

- 物依赖性杂志, 2000, 9(1): 4.
- [5] Glick SD, Maisonneuve IM, Pearl SM. Evidence for roles of kappa-opioid and NMDA receptors in the mechanism of action of ibogaine [J]. *Brain Res*, 1977, 749: 340.
- [6] Popik P, Layer RT, Skolnick P. 100 years of ibogaine: neuro-chemical and pharmacological actions of a putative anti-addictive drug [J]. *Pharmacol Rev*, 1995, 47: 235.
- [7] 傅秋生, 黄 矛. 云南狗牙花总碱对吗啡依赖小鼠位置偏爱再现的阻断作用[J]. *解放军药学报*, 2004, 20(5): 352.

收稿日期: 2006-01-16

电导法测定多硫酸肝素钠中硫酸基含量

金 艳^{1,2}, 崔慧斐¹, 凌沛学^{1,2}, 张天民^{1,2} (1. 山东大学药学院, 山东 济南 250012; 2. 山东省生物药物研究院博士后科研工作站, 山东 济南 250108)

摘要 目的: 建立一种测定多硫酸肝素钠中硫酸基含量的方法。方法: 将多硫酸肝素钠通过 H⁺ 型阳离子树脂, 用氢氧化钠对其洗脱液进行滴定, 通过电导率的变化确定滴定终点, 并用氯代十六烷基吡啶对结果进行校正, 测定其硫酸基含量。结果: 硫酸基的平均加样回收率为 100.18%, RSD 为 3.67%。结论: 本法简便准确, 重复性较好。

关键词 多硫酸肝素钠; 硫酸基; 氯代十六烷基吡啶; 含量测定

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2006)04-0205-02

Determination of sulfate groups in polysulfated heparin sodium with conductometry

JIN Yan^{1,2}, CUI Hui-fei¹, LING Pei-xue^{1,2}, ZHANG Tian-min^{1,2} (1. School of Pharmacy, Shandong University, Jinan 250012, China; 2. Working Station for Postdoctoral Scientific Research, Institute of Biopharmaceuticals of Shandong Province, Jinan 250108, China)

ABSTRACT Objective: To establish a method for the determination of the contents of sulfate groups in polysulfated heparin sodium.

Methods: The contents of sulfate groups were determined by converting the Na⁺ of polysulfated heparin sodium into H⁺ with cation exchange resin and titrating with sodium hydroxide. The titration end-point was ascertained by variance of conductivity and the results were rectified by cetylpyridinium chloride. **Results:** The average recovery was 100.18%, RSD = 3.67%. **Conclusion:** This method was simple, reproducible and accurate.

KEY WORDS polysulfated heparin sodium; sulfate group; cetylpyridinium chloride; assay

多硫酸肝素钠是类肝素的一种, 系由食用动物(主要为牛)的包括气管软骨在内的肺脏提取、纯化和修饰所得, 以干燥品计含 D-葡萄糖醛酸 19.0% ~ 24.0%、氮 1.6% ~ 2.0% 及有机硫酸基 25.8% ~ 37.3%^[1,2]。日本药局方外医药品成分规格中规定该产品的有机硫酸基由测得的总硫酸基的量与游离硫酸基的差值得^[1,2]。本研究通过 H⁺ 型阳离子交换树脂, 将其分子中的 Na⁺ 转变为 H⁺, 用氢氧化钠滴定其洗脱液, 根据电导率的变化确定滴定终点, 并利用氯代十六烷基吡啶与多硫酸肝素钠形成沉淀的性质, 对结果进行校正, 以测定其硫酸基含量。

1 实验材料

DDS-11A 型数字电导率仪(上海大普仪器有

限公司), 阳离子交换柱(1 cm × 10 cm)(上海六一玻璃仪器厂), 732 型苯乙烯强酸型阳离子交换树脂(上海汇脂树脂厂)。

多硫酸肝素钠(自制); 硫酸钠, 氢氧化钠, 氯代十六烷基吡啶均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 原理与操作 将 H⁺ 型阳离子交换柱及三蒸水在 4℃ 预冷。精密配制 25 mg/mL 的氯代十六烷基吡啶溶液。取多硫酸肝素钠样品 2 份, 每份约 10 mg, 精密称定。其中 1 份(重量为 M₁)用三蒸水溶解, 上 H⁺ 型阳离子交换柱, 用三蒸水洗脱, 同时监测洗脱液的电导率变化。收集洗脱液至其电导率值升至最大。用微量进样器对洗脱液进行滴定, 每次加 0.03 mol/L 氢氧化钠滴定液 50 μL, 电导率下降的最低点为滴定终点。测得氢氧化钠滴定液消耗体积 V₁ (mL)。另 1 份(重量为 M₂)用三蒸水 200 μL

作者简介: 金艳(1972-), 女, 博士研究生. Tel: (0531)88779140.

E-mail: bmxhzy@163.com.

