

HPLC法同时测定药用卤化丁基胶塞中5种抗氧化剂和游离硫的含量^Δ

朱碧君^{1*}, 李婷婷², 孙会敏³, 胡星宇⁴, 何君怡⁵, 罗跃华^{1#}(1.江西省药品检验检测研究院/江西省药品与医疗器械质量工程技术研究中心, 南昌 330029; 2.成都市食品药品检验研究院, 成都 610045; 3.中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 4.江西中医药大学研究生院, 南昌 330006; 5.同济大学附属杨浦医院, 上海 200090)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)18-2475-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.18.07

摘要 目的:建立同时测定药用卤化丁基胶塞中2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)、游离硫、抗氧化剂1010、抗氧化剂330、抗氧化剂1076、抗氧化剂168含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent Zorbax SB-C₁₈,流动相为甲醇-水(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,柱温为25℃,检测波长为220 nm,进样量为10 μL。结果:BHT、游离硫、抗氧化剂1010、抗氧化剂330、抗氧化剂1076、抗氧化剂168的检测质量浓度线性范围分别为2.592~64.80 μg/mL($r=0.999\ 9$)、2.648~66.20 μg/mL($r=0.999\ 9$)、2.062~51.55 μg/mL($r=0.999\ 9$)、2.654~66.35 μg/mL($r=0.999\ 9$)、2.128~53.20 μg/mL($r=0.999\ 9$)、2.468~61.70 μg/mL($r=0.999\ 9$);定量限分别为2.073 6、2.118 4、2.749 2、1.061 6、4.436 0、3.090 4 mg/kg,检测限分别为0.628 4、0.641 9、0.833 1、0.321 7、1.344 2、0.992 4 mg/kg;精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于3%;加样回收率分别为96.57%~99.17%(RSD=0.92%, $n=9$)、77.47%~86.14%(RSD=2.94%, $n=9$)、96.11%~98.39%(RSD=0.63%, $n=9$)、96.22%~98.33%(RSD=0.67%, $n=9$)、95.59%~99.22%(RSD=1.11%, $n=9$)、81.54%~88.31%(RSD=2.46%, $n=9$)。结论:该方法灵敏快速、操作简便、重复性好,可用于同时测定药用卤化丁基胶塞中5种抗氧化剂和游离硫的含量。

关键词 药用卤化丁基胶塞;2,6-二叔丁基对甲酚;游离硫;抗氧化剂1010;抗氧化剂330;抗氧化剂1076;抗氧化剂168;高效液相色谱法;含量测定

Simultaneous Determination of 5 Antioxidants and Free Sulfur in Pharmaceutical Halogenated Butyl Rubber Stopper by HPLC

ZHU Bijun¹, LI Tingting², SUN Huimin³, HU Xingyu⁴, HE Junyi⁵, LUO Yuehua¹(1. Jiangxi Institute for Drug Control/Jiangxi Drug and Medical Devices Quality Engineering Research Center, Nanchang 330029, China; 2. Chengdu Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610045, China; 3. National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 4. School of Graduate, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330006, China; 5. The Affiliated Yangpu Hospital of Tongji University, Shanghai 200090, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish a method for simultaneous determination of BHT, free sulfur, antioxidant 1010, antioxidant 330, antioxidant 1076 and antioxidant 168 in pharmaceutical halogenated butyl rubber stopper. **METHODS:** HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent Zorbax SB-C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-water (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was 25℃, and detection wavelength was set at 220 nm. The sample size was 10 μL. **RESULTS:** The linear ranges of BHT, free sulfur, antioxidant 1010, antioxidant 330, antioxidant 1076 and antioxidant 168 were 2.592-64.80 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 2.648-66.20 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 2.062-51.55 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 2.654-66.35 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 2.128-53.20 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 2.468-61.70 μg/mL ($r=0.999\ 9$), respectively. The limits of quantitation were 2.073 6, 2.118 4, 2.749 2, 1.061 6, 4.436 0, 3.090 4 mg/kg; the limits of detection were 0.628 4, 0.641 9, 0.833 1, 0.321 7, 1.344 2, 0.992 4 mg/kg, respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3%. The average recoveries were 96.57% -99.17% (RSD=0.92%, $n=9$), 77.47% -86.14% (RSD=2.94%, $n=9$), 96.11% -98.39% (RSD=0.63%, $n=9$), 96.22% -98.33% (RSD=0.67%, $n=9$), 95.59% -99.22% (RSD=1.11%, $n=9$) and 81.54% -88.31% (RSD=2.46%, $n=9$), respectively. **CONCLUSIONS:** The method is sensitive, rapid, convenient and reproducible, and can be used for simultaneous

