

## HPLC 法测定熊去氧胆酸含量

唐玉红

(康哲(湖南)制药有限公司 澧县 415500)

**摘要** 应用高效液相色谱法对熊去氧胆酸原料药进行含量测定。色谱柱为 Hypersil ODS25  $\mu\text{m}$ , 250mm  $\times$  4.6mm, 流速为 1.0mL/min; 检测器为 UV205nm。该实验有助于对熊去氧胆酸含量测定方法的确定。

**关键词** 高效液相色谱法 熊去氧胆酸

## 前言

熊去氧胆酸为胆石溶解药,在中国药典(2005版)中其含量测定为酸碱滴定法<sup>[1]</sup>,由于熊去氧胆酸中所含杂质多为酸性物质,故采用酸碱滴定法进行含量测定专属性不强,测定结果存在较大误差。本文建立反相高效液相色谱测定熊去氧胆酸的含量方法,实验结果表明,本方法简便、灵敏、准确、专属性强。

## 1 实验部分

## 1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪:岛津 LC-2010C;熊去氧胆酸、鹅去氧胆酸、胆石酸、胆酸对照品:中国药品生物制品检定所;熊去氧胆酸原料药:康哲(湖南)制药有限公司;乙腈、甲醇:色谱纯;其它试剂均为分析纯。

## 1.2 色谱条件

色谱柱:Hypersil ODS25  $\mu\text{m}$ , 250mm  $\times$  4.6mm;柱温:40 $^{\circ}\text{C}$ ;流动相:乙腈:0.001mol/L 磷酸二氢钾溶液(50:50),用磷酸调节 pH 值至 2.0;流速:1.0mL/min;检测波长:205nm;进样量:30  $\mu\text{L}$ 。

## 1.3 实验步骤

1.3.1 专属性试验 熊去氧胆酸中所含杂质主要为鹅去氧胆酸、胆石酸、胆酸,分别取熊去氧胆酸、鹅去氧胆酸、胆石酸、胆酸对照品适量,加甲醇少量溶解,用流动相稀释成适当浓度的混合溶液,取适量注

入液相色谱仪,记录色谱图(见图1)。由该混合溶液的色谱图可见:熊去氧胆酸与各种杂质的分离良好,表明该方法的专属性强。

1.3.2 线性试验 取熊去氧胆酸对照品 50mg,精密称定,置于 10mL 量瓶中,加甲醇适量溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,再分别精密量取 0.1mL、0.2mL、0.5mL、1.0mL、2.0mL、3.0mL 至 10mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,按样品含量测定试验项下的方法测定,分别进样 30  $\mu\text{L}$ ,以样品浓度(C)为横坐标,峰面积(A)为纵坐标进行回归,得回归方程为  $A = 351.37C - 2359$ ,  $r = 0.9999$ ,在 0.03937 ~ 5.04mg/mL 范围内有很好的线性关系。

1.3.3 精密度试验 取浓度为 0.504mg/mL 的对照品溶液,按含量测定试验项下的方法测定,连续进样 10 针,  $RSD = 0.34\%$ 。

1.3.4 回收率试验 分别精密称取熊去氧胆酸对照品 2.5mg、5.0mg、7.5mg,各置 25mL 量瓶中,分别加入已测定含量的熊去氧胆酸样品溶液溶解并稀释至刻度,得低、中、高三个浓度的溶液,按含量测定试验项下的方法测定,每个样进样 3 针,求得平均回收率为 99.7% ( $n = 9$ ),  $RSD = 0.69\%$ 。

1.3.5 样品测定 取样品 50mg,精密称定,置 100mL 量瓶中,加甲醇适量溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,精密量取续滤液 30  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪,记录色谱图(见图2),按外标法以峰面积计算结果(见表1)。

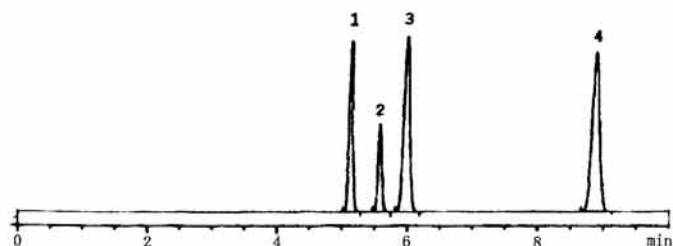


图1 各杂质分离色谱图

1. 胆酸(cholic acid); 2. 鹅去氧胆酸(chenodeoxycholic Acid); 3. 熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid); 4. 胆石酸(lithocholic acid)

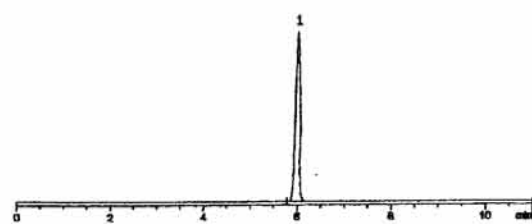


图2 样品含量测定色谱图

1. 熊去氧胆酸(Ursodeoxycholic Acid)

