

●方药研究●

甘油果糖注射液中氯化钠的含量测定研究

杜敏¹ 周华英² 李惠军²

(1 广东化工制药职业技术学院 广州 510520; 2 北京迈劲医药科技有限公司 北京 100101)

摘要 :目的 :对甘油果糖注射液中氯化钠含量进行测定。方法 :采用国家药品标准的高效液相色谱以及美国药典滴定分析法测定甘油果糖注射液中氯化钠的含量。结果 :表明氯化钠在色谱系统中有较长时间的保留平衡过程 ,同时果糖产生的杂质与氯化钠的色谱保留时间一致 ,影响氯化钠的测定。结论 :改用滴定分析法测定注射液中的氯化钠 ,方法简便 ,专属性强 ,结果准确、可靠 ,精密度良好、回收率高。

关键词 :甘油果糖注射液 ;氯化钠 ;含量测定 ;滴定分析法

Objective:To determination of the contents of Sodium Chloride in the Glycerol and Fructose Injection .Methods:Determination of the contents of Sodium Chloride with HPLC and titrimetric analysis.Result:It is showed that the balance process of Sodium Chloride in the column is long. Further more, the retention time of the impurity from Fructose is overlap with which of Sodium Chloride, which will effect the determination of the Contents of Sodium Chloride in the Glycerol and Fructose Injection.Conclusion:It is simply to determine the contents of Sodium Chloride use the titrimetric analysis with silver nitrate titrant, and the method is satisfaction, the RSD% is less than 1%, and the average recovery is 99.88%.

关键词: Glycerol and Fructose Injection; Sodium Chloride; Determination of the Contents; titrimetric analysis

中图分类号 :R 927.2 文献标识码 :B 文献编号 :1671-4040(2005)02- 069-03

颅内压增高、脑水肿是神经外科常见的疾病,长期以来临床上一直使用甘露醇进行治疗,但其长期使用的副作用较多。20 世纪 80 年代开发的甘油果糖注射液,作为甘露醇注射液的替代药物,用于脑血管病、脑外伤、脑肿瘤、颅内炎症及其他原因引起的急慢性颅内压增高、脑水肿等症,在临床上得到了广泛的应用。甘油果糖注射液已载入国家药品标准 (WS1- (X-096) -2000Z),每 1000mL 中含有甘油 100g、果糖 50g、氯化钠 9g。该产品中的 3 种主要成分采用高效液相色谱法,以丙二醇为内标物测定含量。作者在研究中发现,本品中的氯化钠在用 HPLC 法测定时,存在两个方面的问题:(1)氯化钠在色谱柱中有较长时间的保留平衡;(2)果糖产生的杂质的保留时间与氯化钠的保留时间一致。作者在对原质量标准的氯化钠含量测定方法考察的基础上,改用硝酸银滴定法测定甘油果糖注射液中氯化钠的含量,结果准确、可靠。

1 材料与仪器

1.1 药品 甘油(南通中东药业有限公司);果糖(江苏省黄海药业有限公司);氯化钠(重庆大新药业股份有限公司);甘油果糖注射液(自制,批号 GF040811、GF040812、GF040813,250mL,内含甘油 25g、果糖 12.5g、氯化钠 2.25g);果糖注射液(自制,批号 FR040815,100mL:5g)。其它试剂均为分析纯。

1.2 仪器 HP1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);UV260 型紫外可见分光光度计(日本岛津);H 型柱(Rezex RCM-Monosaccharide 柱,Phenomenex,美国)。

2 试验方法与结果

2.1 氯化钠在高效液相色谱柱的保留平衡性考察

2.1.1 高效液相色谱条件 用磺酸型聚苯乙烯与二乙烯苯共聚体阳离子交换树脂 H 型为填充剂(色谱柱为 Rezex

RCM Monosaccharide,300 伊.8mm),柱温为 50益,以 0.04mol/L 磷酸溶液为流动相,检测波长为 200nm。理论板数按氯化钠峰计算应不低于 3500,氯化钠峰、果糖峰、甘油峰和内标物质峰的分离度均应符合要求。

2.1.2 试验方法 取氯化钠,用流动相配制成浓度约为 0.45mg/mL 的溶液,吸取 20 μ 注入液相色谱仪,记录色谱图。取上述溶液,每隔 9min 吸取 20 μ L 注入液相色谱仪,连续进样 10 次,记录色谱图。

2.1.3 试验结果 氯化钠的高效液相色谱图见图 1。从图可见氯化钠的保留时间约为 7.2min。氯化钠溶液连续进样后的色谱图见图 2,从图可见氯化钠的峰面积逐渐增加,然后趋于平稳,进样 10 次后峰面积稍有下降。

