

雷公藤内酯醇生物贴的稳定性研究

钱丽萍¹, 阙慧卿¹, 林 绥^{1*}, 彭华毅¹, 李晓慧², 郭舜民¹

1. 福建省医学科学研究院, 福建 福州 350001

2. 福建省卫生技术学院, 福建 福州 350001

摘要: 目的 研究雷公藤内酯醇生物贴中雷公藤内酯醇在不同条件下的稳定性。方法 通过影响因素试验、加速试验、长期留样试验, 采用高效液相色谱法, 测定雷公藤内酯醇, 考察雷公藤内酯醇生物贴的稳定性。结果 经过光照、升温、加湿、加速等试验, 雷公藤内酯醇生物贴中的雷公藤内酯醇的量变化不大。结论 雷公藤内酯醇生物贴在市售包装及贮藏条件下, 质量稳定。

关键词: 雷公藤内酯醇生物贴; 稳定性; 高效液相色谱

中图分类号: R927.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2012)03-0182-03

Study on stability of Triplolide Biological Patches

QIAN Li-ping¹, QUE Hui-qing¹, LIN Sui¹, PENG Hua-yi¹, LI Xiao-hui², GUO Shun-min¹

1. Fujian Medical Science Research Institute, Fuzhou 350001, China

2. Fujian School of Health Technology, Fuzhou 350001, China

Abstract: Objective To study the stability of Triplolide Biological Patches (LTBP). **Methods** Triplolide content was determined by HPLC method through strengthen test, accelerated test, and long-term restrained sample testing. And the stability of LTBP was investigated. **Results** Triplolide was relatively stable due to light, temperature, humidity, accelerated testing, and long-term testing. **Conclusion** The results show that LTBP could be relatively stable in the commercial packaging and storage condition in market.

Key words: Triplolide Biological Patches (LTBP); stability; HPLC

雷公藤内酯醇生物贴是我院自主研发的用于治疗类风湿性关节炎的外用制剂。其主要活性成分雷公藤内酯醇化学性质稳定, 生理活性强, 是雷公藤发挥免疫抑制作用的主要成分之一^[1]。但终因它的有效剂量和中毒剂量接近, 应用受到毒性大的限制。将其制成贴剂该能避免首过效应, 降低不良反应, 延长作用时间。为保证药品质量, 确保用药安全有效, 本课题组对这种新型药物进行稳定性研究。

药品稳定性是指药品在特定条件和时间内保持稳定的能力。药品的稳定性决定其质量、有效性和安全性, 常被用来筛选制剂, 预测和确定药品的有效期^[2]。本实验就雷公藤内酯醇生物贴中雷公藤内酯醇在温度、湿度、光照等影响下随时间变化的规律进行研究。

1 仪器、试药与试剂

岛津 LC—20AT 高效液相色谱仪 (日本岛津公

司); AL204 电子天平 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司); KQ2200E 型超声波清洗机 (昆山市超声仪器有限公司); HH—2 型数显恒温水浴锅 (上海江星仪器有限公司); 120CGS 药品稳定性实验箱 (北京兰贝石恒温技术有限公司)。

雷公藤内酯醇对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 111567-200502); 雷公藤内酯醇生物贴 (75 μg/贴, 福建省医学科学研究院, 批号 20101125、20101126、20101127); 氯仿 (AR, 汕头市达濠精细化工品公司); 甲醇 (AR, 西陇化工股份有限公司); 乙腈 (色谱纯); 甲醇 (色谱纯); 硅胶 (青岛海洋化工厂分厂, 批号 20100420)。

2 雷公藤内酯醇的 HPLC 法测定

2.1 色谱条件^[3-4]

使用 Ultimate 色谱柱 (250 nm×4.6 nm, 5 μm), 流动相为乙腈-超纯水 (3:7), 检测波长为 218 nm,

收稿日期: 2012-02-21

基金项目: 福建省科技重大专项 (2009YZ0001-1-3); 福建省医学创新项目 (2009-CX-16); 福建省省属公益类科研院所基本科研专项 (2011R1034-3)