溶解,精密加入氯代十六烷基吡啶溶液 1 mL,37℃保温 15 min,13 000 r/min 离心 10 min。取上清液 400 μL,加入 H⁺型阳离子交换柱,按上述步骤进行洗脱及滴定。测得氢氧化钠消耗体积 V₂(mL)。按下式计算多硫酸肝素钠中硫酸基含量。

$$\text{硫酸基含量}(\%) = \frac{[CV_1 - (CV_2 \times 3 - \frac{m}{358.01}) \times \frac{M_1}{M_2}] \times 80.06}{M_1} \times 100\%$$

式中 C:氢氧化钠滴定液浓度(mol/L);m:每 1mL 氯代十六烷基吡啶溶液中含有的溶质质量(mg);80.06:1 mmol SO₃ 的量(mg);358.01:氯代十六烷基吡啶的相对分子质量。

2.2 样品测定 按 2.1 项下方法测定同批多硫酸肝素钠的硫酸基含量,连续测定 6 次,其 RSD 为 3.28%。结果见表 1。

表 1 多硫酸肝素钠中硫酸基含量测定结果

取样量(mg)		测得 M ₁ 中硫酸基量(mg)	多硫酸肝素钠中硫酸基含量(%)
M ₁	M ₂		
9.8	10.2	3.34	34.08
10.3	9.7	3.60	34.95
11.0	9.9	3.66	33.27
10.8	10.5	3.65	33.80
10.3	10.9	3.68	35.73
9.4	10.1	3.07	32.66
平均			34.08

2.3 加样回收率实验 取已测知硫酸基含量的多硫酸肝素钠 5 份,每份约 10 mg,精密称定,用三蒸水溶解,分别加入 40、60、80、100、120 μL Na₂SO₄(以 SO₃ 计 25.17 mg/mL)溶液,上 H⁺型阳离子交换柱,按 2.1 项下步骤进行洗脱及滴定。另取同批多硫酸肝素钠 5 份,每份约 10 mg,精密称定,用三蒸水 200 μL 溶解,精密加入氯代十六烷基吡啶溶液 1 mL,37℃保温 15 min,13 000 r/min 离心 10 min。取上清液 400 μL,加入 H⁺型阳离子交换柱,按 2.1 项下步骤进行操作。其 RSD 为 3.67%。结果见表 2。

表 2 Na₂SO₄(以 SO₃ 计)加样回收实验结果

取样量(mg)		M ₁ 中硫酸基量(mg)	加入 SO ₃ 量(mg)	测得硫酸基量(mg)	回收率(%)
M ₁	M ₂				
10.3	10.1	3.51	1.01	4.53	100.99
13.3	11.4	4.53	1.51	5.96	94.70
10.6	9.8	3.61	2.01	5.60	99.00
11.8	10.5	4.02	2.52	6.58	101.59
10.0	9.7	3.41	3.02	6.57	104.64
平均					100.18

2.4 日间精密度实验 取同一批多硫酸肝素钠样品按 2.1 项下方法连续测定 7d,其 RSD 为 4.17%。

结果见表 3。

表 3 日间精密度实验结果

取样量(mg)		测得 M ₁ 中硫酸基量(mg)	多硫酸肝素钠中硫酸基含量(%)
M ₁	M ₂		
10.7	10.1	3.61	33.74
9.8	10.3	3.48	35.51
11.3	11.0	4.15	36.72
12.4	10.7	4.22	34.03
10.9	10.2	3.68	33.76
9.9	11.2	3.70	37.37
12.2	11.8	4.37	35.82
平均			35.28

3 讨论

测定黏多糖中硫酸基含量的方法最常用的是玫红酸钠法^[3]。玫红酸钠法取样量少,灵敏度高,但操作繁琐、重复性差。与玫红酸钠法相比,本法具有取样量适中、操作简单、重复性好等优点。

本法通过监测体系的电导率变化来确定滴定终点。H⁺、Na⁺和 OH⁻的导电能力的相对值为 350、50 和 198。多硫酸肝素钠通过 H⁺型离子交换树脂后,其 Na⁺转变为 H⁺,加入 NaOH,则 OH⁻首先与硫酸基上的 H⁺结合,余下 Na⁺,故滴定体系的电导率下降。至滴定终点时,电导率下降至最低^[4]。

多硫酸肝素钠在制备过程中,常引入一些无机盐,对其硫酸基含量测定造成干扰。本法用氯代十六烷基吡啶对测定结果进行校正,消除了无机盐杂质的影响。多硫酸肝素钠中硫酸基和羧基在中性溶液中均成一价负离子,可与氯代十六烷基吡啶发生 1:1 结合,生成沉淀。将沉淀离心后,上清中仅含氯代十六烷基吡啶中 Cl⁻与盐类杂质。将此上清上 H⁺型阳离子交换柱后,滴定洗脱液所消耗的 NaOH 量为 Cl⁻与盐类杂质消耗之和。另测出多硫酸肝素钠中硫酸基与盐类杂质过 H⁺型阳离子交换柱后洗脱液所消耗的 NaOH 量之和,二者相对比,即可测出多硫酸肝素钠中硫酸基含量。其羧基对本法无干扰。

参考文献:

- [1] 厚生省药务局. 日本药局方外医药品成分规格[S], 1989. 1044~1047.
- [2] 张天民. 类肝素药物的研究与开发[J]. 山东医药工业, 1999, 18(1): 29.
- [3] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1999. 411~412.
- [4] 刘禄娟, 王伟, 张天民. 低分子肝素硫酸基离子与羧酸根离子摩尔比的测定[J]. 中国生化药物杂志, 1998, 19(5): 330.

收稿日期:2006-01-18