

胃得安片用辐照灭菌探讨

南京军区福州总医院药厂

蔡俊涛 王坚英 林 懿

上海中医学院中药系

徐连英等

关于辐照灭菌法在国内外已有大量报道,大量研究证明 2.5×10^6 rad灭菌等于在高压灭菌器内 120°C 灭菌20分钟,所以确定 2.5×10^6 rad为最大辐射剂量⁽¹⁾。美国药典XX/NF XV版、英国药典1980年版也把辐射灭菌剂量定为 2.5×10^6 rad。由于中成药灭菌效果显著,不影响外观、无毒、不影响生长发育、遗传完全正常、不产生癌肿、畸形等问题⁽²⁾。因此说辐照灭菌用于中成药是一个良好的方法。

我厂生产的胃得安片为明朝御方,含有多种中药材,其中一些用其原粉。选用传统的方法灭菌达到规定的“卫生标准”是相当困难的,因此,我们在80年代初采用辐照灭菌法对胃得安片做了大量试验,其灭菌率为99.5%,对杂菌、霉菌等灭菌也均获得满意的结果。

实验用品及仪器

1. 高压液相色谱仪: Pyc Cmicam Lc-3型、英国。
2. 日本岛津UV-240 紫外分光光度计。
3. 日本岛津UV-365 紫外分光光度计。
4. 紫外分析仪(254nm), 上海科艺光学仪器厂。
5. 薄层层析用硅胶H, 青岛海洋化工厂。
6. 薄层层析用硅胶 GF-254, 上海化学试剂采购供应站。

实验方法与结果

一、部分中药原料试验:

(一) 薄层定性:

1. 川芎: 取辐照前后的川芎按蒸馏法⁽³⁾提取并配成水液,分别点于同一薄板上,展开剂为石油醚:醋酸乙酯=2:1,显色剂为碘化铋钾溶液喷雾,显示两个菊黄色斑点,而且上面的斑点有荧光。

2. 黄芩: 取辐照前后黄芩分别按加热提取,酸化法⁽⁴⁾提取黄芩粗制品。分别点于同一块薄板上,展开剂为乙酸乙酯:丁酮:甲酸:水=5:3:1:1,显色剂为1%三氯化铝液喷雾⁽⁵⁾。显示黄色斑点。

3. 黄柏: 取辐照前后的黄柏分别用硫酸法⁽⁶⁾提取粗制品,分别点于硅胶GF-254薄板上,展开剂正丁醇:冰醋酸:水=7:1:2,在紫外分析仪下观察到一紫色斑点。

上述三种中药材辐照前后样品,经薄层定性分析,其结果完全一致。

(二) 仪器扫描:

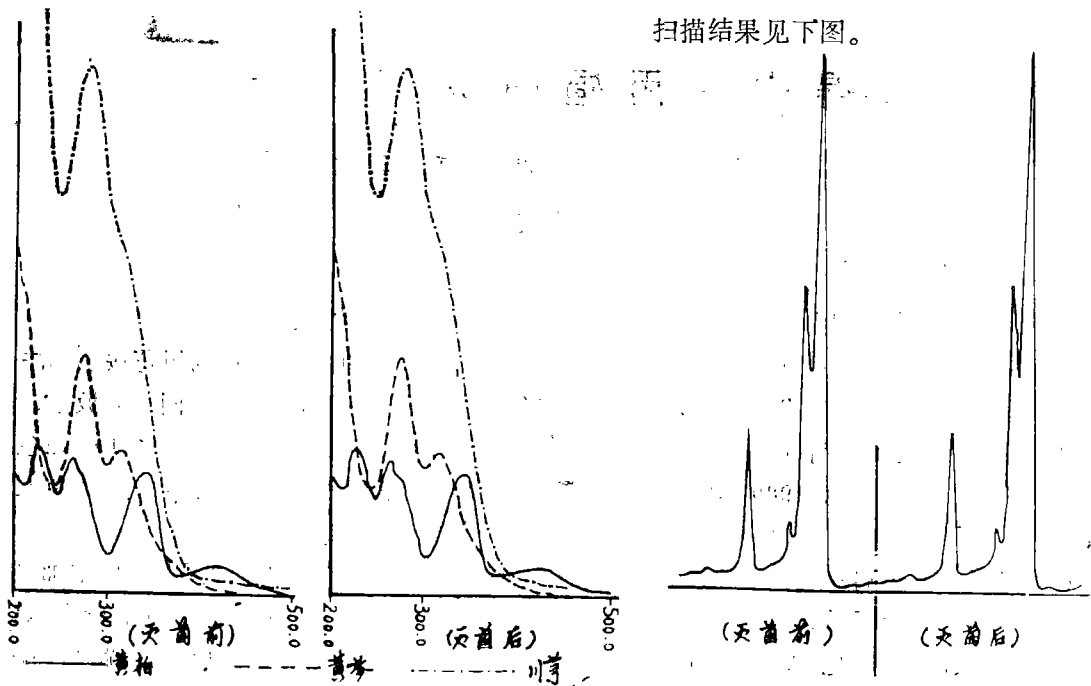
将上述辐照前后的川芎、黄芩和黄柏提取液以同一方法稀释,经岛津-240紫外分光光度计扫描。见图4。与参考资料中川芎中四甲基吡嗪水溶液在295nm有最大吸收⁽⁷⁾基本一致。黄芩液在273、275、276和279nm有吸收⁽⁸⁾基本一致。从图谱看上述三种药材辐照前后无显著差异。

