

表 1 骨质疏松组与对照组基因型及等位基因频率分布图 n(%)

组别	例数	基因型						等位基因		
		E2/E2	E3/E3	E4/E4	E2/E3	E2/E4	E3/E4	E2	E3	E4
骨质疏松组	126	2(1.6)	76(60.3)	8(6.3)	14(11.1)	2(1.6)	24(19.0)	20(7.9)	190(75.4)	42(16.7)
对照组	100	2(2)	71(71)	3(3)	12(12)	2(2)	10(10)	18(9)	164(82)	18(9)

两步循环法也是 PCR 反应中优化目标扩增产物的方法之一,其原理与 Touchdown PCR 技术相似,在反应初期严格控制扩增特异性而牺牲扩增效率,在达到一定底物浓度后渐渐放宽反应条件^[6]。本实验第一步五个循环,严格控制退火温度,以保证 PCR 产物的严谨性,后面三十个循环按照常规退火温度进行 PCR,保证 PCR 产物的产率。

本实验通过对 PCR 反应条件的摸索,改良 ApoE 高 GC 目的片段的 PCR,保证了对 ApoE 基因多态性分析的正确性。通过该方法,本实验成功测出两组各样本的基因型,通过比较基因型及等位基因频率。结果显示骨质疏松组与正常对照组之间,在基因型分布频率上无统计学差异,但 ApoE4 等位基因在骨质疏松组的分布频率升高,初步推断 ApoE4 等位基因可能与老年性骨质疏松的发病率升高有关联,尚需要进一步重复实验验证本结论。

卫生,2009,9(2):93-95.

[2] Jacob Raber. AH, ApoE and cognitive function[DB/OL]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>,2009-3-1.

[3] JR Long, PY Liu, YJ Liu. APOE haplotypes influence bone mineral density in Caucasian males but not females. *Calcif Tissue Int*, 2004, 75(4):299-304.

[4] Schoofs MW, Van der Klif M, Hofman A, et al. ApoE gene polymorphisms, BMD, and fracture risk in elderly men and women; the Rotterdam study. *J Bone Miner Res*,2004, 19(9):1490-1496.

[5] Joseph Sambrook, David W Russell. 分子克隆实验指南. 北京:科学出版社,2003:698-701.

[6] J. M. 沃克, R. 拉普勒. 分子生物学与生物技术. 北京:化学工业出版社,2003:35-38.

(收稿日期:2009-07-10)

(本文编辑:赵正)

参考文献

[1] 王丁一,杨欢,周亮,等. ApoE 与阿尔茨海默病. 神经疾病与精神

高效液相色谱法测定复方替硝唑醇溶液中替硝唑氯霉素的含量

蔡敏

【摘要】 目的 探讨同时测定复方替硝唑醇溶液中替硝唑和氯霉素含量的方法。方法 采用高效液相色谱法,色谱柱为 Diamonsil C18(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为甲醇-水(50:50),检测波长为 290 nm。结果 替硝唑、氯霉素在 20~120 μg/ml 浓度范围内均有良好的线性关系,相关系数均为 0.9999,平均回收率分别为 100.62%、100.54%,相对标准差分别为 0.67%、0.52%。结论 本方法分离度好、快速、简便,可用于含替硝唑、氯霉素的质量控制。

【关键词】 高效液相色谱法; 替硝唑; 氯霉素; 含量测定

Simultaneous determination of tinidazole and chloramphenicol in compound tinidazole tincture by HPLC CAI Min. The People's Hospital of Jingshan, Jingmen 431800, China

【Abstract】 Objective To establish a HPLC method for simultaneous determination of tinidazole and chloramphenicol in compound tinidazole tincture. Methods The method included a Diamonsil C18 column (250 mm×4.6 mm,5 μm) and methanol-water(50:50) as the mobile phase and an ultraviolet detecting wavelength of 290 nm. Results The calibration curve was linear in a concentration range of (20~120) μg/ml of both tinidazole and chloramphenicol(r=0.9999). The average recoveries of tinidazole and chloramphenicol were 100.62%,100.54% and RSD were 0.67%,0.52% respectively.

作者单位:431800 湖北省京山县人民医院

通讯作者:蔡敏

Conclusion The method for the determination of tinidazole and chloramphenicol was rapid and convenient. It can be used for the quality control of tinidazole and chloramphenicol.

