

法对试验菌进行回收试验。其中至少有一株试验菌的回收率小于 10%、50%、70% 及 80% 的样品数分别为 47、63、66 及 75 个, 分别占 25.3%、33.9%、35.5% 及 40.3%。试验结果表明了按现版的药典方法 2 试验菌在样品中的回收情况汇总

试验菌株	实验样品总数	回收率(%)					占有回收率小于 70% 的样品的比例
		< 10	< 30	< 50	< 70	< 80	
大肠埃希菌	152	11	14	15	19	19	19/37(51.4%)
		7.2%	9.2%	9.9%	12.5%	12.5%	
金黄色葡萄球菌	186	35	42	46	52	55	52/66(78.8%)
		18.8%	22.6%	24.7%	28.0%	30.0%	
铜绿假单胞菌	93	3	5	7	12	14	12/29(41.4%)
		3.2%	5.4%	7.5%	12.9%	15.0%	
枯草芽孢杆菌	93	15	21	24	25	25	25/29(86.2%)
		16.1%	22.6%	25.8%	26.9%	26.9%	
白色念珠菌	186	25	25	29	33	35	33/66(50.0%)
		13.4%	13.4%	15.6%	17.7%	18.8%	
综合评价	186	47	55	63	66	75	
		25.3%	29.6%	33.9%	35.5%	40.3%	

从表 2 看出, 在回收率小于 70% 的 66 个样品中, 进行铜绿假单胞菌、白色念珠菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌回收试验的样品数分别为 29、66、37、66、29 个, 回收率小于 70% 的样品分别占 41.1%、50.0%、51.4%、78.8%、86.2%。说明铜绿假单胞菌、白色念珠菌、大肠埃希菌对药品的敏感性基本相当, 金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌对药品较敏感。在日常进行的微生物限度检查中, 发现药品中污染枯草芽孢杆菌的机率比较高, 所以验证试验应充分考虑供试品对该菌的抑制作用程度。

从表 1 可看出, 采用同样的检查法, 同一个微生物在不同样品中的回收率是不同的; 同一个样品, 不同微生物的回收率也不相同, 并且回收率的结果相

差很大。因此, 验证试验不能只采用单一的菌株为指标, 这样不能体现样品的实际抑菌程度, 而应选择各相关的有代表性的菌种进行回收率的确证, 只有各类代表菌在同一检查法下的回收率均符合要求时, 该检查法才能用于样品的检验。

任何检查法均有它的局限性, 同样的, 在药品微生物限度检查中, 不同测定法导致不同的菌数测定结果, 它将直接影响着检验结果的判定。因此, 药品的微生物限度检查方法需经验证, 以确定所采用的方法适合于该样品的微生物限度检查, 验证合格后方可使用, 以保证检验结果的可靠性。另外, 当药物的生产方法变更、制剂组分发生改变、检查法修订或检验条件发生改变时, 检查方法也应重新进行验证。

中药注射剂指纹图谱研究的现状和分析

王 旭 王国荣(国家药典委员会 北京 100061)

Current Conditions and Evaluation of Research for Finger Prints of Injections of Traditional Chinese Medicines

Wang Xu and Wang Guorong(State Pharmacopoeia Commission, Beijing 100061)

中药成分复杂, 以少数指标性成分控制产品质量不能体现中药的整体性, 因而如何对中药进行整体质量控制是目前中药研究的热点问题。指纹图谱

技术可整体上反应内在成分的情况, 有可能最大化的获得药品质量的信息, 并可指导生产企业对原料、半成品、成品进行质量控制, 将各药味成分含量的波

动控制在一定的范围,尽可能缩小各批次间的差异,以保证质量的稳定和均一。

按照国家食品药品监督管理局“国药管注【2000】157 号和 348 号文精神正在开展的中药注射剂指纹图谱研究工作情况来看,大部分研究单位通过与生产厂家进行协调,已基本统一了生产工艺的技术参数,为产品质量可靠与稳定奠定了基础。很多研制单位已优选出 HPLC 测定样品指纹图谱的色谱条件和前处理条件,色谱条件基本成熟,所用条件汇集了处方中尽量多药味的信息;部分单位做了色谱峰的归属,进行了一系列方法学考察,具有一定的专属性、重现性和可操作性;各研制单位对方法的耐用性等进行了比较分析,规定了分析条件中的细节(如仪器、色谱柱),并根据多批样品的情况,制定出标准图谱。并对所用的原药材的基源、产地、采收季节、商品规格等进行了较系统化的研究,有些企业还建立了专门的药材种植基地,对生产中的半成品也进行了研究,建立了药材、半成品、成品三者相关的图谱。

