

HPLC 法测定雷公藤药材及其片剂中雷公藤对萘 H

贺江萍¹, 王文燕², 高文远¹, 张彦文³, 周 变³, 段宏泉^{3*}

(1. 天津大学药学院, 天津 300072; 2. 天津药物研究院, 天津 300193; 3. 天津医科大学药学院, 天津 300070)

摘要:目的 建立雷公藤及其片剂中雷公藤对萘 H 测定的 HPLC 法。方法 外标法, Agilent Zorbax SC-C₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 甲醇-水 (75:25) 为流动相, 检测波长为 258 nm, 体积流量为 1.0 mL/min。结果 雷公藤对萘 H 线性范围为 6.28~100.5 μg/mL ($r=0.9997$), 雷公藤药材的平均回收率为 96.94%, RSD 为 1.57% ($n=9$); 昆明山海棠片的平均回收率为 100.02%, RSD 为 1.74% ($n=9$)。结论 方法准确、灵敏, 可作为雷公藤属药材及片剂中雷公藤对萘 H 的定量分析方法。

关键词:雷公藤; 片剂; 雷公藤对萘 H; 高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2005)06-0837-03

Determination of triptotoquinone H in *Tripterygium wilfordii* and its Tablet by HPLCHE Jiang-ping¹, WANG Wen-yan², GAO Wen-yuan¹, ZHANG Yan-wen³,
ZHOU Wen³, DUAN Hong-quan³

(1. College of Pharmaceutics and Biotechnology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China; 3. College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract: Objective To develop an HPLC method for determination of triptotoquinone H in *Tripterygium wilfordii* and its Tablet preparations. **Methods** An external method with Agilent Zorbax SC-C₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column as fixed phase and methanol-water (75:25) as mobile phase was adopted. The detective wavelength was 258 nm and the flow rate was 1.0 mL/min. **Results** The linearity range of triptotoquinone was 6.28 — 100.5 μg/mL ($r=0.9997$). The average recovery of *T. wilfordii* was 96.94%, RSD was 1.57% ($n=9$) and the average recovery of *T. hypoglaucom* Tablet was 100.02%, RSD was 1.74% ($n=9$). **Conclusion** The method is accurate and sensitive. It is adoptable for quantity analysis of triptotoquinone H in *T. wilfordii* and its Tablet.

Key words: *Tripterygium wilfordii* Hook. f.; tablet; triptotoquinone H; HPLC

雷公藤是一味传统中药,系卫矛科雷公藤属植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 的藤本部分,具有抗炎^[1]、免疫抑制^[2,3]、抗肿瘤^[4]、抗生育等活性,其制剂广泛用于类风湿性关节炎、慢性肾炎等自身免疫性疾病。同属植物还包括昆明山海棠 *T. hypoglaucom* Hutch、东北雷公藤 *T. regelii* Sprague et Takeda 等。但这类制剂一直未有行之有效的质量控制手段,致使疗效和毒性不稳定,常常毒性过大,临床上常有不良反应发生,甚至中毒死亡^[5,6]。雷公藤化学成分研究表明雷公藤对萘 H 是其主要有有效成分之一^[7],具有抗炎、抗免疫作用。为了探讨雷公藤制剂有效的质量控制方法,本实验建立了雷公藤对萘 H 的高效液相色谱测定方法。通过对药材和片剂分析表明,可以把雷公藤中有效成分

雷公藤对萘 H 做为质量控制指标之一。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪, G1311A 系列四元梯度泵, G1322A 脱气机, 手动进样器, G1314A VWD 可变波长紫外检测器, HP Rev. A. 0501 化学工作站 (Agilent 公司)。

雷公藤对萘 H 对照品为本实验室自制, 经制备 HPLC 纯化, 面积归一法测得质量分数为 99.16%。试剂均为分析纯, 流动相中甲醇为色谱纯, 水为超纯水。片剂由不同厂家提供, 药材经天津大学药学院高文远教授鉴定, 见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Agilent Zorbax SC-C₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (75:25); 检

表 1 药材的来源

Table 1 Sources of some medicinal materials

药材	拉丁学名	产地或来源
雷公藤(湖南产)	<i>Tripterygium wilfordii</i>	湖南岳阳
雷公藤(江西产)	<i>T. wilfordii</i>	江西瑞昌
雷公藤(饮片)	<i>T. wilfordii</i>	天津中新药业公司
东北雷公藤(饮片)	<i>T. regelii</i>	黑龙江佳木斯
昆明山海棠	<i>T. hypoglaucum</i>	云南植物药业公司

测波长: 258 nm; 柱温: 25 °C; 体积流量: 1.0 mL/min。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取雷公藤对醌 H 对照品约 3 mg 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 雷公藤药材供试品溶液的制备: 取 10 g 药材, 精密称定, 置索氏提取器中, 加入甲醇 150 mL, 回流提取 4.5 h, 浓缩至干。3 倍量硅藻土拌样, 挥尽溶剂, 氯仿超声提取 3 次, 每次 50 mL, 每次 30 min。静置后, 滤取上清液, 浓缩至干。加 0.4 g 硅胶拌样, 干法上样, 5.0 g 硅胶装柱(10 cm × 1.5 cm), 先以 50 mL 正己烷洗脱, 弃去, 再以 150 mL 正己烷-醋酸乙酯(9:1)洗脱, 回收溶剂, 浓缩至干。残渣用甲醇溶解, 移入 10 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀即得。

