

0.209 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 达峰时间 t_{max} 25 min。

4 讨论

样品的处理方法有很多,如液-液萃取、固相萃取、沉淀蛋白直接进样等^[4]。本实验选择液-液萃取方法,采用毒性较小的乙酸乙酯为提取溶剂在碱性条件下提取,效果良好。取吗啡的流动相溶液进行紫外扫描,发现吗啡在 215 nm 波长处有最大吸收,故选择 215 nm 作为检测波长,内标对乙酰氨基酚在该波长条件下出峰时间稳定,峰形较好,缺点是血浆中杂质对样品分析的干扰较大。实验中发现流动相 pH 的变化对吗啡保留时间影响很大,调整流动相 pH 精确到 6.89 时,吗啡出峰位置正好能够避开内源性杂质的干扰,达到基线分离,满足测定要求。本方法在众多吗啡血浆分析

方法的基础上进行改进,简单经济,灵敏度好,可以用于犬血浆中吗啡的分析检测。

[DOI] 10.3870/yydb.2009.09.001

[参考文献]

- [1] 张文珠,张虹,刘霞,等. 人血浆中吗啡含量的高效液相色谱法测定[J]. 分析测试学报,2003,22(2):78-80.
- [2] 张惠民,冯长军,朱凤坤,等. 高效液相色谱法测定血中海洛因的代谢物[J]. 分析仪器,2000,3(1):28-30.
- [3] 曹丰,王瑛,王淑珍,等. 剖宫产手术后硬膜外注射吗啡的监测[J]. 首都医科大学学报,2000,21(1):81-82.
- [4] 陈利琴,康学军,李琦,等. 反相高效液相色谱(RP-HPLC)法测定人全血中吗啡血药浓度[J]. 药物分析杂志,2006,26(10):1426-1429.

豚鼠灌胃后胃内容物中雷公藤的检测*

陈宗良,裘颖儿,吴立成,王宜祥,李冰岚

(浙江省金华市食品药品检验所,321000)

[摘要] 目的 探讨雷公藤 30% 乙醇提取物经灌胃一定时间后胃内容物中雷公藤的分析检测方法。方法 豚鼠灌胃不同浓度雷公藤提取物 30 mL · kg⁻¹ 后,取其胃内容物,进行适当的前处理,采用高效液相色谱(HPLC)法对其胃内容物进行检测。结果 HPLC 法能检测出灌胃后的雷公藤 30% 乙醇提取物的 5 个特征峰。提取物在豚鼠体内停留时间及胃内容物前处理方法对检测结果有影响。结论 建立了豚鼠灌胃后胃内容物中雷公藤的快速灵敏的分析检测方法。

[关键词] 雷公藤;内容物,胃;色谱法,高效液相

[中图分类号] R282.71;R285.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2009)09-1109-02

Measuring Gastric Contents of *Tripterygium Wilfordii* by Intra-gastric Administration in Guinea Pigs

CHEN Zong-liang, QIU Ying-er, WU Li-cheng, WANG Yi-xiang, LI Bing-lan (Jinhua Institute for Food and Drug Control, Jinhua, Zhejiang 321000, China)

ABSTRACT Objective To investigate the determination of 30% ethanol extract of *Tripterygium wilfordii* in gastric contents by intra-gastric administration. **Methods** Gastric contents of the guinea pigs was collected after a single oral administration of different concentrations of ethanol extract of *Tripterygium wilfordii*, then they were pre-processed and measured by HPLC.

Results 5 characteristic peaks of 30% ethanol extract of *Tripterygium wilfordii* were found. It was showed that the detection results were influenced by staying time in stomach and the sample pretreatment. **Conclusion** A simple and sensitive method is established for detecting gastric contents of *Tripterygium wilfordii*.

KEY WORDS *Tripterygium wilfordii*; Contents, gastric; HPLC

雷公藤为卫矛科(Celastraceae)植物雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook. f.)的根,资源分布较广。近年的研究发现雷公藤属非甾体免疫调节抗炎药,具有

抗炎、免疫调节、抗肿瘤和抗生育作用,能抑制抗体的产生,可应用于治疗类风湿性关节炎、迟发型变态反应、乙型肝炎、重症肌无力、溃疡性结肠炎、器官移植等^[1],其中以对体液的免疫抑制作用较为显著。在较大剂量、长期或不合理使用时,雷公藤可引起较广泛的毒副作用,并呈明显的剂量-效应关系,严重者可因蓄积中毒致死^[2,3]。随着应用范围的不断扩大,中毒事件时有发生,笔者在本实验中旨在建立雷公藤的高效液相色谱(HPLC)检测方法,快速确定胃内容物中是否含有雷公

[收稿日期] 2008-08-27 **[修回日期]** 2008-12-16

[基金项目] *浙江省金华市科学技术研究计划项目(基金编号:2007-03-068)

[作者简介] 陈宗良(1978-),男,浙江永康人,主管药师,从事中药检验与应用研究。电话:0579-82301314, E-mail: zongliangchen@163.com。

