

计,则 $K_2Cr_2O_7$ 的用量在 0.02mmol 已经足够,为确保过量并使反应能够迅速进行,故取重铬酸钾试液(约 0.25mol/L) 2mL。

3.2 氧化酸度 I^- 的氧化还原电位不受溶液酸度的影响,但 $Cr_2O_7^{2-}$ 受溶液酸度的影响较大,为确保 $Cr_2O_7^{2-}$ 具有足够的电位值,故反应液的酸度以硫酸计应不低于 1mol/L。

3.3 氧化时间 量取每 mL 含 I_2 约 0.5mg 的 KI 溶液 20mL,加氯仿 30mL、6mol/L 硫酸溶液 5mL 及重铬酸钾试液 2mL,猛力振摇,每隔 1min 取出上层液 5mL 并加入 0.5mL 淀粉指示液混匀,以不出现蓝色者为氧化完全^[1]。结果在 5min 内反应已达到完全。

3.4 测定波长 取“2.3 测定方法”项下的氯仿溶液,加无水硫酸钠脱水,过滤并用氯仿稀释至适宜的浓度,于 600~430nm 波长范围内描记吸收光谱,可知 I_2 在氯仿中的最大吸收波长为 (511 ± 1) nm。见图 2。

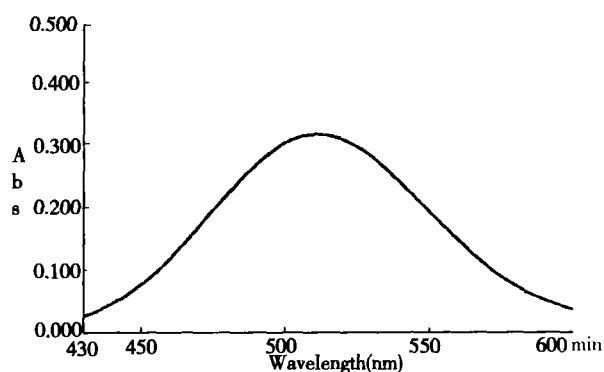


图 2 I_2 在氯仿中的紫外吸收光谱

3.5 脱水与过滤对吸收度的影响 取“2.3 测定方法”项下的氯仿溶液 25mL,加无水硫酸钠 2g,密塞,轻摇 5min,过 3 层滤纸过滤,分段收集滤液,每次 5mL,并立即于 (511 ± 1) nm 处测定吸收度,结果与原液相比无变化。

参考文献:

- [1] 王伯涛. 昆布中碘含量测定方法的改进[J]. 中药材, 1999, 22(4): 194.

收稿日期: 2003-10-28

大孔树脂吸附法提取丹酚酸 B 的应用研究

周永刚¹, 李翔², 赵亮³, 柴逸峰⁴ (1. 中国人民解放军第 81 医院, 江苏 南京 210000; 2. 中国人民解放军第 1 医院药剂科, 甘肃 兰州 730030; 3. 东方肝胆外科医院药材料, 上海 200438; 4. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要 目的:改进丹酚酸 B 的提取工艺,促进丹参制剂的发展。方法:采用 SIPI905 型大孔树脂用于丹酚酸 B 的提取分离,用毛细管电泳法测定含量,考察大孔树脂的最佳工艺条件。结果:丹酚酸 B 的吸附容量为 8.72mg/g,洗脱液为 4 倍量 20% 乙醇。结论:大孔树脂对丹酚酸 B 的洗脱率为 96.28%,精制程度为 251.82%。该方法能明显提高丹酚酸 B 的收率和纯度。

关键词 丹酚酸 B; 大孔树脂; 提取工艺

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2003)06-0339-03

丹参系唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎,具有祛瘀止痛,活血通经,清心除烦等功效^[1]。总丹酚酸是丹参的水溶性有效成分之一,具有抗肝纤维化、抗动脉粥样硬化和改善记忆功能障碍等作用,是目前临床上治疗冠心病、慢性肝炎等疾病的常用药物之一,其中丹酚酸 B 的含量最高,且活性最强,对脂质过氧化引起的细胞膜损伤有明显的保护作用^[2]。如何寻找一种高效、实用的提取工艺是丹酚酸 B 进一步开发研究的重要环节,实验证明, SIPI905 型大孔吸附树脂对丹酚酸 B

有较好的吸附能力,可用于丹酚酸的提取分离,能明显提高丹酚酸 B 的纯度和收率。

1 药材与对照品

丹参药材由第二军医大学药学院提供,经生药教研室陈万生副教授鉴定为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根。丹酚酸 B 对照品自制,其 ESI-MS、UV、¹HNMR 和 ¹³CNMR 数据与文献相符,经 HPLC 检查,纯度为 99.06% (面积归一化法)。

2 仪器与试剂

Agilent^{3D}CE 高效毛细管电泳仪; DAD 检测器; AgiLent ChemStation 工作站; 未涂渍熔融石英毛细

基金项目:上海市科技发展基金项目(01DJ19012)

