

雷公藤贴剂中雷公藤内酯醇释放度的测定

钱丽萍, 阙慧卿, 林 绥*, 彭华毅, 郭舜民

福建省医学科学研究院, 福建 福州 350001

摘要: 目的 建立雷公藤贴剂中雷公藤内酯醇的释放度测定方法。方法 采用 HPLC 法测定雷公藤内酯醇, Ultimate 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-超纯水 (3:7), 检测波长为 218 nm, 体积流量为 1 mL/min, 柱温为 35 $^{\circ}$ C, 进样量为 20 μ L。采用《中国药典》释放度测定法第三法, 释放介质为 50% 甲醇-生理盐水 (1:1)。结果 雷公藤内酯醇在 6~96 μ g/mL 线性关系良好 ($r=0.9997$), 平均回收率为 98.27%, RSD 为 1.68%。雷公藤贴剂中雷公藤内酯醇的释放过程符合 Higuchi 方程。结论 本法操作方便, 重现性好, 适合于雷公藤贴剂中雷公藤内酯醇的释放度测定。

关键词: 雷公藤贴剂; 雷公藤内酯醇; 释放度; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)05-0403-03

Release of triptolide in Leigongteng Adhesive Plaster

QIAN Li-ping, QUE Hui-qing, LIN Sui, PENG Hua-yi, GUO Shun-min

Fujian Institute of Medical Sciences, Fuzhou 350001, China

Abstracts: Objective To establish an analysis method for determination of triptolide release in Leigongteng Adhesive Plaster. **Methods** HPLC method was used with Ultimate chromatographic column (250 mm×4.6 mm, 5 μ m), acetonitrile-ultra pure water (3:7) as mobile phase, detective wavelength 218 nm, flow rate 1.0 mL/min, column temperature 35 $^{\circ}$ C, and injection volume 20 μ L. Release was determined by Third Release Method in Chinese Pharmacopoeia with the mixture of 50% methanol-physiological saline (1:1) as media. **Results** The linear correlation of triptolide was good ranging from the concentrations of 6—96 μ g/mL ($r=0.9997$). The recovery rate of triptolide was 98.27% with RSD 1.68%. Triptolide release in Leigongteng Adhesive Plaster was in accordance with Higuchi equation. **Conclusion** The method is very convenient, reproducible, and suitable for determination of triptolide release in Leigongteng Adhesive Plaster.

Key words: Leigongteng Adhesive Plaster; triptolide; release; HPLC

雷公藤内酯醇(又名雷公藤甲素、雷公藤内酯)是从卫矛科雷公藤属植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 中分离的二萜内酯化合物, 具有抗炎、免疫抑制等作用^[1-2]。雷公藤内酯醇的有效剂量与中毒剂量接近, 使其应用受到限制。本研究以聚异丁烯压敏胶为主要基质, 制备了以雷公藤内酯醇为主要活性成分的雷公藤贴剂。该贴剂能避免首过效应, 降低不良反应, 延长作用时间。药物体外释放度是评价贴剂质量的内在指标, 是制剂质量控制的重要手段^[3]。笔者曾建立了雷公藤内酯醇生物贴中雷公藤内酯醇的测定方法^[4]。因此本实验采用高效液相色谱法对雷公藤贴剂中雷公藤内酯醇的体外

释药情况进行了研究, 为其外用剂型研究和贴剂发挥疗效提供依据。

1 仪器与材料

RCZ—8 型药物溶出仪(上海黄海药检仪器有限公司); 岛津 LC—20AT 高效液相色谱仪(日本岛津); 204 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

雷公藤内酯醇对照品由中国药品生物制品检定所提供, 批号 111567-200502。聚异丁烯压敏胶、液体石蜡(汕头市达濠精细化学品有限公司), 羊毛脂(上海华亭羊毛脂厂), 甲醇(色谱纯)、氯仿(西陇化工股份有限公司)。

收稿日期: 2011-08-11

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)

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

2 方法与结果

2.1 雷公藤贴剂的制备

精密称取处方量雷公藤内酯醇和处方量配比的聚异丁烯压敏胶,用氯仿溶解,加入羊毛脂、液体石蜡、促渗剂,混合使均匀。用流涎工艺涂布压敏胶后,与背衬层和防粘层复合,即得。剪裁成4.2 cm×3.2 cm的贴剂,备用。

