

SEC - RI - MALLS 测定甘露聚糖肽分子量与分子量分布

邹剑, 杨蕾, 林涛, 王觉晓, 马晶, 陈婕, 李炎*

(四川省药品检验研究院 国家药品监督管理局疫苗及生物制品质量控制与评价重点实验室
四川省药品监督管理局生物制品质量监测与风险评估重点实验室, 成都 610097)

摘要 目的:建立尺寸排阻色谱-示差折光-多角度激光光散射检测器联用(size exclusion chromatography - refractive index - multiangle laser light scattering, SEC - RI - MALLS)测定甘露聚糖肽原料药和制剂分子量及分子量分布的方法。**方法:**采用 SEC - RI - MALLS 联用技术,以 0.05 mol · L⁻¹ 硫酸钠溶液为流动相,Shodex OHpak SB - 804 HQ 为色谱分离柱,在流速 0.5 mL · min⁻¹,柱温 35 °C 的条件下对甘露聚糖肽分子量及其分布进行专属性、准确度、精密度、耐用性方法学验证,并与现行质量标准方法进行比较。**结果:**片剂辅料淀粉对测定无干扰,右旋糖酐标准品实测值同标示值的准确度相对误差 < 3.0%;当样品配制浓度为 2 mg · mL⁻¹ 时精密度最好,RSD 为 0.40%;重现性、耐用性 RSD 均不大于 5.0%。79 批次样品采用 Shodex OHpak SB - 804 HQ 色谱柱和 TSK - GEL G4000 PW_{XL} 色谱柱进行测定,结果无显著性差异。SEC - RI - MALLS 法比甘露聚糖肽国家标准方法(GPC 法)的结果平均高 19 509 Da,且分子量分布更为集中。**结论:**SEC - RI - MALLS 法无需标准品就能够测定甘露聚糖肽分子量及其分布,结果准确,耐用性好,与现行方法相比,更有利于该品种的安全性、有效性控制。

关键词:多角度激光光散射;尺寸排阻色谱;凝胶渗透色谱;甘露聚糖肽;分子量与分子量分布

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)02 - 0256 - 08

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024.02.08

Determination of molecular weight and distribution of mannate by means of SEC - RI - MALLS

ZOU Jian, YANG Lei, LIN Tao, WANG Jue - xiao, MA Jin, CHEN Jie, LI Yan*

(Sichuan Institute for Drug Control, NMPA Key Laboratory for Quality Control and Evaluation of Vaccines and Biological Products,
SCMPA Key Laboratory for Quality Monitoring and Risk Assessment of Biological Products, Chengdu 610097, China)

Abstract Objective: To establish a method for determining molecular weight and distribution of raw mannate and its preparation with SEC - RI - MALLS. **Methods:** Specificity, accuracy, precision and robustness of SEC - RI - MALLS method was verified by performing on a Shodex OHpak SB - 804 HQ column with 0.05 mol · L⁻¹ sodium sulfate buffer as mobile phase at a flow rate of 0.5 mL · min⁻¹ and a comparison between SEC - RI - MALLS and GPC was studied too. **Result:** The tablet excipient starch had no interference to the test. The relative accuracy error between the measured value and the labeled value of dextran standard was less than 3.0%. RSD of precision was 0.40% when the sample concentration was 2 mg · mL⁻¹ and the RSD of reproducibility and robustness were less than 5.0%. There was no significant difference between Shodex OHpak SB - 804 HQ column

* 通信作者 Tel: (028) 87877114; E - mail: 34904523@qq.com

第一作者 Tel: (028) 87877146; E - mail: zoujian2111@126.com

and TSK - GEL G4000 PW_{XL} column by comparing the results of 79 batches of samples. Compared with the national standard method (GPC) for molecular weight determination, the molecular weight of SEC - RI - MALLS method was 19 509 Da higher on average, and the molecular weight distribution was more concentrated.

Conclusion: SEC - RI - MALLS method can determine the molecular weight and distribution of mannatide without standard with good accuracy and robustness. Compared with the existing method, SEC - RI - MALLS method is more conducive to the safety and effectiveness control of the variety.

