

表2 替硝唑葡萄糖注射液干扰实验和凝胶法实验结果

批号	加入内毒素 的量(EU)	平行组变异 系数 CV (%)	内毒素实测 值(EU/mL)	回收率 (%)	凝胶法实 验结果
021009	1	4.52	<0.004 6	95	-
030117	1	9.50	<0.005 8	101	-
030418	1	2.36	<0.005 7	97	-
021009	1	4.69	<0.015 7	80	-
030117	1	2.34	<0.030 6	129	-
030418	1	0.68	<0.06	97	-

表3 氧氟沙星葡萄糖注射液干扰实验结果

稀释 倍数	加入内毒素 的量(EU)	平行组变异 系数 CV (%)	内毒素实测 值(EU/mL)	内毒素实测 值(EU)	回收率 (%)
1	1	5.81	<0.005 5	0.013	0.75
4	1	4.68	<0.003 6	0.52	51
8	1	2.53	<0.003 6	1.03	102

表4 氧氟沙星葡萄糖注射液稀释4倍干扰实验和凝胶法实验结果

批号	加入内毒素 的量(EU)	平行组变异 系数 CV (%)	内毒素实测 值(EU/mL)	回收率 (%)	凝胶法实 验结果
030418	1	3.12	<0.046	98	-
030117	1	1.26	<0.040	112	-
021028	1	5.93	<0.043	81	-
030418	1	2.61	<0.06	96	-
030117	1	1.91	<0.06	93	-
021028	1	0.39	<0.04	79	-

实验结果表明:3个批号含糖平衡盐和替硝唑葡萄糖注射液原液用2个厂家鲎试剂所做的干扰实验的回收率都在规定范围内,内毒素含量小于其内毒素限值,凝胶法检查为阴性,说明含糖平衡盐和替

硝唑葡萄糖注射液原液对鲎试剂反应无干扰,可直接用凝胶法控制其细菌内毒素限值。氧氟沙星葡萄糖注射液原液对鲎试剂有强干扰,稀释4倍可消除,所以氧氟沙星葡萄糖注射液稀释4倍后即可用凝胶法进行检查。

3 讨论

3.1 以定量的动态浊度法检测样品是否有干扰并确定稀释多少倍可以消除干扰,再用简便的凝胶法来完成药品中内毒素检查,提高了反应灵敏度、节省了时间。

3.2 动态浊度法虽可直接测出样品中的内毒素含量但必须同时做标准曲线,所用试剂量大且较贵,适用于干扰试验等前期工作;凝胶法虽是限量检查,但操作简便、价廉可用于日常工作。

3.3 不同厂家生产的鲎试剂所做的内毒素标准曲线差别较大,同时鲎试剂反应快慢差异也较大,所以应根据情况选择适当的稀释比例和反应临界值。

3.4 由于含糖平衡盐不是标准制剂,所以参考与含糖平衡盐组份类似的乳酸钠林格氏液的家兔给药剂量10mL/kg计算含糖平衡盐最大稀释倍数,但实验表明含糖平衡盐不需稀释可直接用凝胶法检查。

参考文献:

- [1] 中国药典2000年版[S]. 二部. 附录,2000;204.
- [2] Cooper JF, Thoma LA. Screening extemporaneously compounded intraspinal injections with the bacterial endotoxins test [J]. American Journal of Health-System Pharmacy, 2002,59(24):2426.
- [3] 孙燕,吴激,韩文斌,等. 动态浊法定量检测大蒜注射液中细菌内毒素[J]. 中国医院药学杂志,2002,22(2):57.

收稿日期:2003-07-22

复方苦参素胶囊中苦参碱的含量测定及稳定性研究

丁青龙¹, 恽宏伟² (1. 中国人民解放军第102医院药剂科, 江苏常州 213003; 2. 南京中医药大学, 江苏南京 210029)

摘要 目的:建立复方苦参素胶囊中苦参碱的含量测定方法。方法:采用薄层-紫外分光光度法和经典恒温法测定。结果:线性范围为1.512~7.560 $\mu\text{g}/\text{mL}$,加样回收率为97.29%,RSD为2.84%,苦参碱的有效期为1.2年。结论:该法简便准确,可以用于复方苦参素胶囊中苦参碱的含量测定和质量控制,结果显示复方苦参素胶囊中苦参碱比较稳定。

关键词 薄层-紫外分光光度法;苦参碱;复方苦参素胶囊;经典恒温法

中图分类号:R927.2

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2005)-0020-05

作者简介:丁青龙(1953-),男,副主任药师,硕士生导师。

Tel:(0519)8123781,E-mail: DingQL2004@163.com

Determination and study on content and stability of matrine in compound matrine capsule

