

HPLC-ELSD 法测定龙泽熊胆胶囊中牛磺熊去氧胆酸和牛磺鹅去氧胆酸的含量^{*}

乔莉, 陈正东, 陈馥, 简淑仪, 黄俊忠, 黄悠雯, 刘潇潇^{**}

(广东省药品检验所, 广州 510663)

摘要 目的:以牛磺熊去氧胆酸和牛磺鹅去氧胆酸为指标,建立龙泽熊胆胶囊中熊胆粉的含量测定方法。方法:采用高效液相色谱串联蒸发光检测器,色谱柱为 ChromCore AQ C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 乙腈 (A)-5 mmol · L⁻¹ 醋酸铵溶液 (B) 为流动相,梯度洗脱 (0 ~ 40 min, 25% A; 40 ~ 50 min, 25% A → 29% A; 50 ~ 80 min, 29% A; 80 ~ 100 min, 29% A → 40% A), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, ELSD 漂移管温度 110 °C, 氮流量 2.5 L · min⁻¹。结果:牛磺熊去氧胆酸进样量在 1.069 ~ 9.57 μg 内、牛磺鹅去氧胆酸进样量在 0.740 46 ~ 7.404 64 μg 内,进样量的对数与峰面积的对数呈良好的线性关系;仪器精密度、重复性、稳定性试验的 RSD < 2.0%;经低、中、高 3 个浓度的准确度试验考察,牛磺熊去氧胆酸的回收率为 95.2% ~ 97.7%,牛磺鹅去氧胆酸的回收率为 91.9% ~ 95.9%。测定样品 42 批次,牛磺熊去氧胆酸和牛磺鹅去氧胆酸的含量分别为 0.18 ~ 0.43、0.10 ~ 0.44 mg · 粒⁻¹。结论:本法适用于龙泽熊胆胶囊中熊胆粉的质量控制,可为完善龙泽熊胆胶囊的质量标准提供科学的依据。

关键词: 高效液相色谱-蒸发光散射检测器;龙泽熊胆胶囊;熊胆粉;牛磺熊去氧胆酸;牛磺鹅去氧胆酸

中图分类号:R 921.2

文献标识码:A

文章编号:1009-3656(2024)01-0076-06

doi:10.19778/j.chp.2024.01.013

Determination of taursodeoxycholic acid and taurchenodeoxycholic acid in Longze Xiongdan capsules by HPLC-ELSD^{*}

QIAO Li, CHEN Zhengdong, CHEN Fu, JIAN Shuyi,

HUANG Junzhong, HUANG Youwen, LIU Xiaoxiao^{**}

(Guangdong Institute for Drug Control, Guangzhou 510663, China)

Abstract Objective: To establish a method for determining the content of bear bile powder in Longze Xiongdan capsules with taursodeoxycholic acid (TUDCA) and taurchenodeoxycholic acid (TCDCA) as indexes. **Methods:** HPLC series evaporation photodetector was adopted on Chrom Core AQ C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile (A) and 5 mmol · L⁻¹ ammonium acetate solution (B) in a gradient elution (0-40 min, 25% A; 40-50 min, 25% A → 29% A; 50-80 min, 29% A; 80-100 min, 29% A → 40% A) at the flow rate of 1.0 mL · min⁻¹. The column temperature was 30 °C. The ELSD was used, of which the drift tube temperature was 110 °C and the flow rate of carrier gas (N₂) was 2.5 L · min⁻¹. **Results:** In the ranges of 1.069-9.57 μg and 0.740 46-7.404 64 μg, logarithms of the injected amount of TUDCA and TCDCA presented good linear relationships with logarithms of the peak area, respectively. The RSDs of precision, repeatability

^{*} 基金项目:广东省中医药局课题(20221056)

第一作者简介:乔莉,副主任中药师;研究方向:中药质量评价研究。Tel:020-32447998;E-mail:164091516@qq.com

^{**} 通讯作者简介:刘潇潇,主任药师;研究方向:中药质量控制研究。Tel:020-81863096;E-mail:cpulxx@126.com

and stability tests were all lower than 2.0%. At three concentration levels the recoveries of TUDCA and TCDCA were 95.2% – 97.7% and 91.9% – 95.9%, respectively. Samples of 42 batches showed that the contents of TUDCA and TCDCA were 0.18 – 0.43 and 0.10 – 0.44 mg · granule⁻¹, respectively. **Conclusion:** This method can be used for the quality control of bear bile powder in Longze Xiongdan capsules, thus provides a scientific basis for improving its quality standard.

