

## · 药剂与工艺 ·

## 不同指标预测葛根注射液稳定性的研究

毛声俊,侯世祥,李超英,王新春,黄晓东\*,郭勃

(1. 四川大学华西药学院,四川成都 610044; 2. 四川宝光药业股份有限公司,四川成都 610031)

**摘要:**目的 比较不同指标预测葛根注射液稳定性的差异,为稳定性评价指标选择的必要性提供实验依据。方法 采用经典恒温加速试验法预测稳定性,注射液中葛根总黄酮与葛根素的含量测定分别采用紫外分光光度法与 HPLC 法。结果 注射液中有效部位总黄酮与有效成分葛根素的降解符合一级反应规律,分别以二者为指标的  $t_{0.9}^{25^\circ\text{C}}$  为 0.63 a 和 1.82 a。结论 不同类型的稳定性评价指标对制剂的稳定性预测结果存在较大影响,提供充分的稳定性评价指标选择依据是必要的。

**关键词:** 葛根注射液;稳定性;葛根总黄酮;葛根素;评价指标

中国分类号: R927.11 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)07-0595-03

### Studies on stability of PUERARIN INJECTION based on changes of different active principles in preparation

MAO Sheng-jun, HOU Shi-xiang, LI Chao-ying, WANG Xin-chun, HUANG Xiao-dong, GUO Bo

(1. School of Pharmacy, West China University of Medical Sciences, Chengdu Sichuan 610044, China; 2. Sichuan BAOGUANG Pharmaceutical CO., Ltd., Chengdu Sichuan 610031, China)

**Abstract Object** To compare the stability of PUERARIN INJECTION as predicted by the change of total *Puerarin* flavonoids and kakonein in the preparation during stability test, to provide an example showing the importance for the proper choice of stability index based upon different active principles present in the preparation. **Methods** The stability of the preparation under study were tested by the classical accelerated isothermal method and the change of total *Puerarin* flavonoids and kakonein were determined by UV and HPLC. **Results** The degradation of both active principles followed the first order reaction. The  $t_{0.9}^{25^\circ\text{C}}$  were 0.63 a and 1.82 a respectively. **Conclusion** The stability of PUERARIN INJECTION will show different values when based upon either single ingredient, suggesting the necessity to provide a logical basis for the determination of stability index.

**Key words** PUERARIN INJECTION; stability test; total *Puerarin* flavonoids; kakonein; criteria for the determination of stability

中药注射液的稳定性研究涉及多方面,评价指标的选择是稳定性研究过程中的重要一环。合理选择稳定性评价指标对客观、准确、全面地反映中药注射液的内在质量具有十分重要的意义。目前,中药注射液稳定性评价指标的选择较为混乱,缺乏可遵循的标准与充分的选择依据。文献报道丹参注射液在分别选择不同单一有效成分为指标时,预测有效期存在较大差异<sup>[1]</sup>,而对含复合组分的中药注射液同时以有效部位与有效成分为指标的稳定性预测研究目前尚未见报道。二者之间有无差异,选择何者更能真实反映制剂质量值得研究。葛根主要成分是以葛根素为代表的异黄酮类化合物,葛根素及葛根总黄

酮能增加脑及冠状血管的血流量,降低血管阻力,对垂体后叶素引起的急性心肌缺血有保护作用<sup>[2,3]</sup>。本文分别以有效部位葛根总黄酮和有效成分葛根素为指标,对葛根注射液的稳定性预测进行了比较研究。

#### 1 仪器与试药

UV-2201 紫外分光光度计(日本岛津);DLC-20 高效液相色谱仪(美国 D-Star);DVW-10 紫外检测器;CS-8501 超级恒温水浴箱;TGL-16G 高速台式离心机。

葛根注射液(自制,批号 990601,规格 2 mL/支);葛根素对照品(中国药品生物制品检定所);超纯水;甲醇、醋酸为分析纯。

\* 收稿日期: 2000-11-08

作者简介:毛声俊(1977-7),男,现为华西医科大学博士生,2000年7月毕业于华西医科大学药学院,获理学学士、硕士学位。2000年9月起攻读药剂学专业博士学位,研究方向为中药新型给药系统。Tel 028-5501376

\* 四川大学华西药学院 2000届本科毕业生。

## 2 方法与结果

2.1 注射液有效部位与有效成分的含量测定: 葛根中主要含异黄酮类化合物, 种类多达 18 种, 含量达 12% 以上。由于其具有相同母核, 紫外光谱相似, 主要吸收峰在 248~ 255 nm。本文参考文献<sup>[4]</sup>采用紫外分光光度法测定葛根总黄酮含量 (以葛根素计), 得标准曲线回归方程为  $A = 0.01014 + 0.06346C$ ,  $r = 0.9999$ ; 日内和日间 RSD 分别为 0.62% 和 1.24%, 加样回收率为 102.53%, RSD 为 1.12%。