2.3.2 雷公藤片供试品溶液的制备: 取制剂 10 片, 压碎, 以氯仿超声提取 3 次, 每次 50 mL, 每次 30 min, 静置, 滤取上清液, 浓缩至干。加 0.4 g 硅胶拌样, 干法上样, 5.0 g 硅胶装柱(10 cm × 1.5 cm), 先以 50 mL 正己烷洗脱, 弃去, 再以 150 mL 正己烷-醋酸乙酯(9:1)洗脱, 回收溶剂, 浓缩至干。残渣用甲醇溶解, 移入 5 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀即得。

2.4 线性关系考察: 精密吸取 0.5、1、2、4、6、8 mL 雷公藤对醌 H 对照品溶液于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别吸取 20 μL 进样测定。以峰面积(Y)为纵坐标, 质量浓度(X)为横坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 4.0585 \times 10^4 X + 35.8$, $r = 0.9997$, 线性范围为 6.28~100.5 μg/mL。

2.5 精密度试验: 取 50.24 μg/mL 雷公藤对醌 H 对照品溶液连续重复进样 6 次, 测定雷公藤对醌 H 的峰面积, 计算得其 RSD 为 1.39%。

2.6 重现性试验: 取湖南产雷公藤药材样品 6 份, 制备药材供试品溶液, 测定, 计算得雷公藤对醌 H 的平均质量分数为 17.5 μg/g, RSD 为 1.24%。取云南植物药业公司提供的昆明山海棠片样品 6 份, 制备片剂供试品溶液, 测定, 计算得雷公藤对醌 H 的平均质量分数为 16.18 μg/片, RSD 为 1.23%。

2.7 稳定性试验: 取湖南产雷公藤药材供试品溶液分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 计算得雷公藤对醌 H 的平均质量分数为 17.6 μg/g, RSD 为 1.31%。结果表明样品溶液在 24 h 内稳定。取云南植物药业公司提供的昆明山海棠片供试品溶液分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 计算得雷公藤对醌 H 的平均质量分数为 15.98 μg/片, RSD 为 1.28%。结果表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 回收率试验: 取湖南产雷公藤药材约 8.6 g(含雷公藤对醌 H 约 150 μg), 分别按 50%、100%、150% 3 个不同水平精密加入不同量的雷公藤对醌 H 对照品, 按 2.3.1 项下操作, 进样测定雷公藤对醌 H 的峰面积, 计算得平均回收率为 96.94%, RSD 为 1.57% (n=9)。

取云南植物药业公司提供的昆明山海棠片约 3.2 g(含雷公藤对醌 H 约 160 μg), 分别按 50%、100%、150% 3 个不同水平精密加入不同量的雷公藤对醌 H 对照品, 按 2.3.2 项下操作, 同法测定雷公藤对醌 H 的峰面积, 计算得平均回收率为 100.02%, RSD 为 1.74% (n=9)。

2.9 样品测定: 将雷公藤属药材和片剂供试品溶液分别进样, 进样量 20 μL, 外标法进行测定, 结果见表 2、3, 色谱图见图 1。

表 2 不同产地药材中的雷公藤对醌 H (n=3)

Table 2 Triptotoquinone H in medicinal materials from different habitats (n=3)

药材名称	雷公藤对醌 H/(μg · g ⁻¹)	RSD/%
雷公藤(湖南产)	17.4	0.99
雷公藤(江西产)	15.6	2.31
雷公藤(饮片)	45.4	2.25
东北雷公藤(饮片)	16.6	1.61
昆明山海棠	22.5	1.68

表 3 不同片剂中的雷公藤对醌 H (n=3)

Table 3 Triptotoquinone H in tablet from different companies (n=3)

片剂	厂家	批号	雷公藤对醌 H/(μg · 片 ⁻¹)	RSD/%
雷公藤多苷片	上海复旦复华制药厂	021001	0.71	0.86
雷公藤多苷片	湖南株洲市制药三厂	20030101	0.64	0.59
雷公藤片	三九黄石制药厂	020201	28.68	1.59
昆明山海棠片	广东和平药业有限公司	040101	61.28	1.14
昆明山海棠片	云南植物药业公司	20040204	16.26	1.23

3 讨论

3.1 在前处理过程中曾采用氯仿-甲醇(99:1)为流动相过硅胶柱, 但色谱图显示杂质较多, 无法基线分离, 而采用正己烷-醋酸乙酯(9:1)为流动相过硅胶柱, 杂质较少, 能基线分离, 效果满意。

