

mL, 每一供试品浓度重复两反应管。将两系列的反应管置(37±1)℃水浴中, 保温(60±2) min。反应结果见表 2。

2.3 干扰试验: 根据初筛试验结果, 选择样品稀释质
表 2 大蒜素注射液初筛试验结果

Table 2 Screening test for Allitride Injection

对照	样品稀释浓度/(mg·mL ⁻¹)				
	0.4	0.2	0.1	0.05	0.025
NPC 系列	--	--	--	--	--
PPC 系列	+-	++	++	++	++

表 3 大蒜素注射液干扰试验结果

Table 3 Results of interference test for Allitride Injection

厂家	批号	内毒素浓度/(EU·mL ⁻¹)				阴性对照	结果
		1.0	0.5	0.25	0.125		
厦门鲎试剂	检查用水	++++	++++	+---	----	--	Es=0.416
	20030511	++++	++++	----	----	--	Et=0.596
	20030315	++++	++++	+---	----	--	Et=0.416
	20030429	++++	++++	+---	----	--	Et=0.416
湛江安度斯	检查用水	++++	++++	----	----	--	Es=0.596
	20030511	++++	++++	+---	----	--	Et=0.416
	20030315	++++	++++	----	----	--	Et=0.596
	20030429	++++	++++	+---	----	--	Et=0.416

2.4 细菌内毒素检查法与热原检查法对比试验: 取 3 批热原检查合格的大蒜素注射液(每批各取 5 支) 分别用细菌内毒素检查用水稀释至 0.2 mg/mL, 使用灵敏度为 0.5EU/mL 的鲎试剂按药典方法检查, 结果全部呈阴性。

3 讨论

注射剂质量控制中, 采用家兔法控制细菌内毒素, 由于操作复杂, 影响因素多, 而且费时, 采用鲎试验法操作简单、迅速且灵敏度高。

初筛试验只是一种预试验, 最终要经干扰试验验证, 其目的是评价样品质量浓度对鲎试剂与内毒素凝集反应的干扰程度及干扰性质, 以便初步筛选出对检查无干扰的样品质量浓度范围及相应的鲎试

剂灵敏度, 从而为干扰试验提供必要的参数, 避免鲎试剂的浪费。样品对细菌内毒素检查的干扰性质为抑制作用, 质量浓度为 0.4 mg/mL 时对鲎试剂与细菌内毒素的凝集反应呈不明显的干扰作用, 质量浓度为 0.2 mg/mL 时无干扰作用, 故选择灵敏度为 0.5 EU/mL 的鲎试剂对相应的样品稀释质量浓度作干扰试验。

表 3 大蒜素注射液干扰试验结果

Table 3 Results of interference test for Allitride Injection

厂家	批号	内毒素浓度/(EU·mL ⁻¹)				阴性对照	结果
		1.0	0.5	0.25	0.125		
厦门鲎试剂	检查用水	++++	++++	+---	----	--	Es=0.416
	20030511	++++	++++	----	----	--	Et=0.596
	20030315	++++	++++	+---	----	--	Et=0.416
	20030429	++++	++++	+---	----	--	Et=0.416
湛江安度斯	检查用水	++++	++++	----	----	--	Es=0.596
	20030511	++++	++++	+---	----	--	Et=0.416
	20030315	++++	++++	----	----	--	Et=0.596
	20030429	++++	++++	+---	----	--	Et=0.416

剂灵敏度, 从而为干扰试验提供必要的参数, 避免鲎试剂的浪费。样品对细菌内毒素检查的干扰性质为抑制作用, 质量浓度为 0.4 mg/mL 时对鲎试剂与细菌内毒素的凝集反应呈不明显的干扰作用, 质量浓度为 0.2 mg/mL 时无干扰作用, 故选择灵敏度为 0.5 EU/mL 的鲎试剂对相应的样品稀释质量浓度作干扰试验。

参考文献:

[1] 中国药典[S]. 二部. 2005.
[2] 黄清泉, 夏振民. 药品细菌内毒素检查的实验设计[J]. 中国药理学杂志, 1997, 32(2): 72.
[3] 何清林, 田洪. 不同浓度依达拉酮注射液的细菌内毒素检测方法[J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(5): 270.
[4] 施震, 尹银嘉, 李华. 注射用头孢替唑中细菌内毒素的检测[J]. 中国药理学杂志, 2003, 38(5): 377.

