维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)01-0117-02

HPLC法测定雷公藤缓释胶囊中雷公藤内酯醇的含量

喻录容,刘　新,明　逊,刘碧林

(重庆医科大学药学系,重庆　400016)

【摘要】目的:研究雷公藤缓释胶囊的含量测定方法。方法:采用高效液相色谱法,用雷公藤内酯醇为对照品,以乙腈－水($V_{乙腈}:V_{水}=40:60$)为流动相,流速 1.0mL/min,色谱柱为 C_{18} 柱,检测波长为 220nm。结果:雷公藤内酯醇在 0.047～0.350μg/ml 范围内线性关系良好($r=0.9995$),平均回收率为 99.88%(RSD=0.58%,$n=5$)。结论:该方法灵敏度高,准确,重现性好,可作为雷公藤内酯醇的含量测定方法。

【关键词】雷公藤;缓释胶囊;雷公藤内酯醇;含量测定

【中国图书分类法分类号】R284.1　　【文献标识码】B　　【收稿日期】2005-09-07

Determination of triptolide in the sustained-release capsule of Tripterygium Wilfordii Hook.f. with HPLC

YU Lurong, et al

(*Pharmacy Department, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To establisb a method for content determination of triptolide in the sustained-release capsule of Tripterygium Wilfordii by high performance liquid cbromatography. *Methods*: High performance liquid cbromatography was performed on C_{18} column. The chromatographic conditions were as follows: Acetonitrile-water (40:60) as mobile phase; flow rate being 1.0 ml/min and the detecting wavelengtb at 220nm.*Results*:Triptolide had good linear relation within the range from 0.047 to 0.350μg/ml (r=0.9995). The average recovery was 99.88% (RSD=0.58%, n=5). *Conclusion*: This method is convenient, accurate, reproducible, which can be used for content determinaton of triptolide.

【Keywords】Tripterygium Wilfodii; Sustained-release capsule;Triptolide;Content determination

雷公藤缓释胶囊是以卫矛科植物雷公藤 Tripterygium Wilfordii Hook.f. 的醋酸乙酯提取物为原料生产的一种治疗类风湿性关节炎和其他自身免疫性疾病的药物,具有释药缓慢持续,不良反应率低,服药安全方便等特点。雷公藤缓释胶囊是一种新型的制剂,关于其含量测定的方法还未见报道,而雷公藤内酯醇在缓释胶囊中的含量与雷公藤缓释胶囊的临床疗效和毒副作用密切相关。因此,本文研究了用高效液相色谱法测定雷公藤缓释胶囊中雷公藤内酯醇含量的方法,现报道如下。

1　仪器与试剂

高效液相色谱仪:岛津 LC—2010A 型高效液相色谱仪。雷公藤内酯醇对照品(福建省医学科学研究所,供含量测定用);雷公藤缓释胶囊(自制);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2　方法与结果

2.1　色谱条件

Diamonsil C_{18} 分析柱(250mm×4.6mm,5μm);流动相:乙腈—水($V_{乙腈}:V_{水}=40:60$);体积流量:1.0ml/min;测定波长:220nm;柱温:20℃。

2.2　对照品溶液制备

取雷公藤内酯醇对照品适量,精密称定,加甲醇制成 0.0292mg/ml 的溶液。

2.3　供试品溶液的制备

取本品 20 粒,除去胶囊壳,研细,精密称取约相当于 15 粒的量,加入氯仿 5ml,超声波处理后加入中性氧化铝 3g 混匀,水浴挥干溶剂,干法上中性氧

作者介绍:喻录容(1976-　),女,讲师,硕士生,
主要研究方向:中药新药开发。

维普资讯 http://www.cqvip.com

化铝层析柱[1]（pH6.5~7.5，100~200 目）。洗脱剂为甲醇－乙酸乙酯－乙醚（1:2:1）溶液。收集含雷公藤内酯醇的流份，减压回收溶剂后以甲醇定容 2ml，作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察

精密量取雷公藤内酯醇对照品溶液（29.2mg/L）2ml、4ml、7ml、10ml、15ml，分别置于 25ml 的容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀。再分别精密吸取 20μl 进样，以进样量为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，得回归方程，Y=4.201X-6.868，r=0.9995，线性范围 0.047～0.350μg/ml。

