

考察不同剂量⁶⁰C₀-γ 射线辐照对冠心病 灭茵效果和含量的影响

李奉勤*, 史冬霞, 范文成, 粘立军, 张瑞红, 叶晓红
(石家庄以岭药业股份有限公司, 河北 石家庄 050035)

[摘要] 目的: 测定冠心病在不同剂量的⁶⁰C₀-γ 射线辐照前后对主要成分芍药苷含量和灭茵效果的影响; 方法: 采用高效液相色谱法, 以芍药苷为对照品; 结果: 冠心病在不同剂量的⁶⁰C₀-γ 射线辐照前后其主要成分芍药苷含量无明显变化, 卫生学指标符合要求, 以 6KGy ⁶⁰C₀-γ 射线辐照效果最佳; 结论: 以 6KGy ⁶⁰C₀-γ 射线辐照冠心病的灭茵方法有效可行。

[关键词] 高效液相色谱法; ⁶⁰C₀-γ 射线; 冠心病; 芍药苷

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)03-0005-02

我公司医院制剂室生产的冠心病, 由土鳖虫、蜈蚣、水蛭、蝉蜕、全蝎直接粉碎的细粉和赤芍与人参等的提取物混合而成, 具有益气活血, 通络止痛的功效, 主要用于冠心病心绞痛证属心气虚乏, 血瘀络阻者的治疗; 由于其中含有大量虫类药的生药粉, 卫生学难以控制, 其中的成分芍药苷的性质不稳定, 遇热容易受到破坏^[1-2], 干热和湿热灭茵温度高, 时间长, 芍药苷易受破坏, 而⁶⁰C₀-γ 射线辐照灭茵温度几乎不增加, 但同类药材采用⁶⁰C₀-γ 射线辐照灭茵的实验, 未见报道, 所以我们应用不同剂量⁶⁰C₀-γ 射线辐射灭茵, 观察辐射前后对灭茵效果的影响, 并对其主要成分芍药苷采用高效液相色谱法对不同剂量⁶⁰C₀-γ 射线辐照前后冠心病的芍药苷含量是否变化作对比实验。

1 仪器-试药

Waters7725r-515-486 高效液相色谱仪(生产厂家: 美国 Waters), 芍药苷对照品(中国药品生物制品所, 批号: 0736-200219), 化学试剂: 甲醇为色谱纯, 其余为分析纯; 冠心病(石家庄以岭药业股份有限公司生产)。

2 辐照剂量

取 5 批冠心病, 每批分别按 4KGy、6KGy、8KGy、10KGy、12KGy 5 个不同的剂量由石家庄辐射

中心辐照。

3 ⁶⁰C₀-γ 射线辐照前后芍药苷含量的考察

3.1 冠心病供试品溶液的制备^[3] 取冠心病原粉约 0.25g 精密称定, 置具塞三角瓶中, 精密加入水饱和的正丁醇 25mL, 密塞, 称定重量, 放置过夜。超声振荡 30min, 放冷, 称定重量, 加水饱和的正丁醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 精密量取续滤液 5mL, 置蒸发皿中, 水浴蒸干, 残渣用水 15mL, 石油醚 10mL 分次洗涤, 洗涤液全部转入 50mL 分液漏斗中, 充分振摇提取, 分取水层, 再以石油醚(30~60℃) 5mL 脱脂一次, 分取水层。合并石油醚液, 以水 10mL 分两次洗涤。合并水溶液, 置水浴上蒸干, 残渣以 30% 甲醇定容至 5mL, 以 0.45μm 的微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取经五氧化二磷干燥至恒重的芍药苷对照品约 10mg, 置 100mL 量瓶中, 加 30% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 30mL, 置 50mL 量瓶中, 加 30% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得(每 1mL 中含芍药苷 0.06mg)。

对照品溶液 I:

$$W_1 = 0.23475 - 0.22384 = 0.01091g$$

$$C_1 = 0.1091mg/mL$$

对照品溶液 II: $C_2 = 0.06546mg/mL$

3.3 色谱条件 色谱柱: SymmetryshieldTM RP₁₈(5μm, 4.6×150mm, Waters); 流动相: 甲醇-水(30:70); 流速: 1.0mL/min; 检测波长: 230nm; 理论塔板数按芍药苷峰计算, 应不低于 4000。

[收稿日期] 2005-04-18

[通讯作者] 李奉勤, Tel: (0311) 85901742; E-mail: lfqr@163.

com.