Key words: HPLC-ELSD; Longze Xiongdan capsules; bear bile powder; taursodeoxycholic acid; taurchenodeoxycholic acid

龙泽熊胆胶囊,又名熊胆丸,OTC 甲类药品,系由龙胆 101 g、盐泽泻 61 g、地黄 76 g、当归 61 g、栀子 61 g、菊花 61 g、盐车前子 61 g、决明子 61 g、柴胡 61 g、防风 61 g、黄芩 61 g、木贼 61 g、黄连 61 g、薄荷脑 6.33 g、大黄 101 g、冰片 8 g、熊胆粉 1.27 g 17 味药组成的中药复方制剂。据相关文献报道,龙泽熊胆胶囊为古方龙胆泻肝汤加减药味所得^[1],临床主要用于风热或肝经湿热引起的目赤肿痛、羞明多泪^[2]。该品种最早收载于吉林省药品标准,后上升为部颁标准,目前质量标准收载于《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)2020 年版一部^[2],质控项目包括:当归、栀子、防风、黄连、熊胆的 TLC 鉴别项和以龙胆苦苷为指标的龙胆的含量测定项。郝乘仪等^[3-4]采用 RP-HPLC 建立同时测定龙泽熊胆胶囊中龙胆苦苷、盐酸小檗碱和黄芩苷的含量测定方法;另有采用 HPLC 建立同时测定龙泽熊胆胶囊中绿原酸、栀子苷和龙胆苦苷等 6 种成分的含量测定方法,但对于处方中具有清肝明目功效的贵细药材熊胆粉的含量测定方法未见相关研究报道。

熊胆粉具有清热、平肝、明目的功效^[5],临床多用于眼科和肝胆等疾病^[6-10]。由于熊胆粉为我国的传统名贵中药材,而龙泽熊胆胶囊现行质量标准又缺少对熊胆粉的定量质控项目,存在为降低成本少投料的可能性,从而影响临床用药效果,延误患者的治疗。本研究参考《云南省食品药品监督管理局标准 熊胆粉(冻干)》(编号:云 YPBZ-0205-2014)^[11]对熊胆粉的质量控制指标,建立龙泽熊胆胶囊中熊胆粉的定量分析方法,旨在提升龙泽熊胆胶囊的质控水平,为监管部门提供技术支持。

1 仪器与试药

1.1 仪器

日本岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪,包括柱温箱 CTO-20AC、自动进样器 SIL-20AC、紫外检测器 SPD-20A;美国奥泰 ELSD6000 蒸发光检测器;美国

Millipore 超纯水仪;德国赛多利斯 CP224S 万分之一电子天平 and MSA225P-CE 十万分之一电子天平;中国(上海)必能信 M8800H-C 超声波清洗器。

1.2 试药

牛磺熊去氧胆酸对照品(批号为 110816-202110)、熊胆粉对照药材(批号为 121525-201202),均购于中国食品药品检定研究院;牛磺熊去氧胆酸钠对照品(批号为 A01085,含量以 98.17% 计),购于珠海安哲生物技术有限公司。醋酸铵(质谱级,上海麦克林生化科技有限公司),乙腈(色谱纯,Honeywell 公司),水为超纯水或蒸馏水(屈臣氏),甲醇、正丁醇、氢氧化钠(均为分析纯,广州化学试剂厂)。

1.3 样品

龙泽熊胆胶囊样品共 42 批次,涉及生产企业 10 家。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