葛根素的含量测定方法有 TLSC 法、比色测定法和 HPLC 法<sup>[5]</sup>。本文用 HPLC 法测定葛根素的含量, 具有样品处理简单, 分辨率高, 重现性好等优点。

以甲醇-36% 醋-水 (25: 3: 72) 为流动相, 247 nm 下检测。测得的葛根素标准曲线方程为  $A = -1.011 + 1.59 \times 10^7 C$  (mg/mL),  $r = 0.9999$  ( $n = 3$ ); 进样量在 0.027~ 0.043 μg 线性关系良好; 日内与日间 RSD 分别为 0.19% 和 0.42%; 平均加样回收率为 100.18%, RSD 为 1.63%。

2.2 恒温加速试验: 取葛根注射液适量, 分别置于 80℃、85℃、90℃和 95℃的恒温水浴 (温差 ± 1℃) 中加热, 按表 1、2 的温度及加速时间安排试验, 按时取出, 迅速以冰水浴冷却, 按前述含量测定方法分别测定其中葛根总黄酮与葛根素的含量, 结果见表 1、2。

2.3 数据处理与有效期预测: 分别将表 1 表 2 中

表 1 葛根注射液 (以总黄酮为指标) 加速试验含量测定结果 ( $n = 3$ )

温度 ℃	加速时间 h	含量 (mg/mL)	含量 (%)	lgC	温度 ℃	加速时间 h	含量 (mg/mL)	含量 (%)	lgC
80	0	53.97	100.00	2.0000	90	0	53.97	100.00	2.0000
	5	53.82	99.73	1.9988		2	53.80	99.69	1.9986
	10	53.40	98.95	1.9954		4	53.58	99.28	1.9968
	22	52.72	97.68	1.9898		8	52.92	98.05	1.9914
	35	52.09	96.52	1.9846		13	52.25	96.82	1.9860
	50	50.93	94.37	1.9748		25	50.87	95.07	1.9780
85	0	53.97	100.00	2.0000	95	0	53.97	100.00	2.0000
	4	53.76	99.61	1.9983		1	53.74	99.58	1.9982
	8	53.30	98.76	1.9946		3	53.44	99.02	1.9957
	13	52.78	97.80	1.9903		6	52.75	97.74	1.9901
	21	52.620	96.73	1.9855		11	52.03	96.41	1.9841
	38	50.83	94.19	1.9740		22	50.65	93.85	1.9724

表 2 葛根注射液 (以葛根素为指标) 加速试验含量测定结果 ( $n = 3$ )

温度 ℃	加速时间 h	含量 (mg/mL)	含量 (%)	lgC	温度 ℃	加速时间 h	含量 (mg/mL)	含量 (%)	lgC
80	0	26.05	100.00	2.0000	90	0	26.05	100.00	2.0000
	5	25.92	99.52	1.9979		2	25.93	99.53	1.9979
	10	25.81	99.07	1.9959		4	25.78	98.96	1.9954
	22	25.56	98.13	1.9918		8	25.58	98.21	1.9921
	35	25.33	97.25	1.9879		13	25.31	97.16	1.9875
	50	24.97	95.86	1.9816		25	24.91	95.63	1.9806
85	0	26.05	100.00	2.0000	95	0	26.05	100.00	2.0000
	4	25.89	99.38	1.9973		1	25.96	99.65	1.9985
	8	25.75	98.84	1.9949		3	25.74	98.83	1.9949
	13	25.57	98.15	1.9919		6	25.54	98.04	1.9914
	21	25.38	97.42	1.9886		11	25.18	96.67	1.9853
	38	24.99	95.93	1.9819		22	24.71	94.86	1.9771

lgC 对时间  $t$  进行线性回归, 得回归方程及分解速度常数  $k$ , 根据 Arrhenius 定理, 以 lgC 对  $1/T$  进行线性回归, 由回归方程计算室温 (25℃) 下的  $k_{298}$  及其置信区间, 并由公式  $t_{0.9}^{25} = 0.1054/k_{298}$  计算室温有效期。

以总黄酮为指标, 回归方程为  $\log k = 6.7427 - 3.4171 \times 1/T$ ,  $r = -0.9995$ ,  $S = 0.00643$ ,  $r > r_{1-0.01, 2} = 0.990$ ,  $\log k$  与  $1/T$  相关性极显著。

$T = 298K$  时,  $t_{0.9}^{25} = 0.1054/k_{298} = 0.63$  年。

以葛根素为指标, 回归方程为  $\log k = 8.6733 - 4.1554 \times 1/T$ ,  $r = -0.9920$ ,  $S = 0.03212$ ,  $r > r_{1-0.01, 2} = 0.990$ ,  $\log k$  与  $1/T$  相关性极显著。