DING Qing-long¹, YUN Hong-wei² (1. No. 102 Hospital of PLA, Changzhou 213003, China; 2. Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China)

ABSTRACT Objective: To determine the matrine in compound matrine capsule and to investigate the stability of matrine in compound matrine capsule, so as to establish the quality standard to control the quality of the drug. **Methods:** The matrine was determined by thin-layer chromatography-ultraviolet spectrophotometry and classical isothermal method. **Results:** The linear range was 1.512 ~ 7.560 μg/mL. The average recovery rate was 97.29%, RSD = 2.84%. The expiry date of matrine in compound matrine capsule was about 1.2 years. **Conclusion:** The method is simple, quick and accurate, also can be used as the quality control method for the compound matrine capsule. And the results showed that matrine in compound matrine capsule was stable.

KEY WORDS thin-layer chromatography-ultraviolet spectrophotometry; matrine; compound matrine capsule; classical isothermal method; stability

复方苦参素胶囊由苦参总碱、绞股蓝总苷等组成,具有保肝解毒、扶正固本、活血化瘀和降血脂的功效,用于各种急慢性病毒性肝炎、肝硬化、脂肪肝的治疗及肝癌的辅助治疗。本研究以苦参碱为指标,采用薄层-紫外分光光度法进行了含量测定及稳定性研究。

1 实验材料与条件

1.1 仪器与药物 752-紫外分光光度计(上海第三仪器厂),电热恒温干燥箱(沈阳利港净化设备厂),FA1004-电子天平(上海精密科学仪器有限公司天平仪器厂),80-2离心机(上海手术器械厂),FQC-100超声波清洗机(无锡福尼达电子公司,超声频率40kHz),薄层层析硅胶G,50 μL微量进样器,苦参碱对照品(购自江苏省药检所),复方苦参素胶囊(规格为300mg/粒,常州市第102医院制剂中心生产),溴麝香草酚兰,所用试剂均为分析纯。

1.2 供试品溶液及对照品溶液的制备

1.2.1 供试品溶液的制备 精密称取复方苦参素胶囊内容物0.9g,置具塞锥形瓶中,加入适量的浓氨试液饱和的氯仿,密塞,超声提取,摇匀,过滤,取续滤液置蒸发皿中,水浴蒸干^[1];残渣加无水乙醇溶解,转移至10mL容量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

1.2.2 对照品溶液的制备 取经五氧化二磷减压干燥恒重的苦参碱对照品,精密称定,加无水乙醇制成每mL含2.5mg的溶液,作为对照品溶液。

2 方法与结果

2.1 线性关系的考察 精密吸取对照品溶液(2.52mg/mL)6、15、20、25、30 μL分别点于同一硅胶G薄层板上,以氯仿-甲醇-氨水(5:0.6:0.2)的下层溶液为展开剂展开,展距约10cm取出,晾干,喷以

改良碘化铯钾试液,定位,刮下苦参碱斑点处硅胶,移入离心管中,加入无水乙醇6mL,超声提取2次,每次15min,离心15min(2000r/min),倾出上清液合并至50mL锥形瓶中,水浴蒸干,冷至室温后加入pH值7.6的 2×10^{-4} mol/L溴麝香草酚兰缓冲液(pH7.6)和氯仿各6mL,密塞,振摇3min,移入60mL分液漏斗中,静置40min,分出氯仿层于10mL量瓶中定容,以氯仿为空白,在412nm处测各浓度的吸收度。以浓度(μg/mL)为横坐标,吸收度为纵坐标,得回归方程: $Y = 0.02293 + 0.04209X$, $r = 0.9978$,线性范围为1.512 ~ 7.560 μg/mL^[2,3]。

2.2 超声提取条件优选 为了能从胶囊内容物中最大限度的提取苦参碱,在超声提取时设计正交因素水平表(见表1),以最初提取液蒸干后的得率为指标选择最佳提取条件(见表2),比较分析得最佳提取条件为每0.9g胶囊内容物用浓氨饱和的氯仿30mL提取3次,每次40min。

表1 因素水平表

因素	溶剂用量(mL)	超声时间(min)	超声次数
	A	B	C
1	20	20	1
水平 2	30	30	2
3	40	40	3

2.3 空白干扰试验 取pH值7.6的 2×10^{-4} mol/L溴麝香草酚兰缓冲液和氯仿各6mL,密塞,振摇3min,移入60mL分液漏斗中,静置40min,分出氯仿层于10mL容量瓶中定容,以氯仿为空白,置入紫外-可见分光光度计中在412nm处测其吸收度,阴性无干扰。