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81373955);江西省食品药品监督管理局科技计划项目(No.2015yp07)

* 主任药师。研究方向:药品包装材料质量。电话:0791-86201379。E-mail:bijunzhu@sina.com

通信作者:主任中药师,硕士。研究方向:中药材分析与质量标准。电话:0791-88158689。E-mail:emailuo@sohu.com

determination of 5 antioxidant and free sulfur in pharmaceutical halogenated butyl rubber stopper.

KEYWORDS Pharmaceutical halogenated butyl rubber stopper; BHT; Free sulfur; Antioxidant 1010; Antioxidant 330; Antioxidant 1076; Antioxidant 168; HPLC; Content determination

药用卤化丁基胶塞是药品包装中瓶装密封材料的重要组成部分,具有吸湿率低、耐化学性及气密性好、无生理毒副作用等特点^[1]。实际使用过程中,药用卤化丁基胶塞会直接与药物接触,而由于其在加工过程中需加入多种添加剂,如抗氧化剂2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)、抗氧化剂1010等来抑制或延缓其氧化过程,此外还需经硫化处理,因而不可避免地会在胶塞内残存一些未被化学键合的反应剩余物、不参与反应的物质及热分解的产物,如游离硫^[2]等,这些物质可能会通过吸附、吸收、渗透和抽提等方式与药物发生反应,从而影响和污染药物^[3-10],随药物进入人体后可能会引起不良反应,危害健康^[11-12]。2015年版《国家药包材标准》中的“药品包装材料与药物相容性试验指导原则”指出,鉴于橡胶配方的复杂性,应重点考察其中各种添加物的溶出对药物的作用,橡胶对药物的吸附以及填充材料在溶液中的脱落^[13]。为此,本研究参考相关文献^[14-18],采用高效液相色谱法(HPLC)同时测定了药用卤化丁基胶塞中BHT、游离硫、抗氧化剂1010、抗氧化剂330、抗氧化剂1076、抗氧化剂168的含量,以其质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1260型HPLC仪,包括四元梯度泵、柱温箱、自动进样器、紫外可变波长检测器、二极管阵列检测器(美国安捷伦公司);AE-240型电子天平、AEG220型电子天平(日本岛津公司);Milli-Advantage A10超纯水装置(美国密理博公司)。