(下转第74页)

们仍然需要 ICP-AES 仪器,因为它耐用、可靠、并且可提供高通量的分析”。毫无疑问,当一些用户将购买仪器转向 ICP-MS 仪器时,Instrumenta 相信新法规只不过是帮助实验室主管们有一个更强烈的理由来购买他们一直想要的 ICP-MS 仪器。

在痕量分析方面,石墨炉或氢化物发生 AA 仪器依然在与轴向 ICP-AES 仪器和 ICP-MS 仪器竞争,只有一种情况例外,那就是要求对大量样品进行多元素分析时。ICP-MS 仪器在这方面的优势,使其年销售额达到 2~2.5 亿美元。该市场主要来自四极杆 MS 仪器,同时还有不到 5% 的飞行时间质谱仪器(TOF-MS),这种质谱特别适合于生命科学领域。

ICP-MS 仪器于 1983 年实现商品化,很长时期里,ICP-MS 仪器的市场由 VG Isotopes 的 VG PlasmaQuad 和 Sciex Elan 250 型分享。在产品投产的第一个 10 年里,VG 销售 500 台;而到 1999 年,Elan 系统的销售量已超过 1000 台。按照 Shuttler 的看法,目前,ICP-MS 的市场保有总量大约为 5000 台,而年销售量则为 700~850 台,“这其中包括相当数量老产品的更新换代”。

对于安捷伦科技公司(Palo Alto, CA), ICP-MS 仪器也是一个增长很快的市场。该公司在 18 个月前曾表示,在其 7500 系列 ICP-MS 仪器推出的五年来,该仪器售出已超过 1000 台,因此被称为“迄今为止卖得最快的 ICP-MS 仪器”。

Gillyon 赞同这一观点,对于实验室而言,最理想的情况是配置一套完整的仪器体系,从而可以在

适当的时间使用适当的技术。但是,如果必须要做出选择的话,“这种选择通常是基于采购预算的基础上,在某种程度上,这一点对于 AA 仪器尤为适用”。作为一个采购指导,可以这样考虑,经费不到 15000 美元的用户可以购买一个基本型 AA 仪器,而 ICP-AES 仪器的采购价格大约为 60000 美元,至于 ICP-MS 仪器,其成交价格大约是 125000 美元。

按照 Shrader 的说法,仪器的运行成本同样遵循上述的规律,AA 仪器的运行成本最低,ICP-MS 仪器的运行成本最高。“然而,当需要对大量样品进行多元素测定时,从实际情况看,全谱直读 ICP-AES 仪器和 ICP-MS 仪器能够提供更低的平均分析成本。单次的分析成本费用将随着样品数量,每个样品中欲分析的元素种类,特定方法参数和所使用的精密硬件配置的变化而变化。”他认为,单次分析的成本在未来不会发生显著变化。尽管生产厂一直在努力提高仪器的性能、效率和自动化程度,降低制造成本,但在相当长的一段时期内,这种变化将会很慢。

Gillyon 强调:“在过去的 10 年里,成熟的仪器购买者越来越看重采购及使用仪器的总体费用。而用户的这些考虑,正是我们投入资金以研究如何延长 GFAAS 石墨管的使用寿命以及降低 ICP 仪器气体消耗的原因之一”。热电集团认为仪器的生命周期为 7 年,这样计算的话,基础型 AA 仪器的市场生命力很有可能持续到 2013 年。

编译自 “Instrumenta” August 2006 Vol 23 No 8

(上接第 62 页)

表 1 样品含量测定结果 (%)

批号	本法	药典法
031101	99.8	100.8
031102	98.9	100.2
031103	99.5	100.5

## 2 讨论

对熊去氧胆酸对照品溶液在 200~700nm 波长范

围内进行光谱扫描,结果表明,熊去氧胆酸在 205nm 波长处有最大吸收,故选择 205nm 为测定波长。

与药典法(酸碱滴定法)比较,本法更简便、灵敏、准确,专属性更强。

### 参考文献

- 1 Chp(中国药典). 2005. Vol II (二部): 832

## HPLC determination of ursodeoxycholic acid

Tang Yuhong

(Kangzhe Hunan Pharmaceutical Corp. Ltd., Changde 415500)

Abstract HPLC was used to determine the content of Ursodeoxycholic Acid. The chromatographic column: Hypersil ODS2 5  $\mu$ m, 250mm  $\times$  4.6mm; the velocity: 1.0ml/min; the detector: UV205nm. To hope this experiment is a help to determine the content of Ursodeoxycholic Acid.

Key words HPLC Ursodeoxycholic acid