*通讯作者 林 绥 Tel: 13605948318 E-mail: insuisyy@sina.com.cn

体积流量 1 mL/min, 柱温 35 °C, 进样量 20 μ L, 色谱图见图 1。

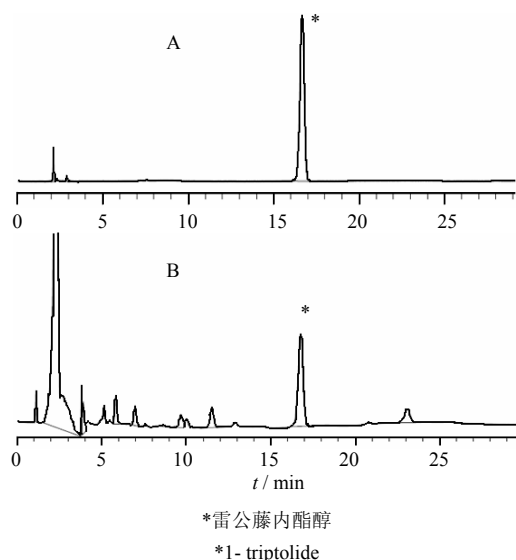


图 1 雷公藤内酯醇对照品 (A)、供试液 (B) 的 HPLC 图
Fig. 1 HPLC chromatograms of triptolide reference substance (A) and sample solution (B)

2.2 溶液的制备

精密称取雷公藤内酯醇对照品 7.6 mg, 加流动相乙腈-超纯水 (3:7) 溶解并定容至 100 mL 量瓶中, 作为对照品储备液 (76 μ g/mL); 精密吸取对照品储备液 1 mL, 加流动相稀释并定容至 10 mL, 作为对照品溶液 (7.6 μ g/mL)。

称取 10 g 硅胶于蒸发皿中, 取雷公藤内酯醇生物贴 10 贴, 除去防黏层, 用 20 mL 三氯甲烷溶解, 溶液加入上述硅胶中, 在水浴锅上加热搅拌, 挥干溶剂。贴剂继续加入 10 mL 甲醇, 展开, 溶液加入硅胶中, 挥干。贴剂再加入三氯甲烷, 如此反复洗涤 5 遍, 直至贴剂洗涤干净为止, 挥干硅胶上的溶剂。硅胶转移到锥形瓶中, 加入 30 mL 色谱纯甲醇超声 10 min, 抽滤, 硅胶继续加入 20 mL 色谱纯甲醇超声 5 min, 抽滤, 如此操作 4 次, 抽滤, 滤液合并, 定量转移至 100 mL 量瓶, 用色谱纯甲醇定容至刻度, 制得供试品溶液。

按处方比例制备不含雷公藤内酯醇的阴性样品, 按供试品项方法制成不含雷公藤内酯醇的阴性对照品溶液。

2.3 线性关系考察

分别精密吸取 76 μ g/mL 对照品储备液 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀即得。分别进样 20 μ L, 测定。以雷公藤内酯醇的质量分数为横坐标, 相应的峰面积为

纵坐标, 得标准曲线 $Y=39\ 728X-10\ 250$ ($r=0.998$), 结果在 3.8~60.8 μ g/mL 线性关系良好。

2.4 精密度试验

精密吸取对照品溶液 20 μ L, 在上述色谱条件下, 连续进样 6 次, 测定雷公藤内酯醇色谱峰峰面积, 计算得其 RSD 为 0.98%, 结果表明该方法具有良好的精密度。

2.5 稳定性试验

取同一批号贴剂 (批号 20101125), 按照供试品项的测定方法, 分别在 0、4、8、12、16、24 h 进样测定。结果表明, 供试品在 24 h 内稳定性良好, RSD 为 1.88% ($n=6$)。

2.6 回收率试验

取雷公藤内酯醇贴 10 贴, 分离背衬层和防粘层, 将背衬层置于烧杯中, 加入配制的质量浓度为 76 μ g/mL 的雷公藤内酯醇对照品储备液 10 mL, 加入甲醇超声, 拌于 10 g 硅胶中, 加入氯仿 20 mL, 浸泡超声, 拌硅胶, 再加入甲醇, 超声, 并拌硅胶, 如此反复几次, 直至贴剂不再有胶为止, 蒸干硅胶上的溶剂, 将硅胶转移至锥形瓶中, 加入适量色谱纯甲醇, 超声, 定容于 100 mL 量瓶, 过微孔滤膜, 按照供试品项下方法测定, 平行 3 次, 平均回收率为 97.3%, RSD 为 2.03%。

3 影响因素试验^[5]

按照《中国药典》2010 版二部附录 XIXC 药物稳定性指导原则, 将雷公藤内酯醇生物贴分别在高温、高湿和强光照射环境下试验, 对雷公藤内酯醇的量进行考察。

3.1 光照试验

取模拟上市包装的雷公藤内酯醇生物贴置于 4 500 lx 下光照 10 d, 分别于第 5 天、第 10 天取样。第 5 天取出 50 贴, 随机分为 5 份, 每份 10 贴, 检测雷公藤内酯醇。第 10 天取出剩余贴片, 用同样方法, 制备雷公藤内酯醇生物贴 HPLC 溶液, 考察雷公藤内酯醇的变化。

