

雷公藤口服液质量控制方法的研究

张 荣, 胡永狮, 刘标生, 汤秋华(解放军第 175 医院, 福建漳州 363000)

摘要:目的:建立雷公藤口服液的质量控制方法,研究制剂质量及其稳定性。方法:用 TLC 法测定雷公藤口服液中总生物碱,采用醇提-氧化铝柱层析净化-紫外分光光度法,以雷公藤甲素为对照,测定雷公藤提取液中总内酯的含量。用控制口服液的 pH 值和相对密度来达到制剂的稳定性。结果:分析 6 批口服液的含量,表明该口服液质量稳定,其中总内酯的含量低于市售的该类制剂。产生毒性低,服用安全有效,便于患者长期用药。结论:该方法可靠、操作简便,无需贵重仪器,适用于医院中药制剂质量控制。

关键词:雷公藤口服液;总内酯;雷公藤甲素;薄层色谱法;柱层析-紫外分光光度法

中图分类号:R927 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-0111(2001)05-0301-03

Study of the quality control methods on *tripterygium* oral preparation

ZHANG Rong, HU Yong-shi, LIU Biao-sheng, TANG Qiu-hua (175th Hospital of PLA, Zhangzhou 363000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE: To establish the quality control methods of *tripterygium* oral preparation (TOP) and study the quality and its stability. **METHODS:** The total alkaloid and total triptolide were determined by TLC in *tripterygium* oral preparation, the total triptolide of *tripterygium* were determined by UV which alcohol was used as extraction and Al_2O_3 as purifying column. The stability was reached by control the pH and its relative density. **RESULTS:** 6 batches of *tripterygium* oral preparation were determined, the results indicated that the quality were stable and the total triptolides were less than that market product. **CONCLUSION:** The methods are reliable, simple, convenient and can be used in preparation quality control in hospital.

KEY WORDS: *tripterygium* oral preparation; total triptolides; TLC; UV

雷公藤口服液系用雷公藤根的木质部生产,在临床广泛用于治疗风湿性关节炎^[1]、肾病、皮肤病等免疫性疾病,具有疗效好、毒性低、作用持久,患者可以长期服用的特点。然而制剂的稳定性关系到药品的质量、疗效以及患者的用药安全,因此,研究制剂的质控方法,保证制剂质量的稳定性对雷公藤制剂生产、临床用药安全等具有重要意义。

本文选择雷公藤生物碱、总内酯做为定性指标,采用醇提-氧化铝柱层析-紫外分光光度法,以雷公藤甲素为对照品测定总内酯的含量,方法可靠,操作简便,符合雷公藤口服液质量分析标准要求,可用于医院制剂室中雷公藤口服液制剂生产的质量控制。

1 实验部分

1.1 实验材料

7530G 紫外分光光度计(上海分析仪器厂), LG10-2.4A 离心机(北京医用离心机厂), PHS-3C 型精密 pH 计(上海雷磁仪器厂), SB2200 超声波清洗器(上海必能信超声有限公司)。

雷公藤甲素对照品、雷公藤生物总碱对照品,纯度 >98% (武汉湖北省中医药研究院提供),雷公藤口服液(由本院制剂室生产)。无水乙醇、醋酸乙酯、氯仿、丙酮均为市售分析纯,中性 Al_2O_3 、硅胶 G 供层析用。

1.2 工作液的配制

1.2.1 雷公藤甲素对照品工作液 精密称取雷公藤甲素 1.5mg 置 25ml 量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀,配成 60 μ g/ml 的乙醇液。

1.2.2 雷公藤总碱对照品液 精密称取雷公藤总碱 50.5mg 置 50ml 量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀,配成 1mg/ml 的乙醇液。

3,5-二硝基苯甲酸液,改良碘化铋钾液,2% KOH 液,以上试液均按中国药典 1995 版附录配制。

1.3 定性鉴别

1.3.1 总内酯 取雷公藤口服液 100ml 浓缩至干浸膏,用无水乙醇提取,回收乙醇,加中性 Al_2O_3 (1:20g/v) 搅拌均匀,挥干。用醋酸乙酯萃取,回收醋酸乙酯液,挥干,加乙醇 2ml 溶解,分别取雷公藤甲

素标准品工作液与样品醇提液各 20 μ l, 点于硅胶 GCMC - Na 薄层板上, 以醋酸 - 石油醚 (2 : 1 v/v) 为展开剂, 展距约 15cm, 喷显色剂 (试剂 C 和 E, 临用前以 1 : 3 v/v 混合) 显色。样品与对照品斑点相应位置有相同颜色的斑点, 见图 1、2。