2.5 稳定性实验

取雷公藤对照品溶液分别在 0、4、8、16、24h 进样，测定峰面积，结果雷公藤内酯醇峰面积 RSD = 0.45%，表明供试品溶液在 24h 内稳定。

2.6 精密度实验

精密吸取雷公藤内酯醇对照品溶液 20μl，重复进样 5 次，测定峰面积，其 RSD 为 0.50%。

2.7 重现性实验

精密称取雷公藤内酯醇对照品适量，分别制备成浓度 0.002mg/ml、0.005mg/ml、0.008mg/ml、0.012mg/ml、0.018mg/ml 的供试品溶液，按上述色谱条件进样分析，测定雷公藤内酯醇的峰面积，计算，雷公藤内酯醇 RSD 为 0.80%。

2.8 加样回收实验

精密称取雷公藤内酯醇对照品一式 5 份，按制剂处方加入相同辅料，按供试品溶液的制备方法制备样品溶液，分别精密量取 20μl 进行回收率实验，结果见表 1，平均回收率为 99.88%，RSD=0.58%，n=5。

表 1 雷公藤内酯醇含量测定方法回收率实验结果

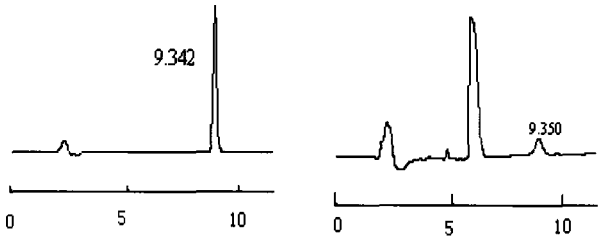
加入量(μg/胶囊)	测得量(μg/胶囊)	回收率(%)	RSD(%)
30.0	30.1	100.30	0.6
35.0	35.2	100.60	0.7
40.0	39.8	99.00	1.0
45.0	44.9	99.95	0.2
50.0	49.5	99.56	0.4

2.9 样品测定

分别取不同批号的雷公藤缓释胶囊按供试品溶液的制备方法制成样品溶液。分别精密吸取供试品溶液和雷公藤内酯醇对照品溶液各 20μl，按上述色谱条件测定峰面积，并计算出雷公藤内酯醇的含量，含量限度：本品含雷公藤内酯醇应为标示量的 90%～110%（标示量 33.0μg/胶囊）。3 批样品中雷公藤内酯醇的含量测定结果见表 2，色谱图见图 1。

表 2 雷公藤缓释胶囊中雷公藤内酯醇的含量(n=5)

批次	含量(μg/胶囊)	相当于标示量(%)	RSD(%)
041023	34.0	103.0	0.8
041106	33.2	100.6	0.6
041212	33.1	100.3	0.5



A. 雷公藤内酯醇对照品色谱图　　B. 雷公藤缓释胶囊样品图

图 1 雷公藤内酯醇的 HPLC 图谱

分别精密吸取上段所制的样品供试溶液和雷公藤内酯醇对照品溶液各 20μL，按上述色谱条件（仅改变流动相：甲醇—水（$V_{甲醇}$:$V_{水}$=40:60），其余色谱条件均不变）测定峰面积，并计算出雷公藤内酯醇的含量，含量限度：本品含雷公藤内酯醇应为标示量的 90%～110%（标示量 33.0μg/胶囊）。3 批样品中雷公藤内酯醇的含量测定结果见表 3。

表 3 雷公藤缓释胶囊中雷公藤内酯醇的含量(n=5)

批次	测得量(μg/胶囊)	相当于标示量(%)	RSD(%)
041023	36.5	110.6	1.8
041106	36.2	109.7	1.6
041212	36.6	111.0	0.9

3 讨 论

有报道采用甲醇—磷酸盐缓冲液体系作流动相测定雷公藤内酯醇的含量，但缓冲盐对仪器及色谱柱损伤较大[2]；也曾采用甲醇—水为流动相，但甲醇在 220nm 处有吸收，对样品的吸收有影响（见“2.9”中样品的测定结果），且雷公藤内酯醇与其