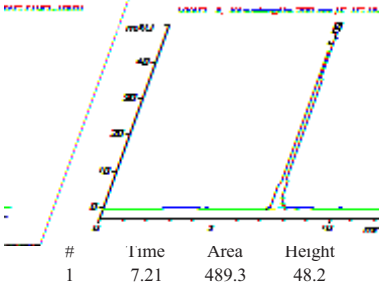


图 1 氯化钠的高效液相色谱图

2.2 果糖的杂质考察

2.2.1 高效液相色谱条件 高效液相色谱条件与“2.1.1”项下的相同。

2.2.2 试验方法 取果糖,用水溶解并稀释成浓度约为 50mg/mL 的溶液,精密量取此溶液 5mL 置 100mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,取 20 μ L 注入液相色谱仪,记录色谱图。精密量取自制的果糖注射液 5mL 置 100mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,取 20 μ L 注入液相色谱仪,记录色谱图。

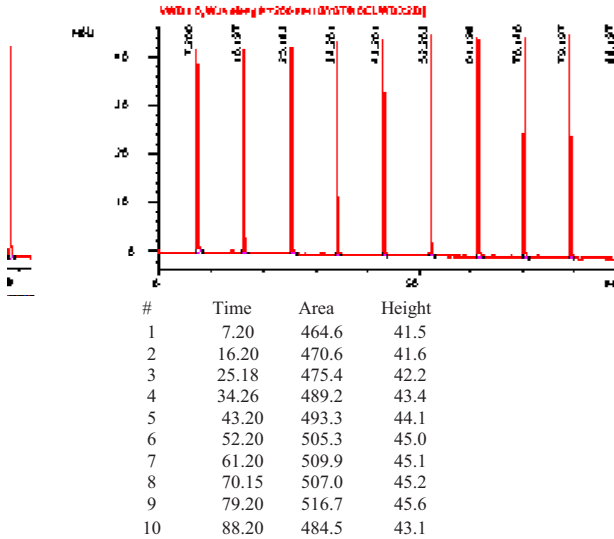


图 2 氯化钠溶液连续进样的高效液相色谱图

2.2.3 试验结果 果糖溶液的色谱图见图 3。从图可见果糖的保留时间约为 11min。果糖注射液的 HPLC 图见图 4。从图可见，果糖经过注射液配制过程（高温灭菌）后，产生了保留时间约为 7.2min 处的杂质峰，该杂质峰与氯化钠的保留时间基本一致。

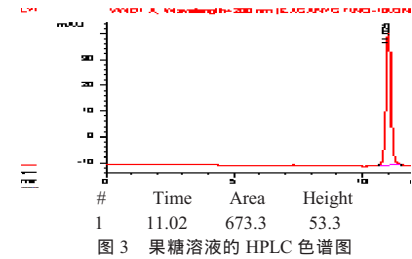


图 3 果糖溶液的 HPLC 色谱图

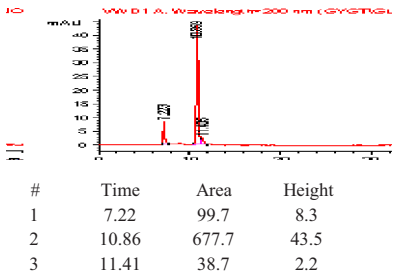


图 4 果糖注射液的 HPLC 谱图

2.3 甘油果糖注射液 HPLC 测定

2.3.1 高效液相色谱条件 高效液相色谱条件与“2.1.1”项下的相同。

2.3.2 试验方法 取 1,2- 丙二醇 15mL，用流动相稀释至 100mL，摇匀，即得内标溶液。精密量取甘油果糖注射液 5mL 与内标溶液 10mL，置 100mL 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，取 20μL 注入液相色谱仪，记录色谱图。

2.3.3 试验结果 甘油果糖注射液的 HPLC 图见图 5。从图可见，注射液样品约在 11.3min 和 32.3min 处有 2 个杂质峰，而 7.2min 处的杂质峰与氯化钠峰重叠。

由上面试验可知，由于果糖经高温灭菌后，产生的杂质与氯化钠的 HPLC 保留时间一致，果糖产生的杂质会对氯化钠的 HPLC 法含量测定产生影响，使氯化钠的含量偏高。另

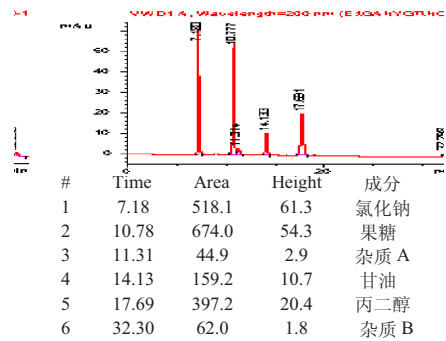


图 5 甘油果糖注射液 HPLC 图

外，由于氯化钠在色谱柱中有一个长时间的平衡过程，从试验结果看，至少需要进样 5 次后，氯化钠才会趋于平衡，但是由于甘油果糖注射液样品在约 32.2min 处有一个较大的杂质峰，每个样品的记录时间至少需要 35min，也就是说，氯化钠趋于平衡的时间需要约 3h。这将大大影响生产过程中产品检验的效率。因此使用高效液相色谱法测定氯化钠的含量并不合适。