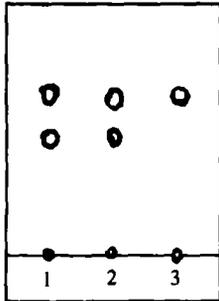


图 1 雷公藤总酯 TLC 图
1, 2—供试品 3—雷公藤甲素

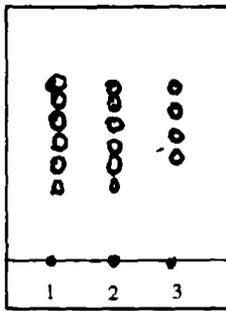


图 2 雷公藤总生物碱 TLC 图
1, 2—供试品 3—雷公藤总生物碱

1.3.2 生物碱 雷公藤口服液 100ml 浓缩至干浸膏, 用 95% 乙醇提取, 回收乙醇近干, 用 5% HCl 溶解, 过滤, 滤液加浓氨水调至 pH11, 再用氯仿萃取, 回收氯仿适量, 取供试液及总碱对照品工作液各 20 μ l, 分别点于硅胶 GCMC - Na 薄层板上, 以氯仿 - 丙酮 (4 : 1 v/v) 为展开剂, 展距约 15cm, 展毕, 挥去展开剂, 喷以试液改良碘化铋钾液显红色斑点。斑点位置见图 2。

1.4 检查

1.4.1 pH 值 pH4.0 ~ 5.5 采用《中华人民共和国药典》1995 版一部附录 pH 值测定方法测定 6 批样品的 pH 值, 结果见表 3。

1.4.2 相对密度 应不低于 1.03, 采用《中华人民共和国药典》1995 版一部附录比重瓶法测定 6 批样品, 结果见表 3。

1.5 含量测定

供试样品的预处理 雷公藤口服液 100ml, 加乙醇使含醇量为 30%, 离心 5000r/min, 20min, 减压抽滤, 滤液水浴浓缩至干浸膏, 用无水乙醇适量超声提取 3 次, 每次 10min, 抽滤, 滤液浓缩至适量, 置中

性 Al₂O₃ 柱 (1.5, 10cm), 用 80ml 无水乙醇洗脱, 洗脱液浓缩至 25ml。

2 结果

2.1 测定波长的选择

取雷公藤甲素对照品工作液和总内酯工作液 3ml 分别加入 3, 5 - 二硝基苯甲酸试液及 2% KOH 各 1ml, 摇匀, 在波长 370 - 700nm 之间进行扫描, 结果在 546nm 波长处均有最大吸收峰, 由于总内酯成分复杂, 以雷公藤甲素作为定量对照, 可得满意结果。

2.2 显色反应稳定性试验

取样品提取液 3ml, 分别在 ①室温下 (25 $^{\circ}$ C); ②日光下室温; ③ 50 $^{\circ}$ C 加热。进行显色反应的稳定性实验。结果见表 1。醇提液显色反应的稳定性与光照和温度有密切关系, 室温时避光其稳定时间可达 6min, 光照下稳定时间只有 3min, 加热时更易分解。

表 1 雷公藤提取液显色反应稳定性
观察结果 (吸收度 A)

显色反应时间 (min)	避光室温	光照室温	50 $^{\circ}$ C 加热
1	0.359	0.365	0.387
2	0.358	0.364	0.365
3	0.357	0.362	0.339*
4	0.350	0.347*	0.286*
5	0.346	0.331*	0.253*
6	0.325*	0.325*	
7	0.310*	0.318*	
8	0.287*	0.292*	
9	0.245*	0.235*	
10	0.201*	0.206*	

* P < 0.05

2.3 标准曲线的绘制

取雷公藤甲素对照品工作液 1、2、3、4、5、6ml, 分别置 10ml 量瓶中, 加乙醇至刻度, 使其浓度为 60 - 360 μ g/ml, 分别取稀释液 3ml, 以同体积乙醇作空白, 分别精密加入 3, 5 - 二硝基苯甲酸试液及 2% KOH 试液各 1ml, 摇匀, 于波长 546nm 处测定吸收度, 以吸收度 (A) 对浓度 (C, μ g/ml) 回归, 得标准曲线回归方程为: $A = 0.00907 + 0.01048C$, $r = 0.9998$

2.4 回收率试验

采用加样回收实验法, 取一提取液, 照本文测定方法测定, 为本底值, 在该提取液中分别加入雷公藤甲素对照液 11.73 μ g/ml, 以吸收度计算回收率。结果见表 2。

2.5 重复性试验

取同一批号样品照本文方法提取, 合并提取液于冰箱内 (4 $^{\circ}$ C) 保存, 照本文测定方法每日测定一次含量。连续 5d, 求得日间 RSD = 4.75% (n = 5)。

表 2 雷公藤总内酯回收率测定 (n=3)

样品测定值 ($\mu\text{g}/3\text{ml}$)	加入量 (μg)	总内酯测得量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	回收率 (%)	平均值 ($\bar{x} \pm \text{RSD}\%$)
56.14	11.73	68.08	101.8	102.25 \pm 0.47
		68.21	102.9	
		68.08	101.8	
		68.19	102.4	
		68.10	102.0	

