

中图分类号: R917; R927.2; R975+.2 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)19-0069-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.19.015



铝碳酸镁咀嚼片体外吸附胆汁酸的方法研究

江燕, 张先华, 徐兴利, 王祖焕, 叶世春[△]

(重庆健能医药开发有限公司, 重庆 401121)

摘要:目的 建立铝碳酸镁咀嚼片对胆汁酸的体外吸附方法, 以及测定牛磺胆酸钠、甘氨酸胆酸钠、牛磺脱氧胆酸钠、牛磺鹅脱氧胆酸钠、甘氨酸鹅脱氧胆酸钠 5 种结合型胆汁酸含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 体外吸附胆汁酸的吸附形态为铝碳酸镁咀嚼片细粉, 介质为 0.1 mol/L 盐酸溶液。取 5 mL 0.5 mmol/L 胆汁酸盐溶液于(37±0.5)°C 水浴孵育 1 h, 离心(转速为 2 000 r/min)15 min。采用 HPLC 法测定胆汁酸峰面积, 并计算吸附率。色谱柱为 DIKMA Diamonsil C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液(40:40:50, V/V/V, 用磷酸调 pH 至 3.0), 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 30 °C, 检测波长为 200 nm, 进样量为 20 μL。结果 4 批样品中牛磺胆酸钠、甘氨酸胆酸钠、牛磺鹅脱氧胆酸钠、牛磺脱氧胆酸钠、甘氨酸鹅脱氧胆酸钠的吸附率分别为 31.77%, 63.84%, 90.23%, 88.92%, 97.31%; 质量浓度分别在 1.257×10⁻³~2.514×10⁻¹ mg/mL、1.252×10⁻³~2.504×10⁻¹ mg/mL、2.452×10⁻³~2.452×10⁻¹ mg/mL、2.396×10⁻³~2.396×10⁻¹ mg/mL、2.412×10⁻³~2.412×10⁻¹ mg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r \geq 0.9997$), 定量限分别为 1.257, 1.252, 2.452, 2.396, 2.395 μg/mL, 重复性试验结果的 RSD 为 0.28%~3.83%($n=6$), 中间精密密度试验结果的 RSD 为 0.41%~2.26%($n=12$), 稳定性试验峰面积的 RSD 为 0.18%~1.80%($n=10$), 平均回收率分别为 102.00%, 100.39%, 100.63%, 98.04%, 98.45%, RSD 分别为 1.34%, 0.43%, 1.74%, 2.97%, 1.61%($n=9$)。结论 该方法准确、灵敏、快速, 可用于铝碳酸镁咀嚼片体外吸附胆汁酸的检测。