2.4 稳定性试验 精密吸取苦参碱对照品溶液按测定方法处理,分别在0、0.5、1、1.5、2、2.5、3h测定

吸收度, $RSD = 0.84\%$, 说明在 3h 内稳定。

2.5 重复性试验 取同一批号的样品 5 份, 每份 0.9g, 精密称定, 制备供试品溶液。取供试品溶液依法操作, 测定含量, $RSD = 0.54\%$, 本法具有良好的重现性。

2.6 精密度试验 精密吸取供试品溶液 $40\mu\text{L}$, 共

计 5 份, 分别点于同一硅胶板上, 照标准曲线项下测定, RSD 为 1.29% 。结果表明精密度良好。

2.7 加样回收率试验 取已知含量的样品 5 份, 每份各加入苦参碱对照品溶液, 按含量测定方法操作, 结果见表 3。

表 2 超声提取条件正交分析结果

试验号	溶剂用量 (mL)		超声时间 (min)		超声次数 C	空白 D	得率% (g/g)
	A	B	B	C			
1	1	1	1	1	1	1	1.125
2	1	1	2	2	2	2	1.827
3	1	1	3	3	3	3	2.429
4	2	2	1	1	2	3	2.202
5	2	2	2	2	3	1	3.311
6	2	2	3	3	1	2	2.142
7	3	3	1	1	3	2	2.582
8	3	3	2	2	1	3	1.568
9	3	3	3	3	2	1	3.021
K_1	5.371	5.909	5.909	4.835	7.457		$\Sigma y = 20.207$
K_2	7.655	6.696	6.696	7.040	6.541		$y = 2.245$
K_3	7.171	7.592	7.592	8.322	6.199		
\bar{K}_1	1.790	1.970	1.970	1.612	2.486		
\bar{K}_2	2.552	2.232	2.232	2.347	2.180		$\Sigma y^2 = 49.155$
\bar{K}_3	2.390	2.531	2.531	2.774	2.066		
R	0.762	0.561	0.561	1.162	0.420		

表 3 回收率试验结果

试验号	取样量 (g)	样品中含 有量 (mg)	加入量 (mg)	测出量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率 (%)	RSD (%)
1	0.599 8	10.783 2		13.962 3	96.338		
2	0.599 3	10.774 2		13.962 3	96.610		
3	0.598 5	10.759 8	3.300	13.843 5	93.445	97.29	2.84
4	0.599 8	10.783 2		14.021 7	98.138		
5	0.599 5	10.777 8		14.140 5	101.900		

2.8 样品含量测定 取样品 5 份, 按供试品溶液制备项下操作, 制成供试品溶液。精密吸取供试品溶液 $40\mu\text{L}$, 点于硅胶 G 薄层板上, 同时点 $4\mu\text{L}$ 苦参碱对照品, 以氯仿-甲醇-氨水 (5:0.6:0.2) 的下层溶液为展开剂, 展开, 取出晾干。余下步骤同标准曲线项下, 按标准曲线计算苦参碱量, 结果见表 4。

表 4 苦参碱含量测定结果

试验号	吸收度 A	测定值 (mg/g)	平均值 (mg/g)	RSD (%)
1	0.309	17.835		
2	0.310	18.022		
3	0.287	17.991	17.98	0.54
4	0.292	17.945		
5	0.328	18.098		

表 5 酸碱滴定法含量测定结果

试验号	取样量 (g)	氢氧化钠用量 (mL)	苦参碱含量 (mg/g)	平均含量 (mg/g)	RSD (%)
1	0.952 6	6.35	19.004 8		
2	0.946 1	6.26	19.607 2		
3	0.872 1	6.69	18.825 3	19.03	2.21
4	0.890 5	6.70	18.380 7		
5	1.001 2	6.10	19.320 8		

2.9 滴定法含量测定对比 精密称取复方苦参素胶囊内容物 0.9g, 共 5 份, 置具塞锥形瓶中, 加入浓氨试液饱和的氯仿按正交优选条件超声提取, 过滤, 取续滤液置蒸发皿中, 蒸干; 残渣加 5mL 无水乙醇使溶解, 挥散乙醇, 残渣加乙醚 5mL, 精密加 0.01mol/L 硫酸液 10mL, 加热溶解, 挥散乙醚, 加新煮沸过后冷却的蒸馏水 15mL 及甲基红指示剂 2