Keywords: multi - angle laser light scattering; size exclusion chromatography; gel permeation chromatography; mannatide; molecular weight and distribution

甘露聚糖肽(mannatide)为我国首创的免疫增强剂,由健康人咽喉部分离的 α -溶血性链球菌33号菌株经深层培养、发酵提取而得到的一种糖肽类物质,主要是由糖链结构一致、分子量和氨基酸含量不同的几种均一糖肽构成的混合物^[1]。甘露聚糖肽可以通过与淋巴细胞表面的甘露糖受体结合,激活机体的非特异性免疫反应从而提高机体免疫力,临床上常用作治疗肿瘤的辅助药,能减轻放化疗的毒副作用,增强和调节免疫功能,提高近期疗效,对其他原因造成的白细胞减少症、再生障碍性贫血、血小板减少性紫癜、多种口腔粘膜病等非肿瘤疾患均有较好的疗效^[2]。

分子量及其分布是甘露聚糖肽最重要的理化参数之一,是表征工艺稳定性和有效性的关键质量参数。甘露聚糖肽相关国家标准为化学药品地方标准上升国家标准第16册WS₁-XG-053-2000-2005(甘露聚糖肽)、WS₁-XG-055-2000-2005(甘露聚糖肽片)、WS₁-XG-056-2000-2005(甘露聚糖肽注射液),其中规定分子量与分子量分布采用右旋糖酐分子量对照品作校正曲线的凝胶渗透色谱法(gel permeation chromatography, GPC)测定^[3]。由于右旋糖酐和甘露聚糖肽本身在结构上的差异,因此,GPC方法测定的甘露聚糖肽分子量为相对右旋糖酐的分子量,不能反映甘露聚糖肽分子量真实值。而尺寸排阻色谱-示差折光-多角度激光光散射(SEC-RI-MALLS)联用技术兼具色谱法和光散射法的特点,可以在不需要标准品的情况下,快速、准确地测出高分子的绝对重均分子量(M_w)、峰值分子量(M_p)、数均分子量(M_n)、分子量分布(M_w/M_n)、 z -均方根半径、分子的形状、分支、聚集态等物理参数^[4-6],因此能更全面地反映甘露聚糖肽的结构特征,更有利于药品的质量控制。本文参照2020年版《中华人民共和国药典》通则<0514分子排阻色

谱法>和<9101分析方法验证指导原则>^[7],建立了SEC-RI-MALLS联用测定甘露聚糖肽原料药和制剂分子量与分子量分布的新方法,有利于指导该品种分子量测定标准方法的进一步提高。

1 材料

1.1 仪器

Agilent-1200型液相色谱系统(Agilent公司);DAWN HELEOS 18角度静态光散射仪、Optilab干涉型示差折光仪、ASTRA6.1分析软件(怀亚特公司);XPR 205十万分之一分析天平(Mettler Toledo公司);Milli-Q超纯水机(Millipore公司)。

1.2 试药

右旋糖酐分子量对照品:D4($M_p=13\ 050$)、D5($M_p=36\ 800$)、D6($M_p=64\ 650$)、D7($M_p=135\ 350$)、D8($M_p=300\ 600$),来自中国食品药品检定研究院,批号为140637-201203;硫酸钠为分析纯,成都化学试剂厂;叠氮化钠为分析纯,天津市大茂化学试剂厂;甘露聚糖肽7批(3家供样企业)、甘露聚糖肽片45批(5家供样企业)、甘露聚糖肽注射液27批(1家供样企业)均来自于国家、省级市场抽验(2017—2021年度)。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱:Shodex OHpak SB-804 HQ色谱柱(300 mm×8.0 mm, 10 μ m)和TSK-GEL G4000 PW_{XL}色谱柱(300 mm×7.8 mm, 10 μ m)。

流动相:称取硫酸钠7.1 g,叠氮化钠0.5 g,加入1 000 mL超纯水溶解,得0.05 mol·L⁻¹的硫酸钠溶液,0.22 μ m滤膜过滤,备用。

SEC-RI-MALLS系统色谱条件:采用1根Shodex OHpak SB-804 HQ色谱柱(300 mm×8.0 mm, 10 μ m),以0.05 mol·L⁻¹的硫酸钠溶液为流动相,流速0.5 mL·min⁻¹,MALLS与RI检测器联

用,柱温、检测器温度均为 35 °C,进样体积 100 μL 。MALLS 激光波长为 663.8 nm, Fused Silica 样品池; MALLS 90° 光电二极管检测器使用甲苯进行校正(校正常数: 3.21×10^{-5}),其他角度二极管检测器采用右旋糖酐分子量对照品 D5 ($M_p = 36\ 800$) 归一化;使用牛血清白蛋白确定 MALLS 和 RI 检测器之间的延迟体积(0.219 mL);RI 校正常数采用一系列氯化钠标准溶液进行测定(校正常数: 3.45×10^{-5})。

2.2 折射率增量(dn/dc)值测定

取原料药甘露聚糖肽、右旋糖酐纯品适量,加流动相配制成 5 个浓度梯度(0.5 ~ 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的样品溶液,手动进样量 1 000 μL ,用 Optilab T-rEX 检测器采集数据,分别连续测定 3 次。

