

2.8 稳定性试验:精密量取同一供试品溶液(批号:20031001) 10 μL ,每隔 2 h 进样 1 次,测定芍药苷峰面积积分值,其 RSD 为 0.61%。结果表明,供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

2.9 回收率试验:精密称取批号为 20031001 样品,每份 1 g,其中一份测定其中的芍药苷,另外加入 2.089 μg 芍药苷对照品,制备供试品溶液,测定其中的芍药苷,计算回收率,结果平均加样回收率为 98.5%,RSD 为 0.60% ($n=5$)。

2.10 样品测定:取 5 批固本益肠片,制备供试品溶液,进样测定,采用外标两点法计算,结果见表 1。

3 讨论

本产品自投产以来产品质量一直较稳定,但经过长期检验,发现其测定项方法有问题,因此对方法

表 1 固本益肠薄膜衣片中芍药苷的测定结果 ($n=5$)

Table 1 Determination of paeoniflorin in Guben Yichang Tablets ($n=5$)

批号	芍药苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD/%
20031001	1.66	0.66
20031002	1.78	1.14
20031003	1.50	0.40
20031004	1.88	0.81
20031005	1.72	0.77

进行了重新研究,选择重现性好,结果准确的方法收入质量标准,以控制本品的质量。

Reference:

- [1] Liu H Z, Liu A R, Li X L, et al. The chemical composition and pharmacodynamics research recent development about peeled root of *Herbaceous Penny* [J]. *J Anhui Tech Teachers' Coll* (安徽技术师范学院学报), 2001, 15 (4): 54-57.

负载壳聚糖膨润土清除丹参注射液中鞣酸

毕海燕¹, 邵悦¹, 金丽杰²

(1. 渤海大学, 辽宁 锦州 121000; 2. 锦州市第二人民医院, 辽宁 锦州 121001)

中药注射剂一般具有作用迅速、疗效确切、不良反应小等优点。但中药的许多传统组方比较复杂,制成的注射剂质量难以控制,中药注射剂的不良反应屡见报道。这些不良反应可能与注射剂中未分离出去的植物蛋白和鞣质类形成的致敏原有关。丹参注射剂中的大量鞣酸作为半抗原可引起机体变态反应。鞣酸进入静脉,回流入心脏后与心肌细胞结合,可引起心律失常,诱发并加重心力衰竭而致死^[1]。因此,必须除去中药注射剂中的鞣酸以及蛋白质等杂质。除去这些杂质的传统方法是水煎醇沉法^[2]。另外,通过壳聚糖与鞣酸发生静电架桥作用而絮凝^[3]、与蛋白质发生吸附作用而沉降、与金属离子发生络合作用等方式,也可以除去鞣酸、蛋白质、无机盐等杂质。本实验根据膨润土可以吸附阳离子,壳聚糖在酸性溶液中带有正电荷的特性,先将壳聚糖负载在膨润土上,制成固体吸附剂,然后应用于丹参注射剂,可以清除鞣酸、蛋白质等致敏原。

1 仪器与材料

UV-1600 紫外可见分光光度计; FJ-200 高

速分散均质机; pH S-3C 型数字式酸度计; 脱乙酰度为 85%、90%、95% 的壳聚糖(浙江省磐安壳聚糖厂); 膨润土(钠基, 辽宁黑山); 99% 醋酸(分析纯); 鞣酸(分析纯); WD900B 微波炉(Galanz, 顺德)。

2 方法与结果

2.1 负载壳聚糖膨润土的制备:用少量 3% 醋酸溶液溶解 1.0 g 脱乙酰度为 90% 的壳聚糖,用水稀释至 100 mL,即得 1.0% 壳聚糖溶液。用 50~60 mL 此溶液将 50 g 膨润土调成糊状,静置 15 min。将此糊状物置于微波炉中,加热干燥,研细,过 100 目筛,即得负载壳聚糖膨润土(壳聚糖的质量分数为 1.0%)。

2.2 清除率的计算:将丹参注射液(上海通用药业股份有限公司, pH 约为 6, 生产批号分别为 020942、01093008) 稀释 10 倍(参照丹参注射液的生产工艺^[4]),取 50 mL 加入 5 g 负载壳聚糖膨润土,高速搅拌(1 000 r/min) 5 min。静置 5 h(或离心处理),取上清液于 213 nm 处测定吸光度,按下式计算清除率。

$$\text{鞣酸清除率} = (A_0 - A) / A_0 \times 100\%$$

收稿日期: 2004-12-20

基金项目: 辽宁省教育厅重点资助科研项目(21062232)

作者简介: 毕海燕(1969—), 女, 辽宁锦州人, 讲师, 1993 年毕业于东北师范大学化学系, 从事食品检验方面研究, 发表学术论文数篇, 参与两项省、部级科研立项。Tel: (0416) 3602624