滴,用 0.02mol/L 的氢氧化钠液滴定至黄色,计算苦参碱的含量,为 19.03mg/g,结果见表 5^[4]。

3 苦参碱的稳定性研究

3.1 样品的处理 取同一批号的复方苦参素胶囊 20 粒的内容物置于洁净的 100mL 输液瓶中,密封,分别置 40、50、60、70℃ 的恒温烘箱中,一定时间后快速取出冷却,备用。

3.2 供试液和对照品液的制备 参见 1.2 项。

3.3 含量测定 参见 2.8 项,结果见表 6 及图 1。

根据 Arrhenius 指数定律 $\log K = -\frac{E}{2.303R} \cdot \frac{1}{T} + \log A$,以 $\log K$ 对 $1/T$ 作线性回归得直线方程: $\log K$

$$= 21.4315 - \frac{7750.6242}{T}, |r| = 0.9998, \text{将室温 } 20^\circ\text{C} (T = 293\text{K}) \text{ 代入直线方程得 } K_{20^\circ\text{C}} = 9.525 \times 10^{-6}, \text{求得有效期: } t_{0.9}^{20^\circ\text{C}} = \frac{0.1053}{9.525 \times 10^{-6}} = 11054\text{h} = 460\text{d} = 1.2\text{y}。$$

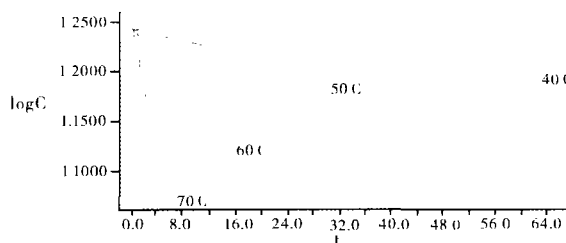


图 1 不同温度下的回归曲线

表 6 复方苦参素胶囊加速试验结果

温度	时间 t(h)	吸收度 A	含量 C (mg/g)	lgC	回归方程	r	K	lgK	1/T
40℃	0	0.289	17.5428	1.2441	$\log C = 1.24376 - 0.000208125t$	0.9974	4.7931×10^{-4}	-3.3194	3.1949×10^{-3}
	16	0.286	17.3700	1.2398					
	32	0.283	17.2703	1.2373					
	48	0.280	17.1356	1.2339					
	64	0.276	16.9980	1.2304					
50℃	0	0.290	17.6491	1.2467	$\log C = 1.24694 - 0.0011525t$	0.9992	2.6542×10^{-3}	-2.5761	3.0960×10^{-3}
	8	0.284	17.2902	1.2378					
	16	0.280	16.9200	1.2284					
	24	0.274	16.6029	1.2202					
60℃	0	0.288	17.4985	1.2430	$\log C = 1.2426 - 0.00604t$	0.9989	0.01391	-1.8567	3.0030×10^{-3}
	4	0.272	16.4523	1.2162					
	8	0.261	15.7257	1.1966					
	12	0.247	14.8108	1.1706					
70℃	0	0.292	17.7813	1.2500	$\log C = 1.25372 - 0.03057t$	0.9981	0.07040	-1.1524	2.9155×10^{-3}
	1.5	0.267	16.1597	1.2084					
	3	0.247	14.7648	1.1692					
	4.5	0.220	13.0281	1.1147					
	6	0.200	11.6833	1.0676					

4 讨论

4.1 本法对所采用的溴麝香草酚蓝缓冲液的 pH 要求较高,pH7.6 需要用 pH 计测定。

4.2 本法在超声提取条件优选时采用了浓氨饱和的氯仿提取液蒸干后的得率为指标,因为在对提取产物中得率最高和最低的产物及得率较高但又相近的几份产物进行酸碱滴定和薄层-紫外分光光度法含量测定后得出结论,得率最高的提取产物中苦参碱的含量亦最高。

4.3 在对苦参碱的含量进行测定过程中,采用了简单的酸碱滴定法进行含量的对比测定,经过多次实验比较,酸碱滴定法虽然简单,但其误差较大,提取物中其他生物碱的存在对结果的准确性有很大的

影响。

4.4 对胶囊中苦参碱的稳定性进行测定时,在一定温度下经过一定时间苦参碱的含量相对于整体变化而言会有所上升,初步估计可能是苦参总碱中有部分氧化苦参碱转化为苦参碱。亦有文献报道,氧化苦参碱与还原性物质共存时在加炭条件下极易转化成苦参碱^[5]。

参考文献:

[1] 王宇. 苦参化学、工艺、制剂及质量研究近况[J]. 中成药, 1997,19(4):39.
 [2] 张奎远,余世春,谢冬梅. 苦参提取工艺的优化选择[J]. 基层中药杂志,2002,16(1):13.
 [3] 邹桂欣,尤献民. 薄层-分光光度法测定参归颗粒中苦参碱含量[J]. 时珍国医国药,2001,12(3):212.