2.3 专属性考察

精密称取制剂辅料淀粉 50 mg,加流动相定容至 25 mL 量瓶中,即得 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 淀粉溶液。0.22 μm 滤膜过滤至样品瓶中,进样记录色谱图,同时以流动相作为空白对照,以同法制备的甘露聚糖肽作为对照溶液,甘露聚糖肽片作为样品溶液,记录色谱图。

2.4 准确度考察

精密称取多个右旋糖酐分子量对照品(D4 ~ D7)各 10 mg,加流动相 5 mL 配制成浓度为 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,待溶解完全后,经 0.22 μm 滤膜过滤至样品瓶中。每次进样 1 组,记录色谱图,使用 Astra6.1 软件计算标样的分子量,选取 6 次独立重复试验的结果均值与标示值比较相对误差。

2.5 精密度考察

2.5.1 不同浓度精密度 精密称取甘露聚糖肽原料 50 mg,加流动相定容至 25 mL 量瓶中,待其完全溶解后,用流动相分别稀释 0.25、0.5、1、2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品溶液,经 0.22 μm 滤膜过滤至样品瓶中。每个样品在不同浓度下分别重复进样 6 次,记录色谱图,使用 Astra 6.1 软件计算样品分子量。

2.5.2 重复性 精密称取甘露聚糖肽原料、甘露聚糖肽片(以甘露聚糖肽计)各 6 份,每份 50 mg,加流动相定容至 25 mL 量瓶中,甘露聚糖肽注射液 6 支,加流动相溶解稀释至质量浓度约为 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,待溶解完全后,0.22 μm 滤膜过滤至样品瓶中,记录色谱图,使用 Astra6.1 软件计算样品分子量及其分布情况。

2.6 稳定性考察

取“2.5.2”项下同批次样品,待溶解完全后,

0.22 μm 滤膜过滤至样品瓶中,于 0、6、12、18、24 h 分别进样测定。

2.7 样品测定

2.7.1 SEC-RI-MALLS 法 取 7 批甘露聚糖肽、45 批甘露聚糖肽片,27 批甘露聚糖肽注射剂,加流动相溶解稀释至质量浓度约为 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,0.22 μm 滤膜过滤至样品瓶中,记录色谱图,使用 Astra6.1 软件计算样品分子量及其分布。取上述同批次样品,用 TSK-GEL G4000 PW_{XL} 色谱柱替换 Shodex OHpak SB-804HQ 色谱柱,其余色谱条件不变。同法计算样品分子量及其分布。

2.7.2 GPC 法 试验批次及样品制备同“2.7.1”项下,GPC 色谱条件同甘露聚糖肽国家标准 WS₁-XG-053-2000-2005 项下“分子量与分子量分布”:取右旋糖酐分子量对照品(D4 ~ D8)适量。采用 Shodex OHpak SB-804 HQ 色谱柱(300 mm \times 8.0 mm,10 μm),流动相、柱温、流速、示差折光检测器温度、进样体积同“2.1”项下。采用 Waters GPC 专用软件,以右旋糖酐分子量对照品做校正曲线计算分子量及分布。