1.2 包材与试剂

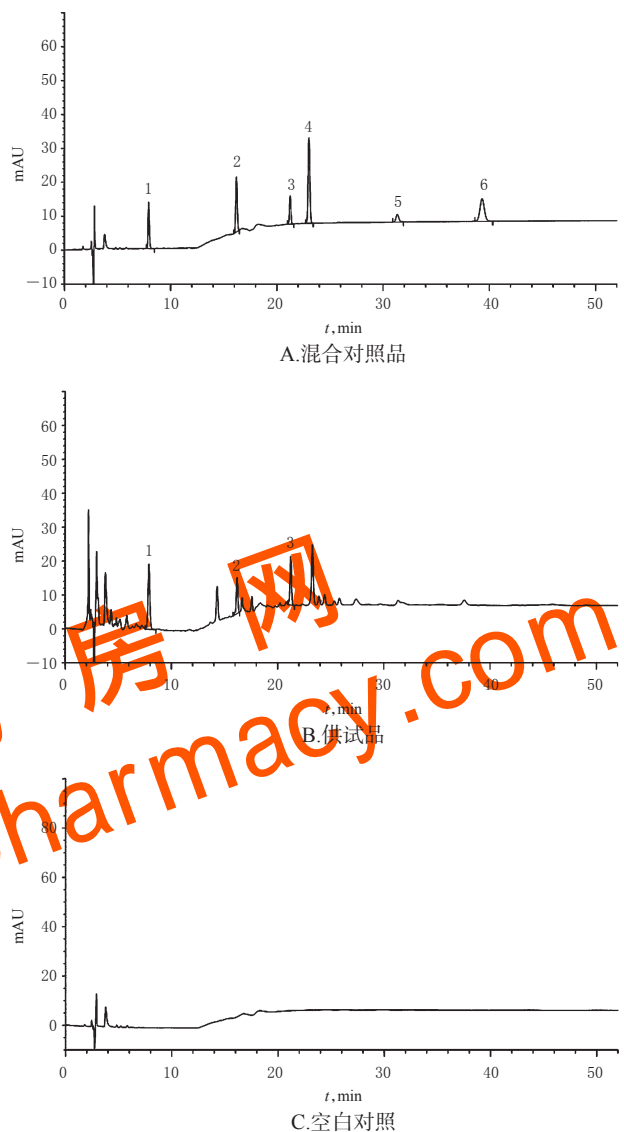
BHT对照品(批号:LB68565,纯度:99.900%)、硫磺对照品(批号:L01272,纯度:99.999%)、抗氧化剂1010对照品(批号:MKBC8710V,纯度:100%)、抗氧化剂330对照品(批号:05928TI,纯度:100%)、抗氧化剂1076对照品(批号:MKBB8963,纯度:100%)、抗氧化剂168对照品(批号:MKAA3717,纯度:100%)均由美国Sigma-Aldrich公司提供;药用卤化丁基胶塞(江苏博生医用新材料股份有限公司,批号:16051314、16050750、16033014,规格:20A、32A、20-B2-2;江苏华兰药用新材料股份有限公司,批号:13032246-60,规格:三叉20-A4-1;南昌市君健橡塑制品有限公司,批号:20150601,规格:15胶塞;江西高科药包有限公司,批号:20150712、20150713,规格均为13.4 mm×2.0 mm;乐清市金泰实业有限公司,批号:20160402,规格:20A;山东省药用玻璃股份有限公司,批号:S160802703,规格:13-D₂-3);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性

色谱柱:Agilent Zorbax SB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A)-水(B),梯度洗脱(0~9 min, 90% A; 9~15 min, 90% A→100% A; 15~50 min, 100% A; 50~55 min, 100% A→90% A);流速:1.0 mL/min;柱

温:25℃;检测波长:220 nm;进样量:10 μL。在该色谱条件下,BHT、游离硫、抗氧化剂1010、抗氧化剂330、抗氧化剂1076、抗氧化剂168峰的理论板数均大于2 000,保留时间分别为7.93、16.18、21.25、23.00、31.22、39.13 min;各成分峰之间分离良好,分离度均大于2.0,详见图1。



注:1.BHT;2.游离硫;3.抗氧化剂1010;4.抗氧化剂330;5.抗氧化剂1076;6.抗氧化剂168

Note: 1. BHT; 2. free sulfur; 3. antioxidant 1010; 4. antioxidant 330; 5. antioxidant 1076; 6. antioxidant 168

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密称取BHT、硫磺、抗氧化剂1010、抗氧化剂330、抗氧化剂1076、抗氧化剂168对照品各适量,置于同一100 mL量瓶中,加入无水乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得混合对照品贮备液。精密吸取上述混合对照品贮备液1 mL,置于10 mL量瓶中,加入无水乙醇稀释至刻度,摇匀,得BHT、游离硫、抗氧化剂1010、抗氧化剂330、抗氧化剂1076、抗氧化剂168质量浓度分别为

0.012 96、0.013 24、0.010 31、0.013 27、0.010 64、0.012 34 mg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取药用卤化丁基胶塞样品剪碎,精密称取5 g,置于具塞锥形瓶中,加入无水乙醇20 mL,密塞,称定质量,于80 ℃加热回流4 h,放冷,再次称定质量,用无水乙醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 空白对照溶液 以无水乙醇为空白对照溶液。

2.3 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下混合对照品贮备液0.2、0.5、1、2、3、5 mL,分别置于10 mL量瓶中,加入无水乙醇稀释至刻度,摇匀,制成系列线性关系工作溶液。精密量取上述系列线性关系工作溶液各10 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以各待测成分质量浓度(x , μg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表1。