二、胃得安片的试验

(一) 薄层定性

1. 灭菌前后片研粉,各称取5克,分别加入石油醚冷浸一天,过滤,滤液相同量点于同一薄板上,展开剂石油醚:乙酸乙酯=8:2。茴香醛-浓硫酸试剂喷雾显色。

扫描结果见下图。



2. 灭菌前后样品的氯仿提取液，等量点于同一薄板上，展开剂苯：乙酸乙酯：氯仿=8：2：5。挥发去溶剂，置紫外分析仪365nm观察荧光斑点后，再用碘蒸气显色。

3. 灭菌前后的样品甲醇提取液，相同量点于同一薄板上，展开剂氯仿：甲醇：氨水=7：1：0.5，挥去溶剂，用改良的碘化铋钾液喷雾显色。

4. 灭菌前后的样品乙醚提取液，等量点于同一薄板上，展开剂正丁烷：乙酸乙酯=85：15，挥去溶剂，置紫外分析仪下观察荧光斑点。

胃得安片辐照灭菌前后，经薄层定性分析，其结果完全一致。

(二) 高压液相色谱仪扫描：

取灭菌前后胃得安片，分别加水 2ml 提取，过滤，取清液备用。

分析条件：色谱柱：YWG—C₁₈，5×200mm

移动相：80%甲醇/水

检测器：紫外254nm

流速：1 ml/分。

纸速：8 mm/分

(三) 薄层层析—比色法定量：

1. 样品液的配制：取灭菌前后样品压碎，分别精密称取10.00克，各加入甲醇 20 ml，密塞、冷浸24小时，过滤，滤液置10ml容量瓶中，密塞备用。

2. 薄层层析—紫外测定：

取20×20薄层层析板，用微量注射器分别吸取灭菌前后甲醇样品液10ml，间隔2cm点于层析板上，同样点盐酸小檗碱样品作对照，以正丁醇：冰醋酸：水=6：1.5：25展开，俟溶剂前沿离薄层顶端约1cm时取出薄层，室温挥去溶剂，置紫外灯下观察，划出与小檗碱对照斑点颜色和位置相当的斑点及大小与两斑点相当的空白硅胶范围，用铲子刮下各斑点内的吸附剂，置具塞玻璃管中，加1%盐酸甲醇液振摇提取1小时，取上清液，以空白硅胶G的盐酸甲醇液作空白，于UV-365至358nm处测A值，结果见下表。

	批 号 8 5 0 6 2 6		批 号 8 5 0 6 2 7	
	灭 菌 前 A 值	灭 菌 后 A 值	灭 菌 前 A 值	灭 菌 后 A 值
1	0.126	0.112	0.107	0.114
2	0.116	0.127	0.117	0.120
3	0.121	0.122	0.106	0.111
4	0.114	0.110	0.110	0.115
5	0.116	0.120	0.120	0.116
t 检 验 P>0.05			t 检 验 P>0.05	

三、胃得安片抗应激性溃疡药理实验

1. 实验动物: 大白鼠。

2. 实验用药: 胃得安片, 批号850626和850627。各分为辐照前后。

3. 实验方法: 将大白鼠四肢和门齿固定在解剖板上, 25℃水浸胸部和剑突深度。连续20小时后处死, 将胃摘出, 注入10ml生理盐水使之膨胀, 放入0.5%福尔马林液中浸泡5分钟, 沿大弯切开, 观察胃壁。测溃疡直径, 将其总和作为每个动物的溃疡指数。上述步骤均在给药后进行。

4. 实验结果:

批 号: A 850626 B 850626

溃疡指数: 33.67±2.6 31.67±4.16

P 值: <0.05 <0.05

A 850627 B 850627 NS

26.33±4.87 33.00±5.52 61.83±7.10

<0.05 <0.05

注: A为灭菌前; B为灭菌后。对照组为生理盐水。

5. 小结: 胃得安片具有抗应激性溃疡作用, ($P < 0.05$), 而且经辐射灭菌前后比较二者无明显差异 ($P < 0.05$)。

结 论

无论是胃得安片, 还是部分中药材, 经薄层层析、仪器分析和药理实验方法等, 对其成分在薄板上斑点颜色、含量、 R_f 值和扫描图谱位置显示辐照灭菌前后样品都基本一致。药理实验证明辐照灭菌对药效也无明显差异。所以说辐照灭菌应用于中药材和成药确实是可行的一种方法。

参 考 文 献

- [1] 南京药学院药剂教研组编著: 药剂学, 第二版, 人民卫生出版社, 1985: 247
- [2] 同上 250
- [3] 总后勤部卫生部编写组: 中草药制剂汇编 1981: 379
- [4] 中国科学院上海药物研究所编著: 中草药有效成分提取和分离(二), 上海科学技术出版社, 1981: 327
- [5] “中草药杂志” 19(6) 1983
- [6] 同4, P.271
- [7] 沙世炎、徐礼桑等编著“中草药有效成分分析法”(上) P.33 1983, 人民卫生出版社。
- [8] 同上 P.211