藤成分。

1 仪器、试剂与动物

1.1 仪器 Agilent 1200 Series 自动进样高效液相色谱仪,梅特勒 XS105DU 分析天平。

1.2 试剂 实验所用 3 批雷公藤经鉴定均为卫矛科植物雷公藤 (*Tripterygium wilfordii* Hook. f.) 的根(1 号样品采自浙江省绍兴市;2 号样品为安徽省亳州市永刚饮片厂生产,批号:20010425;3 号样品为桐君堂中药饮片厂生产,批号:20061222)。雷公藤对照提取物(自备,取雷公藤粗粉 40 g,加 30% 乙醇溶液 100 mL 回流提取 1 h,滤过,取滤液回收溶剂至干,60 °C 减压干燥 24 h,粉碎即得)。水为重蒸馏水,乙腈为色谱纯(默克公司),其余为分析纯。

1.3 动物 清洁级豚鼠,体质量(300 ± 50) g,合格证号:SCXK(浙)2005-0021,购于湖州城区西风洋特种经济动物养殖场。

2 方法与结果

2.1 雷公藤提取液的制备 取 3 批雷公藤粗粉各 40 g,加 30% 乙醇溶液 150 mL,浸泡过夜,水浴加热回流 1 h,取滤液,即得。

2.2 对照提取物溶液制备 取雷公藤对照提取物 0.1 g,加 30% 乙醇溶液 20 mL 溶解即得。

2.3 含药及空白胃内容物的采集 取健康豚鼠,随机分为给药组和空白组,禁食 24 h 后,给药组灌胃给予雷公藤 30% 乙醇提取液 30 mL · kg⁻¹,空白组灌胃相同体积的空白对照溶液,2 h 后处死取全部胃内容物备用。

2.4 胃内容物的前处理 取上述给药组和空白组胃内容物加 25 mL 无水乙醇,静置 24 h,4 000 r · min⁻¹ 离心($r = 14$ cm),取上清液,经孔径 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液即得。

2.5 胃内容物样品的检测 取经前处理的胃内容物溶液,采用高效液相色谱法进行检识。

2.5.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流速 1.0 mL · min⁻¹;检测波长为 210 nm;进样量 10 μL;柱温为 35 °C;乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0 min:10% A;5 min:10% A;10 min:12% A;40 min:25% A;60 min:50% A)。

2.5.2 样品的检测结果 通过与雷公藤对照提取物对照的方法对胃内容物溶液进行比较,含药胃内容物溶液的图谱中检测出与雷公藤对照提取物溶液图谱相

同的 5 个特征峰(图 1),而空白组胃内容物溶液未检测出,说明此方法能用于胃内容物中雷公藤的检测。

2.6 胃内容物中采集时间的考察 豚鼠灌胃后分别在 30,60,120 min 及 24 h 取胃内容物,加无水乙醇 25 mL,静置 24 h,4 000 r · min⁻¹ 离心($r = 14$ cm),取上清液,经孔径 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液分别进行 HPLC 检测。结果 24 h 内取胃内容物均能检测出与雷公藤对照提取物相同的 5 个特征峰。

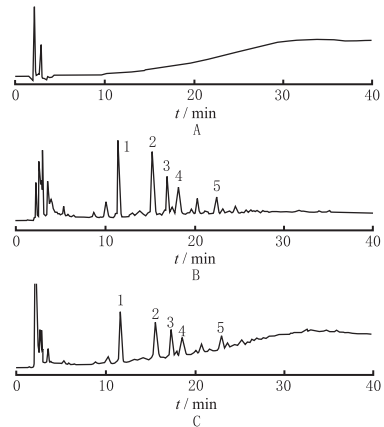


图 1 3 种样品的 HPLC 图谱

A. 空白胃内容物;B. 雷公藤对照提取物;C. 胃内容物溶液
1~5:雷公藤提取物特征峰

3 讨论

雷公藤中毒事件多发于人们取其泡酒饮用而致^[4],故实验中选用 30% 乙醇作为提取溶剂;雷公藤提取液 5 个特征峰响应值随在胃内滞留时间的增加而减小。而在中毒事件发生后需要一种准确可靠的方法用于检测,确定是否雷公藤中毒,为进一步治疗或为公安部门检测提供依据。

笔者在本研究中建立了准确可靠的豚鼠胃内容物前处理方法及其中雷公藤残留的检测方法。

[DOI] 10.3870/yydb.2009.09.002

[参考文献]

[1] 王 珏,周志愉,易剑峰,等.雷公藤免疫调节作用研究进展[J].中国中医基础医学杂志,2006,12(3):230-232.
[2] 童 静,马 瑶,吴建元,等.雷公藤长期毒性作用及其时间节律性研究[J].中药材,2004,27(12):933-935.
[3] 马伟光,张 滔,张 超,等.有毒药物雷公藤的研究及展望[J].中华中医药杂志,2006,21(2):117-120.
[4] 王建雄,赖燕蔚.同时同量服用雷公藤中毒 2 例分析[J].辽宁中医杂志,2007,34(1):99-100.