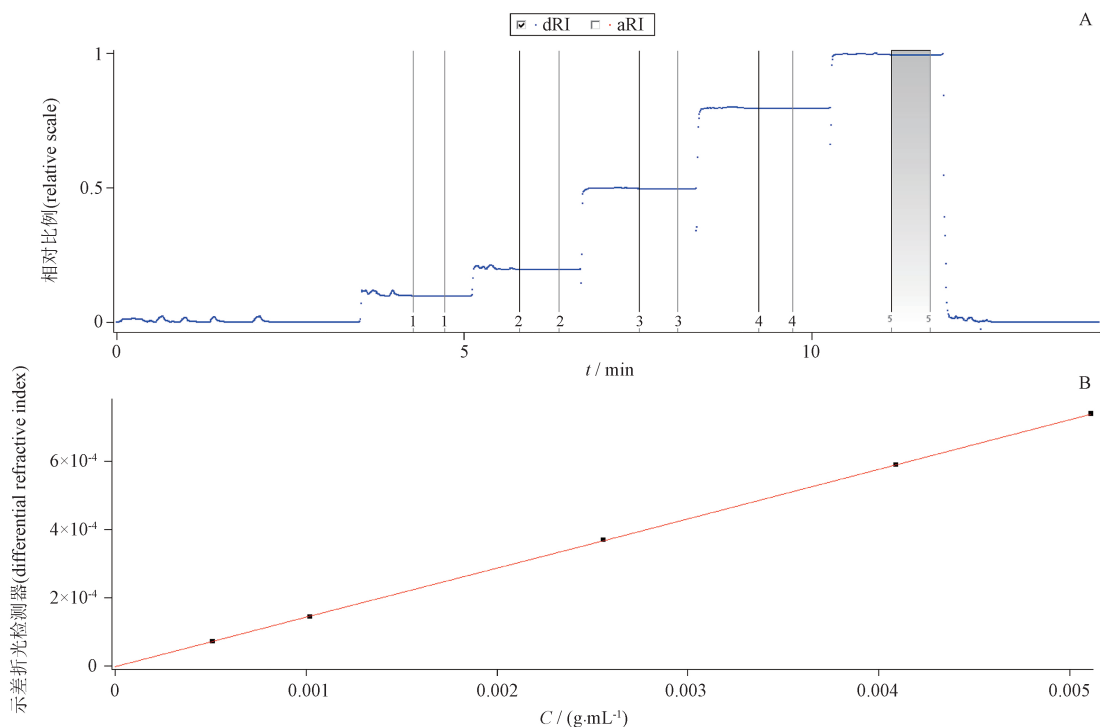
3 结果与讨论

3.1 dn/dc 值测定结果

dn/dc 即折射率增量,描述聚合物溶液折光指数相对于溶质浓度的变化。同质量的 2 种聚合物, dn/dc 越大,就能散射更多的光, M_w 越小。 dn/dc 值和样品本身、溶剂、流动相密切相关,反映了三者之间的匹配程度,是准确测定分子量与分子量分布的重要参数^[8]。本次实验右旋糖酐、甘露聚糖肽在硫酸钠流动相中的 dn/dc 值分别为 0.134 4、0.144 6 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ (甘露聚糖肽 dn/dc 测定图见图 1, $n = 3$)。

3.2 专属性考察

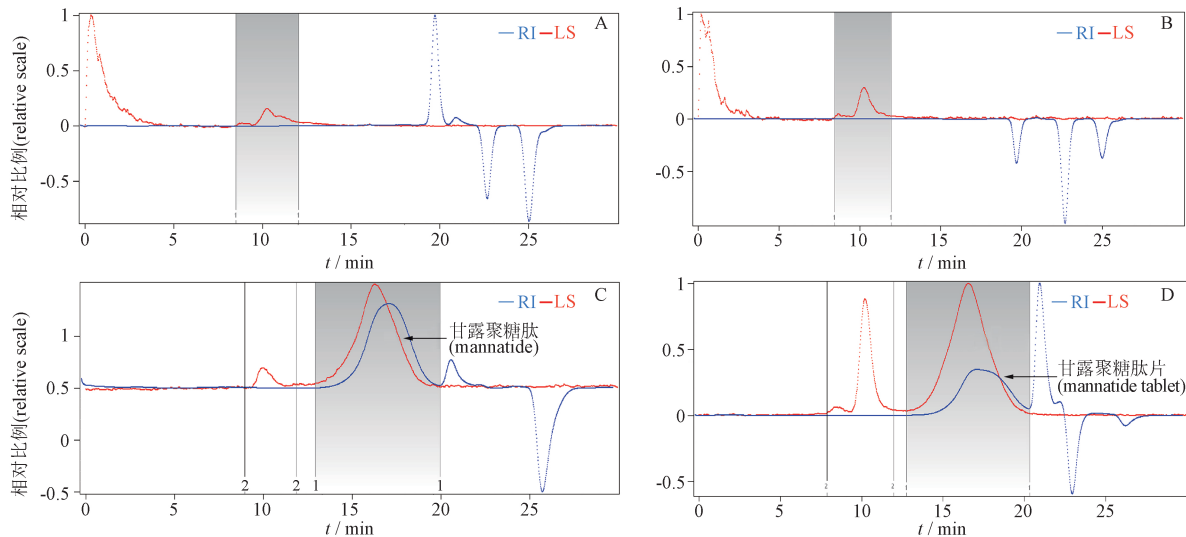
甘露聚糖肽注射液处方组成为甘露聚糖肽、氯化钠、碳酸氢钠和注射用水;甘露聚糖肽片处方组成为甘露聚糖肽、玉米淀粉、硬脂酸镁和硫酸钙。其中,只有淀粉是大分子多糖聚合物,若分子量与甘露聚糖肽分子量接近,从尺寸排阻色谱的分离原理来看,可能对甘露聚糖肽分子量测定造成影响。从图 2 可以看出,甘露聚糖肽片主峰出峰时间同甘露聚糖肽保持一致(12 ~ 20 min),辅料淀粉出峰与空白出峰相似,在甘露聚糖肽出峰时间内对分子量测定无影响。