ChromCore AQ C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱;以乙腈为流动相 A,以 5 mmol · L⁻¹ 醋酸铵溶液为流动相 B,梯度洗脱(0 ~ 40 min, 25% A; 40 ~ 50 min, 25% A → 29% A; 50 ~ 80 min, 29% A; 80 ~ 100 min, 29% A → 40% A);流速 1.0 mL · min⁻¹;柱温 30 °C;进样体积为对照品溶液 5、15 μL,供试品溶液 10 μL。采用蒸发光散射检测器检测,漂移管温度:110 °C;氮流量:每分钟 2.5 L,增益值:2。理论板数按牛磺熊去氧胆酸峰计算应均不低于 3 500。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取牛磺熊去氧胆酸对照品 0.010 69 g,置 20 L 棕色量瓶中,加甲醇制成每 1 mL 含牛磺熊去氧胆酸 0.534 5 mg 的储备溶液。精密称取牛磺熊去氧胆酸钠对照品 0.015 75 g,置 20 mL 棕色量瓶中,加甲醇制成每 1 mL 含牛磺熊去氧胆酸 0.740 5 mg 的储备液。分别精密量取上述牛磺熊去氧胆酸储备液 6 mL、牛磺熊去氧胆酸储备

液 3 mL, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇制成每 1 mL 含牛磺熊去氧胆酸 0.320 7 mg、牛磺鹅去氧胆酸 0.222 2 mg 的混合溶液。(牛磺鹅去氧胆酸的量 = 牛磺熊去氧胆酸钠的量 $\times$ 0.957 8)

2.2.2 供试品溶液 取《中国药典》装量差异项^[2]下的内容物, 研匀, 取约 2 g, 精密称定, 置具塞棕色锥形瓶中, 加甲醇 25 mL, 密塞, 超声(功率 280 W, 频率 40 kHz)处理 30 min, 放冷, 摇匀, 滤过, 用少量甲醇分次洗涤容器和滤纸, 洗液与滤液合并, 蒸干, 残渣加 10% 氢氧化钠溶液 25 mL 使溶解, 并分次转移至分液漏斗中, 用水饱和正丁醇振荡提取 4 次, 每次 25 mL, 合并正丁醇提取液, 用水 50 mL 洗涤, 分取正丁醇液, 蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 并分次转移至 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

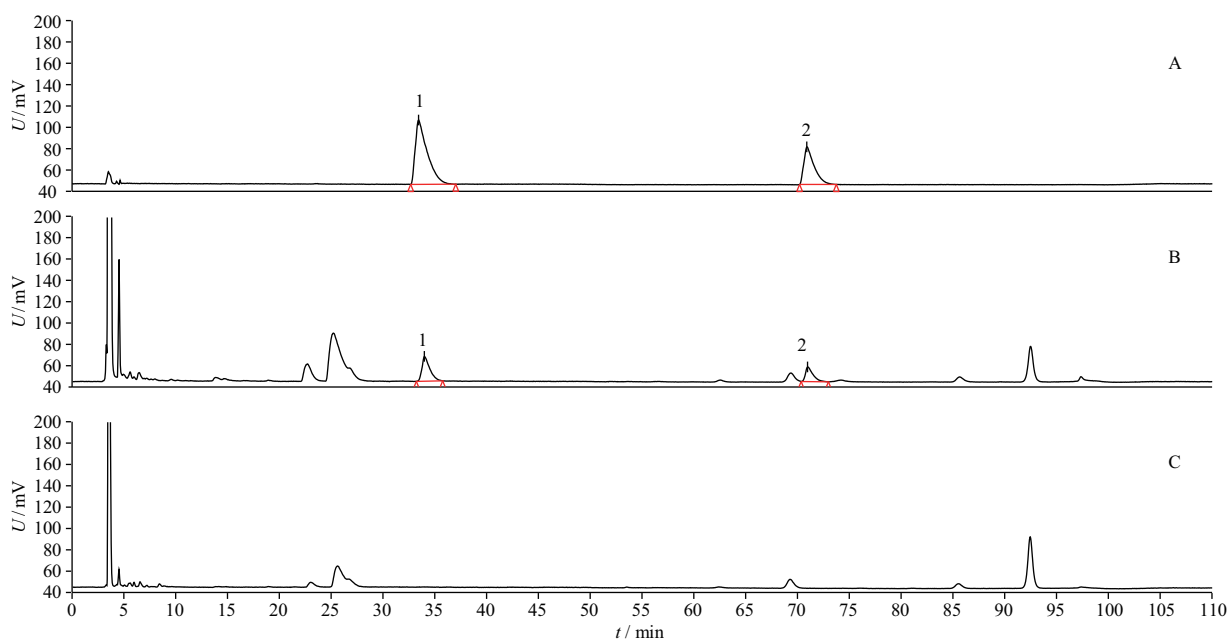
2.2.3 缺熊胆粉阴性样品溶液 按龙泽熊胆胶囊的处方工艺投料除熊胆粉外其他药材模拟制备缺熊