- [4] 蔡中琴. 用正交试验法优选苦参中苦参碱的最佳提取工艺 [J]. 中药材, 1998, 21(4): 203.
- [5] 陆蕴如, 杨钟可, 董育妹. 苦参在复方中化学成分变化的研究

[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(7): 412.

收稿日期: 2004-03-08

复方溶石剂一号的效果及安全性评价

张虹 (武警医学院附属医院特诊科, 天津 300162)

摘要 目的: 评价复方溶石剂一号的效果及毒副作用。方法: 观察各溶石剂一号在 37℃ 的溶石效果; 观察溶石剂一号对家兔结膜的刺激性及对器官和血液生化指标的影响; 并通过手术观察其在狗体内的溶石情况。结果: 复方溶石剂一号在体外和体内均较阳性对照药效果好, 对家兔的结膜基本无刺激性, 对器官和血液生化指标的影响较阳性对照药小。结论: 复方溶石剂一号是一种优良的溶石剂。

关键词 溶石剂; 胆结石; 药物治疗

中图分类号: R575.6+2

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2005)-0024-04

Study on the efficacy and safety of compound lithontripic No. 1

ZHANG Hong (Department of Special Diagnostics, Affiliated Hospital of WuJing Medical College, Tianjing 300162, China)

ABSTRACT Objective : To evaluate the efficacy and the side effect of compound lithontripic No. 1. **Method** : The lithontripic efficacy of the compound lithontripic No. 1 at 37℃ and the thrill to rabbit's eyes were observed. The effect of lithontripic No. 1 to the apparatus and hematological index were researched. The lithontripic effect on postoperative dog was also observed. **Results** : The effect of Lithontripic No. 1 is better than the positive controlled drug in vitro and in vivo. The lithontripic No. 1 hadn't any thrill to rabbit's eyes and the effect on apparatus and hematological was less than the positive controlled drug. **Conclusion** : The lithontripic No. 1 is a kind of good compound in treatment of gallstone.

KEY WORDS lithontripic; gallstone; medication

在我国胆结石发病率在 8% ~ 13% 之间, 发生的位置分布在胆囊、胆总管、肝内外胆管, 我国以原发性胆管结石所占比例较高, 但胆囊结石所占比例近 10 年来有上升趋势^[1]。胆石症临床上以往多采用手术切除胆囊的手术方法治疗, 由于创伤大, 术后常引起消化不良、嗝气、食道返流等术后综合征, 病人痛苦大, 所以在临床上应用有很大的局限性; 目前多采用通过窦道用胆道镜取胆道石, 或对无体外窦道者在内镜下作 Oddi 括约肌切开 (EST) 取石或经皮经肝胆道镜 (PTCS) 取石^[2]; 但是这些治疗费用较大, 很多患者难以接受。从 20 世纪 80 年代初开始, 针对胆结石国内外都进行了非手术疗法治疗的研究, 各种方法各有利弊, 其中口服溶石药物治疗周期长、疗效差; 而结合介入方法将胆结石溶石剂直接注入胆囊或胆管内, 具有对病人损伤小、效果好、恢复快、费用少等特点, 已经成为对手术治疗的必要补充^[3,4]。

本课题就第二军医大学研制的复方溶石剂一号

与现有的胆结石溶石剂进行了体外的溶石情况、局部刺激性、生物学毒性以及体内溶石情况的比较, 以此对溶石剂进行全面的比较评价。

1 实验材料和仪器

人胆结石样本 (包括胆固醇结石、胆色素结石和混合性结石, 重 0.35g ~ 5g), 由长征医院普外科、江苏武警总队医院、河南偃师市人民医院提供; 复方溶石剂一号, 由第二军医大学药学院有机化学教研室提供; 新西兰兔 (雌雄各半, 体重 2.5kg ~ 3.0kg), 杂种犬 (体重约 15kg), 均由第二军医大学实验动物中心提供。

血液生化指标由长征医院实验科测定 (美国贝克曼公司仪器及 ACX4 系列试剂); 病理学检验由长海医院病理科协助完成。

2 实验方法

2.1 体外溶石实验 将 0.5g 胆结石标本与溶石剂 2 mL 置于试管内, 在 37℃ 恒温水浴箱内, 观察记录胆结石溶解时间, 2h 后取出残留胆石, 分别烘干称