一、中药注射剂现阶段指纹图谱研究工作存在的主要问题:

1. 部分研究项目的指纹图谱所提供的信息尚不能反映处方中全部药味的信息,有些图谱只是反映其中少数药味的信息,不能完全代表注射剂的质量。

2. 大部分指纹图谱标准需固定色谱柱型号和仪器型号,且为了得到样品的全部信息,多数标准采用梯度洗脱。由于梯度洗脱往往需要根据仪器、色谱柱等随时微调流动相比,不能简单套用,因此不同实验室、仪器、色谱柱间方法的重现性是日后指纹图谱检验需克服的首要困难。特别是与已经固定模式化的标准图谱进行对比,色谱峰的分离情况对结果影响较大,有时甚至会出现色谱峰顺序颠倒与合并。如何消除仪器、色谱条件的差异,使指纹图谱真正反映药品的内在质量情况,是指纹图谱能否实施的关键问题。

3. 有些中药材本身差异很大,即使同一地区生产的药材也有相当的差异,按固定的处方药材量投料,给成药的生产均一性造成很大困难,致使有些成分含量差异很大,有时差异高达几倍,若降低相似度的阈值,则对控制批间和厂家间差异意义不大。

二、设想及建议:

1. 若能够制备出相对标准化的对照提取物。则建议随行测定代替标准图谱,用样品指纹图谱与对

照提取物指纹图谱计算相似度,以消除仪器、色谱柱等的影响,提高方法的重现性。

其关键问题是能否制备出对照提取物。对照提取物要求批与批间稳定均一,但由于制剂是由不同批次药材和在不同条件下制成的,其中有很多可变因素,难于用某一批样品来完全代表标准样品以制备对照提取物。对照提取物的波动性,在检验中可能放大,对检验结果有一定的影响,但我们认为可在原研制的色谱条件下(规定的仪器、色谱柱),通过对特征峰的峰面积进行严格限定(如限定在标准图谱的 90%—110%或更宽),采用混批的形式经勾兑制成相应的样品,按照注射剂指纹图谱前处理方法制成对照提取物,检验中可通过相应放宽相似度限度来消除部分峰变化引起的误差,保证对照提取物的可行性。对照提取物的制备,建议由原研制单位或指定的检验部门完成,以保证对照提取物最大限度的一致性。对照提取物最好为干燥品,并在规定的条件下保存,如充氮气保存,并定期标化更新。

如有可能制备标有含量的对照提取物,对明确的有效成分进行定量测定,使含量测定与指纹图谱测定同时完成,可大大简化操作,控制多个成分,节省对照品。

2. 在规定仪器、色谱柱的情况下,尽可能细化梯度洗脱的条件。除规定理论板数外,建议规定某些敏感色谱峰的分离指数,或易合并色谱峰的分离判定指标,并在起草说明或相关材料中列出指导检验部门调整梯度的建议,确保图谱中色谱峰的分离。对多点定位,建立增加采用二极管阵列检测器,采用峰位和吸收波长同时定位,以防止定位错误。

3. 建议对每个药味在制剂工艺中各步骤色谱峰的变化进行更详细的考察,明确各步骤对成分的影响,用以指导生产中的工艺控制。并逐步进行与疗效相关的有效部位的研究,根据所选的有效部位,确定指纹图谱的研究指标,为优化生产工艺和提高疗效提供依据。

4. 为了控制成品的均匀性,不同厂家的产品工艺参数,包括详细的工艺参数应尽量一致。为了保证批间的一致性,建议采用提取物投料的方法。对含量差异较大的药材,建议先测定药材的指纹图谱和相应的指标含量,根据药材指纹图谱结果,采用药材混批的形式,或按一定量调整不同批次半成品量,在规定的投料量范围内,制备出工业化的均一的成品,在无法控制天然产物(药材)的量的情况下,最有效的控制成品的均一性。

指纹图谱工作是一项艰巨而有意义的工作,需要 管理部门、生产单位与研究单位通力配合才能完成。

心安宁片中葛根、山楂、制何首乌 TLC 鉴别和大黄素含量测定研究

梁洪华 王军栋(烟台市药品检验所 山东烟台 264000)