2.4 氯化钠的测定方法

2.4.1 测定方法 参考美国药典 27 版（USP27 - NF22 第 842 页）所载“果糖氯化钠注射液”中氯化钠的滴定分析方法进行含量测定。精密吸取甘油果糖注射液 10mL，置锥形瓶中，加冰乙酸 10mL，甲醇 75mL，曙红 Y 试液 0.5mL，用 0.1mol/L 的硝酸银滴定液滴定至粉红色。每 1mL 硝酸银滴定液相当于氯化钠 5.844mg。

2.4.2 干扰试验 按甘油果糖注射液的处方配制不加氯化钠的空白溶液，精密吸取 10mL，置锥形瓶中，加冰乙酸 10mL，甲醇 75mL，曙红 Y 试液 0.5mL，用 0.1mol/L 的硝酸银滴定液滴定，消耗硝酸银滴定液的体积均与零十分接近，表明无干扰。

2.4.3 精密度试验 取样品（GF040811），精密量取 10mL，置锥形瓶中，加冰乙酸 10mL，甲醇 75mL，曙红 Y 试液 0.5mL，用 0.1mol/L 的硝酸银滴定液滴定，重复滴定 6 次。6 次滴定的结果为（99.83依.43）（%），表明测定方法的精密度良好。

2.4.4 回收率试验 分别按处方量的 80%、100%、120%，精密称取氯化钠适量（分别约 0.72g、0.90g、1.08g），置 100mL 量瓶中，再按处方加入甘油 10g、果糖 5g，加水稀释至刻度制成模拟样品，每个浓度各 3 份，共 9 份。精密量取上述 9 份模拟样品 10mL，依法测定。3 种加样量的回收率分别为：（99.94依.32）、（99.79依.25）、（99.91依.27）；9 份样品的平均回收率为：（99.88依.25）；可见测定方法的回收率高。

2.4.5 测定结果 对三批甘油果糖注射液（GF040811、GF040812、GF040813）中氯化钠的含量分别用滴定法和高效液相色谱法（国家药品标准（WS1-（X-096）-2000Z））进行测定，每批测定 5 次。滴定法测定结果分别为：（99.71依.033）、（99.16依.24）、（100.37依.41）；液相法测定结果分别为：（102.63依.63）、（101.09依.05）、（103.94依.32）。从测定结果可见，滴定法测定的结果波动小，高效液相色谱法测定的结果波动大，而且结果比滴定法测定的结果偏高。因此本

现代痔疮药物的实验临床研究概况

郭静¹ 张毅²

(1 成都中医药大学 四川成都 610075; 2 四川省中医药研究院 成都 610041)

关键词 痔疮药物;实验研究;痔疮;临床研究;综述

中图分类号 R 657.1*8

文献标识码 A

文献编号: 1671-4040(2005)02- 0071-02

1 实验研究

金某等^[1]观察金氏痔疮膏的抗炎、镇痛、止血和止痒效果。方法:将动物随机分成 5 组,包括对照组、马应龙麝香痔疮膏组、金氏痔疮膏高剂量组、中剂量组和低剂量组。采用二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀及醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性增高模型,观察金氏痔疮膏的抗炎作用;通过热板法及化学刺激法观察该药的镇痛作用;采用断尾法测定出血时间,玻片法测定凝血时间;通过磷酸组胺致痒观察该药的止痒效果。结果:金氏痔疮膏对小鼠耳廓肿胀及腹腔毛细血管通透性增高均有明显的抑制作用,而且其抑制作用与马应龙麝香痔疮膏相比,差异有显著性意义;该药对热传导及化学刺激引起的拟痛反应有明显的镇痛作用;该药明显缩短小鼠的出血时间和凝血时间,且与马应龙麝香痔疮膏相比,差异有显著性意义;该药能明显提高豚鼠致痒阈;金氏痔疮膏具有良好的抗炎、镇痛、止血和止痒功效,且其抗炎和止血效果优于马应龙麝香痔疮膏。王某等^[2]做马应龙麝香痔疮栓抗炎镇痛作用的实验研究,实验选用小鼠 50 只,雌雄各半,随机分为 5 组,给药组高、中、低剂量组分别 30%、20%、10%马应龙麝香痔疮栓;对照组为基质;阳性对照组为肤轻松软膏。采用小鼠耳肿胀法对二甲苯所致耳廓炎症的影响、小鼠皮内色素渗出法、热板镇痛法、小鼠断尾出血时间测定法,经统计学处理结果表明,马应龙麝香痔疮栓高、中、低剂量组及肤轻松软膏组与基质对照组相比差异均有显著性($P<0.01$),说明马应龙麝香痔疮栓对二甲苯所致耳廓肿胀有消炎作用,可拮抗组胺引起小鼠毛细血管通透性增加,有明显的镇痛、止血作用。杨某等^[3]取小鼠 40 只,随机分为 4 组,灌胃给予生理盐水、槐角丸(3.6g/kg)、痔疮止血丸(3.6、7.2g/kg),每天给药 1 次,连续 6d。末次给药 1h 后,(1)通过小鼠断尾实验了解痔疮止血丸对小鼠出血时间的影响;(2)用内径为 1mm 的