A_0 为加入吸附剂前鞣酸溶液的吸光度, A 为加入吸附剂后鞣酸溶液的吸光度

2.3 膨润土、负载壳聚糖膨润土对鞣酸清除效果的影响:为了便于在紫外光区测定鞣酸的质量分数,以去离子水为溶剂配制质量浓度为 2×10^{-5} g/mL 的鞣酸溶液。分别以膨润土(钠基和钙基)、负载壳聚糖膨润土处理鞣酸溶液。发现单纯的膨润土(钠基或钙基)对鞣酸没有清除作用,反而使鞣酸溶液的吸光度值增大,使鞣酸溶液的颜色加深;负载壳聚糖(脱乙酰度为 85%,投土量为 1%,pH 5.6)的钙基膨润土对鞣酸的清除率为 35%,使鞣酸溶液颜色略微加深;负载壳聚糖的钠基膨润土对鞣酸的清除效果最好,清除率为 78%,而且对鞣酸溶液的颜色没有影响,故选择钠基负载壳聚糖膨润土。

2.4 壳聚糖的脱乙酰度、壳聚糖溶液的质量浓度对鞣酸清除率的影响:以脱乙酰度为 85%、90%、95% 的壳聚糖醋酸溶液对膨润土进行作用,然后对鞣酸进行吸附,发现鞣酸清除率的差别不大。从壳聚糖的价格角度考虑,选择 85% 壳聚糖。以不同质量浓度壳聚糖溶液对膨润土进行作用,然后对鞣酸进行吸附,随着壳聚糖溶液质量浓度的增大,鞣酸清除率增大。但是,1.5% 壳聚糖溶液已经很黏稠,不便于处理膨润土。故选择壳聚糖溶液质量浓度为 1.0%,见表 1。

表 1 壳聚糖质量浓度对鞣酸清除率的影响
Table 1 Effect of chitosan concentration on scavenging rate of tannic acid

壳聚糖/%	清除率/%	壳聚糖/%	清除率/%
0.1	13.6	1.0	80.0
0.5	56.1	1.5	83.2

2.5 负载壳聚糖膨润土的投土量对鞣酸清除率的影响:随着负载壳聚糖膨润土投入量的增加,鞣酸清除率越来越高。当 50 mL 鞣酸溶液(质量浓度为 2×10^{-5} g/mL)中加入 1 g 负载壳聚糖的膨润土时,即投土量为 2% (g/mL),清除率最高,见表 2。投土量的增加对清除鞣酸后的上清液澄清度无影响。

表 2 投土量对鞣酸清除率的影响
Table 2 Effect of chitosan adding amount on scavenging rate of tannic acid

投土量/(g · mL ⁻¹)	清除率/%	投土量/(g · mL ⁻¹)	清除率/%
0.25	25	1.0	80
0.5	70	2.0	83

2.6 鞣酸溶液 pH 值对鞣酸清除率的影响:在酸性溶液中,壳聚糖的游离氨基-NH₂ 与 H⁺ 结合形成-N⁺H₃ 阳离子,使壳聚糖具有阳离子型絮凝剂的电中和吸附交联双重作用。因此,壳聚糖一般在

pH < 7 起作用。但实际上并非酸度越大清除鞣酸效果越好。见表 3。

表 3 pH 值对鞣酸清除率的影响
Table 3 Effect of pH value on scavenging rate of tannic acid

pH 值	清除率/%	pH 值	清除率/%
2	33.9	9	75.5
5.5	81.3	11.5	68.3

2.7 投土量、清除率与鞣酸质量浓度的关系:以上讨论是在很稀的鞣酸溶液中进行的。对于不同质量浓度的鞣酸溶液来说,在一定的搅拌速度、时间下,负载壳聚糖的膨润土与鞣酸分子的接触机会不同。所以,达到鞣酸最大清除率所需要的最大投土量也不同。随着溶液中鞣酸质量浓度的增大,达到其最大清除率所需要的投土量增加幅度很大,见表 4。而且,鞣酸清除效果也不同。在一定投土量下,随着鞣酸质量浓度的增大,鞣酸清除率降低。见表 5。

表 4 鞣酸质量浓度对投土量的影响
Table 4 Effect of tannic acid concentration on chitosan adding amount

鞣酸/%	投土量/(g · mL ⁻¹)
0.002	2
0.02	6
0.2	12

表 5 鞣酸质量浓度与清除率的关系
Table 5 Relationship between tannic acid concentration and scavenging rate

鞣酸/%	清除率/%
0.002	82
0.02	71
0.2	50

3 讨论

3.1 负载壳聚糖膨润土对鞣酸的吸附作用迅速、明显,可以清除中药注射剂中的鞣酸。对于含有 0.5% 的鞣酸溶液,清除率可达到 50%。

3.2 壳聚糖絮凝鞣酸是一个随机的过程,而负载壳聚糖膨润土对鞣酸吸附过程的可控性非常强,投土量、温度、脱乙酰度、pH 值等因素的影响比较小,或很容易控制。

3.3 利用负载壳聚糖膨润土吸附鞣酸,操作简便、易行,壳聚糖使用量小。按丹参注射剂计,仅需要 1.0% 的壳聚糖;按丹参水煎液计,仅需 0.05% ~ 0.1% 的壳聚糖。

References:

[1] Tang Q X. Bad reaction observation of four kinds of Chinese medicine [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 1998, 13 (3): 183-185.