（下转第 133 页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

3 讨 论

1994 年 Delancey 提出了一种女性压力性尿失禁的新理论——“吊床学说”[3]。他认为，正常女性在咳嗽等使腹压增加时，尿道关闭压升高，使尿液不漏出。而尿道被挤压在下方的类似吊床的支撑组织上是尿道关闭压升高的主要原因，而不是以前认为的尿道在腹腔内受到腹内压作用的结果。他推测，治疗女性压力性尿失禁应该重建尿道下方的支撑组织。1996 年 Ulmsten 基于这个学说，首次设计并报道了利用 TVT 治疗女性压力性尿失禁的方法。目前已经在全球推广。

尿潴留或者排尿困难是 TVT 术后最常见的并发症，其发生率一般为 5～17%[4]。国内公开报道 27 例，占所有病例的 3.4%。TVT 术后排尿障碍除了部分与暂时性或者是永久性膀胱收缩乏力有关外，更多的是由于手术中放置吊带张力过高所致。在开展手术初期，按照 Ulmsten 介绍的手术方法，我们在术中边嘱咐患者咳嗽的同时，收紧 TVT 吊带，直至患者用力咳嗽而尿道口无液体漏出。27 例中有 4 例出现尿潴留或者排尿困难。同时发现，其中 2 例排尿困难的患者在坐便器或者半蹲位时能够解出小便，但是在完全下蹲时却排尿困难。仔细分析后认为，下蹲排尿时 TVT 带对尿道的支撑力要明显大于手术中截石位时 TVT 带对尿道的支撑力。表明术中在截石位状态下根据咳嗽试验调整的张力过高，所以导致部分患者术后尿潴留或者排尿困难。在后期的手术中，只是将 TVT 吊带无张力地放在尿道下方，而没有采取要患者咳嗽的方法。按照这种方法施行的 18 例手术中，无 1 例出现术后尿潴留或者排尿困难的现象。同时 Ulmsten 的咳嗽试验只能用于采用局部麻醉和硬膜外麻醉的病例，而在采用静脉复合麻醉的手术中却不能使用。Adamiak 一组资料中，静脉复合麻醉组的患者没有利用咳嗽试验，硬膜外麻醉组则进行术中咳嗽试验，两组相比较，疗效无显著差异[5]。有作者将一组术中根据咳嗽判断吊带张力的病例与未采用咳嗽试验的一组病例比较后发现，两组间控尿情况没有显著的差异[6]。

在实践中我们还发现，不同患者间咳嗽引起的腹压增加也并不相同。结合文献报道的资料，我们认为在 TVT 手术中利用咳嗽试验来判断吊带张力这种方法并不恰当，并且可能会增加术后尿潴留或者排尿困难的发生率。

参 考 文 献

[1] Ulmsten. An amhulatory surgical procedure under local anesthesia for treatment of female urinary incontinence [J]. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct, 1996; 7(2): 81-85.

[2] Jha S, Arunkalaivanan A.S, Davis J. Surgical Management of Stress Urinary Incontinence: A Questionnaire Based Survey [J]. European Urology, 2005; 47(5): 648-652.

[3] DeLancey J,O.L. Structural support of the urethra as it relates to stress urinary incontinence: the hammock hypothesis [J]. Am J Obstet Gynecol, 1994; 170:1713-1723.

[4] Grise P, Lobel B, Grall J. Les compilcations du TVT Progres en [J]. Urologie, 2003; 13:144-146.

[5] Adamiak A, Milart P, Skorupski P, et al. The efficacy and safety of the tension-free vaginal tape procedure do not depend on the method of analgesia [J]. Eur Urol, 2002; 42:29-33.

[6] Low S.J., Smith K.M, Holt E.M. Tension free vaginal tape: is the intra-operative cough test necessary [J]. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct, 2004; 15(5): 328-330.

（上接第 118 页）

它成分的分离效果不好。本文以乙腈—水为流动相，可使雷公藤内酯醇得到很好的分离。曾进行了乙腈—水不同配比的摸索实验，结果表明当乙腈—水为 40:60 时，分离效果及出峰时间最好，且峰形对称而尖锐，可作为雷公藤内酯醇的含量测定方法。

参 考 文 献

[1] 林 绥，邓思珊，庄 苒，等.高效液相色谱法测不同产地雷公藤内酯醇的含量[J].中华临床杂志，2001;2(10):51-52.

[2] 夏志林，邓思珊，郭顺民.雷公藤内酯醇与表雷公藤内酯醇的 HPLC 测定[J].中国医药工业杂志，2002;33(11):562-563.