玻璃毛细管分别插入各鼠内眦球后静脉丛取血至管内血柱达 5cm,每隔 30S 折断玻璃毛细管一小段,检查有无血凝丝,计算从玻璃毛细管采血到出现血凝丝的时间,了解痔疮止血丸对大鼠凝血时间的影响;(3)用内径为 1mm 的玻璃毛细管分别插入各鼠内眦球后脉丛取血,检测大鼠血小板总数;(4)各小鼠分别尾静脉注射 0.5%伊文思蓝溶液 0.2mL/只,并同时腹腔注射 0.6%冰乙酸 0.2mL,20min 后断头处死,剪开腹腔,用 5mL 蒸馏水冲洗腹腔数次,用吸管取腹腔液约 465mL 置于刻度试管,离心 5min,取上清液在 722 型分光光度计 590nm 处测定光密度(OD)值,了解对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响;(5)用容积法分别测定各鼠右后中足跖容积,再于各鼠右后足跖皮下注射致炎剂 1%角叉菜胶 0.1mL,致炎后每隔 1h 测定 1 次各鼠右后足跖容积,计算足跖肿胀率,了解对大鼠足跖肿胀程度的影响;并都采用组间 t 值法与空白对照组进行显著性测定。比较结果表明采用组间 t 值法与空白对照组进行显著性测定比较,痔可明显减少小鼠断尾后出血自然停止时间,可明显减少大鼠凝血时间,当剂量为 7.2g/kg 时,痔疮止血丸可明显减少小鼠腹腔伊文思蓝的渗出,可明显降低大鼠足跖肿胀率,与空白对照组比较有统计学上的显著性差异。

2 临床研究

吴某^[4]收集 92 例痔疮患者符合高脂、高粘血症诊断,随机分为 2 组。治疗组 47 例,其中 I~II 期内痔 17 例,III 期内痔(包括混合痔)21 例,血栓性外痔 9 例;对照组 45 例,其中 I~II 期内痔 15 例,III 期内痔(包括混合痔)19 例,血栓性外痔 11 例。治疗组采用消痔胶囊(由大黄、地榆炭、炒槐花、生地等药物组成)口服,每次 4 粒(含生药 0.5g/粒),每日 3 次,疗程 20d;对照组采用痔疮片口服,疗程同治疗组。治疗结果:治疗组经治疗后各项异常升高的血脂指标均显著下降,

含量测定方法改用滴定法更准确、可靠。

3 讨论

(1)氯化钠在色谱系统中有较长时间的保留平衡过程,样品在 32min 处有一个杂质峰,运行一个样品大约要 35min,一般需要 4h 以后,氯化钠才会达到平衡,此对产品的质量非常不利。(2)按国家药品标准(WS1-(X-096)-2000Z)的方法测定甘油果糖注射液 3 种主药的含量,氯化钠的保留时间约为 7.2min,果糖的保留时间约为 10.8min。但是,果糖在经过高温灭菌过程后,产生了一个明显的杂质,保留时间与氯化钠相近,都在 7.2min 附近,这对氯化钠的测

定影响很大。(3)未经灭菌的甘油果糖注射液按标准的方法测定 5-羟甲基糠醛时,A284nm 约为 0.030,但注射液经灭菌后,A284nm 增加至约为 0.68。说明果糖经灭菌后,5-羟甲基糠醛的量大大增加。作者同时对经灭菌的葡萄糖注射液进行 HPLC 法测定,发现主峰的保留时间约为 11.4min,与果糖的保留时间接近,说明主峰应为葡萄糖,同时,在 7.2min 处也出现一个较大的杂质峰,这说明,在 7.2min 处的杂质峰很可能是 5-羟甲基糠醛的色谱峰。这进一步证明在 7.2min 处的果糖等糖类产生的共同杂质峰将会对氯化钠的测定产生影响。(4)参考美国《药典》27 版所载的“果糖氯化钠注射液”测