$T = 298K$  时,  $t_{0.9}^{25} = 0.1054/k_{298} = 1.82$  年。

将葛根素与总黄酮的  $\log k - 1/T$  回归直线进行比较, 检验其相互之间是否有显著性差异。

检验  $H_0: \sigma_{\text{总黄酮}}^2 = \sigma_{\text{葛根素}}^2$

$F = S_{\text{葛根素}}^2 / S_{\text{总黄酮}}^2 = 1.0317 \times 10^{-3} / 4.1345 \times 10^{-5} = 24.95$

取置信系数  $T = 0.05$ , 得临界值  $F_{1-0.05}(2, 2) = 19.0$ ,

因为  $F > F_{1-0.05}(2, 2)$ , 所以总黄酮与葛根素之间有显著性差异。

综上所述, 葛根注射液分别以总黄酮和葛根素为评价指标时, 其室温稳定性预测结果与所得回归直线均存在较大差异

### 3 讨论

3.1 关于采用不同指标预测稳定性: 中药注射液因所含成分复杂, 选择合理的稳定性评价指标对准确预测其稳定性至关重要。本文中葛根注射液分别以总黄酮和葛根素为指标的室温有效期相差近 2 倍。结果提示, 稳定性评价指标选择的不同对中药注射液稳定性预测结果有很大程度上的影响。笔者认为, 当不同的评价指标应用于中药注射液的稳定性预测时, 其有效期宜以较短的为准。因此, 在选择中药注射液稳定性评价指标时, 提供充分的选择依据是必要的。

3.2 关于中药有效部位的稳定性指示法: 目前, 中药有效部位的稳定性指标多采用紫外-可见分光光度法。实际上, 由于该法本身不具分离-分析功能, 专属性较差, 往往不能排除化学结构与反应物相似的

降解产物对反应物测定的干扰, 采用此法能否准确指示有效部位的稳定性变化值得商榷。笔者认为, 采用液相色谱法测定特定波长处的若干特征色谱峰总面积的变化, 以此指示有效部位的稳定性变化, 可能是较好的解决办法。

3.3 关于总黄酮与葛根素稳定性的差异: 葛根所含成分复杂, 有各类化合物 50 余个, 有效成分为葛根素、4-甲氧基葛根素、大豆苷-4, 7-二葡萄糖苷、大豆苷和大豆苷元等异黄酮类化合物, 以葛根素含量最高。葛根中除葛根素外的黄酮类化合物的稳定性研究未见报道, 葛根注射液中总黄酮较葛根素不稳定的原因是否由于其它异黄酮类化合物的不稳定引起, 尚有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 范姝姿, 赵仁泰, 吕方军, 等. 丹参注射液贮存期的预测 [J]. 中成药, 1988, (12): 10-11.
- [2] 王晓青, 傅静. 葛根的药理作用研究进展 [J]. 北京中医药大学学报, 1994, 17(3): 39-41.
- [3] 郭建平, 孙其荣, 周全. 葛根药理作用研究进展 [J]. 中草药, 1995, 26(3): 163-165.
- [4] 郭建平, 孙其荣, 周全, 等. 葛根总黄酮不同提取工艺探讨 [J]. 中草药, 1995, 26(10): 522-523.
- [5] 章育中, 杨凡. 高效液相色谱法测定葛根及其片剂中异黄酮的含量 [J]. 药物分析杂志, 1984, 4(2): 67-70.

## 壳聚糖澄清剂的脱乙酰度及残留量研究

张彤, 徐莲英, 蔡贞贞\*

(上海中医药大学 中药学院, 上海 200032)

**摘要:** 目的 对壳聚糖澄清剂的脱乙酰度及精制后的中药水提液中壳聚糖的残留量进行了探讨。方法 用线性滴定测定壳聚糖(游离氨基)的含量。结果 壳聚糖澄清剂的脱乙酰度约 80%, 在澄清液中壳聚糖残留量小于 0.01%。结论 壳聚糖作为精制中药水提液的澄清剂是可行的。

**关键词:** 壳聚糖; 絮凝澄清剂; 脱乙酰度; 残留量; 线性滴定法

中图分类号: R927.11 文献标识码: A 文献编号: 0253-2670(2001)07-0597-04

### Studies on degree of deacetylation of chitosan and its residual amount left over in clarified products when used as a clarificant

ZHANG Tong, XU Lian-ying, CAI Zhen-zhen

(College of Chinese Materia Medica, Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China)

**Abstract Object** To study the degree of deacetylation of chitosan and its residual amount left over in the clarified products when chitosan was used as a clarificant. **Methods** The free amino group in the deacetylated chitosan was determined by linear titration. **Results** The degree of deacetylation of chitosan was found to be about 80%. The residual amounts left over in the clarified products were lower than  $10^{-4}$ . **Conclusion** The results suggested that it is feasible to use chitosan as a clarificant for refining water ex-

\* 收稿日期: 2000-10-18

基金项目: 上海市教委青年基金资助项目 (No. 98QN67)

作者简介: 张彤 (1972-)男, 浙江杭州人, 讲师, 硕士, 多年来从事中药制药研究。Tel 021-54232074