胆粉阴性样品。按“2.2.2”项下的制备方法制成熊胆粉阴性样品溶液。

2.3 方法学验证

2.3.1 系统适用性试验 分别取牛磺熊去氧胆酸、牛磺鹅去氧胆酸的混合对照品溶液和供试品溶液, 按“2.1”项下条件分别进样测定, 记录色谱图。结果牛磺熊去氧胆酸的理论塔板数为 11824, 牛磺鹅去氧胆酸的理论塔板数为 44982, 且供试品图谱中待测色谱峰与其相邻色谱峰的分离度均大于 1.5, 表明该方法系统适用性良好。

2.3.2 专属性试验 精密吸取“2.2”项下的混合对照品溶液、供试品溶液和缺熊胆粉阴性样品溶液各 10 μ L, 按“2.1”项下的色谱条件注入液相色谱仪, 记录色谱图。结果阴性样品色谱图中在与牛磺熊去氧胆酸、牛磺鹅去氧胆酸对照品色谱峰相应的保留时间处未检出干扰峰, 表明该方法专属性较好, 结果见图 1。



1. 牛磺熊去氧胆酸(TUDCA) 2. 牛磺鹅去氧胆酸(TCDCA)

图1 混合对照品溶液(A)、供试品溶液(B)和缺熊胆粉阴性样品溶液(C)色谱图

Fig. 1 Chromatograms of mixed control solution(A), test solution(B) and negative sample solution without bear bile powder(C)

2.3.3 线性关系试验 精密称取牛磺熊去氧胆酸对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含牛磺熊去氧胆酸分别为 0.106 9、0.160 4、0.320 7、0.574 2、0.957 0 mg 的溶液作为牛磺熊去氧胆酸系列溶液。精密称取牛磺鹅去氧胆酸钠对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含牛磺鹅去氧胆酸分别为 0.074 0、0.111 1、0.222 1、0.296 2、0.740 5 mg 的溶液作为牛磺鹅去

氧胆酸系列溶液。分别精密吸取系列浓度的对照品溶液各 10 μ L, 按“2.1”项下的色谱条件注入液相色谱仪, 测定峰面积。以进样量(μ g)的对数为横坐标(X), 以峰面积的对数为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 得到回归方程, 结果见表 1。

2.3.4 精密度试验 精密吸取“2.2.1”项下的混合对照品溶液, 按“2.1”项下条件连续进样 6 次, 记

录峰面积。结果牛磺熊去氧胆酸、牛磺鹅去氧胆酸平均峰面积值分别 3067683、1610911, RSD 分别为 0.7% ($n=6$)、1.2% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.3.5 重复性试验 取同一批号(批号为 211012, 生产企业 B)的龙泽熊胆胶囊样品, 精密称定, 按

“2.2.2”项下的方法平行制备供试品溶液 6 份, 按“2.1”项下的色谱条件进行测定, 计算含量, 结果测得样品中牛磺熊去氧胆酸、牛磺鹅去氧胆酸的平均含量 ($n=6$) 分别为 1.399 1、0.957 8 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD($n=6$) 分别为 0.2%、0.6%, 表明本方法重复性良好。