关键词: 铝碳酸镁咀嚼片; 体外吸附; 胆汁酸; 高效液相色谱法

第一作者: 江燕, 女, 硕士研究生, 高级工程师, 研究方向为药物分析, (电话)023-86815111(电子信箱)63715684@qq.com。

[△]通信作者: 叶世春, 男, 大学本科, 高级工程师, 研究方向为制药工程, (电子信箱)ysc@jewellandpharm.com。

- 中南药学, 2015, 13(7):681-684.
- [3] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准[M]. 广州: 广东科技出版社, 2004:35-36.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020:1088.
- [5] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区瑶药材质量标准(第一卷)[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2014:46-47.
- [6] 欧阳霄妮, 刘一贞, 梁日高, 等. 岭南地产药材五指毛桃的研究进展[J]. 林业科技通讯, 2022(2):34-38.
- [7] 郭晨, 朱翔宇, 马力文, 等. 岭南传统中药五指毛桃研究进展[J]. 中药材, 2019, 42(8):1962-1966.
- [8] HUANG Y, WANG TJ, YIN G, et al. High-performance liquid chromatography-based fingerprint analysis with chemical pattern recognition for evaluation of *Mahonia bealei* (Fort.) Carr[J]. J Sep Sci, 2020, 43(18):3625-3635.
- [9] 项锋, 叶继锋. 基于 PCA 和 PLS-DA 算法的不同生长阶段贯叶金丝桃药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. 药物分析杂志, 2022, 40(3):568-576.
- [10] ZHENG C, LI WT, YAO Y, et al. Quality Evaluation of *Atractylodes Macrocephalae Rhizoma* Based on Combinative Method of HPLC Fingerprint, Quantitative Analysis of Multi-Components and Chemical Pattern Recognition Analysis [J]. Molecules, 2021, 26(3):7124.
- [11] 张振巍, 张娜娜, 石磊. 基于主成分分析的中药制剂综合评价模式探索[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(16):18-21.
- [12] 肖琳婧, 刘莹莹, 赵禹, 等. HPLC 指纹图谱结合化学计量的不同产地灯盏花药材和近缘种样品的质量评价[J]. 中草药, 2019, 50(14):3438-3443.
- [13] 贾玉倩, 袁诗农, 赵子祎, 等. HPLC 指纹图谱结合化学模式识别的蛇床子炒制前后对比[J]. 中药材, 2022, 45(5):1095-1100.
- [14] 赵丽萍, 狄斌, 冯锋. 五指毛桃的化学成分[J]. 药学与临床研究, 2008, 16(1):5-7.
- [15] 江滨, 刘占强, 曾元儿, 等. 五指毛桃化学成分研究[J]. 中草药, 2005, 36(8):1141-1142.
- [16] 轧霖, 张晓琦, 王英, 等. 五指毛桃黄酮和香豆素类成分研究[J]. 林产化学与工业, 2008, 28(6):49-52.
- [17] LI CY, TIAN Y, ZHAO CJ, et al. Application of fingerprint combined with quantitative analysis and multivariate chemometric methods in quality evaluation of dandelion (*Taraxacum mongolicum*) [J]. R Soc Open Sci, 2021, 8(10):210614.
- [18] LI H, FENG T, WEN Y, et al. Comparative Investigation for Raw and Processed Products of *Euodiae Fructus* Based on High-Performance Liquid Chromatography Fingerprints and Chemical Pattern Recognition [J]. Chem Biodivers, 2021, 18(8):e2100281.
- [19] 魏培, 曹春泉, 朱瑞娟, 等. 高效液相色谱指纹图谱法结合化学模式识别评价脑安胶囊整体质量[J]. 中国药业, 2023, 32(3):67-72.
- [20] 金倩倩, 刘理燕, 汪洋, 等. 土一枝蒿药材指纹图谱和含量测定研究[J]. 中国药业, 2023, 32(4):74-79.

(收稿日期:2023-02-20; 修回日期:2023-04-07)

Adsorption Methods of Bile Acids by Hydrotalcite Chewable Tablets *in Vitro*

JIANG Yan, ZHANG Xianhua, XU Xingli, WANG Zuhuan, YE Shichun
(Chongqing Jewelland Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing, China 401121)

