

高效液相色谱-蒸发光散射法测定解热消炎片中猪去氧胆酸的含量

★ 吴雪茹¹ 何芳² 熊颖¹ (1 广州中医药大学附属骨伤科医院 广州 510240; 2 广州固志医药科技有限公司 广州 510663)

摘要:目的:建立用高效液相色谱-蒸发光散射(HPLC-ELSD)法测定解热消炎片中猪去氧胆酸的含量测定方法。方法:采用Kromasil 100-5 C₁₈色谱柱,以乙腈-0.1%乙酸溶液(50:50)为流动相,流速为1 ml/min。蒸发光散射检测器参数:漂移管温度为40℃,雾化气体为空气,压力3.0 bar。结果:猪去氧胆酸在1.987~15.890 μg范围内有良好的线性关系, $r=0.999\ 6$;平均回收率为100.37%,RSD为1.10%($n=6$)。结论:HPLC-ELSD法测定猪去氧胆酸的含量适用于解热消炎片生产过程中的质量控制。

关键词:解热消炎片;猪去氧胆酸;高效液相色谱-蒸发光散射法

中图分类号:R284.1 **文献标识码:**A

解热消炎片是由胆酸、猪去氧胆酸、水牛角浓缩粉、黄芩苷、栀子提取物等中药、天然药组成的复方制剂,具清热解毒、镇惊安神之功效,用于外感风热引起的发烧、咽喉肿痛、扁桃腺炎、咽炎等症。原质量标准中无猪去氧胆酸含量测定方法,为更好的控制成品质量,本研究采用高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定制剂中猪去氧胆酸的含量,为解热消炎片的质量控制提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent1100 高效液相色谱仪;ELSD800

蒸发光散射检测器;Kromasil 100-5 C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);SK-1200H型超声波清洗仪(功率:45 W,频率:59 kHz)。

1.2 药品与试剂 猪去氧胆酸对照品为东京化成工业株式会社提供,纯度为98.1%;解热消炎片样品(广州固志医药科技有限公司,批号:070101)、阴性对照样品(自制);乙腈为色谱纯;水为重蒸水;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil 100-5C₁₈(4.6mm

神经内分泌等的持续激活,及心肌肥大,心室重构等过程的不断进展,符合早期轻度心衰由适应至适应不良,由代偿至失代偿的动态演变过程。目前无症状性心衰及轻度心衰的研究多以心肌梗死后患者为研究对象,采用此模型亦有一定拟似性。

实验结果显示,假手术组大鼠心肌组织无细胞凋亡;模型组大鼠心肌组织有较多细胞凋亡,与假手术组比较有显著差异;中药大、小剂量组及卡托普利组心肌组织心肌细胞凋亡较少,与心衰空白对照组比较有显著性差异。说明心衰心肌组织存在细胞凋亡,开心胶囊减少心肌细胞凋亡而防治心脏功能减退可能是其治疗机理之一。开心胶囊还有促进 Bcl-2 蛋白高表达的作用,可抑制心力衰竭大鼠心肌细

胞凋亡,从而减少心肌细胞的缺失,延缓病情的进展,起到治疗作用。

参考文献

- [1] Kalon KL Ho. The epidemiology of heart failure, the Framingham Study[J]. JACC, 1993, 22 (supplement. A): 6.
- [2] 郭麟. 人类疾病的动物模型[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 146, 147, 177.
- [3] 林海龙, 雷立权, 卢兴, 等. 长期应用疏甲丙脯酸对心肌梗死大鼠心脏构筑与左室功能的影响[J]. 中国病理生理杂志, 1993, 9 (1): 20-23.
- [4] Geng YJ, Libby P. Evidence for apoptosis in advanced human atheroma. Colocalization with interleukin-1 beta-converting enzyme[J]. Am J Pathol, 1995, 147: 251-266.

