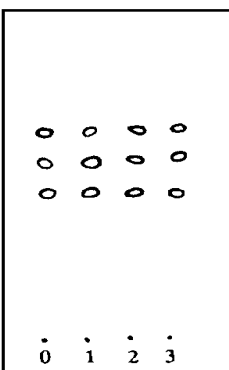


3.1 测定波长的选择: 取芦丁对照品及样品进行吸收波长的扫描,提示在波长 500 nm 处为最大吸收,故确定最大吸收波长为 500 nm

3.2 测定条件的选择

3.2.1 提取方法的确定: 采用甲醇作为提取溶剂,选用 3 种提取方法(超声处理、索氏提取器提取及回流提取)进行试验,结果提示超声提取 1 h 提取不完全,索氏提取器提取时间太长,加热回流提取 2 h 较好。

3.3 线性关系考察: 精密称取在 105℃ 减压干燥至恒重的芦丁对照品 200 mg,加甲醇配成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液,精密吸取对照品溶液 (0.200 3 mg/mL) 0.0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mL, 分别置 25 mL 量瓶中,各加水至 6 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,使混匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1 mL,使混匀,放置 6 min,加氢氧化钠试液 10 mL,再加水至刻度,摇匀,放置 15 min,照分光光度法(中华人民共和国药典 1995 年版一部附录 V B),在 500 nm 的波长处测定吸光度,分别为 0.088, 0.165, 0.257, 0.331, 0.402, 0.480,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。计算回归方程 $Y = 0.79X + 0.01356$, $r = 0.9994$,表明芦丁在 0.2~1.2 mg 范围内呈良好的线性关系



0 对照药材
1 夏枯草 (960103)
2 夏枯草 (960104)
3 夏枯草 (960105)
图 1 样品薄层图

3.4 稳定性试验: 精密量取上述对照品溶液 3 mL,按 3.3 项下进行操作,间隔 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 min 进行吸光度测定,结果提示在 40 min 内测定均稳定可靠。

3.5 回收率试验: 采用加样回收法,取已知含量的夏枯草胶囊 6 份,其中 2 份不加对照品溶液,其余 4 份分别加芦丁对照液 2 mL,按质量标准进行测定。结果平均回收率 101.95%, RSD 0.67%。提示该方法精密度、重现性较好。

3.6 样品含量测定: 精密称定本品约 0.5 g,置 150 mL 圆底烧瓶中,精密加入甲醇 50 mL,精密称定重量,加热回流提取 2 h,放冷,精密称定,并补足甲醇损耗量,密塞,振摇,过滤,精密吸取续滤液 1 mL,置 25 mL 容量瓶中,照 3.3 项下的方法,自“加水至 6 mL”起依法测定吸光度,从标准曲线上读出供试品溶液中芦丁的重量 (mg),计算,见表 1

表 1 样品含量测定结果

批号	样品重 (g)	总黄酮含量 (mg/g)
960103	2.1233	12.79
960104	2.0082	12.54
960105	2.1210	12.37
960106	2.2015	12.04
960107	2.1274	12.89

4 讨论

4.1 采用薄层色谱法鉴别夏枯草,操作简便可行,准确度高。

4.2 总黄酮的含量在 1.20%~1.29% 之间,考虑到药材产地、采收时间都会影响含量,故确定总黄酮以芦丁 ($C_{27}H_{30}O_{16}$) 计,含量不低于 1.0%。

(1999-05-17 收稿)

TAME 法测定金龙消栓合剂中蚓激酶单位效价

吉林省中医中药研究院 (长春 130021)
长春市儿童医院药剂科

焦连庆 于敏 黄青 张志伟
何亚全

金龙消栓合剂由地龙、川芎等 5 味中药组成,具有化痰熄风,祛瘀通络之功,用于中风引起的半身不遂,口舌歪斜等症。地龙为其主药,其有效成分为纤溶蛋白水解酶。为了控制该药品内在质量,我们对其酶活性进行效价测定。蚓激酶的效价测定有对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯法 (TAME)、尿激酶琼脂糖纤维蛋白平板法及组织纤溶酶原激活剂琼脂纤维蛋白平板法^[1]。我们采用 TAME 法,并对其进行了—

些改变,以期对中药复方中酶活力的效价测定也能够运用。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂: 紫外光谱分光光度仪 U-3400 (日本),超级恒温水浴 (重庆试验设备厂 CS50 型),金龙消栓合剂 (辽宁微生物研究所制药厂);试剂均为 AR 级。

1.2 对照品溶液制备: 精密量取甲醇 0.1 mL,置

25 mL量瓶中,加磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH 8.0,以下同)至刻度,摇匀。取此液 0.2 mL,置 5 mL量瓶中,以磷酸盐缓冲液稀释至刻度,摇匀。