3.2 高温试验

将样品分别置于 (60 $\pm$ 2) °C 恒温条件下放置 10 d, 分别于第 5 天、第 10 天取样, 考察雷公藤内酯醇的变化。

3.3 高湿试验

将样品置于 (25 $\pm$ 2) °C、(90% $\pm$ 5%) 恒湿条件下放置 10 d, 分别于第 5 天、第 10 天取样, 考察雷公藤内酯醇的变化, 结果见表 1。

表1 影响因素试验结果

Table 1 Results of influential factor test

考察项目	时间/d	雷公藤内酯醇/($\mu\text{g}\cdot\text{贴}^{-1}$)
光照试验	5	73.28
	10	68.07
高温试验	5	70.19
	10	65.60
高湿试验	5	70.04
	10	68.32

雷公藤内酯醇生物贴影响因素试验结果表明,在强光、60℃高温、高湿条件下经检测雷公藤内酯醇的量没有明显变化,样品保持稳定。

4 加速实验

取模拟上市包装的雷公藤内酯醇生物贴3批(20101125, 20101126, 20101127),置于药品稳定性试验箱中,温度(40±2)℃,相对湿度(75%±5%)放置6个月,于0、1、2、3、6个月后分别取样1次,测定雷公藤内酯醇,结果见表2。

表2 加速试验测定结果

Table 2 Results of accelerated test

批号	时间	雷公藤内酯醇/($\mu\text{g}\cdot\text{贴}^{-1}$)
20101125	0月	72.36
	1月	71.23
	3月	69.68
	6月	70.57
20101126	0月	70.64
	1月	71.78
	3月	72.59
	6月	68.64
20101127	0月	76.49
	1月	72.16
	3月	68.83
	6月	73.04

上述实验结果表明,本品3批在温度为(25±2)℃、相对湿度(60%±10%)条件下放置6个月,经取样检测,雷公藤内酯醇的量无明显变化,说明本品在此条件下稳定。

5 长期留样试验

取本品3批(20101125, 20101126, 20101127),模拟上市包装,于温度为(25±2)℃、相对湿度(60%±10%)条件下放置于药品稳定性试验箱中12个月,分别于0、3、6、9、12个月取样1次,按照供试品溶液的制备方法,制备雷公藤内酯醇生物贴

HPLC溶液,考察雷公藤内酯醇生物贴量的变化。结果见表3。

表3 长期试验测定结果

Table 3 Results of long-term test

批号	时间	雷公藤内酯醇/($\mu\text{g}\cdot\text{贴}^{-1}$)
20101125	0月	74.35
	3月	69.81
	6月	71.35
	9月	76.12
	12月	70.26
20101126	0月	76.53
	3月	72.31
	6月	71.66
	9月	68.94
	12月	72.39
20101127	0月	72.64
	3月	69.70
	6月	71.03
	9月	73.16
	12月	72.33

上述实验结果表明,本品3批雷公藤内酯醇生物贴,在温度为(25±2)℃、相对湿度(60%±10%)条件下,经长期留样考察后,雷公藤内酯醇的量没有明显变化,说明本品在此条件下稳定。

6 结论

雷公藤内酯醇生物贴供试溶液的制备中,需用氯仿、甲醇交替浸泡,超声生物贴,才能将生物贴上的胶全部洗涤干净。将洗涤溶液拌在硅胶上,可以很好地去掉溶液中压敏胶的干扰,使高效液相测定结果准确,重现性好。

雷公藤内酯醇生物贴稳定性试验的影响因素考察结果表明,雷公藤内酯醇生物贴在光照、高温、高湿的条件下雷公藤内酯醇的量无明显变化,符合质量标准草案。加速试验和长期试验的结果进一步表明,雷公藤内酯醇生物贴有很好的化学稳定性。

参考文献

- [1] 赵湘,孙建实,金李军,等.雷公藤内酯醇作用机制研究进展[J].中国中医药科技,2006,13(3):200-204.
- [2] 王弘,刘饭阳,张燕平.药品稳定性实验研究进展[J].中国新药杂志,2006,15(20):1710-1714.
- [3] 林绥,邓思珊,阙慧卿,等.HPLC法测定雷公藤粗制品中雷公藤甲素的含量[J].天津药学,2005,17(4):28-29.
- [4] 阙慧卿,林绥,钱丽萍,等.雷公藤内酯醇生物贴的体外透皮吸收研究[J].现代药物与临床,2012,27(3):235-237.
- [5] 陈红梅.头抱特仑新戊酯胶囊稳定性的研究[J].海峡药学,2007,19(8):25-27.