

HPLC-ELSD 法测定牛黄蛇胆川贝液中胆酸含量的研究

★ 杨乐 姚令文 (1. 南昌大学第二附属医院药剂科 南昌 330006; 2. 中国药品生物制品检定所中药室 北京 100050)

关键词: 牛黄蛇胆川贝液; 胆酸; HPLC-ELSD

中图分类号: R 284.1 文献标识码: B

牛黄蛇胆川贝液由人工牛黄、蛇胆汁、薄荷脑等药物组成。收载于《卫生部药品标准》, 未收载含量测定项目。因胆酸的紫外吸收较弱, 低波长测定时, 峰形小, 噪音低, 测定较困难。为完善该制剂质量标准, 本文成功地建立了用 HPLC-ELSD 测定牛黄蛇胆川贝液中胆酸的含量测定方法, 该方法灵敏度、稳定性和重现性均能满足要求, 结果满意。

1 仪器与试药

Waters 1525 高效液相色谱仪, Alltech ELSD 2000 ES 蒸发光散射检测器。甲醇(色谱纯), Milli-Q 超纯水, 其他均为分析纯, 胆酸对照品(100078-200414)由中国药品生物制品检定所提供, 牛黄蛇胆川贝液为市售, 南昌桑海制药厂出品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Alltima C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水(75:25) 用冰醋酸调节 pH 值至 3.1±0.02; 体积流量: 1.0 ml/min; 漂移管温度: 110℃, 载气: N₂, 气体流量: 2.8 L/min; 柱温: 30℃。

2.2 线性关系考察 精密称取胆酸对照品适量, 加甲醇制成 0.81 mg/ml 的溶液, 分别精密量取 1.0、2.0、4.0、8.0、16.0 ml, 分别置 25 ml 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密量取 20 μl, 注入液相色谱仪, 用蒸发光散射检测器进行检测, 测定峰面积, 以峰面积的对数值为纵坐标, 进样质量的对数值为横坐标, 绘制标准曲线。Y = 1.606 4X + 6.059 4, r = 0.999 1, 结果表明胆酸在 0.65~10.40 μg 峰面积对数值与进样质量对数值有良好的线性关系。

2.3 精密度试验 取同一供试品溶液, 重复进样 6 次, 每次 20 μl, 胆酸峰面积的 RSD 为 1.01%, 表明仪器精密度良好。

2.4 稳定性试验 取同一供试品溶液, 间隔一定时

间测定 1 次, 共测 24 h, 胆酸峰面积的 RSD 为 1.13% (n=6), 实验结果表明: 供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5 重现性试验 取同批号样品 5 份, 按样品测定项下处理并测定, 计算。结果胆酸的含量为 80.5 μg/ml, RSD 分别为 1.69% (n=5)。

2.6 加样回收率试验 精密量取已知含量的牛黄蛇胆川贝液 9 份, 每份 5 ml。分别加入胆酸溶液(0.36 mg/ml), 0.8、1.0 和 1.2 ml, 按样品测定项下处理并测定, 计算。回收率为 99.2%, RSD 为 0.89% (n=9)。

2.7 样品测定 精密称取胆酸对照品适量, 加甲醇制成含 0.13 mg/ml 的溶液, 作为对照品溶液。精密量取牛黄蛇胆川贝液约 10 g, 加水 10 ml 稀释, 置分液漏斗中, 用稀盐酸调节 pH 值至 1~2, 用三氯甲烷提取 5 次, 每次 25 ml, 分取三氯甲烷液, 回收溶剂至干, 残渣加甲醇分次溶解, 转移至 5 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。过 0.45 μm 滤膜, 取续滤液。分别精密吸取对照品溶液 10、40 μl, 供试品 20 μl, 注入液相色谱仪, 测定, 用外标两点法对数方程计算胆酸的含量, 结果显示牛黄蛇胆川贝液中含胆酸在 45.8~102.9 μg/mL (n=12)。

3 讨论

(1) 实验比较了乙醚、三氯甲烷和正丁醇等萃取溶剂, 三氯甲烷的萃取效率较完全, 故选择胆酸用三氯甲烷作为萃取溶液。对样品萃取次数进行考察, 试验结果表明样品用三氯甲烷萃取 4 次已经较为完全。

(2) 实验比较了在不同漂移管温度与载气流量下峰面积的大小、基线漂移、噪音的大小, 发现在漂移管温度 110℃, 载气流量: 2.8 l/min 的条件下, 峰形较好, 噪音较低, 峰面积不再增长, 故选择该条件进行实验。

(收稿日期: 2007-11-08)