

表 2 样品多糖含量测定结果

项目	1	2	3
W (mg)	100.0	100.6	100.9
C (mg/mL)	0.0218	0.0223	0.0224
含量 (%)	10.95	11.14	11.16
平均含量 (%)		11.083	
RSD (%)		1.046	

5份,置 50 mL容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。精密吸取每份溶液 2.0 mL,同标准曲线方法操作,测定吸光度,结果为 0.369, RSD= 0.75% (n= 5)。

2.7 稳定性实验:取样品溶液,按样品测定方法操作,每隔 0.5 h测定 1次吸光度。结果表明,在波长不变的情况下,2 h内测定值不变。结果见表 3。

表 3 稳定性试验结果

t (h)	0	0.5	1	1.5	2
A	0.376	0.377	0.376	0.376	0.376

2.8 加样回收率测定:精密称取样品粉末 0.1 g,精制蕨麻多糖 10 mg,置同一烧瓶中,按样品液制备与含量测定方法操作。计算回收率,结果得平均回收率

为 97.74%, RSD为 1.04% (n= 3,已乘换算因素)。

3 讨论与小结

本实验测定方法的原理是先用 80% 乙醇提取以除去单糖、低聚糖、苷类及其他干扰性成分,再用水提取多糖类成分。多糖类在硫酸的作用下,先水解成单糖分子,并迅速脱水生成糖醛衍生物,然后和苯酚合成有色化合物,以比色法测定其含量。结果表明,蕨麻中多糖含量为 11.083%。由于蕨麻中含淀粉较多,水提液浓度不宜过高,以免冷却后成冻状。萃取时药液易乳化,振摇时应避免用力。

参考文献:

- [1] 董立莎,冯英,冷冷,等. 黔产党参多糖的含量测定 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20(6): 329-330.
- [2] 李满飞,徐国钧,平田义正,等. 中药石斛类多糖的含量测定 [J]. 中草药, 1990, 21(10): 10-12.
- [3] 钟方晓,彭广芳,李贵海. 山东太子参多糖含量对质量的影响 [J]. 中草药, 1997, 28(7): 428-430.
- [4] 李俐,堵年生,韩爱玲. 肉苁蓉多糖的提取及含量测定 [J]. 中国中药杂志, 1997, 增刊: 163-164.
- [5] 林颖,吴毓敏,吴雯,等. 天然产物中的糖含量测定方法正确性的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 1996, 8(3): 5-9.

伊贝母不同组织培养物中总生物碱和西贝母碱含量比较

翟西峰¹,李大龙²,冯永辉¹,孙文基²

(1. 陕西医学高等专科学校,陕西 西安 710068; 2. 西北大学,陕西 西安 710069)

摘要:目的 测定伊贝母外植体培养获得的愈伤组织和芽中总生物碱和西贝母碱的含量。方法 采用酸性染料比色法和薄层扫描法分别测定。结果 在 MS N₆ ER培养基中生长 22 d,芽中两者含量明显高于愈伤组织。结论 两者之间有显著差异 (P < 0.01),其中 ER培养基中两者含量最高。

关键词:伊贝母;组织培养;西贝母碱

中图分类号:R927.2 文献标识码:B 文章编号:0253-2670(2001)01-0031-03

Comparison of content between total alkaloid and sipeimine in tissue culture of bulb of *Fritillaria pallidiflora*

ZHAI Xi-feng¹, LI Da-long², FENG Yong-hui¹, SUN Wen-ji²

(1. Shanxi Junior College of Medicine, Xi'an Shanxi 710068, China; 2. Northwest University, Xi'an Shanxi 710069, China)

Key words bulb of *Fritillaria pallidiflora* Schrenk; tissue culture; sipeimine

伊犁贝母 *Fritillaria pallidiflora* Schrenk 是名贵药材伊贝母的主要植物来源之一,有清肺、化痰和散结之功效,为止咳化痰之要药。伊犁贝母产于新疆北部(伊宁、绥定和霍城等地),生于海拔 1 300~

1 700 m 的林下或草坡中^[1]。由于长期过度采挖,资源日趋减少并面临枯竭;伊贝母人工种植耗种量大,生长周期长,产量低,因而药源紧缺。

组织培养可望作为开发名贵中药材资源的一种

收稿日期:2000-01-24

作者简介:翟西峰(1962-),男,陕西蓝田人,学士,讲师,1984年毕业于西安医学院药理学系(现为西安交大药学院)。1984年至今在陕西医学高等专科学校药理学系任教,先后从事了“生药学”、“药剂学”等课程的教学工作,近年来在省级以上学术刊物发表论文 7 篇,现主要从事中、西药剂制备工艺、质量标准及中药现代化方面研究。

有效手段,我们对伊贝母外殖体培养获得的愈伤组织和芽,分别在 MS N₆ ER培养基中生长,22 d后测定总生物碱和西贝母碱含量,目的在于找出伊贝母最佳组织培养条件,为工业化生产伊贝母药材及其有效成分作基础研究。