表1 回归方程与线性范围

Tab 1 Regression equations and linear range

待测成分	回归方程	r	线性范围, μg/mL
BHT	$y=17.881x+2.752 5$	0.999 9	2.592~64.80
游离硫	$y=24.551x-3.256 0$	0.999 9	2.648~66.20
抗氧剂1010	$y=14.179x+2.301 7$	0.999 9	2.062~51.55
抗氧剂330	$y=41.787x+8.336 2$	0.999 9	2.654~66.35
抗氧剂1076	$y=8.235 7x-0.322 2$	0.999 9	2.128~53.20
抗氧剂168	$y=31.02x+3.558 5$	0.999 9	2.468~61.70

2.4 定量限与检测限考察

分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以信噪比10:1、3:1分别计算定量限、检测限。结果,BHT、游离硫、抗氧剂1010、抗氧剂330、抗氧剂1076、抗氧剂168的定量限分别为2.073 6、2.118 4、2.749 2、1.061 6、4.436 0、3.090 4 mg/kg,检测限分别为0.628 4、0.641 9、0.833 1、0.321 7、1.344 2、0.992 4 mg/kg。

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,BHT、游离硫、抗氧剂1010、抗氧剂330、抗氧剂1076、抗氧剂168峰面积的RSD分别为0.09%、0.33%、0.13%、0.18%、0.11%、0.08% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:S160802703)适量,分别于室温下放置0、3、6、12、18、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,BHT、游离硫、抗氧剂1010峰面积的RSD分别为1.78%、1.59%、1.62% ($n=6$),其他成分未检出,表明供试品溶液在室温下放置24 h内基本稳定。

2.7 重复性试验

精密称取剪碎后的样品(批号:S160802703)适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。

结果,BHT、游离硫、抗氧剂1010的平均含量分别为17.6、18.5、29.6 μg/g,RSD分别为1.11%、2.35%、1.29% ($n=6$),其他成分未检出,表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量样品(批号:S160802703)适量,共9份,分别加入一定量的对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 2 Results of recovery tests($n=9$)

待测成分	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
BHT	88.723 0	74.248	160.967	97.30	98.20	0.92
	89.022 2	74.248	160.725	96.57		
	89.365 5	74.248	161.634	97.33		
	89.140 7	92.810	180.915	98.88		
	89.470 0	92.810	181.196	98.83		
	88.903 6	92.810	180.471	98.66		
	89.011 5	111.372	199.462	99.17		
	89.719 5	111.372	199.199	98.30		
	89.347 8	111.372	199.357	98.78		
游离硫	93.234 4	75.616	153.805	80.10	81.17	2.94
	93.548 7	75.616	154.435	80.52		
	93.909 5	75.616	156.463	82.73		
	93.673 3	94.520	166.896	77.47		
	94.019 3	94.520	175.440	86.14		
	93.424 1	94.520	169.627	80.62		
	93.537 5	113.424	183.869	79.64		
	94.281 5	113.424	186.959	81.71		
	93.890 9	113.424	186.470	81.62		
抗氧剂1010	148.673 0	122.576	268.453	97.96	97.53	0.63
	148.873 2	122.576	268.443	97.55		
	149.447 4	122.576	269.314	97.79		
	149.071 5	153.220	298.372	97.44		
	149.622 1	153.220	299.058	97.53		
	148.674 9	153.220	295.933	96.11		
	148.855 4	183.864	328.084	97.48		
	150.039 4	183.864	330.939	98.39		
	149.417 8	183.864	328.774	97.55		
抗氧剂330	0	84.432	81.241	96.22	97.25	0.67
	0	84.432	82.522	97.74		
	0	84.432	82.334	97.52		
	0	105.540	102.923	97.52		
	0	105.540	102.410	97.03		
	0	105.540	101.956	96.60		
	0	126.648	124.528	98.33		
	0	126.648	123.498	97.51		
	0	126.648	122.554	96.77		
抗氧剂1076	0	78.968	76.522	96.90	97.25	1.11
	0	78.968	75.485	95.59		
	0	78.968	76.022	96.27		
	0	98.710	95.624	96.87		
	0	98.710	96.221	97.48		
	0	98.710	96.314	97.57		
	0	118.452	116.515	98.36		
	0	118.452	114.893	97.00		
	0	118.452	117.526	99.22		
抗氧剂168	0	83.488	70.528	84.48	85.31	2.46
	0	83.488	69.728	83.52		
	0	83.488	71.254	85.35		