1.3 供试品溶液的制备:精密量取本品 2.0 mL(相当于 0.24 g生药),置 250 mL量瓶中,加入磷酸缓冲液稀释至刻度,摇匀。

1.4 测定方法

1.4.1 线性关系考查:取试管 12支,6管分别加入磷酸盐缓冲液(mL) 0.30, 0.25, 0.20, 0.15, 0.10, 0.05, 1支空白管不加,其余分别加入标准甲醇液(mL) 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25,各管加入 15%三氯醋酸溶液 0.2 mL, 2%高锰酸钾溶液 0.1 mL,振摇 90 s,各管加入 10%无水亚硫酸钠溶液 0.1 mL和 0.4%变色酸 67% (g/g)硫酸溶液 40 mL,然后放入沸水浴煮沸 25 min,取出置冷水浴中 10 min,照分光光度法^[2]在 575 nm波长处测定吸光度。

以甲醇量为横坐标,以吸光度为纵坐标绘制标准曲线,回归方程 $Y = 2.242 \times 10^{-3} + 0.5074X$, $r = 0.9989$, $Y = -3.762 \times 10^{-3} + 0.5206X$, $r = 0.9997$

吸收波长的确定按 1.4测定方法,对照品甲醇供试品的最大吸收波长分别为 575 nm和 571.4 nm,去除地龙的阴性对照品在 401 nm有微弱吸收,故选择 575 nm为测定波长。

1.4.2 取具塞试管 6支,2支空白管,4支样品管,于各管中加入对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯 0.1 mL,磷酸盐缓冲液 0.1 mL,再于空白管中加入 15%三氯醋酸溶液 0.2 mL,其它管中各加供试品溶液 0.1 mL,供试品管中各加 15%三氯醋酸溶液 0.2 mL,以下步骤同标准曲线,用测定的样品吸光度,在标准曲线上查出甲醇的量,依照下面公式计算出供试品

中的 TAME单位效价。

$$\text{TAME单位 毫升} = \frac{\text{甲醇摩尔数}}{\text{供试品取量} \times \text{时间}}$$

1.5 稳定性试验:同一供试品溶液,依上述测定方法每隔 10 min测定一次,共测定 1 h,结果表明供试品溶液在 1 h内稳定性良好。

1.6 重现性试验:同一批样品,依照上述方法重复测定 5次,其 TAME(单位效价 毫升) $X = 8.57$, $RSD = 4.42\%$ 。

1.7 回收率试验:采用加样回收法,按上述条件操作,回收率为 97.76%, $RSD = 1.82\%$ ($n = 5$)。

1.8 样品测定:分别精密吸取供试品溶液,按上述方法测定,计算样品的 TAME单位效价。结果 5批样品每 1 mL TAME单位效价为 8.51, 8.36, 9.28, 9.38, 8.85

2 讨论

2.1 本法对卫生部蚓激酶效价测定 TAME法做了部分修改,以适应中药复方中地龙中蚓激酶的效价测定。卫生部标准中 67%硫酸溶液单位为 g/mL,在标准曲线制备及样品测定中吸收值较高(吸光度超过 1),而且样品的空白值也相当高。本法将 67%硫酸溶液改为 67% (g/g),获得了理想的结果。样品空白值 0.005水平,可忽略不计。

2.2 TAME单位效价测定方法为双标准曲线,曲线 r 值应大于 0.9990,以 r 值大者为最佳选择。

2.3 TAME法用于中药复方中蚓激酶的效价测定未见报道,本文结果表明中药复方中蚓激酶的效价测定用 TAME法是可行的。

参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部标准(试行)WS-302(X-257)-95
- 2 中华人民共和国药典·一部,1995年版附录V

(1999-06-14收稿)

新 书 介 绍

由韩国柱教授主编,苏成业、高广猷教授主审的科技专著《中草药药代动力学》近期已由中国医药科技出版社出版。

全书共 22章,71万余字。总论论述了中草药药代动力学的有关理论和方法,各论按活性成分、组分、单方和复方系统总结了国内外有关中草药药代动力学的研究成果。针对中草药药代动力学研究之复杂性和高难度,本书提出了一些新的观点和思路,已较成熟或探索性的研究方法以及存在的问题,做到了有分析地“兼容并蓄”和“百家争鸣”。是迄今为止国内外第一部有关中草药药代动力学的专著,是从事中草药科研、教学、生产特别是从事中西医结合的工作人员的一部很有价值的科技参考书。将对中草药药代动力学的进一步发展起积极推动作用。

本书主编韩国柱,男,57岁,现任大连医科大学药理学教授,中国药理学会药物代谢专业委员会委员,《中草药》杂志编委。从事中草药药代动力学和抗栓药理学研究 20余年,在国内外杂志发表论文 50余篇,主编、主审及参编著作 7部。

本书为精装本,定价 66元,由各地新华书店销售,亦可与中国医药科技出版社发行部(北京文慧园北路甲 22号)联系购买。