

粒剂含量标准为含梔子苷 0.294% 以上。

5.3 处理样品所用 PT-C₁₈ 色谱预处理小柱为市售,可以反复使用,以甲醇再生。

参 考 文 献

1 凌俊英,等. 中草药,1994;25(10):556

2 葛建华,等. 中国药科大学学报,1990;21(3):185
3 丁安伟,等. 中药材,1995;18(11):562
4 杨瑞琪,等. 中国中医科技,1996;3(5):27

(1997-11-13 收稿)

雷公藤擦剂的稳定性研究

福建省医学科学研究所(福州 350001) 林 绥* 邓思珊
福建省级机关医院 刘丹红

摘 要 雷公藤中的主要有效成分之一雷公藤内酯醇,其结构中含有不稳定的三元环醚,易水解开环而降低擦剂的质量,为此,我们应用化学动力学为基础的经典恒温法对雷公藤擦剂的稳定性进行了研究。结果表明雷公藤内酯醇的热稳定性良好,水解反应的活化能 $E=15.46 \text{ kcal/mol}$ 。计算测定贮存期为 870 d。
关键词 雷公藤 雷公藤擦剂 稳定性

雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 系卫矛科雷公藤属植物,临床应用雷公藤制剂治疗类风湿性关节炎、红斑狼疮、银屑病等,显示了较好的疗效^[1,2],但药理实验证明雷公藤内酯醇也是引起中毒的主要因素^[3]。雷公藤擦剂通过透皮吸收达到治疗的目的^[4],取得较好的疗效,避免了因口服雷公藤制剂引起的消化道症状和药物在肝脏代谢引起的全身性的毒副作用。已知有效成分之一雷公藤内酯醇结构中含有不稳定的三元环醚,易水解开环而降低擦剂的质量,为此,我们应用化学动力学为基础的经典恒温法对雷公藤擦剂的稳定性进行了研究。

1 仪器、试剂与药品

薄层色谱扫描仪(岛津 CS-930 型),微量点样器(1 μL ~5 μL ,Drummond),高效薄层板(青岛海洋化工厂生产),雷公藤内酯醇纯品由本所药物研究室提供,其余均使用分析纯化学试剂。

2 实验条件的选择

雷公藤内酯醇用 Kedde 试剂显色,斑点呈紫红色,不稳定,在空气中 20 min~30 min 后逐渐消退,所以斑点展开后直接进行扫描,不需通过显色。实验表明以乙醚、氯仿-乙醚(3:1)和氯仿-乙醚(9:1)为展开剂均有较好的分离效果,但以氯仿-乙醚(3:1)展开效果更为理想,分离效果较好,斑点无拖尾现象。

3 标准曲线的绘制

精密称取雷公藤内酯醇对照品 12.1 mg,置于 10 mL 容量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,即得 1.21 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的对照品溶液,在经过预选的高效硅胶板上,用 1、2 μL 对照品液点样,薄层板在层析缸中饱和 2 h,用氯仿-乙醚(3:1)上行展开, $\lambda_{\text{S}}=218 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{R}}=320 \text{ nm}$,狭缝 2 mm $\times$ 2 mm,以反射法锯齿形扫描, $S_{\text{x}}=3$,测定斑点的吸收峰面积,以积分值为纵坐标,点样量为横坐标,绘制标准曲线,求得回归方程: $Y=13328X-15.0$ 。

4 样品的含量测定

* Address: Lin Sui, Fujian Institute of Medical Sciences, Fuzhou
林 绥 女 36 岁,副研究员,主要参与福建省重点攻关项目“雷公藤的应用研究”,并相继承担了“细叶水团花有效成分的研究”,“小蓟抗肿瘤有效成分的研究”,“雷公藤治疗实体瘤肝癌、胃癌的研究”,“雷公藤明碱等免疫作用研究”等多项卫生厅资助课题,发表论文 20 多篇。

精密吸取雷公藤擦剂 200 mL, 浓缩, 将浓缩液吸附于 250 g 中性氧化铝中, 挥干溶剂。将吸附有样品的氧化铝装于索氏提取器中, 用氯仿回流提取 6 h。将氯仿液浓缩至干, 用无水乙醇溶解, 定容至 10 mL, 为样品溶液。用微量点样器吸取各批号样品溶液 2、3 μ L 及对照品液 2、3 μ L, 点样于同一活化的高效薄层板上, 照标准曲线实验项的参数进行测定。