3.4 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 I 5mL, 对照品溶液 II 4mL、8mL, 分别置 10mL 容量瓶中, 用 30% 甲醇稀释至刻度, 摇匀; 编号分别为 A、B、C, 精密吸取 A、B、C 及对照品溶液 I、II 各 10 μ L, 注入色谱仪, 测量峰面积值, 得回归方程 $Y = -1.4 \times 10^4 + 2.05 \times 10^6 X$, 相关系数 0.9999, 结果表明, 芍药苷在 0.2618~1.091 μ g 范围内, 浓度与峰面积呈良好线性关系。

3.5 加样回收率试验 取已知含量的同一批样品 (4.5128mg/g) 9 份, 分为 3 组, 分别精密加入 25mL 不同浓度的芍药苷对照品的 30% 甲醇溶液, 按供试品制备方法处理, 测定, 计算平均回收率为 99.5%, RSD 为 1.7%。

3.6 测试方法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 计算即得 (做平行样取平均值)。

3.7 重复性试验 取同一批样品分别按上述方法测定 5 次, 测得平均值 $X = 4.86$, RSD = 1.1%。

4 结果

4.1 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照前各批含量见表 1。

表 1 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照前各批含量 (mg/g)

批号	040516	040517	040518	040519	040520
含量	4.9	4.8	4.5	4.9	4.9

以上数据表明, 冠心病含量数值遵从正态分布; 所以用 T 检验法观察辐照对含量是否有显著影响, $\alpha = 0.05$, $f = 4$, 查 t 分布临界值表得 t 值为 2.776。

4.2 不同剂量 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照后各批含量结果见表 2。

表 2 不同剂量 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照后各批含量 (mg/g)

批号	辐照剂量 (KGy)					\bar{X}
	4	6	8	10	12	
040516	4.5	4.9	4.3	5.0	4.6	4.8
040517	4.8	4.7	4.7	4.6	4.6	4.7
040518	4.5	4.9	4.5	4.6	4.8	4.6
040519	4.4	4.8	4.5	4.6	4.6	4.9
040520	4.3	5.0	4.7	4.6	4.7	4.8

4.3 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照前后各批含量 T 值检验数据见表 3 由各批 T 值与 2.776 比较可知, 辐照剂量在 12KGy 以内辐照前后主要成分芍药苷的含量无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表 3 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照前后各批含量 T 值检验数据

批号	040516	040517	040518	040519	040520
$t = x - \mu / s / \sqrt{n}$	1.414	2.138	2.138	0.534	1.826

4.4 不同剂量 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照对细菌和霉菌数的影响, 结果见表 4、表 5 由表 4、表 5 数据可知辐照前 5 个批号冠心病的细菌和霉菌数都超标, 在辐照剂量为 6 KGy 时, 冠心病的细菌数和霉菌数均符合卫生学标准。

表 4 不同剂量 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照对细菌数的影响 (个/g)

批号	辐照前	辐照剂量 (KGy)				
		4	6	8	10	12
040516	2.6×10^6	4.3×10^4	290	90	55	10
040517	2.4×10^6	4.1×10^4	615	80	10	10
040518	1.2×10^6	3.4×10^4	205	60	15	20
040519	8.5×10^6	5.0×10^4	535	100	15	< 10
040520	1.27×10^6	2.6×10^4	490	265	15	10

表 5 不同剂量 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照对霉菌数的影响 (个/g)

批号	辐照前	辐照剂量 (KGy)				
		4	6	8	10	12
040516	3300	600	< 10	< 10	< 10	< 10
040517	2800	500	< 10	< 10	< 10	< 10
040518	100	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
040519	2900	400	< 10	< 10	< 10	< 10
040520	250	80	< 10	< 10	< 10	< 10

5 讨论

$^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照灭菌法, 是药品灭菌的一种新型、高效的方法, 特点是穿透力强, 操作简便, 速度快, 可在常温下进行, 但对不同的药品其最佳的辐照剂量也不同, 能达到灭菌效果, 又保持有效成分和疗效的辐照剂量, 应通过实验来确定。尤其是中药, 因原料的来源不同, 其染菌程度可能不同, 更应该通过实验来确定不同药物的最佳辐照剂量。

冠心病通过 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照灭菌, 表明当辐照剂量为 6KGy 时冠心病细菌数和霉菌数均在合格范围内, 并对含量无影响, 避免了干热和湿热灭菌温度高, 时间长, 芍药苷易受破坏的影响; 但辐照残留对以后的含量是否有影响, 有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] 黄夏敏, 彭中芳. 白芍在中成药生产过程中芍药苷含量变化的研究[J]. 中药新药与临床药理, 1998, 9(4): 236.
- [2] 李淑芝, 郭亚键. 不同煎煮条件对芍药苷煎出量的影响[J]. 中成药, 1999, 21(3): 115.
- [3] 国家药品监督管理局. 国家药品标准[S]. WS₃-428(Z-088)-2001-Z