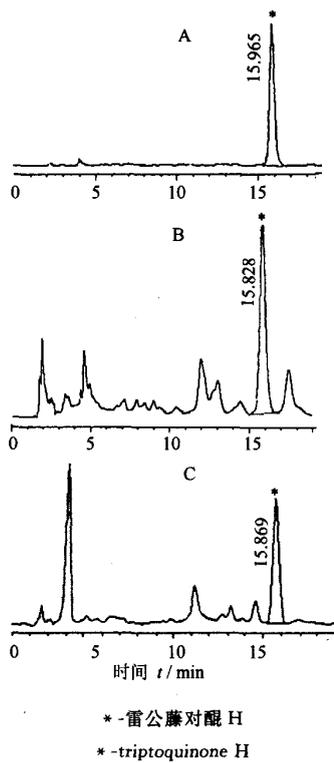


图1 雷公藤对醌H对照品(A)、湖南产雷公藤药材(B)和云南植物药业公司产昆明山海棠片(C)的HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of triptolide H (A), *T. wilfordii* from Hunan Province (B), and *T. hypoglaucaum* Tablet from Yunnan Phytopharmaceutical Co., Ltd. (C)

3.2 通过雷公藤类药材及其制剂中雷公藤对醌H的分析表明,药材中雷公藤对醌H的质量分数为1.66~22.5 μg/g,根据文献报道雷公藤中有效成分雷公藤内酯醇(triptolide)的质量分数为0.188~

20.2 μg/g^[8~10],故雷公藤中雷公藤对醌H不低于雷公藤内酯醇,说明雷公藤中的另一药效成分雷公藤对醌H的质量控制同样重要。另一方面,雷公藤对醌H在制剂中差异很大,说明进一步提高雷公藤类制剂质量的重要性。也为雷公藤制剂科学化管理的质量控制标准提供依据。

References:

- [1] Li H, Jia Y F, Li D. Effects of polyglycoside of *Tripterygium wilfordii* Hook on inflammation and immune suppression [J]. *J Shanghai Med Univ* (上海医科大学学报), 2000, 27 (6): 502-505.
- [2] Yang J W, Dai C S, Chen Z H, et al. Effects of triptolide on T bacteria and relationship between triptolide and Camp/PKA [J]. *Chin J Nephrol Dialysis Transplant* (肾脏病透析与肾移植杂志), 1998, 7 (2): 106-113.
- [3] Takeshi H, Etsulo A, Tomoo Y, et al. Nitric oxide production by superficial and deep articular chondrocytes [J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40: 261-269.
- [4] Gao X P, Li B Y, Zhou J, et al. Antitumor activities and induction of apoptosis by triptolide [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2000, 12 (1): 18-21.
- [5] Zhu T Z. Discussion of dead reason of 90 patients from *Tripterygium wilfordii* Hook. f. [J]. *Beijing J Tradit Chin Med* (北京中医), 1995 (2): 35-37.
- [6] Wang M, Chen H Y, Hu X X, et al. Analysis of the dead reason of 83 patients from *Tripterygium wilfordii* Hook. f. [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 1999, 10 (2): 128-129.
- [7] Fujita R, Duan H, Takaishi Y. Terpenoids from *Tripterygium hypoglaucum* [J]. *Phytochemistry*, 2000, 53: 715-722.
- [8] Chen J Y, Xia Z L, Xu R Q. Compared with the contents of effective component in different time in *Tripterygium wilfordii* Hook. f. [J]. *Fujian J Pharm* (福建药学杂志), 1990, 6 (1): 32-33.
- [9] Chi Y M, Wen H M, Xu J G, et al. Determination of content of triptolide in *Tripterygium wilfordii* herbal places with HPLC method [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2001, 17 (1): 32-33.
- [10] Lin S, Deng S S, Zhu R, et al. Determination of content of triptolide in different area of *Tripterygium wilfordii* herbal with HPLC method [J]. *J Chin Clin Med* (中华临床医药), 2001, 2 (10): 51-52.

隐丹参酮固体分散体的制备及性质研究

罗 昕, 徐月红*, 陈 宝, 古练权, 黄 氏, 刘培庆

(中山大学药学院, 广东 广州 510080)

摘要:目的 制备隐丹参酮固体分散体,提高隐丹参酮的溶出度。方法 采用溶剂蒸发法制备隐丹参酮-PVP 固体分散体,熔融法制备隐丹参酮-PEG 固体分散体,利用体外溶出度、差热分析、显微观察研究固体分散体的性质及其对溶出度的影响。结果 PVP 及 PEG 固体分散体在 45 min 的溶出度分别达到原料药的 9.7 倍和 7.5 倍,固体分散体的 DTA 曲线中隐丹参酮的特征熔融峰消失。结论 两种固体分散体均能显著提高隐丹参酮的溶出度,而 PVP 固体分散体比 PEG 固体分散体具有更高的溶出度。

收稿日期:2004-09-01

作者简介:罗 昕(1978—),男,广西梧州人,助教,硕士,主要从事药物新剂型与新技术研究。

Tel: (020) 87331215 E-mail: luoxin703@163.com

* 通讯作者 徐月红 Tel: (020) 87331160 E-mail: yuehongxu2003@sohu.com