表 1 线性关系考察结果

Tab. 1 Investigation results of linear relationship

成分(component)	回归方程(regression equation)	线性范围(linear range)/ μg	r
牛磺熊去氧胆酸(TUDCA)	$Y = 1.144X + 13.696$	1.069 0 ~ 9.570 0	0.999 4
牛磺鹅去氧胆酸(TCDCA)	$Y = 1.158X + 13.509$	0.740 5 ~ 7.404 6	0.999 3

2.3.6 准确度试验 取已知含量且同一批号(批号为 211012, 生产企业 B, 含量为每 1g 含牛磺熊去氧胆酸 1.399 1 mg、牛磺鹅去氧胆酸 0.957 8 mg)的龙泽熊胆胶囊样品适量, 研细, 取约 1.0 g, 精密称定, 按低中高三个水平浓度各平行制备 3 份。其中, 低浓度分别精密加入牛磺熊去氧胆酸对照品溶液 ($1.407 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 0.5 mL 和牛磺鹅去氧胆酸对照品溶液 ($0.981 6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 0.5 mL; 中浓度分别精密加入牛磺熊去氧胆酸对照品溶液 ($0.952 0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 1.6 mL 和牛磺鹅去氧胆酸对照品溶液

($0.989 2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 1.2 mL; 高浓度分别精密加入牛磺熊去氧胆酸对照品溶液 ($1.407 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 1.5 mL 和牛磺鹅去氧胆酸对照品溶液 ($0.981 6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 1.5 mL, 按“2.2.2”项下的方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下条件进行测定, 记录各成分的峰面积, 计算加样回收率, 结果见表 2, 样品中牛磺熊去氧胆酸和牛磺鹅去氧胆酸的低中高 3 个水平浓度加标试验均符合《中国药典》2020 年版通则 9101 规定的 90% ~ 108% 回收率限度要求, 表明该方法的准确度良好。

表 2 牛磺熊去氧胆酸和牛磺鹅去氧胆酸的回收率($n=9$)

Tab. 2 Recovery rate of TUDCA and TCDCA

成分 (component)	浓度水平 (concentration)	取样量 (sample amount) /g	样品含量 (content) /mg	加入量 (added) /mg	测得量 (measured)/ mg	回收率 (recovery) /%	平均回收率 (average recovery) /%	RSD /%
牛磺熊去氧胆酸	75%	1.002 5	1.402 6	0.703 5	2.090 1	97.72	96.8	0.8
		1.003 1	1.403 4		2.086 3	97.07		
		1.000 6	1.399 9		2.078 7	96.49		
	100%	1.000 1	1.399 2	1.523 2	2.879 9	97.21		
		1.000 8	1.400 2		2.888 7	97.72		
		1.000 9	1.400 4		2.875 5	96.85		
	125%	1.004 8	1.405 8	2.110 5	3.436 8	96.23		
		1.001 3	1.400 9		3.409 9	95.19		
		1.001 0	1.400 5		3.442 8	96.77		
牛磺鹅去氧胆酸	75%	1.002 5	0.960 2	0.490 8	1.423 6	94.41	94.4	1.5
		1.003 1	0.960 7		1.430 9	95.80		
		1.000 6	0.958 4		1.424 8	95.03		
	100%	1.000 1	0.957 9	1.187 0	2.076 7	94.26		
		1.000 8	0.958 5		2.053 3	92.23		
		1.000 9	0.958 6		2.049 4	91.89		
	125%	1.004 8	0.962 4	1.472 4	2.374 8	95.92		
		1.001 3	0.959 0		2.362 8	95.34		
		1.001 0	0.958 7		2.354 6	94.80		

2.3.7 稳定性试验 取供试品溶液(批号为211012,生产企业B),按“2.1”项下条件,分别于0、2、4、6、8、10、14、22、30、44 h,注入液相色谱仪进行分析,结果显示不同时间测得供试品溶液中牛磺熊去氧胆酸和牛磺鹅去氧胆酸峰面积的RSD均为0.90% ($n=10$),结果表明供试品溶液中牛磺熊去氧胆酸、牛磺鹅去氧胆酸在44 h内稳定。