[2] Wang G L. The improvement of the law of water drawing and alcohol sinking [J]. *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学报), 1998, 18 (11): 511-513.
 [3] Zhang W Q, Ling H J, Jin X R, et al. Study on the chitosan

floculating of tannic acid [J]. *J Functional Polymers* (功能高分子学报), 1998, 11 (3): 375-378.

[4] Xi N Z, Gu X Q. *Pharmacy* (药剂学) [M]. Beijing: People Education Press, 1987.

康心滴丸中葛根素的 HPLC 测定

邱智东, 董金香, 王 凯
 (长春中医学院, 吉林 长春 130117)

康心滴丸由葛根、三七、麝香组成, 活血化瘀, 通脉止痛, 用于冠心病、心绞痛、心血瘀阻证, 症见胸部刺痛、绞痛, 固定不移, 痛引肩背或臂内侧, 胸闷, 心悸不宁, 唇舌紫暗, 脉细涩。葛根为处方中的君药, 葛根素是葛根的主要活性成分。为建立康心滴丸的质量标准, 本实验采用 HPLC 法测定葛根素, 具有简便快捷、准确可靠的特点。

1 材料与仪器

康心滴丸由本实验室自制, 葛根素对照品购于中国药品生物制品检定所, 批号 P52-200108, 供测定用。试剂为色谱纯或分析纯。

日本岛津 LC-2010A 高效液相色谱仪, SPD-10AVP 检测器。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 甲醇-水 (25:75) 为流动相; 检测波长为 254 nm。理论板数按葛根素峰计算应不低于 4 000。在此条件下, 供试品溶液中葛根素和其他成分可达到基线分离, 葛根素峰与相邻色谱峰的分度度大于 1.5, 阴性对照无干扰。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取葛根素对照品适量, 用 30% 乙醇制成 0.08 mg/mL 的溶液, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品约 0.5 g, 研细, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加 30% 乙醇 20 mL, 超声处理 (100 W, 40 kHz) 30 min, 放冷, 用 30% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过。精密吸取续滤液 5 mL 置 100 mL 量瓶中, 用 30% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 线性关系考察: 分别精密吸取葛根素对照品溶液 2、5、10、15、20 μ L, 注入液相色谱仪, 测定。以测得的峰面积积分为纵坐标, 以进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y = 4\ 591\ 627.272 X - 150$

759.439, $r = 0.999\ 2$, 线性范围: 0.156~1.56 μ g。

2.5 空白试验: 按样品制备时的取样量, 折算成处方中除葛根外其他药材的取样量, 制成样品, 按供试品溶液的制备方法, 制成空白溶液。空白溶液、供试品溶液及对照品溶液分别按进样测定。结果供试品及对照品溶液在相应保留时间处有吸收峰, 而空白溶液无吸收峰, 说明空白溶液无干扰。见图 1。

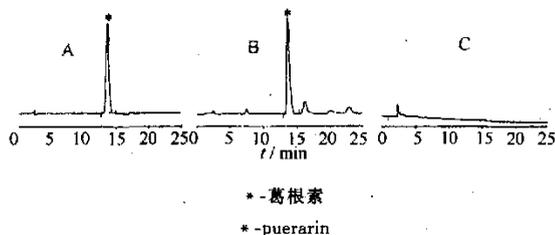


图 1 葛根素对照品(A)、康心滴丸(B)和缺葛根的空白对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of puerarin reference substance (A), Kangxin Dropping Pill (B), and sample without *Radix Puerariae* (C)

2.6 精密度试验: 取葛根素对照品溶液 10 μ L, 注入色谱仪, 测定峰面积积分值, 共进样 5 次, 结果 RSD 为 0.19%。

2.7 稳定性试验: 取同一供试品溶液, 在 0、2、4、6、8 h 测定葛根素的峰面积积分值, 结果葛根素在供试品溶液中 8 h 之内是稳定的, RSD 为 1.35%。

2.8 重现性试验: 取批号为 040211 样品, 制备供试品溶液, 平行独立测定 5 次, 计算葛根素的质量分数, 结果 RSD 为 1.35%。

2.9 回收率试验: 取批号为 040214 样品 (葛根素的质量分数为 65.280 4 mg/g) 约 0.25 g, 精密加入 8.196 6 mg/mL 葛根素对照品溶液 2 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 结果平均回收率为 97.53%,

(下转第 1570 页)