Abstract: Objective To establish a method for the adsorption of bile acids by Hydrotalcite Chewable Tablets *in vitro*, and to establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the content determination of five conjugated bile acids (sodium taurocholate, sodium glycocholate hydrate, sodium taurochenodeoxycholate, sodium taurodeoxycholate hydrate, and sodium glycochenodeoxycholate). **Methods** The adsorption form was the fine powder of Hydrotalcite Chewable Tablets, with 5 mL of 0.1 mol/L hydrochloric acid solution as the medium, 5 mL of 0.5 mmol/L bile salts solution was added into the power and incubated in a water bath at $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ for 1 h, and centrifuged for 15 min (at a speed of 2 000 r/min). The peak area of bile acid was determined by the HPLC method and the adsorption rate was calculated. The chromatographic column was DIKMA Diamonsil C_{18} column (150 mm \times 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-acetonitrile-0.05 mol/L phosphoric acid buffer solution (40:40:50, V/V/V, pH was adjusted to 3.0 with phosphoric acid), the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 30°C , the detection wavelength was 200 nm, and the injection volume was 20 μL . **Results** The adsorption rates of sodium taurocholate, sodium glycocholate hydrate, sodium taurochenodeoxycholate, sodium taurodeoxycholate hydrate, and sodium glycochenodeoxycholate in the four batches of samples were 31.77%, 63.84%, 90.23%, 88.92%, and 97.31%, respectively. The linear ranges of five conjugated bile acids were $1.257 \times 10^{-3} - 2.514 \times 10^{-1}$ mg/mL, $1.252 \times 10^{-3} - 2.504 \times 10^{-1}$ mg/mL, $2.452 \times 10^{-3} - 2.452 \times 10^{-1}$ mg/mL, $2.396 \times 10^{-3} - 2.396 \times 10^{-1}$ mg/mL, and $2.412 \times 10^{-3} - 2.412 \times 10^{-1}$ mg/mL ($r \geq 0.9997$), respectively. The limits of quantification (LOQ) were 1.257, 1.252, 2.452, 2.396, and 2.395 μg /mL, respectively. The RSD of the repeatability test was in the range of 0.28% - 3.83% ($n = 6$), the RSD of the intermediate precision test was in the range of 0.41% - 2.26% ($n = 12$), the RSD of the stability test was in the range of 0.18% - 1.80% ($n = 10$), and the average recoveries of the five conjugated bile acids were 102.00%, 100.39%, 100.63%, 98.04%, and 98.45% with RSDs of 1.34%, 0.43%, 1.74%, 2.97%, and 1.61% ($n = 9$), respectively. **Conclusion** This method is accurate, sensitive, and fast, which is suitable for the detection of bile acid adsorbed by Hydrotalcite Chewable Tablets *in vitro*.

Key words: Hydrotalcite Chewable Tablets; adsorption *in vitro*; bile acids; HPLC

糜烂性胃炎和消化性溃疡与胆汁反流及胃液中胆汁酸浓度有关^[1],胆汁中的胆酸可溶解胃液中的黏液(黏液有保护胃黏膜作用)和破坏黏膜表层细胞,从而破坏胃黏膜的屏障作用。胆汁酸包括游离型和结合型两类,结合型胆汁酸是胆汁反流中对胃黏膜造成损害的主要物质。铝碳酸镁是一种具有层状网络晶格的药物,能阻断损伤因子,有效保护胃黏膜^[2-3]。有研究报道,铝碳酸镁等抗酸剂对胆汁酸具有较强的吸附能力,能有效清除反流入胃的胆汁酸^[4-5]。分析胆汁酸常用的方法有薄层色谱法^[6-7]、气相色谱法^[8]和高效液相色谱(HPLC)法^[9-10]。本研究中建立了胆汁酸的体外吸附方法及含量测定的HPLC法,对铝碳酸镁咀嚼片体外吸附各胆汁酸的能力进行了考察,为临床合理用药提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 II型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);MS205DU型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为0.01 mg);PHS-3C pH计(上海雷磁仪器有限公司);TDL-80-2B型离心机(上海安亭科学仪器有限公司);HH-ZK4型水浴锅(巩义市予华仪器有限公司)。

1.2 试剂

牛磺胆酸钠对照品(Sinco公司,批号为19-03-0110,含量为95.25%);甘氨酸胆酸钠对照品(批号为1-

CYJ-39-1,含量为98%),牛磺鹅脱氧胆酸钠对照品(批号为9-MMS-9-1,含量为97%),牛磺脱氧胆酸钠对照品(批号为1-NYL-90-1,含量为95%),甘氨酸鹅脱氧胆酸钠对照品(批号为5-YFD-138-1,含量为95%),均购于TRC公司;铝碳酸镁咀嚼片(四川健能制药有限公司,批号分别为20200801,20201001,20201002,20201003,规格为每片0.5 g);甲醇、乙腈均为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 体外吸附胆汁酸

参考文献[4-5]并结合前期预试验结果,选择铝碳酸镁咀嚼片细粉为吸附形态,以0.1 mol/L的盐酸溶液(pH 1.0)为介质。取浓度为0.5 mmol/L(质量浓度为0.25 mg/mL)胆汁酸盐溶液5 mL,加入铝碳酸镁咀嚼片细粉中,于 $(37 \pm 5)^\circ\text{C}$ 水浴中孵育1 h,离心分离。

