

参 考 文 献

- (1) 《氯氮平》，(说明书)，上海十九制药厂。
 - (2) A.H.Stead, et. al., Analyst, 107, 1106(1982).
- (收稿日期: 1988年7月11日)

Determination of Clozapine in Blood by HPLC Wang Chinghai, Zhang Shuwang and Zhou Liangmo Dalian Institute of Chemical Physics, Academia

Sinica,

A novel medicine, clozapine, is widely used to cure mental illness. 0.1µg/ml of clozapine could be easily determined by using 1ml sample. In this work, the extraction of clozapine and the selection of developer were investigated. By means of the calibration curve method the concentrations of clozapine in blood samples from 3 patients were determined.

薄层色谱法同时分析植物材料中的维生素B₁、B₂、B₆

臧荣春 马志超

(浙江农业大学实验中心, 杭州)

随着野生资源的开发利用和营养食品的广泛研究, 提供多种维生素的快速、简便、高灵敏度的同时分析方法日益重要。液相色谱法有效地同时测定过医用多维片中的多种水溶性维生素(1, 2), 还只报道过谷物和强化食品中 VB₁、VB₂ 的同时分析(3, 4)。薄层色谱法曾用于多维医药制品中水溶性维生素的分离、检测(5), 但灵敏度不高, 未见同时测定过天然材料中的微量水溶性维生素。本文采用胶束增溶技术, 在薄层色谱法中引入高灵敏的荧光分析法, 同时分析了植物材料中的 VB₁、VB₂ 和 VB₆, 检出限分别达 0.01µg 和 0.04µg。

实 验 部 分

(一) 仪器和试剂 1. CS-930 双波长薄层扫描仪(日本岛津公司); 在 20cm×20cm 的清洁玻璃板上, 用 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液-硅胶 G (青岛海洋化工厂) (3:1, V/W) 制成约 0.35mm 厚的 CMC 硅胶 G 薄层板, 自然干燥, 点样前在 110℃ 下活化 1 小时。2. 分析纯的正丁醇, 氯仿, 丙酮, 乙醇等溶剂, 经重蒸; 生化试剂 VB₁、VB₂ (上海试剂二厂), VB₆ (上海试剂站分装厂); 按 AOAC 法(6) 配制氧化剂和维生素贮备液, 再配成约含 VB₁、VB₂ 5µg/ml, VB₆ 12µg/ml 的混合标准液。

(二) 实验条件的选择 1. 正丁醇提取液的组成: 在水饱和正丁醇中加入少量 6% 的 Triton X-100 乙醇溶液, 萃取 VB₁、VB₂ 和 VB₆ 的效率增加, 见图 1。实验表明, 提取液的组成以水饱和正丁醇-6% Triton X-100 乙醇溶液 (23:2, V/V) 最佳。2. 薄层色谱展开剂: 试用文献(5) 的展开剂并改变

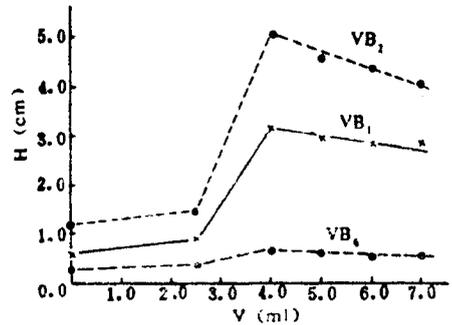


图 1 相同浓度的维生素标准溶液中维生素检出量和表面活性剂用量的关系

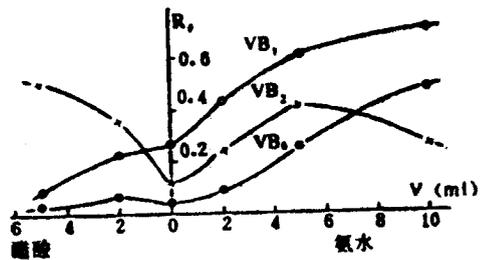


图 2 在氯仿-乙醇-丙酮基本展开剂中加不同体积 V 的氨水 (或醋酸) 时三种维生素的 R_f 值

用量比, 分离效果不好。采用氯仿-乙醇-丙酮 (20:20:20V/V) 基本展开剂, 加入不同体积的氨水 (或醋酸) 作展开剂, 三种维生素的 R_f 值如图 2 变化。考虑到样品溶液中的干扰物质和在碱性介质中维生素易分解的特性, 选定氯仿-乙醇-丙酮-氨水 (20:20:20:10V/V) 为薄层色谱展开剂。

(三) 薄层色谱测定 1. 色谱操作条件: 狭缝宽度 1.2mm×6mm; 线性扫描; 线性化器: SX=3, 记

录峰高或峰面积; 荧光检测: 激发波长 330nm, 发射荧光通过2#滤波器。10μl维生素标样溶液在CMC硅胶G板上点样展开后, 用不同的激发波长扫描, 峰高记录于表1。由于这些维生素受光照后分解迅速,