续表2

Continued tab 2

待测成分	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0	104.360	90.379	86.60			
0	104.360	92.157	88.31			
0	104.360	90.184	86.42			
0	125.232	105.440	84.20			
0	125.232	102.116	81.54			
0	125.232	109.381	87.34			

2.9 样品含量测定

分别取剪碎后的各批样品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,平行测定3次,记录峰面积并计算样品含量,结果见表3(注:“-”表示未检出)。

表3 样品含量测定结果($n=27, \mu\text{g/g}$)Tab 3 Results of content determination of samples ($n=27, \mu\text{g/g}$)

批号	BHT	游离硫	抗氧化剂1010	抗氧化剂330	抗氧化剂1076	抗氧化剂168
16051314	152.5	78.3	-	-	-	-
16050750	167.2	20.9	-	-	-	-
16033014	162.4	36.5	-	-	-	-
13032246-60	109.7	33.8	-	-	-	-
20150601	-	33.6	-	-	-	-
20150712	25.4	-	-	-	-	-
20150713	22.3	-	-	-	-	-
20160402	149.5	21.5	-	-	-	-
S160802703	17.7	18.6	29.6	-	-	-

3 讨论

3.1 检测波长的选择

取BHT、硫磺、抗氧化剂1010、抗氧化剂330、抗氧化剂1076、抗氧化剂168对照品各适量,分别加入无水乙醇制成每1 mL含10 μg 的单一对照品溶液,以无水乙醇为空白,于200~400 nm波长范围内扫描,结果,BHT在221、277 nm波长处,游离硫在220、264 nm波长处,抗氧化剂1010在274 nm波长处,抗氧化剂330在276 nm波长处,抗氧化剂1076在274 nm波长处,抗氧化剂168在270 nm波长处有最强吸收。另取供试品溶液和混合对照品溶液分别在220、264、277 nm波长处扫描,结果,BHT、硫磺、抗氧化剂1010、抗氧化剂330、抗氧化剂1076、抗氧化剂168在220、277 nm波长处均有较强吸收。考虑到药用卤化丁基胶塞中的抗氧化剂和游离硫含量较低,在220 nm波长处灵敏度相对较高,故选择220 nm为检测波长。

3.2 流动相的选择

本研究考察了不同体积比乙腈-水、甲醇-水、乙腈-0.1%磷酸溶液、甲醇-0.1%磷酸溶液为流动相体系时的分离度。结果,以甲醇-水为流动相梯度洗脱时,各待测成分的分离度均较好,且保留时间适中,故选择甲醇-水(梯度洗脱)为流动相。

3.3 样品处理方法的确定

取药用卤化丁基胶塞样品剪碎,精密称取5 g,置于具塞锥形瓶中,加入无水乙醇20 mL,密塞,称定质量,分别以超声(30 min、1 h)和80 $^{\circ}\text{C}$ (考虑到硫磺分子 S_8 在高

温下易分解^[19])加热回流(30 min、1 h)处理,冷却后用无水乙醇补足减失的质量,进样时发现超声处理样品的峰面积较小,与回流处理的样品相比提取不充分。另取处理后的样品进样,结果发现加热回流4 h可基本提取完全,故选择加热回流时间为4 h。