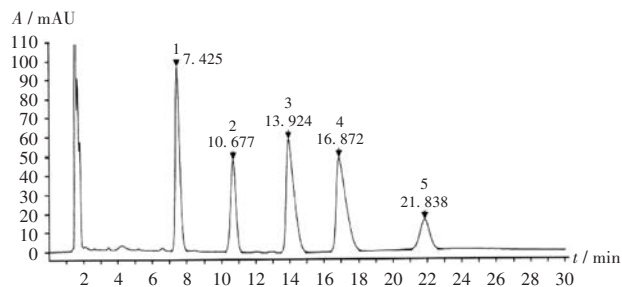
按公式计算铝碳酸镁咀嚼片对5种胆汁酸的吸附率,吸附率($\%$) = $(1 - A_{\text{样品}}/A_{\text{对照}}) \times 100\%$ 。其中, $A_{\text{样品}}$ 为供试品溶液峰面积, $A_{\text{对照}}$ 为对照品溶液峰面积。

2.2 胆汁酸含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:DIKMA Diamonsil C_{18} 柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-乙腈-0.05 mol/L磷酸盐缓冲液(40:40:50, V/V/V,用磷酸调pH至3.0);流速:1.0 mL/min;检测波长:200 nm;柱温: 30°C ;进样量:

20 μL 。结果系统适用性溶液中,各胆汁酸盐对照品色谱峰的理论板数不大于2 000,拖尾因子不大于2.0,分离度不低于1.5。详见图1。



1. 牛磺胆酸钠 2. 甘氨酸胆酸钠 3. 牛磺鹅脱氧胆酸钠 4. 牛磺脱氧胆酸钠 5. 甘氨酸鹅脱氧胆酸钠

图1 系统适用性试验高效液相色谱图

1. Sodium taurocholate 2. Sodium glycocholate hydrate 3. Sodium taurochenodeoxycholate 4. Sodium taurodeoxycholate hydrate 5. Sodium glycochenodeoxycholate

Fig. 1 HPLC chromatogram of the system suitability test

2.2.2 溶液制备

系统适用性溶液:分别取甘氨酸胆酸钠对照品、牛磺胆酸钠对照品、甘氨酸鹅脱氧胆酸钠对照品、牛磺鹅脱氧胆酸钠对照品、牛磺脱氧胆酸钠对照品各25 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加0.1 mol/L盐酸溶解并定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

对照品贮备液:取5种胆汁酸对照品各25 mg,精密称定,分别置100 mL容量瓶中,加0.1 mol/L盐酸溶液制成浓度为0.5 mmol/L(质量浓度为0.25 mg/mL)的对照品贮备液。

对照品溶液:取上述对照品贮备液各5 mL,分别置离心管中,于 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 水浴中孵育1 h,每隔10 min振摇混匀,离心(转速为2 000 r/min)15 min,取上清液,即得。

供试品溶液:取铝碳酸镁咀嚼片细粉适量(相当于铝碳酸镁25 mg),精密称定,分别置离心管中,加入上述对照品贮备液各5 mL,于 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 水浴中孵育1 h,每隔10 min振摇混匀,离心(转速为2 000 r/min)15 min,取上清液,即得。

2.2.3 方法学考察

定量限确定:取2.2.2项下单个对照品溶液逐级稀释,以信噪比(S/N)为10:1时的质量浓度为定量限浓度,按2.2.1项下色谱条件进样测定,结果牛磺胆酸钠、甘氨酸胆酸钠、牛磺鹅脱氧胆酸钠、牛磺脱氧胆酸钠、甘氨酸鹅脱氧胆酸钠的定量限分别为1.257,1.252,2.452,2.396,2.395 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。采用定量限浓度的对照品溶液连续进样测定6次,结果5种胆汁酸保留时间的RSD分别为0.16%,0.10%,0.14%,0.11%,0.21%($n=6$);峰面积的RSD分别为2.52%,5.14%,4.55%,6.18%,8.04%