表1 10μl维生素标样在不同激发波长下检出的峰高(cm)

	激发波长 (nm)						
	300	310	330	340	350	360	365
VB ₁	1.6	1.8	3.5	4.1	6.3	6.9	6.8
VB ₂	2.6	2.9	4.3	5.8	7.8	8.1	8.0
VB ₆	1.5	2.1	2.2	1.2	0.41	0.12	0.10

表2 三种样品中维生素B₁、B₂、B₆的分析结果

样 品	拐 枣 果 实			花 粉 原 团			胡 萝 卜 食 品		
	VB ₁	VB ₂	VB ₆	VB ₁	VB ₂	VB ₆	VB ₁	VB ₂	VB ₆
维生素测定值*(mg/100g)	0.048	1.59	1.03	0.0112	0.0203	0.0631	0.0209	1.66	1.34
标准偏差×10 ⁻²	0.55	6.3	8.7	0.42	0.71	0.93	0.16	3.3	3.9
回收率(%)	88.7	86.4	85.1	86.5	84.1	81.7	87.9	87.2	84.6

* 拐枣重复9次, 其余重复3次。

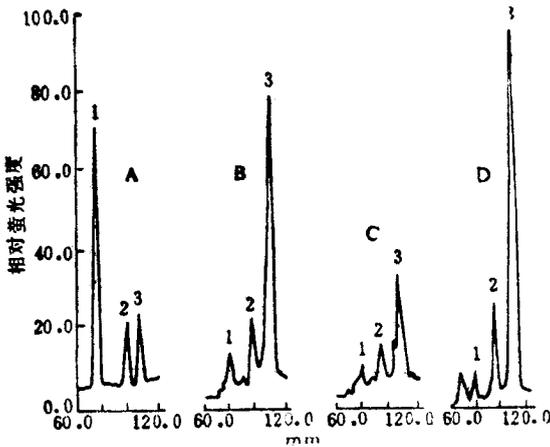


图3 VB₁、VB₂和VB₆的色谱图
 A. 标样: VB₁ 4.68μg/ml, VB₂ 4.96μg/ml, VB₆ 15.5μg/ml;
 B. 拐枣果实; C. 花粉原团; D. 胡萝卜强化食品。
 峰: 1. VB₁, 2. VB₆, 3. VB₂。

讨 论

(一) 三种维生素的回归方程是: $Y=1.846X-2.301, \gamma=0.992$ (VB₁); $Y=0.6354X+1.140, \gamma=0.994$ (VB₂); $Y=0.7521X+1.132, \gamma=0.986$ (VB₆)。

同一斑点的第二次扫描, 峰高显著降低。为简化操作, 激发波长选用330nm。对VB₁或VB₂含量甚微的样品, 可两次点样, 展开后分别在360nm和330nm的激发波长下扫描。2. 点样展开: 在CMC硅胶G板上, 以1.5cm的间隔用毛细管分别点10μl标样和样品溶液, 边点边用小风吹干, 在盛有展开剂且已饱和的层析缸中展开, 点样展开操作应避光, 溶剂前沿达12cm时, 取出吹干, 5分钟内扫描。3. 样品分析: 按文献(3)的步骤获磷酸化的样品溶液, 调节其pH为3.5~4.5, 用正丁醇提取液连续萃取三次。合并的有机相在60℃水浴上真空浓缩至体积小小于1ml, 用提取液定容为1ml, 供测定。三种样品的分析结果见表2, 其色谱图和标样的色谱图见图3。

(二) 水饱和正丁醇中加入少量表面活性剂, 可能生成了无数反胶束, 亲水基位于含水中心, 疏水部分指向有机溶剂, 增加了水和正丁醇的互溶性。被萃取的维生素部分溶解于丁醇, 部分分配在胶束的含水中心, 因而提取液的萃取效率提高了。

(三) 本法灵敏度高, 试剂普通, 回收率约为85%, 大薄层板一次可分析多个样品, 总时间较液相色谱法省。

参 考 文 献

- (1) R. L. Kirchmeier and R. P. Upton, J. Pharm. Sci., 67, 1444 (1978).
- (2) M. Amin and J. Reusch, J. Chromatogr., 390, 448 (1987).
- (3) J. K. Fellman, W. E. Artz, P. A. Tassinari, C. L. Cole and J. Augustin, J. Food Sci., 47, 2048 (1982).
- (4) P. Wimalasiri and R. B. H. Wills, J. Chromatogr., 318, 412 (1935).
- (5) E. Stahl, Ed., "Thin-Layer Chromatography", 2nd ed. Springer-Verlag, New York, P. 293, 1969.
- (6) S. Williams, "Official Methods of Analysis", 14th ed., Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, USA, P. 836~838, 871, 1984.