综上所述,本方法灵敏快速、操作简便、重复性好,可用于同时测定药用卤化丁基胶塞中5种抗氧化剂和游离硫的含量。

参考文献

- [1] 赵霞,胡昌勤,金少鸿. 药用丁基胶塞中易挥发性成分的分析[J]. 药物分析杂志,2006,26(3):315-318.
- [2] 朱虹,苍飞飞. 气相色谱/质谱法测定硫化胶中游离硫含量[J]. 橡胶科技,2016,14(12):46-48.
- [3] 赵霞,胡昌勤,金少鸿. 对考察药用丁基胶塞与药物相容性的思考与建议[J]. 中国药事,2007,21(10):810-812.
- [4] XIAO B, GOZO SK, HERZ L. Development and validation of HPLC methods for the determination of potential extractables from elastomeric stoppers in the presence of a complex surfactant vehicle used in the preparation of parenteral drug products[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 43(2):558-565.
- [5] ZHANG F, CHANG A, KARAISZ K, et al. Structural identification of extractables from rubber closures used for pre-filled semisolid drug applicator by chromatography, mass spectrometry, and organic synthesis[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2004, 34(5):841-849.
- [6] PIKAL MJ, LANG JE. Rubber closures as a source of haze in freeze-dried parenterals: test methodology for closure evaluation[J]. *Drug Assoc*, 1978, 32(4):162.
- [7] 赵霞. 药用丁基胶塞与头孢曲松钠的相容性研究[D]. 北京:中国协和医科大学,2006.
- [8] 赵霞,胡昌勤,金少鸿. 头孢曲松钠中抗氧化剂测定方法的建立[J]. 中国抗生素杂志,2007,32(9):543-545.
- [9] 李婷婷. 药用丁基胶塞与头孢唑啉钠的相容性研究[D]. 南昌:南昌大学,2011.
- [10] 郭志鑫,姜典财,黄志禄,等. 药用卤化丁基胶塞质量状况分析[J]. 药物分析杂志,2011,31(2):399-401.
- [11] UMEMURA T, KODAMA Y, HIOKI K, et al. Butylhydroxytoluene (BHT) increases susceptibility of transgenic ras H₂ mice to lung carcinogenesis[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2001, 127(10):583-590.
- [12] 许牡丹,毛根年. 食品安全与分析检测[M]. 北京:化学工业出版社,2003:227-227.
- [13] 国家食品药品监督管理局. 国家药包材标准YBB00142002[S]. 2015.
- [14] 王华英,张隐峰,应俊扬. 萃取-气相色谱法测定顺丁橡胶中抗氧化剂264含量[J]. 橡胶科技,2013,11(3):42-44.
- [15] 朱廷丽,吴莹,高大林,等. 药用丁基胶塞中硫磺及4,4'-二辛基二苯胺的HPLC法测定[J]. 中国医药工业杂志,2018,49(4):517-521.
- [16] 朱碧君,胡红刚,李婷婷,等. HPLC法测定聚丙烯输液

大蒜素对模型小鼠的抗炎性痛作用及机制研究[△]

任亮^{1*},任翔²,刘金宝¹,朱吾元¹,杜钢军³(1.漯河医学高等专科学校药理教研室,河南漯河 462000;2.中国药科大学药学专业2015级,南京 211198;3.河南大学药学院,河南开封 475004)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)18-2479-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.18.08