($n=6$)。结果均低于10.0%,符合要求。

线性关系考察:精密量取2.2.2项下对照品贮备液适量,分别稀释成浓度为定量限浓度,以及0.05,0.10,0.125,0.15,0.20 mg/mL的系列溶液,取系列溶液及对照品贮备液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,以溶液质量浓度($X, \text{mg}/\text{mL}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归。结果见表1。

表1 线性关系考察结果

Tab. 1 Results of the linear relation test

| 胆汁酸组分 | 回归方程 | r | 线性范围(mg/mL) |
|-----------|--|---------|--|
| 牛磺胆酸钠 | $Y = 1.524 \times 10^{-4}X - 1.030 \times 10^{-3}$ | 0.999 9 | $1.257 \times 10^{-3} \sim 2.514 \times 10^{-1}$ |
| 甘氨酸胆酸钠 | $Y = 2.014 \times 10^{-4}X - 1.186 \times 10^{-3}$ | 0.999 9 | $1.252 \times 10^{-3} \sim 2.504 \times 10^{-1}$ |
| 牛磺鹅脱氧胆酸钠 | $Y = 1.257 \times 10^{-4}X + 2.329 \times 10^{-4}$ | 1.000 0 | $2.452 \times 10^{-3} \sim 2.452 \times 10^{-1}$ |
| 牛磺脱氧胆酸钠 | $Y = 1.210 \times 10^{-4}X - 3.804 \times 10^{-4}$ | 1.000 0 | $2.396 \times 10^{-3} \sim 2.396 \times 10^{-1}$ |
| 甘氨酸鹅脱氧胆酸钠 | $Y = 2.031 \times 10^{-4}X - 6.254 \times 10^{-4}$ | 0.999 7 | $2.412 \times 10^{-3} \sim 2.412 \times 10^{-1}$ |

重复性试验:按2.2.2项下供试品溶液制备方法制备溶液,平行6份,按2.2.1项下色谱条件由同一试验人员进行进样测定。结果铝碳酸镁咀嚼片对5种胆汁酸的吸附率为35.59%~97.25%,RSD为0.28%~3.83%($n=6$),表明方法重复性良好。

中间精密度试验:按2.2.2项下供试品溶液制备方法制备溶液,由另一试验人员在不同日期平行制备6份,按2.2.1项下色谱条件进样测定;同时,取重复性试验项下6次试验数据。结果2位试验人员测定的12份供试品溶液中,铝碳酸镁咀嚼片对5种胆汁酸的吸附率为35.59%~97.88%,RSD为0.41%~2.26%($n=12$),表明中间精密度良好。

稳定性试验:取2.2.2项下对照品溶液和供试品溶液各适量,分别于室温下放置0,6,12,18,24,30,36,48,60,72 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定。结果各胆汁酸峰面积的RSD为0.18%~1.80%($n=10$),保留时间的RSD为0.20%~0.80%($n=10$),表明对照品溶液和供试品溶液在室温放置72 h内稳定性良好。

回收试验:取各胆汁酸对照品贮备液,配制质量浓度分别为0.20,0.125,0.05 mg/mL溶液,作为高、中、低质量浓度的质控样品,按2.2.2项下方法制备质控样品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,每个浓度平行测定3次,并计算方法的绝对回收率。结果见表2,表明吸附过程对胆汁酸浓度测定无干扰,HPLC法的准确性符合测定要求。

2.3 样品中胆汁酸吸附率测定

取样品(批号分别为20200801,20201001,20201002,20201003),依法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,计算铝碳酸镁咀嚼片对胆汁酸的吸附率。结果见表3。

表2 回收试验结果(n=9)
Tab. 2 Results of the recovery test (n=9)