HPLC 法测定四味益气胶囊中人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rg₁

郑新元¹, 赵 晨¹, 黎先军², 吕曙华¹

(1. 天津市药品检验所, 天津 300070; 2. 天津宏仁堂制药有限公司, 天津 300122)

四味益气胶囊是由人参茎叶总皂苷、维生素 E、维生素 B₂ 和刺五加提取物等加工制成的制剂, 具有益气健脾等功效, 主要适用于气虚证, 症见精神倦

怠, 气短乏力, 食欲不振, 肢冷, 健忘等。处方中人参茎叶总皂苷为君药, 故参考有关文献报道^[1,2]以人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rg₁ 为定量指标, 制定人参茎

叶皂苷的测定方法,以有效地控制该产品的质量。

1 仪器与试剂

Shimadzu LC-2010AHT 高效液相色谱仪,人参皂苷 Re(批号 110754-200320)和人参皂苷 R_{G1}(批号 110703-200424)对照品均由中国药品生物制品检定所提供,四味益气胶囊由天津宏仁堂药业有限公司提供;乙腈为色谱纯,水为去离子水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

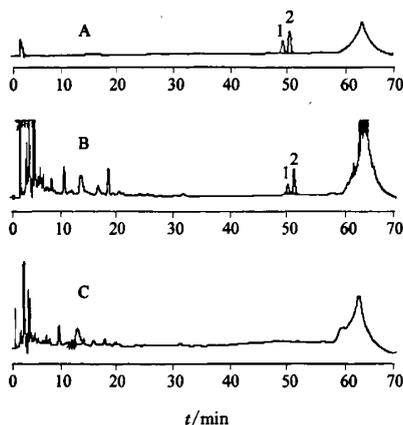
2.1 色谱条件:色谱柱 Agilent HC C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),进行梯度洗脱,0~35 min,19%A,35~55 min,19%A~25%A,55~60 min,25%A~50%A,60~65 min,50%A~19%A;柱温:40℃;体积流量:1.0 mL/min;测定波长:203 nm。人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{G1} 色谱峰分离度符合要求。

2.2 对照品溶液的制备:取人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{G1} 对照品适量,精密称定,加甲醇制成各含人参皂苷 Re 0.4 mg/mL,人参皂苷 R_{G1} 0.2 mg/mL 的混合溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取装量差异项下的本品,研细,取粉末约 0.6 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,浸泡过夜,加热回流 1 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 25 mL,蒸干,残渣加水 15 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次(20、20、10、10 mL),合并正丁醇液,用氨试液洗涤 2 次,每次 10 mL,弃去氨试液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇使溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.4 阴性干扰试验:取缺人参茎叶总皂苷的阴性样品,按照供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。取人参皂苷 Re、R_{G1} 对照品溶液、四味益气胶囊供试品溶液和缺人参茎叶总皂苷的阴性对照溶液,进样分析,得色谱图,见图 1。

2.5 线性关系考察:分别取人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{G1} 对照品适量,精密称定,加甲醇制成 1.840 5、0.837 0 mg/mL 的溶液。精密吸取 1、2、3、5、7、10 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,作为对照品溶液。分别精密吸取 10 μL,进样分析,测定各自峰面积。以进样质量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程。人参皂苷 Re: $Y = 303\,518.1 X + 5\,089.1$, $r = 0.999\,9$; 人参皂苷 R_{G1}: $Y = 347\,914.5 X - 1\,918.19$, $r = 0.999\,9$ 。结果表明人参



1-人参皂苷 R_{G1} 2-人参皂苷 Re
1-ginsenoside R_{G1} 2-ginsenoside Re

图 1 混合对照品(A)、四味益气胶囊(B)和阴性对照(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A), Siwei Yiqi Capsula (B), and negative sample (C)

皂苷 Re 在 1.8405~18.405 μg、人参皂苷 R_{G1} 在 0.837~8.370 μg 与峰面积的线性关系良好。

2.6 精密度试验:精密吸取供试品溶液(批号 061401),分别精密吸取 10 μL,连续进样 6 次,测定各自峰面积,计算,结果人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{G1} 峰面积的 RSD 分别为 0.94%、0.75%。

2.7 稳定性试验:取供试品溶液(批号 061401),分别在 0、4、8、12 h 内测定各自峰面积,计算,结果供试品溶液在 12 h 内基本稳定,人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{G1} 峰面积的 RSD 分别为 0.34%、1.07%。

2.8 重现性试验:取同一批样品(批号 061401)6 份,制备供试品溶液,进样分析,分别测定并计算样品中人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{G1} 的质量分数,结果人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{G1} 的质量分数分别为 6.646、2.607 mg/g, RSD 分别为 2.12%、1.71%。

2.9 加样回收率试验:称取含人参皂苷 Re 6.646 mg/g、人参皂苷 R_{G1} 2.607 mg/g 的同一批样品(批号 061401)约 0.3 g,取 6 份,精密称定,分别精密加入人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{G1} 混合对照品溶液(含人参皂苷 Re 0.086 35 mg/mL、人参皂苷 R_{G1} 0.034 05 mg/mL)25 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算得二者的回收率分别为 99.04%(RSD 为 0.73%)、99.34%(RSD 为 0.82%)。

2.10 样品测定:取四味益气胶囊样品 3 批,制备供试品溶液,进样测定,按外标法计算样品中人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{G1} 的质量分数,结果见表 1。

表 1 四味益气胶囊中人参皂苷 Re 和人皂苷 R_{G1} 的测定结果 (n=2)

Table 1 Determination of ginsenoside Re and ginsenoside R_{G1} in Siwei Yiqi Capsula (n=2)

批号	人参皂苷 Re/(mg·g ⁻¹)	人参皂苷 R _{G1} /(mg·g ⁻¹)
061401	6.677	2.646
061402	6.752	2.691
061403	6.701	2.622