摘要 目的:研究大蒜素对模型小鼠的抗炎性痛作用及机制。方法:50只BALB/c小鼠随机分为模型组(等体积0.9%氯化钠溶液)、阿司匹林组(200 mg/kg)和大蒜素高、中、低剂量组(40、20、10 mg/kg),每组10只;均灌胃给药,每天1次,连续3 d。末次给药1 h后给予小鼠腹腔注射0.7%冰醋酸溶液(0.2 mL)建模,记录建模15 min内其扭体反应次数。分组与给药同上,末次给药1 h后给予小鼠左后足皮下注射1.5%甲醛溶液(25 μ L)建模,记录建模后0~10 min(第I时相)和10~60 min(第II时相)时小鼠累计舔足时间。分组与给药同上,末次给药1 h后给予小鼠右耳廓正反两面均匀涂抹二甲苯(30 μ L)建模,建模2 h后测定小鼠耳廓肿胀度,以两耳质量差值为耳廓肿胀度,并计算耳廓肿胀抑制率。50只BALB/c小鼠随机分为空白对照组(等体积0.9%氯化钠溶液)、模型组(等体积0.9%氯化钠溶液)和大蒜素高、中、低剂量组(40、20、10 mg/kg),每组10只;均灌胃给药,每天1次,连续3 d。末次给药20 min后给予小鼠足趾皮下注射1%角叉菜胶0.9%氯化钠溶液(30 μ L)建模,分别于建模前及建模1、3、5 h后测定小鼠足趾容积,以建模前后小鼠足趾容积差值为足趾肿胀度;测定超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性和丙二醛(MDA)含量以及总抗氧化能力(T-AOC)水平;采用Western blot法检测核转录因子 κ B(NF- κ B)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素1 β (IL-1 β)蛋白表达。结果:与模型组比较,阿司匹林组和大蒜素高、中剂量组小鼠扭体反应次数均显著减少;第I时相时大蒜素高、中剂量组和第II时相时阿司匹林组及大蒜素高、中剂量组小鼠累计舔足时间均显著缩短;阿司匹林组和大蒜素高剂量组小鼠耳廓肿胀度均显著降低;建模1、3 h后大蒜素高、中剂量组和建模5 h后大蒜素高剂量组小鼠足趾肿胀度均显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与空白对照组比较,模型组小鼠足趾肿胀组织中SOD、GSH-Px活性均显著减弱,MDA含量显著增加,T-AOC水平显著降低,NF- κ B、TNF- α 、IL-1 β 蛋白表达均显著增强,差异均有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,大蒜素高剂量组小鼠足趾肿胀组织中SOD、GSH-Px活性均显著增强,MDA含量显著减少,且大蒜素高、中剂量组小鼠T-AOC水平均显著升高,同时大蒜素高剂量组小鼠足趾肿胀组织中NF- κ B、TNF- α 、IL-1 β 蛋白表达均显著减弱,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论:大蒜素对模型小鼠炎性痛有一定的缓解作用,其机制与抗氧化应激反应和抑制NF- κ B信号通路有关。

关键词 大蒜素;炎性痛;氧化应激;核转录因子 κ B;肿瘤坏死因子 α ;白细胞介素1 β

Study on the Mechanism of Anti-inflammatory Pain Effect of Allicin in Model Mice

REN Liang¹, REN Xiang², LIU Jinbao¹, ZHU Wuyuan¹, DU Gangjun³(1. Dept. of Pharmacology, Luohe Medical College, Henan Luohe 462000, China; 2. Grade 2015 of Pharmacy Major, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; 3. College of Pharmacy, Henan University, Henan Kaifeng 475004, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the mechanism of anti-inflammatory pain effect of allicin in model mice. **METHODS:** Totally 50 BALB/c mice were randomly divided into model group (constant volume of 0.9% sodium chloride solution), aspirin group (200 mg/kg), allicin high-dose, medium-dose and low-dose groups (40, 20, 10 mg/kg), with 10 mice in each group. They were given relevant medicine intragastrically, once a day, for consecutive 3 d. One hour after last medication, they were given intraperitoneal injection of 0.7% glacial acetic acid solution (0.2 mL); the times of writhing response were recorded with in 15 min after modeling. Grouping and administration were same as above; 1 h after last medication, mice were given subcutaneous injection of 1.5% formaldehyde solution (25 μ L) via left back toe; accumulative licking time of mice were recorded 0-10 min (time phase I) and 10-60 min (time phase II) after modeling. Grouping and administration were same as above; 1 h after last medication,

瓶中抗氧化剂1010、抗氧化剂1076、抗氧化剂168、抗氧化剂330的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(3): 416-433.

[17] 浦雨伟, 崔萍, 吴娟, 等. 药用丁基胶塞中抗氧化剂264、1010、5057迁移研究[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(12):

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81472745);河南省科技攻关计划项目(No.豫科[2013]25号-132102310455)

* 副教授。研究方向:肿瘤药理学及中药药理学。E-mail: renliang3008@163.com

2231-2240.

[18] 张艳惠, 李海燕, 岳洪水, 等. 注射用益气复脉(冻干)与氯化丁基胶塞相容性研究中抗氧化剂和硫化剂的含量测定[J]. 药物评价研究, 2018, 41(3): 496-500.

[19] 周雅沁. 用HPLC法测定硫化胶中游离硫磺的含量[J]. 世界橡胶工业, 2010, 37(1): 38-42.

(收稿日期:2018-04-22 修回日期:2018-07-11)

(编辑:陈宏)