5 原料的热稳定性

平行称取雷公藤内酯醇原料两份, 置 (100 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C 烘箱中分别加热 24 h 和 48 h, 原料的晶形和色泽未发生变化, 经溶解并定容后进行测定, 高效液相色谱图上未检出雷公藤内酯醇的分解产物峰, 且经含量测定为原料称取量的 (100 $\pm$ 0.83)%。

6 雷公藤擦剂有效期的预测

采用经典恒温法^[5]进行预测实验。
将供试雷公藤擦剂各 1 200 mL 分别置于 (40 $^{\circ}$ C、50 $^{\circ}$ C、60 $^{\circ}$ C、70 $^{\circ}$ C、80 $^{\circ}$ C $\pm$ 1 $^{\circ}$ C) 恒温水浴中, 间隔一定时间取出 200 mL, 冷却后进行含量测定。以各实验温度下的 lnC 对 t 作线性回归, 均得到符合一级反应的直线方程, 从而求出各实验温度下的水解速度常数 k , 结果见表 1。

以各温度下的 lgk 对其绝对温度的倒数 1/ T 作回归分析, 得直线方程 $\lg k=7.404-3378.16 \frac{1}{T}$, $r=0.9915$ 。该方程完全符合实验温度对反应速度影响的 Arrhenius 公式 $\ln k=\ln A-\frac{E}{RT}$, 由此可导出室温或其它温度下相应的 k 值, 进而根据一级反应速度方程式求出相应温度下药物降解至一定比率的时间。表 2 列出了雷公藤擦剂在几个温度下的有效期。

7 留样的测定和对照

取置于室温贮存 (平均 25 $^{\circ}$ C) 的留存 3 个批号雷公藤擦剂进行测定, 按标示量计算其含量, 取平均值。依照一级反应速度方程式由相对百分含量求出该种温度下的预测有效

期, 并与实验贮存的进行对照, 结果见表 3。

表 1 雷公藤擦剂在各温度下的水解实验结果

T	t (d)	含量(%)	lgC	回归结果
40 $^{\circ}$ C	0	3.91	0.5922	$r=0.9912, k=4.27\times 10^{-4}$
	20	3.87	0.5877	
	40	3.84	0.5843	
	80	3.78	0.5775	
	160	3.65	0.5623	
50 $^{\circ}$ C	0	3.91	0.5922	$r=0.9983, k=9.72\times 10^{-4}$
	20	3.84	0.5843	
	40	3.75	0.5740	
	80	3.63	0.5599	
	160	3.35	0.5250	
60 $^{\circ}$ C	0	3.91	0.5922	$r=0.9914, k=2.02\times 10^{-3}$
	10	3.75	0.5745	
	20	3.69	0.5670	
	40	3.55	0.5502	
	80	3.28	0.5158	
70 $^{\circ}$ C	0	3.91	0.5922	$r=0.9875, k=3.47\times 10^{-3}$
	10	3.76	0.5752	
	20	3.62	0.5587	
	40	3.45	0.5378	
	80	2.99	0.4750	
80 $^{\circ}$ C	0	3.91	0.5922	$r=0.9903, k=5.81\times 10^{-3}$
	5	3.75	0.5740	
	10	3.63	0.5599	
	20	3.43	0.5353	
	40	3.06	0.4875	

表 2 雷公藤擦剂的有效期		
温度($^{\circ}$ C)	k	有效期 $t_{0.9}$ (d)
25	1.169×10^{-4}	901
20	7.48×10^{-5}	1409
5	1.79×10^{-5}	5888

表 3 留样的测定和贮存期对照				
贮存条件	留样批号	含量(%)	预测贮存期(d)	实际贮存期(d)
室温	921008	3.52	901	875
室温	921009	3.51	901	868
室温	921010	3.53	901	883

8 结果与讨论

8.1 雷公藤内酯醇原料的热稳定性良好, 它在溶液中的水解反应为伪一级反应, 由 Arrhenius 公式算得雷公藤擦剂的水解反应的活化能 $E=15.46$ kcal/mol
8.2 留存雷公藤擦剂的预测贮存期与实际贮存期吻合, 说明实验的有效期预测结果对临床应用有实用价值。