| 组分 | 加入量 | 测得量 | 回收率 | \bar{X} | RSD | 组分 | 加入量 | 测得量 | 回收率 | \bar{X} | RSD |
|----|---------|---------|--------|-----------|------|----|---------|---------|--------|-----------|------|
| | (mg) | (mg) | (%) | | | | (%) | (%) | (%) | | |
| A | 0.505 2 | 0.511 0 | 101.15 | 102.00 | 1.34 | D | 1.225 1 | 1.234 3 | 100.75 | 98.04 | 2.97 |
| | 0.505 2 | 0.509 8 | 100.91 | | | | 1.960 2 | 1.978 9 | 100.95 | | |
| | 0.505 2 | 0.510 5 | 101.05 | | | | 1.960 2 | 1.884 7 | 96.15 | | |
| | 1.263 0 | 1.302 7 | 103.14 | | | | 1.960 2 | 1.988 6 | 101.45 | | |
| | 1.263 0 | 1.257 0 | 99.52 | | | | 0.488 3 | 0.488 2 | 99.98 | | |
| | 1.263 0 | 1.297 9 | 102.76 | | | | 0.488 3 | 0.490 3 | 100.41 | | |
| | 2.020 8 | 2.087 7 | 103.31 | | | | 0.488 3 | 0.485 3 | 99.39 | | |
| | 2.020 8 | 2.081 0 | 102.98 | | | | 1.220 8 | 1.227 1 | 100.52 | | |
| | 2.020 8 | 2.086 0 | 103.23 | | | | 1.220 8 | 1.216 8 | 99.67 | | |
| | 2.020 8 | 2.081 0 | 102.98 | | | | 1.220 8 | 1.219 0 | 99.85 | | |
| B | 0.495 5 | 0.497 9 | 100.48 | 100.39 | 0.43 | E | 1.953 2 | 1.842 1 | 94.31 | 98.45 | 1.61 |
| | 0.495 5 | 0.496 1 | 100.12 | | | | 1.953 2 | 1.834 2 | 93.91 | | |
| | 0.495 5 | 0.493 6 | 99.62 | | | | 1.953 2 | 1.842 4 | 94.33 | | |
| | 1.238 7 | 1.253 1 | 101.16 | | | | 0.492 7 | 0.484 5 | 98.34 | | |
| | 1.238 7 | 1.244 4 | 100.46 | | | | 0.492 7 | 0.501 7 | 101.83 | | |
| | 1.238 7 | 1.242 0 | 100.27 | | | | 0.492 7 | 0.484 0 | 98.23 | | |
| | 1.982 0 | 1.998 1 | 100.81 | | | | 1.231 7 | 1.216 5 | 98.77 | | |
| | 1.982 0 | 1.987 7 | 100.29 | | | | 1.231 7 | 1.179 8 | 95.79 | | |
| | 1.982 0 | 1.989 6 | 100.38 | | | | 1.231 7 | 1.198 5 | 97.3 | | |
| | 1.982 0 | 1.989 6 | 100.38 | | | | 1.970 7 | 1.948 8 | 98.89 | | |
| C | 0.490 0 | 0.500 1 | 102.06 | 100.63 | 1.74 | | 1.970 7 | 1.941 2 | 98.5 | | |
| | 0.490 0 | 0.495 1 | 101.04 | | | | 1.970 7 | 1.938 7 | 98.38 | | |
| | 0.490 0 | 0.498 5 | 101.73 | | | | | | | | |
| | 1.225 1 | 1.239 5 | 101.18 | | | | | | | | |
| | 1.225 1 | 1.229 7 | 100.38 | | | | | | | | |

注:A为牛磺胆酸钠,B为甘氨酸胆酸钠,C为牛磺鹅脱氧胆酸钠,D为牛磺脱氧胆酸钠,E为甘氨酸鹅脱氧胆酸钠。

Note: A, B, C, D and E refer to sodium taurocholate, sodium glycocholate hydrate, sodium taurochenodeoxycholate, sodium taurodeoxycholate hydrate, and sodium glycochenodeoxycholate.

表3 4批样品中胆汁酸吸附率测定结果(%)

Tab. 3 Results of adsorption rate of bile acid in the four batches of samples (%)

| 胆汁酸组分 | 20200801 | 20201001 | 20201002 | 20201003 | \bar{X} |
|-----------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| 牛磺胆酸钠 | 34.61 | 30.28 | 30.76 | 31.42 | 31.77 |
| 甘氨酸胆酸钠 | 62.85 | 65.52 | 64.05 | 62.96 | 63.84 |
| 牛磺鹅脱氧胆酸钠 | 90.56 | 89.71 | 90.42 | 90.22 | 90.23 |
| 牛磺脱氧胆酸钠 | 89.87 | 88.58 | 88.85 | 88.38 | 88.92 |
| 甘氨酸鹅脱氧胆酸钠 | 97.51 | 96.70 | 98.41 | 96.62 | 97.31 |