A. 梯度浓度示差信号图 (gradient concentration differential refractive chromatogram) B. 线性拟合图 (linear fit plot)

图 1 甘露聚糖肽 dn/dc 值测定

Fig. 1 Determination of dn/dc for mannatide



- RI. 示差信号 (refractive index) - LS. 光散射信号 (light scattering)

A. 空白溶剂 (blank solvent) B. 淀粉溶液 (starch solution) C. 甘露聚糖肽 (mannatide) D. 甘露聚糖肽片 (mannatide tablet)

图 2 甘露聚糖肽专属性考察

Fig. 2 Specificity of mannatide

3.3 准确度考察

激光光散射法是测定聚合物 M_n 的绝对方法, 仪器测量误差一般在 5% 以内。本实验使用 MALLS 法测定已知分子量的右旋糖酐分子量对照品, 并将实

测分子量与标示分子量作比较, 考察系统准确度。由表 1 可知, 不同分子量的多糖对照品其实测值与标示值的相对误差在 3% 以下, 说明在 D4 ~ D7 分子量范围内, 该方法的准确度可靠。

表 1 SEC-RI-MALLS 法准确度
Tab. 1 Accuracy of SEC-RI-MALLS

右旋糖酐对照品 (dextran reference substance)	M_p 实测值(M_p detected)/Da						均值 (mean)	RSD/ %	M_p 标示值 (M_p labelled)/Da	相对误差 (relative error)/%
	1	2	3	4	5	6				
D4	14 176	13 576	13 186	13 344	12 945	13 086	13 386	3.3	13 050	2.6
D5	35 459	36 902	38 713	38 133	35 736	36 777	36 953	3.5	36 800	0.40
D6	67 644	67 287	69 574	67 639	63 783	63 800	66 621	3.5	64 650	3.0
D7	143 247	143 037	126 947	132 252	136 932	137 809	136 704	4.6	135 350	1.0

3.4 精密度考察

3.4.1 不同样品浓度的进样精密度 多角度激光散射仪灵敏度较高,在样品浓度较低时即可以检测,但示差折光检测器灵敏度较低,低浓度下基线波

动会给样品测定带来较大偏差,因此,选择合适的样品浓度对测定至关重要^[8]。由表 2 可知,样品质量浓度在 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,测试结果 RSD 最小,精密度最好,故选择 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 作为样品的制备浓度。

表 2 不同样品浓度精密度
Tab. 2 Precision of different sample concentration

样品浓度 (sample concentration)/($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	M_w /Da						均值 (mean)/Da	RSD/ %
	1	2	3	4	5	6		
2	71 225	71 321	71 559	70 996	71 364	71 832	71 383	0.40
1	72 788	69 871	70 300	72 657	71 036	70 171	71 137	1.8
0.5	67 557	72 937	70 036	70 687	69 542	72 399	70 526	2.8
0.25	68 006	76 939	68 408	73 768	68 094	68 195	70 568	5.4

3.4.2 重复性试验 对原料药、片剂、注射剂各 6 份进行测定,由表 3 可以看出,RSD < 5.0%,说明本方

法重复性好。

表 3 SEC-RI-MALLS 法重复性
Tab. 3 Reproducibility of SEC-RI-MALLS

样品 (sample)	M_w /Da						均值 (mean)/Da	RSD/ %
	1	2	3	4	5	6		
原料(raw material)	72 476	72 033	72 458	71 286	72 341	72 681	72 213	0.70
注射剂(injection)	63 576	65 974	62 783	57 971	64 572	62 655	62 922	4.3
片剂(tablet)	88 694	88 347	90 525	90 692	92 379	90 533	90 195	1.6