2.2 雷公藤内酯醇的HPLC法测定

2.2.1 色谱条件^[4-5] Ultimate 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-超纯水(3:7);检测波长为218 nm;体积流量为1 mL/min;柱温为35℃;进样量为20 μL。色谱图见图1。

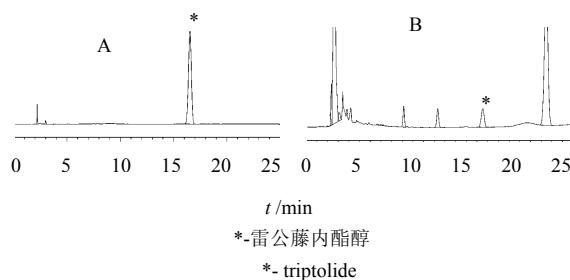


图1 雷公藤内酯醇对照品(A)和透皮接收液(B)的HPLC图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of triptolide reference substance (A) and collection solution (B)

2.2.2 标准曲线的绘制 精密称定雷公藤内酯醇对照品6.0 mg,置10 mL量瓶中,加适量乙腈溶解,并加至刻度、摇匀,作为对照品溶液母液。精密吸取该母液0.10、0.20、0.40、0.80、1.60 mL,置于10 mL量瓶中,用流动相乙腈-超纯水(3:7)稀释至刻度,摇匀。取各质量浓度的对照品溶液进行检测。在该色谱条件下,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y=42\ 817\ X-11\ 250$ ($r=0.999\ 7$)。结果表明雷公藤内酯醇在6~96 μg/mL线性关系良好。

2.2.3 精密度试验 取20 μg/mL雷公藤内酯醇对照品溶液,在上述色谱条件下重复进样6次,测定雷公藤内酯醇峰面积,计算得RSD为1.09%。

2.2.4 稳定性试验 取新配制的供试品溶液,室温放置,分别于0、2、4、8、12、24 h进样测定雷公藤内酯醇峰面积,计算得其RSD为1.27%。结果表明,供试品溶液在常温下24 h内稳定,不易分解。

2.2.5 加样回收率试验 取含雷公藤内酯醇300 μg/片的雷公藤贴剂3片,揭去防粘层,分别置于

100 mL量瓶中,加释放介质适量浸泡2 h,分别加入雷公藤内酯醇240、300、360 μg,超声处理2 h,再用释放介质稀释至刻度,摇匀。进样测定,计算得加样回收率为98.27%,RSD为1.68% ($n=9$)。

2.3 体外释放度考察

照《中国药典》2010年版二部附录XD释放度测定法第三法。以200 mL超声脱气的50%甲醇-生理盐水(1:1)作为释放介质,加入250 mL溶出杯中,预温至 (32 ± 0.5) ℃,取贴片,去掉防粘层,固定于两层碟片的中央,释放面向上,再将网碟置于溶出杯下部,并使贴片与桨底旋转面平行。两者相隔 (15 ± 1) mm^[6],转速为50 r/min,于搅拌后0、1、4、8、12、24 h取样10 mL,及时补充同温同体积的溶出介质。挥干溶出介质,用流动相定容至1 mL量瓶中,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,HPLC法测定样品中雷公藤内酯醇的质量浓度,计算单位面积的累积释放量(Q_n)。将所测数据绘制成释放度曲线,见图2。

$$Q_n = \frac{C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_s}{S}$$

C_n 为第 n 个时间点的被测液中雷公藤内酯醇质量浓度, C_i 为第 i 个时间点的被测液中雷公藤内酯醇质量浓度, V_s 为取样体积, V 为溶出介质体积, S 为有效接触面积

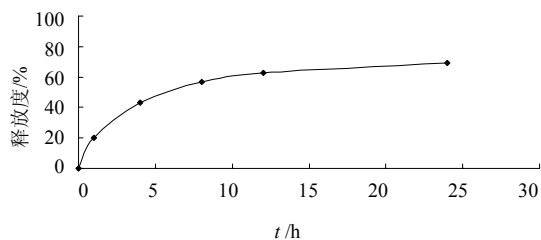


图2 雷公藤贴剂中雷公藤内酯醇的释放曲线

Fig. 2 Release curve of triptolide in Leigongteng Adhesive Plaster

结果显示药物在初始阶段快速释放,而在后阶段释放速率减少但相对稳定。以累积释药量(Q)对时间($t^{1/2}$)进行线性回归,得Higuchi方程: $Q=3.850\ 3\ t^{1/2}+0.16$ 。由Higuchi方程计算直线斜率,即为药物的透皮速率常数(J),计算值为 $3.850\ 3\ \mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h}^{1/2})$ 。