3 讨论

原标准中采用等度洗脱方式,人参皂苷 R_{G1} 与人参皂苷 Re 分离效果较差。人参皂苷 R_{G1} 与人参皂苷 Re 结构极其相似,是造成二者分离效果较差的主要原因。本实验采用梯度洗脱的方式,克服了上

述现象,使两者的分离度与理论板数均有较大提高,内在质量得以体现。

供试品溶液制备方法的选择与确定分别对提取溶剂(甲醇与 2% 氢氧化钾甲醇溶液)、提取方法(加热回流 1 h, 超声处理 1 h、浸泡过夜后加热回流 1 h 及浸泡过夜后加热回流 2 h)、提取溶剂用量(25、50、75 mL)、正丁醇提取次数(1、2、3、4、5 次)进行了考察,最终确定以甲醇 50 mL 浸泡过夜,加热回流 1 h, 水饱和的正丁醇振摇提取 4 次作为最佳提取方式。

参考文献:

- [1] 孙艳, 张卫同, 陈海滨, 等. HPLC 法测定参芪颗粒中人参皂苷 R_{G1} 和 Re [J]. 中草药, 2007, 38(7): 1009-1010.
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2005.

壳聚糖用于山茱萸水提液除鞣质工艺的探讨

安晓娇, 康勇*, 范福洲

(天津大学化工学院, 天津 300072)

山茱萸是我国传统的中药材,在免疫系统、降血糖、抗休克、强心等方面具有一定的活性。山茱萸中含有苷类、有机酸类、糖类和鞣质类成分,其中苷类为强心作用的主要成分。马钱苷(又名番木鳖苷)是环烯醚萜苷类成分,为山茱萸的主要有效成分,也是重要的心血管活性的物质,在预防心血管疾病方面具有十分有效的作用^[1]。鞣质是一种相对分子质量较大的多元酚类化合物,许多中药提取物中都含有鞣质。中药制剂中含有鞣质,会影响制剂的稳定性和澄明度,还可能引起一系列的严重不良反应,如某些鞣质一旦注入体内会引起黄疸和肝坏死等一系列临床症状;中药注射液中的鞣质将使血液中蛋白质凝固,从而引起皮下出血,导致组织坏死,造成无菌炎症;鞣质还能加速红细胞的凝聚,并能与血红蛋白形成药物性沉淀^[2]。此外,在对中药的有效部位进行生理生化活性研究时,鞣质往往为有害或干扰成分。因此,从中药提取物中去除鞣质已经引起广泛关注。本实验采用壳聚糖絮凝法去除山茱萸水提液中的鞣质,保留其有效成分马钱苷,为进一步提纯山茱萸水提液作准备。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪, LabAlliance Model500 紫外检测器; 混凝试验搅拌机(潜江市梅宇仪器有限公司), WGZ-100 型散射式光光度仪(上海珊科仪器厂)。

山茱萸为炙萸肉,由天津市中药饮片厂提供;马钱苷对照品由中日友好医院临床医学研究所提供, HPLC 检测其质量分数为 98.42%;壳聚糖为分析纯,脱乙酰度为 90.58%,玉环县海洋生物化学公司。

2 方法与结果

2.1 山茱萸水提液的制备:取山茱萸 400 g,加水 3.2 L,煮沸 1 h 后倒出药液,药渣再加水 3.2 L,煮沸后 1 h 倒出药液。合并两次水煮液,即得(以生药计质量浓度为 0.12 g/mL)。

2.2 壳聚糖絮凝剂的配制:用 0.1% 冰醋酸配制 1% 壳聚糖冰醋酸溶液,溶胀 24 h,备用。

2.3 马钱苷的 HPLC 法测定

2.3.1 色谱条件:色谱柱为 Waters Spherisorb ODS 2(250 nm×4.6 nm, 5 μm);流动相:甲醇-水(30:70);体积流量:1.0 mL/min;检测波长:240 nm;柱温:室温;灵敏度:0.05 AUFS。在此条件下马钱苷可以与其他成分达到很好的分离。见图 1。

2.3.2 标准曲线的制备:精密称取马钱苷对照品

收稿日期:2007-09-12

作者简介:安晓娇(1980—),女,河北石家庄人,硕士,研究方向为非均相固液分离以及中药除杂研究。

Tel:(022)87401578 E-mail:anxiaojiao@eyou.com

*通讯作者 康勇 Tel:(022)27408813 E-mail:ykang@tju.edu.cn

HPLC法测定四味益气胶囊中人参皂苷Re和人参皂苷Rg1

作者: 郑新元, 赵晨, 黎先军, 吕曙华
作者单位: 郑新元, 赵晨, 吕曙华(天津市药品检验所, 天津, 300070), 黎先军(天津宏仁堂制药有限公司, 天津, 300122)
刊名: 中草药 **ISTIC** **PKU**
英文刊名: CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS
年, 卷(期): 2008, 39 (5)

参考文献(2条)

1. 孙艳;张卫同;陈海滨 HPLC法测定参芪颗粒中人参皂苷Rg1和Re[期刊论文]-中草药 2007 (07)
2. 中华人民共和国药典(一部) 2005

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200805024.aspx