【Key words】 HPLC; Tinidazole; Chloramphenicol; Content determination

复方替硝唑醇溶液为笔者所在医院临床应用多年的制剂,主要用于治疗脂溢性皮炎、寻常性痤疮、毛囊炎性皮肤病等,主要成分为替硝唑和氯霉素。但在本制剂中,由于替硝唑、氯霉素紫外线吸收光谱相互重叠,干扰含量测定。因此,笔者建立了以高效液相色谱法同时测定复方替硝唑醇溶液中两主药含量的方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪(美国 Dionex); BP-211D 电子天平(德国 Sartorius); UV-160A 紫外分光光度计(日本岛津)。

1.2 试剂 替硝唑对照品、氯霉素对照品(中国药品生物制品检定所); 复方替硝唑醇溶液(湖北省荆门市京山县人民医院制剂室提供); 甲醇为色谱纯,其余试剂为分析纯。

2 方法和结果

2.1 样品液、空白液及对照品液的配制。

2.1.1 样品液 精密吸取 1 ml,置于 100 ml 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.2 空白液 精密吸取不含替硝唑、氯霉素的空白醇溶液 1 ml,照以上方法处理,即得。

2.1.3 对照品液 精密称取替硝唑、氯霉素对照品各 10 mg,置于同一 100 ml 容量瓶中,加甲醇溶解,定容至刻度,即得。

2.2 色谱条件 色谱柱: DiamonsilTMC18 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(50:50), 检测波长: 290 nm; 流速: 1.0 ml/min, 柱温: 30 ℃; 灵敏度: 0.02 AUFS; 进样量: 10 μl。在此条件下替硝唑、氯霉素分离好,峰形对称,保留时间分别为 4.06 min 和 9.24 min; 相应的空白液在此条件下不干扰主峰。

2.3 标准曲线制备 分别精密称取替硝唑、氯霉素各 100 mg,置于 100 ml 量瓶中,加甲醇定容,制成标准贮备液。分别精密量取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 ml 标准贮备液,置于 10 ml 量瓶中,加甲醇稀释、定容,摇匀,制成系列标准溶液。在“2.2”项色谱条件下,精密吸取系列标准液 10 μl,进样,以峰面积(A)对浓度(C)回归,得替硝唑的回归方程 $A = 0.2079x + 0.1667$,氯霉素的回归方程: $A = 0.2491x - 0.64$,两者相关系数均为 0.9999,线性范围均为 20 ~ 120 μg/ml。

2.4 精密度试验 分别配制替硝唑和氯霉素浓度均为 120、60、20 μg/ml 的高中低 3 种混合液,于同一天内在“2.2”项色

谱条件下测定 5 次和 5 d 内各测定 1 次,记录峰面积,记算日内和日间相对标准差(RSD),结果见表 1。

2.5 加样回收率试验 分别精密量取不同体积替硝唑和氯霉素对照品液,加入已知含量的替硝唑、氯霉素样品液中,混匀。精密吸取该混合液 10 μl,在“2.2”项色谱条件下进样,记录色谱图,并以外标法计算平均回收率。结果替硝唑、氯霉素平均回收率分别为 100.62% (RSD = 0.67%)、100.54% (RSD = 0.52%)。

2.6 样品含量测定 取不同批号复方替硝唑醇溶液各 3 份,分别精密吸取 1 ml,置于 100 ml 容量瓶中加甲醇稀释并定容。再精密吸取该溶液 10 μl,按“2.2”项色谱条件下进样,并以外标法计算样品中替硝唑和氯霉素的含量,结果详见表 2。

表 1 日内及日间精密度(n=5)

药物	日内 RSD(%)			日间 RSD(%)		
	高	中	低	高	中	低
替硝唑	0.65	0.71	0.96	0.68	0.63	0.69
氯霉素	0.14	1.26	0.91	0.77	1.67	0.53

表 2 样品含量测定结果(n=3)

批号	替硝唑标 示量(%)	RSD (%)	氯霉素标 示量(%)	RSD (%)
20080319	99.45	0.65	99.82	0.45
20080324	99.86	0.72	99.76	0.26
20080330	100.07	0.21	100.02	0.23

3 讨论

本实验选择甲醇-水作为流动相,并通过紫外线扫描,替硝唑在 317 nm 处有最大吸收度^[1],氯霉素在 278nm 处有最大吸收度^[2]。兼顾二者吸收度的大小,故选择 290 nm 作为检测波长。研究表明,本方法简单可行,重现性好,能同时测定复方替硝唑醇溶液中替硝唑、氯霉素的含量。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典,二部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 682.
[2] 常明, 李靖, 李淑芳. 高效液相色谱法同时测定强氯滴眼液中 2 组分的含量. 中国药房, 2005, 16(14): 1106-1107.

(收稿日期: 2009-08-24)

(本文编辑: 程旭然)