3.5 样品溶液稳定性

从表 4 可以看出,原料药、片剂和注射剂在 1 d

之内间隔不同时间段测试, M_w 无明显变化,说明样品溶液稳定。

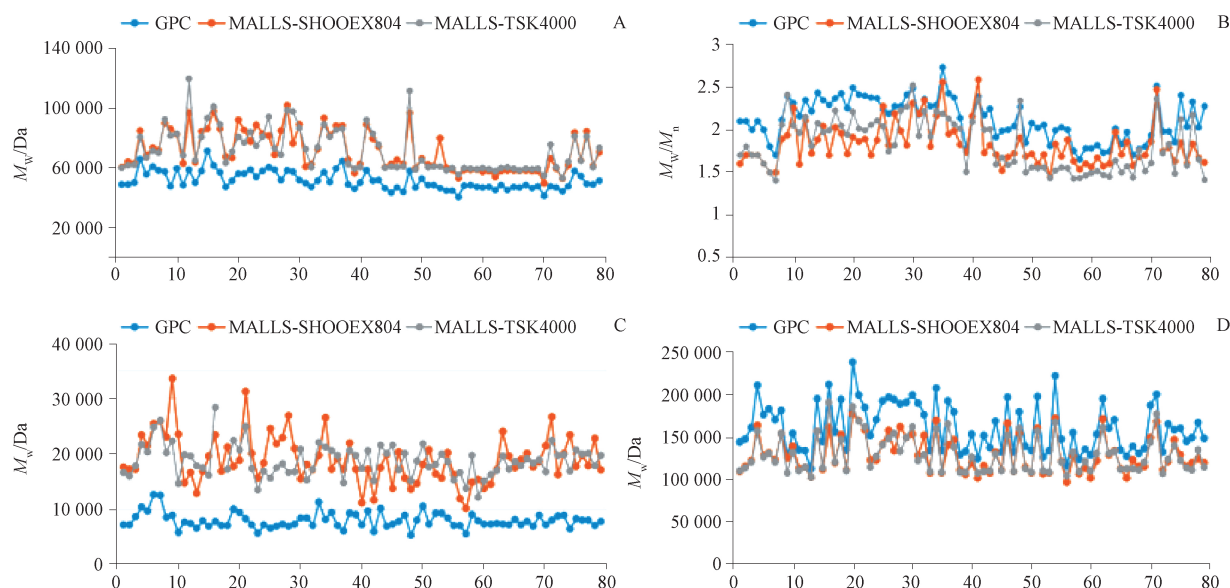
表 4 样品溶液稳定性
Tab. 4 Sample stability

样品 (sample)	M_w /Da					均值 (mean)/Da	RSD/ %
	0 h	6 h	12 h	18 h	24 h		
原料(raw material)	72 215	70 604	71 051	71 419	70 102	71 078	1.1
注射剂(injection)	60 112	61 957	62 214	63 179	62 512	61 995	1.9
片剂(tablet)	90 533	90 649	89 463	90 023	91 182	90 370	0.70

3.6 样品测定

3.6.1 SEC - RI - MALLS 法和 GPC 法分子量及其分布 2 种方法测定结果趋势图见图 3, 其中 SEC - RI - MALLS 法包含了 Shodex OHpak SB - 804 HQ 和 TSK - GEL G4000 PW_{XL} 2 根色谱柱的测定结果。值得注意的是, 不同企业来源的原料药和片剂之间未见明显差异, 但注射剂测定结果平均分子量

及其分布小于片剂。这主要是与现行国家标准中对注射剂分子量限度控制范围更窄有关 [M_w 应为 40 000 ~ 65 000 (注射剂)、40 000 ~ 90 000 (片剂), 分布宽度应小于 2.5 (注射剂) 和 3.0 (片剂)]^[3], 生产工艺上体现在经分子筛截留的较小分子量甘露聚糖肽用于注射剂生产, 未经分子筛截留的甘露聚糖肽原料用于片剂生产。



1 ~ 7. 甘露聚糖肽原料药 (mannide raw material) 8 ~ 52. 甘露聚糖肽片 (mannide tablets) 53 ~ 79. 甘露聚糖肽注射液 (mannide injection)
A. 重均分子量 (weight - average molecular weight) B. 分布宽度 (distribution width) C. 10% 小分子处分子量 (the average molecular weight of the small molecule at 10%) D. 10% 大分子处分子量 (the average molecular weight of the macromolecule at 10%)