1 仪器和试剂

Sartorius全自动分析天平,日立 U-2001紫外分光光度计,岛津 CS-9300型双波长薄层扫描仪, YCQ-300超声波清洗器,薄层层析用硅胶 G(青岛海洋化工厂),其它试剂均为分析纯 西贝母碱对照品购自中国药品生物制品检定所。

2 实验方法与结果

2.1 总生物碱含量测定^[1]:采用文献方法,以酸性染料比色法测定总生物碱含量 溴麝香草酚蓝为染料,最大吸收波长 410 nm,以西贝母碱计算总生物碱含量。

2.1.1 标准曲线绘制:精密称定西贝母碱对照品 20.00 mg于 100 mL容量瓶中,加氯仿至刻度,制成每 1 mL含西贝母碱 0.20 mg的标准液 精密吸取此标准液 10 mL于 50 mL容量瓶中,加氯仿至刻度,制成每 1 mL含西贝母碱 0.040 mL的标准液,精密吸取此标准液 1, 2, 2.5, 5, 10 mL,加氯仿至 10 mL,制成每 1 mL含西贝母碱 0.004, 0.008, 0.010, 0.020, 0.040 mg的溶液,加 0.001 mol/L溴麝香草酚蓝溶液 2 mL,振摇 1 min,放置 10 min,分层后分取氯仿液,在 410 nm处测吸光度,以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标作图,在 0.004~ 0.040 mg/mL范围内线性关系好,以浓度对吸光度回归,得回归方程式: $Y = 51.919X - 0.0012, r = 0.9981$

2.1.2 样品测定及结果:精密称取干燥至恒重的组织培养物干品粗粉 2 g,置 50 mL具塞瓶中,以 2 mL氨水(1:1)湿润后,加 25 mL混合溶剂(乙醚-氯仿-乙醇=25:8:2.5),超声提取 30 min,放置 24 h 精密吸取上清液 15 mL,置蒸发皿中,水浴蒸干,加氯仿溶解,定容至 10 mL 精密吸取氯仿液 1 (0.5) mL,氯仿 9(9.5) mL, 0.001 mol/L溴麝香草酚蓝溶液 2 mL,同标准曲线法操作,分取氯仿层测吸光度,计算含量,结果见表 1

2.2 薄层扫描法测定西贝母碱含量^[2]

2.2.1 色谱条件:硅胶 G-CMC-Na板(厚 0.3 mm, 105℃活化 1h);展开剂:醋酸乙酯-甲醇-浓氨试液(20:1.5:1);显色剂:改良碘化铋钾

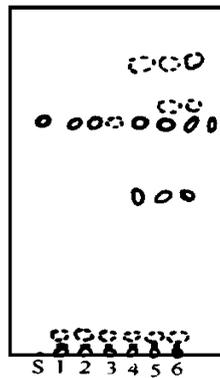
2.2.2 对照品溶液制备:精密称定西贝母碱对照品 5.06 mg于 10 mL容量瓶中,加无水乙醇至刻度,制成浓度为 0.506 mg/mL的标准品溶液

2.2.3 供试品溶液制备:精密吸取上述总碱氯仿液 5 mL,蒸干后准确加入无水乙醇 1 mL溶解,作供试品溶液

2.2.4 扫描条件:双波长锯齿法扫描,λ_s= 505 nm, λ_R= 600 nm, S_X= 3,步进距离 0.1 mm

2.2.5 标准曲线制备:取西贝母碱对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12 μL于薄层板上,按上述条件展开,测定斑点面积,以对照品微克数为横坐标,斑点面积为纵坐标,得一直线,线性范围 1.012~ 6.072 μg,回归方程 $Y = 22393.6X + 617.2, r = 0.9998$

2.2.6 稳定性试验:将显色后薄层板上西贝母碱斑点按上述条件进行扫描,表明显色后 6 h内稳定



1-MS 2-N₆ 3-ER为 3种培养基中愈伤组织 4-MS' 5-N' 6-ER为 3种培养基中芽

2.2.7 加样回收试验:于薄层板上点 10 μL已知含量样品溶液,再各加入不同量的对照品溶液,展开显色后扫描测定,4份样品回收率分别为 95.0%、98.1%、98.7%和 97.3%,平均回收率 97.3%。

2.2.8 样品测定及结果:准确吸取供试品溶液和对照品溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G薄层板上,展开,取出晾干,均匀喷以薄层显色用改良碘化铋钾试液,待斑点清楚后(橙红色),用干净玻璃板盖其表面,用透明胶纸将玻璃板四周封严,结果见图 1 以前

述条件扫描测定,根据峰面积外标法计算含量,结果见表 1

2.3 取愈伤组织和芽的 MS培养基各 10 g,加甲醇

表 1 不同培养基、培养物中总生物碱和西贝母碱含量

Table with 7 columns: 组织, 培养基, MS, N6, ER, MS, N6, ER. Rows show total alkaloid and anisodamine content percentages for tissues and buds.