2.3.8 检出限和定量限 分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,逐级稀释,按“2.1”项下条件进样测定,以信噪比 $S/N=3$ 时的溶液浓度计算检出限,结果牛磺熊去氧胆酸、牛磺鹅去氧胆酸的检出限分别为 2.0 、 $1.4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;以信噪比 $S/N=10$ 时的溶液浓度计算定量限,结果牛磺熊去氧胆酸、牛磺鹅去氧胆酸的检出限分别为 6.0 、 $4.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.4 样品测定结果

按拟定的方法,对10家企业42批龙泽熊胆胶囊样品,按“2.2.2”项下方法制成供试品溶液后,再按“2.1”项下条件进样测定,记录各成分峰面积,并按照外标两点法对数方程分别计算样品中牛磺熊去氧胆酸、牛磺鹅去氧胆酸的含量,结果见表3。

表3 不同批次样品含量测定结果($\text{mg} \cdot \text{粒}^{-1}$)

Tab.3 Content determination results of different batches of samples

企业代号 (enterprise code)	样品批次 (batches)	牛磺熊去氧胆酸 (TUDCA)	牛磺鹅去氧胆酸 (TCDCA)
A	1	0.34	0.31
B	10	0.35 ~ 0.43	0.20 ~ 0.31
C	2	0.31 ~ 0.32	0.23 ~ 0.24
D	2	0.28 ~ 0.30	0.30 ~ 0.41
E	1	0.33	0.25
F	11	0.23 ~ 0.37	0.23 ~ 0.44
G	11	0.22 ~ 0.39	0.19 ~ 0.32
H	1	0.26	0.29
I	1	0.18	0.10
J	2	0.23 ~ 0.32	0.17 ~ 0.25

3 讨论

3.1 指标成分的选择

熊胆始载于《新修本草》,至今已经有1000余年的入药和使用历史,相关文献报道熊胆粉主要由胆汁酸类、蛋白质类、胆固醇类、胆色素类以及一些微量元素构成,其中的胆汁酸类成分牛磺熊去氧胆酸和牛磺鹅去氧胆酸是熊胆粉的主要活性成分^[12-15]。参照《云南省食品药品监督管理局标准 熊

胆粉(冻干)》(编号:云 YPBZ-0205-2014)^[11]中熊胆粉的含量测定方法,对熊胆粉的物质基础进行了考察,结果牛磺熊去氧胆酸和牛磺鹅去氧胆酸含量之和均达50%以上,故选择其作为龙泽熊胆胶囊中熊胆粉定量质控项目的指标化合物。

3.2 检测方法的选择

《卫生部药品标准新药转正标准第十一册》中收录的熊胆粉质量标准是采用HPLC-UV法,以牛磺熊去氧胆酸为指标成分进行质量控制^[5]。《云南省食品药品监督管理局标准 熊胆粉(冻干)》(编号:云 YPBZ-0205-2014)^[11]采用的是HPLC-UV法,以牛磺熊去氧胆酸和牛磺鹅去氧胆酸为指标成分进行质量控制。另查阅文献,石岩等^[16]采用HPLC-ELSD检测法,建立熊胆粉中主要胆汁酸类成分的含量测定方法;张怡欣等^[17]采用超高效液相色谱串联电喷雾式检测器新技术,对熊胆粉特征指纹图谱进行了研究。综上所述,目前测定胆汁酸类化学成分的含量测定主要采用HPLC-UV法、HPLC-ELSD法和HPLC-CAD法。由于龙泽熊胆胶囊为17味药味组成的大处方复方制剂,而熊胆粉的处方量占比较小,采用HPLC-UV法时,会导致目标化合物灵敏度较差,基质干扰严重。HPLC-ELSD法和HPLC-CAD法可以弥补上述问题,经比较,采用HPLC-ELSD法响应值较高,故选择HPLC-ELSD法作为龙泽熊胆胶囊中熊胆粉定量质控项目的检测方法。