3 讨论

目前透皮贴剂主要分为膜控释型和骨架型两大类,后者是将药物直接溶解或混合在压敏胶基质中的一类贴剂,其设计简单,便于工业化大生产,在

当前透皮贴剂研究中最受关注^[7]。本制剂所用的聚异丁烯压敏胶基质成分安全无毒, 药物包容量大, 释药性能独特, 黏度可控, 基质性能稳定, 可规模生产。雷公藤贴剂柔韧性好, 且工艺简便实用。

释放度测定是控制药品质量的一项重要检测指标, 使用适当的仪器和方法对测定结果有明显的影
响。由实验可以看出, 雷公藤贴剂中雷公藤内酯醇的释放速度相对稳定, 累计释放量逐渐增大, 释放过程符合 Higuchi 方程。

参考文献

- [1] 吴少辉, 刘光明. 雷公藤内酯的提取、分析和药理作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(1): 36-39.
- [2] 刘 媛, 陈 燕, 赵 菲, 等. 雷公藤内酯醇对多发性骨髓瘤 RPMI 8226 细胞周期及 P21wap1/cip1 和 P27kip1 表达的影响 [J]. 中草药, 2010, 41(11): 1819-1823.
- [3] 中国药典 [S]. 二部. 2010: 附录 87.
- [4] 林 媛, 邓思珊, 阙慧卿, 等. HPLC 法测定雷公藤内酯醇生物贴中雷公藤内酯醇 [J]. 中草药, 2010, 41(9): 1478-1480.
- [5] 申 琳, 邹爱英. 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.
- [6] 刘嫩霞. 小杯法测定透皮贴剂释放度—为《中国药典》中透皮贴剂释放度测定方法的商榷 [J]. 药学进展, 2002, 26(5): 310-311.
- [7] 朱全刚, 陆松伟, 马多玲, 等. 氢溴酸加兰他敏贴剂的制备及体外释放和透皮特性研究 [J]. 药学服务与研究, 2010, 10(2): 135-137.

2011年6月21日—8月20日FDA批准的新药

药品名称	活性成分	适应症	C*/R*	研发公司	批准日期
Oxecta	oxycodone hydrochloride	强效止痛药	5/P	King Pharms	06-17
Rectiv	nitroglycerin	止痛药用于疼痛性肛裂	3/S	Prostrakan Inc	06-21
Morphine sulfate	morphine sulfate	麻醉药	3/S	Lannett Holdings Inc	06-23
Levothyroxine sodium	levothyroxine sodium	抗甲状腺药	7/S	App Pharms	06-24
Argatroban in sodium chloride	argatroban	抗凝血药	5/S	Eagle Pharms	06-29
Docetaxel	docetaxel	化疗药	5/S	山德士	06-29
Lazanda	fentanyl citrate	止痛药用于爆发性癌痛	3/S	Archimedes	06-30
Codeine sulfate	codeine sulfate	镇咳药	5/S	Roxane	06-30
Arcapta	indacaterol maleate	慢性阻塞性肺病药物	1/S	Novartis Pharms	07-01
Xarelto	rivaroxaban	抗凝血药	1/S	强生	07-01
Brilinta	ticagrelor	抗凝血药	1/S	阿斯利康	07-20
Heparin sodium	heparin sodium	抗凝血药	5/S	辉瑞制药	07-21
Gemcitabine	gemcitabine	抗癌药	—	Hospira Inc	08-04
Rosuvastatin zinc	rosuvastatin zinc	降脂药	—	Watson Labs Inc	08-04
Complera	emtricitabine; rilpivirine; tenofovir disoproxil fumarate	抗病毒药	—	Gilead	08-10
Zelboraf	vemurafenib	皮肤癌	—	Hoffman-La Roche	08-17

C*为 NDA 化学类别 (1-新分子实体; 3-新剂型; 5-新生产商; 7-药品已上市, 但未获新药批准); R*为审评类型: S-标准审评药; P-优先审评药