(收稿日期: 2008-06-03)

× 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 乙酸溶液 (50:50); 流速为 1 ml/min; 柱温: 室温; 蒸发光散射检测器参数: 漂移管温度为 40 ℃, 雾化气体为空气, 压力 3.0 bar。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取猪去氧胆酸对照品 101.25 mg, 于 50 ml 容量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液。精密量取对照品贮备液 4 ml, 于 10 ml 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 20 片, 除去薄膜衣, 精密称定, 研细, 取约相当于含猪去氧胆酸原料 20 mg 的样品, 精密称定, 于 50 ml 锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 ml, 称定重量, 超声处理 30 分钟, 放冷, 再次称定重量并用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过微孔滤膜 (0.45 μm), 作为供试品溶液。

2.4 阴性样品溶液的制备 按处方组成及工艺制备方法制成缺猪去氧胆酸的阴性样品, 同供试品溶液制备方法制备阴性对照样品溶液。

2.5 测定法 精密吸取对照品溶液 5、10 μl, 供试品溶液 10 μl, 注入液相色谱仪, 测定, 按外标两点法对数方程计算, 即得。

2.6 阴性干扰试验 精密吸取对照品溶液 5、10 μl, 供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μl, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 记录色谱图。结果: 此条件下, 猪去氧胆酸对照品的保留时间为 7.24 分钟, 分离度为 4.5, 拖尾因子 1.14, 理论塔板数为 10 452, 且阴性对照无干扰。

2.7 标准曲线的制备及线性关系考察 精密量取上述对照品贮备液 1、2、4、6、8 ml, 分别置于 10 ml 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 5 个不同浓度的对照品溶液。分别精密吸取各对照品溶液 10 μl, 按上述色谱条件测定各自峰面积, 以对照品量的对数值为横坐标, 峰面积积分值的对数值为纵坐标, 绘制标准曲线并计算其回归方程为: $\log Y = 6.009 + \log X$, $r = 0.9996$ 。表明猪去氧胆酸在 1.987 ~ 15.890 μg 范围内呈良好的线性关系。

2.8 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 5 μl, 重复进样 5 次, 按上述色谱条件测定各自峰面积, 其平均峰面积为 264844.8, RSD 为 0.73%, 表明仪器精密度良好。

2.9 稳定性试验 按上述供试品溶液制备法制备 1 份供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8 小时时进样 10 μl, 按上述色谱条件测定各自峰面积, 其平均峰面积为 301 234.6, RSD 为 1.22%, 表明供试品溶液在 8 小时内稳定。

2.10 重复性试验 取同一批供试品, 按上述供试品溶液制备法制备 6 份供试品溶液, 按含量测定方法测定供试品中猪去氧胆酸的含量, 其平均含量为 12.1008 mg/g, RSD 为 0.86%, 表明本方法重复性良好。

2.11 加样回收率试验 取已知含量 (12.1008 mg/g) 的样品约 0.45 g, 共 6 份, 分别加入浓度为 0.1984 mg/ml 的猪去氧胆酸对照品溶液各 25 ml, 按供试品溶液制备方法制备供试液, 依法测定, 计算。结果平均回收率为 100.37% ($n = 6$), RSD 为 1.10%, 表明本方法准确度高。

3 讨论

本文根据文献^[1~3]方法, 采用甲醇-水或乙腈-水系统测定猪去氧胆酸为有机酸, 但峰形欠佳。为了改善峰形, 本方法采用乙腈-0.1% 乙酸溶液系统, 经试验, 峰形尖锐对称, 与其他杂质峰完全分开。

由于指标成分猪去氧胆酸在紫外区吸收较小, 在近紫外区测定时色谱基线漂移很大, 不易作定量用, 故选择用蒸发光散射检测器, 在上述的漂移管温度和气流下, 色谱有稳定的基线, 灵敏度高, 适合于定量分析。

参考文献

- [1] 李志万, 马强. HPLC-ELSD 法对猪胆粉中猪去氧胆酸的含量测定研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(5): 14-16.
- [2] 林喆, 肖学凤. HPLC 法测定双胆片中猪去氧胆酸含量[J]. 中草药, 2002, 33(8): 712-713.
- [3] 肖学凤, 陈新培. HPLC 法测定猪胆汁膏中猪去氧胆酸含量[J]. 天津中医, 2002, 19(6): 42-43.

(收稿日期: 2008-06-03)

征稿启事

《江西中医药》所设的重点栏目有《明医心鉴》、《滕王阁医话》等。《明医心鉴》以介绍名老中医经验和中医临证心得为主, 重点刊载中医关于疑难病的诊疗经验, 要求观点、方法新, 经验独到。《滕王阁医话》主要反映中医教学、科研、临床的一得之见, 要求以小见大, 有感而文, 语言生动流畅, 可读性强, 富于知识性、趣味性。