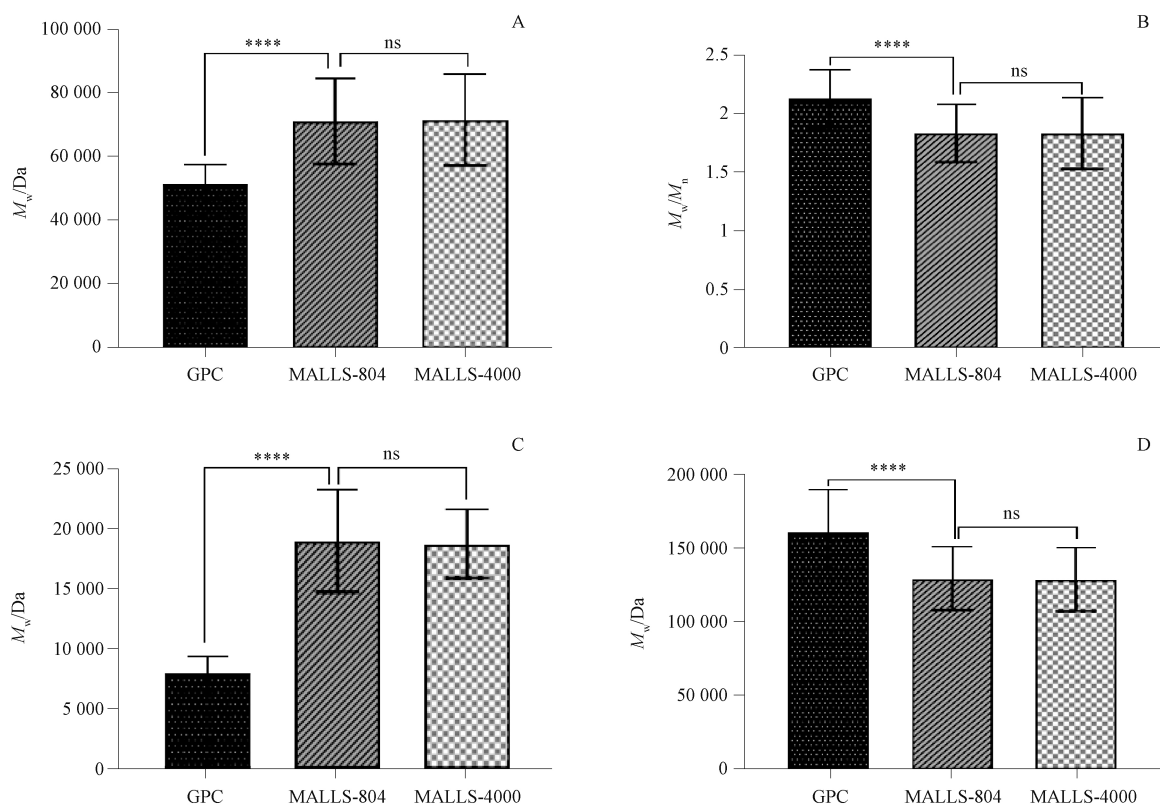
图 3 甘露聚糖肽分子量及分子量分布测定结果趋势图

Fig. 3 Tendency chart of molecular weight and molecular weight distribution for mannide

3.6.2 不同色谱柱、不同方法甘露聚糖肽分子量及其分布测定结果分析和比较 SEC - RI - MALLS 法分别采用 Shodex OHpak SB - 804 HQ 色谱柱和 TSK - GEL G4000 PW_{XL} 色谱柱进行测定, 2 根色谱柱均以亲水性乙烯基聚合物为基材的高亲水性填料充填, 主要用于水溶性多聚物的检测, 除内径有所差别外, 柱长、粒径、排阻限等基本一致。从测定结果来看, 2 根色谱柱测定结果基本一致, 无统计学差异 (图 4), 同时也表明新方法对不同品牌色谱柱的耐用性良好。

将 GPC 法与 SEC - RI - MALLS 法测定结果相比较, 两者统计学差异显著 (图 4)。SEC - RI - MALLS 法测定的 M_w (71 004 Da) 比 GPC 法测定的 M_w (51 495 Da) 均值高 19 509 Da。但 GPC 法测定

的分子量分布更宽, 体现在分布宽度更宽 (GPC 法 2.1, MALLS 法 1.8), 两端 10% 小分子处的分子量更小 (GPC 法 8 014 Da, MALLS 方法 19 006 Da), 10% 大分子处的分子量更大 (GPC 法 160 950 Da, MALLS 方法 129 473 Da)。2 种方法虽然在分离原理上相同 (色谱柱、流动相、柱温、流速均相同), 但计算方法不同。GPC 法采用右旋糖酐分子量对照品作校正曲线, 由于甘露聚糖肽和右旋糖酐本身结构上的差异, 此时计算结果为相对分子量, 测定结果可能和真实值相差较大。而 SEC - RI - MALLS 法根据静态光散射的原理, 利用光散射强度和分子量大小之间的关系计算分子量, 是 M_w 测定的绝对定量方法, 能真实地反映甘露聚糖肽的 M_w 大小。



A ~ D. 纵坐标注释同图3(annotations on the vertical axis was same as the Fig. 3)

图4 不同方法、不同色谱柱甘露聚糖肽分子量及其分布测定结果统计分析图(****. $P < 0.01$; ns. $P > 0.05$)

Fig. 4 Statistical analysis of molecular weight and distribution of mannatide determined by different methods and different chromatographic columns