20 mL超声提取,水浴蒸干,加无水乙醇 1 mL溶

解,将其点于硅胶 G薄层板,按前述方法展开、显

色,未见生物碱斑点;给剩余供试品液中加入改良碘化铋钾试液 2滴,均显阴性,表明培养基中无生物碱,生物碱仅存在于培养物组织中。

3 讨论

3.1 对愈伤组织和芽两种培养物中总生物碱和西贝母碱进行分析(见表 2),结果表明,芽中总生物碱

表 2 愈伤组织与芽中总生物碱和西贝母碱含量比较

部位	总生物碱 (% $\bar{x} \pm s$)	西贝母碱 (% $\bar{x} \pm s$)
愈伤组织	0.073 \pm 0.009	0.007 \pm 0.005
芽	0.179 \pm 0.024*	0.058 \pm 0.005*

与愈伤组织比较:** $P < 0.01$

碱和西贝母碱含量明显高于愈伤组织,两者之间有极显著差异 ($P < 0.01$),其中 ER培养基中两者含

量最高。芽中总生物碱和西贝母碱含量比药材中两者含量均高(伊贝母鳞茎中总生物碱和西贝母碱含量分别为 0.14% 和 0.04%^[2]),有一定的开发价值。

3.2 培养基中无生物碱,与高山林等人在暗紫贝母培养中所得结论一致^[3]。这对培养方法有选择性意义,如固定化培养、连续发酵培养在技术上存在限制,同时对一般工艺亦有参考价值。

参考文献:

- [1] 王文杰. 贝母 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994.
- [2] 沙振方, 孙文基, 范伟, 等. 几种贝母中总生物碱和西贝母素的含量测定 [J]. 中草药, 1988, 11(1): 35-37.
- [3] 高山林, 朱丹妮, 蔡朝辉, 等. 暗紫贝母鳞茎器官培养生长特征和生物碱累积研究 [J]. 中国药科大学学报, 1992, 23(3): 144-147.

三波长分光光度法测定牙痛一粒丸中脂蟾毒配基的含量

宋宝鹏¹, 王志光²

(1. 鸡西市药品检验所, 黑龙江 鸡西 158100; 2. 鸡西市人民医院药剂科, 黑龙江 鸡西 158100)

摘要: 目的 测定牙痛一粒丸中脂蟾毒配基的含量。方法 利用三波长分光光度法。结果 对样品未经分离, 直接测定, 方法的平均回收率为 98.7%, RSD 为 0.83%。结论 三波长分光光度法可作为该药质量控制指标之一。

关键词: 三波长分光光度法; 脂蟾毒配基; 牙痛一粒丸

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)01-0033-02

Determination of content of resibufogenin in YATONG YILI PILL by tri-wavelength spectrophotometry

SONG Bao-peng¹, WANG Zhi-guang²

(1. Jixi Institute for Drug Control, Jixi Heilongjiang 158100, China; 2. Department of Pharmacy, Jixi People's Hospital, Jixi Heilongjiang 158100, China)

Key words tri-wavelength spectrophotometry; resibufogenin; YATONG YILI PILL

牙痛一粒丸由蟾酥、朱砂、雄黄和甘草 4味药材制备而成,是用于治疗风火牙痛、牙龈肿痛和龋齿引起肿痛的常用中成药。1995年版《中华人民共和国药典》一部仅对蟾酥等药材作薄层定性鉴别,无定量控制指标。本文利用三波长分光光度法,测定蟾酥中脂蟾毒配基的含量,作为控制该药质量的指标之一。

1 仪器与药品

岛津 VU-265自动记录分光光度计(日本)、SP5200超声清洗器、脂蟾毒配基(中国药品生物制品检定所),试剂均为分析纯。牙痛一粒丸及原料药均为市售品。药材经鉴定均为正品。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的配制:精密称定样品细粉 0.5 g,加石油醚(60℃~90℃) 20 mL,超声提取 10 min,离心,残渣加氯仿 30 mL,超声提取 50 min,过滤,残渣用氯仿 20 mL冲洗,合并滤液,蒸干,残渣用乙醇定容至 100 mL后,精取 2.5 mL用乙醇定容至 25 mL,得供试品溶液。

2.2 空白对照液的制备:精密称取按药典处方配制的样品细粉 0.5 g,加石油醚(60℃~90℃) 20 mL,超声提取 10 min,离心,残渣加氯仿 30 mL,超声提取 50 min,过滤,残渣用氯仿 20 mL冲洗,合并滤

收稿日期: 2000-05-18

作者简介: 宋宝鹏(1967-),男,辽宁东沟人,主管药师,理学学士学位,主要进行中药质量标准研究。Tel: (0467) 2364391

1990年毕业于黑龙江中医学院,1990-至今在黑龙江鸡西市药品检验