管(75 μ m \times 68.5cm,有效长度60.0cm,河北永年光学纤维厂);岛津UV-160A型UV-可见分光光度计;ORION MODEL 828型pH计;METTLER AE240电子天平;BRANSON SB3200-T型超声仪。SIPI905型大孔吸附树脂(上海医药工业研究院),甲醇为色谱纯,水为纯化水,硼砂、氢氧化钠为分析纯。

3 方法与结果

3.1 丹酚酸B的含量测定

3.1.1 对照品溶液的制备 精密称取丹酚酸B对照品12.23mg,用H₂O溶解并定容于10mL容量瓶中作为对照品溶液,于4 $^{\circ}$ C保存备用。

3.1.2 内标溶液的制备 精密称取肉桂酸115.0mg,用甲醇:水(1:1)溶解并定容于200mL容量瓶中作为内标溶液,于4 $^{\circ}$ C保存备用。

3.1.3 样品溶液的制备 称取丹参药材250g,以10倍量的甲醇浸泡12h,再以5倍量的甲醇超声2次,每次1h,合并滤液,减压浓缩至干,以250mL水溶解,0.45 μ m滤膜过滤,滤液定容于250mL容量瓶中作为样品溶液,于4 $^{\circ}$ C保存备用。

3.1.4 最大吸收波长的测定 取对照品溶液于UV-160A型UV-可见分光光度计扫描测定,对照品和样品均在205nm处呈现最大吸收。

3.1.5 电泳条件 运行缓冲液:25mmol/L硼砂溶液(pH=9.30);电压:25kV;温度:25 $^{\circ}$ C;压力进样:5kPa \times 5s;检测波长:205nm;内标:肉桂酸;运行前用1mol/L NaOH和缓冲液各冲洗5min,运行时间为20min。

3.1.6 线性关系考察 分别取“3.1.1项”对照品溶液0.1、0.2、0.4、0.8、1.2、1.6mL,加1mL内标溶液定容至10mL,得浓度为12.23、24.46、48.92、97.84、146.76、195.68 μ g/mL的对照品溶液,摇匀。按“3.1.5项”电泳条件分别进样,以对照品峰面积同内标峰面积之比为纵坐标(Y),以丹酚酸B溶液的浓度为横坐标(X),得回归方程: $Y=0.0233X+0.0481$, $r=0.9999$,在12.23~195.68mg/mL范围内呈良好线性关系。

3.1.7 精密度考察 分别取对照品溶液低、中、高3种浓度按“3.1.5项”电泳条件做精密度实验,结果表明日内和日间精密度RSD均小于2.5%。

3.1.8 稳定性考察 对照品溶液配制好后,每隔1h测定一次,结果显示5h内丹酚酸B与内标肉桂酸的峰面积之比稳定,RSD为0.95%($n=5$)。

3.1.9 回收率试验 取已知含量的样品5份,分别加入对照品溶液适量,按“3.1.5项”电泳条件分别

进样测定,结果显示平均加样回收率为99.68%,RSD为1.0%($n=5$)。

3.2 SIPI905型大孔树脂提取丹酚酸B的工艺考察

3.2.1 大孔树脂的预处理及装柱 取SIPI905型大孔树脂用10倍量95%乙醇浸泡24h,湿法装柱,用95%乙醇冲洗,至洗出液加适量水混合无白色浑浊现象,最后用蒸馏水洗至无醇味,备用。

3.2.2 吸附容量的测定 精密量取样品溶液10mL上SIPI905型大孔树脂柱(1.5cm \times 25cm,湿树脂25g),控制流速1mL/min,过柱液流出后重吸附1次,静置30min,以蒸馏水冲洗,收集过柱液至10mL,平行操作3次,按“3.1.5项”电泳条件测定丹酚酸B含量,计算吸附容量(吸附容量为单位质量湿树脂吸附丹酚酸B的质量),结果表明其吸附容量为8.72mg/g($n=3$)。

3.2.3 洗脱液的选择 精密量取样品溶液10mL上SIPI905型大孔树脂柱(湿树脂100g),控制流速1mL/min,过柱液流出后重吸附1次,静置30min,依次用蒸馏水、10%乙醇、20%乙醇、30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇各100mL洗脱,按“3.1.5项”电泳条件检测丹酚酸B。结果表明,丹酚酸B集中在20%乙醇洗脱液中,10%乙醇虽能洗出丹酚酸B,但洗脱能力弱,其余洗脱液则均不含丹酚酸B,故确定20%乙醇为洗脱液。

3.2.4 精制程度考察 精密量取样品溶液10mL上SIPI905型大孔树脂柱(湿树脂100g),控制流速1mL/min,过柱液流出后重吸附1次,静置30min,依次用蒸馏水、20%乙醇各4倍量洗脱。另精密量取样品溶液10mL和醇洗脱液分别浓缩,干燥,称重,按“3.1.5项”电泳条件测定丹酚酸B含量。结果显示,样品溶液固形物为1.36g,丹酚酸B含量为33.83%,醇洗脱液固形物为0.52g,丹酚酸B含量为85.19%,丹酚酸B洗脱率为96.28%,精制程度为251.82%。