摘要 目的: 建立心安宁片中葛根、山楂、制何首乌的 TLC 定性鉴别法和大黄素的高效液相色谱含量测定法。**方法:** 以葛根素为对照品,采用氯仿-甲醇(3:1)为展开剂,在 UV365nm 下检视;以齐墩果酸为对照品,采用氯仿-乙醚(1:0.8)为展开剂,30% 硫酸溶液为显色剂;以大黄素、大黄素甲醚为对照品,采用石油醚(30~60℃)-醋酸乙酯-冰醋酸(9:2:0.1)为展开剂,在 UV365nm 下检视,分别对心安宁片中葛根、山楂、制何首乌进行薄层色谱法鉴别。采用 Hypersil BDS C₁₈柱(4.6mm×250mm, 5μm),甲醇-水-磷酸(90:30:0.2)为流动相,检测波长为 288nm,流速为 1.0ml·min⁻¹,柱温为 35℃。**结果:** 葛根素、齐墩果酸和大黄素、大黄素甲醚斑点清晰,阴性对照无干扰。HPLC 定量分析中,大黄素的线性范围为 1.132~11.320μg·ml⁻¹,r=0.9999,平均回收率为 99.5%,(RSD=1.5%,n=9)。**结论:** 该方法简便,快速,结果准确,重现性好。可用于该制剂的质量控制。

关键词 葛根素;齐墩果酸;大黄素;大黄素甲醚;心安宁片;HPLC;TLC;质量控制

TLC Identification for Radix Puerariae and Fructus Crataegi and Radix Polygoni Multiflori Preparata and the Quantitative Analysis of Emodin by HPLC in Xin'an Ning Tablets

Liang Honghua, Wang Jundong (Yantai Institute for Drug Control, Shandong Yantai 264000)

Abstract Objective: To develop the TLC identification for Radix Puerariae and Fructus Crataegi and Radix polygoni Multiflori Preparata and the quantitative analysis of Emodin by HPLC in Xin'an Ning Tablets. **Methods:** Radix Puerariae and Fructus Crataegi and Radix Polygoni Multiflori Preparata were identified by TLC, respectively, using puerarin and oleanolic acid and emodin and physcion as chemical reference substances, and chloroform-methanol(3:1) and chloroform-diethyl ether(1:0.8) and petroleum ether-ethyl acetate-glacial acetic acid(9:2:0.1) as mobile phases. Emodin contents were determined by HPLC using the BDS reversed-phase column of Hypersil C₁₈(4.6mm×250mm, 5μm), the mobile phase was a combination of methanol-water-phosphoric acid(90:30:0.2) at the flow rate of 1.0ml·min⁻¹, and the detection wavelength was 288nm, and column temperature at 35℃. **Results:** The TLC chromatograms of puerarin and oleanolic acid and emodin and physcion were of clearness, good separation, and no interference. The emodin contents in Xin'an Ning Tablets were determined by HPLC, in the linear range of 1.132 to 11.320μg·ml⁻¹, r=0.9999, and the recovery of 99.5% (RSD=1.5%). **Conclusion:** The method is simple, quick, accurate, reproducible and can be used for the quality control of emodin of Xin'an Ning Tablets.

Key words: puerarin, oleanolic acid, emodin, physcion, Xin'an Ning Tablets, HPLC, TLC, Quality control

心安宁片是由葛根、山楂、制何首乌及珍珠粉 4 味中药材制成的中成药,收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第四册,具有养阴宁心、化症通络、降血脂之功效。用于治疗血脂高、心绞痛以及高血压引起的头痛、头晕、耳鸣、心悸等症。该标准只有性状鉴别,尚无定性鉴别及含量测定项目,故不能有效地控制药品的内在质量,本文建立了葛根、山楂、制何首乌的 TLC 定性鉴别方法及制剂中制何首乌的大黄素的高效液相色谱含量测定方法,为心安宁片的质量标准现代化研究提供科学依据。

1. 仪器与试剂

LC-2010A 型高效液相色谱仪, CLASS-VP 色

谱数据处理工作站,日本岛津;BP211D 型电子分析天平,德国塞多利斯;SB3200 型超声提取器,上海;HY-4 调速多用振荡器,上海;薄层板自制。

对照品葛根素、齐墩果酸、大黄素、大黄素甲醚及对照药材葛根、山楂、何首乌均购自中国药品生物制品检定所;心安宁片为烟台中州制药厂生产;葛根、山楂、制何首乌阴性样品,委托烟台市中医院制剂室加工。甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

2. 定性鉴别

2.1 葛根的薄层色谱鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 取本品去糖衣研