4 小结

通过建立分子量标准品校正曲线来确定分子量分布和分子量的传统方法仍然被广泛地应用,但当这些方法所使用的标准品结构与样品不同时,会给测定结果带来明显的误差^[10]。基于光散射技术发展起来的 MALLS 法由于不需要标准品就能直接测定高聚物的绝对分子量,已经逐渐成为表征高聚物分子量及分子量分布的趋势^[11-14]。本文针对甘露聚糖肽原料、注射剂和片剂,建立了 SEC - RI - MALLS 法测定分子量及分子量分布,该方法在现行国标方法色谱条件下,对进样浓度等条件进行了优化,经方法学验证证明,新方法的专属性、精密度、准确度、耐用性良好。从 79 批次样本的测定结果来看,SEC - RI - MALLS 法测定的 M_w 比现行国标 GPC 法平均高近 20 000 Da。可见,现行标准方法大大低估了甘露聚糖肽的真实分子量,这可能是甘露聚糖肽临床使用过程中出现过敏反应的重要原因^[15]。该研究成果可以作为甘露聚糖肽分子量及分子量分布标准提高

的重要依据,有利于该品种药品质量的进一步提高。

参考文献

- [1] 沈艳红,陈林泉. 甘露聚糖肽的结构鉴定[J]. 高等学校化学学报,2016,37(6):1088
SHEN YH, CHEN LX. Structure identification of mannan peptides [J]. Chem J Chin Univ, 2016, 37 (6):1088
- [2] 王允升,王晓燕. 甘露聚糖肽(多抗甲素)的药理作用与临床应用[J]. 中国药师,2004,7(4):302
WANG YS, WANG XY. Pharmacological effect and clinical application of mannatide [J]. Chin Pharm, 2004, 7 (4):302
- [3] 国家药品标准:化学药品地方标准上升国家标准. 第16册 [S]. 2002: 148,157,162
National Drug Standards: Nation al Standards for Chemicals Promoted from Local Standards. Vol 16 [S]. 2002: 148,157,162
- [4] 黄志萍. 激光散射仪及应用[J]. 现代仪器,2006,12(6):49
HUANG ZP. Laser scatterer and its application [J]. Mod Instrum, 2006, 12(6):49
- [5] 张卫东,胡川梅. SEC - MALLS 法测定普鲁兰糖相对分子质量及分子量分布[J] 药物分析杂志,2015,35(7):1213
ZHANG WD, HU CM. Determination of relative molecular mass

- and molecular mass distribution of pullulan by SEC - MALLS method [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2015, 35 (7):1213
- [6] WYATT PJ. Light scattering and the absolute characterization of macromolecules[J]. *Anal Chim Acta*, 1993, 272:140
- [7] 中华人民共和国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020:66,480
ChP 2020. Vol IV [S]. 2020: 66,480
- [8] 刘红妮,陈曼. GPC - MALLS 技术测定 PAMMO 的分子量及分子量分布[J]. *分析测试技术与仪器*, 2010, 16(1):27
LIU HN, CHEN M. Determination of molecular weight and molecular weight distribution of PAMMO by GPC - MALLS technology [J]. *Anal Test Technol Instrum*, 2010, 16(1):27
- [9] 吴扬兰,王远亮. SEC - RI - MALLS 技术在香菇多糖分子量与分子量分布分析方面的应用研究[J]. *药物分析杂志*, 2011, 31(12):2256
WU YL, WANG YL. Application of sec - ri - malls technology in molecular weight and molecular weight distribution analysis of lentinus edodes polysaccharide [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2011, 31(12):2256
- [10] OLIVA A, LIABRÉS M, FARIÑA JB. Comparative study of protein molecular weights by size - exclusion chromatography and laser - light scattering [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2001, 25(5 - 6): 833
- [11] NORDMEIER E. Static and dynamic light - scattering solution behavior of pullulan and dextran in comparison [J]. *J Phys Chem*, 1993, 97(21): 5770
- [12] HUGLIN MB. *Light Scattering from Polymer Solutions*[M]. New York:Academic Press, 1972:100
- [13] THIEBAUD J, FANGETA I, JAUDINAUD I, *et al.* Development and validation of high - performance size exclusion chromatography methods to determine molecular size parameters of haemophilus influenzae type b polysaccharides and conjugates [J]. *Anal Biochem*, 2014, 453:22
- [14] 范慧红. 激光光散射技术在生物大分子药物质控中的应用[J]. *食品与药品*, 2005, 7(6A):59
FAN HH. Application of laser light scattering technology in quality control of biomacromolecule drugs [J]. *Food and Drug*, 2005, 7(6A): 59
- [15] 李运景,李雪芹. 甘露聚糖肽注射液致不良反应文献分析[J]. *中国药房*, 2011, 22(10):919
LI YJ, LI XQ. Literature analysis of adverse reactions induced by mannate injection [J]. *China Pharm*, 2011, 22(10):919
- (本文于 2023 年 10 月 11 日修改回)