3.3 色谱条件的选择

流动相选择上比较了乙腈-5 mmol·L⁻¹醋酸铵溶液^[16]和乙腈-5 mmol·L⁻¹醋酸铵溶液(含0.1%甲酸)系统^[18],结果在采用乙腈-5 mmol·L⁻¹醋酸铵溶液系统时,样品色谱图的信息较多,且待测成分响应值较高,能达到基线分离的要求。另外,曾使用3个不同品牌的色谱柱,即ChromCore AQ C₁₈、Agela Venusil XBP C₁₈、YMC Hydrosphere C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)进行试验,结果均能满足分离要求,峰形佳,且3根色谱柱测得同一批号样品中牛磺熊去氧胆酸和牛磺鹅去氧胆酸的含量值的RSD小于5.0% ($n=3$)。

3.4 限度的制订

《云南省食品药品监督管理局标准 熊胆粉(冻干)》(编号:云 YPBZ-0205-2014)^[11]规定“本品按干燥品计算,含牛磺熊去氧胆酸($\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{NO}_8\text{S}$)不得低于24.0%,含牛磺鹅去氧胆酸($\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{NO}_6\text{S}$)不得低于18.0%”。现参照该限度,结合龙泽熊胆胶囊的处方量(每1粒含熊胆粉的生药量为0.001 27

g),理论限度为“每粒含熊胆粉以牛磺熊去氧胆酸($C_{26}H_{45}NO_8S$)计应不得少于0.30 mg,牛磺鹅去氧胆酸($C_{26}H_{45}NO_6S$)计应不得少于0.23 mg”。本品生产工艺中熊胆粉为粉末投料,未经加工提取,考虑到大生产过程中的损失,按理论限度的70%暂定限度为“本品每粒含熊胆粉,以牛磺熊去氧胆酸($C_{26}H_{45}NO_8S$)计不得少于0.21 mg,以牛磺鹅去氧胆酸($C_{26}H_{45}NO_6S$)计不得少于0.16 mg”。

3.5 小结

本研究以牛磺熊去氧胆酸和牛磺鹅去氧胆酸为指标,建立了龙泽熊胆胶囊中熊胆粉的定量分析方法,该方法专属性强、灵敏度高、结果准确可靠,为龙泽熊胆胶囊的质量控制提升奠定了研究基础。