(收稿日期: 1988年4月19日)

Simultaneous Determination of Vitamins B₁, B₂ and B₆ in Plant Materials by Thin-Layer Chromatography
Zang Yongchun and Ma Zhichao Experimental Centre, Zhejiang Agricultural University

A thin-layer chromatographic method associated with highly sensitive fluorescence detection

makes it possible to accurately and simultaneously quantitate Vitamins B₁, B₂ and B₆ in plant materials. By adding a surfactant Triton X-100 into n-butyl alcohol extractant, the effectiveness for extracting Vitamins is increased.

人参、当归中微量氟的离子色谱分析

吕 伟 吴雄伟 朱宏元

(同济大学测试中心, 上海)

近年来, 对中药研究的报道大多数侧重于有机成份的分析, 而对其中无机成份研究较少。文献(1)报道了126种中药中微量元素的系统分析, 但未对人体必需的十四种微量元素之一——氟进行测定(2)。氟是人体必需的微量元素, 对牙齿及骨骼的形成和结构, 以及钙和磷的代谢均有重要的作用。维持人体内部微量元素平衡的主要来源是食物和药物, 为此本文选用人参和当归二种中药, 用离子色谱法测定其煎剂中的微量氟, 对探讨中药中微量成份的分布与疗效之间的关系有着一定的意义。人参和当归中微量氟的离子色谱分析尚未见文献报道, 本文提出了一种简便、快速、准确地测定中药煎剂中微量元素氟的可靠的分析方法。

实 验 部 分

(一) 仪器与试剂 1. 仪器: 美国 Dionex-2020i型离子色谱仪, 电导检测器, SP4270型积分仪。2. 试剂: 氟离子标准储备液用优级纯氟化钠配成1mg/ml, 储于聚乙烯塑料瓶中, 保存在冰箱中, 使用时稀释至所需浓度。淋洗液: 0.0007mol/L Na₂B₄O₇(AR级)水溶液。再生液: 0.025mol/L H₂SO₄(AR级)水溶液。去离子水电导值小于1.0μs。

(二) 样品制备 人参(吉林)、当归(甘肃)用去离子水洗净烘干, 分别称取5.00g和10.00g于500ml有柄磁坩埚中, 加250ml去离子水。盖上表面皿浸泡半小时, 煮沸后再小沸半小时, 趁热过滤, 滤液用去离子水定容于250ml容量瓶中, 冷藏备用。

(三) 色谱条件 前置柱: HPIG-AG3(3mm×50mm); 分离柱: HPIG-AS3(3mm×250mm);

阴离子微膜抑制器(AMMS); 淋洗液流速: 2.0ml/min; 进样量50μl; 电导检测器灵敏度: 10μs; 再生液流速: 1.4ml/min; SP4270积分仪纸速: 0.25cm/min; 温度补偿设置: 1.7; 峰高定量。

结 果 与 讨 论

(一) 淋洗液和分离柱的选择 由于中药成份比较复杂, 样品中可能含有弱保留的乙酸和甲酸, 容易与氟一起被其淋洗而干扰测定。为了使F⁻与乙酸和甲酸分离增加定性的可靠性, 我们分别用HPIG-AS3柱, AS4A柱和AS5柱三种分离柱和三种淋洗液(Na₂B₄O₇、NaHCO₃和Na₂CO₃/NaHCO₃)的不同浓度对氟、乙酸和甲酸的合成样进行了分离研究。实验结果表明用Na₂CO₃/NaHCO₃稀溶液作淋洗液在三种分离柱上分离F⁻、乙酸和甲酸时, 虽然保留时间较短, 但三者分离效果不佳, F⁻峰与乙酸峰几乎重叠, 严重影响F⁻的定性。用NaHCO₃稀溶液试验时F⁻峰与乙酸峰能分离, 但彼此浓度不能大, 否则就会互相干扰, 保留时间略长于上述淋洗液的保留时间。用Na₂B₄O₇稀溶液作淋洗液时, 在AS3分离柱上F⁻、乙酸和甲酸三者分离效果最好, 而保留时间比在其他柱上要长些。综合考虑, 本文选用HPIG-AS₃作为分离柱, 淋洗液浓度用0.0007mol/L Na₂B₄O₇。图1是F⁻、乙酸和甲酸的色谱分离图。

(二) 工作曲线 以F⁻的进样量对峰高作图得到工作曲线见图2, 氟的浓度在0.0—5.0μg之间与色谱峰高呈线性关系, 其相关系数为0.9993。

(三) 精密度、准确度与样品的测定 用本文提出的色谱条件分析了人参和当归样品的煎剂。样品稀释5倍, 通过装有0.22μm孔径的微孔滤膜以保