2.6 样品测定

雷公藤口服液 100ml, 照样品的预处理方法提取, 精密量取提取液 3ml, 分别加入 3,5 - 二硝基苯甲酸试液及 2% KOH 试液各 1ml, 摇匀后 2min 内测定, 并计算含量, 结果见表 3。

表 3 雷公藤口服液中总内酯含量测定结果 (n=3)

编号	批号	pH 值	相对密度	含量 ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	RSD%
1	981026	4.90	1.0364	319.57	1.65
2	981115	5.05	1.0381	333.26	1.72
3	990115	5.17	1.0332	286.46	1.53
4	990305	5.18	1.0273	260.67	1.47
5	990518	5.24	1.0340	299.51	1.60
6	990607	5.15	1.0330	273.72	1.92

3 讨论

3.1 雷公藤中的生物碱、总内酯都具有重要生理活性, 同时也是产生毒性反应的主要成分, 总内酯包括二萜类、三萜类和倍半类化合物等二十多种物质, 逐一定量有困难, 本文建立定性定量分析方法, 并在碱性条件下以雷公藤甲素为对照, 与 3,5 - 二硝基苯甲酸反应生成紫红色化合物来测定雷公藤口服液中

总内酯, 在波长 546nm 处有最大吸收峰。但显色反应不稳定, 其稳定时间与光照和温度有密切关系, 室温时避光其稳定时间可达 6min, 光照和加热促进其分解。因此, 测定时加入显色剂后测定应在短时间内完成, 同时操作过程中尽量在较低温度 (如空调) 和避光条件下进行。

3.2 雷公藤口服液中的总内酯提取采用超声振荡法, 结果较冷浸法与索氏提取法较简便、省时、完全。醇提液中性氧化铝柱净化, 可以除去大部分干扰性杂质, 达到良好的分离效果。

3.3 口服液中雷公藤内酯醇的水解速度受溶液 pH 值的影响, 较为稳定的 pH 值为 3 ~ 6^[2]; 因此, 将口服液 pH 值一般控制在 4 ~ 4.5。

3.4 通过分析 6 个批号雷公藤制剂, 结果表明雷公藤口服液的 pH 值、相对密度、含量等均较为稳定。总内酯含量低于市售的雷公藤制剂, 所产生毒性小, 适合于慢性病患者长期服用。

参考文献:

[1] 李 昌, 李 玲. 不同剂量雷公藤治疗类风湿性关节炎的临床观察[J]. 福建中医药杂志, 1995, 26(2): 11.
 [2] 刘 强, 周莉玲, 李 锐. 雷公藤制剂研究概况[J]. 中国药理学杂志, 1997, 32(2): 68

收稿日期: 2001 - 03 - 16

· 药物不良反应 ·

口服头孢氨苄致过敏性休克 1 例

谢会章, 李荣振 (海军北戴河疗养院, 秦皇岛 066001)

关键词: 头孢氨苄; 过敏性休克

中图分类号: R978.1*1

文献标识码: D

文章编号: 1006 - 0111(2001)05 - 0303 - 01

1 临床资料

患者李正斌, 男, 18a, 于 2001 年 1 月 12 日因臀部疖肿到我院就诊, 给予头孢氨苄 0.5g (北京华丰制药公司生产, 批号 20000322), qid po, 鱼石脂软膏外用。首次服药后 8min 即觉周身瘙痒, 全身不适, 恶心、头痛、胸闷气短, 面部潮红, 速来院复诊。查体: 面部、躯干部出现大小不等、边缘不规则风团样皮疹, 嗜睡, BP 8/5kPa, R 120 次/min, 细弱律齐。追问既往无青霉素过敏史。立即给予吸氧, im 肾上腺素 1mg, 氟美松 10mg, 静推 10% 葡萄糖酸钙 10ml, iv gtt 10% 葡萄糖注射液 250ml、多巴胺 60mg。半小时后自觉症状减轻, 皮疹渐退, BP 13/9kPa, 观

察 4h, 恢复正常后停止留观。

2 讨论

头孢氨苄为第 1 代头孢类抗菌素, 现临床仍广泛使用。头孢氨苄过敏多为药疹、荨麻疹、胃肠道反应。iv gtt 头孢类抗菌素可引起过敏性休克, 但 po 头孢氨苄引起过敏性休克少见。本例在 po 头孢氨苄药物前未使用其它任何药物, 也未食鱼虾类高蛋白食品, 出现过敏性休克症状故可认为是该药所致。头孢类抗菌素与青霉素类有交叉过敏反应, 故对青霉素过敏者要慎用, 如应用要做过敏试验。但本例提示, 无青霉素过敏反应者, 用药后仍有发生过敏休克可能, 故在用药期间应密切观察。

收稿日期: 2001 - 02 - 26