3 讨论

以胆汁酸为主的十二指肠内容物从胃幽门反流入胃,损伤胃黏膜并引起相关疾病,胆汁酸反流与肠上皮化生及不典型增生的发生密切相关^[11]。铝碳酸镁能吸附和结合胆汁酸,从而减弱黏膜损伤因子的攻击,改善局部黏膜的血流量,通过调节pH值改变黏膜表面的酸碱环境等参与黏膜的保护作用。铝碳酸镁在临床上用

于保护胆汁酸引起的胃黏膜损伤和治疗胆汁反流性胃炎^[12-13]。

目前,尚无国家标准收载铝碳酸镁咀嚼片体外吸附胆汁酸的方法。本研究中,铝碳酸镁咀嚼片体外吸附胆汁酸的方法是根据铝碳酸镁独特的层状网络结构及其组成(氢氧化铝、氢氧化镁及碳酸盐)进行设计。通过模拟胃部pH值及患者的胃酸量,以及铝碳酸镁咀嚼片的用法用量对胆汁酸的吸附能力,确定介质为0.1 mol/L的盐酸溶液,铝碳酸镁咀嚼片的吸附形态为细粉,胆汁酸盐溶液的浓度为0.5 mmol/L(质量浓度为0.25 mg/mL),吸附时加入胆汁酸盐溶液5 mL,于(37±0.5)℃水浴孵育1 h,吸附完成后离心分离(转速为2 000 r/min)15 min。通过改变孵育时间、离心转速和离心时间、孵育过程中间隔振摇时间等试验吸附方法进行了耐用性考察,结果表明,在孵育时间变化±10 min、离心转速变化±500 r/min、离心时间变化±2 min和振摇间隔时间变化±10 min时,5种结合型胆汁酸吸附率的RSD为0.96%~3.95%,耐用性良好。

国家标准中尚未收载胆汁酸的检测方法,参考文献^[14-16],本研究中采用HPLC法对胆汁酸进行分析,但各胆汁酸的峰形及分离度均较差。优化了流动相的组成,选择甲醇、乙腈和缓冲盐流动相体系,并对流动相的pH值和缓冲盐的浓度,以及对不同的色谱柱进行筛选,各胆汁酸分离更好;通过改变柱温、流速、流动相pH值、缓冲盐浓度等试验对色谱条件进行了耐用性考察,结果表明,柱温变化±5℃、流速变化±0.1 mL/min、流动相中有机相比例变化±3%、流动相pH值变化±0.2、流动相中磷酸盐浓度变化±0.005 mol/L时,5种结合型胆汁酸吸附率的RSD为0.46%~3.11%,色谱条件耐用性好。

综上所述,所建立的铝碳酸镁咀嚼片体外吸附胆汁酸方法及胆汁酸含量测定方法准确、有效、灵敏、快速,可用于铝碳酸镁咀嚼片体外吸附胆汁酸的检测。

参考文献

- [1] STEIN HJ, KAUER WK, FEUSSNER H, et al. Bile acids as components of the duodenogastric refluxate: detection, relationship to bilirubin, mechanism of injury, and clinical relevance[J]. *Hepatology*, 1999, 46(25): 66-73.
- [2] 李雪,王静,朱磊. 奥美拉唑联合铝碳酸镁和莫沙必利治疗胆汁反流性胃炎的临床应用价值[J]. *当代医学*, 2020, 26(3): 31-33.
- [3] BOONE CD, TU C, MCKENNA R. Structural elucidation of the hormonal inhibition mechanism of the bile acid cholate on human carbonic anhydrase II[J]. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, 2014, 70(Pt6): 1758-1763.
- [4] 叶敏,梅丹,李大魁,等. 铝碳酸镁咀嚼片体外吸附胆汁酸的比较研究[J]. *中国药学杂志*, 2000, 11, 35(11): 745-747.