4 讨论

丹参是一种极具应用价值的中药。丹参中丹酚酸B的含量较高,有很好的开发前景。本文采用SIPI905型大孔树脂改进了丹酚酸B的提取工艺,具有吸附快,吸附容量大,洗脱率高等优点,比传统的水醇法制备工艺^[3]具有非常明显的优势,可以显著的提高丹酚酸B的收率和纯度,而且方法操作简单,树脂再生简便,适合工业化生产,可有利促进丹参制剂的发展,具有实用价值。

参考文献:

[1] 中国药典 2000 年版. 一部[S]. 2000:57.

[2] 戈升荣,俞一心,谢更新. 丹酚酸的药理作用研究进展[J]. 中药材,2002,25(9):683.

[3] 郭莹,梁晓原,念维林. 云南丹参酚酸类成分水醇法制备工艺的初步研究[J]. 云南中医学院学报,2001,24(4):6.

收稿日期:2003-10-28

盐酸罂粟碱氯化钠注射液细菌内毒素检测法实验研究

金卫红, 居红枫(江苏省药品检验所, 江苏 南京 210008)

摘要 目的:建立盐酸罂粟碱氯化钠注射液的细菌内毒素检查方法。方法:用两个生产厂的鲎试剂对盐酸罂粟碱氯化钠注射液进行干扰试验研究。结果:盐酸罂粟碱氯化钠注射液对细菌内毒素检查无干扰作用。结论:可以用细菌内毒素检查法(凝胶法)代替家兔热原检查法控制其热原。

关键词 盐酸罂粟碱氯化钠注射液;细菌内毒素;凝胶法

中图分类号:R954 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2003)06-0341-03

Assay for bacterial endotoxin in papaverine hydrochloride and sodium chloride injection

JIN Wei-hong JU Hong-feng(Jiangsu Provincial Institution for Drug Control, Nanjing 210008, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method of assay for the bacterial endotoxin in papaverine hydrochloride and sodium chloride injection. **METHODS:** Inhibition and enhancement test was performed with limulus amoebocyte lysate manufactured by two different companies. **RESULTS:** The injection will not interfere to the bacterial endotoxins test. **CONCLUSIONS:** The results suggest that bacterial endotoxins test (gel-clot method) can be used as an replaceable method for the rabbit pyrogen test for papaverine hydrochloride and sodium chloride injection.

KEY WORDS papaverine hydrochloride and sodium chlorid injection; bacterial endotoxin; Gel-clot method

盐酸罂粟碱氯化钠注射液临床主要用于治疗脑、心以及外周血管痉挛所致的缺血,肾、胆或胃肠道等内脏痉挛。鉴于细菌内毒素检查法灵敏快速、简便易行、重现性好等优点,为扩大其应用范围,我们对盐酸罂粟碱氯化钠注射液进行了细菌内毒素检查法的研究,探讨以细菌内毒素检查法取代热原检查法检测盐酸罂粟碱氯化钠注射液的可行性。

1 实验材料

1.1 盐酸罂粟碱氯化钠注射液,为无色澄明液体,由上海通用药业股份有限公司第三公司提供,批号 011209、011210、011211,规格:100mL,盐酸罂粟碱 30mg、氯化钠 0.9g。试验前热原试验均符合规定。

1.2 鲎试剂(TAL):湛江海洋生物有限公司生产,批号 010804,福州新北生化工业有限公司生产批号 010630,灵敏度 λ:均为 0.25EU/mL。试验前二批鲎试剂灵敏度复核均符合规定。

1.3 细菌内毒素工作标准品(冻干品):中国药品生物制品检定所制备,批号 2001-3,效价 70EU/

Amp。

1.4 细菌内毒素检查用水(BET水):中国药品生物制品检定所制备,批号 W2001-3,10mL/Amp。内毒素含量 < 0.03EU/mL。

2 方法与结果

2.1 盐酸罂粟碱氯化钠注射液细菌内毒素限值的计算

盐酸罂粟碱氯化钠注射液为大输液品种,根据有关规定,一般定(M)为 10mL/kg^[1],细菌内毒素阈值(K)5.0EU/kg^[2],则盐酸罂粟碱氯化钠注射液的细菌内毒素限值(L)为 $L = K/M = 5.0EU/kg \div 10mL/kg = 0.5EU/mL$ 。

2.2 盐酸罂粟碱氯化钠注射液稀释液浓度的确定

由于盐酸罂粟碱氯化钠注射液限值 L 为 0.5 EU/mL,所以对对应于灵敏度 0.5~0.03 EU/mL 的鲎试剂,按照公式 $MVD = CL/\lambda$ 计算得到系列浓度的样品溶液,即原液,1:2,1:4,1:8,1:16。

2.3 干扰试验预试验 为排除供试品溶液对细菌