- 1 严碧玉,等.第一军医大学学报,1986;6(3):214
- 2 秦万章,等.中医杂志,1982;23(3):171
- 3 郑幼兰,等.中国药理学报,1981;2(1):70
- 4 朱钦文,等.福建医药杂志,1990;12(3):49
- 5 庞貽慧,等.药物稳定性预测方法.北京:人民卫生出版社,1984:35

(1997-11-4 收稿)

黄芪根、茎、叶中总皂苷含量比较

佳木斯医学院(154003) 张宇 王凤芝 张枏枏
齐齐哈尔铁路中心医院 陈玉娟
黑龙江省武警总队医院 李玉莲

生药黄芪为豆科植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 和蒙古黄芪 *A. mongholicus* Bge. 的干燥根。皂苷为黄芪的主要化学成分之一。黄芪的入药部位为根。我们通过实验分析比较黄芪根、茎、叶中总皂苷含量,为开发黄芪地上部分,扩大药物资源提供科学依据。

1 仪器和材料

仪器:721型分光光度计。

药品:黄芪甲苷(ASI)标准品(781-9001,中国药品生物制品检定所);黄芪根、茎、叶来自大兴安岭野生黄芪(膜荚黄芪)。

2 方法和结果

2.1 总皂苷的提取与纯化:取黄芪根、茎、叶粗粉干燥至恒重,分别精确称取根、茎、叶样品约5g(精确至1mg),用95%乙醇在索氏提取器中回流6h,提取液蒸干,残渣用甲醇定容为10.00mL,供纯化用。

称取4g 105℃活化30min层析用中性氧化铝,装入内径约为0.8cm的层析柱中,将上述提取液小心倒入层析柱中,再用50%的甲醇50mL洗脱,洗脱液蒸干,残渣以无水乙醇定容。根、茎、叶定容分别为20.00、10.00和100.00mL,供定量用。

2.2 总皂苷的含量测定:参见南京医科大学学报,1994;14(2):217。

2.2.1 标准曲线的制作:精确吸取ASI标准液(0.4mg/mL)0.00、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50mL于6支磨口试管中,水浴加热挥去溶剂,在每支试管中分别加入0.20mL 5%香草醛冰醋酸溶液,0.80mL高氯酸,密塞。然后于70℃水浴恒温加热20min,取出后立即用流水冷却,加冰醋酸5.00mL,摇匀。于波长560nm处分别测定吸收度,得回归方程:

$$A = -5.4 \times 10^{-3} + 3.535 \times 3.535^{-3} C, r =$$

0.9999。故C与A的直线方程为 $C = 1.53 + 282.89A$ (C为ASI的质量 μg)。

2.2.2 总皂苷的含量测定:精确吸取根、茎、叶定容液0.10mL于磨口试管中,置水浴上蒸干,按标准曲线制作项下方法操作,用721型分光光度计测定吸收度,按直线方程求出C,再按下式计算黄芪根、茎、叶中总皂苷含量,测定结果见表1。

$$\text{总皂苷含量}(\text{mg/g}) = 10^{-3} C V_{\text{定容}} / 5V_{\text{样}}。$$

表1 总皂苷含量测定结果

次数	根	茎	叶
1	0.405	0.647	0.465
2	0.436	0.656	0.475
3	0.424	0.651	0.470
4	0.400	0.650	0.475
5	0.425	0.650	0.473
6	0.448	0.651	0.470
均值(A)	0.423	0.651	0.471
皂苷含量(mg/g)	4.848	3.713	26.954

2.2.3 回收率实验:取ASI标准液10.00mL水浴蒸干,用甲醇定容为10.00mL。取4g 105℃活化0.5h中性氧化铝加入内径为0.8cm的层析柱中,将上述甲醇液小心加入层析柱中,再用50%甲醇50mL洗脱,洗脱液蒸干,残渣以无水乙醇定容为10.00mL。

取上述无水乙醇定容液0.00、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50mL 6支磨口试管中,置水浴上蒸干溶剂,按标准曲线项下方法测定吸收度,计算回收率为97.32%, $RSD=0.57\%$ ($n=5$)。

3 结果

实验证明,黄芪叶中总皂苷含量是根中的5倍~6倍,茎中总皂苷含量略低于根。因此,建议开发黄芪地上部分。

(1997-10-20 收稿)