参考文献

- [1] 段志红. 熊胆丸的质量控制及指纹图谱研究[D]. 天津:天津大学,2004.
DUAN ZH. Studies on Quality Control and Fingerprint of Bear Gall Pill [D]. Tianjing: Tianjin University, 2004.
- [2] 中华人民共和国药典2020年版. 一部[S]. 2020:808.
ChP 2020. Vol I [S]. 2020:808.
- [3] 郝乘仪,冯波. HPLC法同时测定龙泽熊胆胶囊中6种成分的含量[J]. 中国药房,2017,28(9):1246.
HAO CY, FENG B. Simultaneous determination of 6 kinds of components in Longze Xiongdan capsules by HPLC[J]. China Pharm, 2017, 28(9):1246.
- [4] 郝乘仪,张家和,冯波. RP-HPLC法同时测定龙泽熊胆胶囊中龙胆苦苷、盐酸小檗碱和黄芩苷含量[J]. 国际药学研究杂志,2016,43(4):757.
HAO CY, ZHANG JH, FENG B. Simultaneous determination three kinds of components in Longze Xiongdan capsule by RP-HPLC[J]. J Intl Pharm Res, 2016, 43(4):757.
- [5] 卫生部药品标准. 新药转正标准第十一册[S]. 1996:43.
Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health. The New Drug Was Transferred to Volume 11 [S]. 1996:43.
- [6] 徐国钧,徐璐珊,王铮涛. 常用中药材品种整理和质量研究南方协作组第三册[M]. 福州:福建科学技术出版社,1999:860.
XUN GJ, XU LS, WANG ZT. Species Systematization and Quality Evaluation of Commonly Used Chinese Traditional Drugs South-China Edition Volume III [S]. Fuzhou: Fujian science & technology press, 1999: 43
- [7] 池述广. 熊胆主要化学成分合成方法及药理研究进展[J]. 海峡药学,2008,20(2):5.
CHI SG. Synthetic and pharmacological research progress of primary chemical components in bear bile [J]. Strait Pharm J, 2008, 20(2):5.
- [8] 黄春艳,周微,刘金丽,等. 熊胆粉对运动性疲劳大鼠的抗疲劳作用研究[J]. 中国医学创新,2019,16(31):29.
HUANG CY, ZHOU W, LIU JL, *et al.* Study on the anti-fatigue effect of bear bile powder in rats with exercise induced fatigue [J]. Med Innov China, 2019, 16(31):29.
- [9] ZHAO JY, CHEN ZH, LIN W, *et al.* Bear bile powder (熊胆粉) induces apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells via mitochondrion-dependent pathway [J]. Chin J Integr Med, 2014, 20(2):123
- [10] 林国华,杜犀,吴朝,等. 熊胆粉保肝抗癌作用机制研究进展[J]. 临床医学研究与实践,2020,5(18):196.
LIN GH, DU X, WU C, *et al.* Research progress on liver protection and anticancer mechanism of bear bile powder [J]. Clin Res Prac, 2020, 5(18):196.
- [11] YPBZ-0205-2014《云南省食品药品监督管理局标准 熊胆粉(冻干)》[S]. 2014.
YUN YPBZ-0205-2014 Medical Products Administration of Yunnan Province. Bear bile powder (freeze-dried) [S]. 2014.
- [12] 石岩,邹秦文,魏锋,等. 熊胆粉药材研究进展[J]. 中国药事,2014,28(1):82.
SHI Y, ZOU QW, WEI F, *et al.* The research progress in bear gall powder [J]. Chin Pharm Aff, 2014, 28(1):82.
- [13] 徐愚聪,王野. 熊胆粉的研究进展[J]. 华西药学杂志,2000,1(3):200.
XU YC, WANG Y. The research progress of bear bile powder [J]. West China J Pharm Sci, 2000, 1(3):200.
- [14] 吴革林,吴修红,董阔伟,等. 熊胆(粉)非胆汁酸类成分研究进展[J]. 中医药学报,2011,39(3):90.
WU GL, WU XH, DONG TW, *et al.* The research progress of constitutes without bile acids in bear bile (powder) [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2011, 39(3):90.
- [15] 刘国宇,李静,王新莉,等. 人工引流熊胆粉中结合胆汁酸成分的研究[J]. 西北药学杂志,2011,26(5):322.
LIU GY, LI J, WANG XL, *et al.* The conjugated bile acids of man-made drainage bear bile [J]. Northwest Pharm J, 2011, 26(5):322.
- [16] 石岩,魏锋,林瑞超,等. 熊胆粉中主要胆汁酸类成分的测定及分析[J]. 中国药理学杂志,2016,51(22):1958.
SHI Y, WEI F, LIN RC, *et al.* Quantification of the Major bile acids in bear bile powder by HPLC-ELSD [J]. Chin Pharm J, 2016, 51(22):1958.
- [17] 张怡欣,孙帅,程绒绒,等. 基于超高效液相色谱串联电喷雾式检测器新技术的熊胆粉特征指纹图谱研究[J]. 上海中医药大学学报,2020,34(3):83.
ZHANG YX, SUN S, CHENG RR, *et al.* Study on characteristic fingerprint of bear bile powder based on ultra-high performance liquid chromatography tandem charged aerosol detector [J]. Acad J Shanghai Univ Tradit Chin Med, 2020, 34(3):83.
- [18] 许盈芃. 中药替代资源的合成生物学探索[D]. 上海:上海中医药大学,2019.
XU YP. Exploration of Synthetic Biology of Alternative Resources in Traditional Chinese Medicine [D]. Shanghai: Shanghai University of traditional Chinese Medicine, 2019.

(收稿日期:2023-07-10)