

伤后 5 d 再进行手术,因为伤后 3~5 d 正处于过度炎症期。期间手术有增加并发症的可能。本组病例能有效地减少伤口并发症,一个重要的原因是手术时机。所有患者均等待肿胀减退后才进行手术,这样才利于对软组织损伤有一个充分认识,制定正确的治疗方案。

3.3 解剖复位与内固定 高能量胫骨平台骨折,既有关节面塌陷,又多呈粉碎性骨折,尤其是矢状面的劈裂。塌陷关节面的解剖复位和有效固定是获得良好疗效的决定因素之一^[4]。对于粉碎性骨折解剖复位非常重要,但术中复位有时也十分困难。对于劈裂性骨折,骨折后的剪切移位倾向很大,因此内固定应提供较强的把持力。在准确复位的同时,予以坚强的内固定有助于软骨以透明软骨形式愈合^[5]。“T”型、“L”型支持钢板塑形后及内、外侧解剖钢板均可达到较坚强的内固定。对于 V 型骨折,用单块接骨板只提供胫骨平台一侧的稳定,容易形成偏心支撑,存在成角畸形的倾向^[6]。本组 1 例出现关节不稳,术中仅用单块外侧钢板固定。故对于 V 型骨折,采用双侧钢板固定,可提高胫骨平台骨折固定的稳定性^[7]。内固定以稳定有效、支撑关节面平整为原则,不要一味追求坚强固定而广泛剥离骨膜,损伤周围软组织,同时造成骨折区变形。在骨折复位后,骨缺损较多,应给予植骨。采用自体髂骨植骨为首选,也可以采用人工骨植入,植骨要足量压实,但在冠状面骨折的病例,应适量植骨,以免骨折间分离^[5]。

3.4 早期功能锻炼 早期功能锻炼是胫骨平台骨折复位满意的要素之一。早期进行膝关节功能锻炼,特别是借助关节功能练习器(CPM)进行连续被动活动,可以维持和增加关节活动度,减轻肿胀,防止粘连、挛缩和僵硬^[8]。对于关节粉碎性骨折,能利用活动时互相适应力量对骨折块进行二次复位,同时可以改善软骨细胞的新陈代谢,刺激关节软骨细胞增生,也可使软骨下骨组织中血液来分化细胞发生软骨样变修复关

节软骨,避免或减轻创伤性关节炎的发生^[9]。术后第 1 天鼓励患者行股四头肌等长收缩及踝关节活动。固定牢靠者,术后第 3 天,用 CPM 行膝关节功能锻炼。骨折粉碎严重且固定性欠佳者,先行石膏制动 2 周,后在胫骨下段应用骨牵引被动活动膝关节,恢复关节软组织的张力,避免了关节间隙变窄,有利于关节活动范围功能的恢复,术后 3 周开始用 CPM 行膝关节功能锻炼。根据复查 X 线片情况,6~8 周后逐渐部分负重,骨折临床愈合后弃拐负重。

参 考 文 献

- [1] Insall JN, Ranawat CS, Aglietti P, et al. A comparison of four models of total knee-replacement prosthesis. J Bone Joint Surg (Am) 1976, 58:734-765.
- [2] 吴在德. 外科学. 第五版. 人民卫生出版社, 2001:886.
- [3] 赵善明, 张健荣, 李锦荣, 等. 58 例胫骨平台骨折的手术治疗. 中华创伤杂志, 2003, 19(10):621-622.
- [4] Mitchell. Healing of articular cartilage in intraarticular fracture in rabbits. J Bone Joint surg (Am), 1980, 62:628-634.
- [5] 张贵林, 荣国威, 吴新宝, 等. 胫骨平台骨折手术复位效果不佳的原因分析. 中华骨科杂志, 2000, 20:219-221.
- [6] Watson JT, schazker J, Tibial plateau fractures In: Browner BD, Jupiter JB, Levine AM, Trafton PC, EDS, Skeletal trauma, Inded, W. B. Saunders; Harcourt Asia, 2001, 2143-2185.
- [7] 曾炳芳, 罗从风. 重视胫骨近端骨折的治疗. 中华创伤骨科杂志, 2004, 3:241-243.
- [8] 欧阳振华, 刘先礼, 黄斌. 84 例股骨髁骨折手术治疗的临床追踪研究. 中华创伤骨科杂志, 2004, 6:690-692.
- [9] 杨贵勇, 卢世璧. CPM 在骨科康复中的应用. 胥少汀, 葛宝丰, 徐印坎. 实用骨科学. 人民军医出版社, 1999:1942-1945.

HPLC 法测定华法林片的含量

黄碧莹 姚秋燕 李敏薇 任斌 林婉贞

【摘要】 目的 建立 HPLC 法测华法林片的含量。**方法** 采用 Diamonsil C18(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 为分离柱;流动相:乙腈-水-冰醋酸(70:30:1);流速:1 ml/min;检测波长 308 nm,以峰面积计算。结果 线性范围:0.8~5.6 μg/ml, $r=0.9996$ 。平均回收率为 100.64%, RSD=1.11%, $n=15$ 。结论 本法简便,快捷,结果准确,重现性好,可作为华法林片质量控制的有效方法。

【关键词】 High performance liquid chromatography;华法林;含量测定

Determination of warfarin in tablets by HPLC HUANG Bi-ying, YAO Qiu-yan, LI Min-wei, et al. Dept of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangdong, Guangzhou 510080, China

【Abstract】 Objective To establish a HPLC method to measure the content of warfarin tablets. **Methods** A Diamonsil C18 column(4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was a mixture of 70% acetonitrile, 30% water and 1% glacial acetic acid, and the flow rate was 1.0 ml/min. The detection wavelength was at 308 nm. **Results** The linear calibration curves were obtained over the range 0.8 μg/ml to 5.6 μg/ml of warfarin, $r=0.9996$. The recovery of the assay was 100.64% ($n=15$). The coefficients of variation was 1.11%. **Conclusion** The method appeared to be simple, convenient and precise, and can be used for control of warfarin in tablets.

【Key words】 HPLC; Warfarin; Determination

华法林(warfarin)为香豆素类口服抗凝药,化学结构与维生素 K 相似,可竞争性拮抗维生素 K 的作用。临床上用于防治血栓栓塞性疾病及作为心肌梗死的辅助用药^[1]。本文参

考文献^[2]建立了 HPLC 法测定华法林的含量,试验结果表明,该法简便,快捷,准确,重现性好。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 美国 Waters 公司高效液相色谱仪(515 型泵,996 型光电二极管阵列检测器,Millennium32 色谱工作站);AG245

电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司);SHZ-C 水浴恒温振荡器;高速离心机(美国雅培公司 TDx 仪附件)。

1.2 试药 华法林国产市售片(上海信宜九福药业有限公司,2.5 mg/片,批号分别为 A:050401,B:050301);华法林进口片(芬兰奥立安药厂,3 mg/片,C:批号为 1084667);华法林对照品(SIGMA 公司,纯度 98%);所用试剂乙腈为色谱纯,其余均为分析纯,水为二次重蒸馏水。

2 色谱条件与系统适用性

色谱柱:Diamonsil C18(4.6 mm × 250 mm,5 μm);流动相:乙腈-水-冰醋酸(70:30:1);流速:1.0 ml/min;柱温:室温;检测波长 308 nm;进样量 20 μl。在上述色谱条件下,以华法林计算,理论塔板数为 4780,分离度 > 3,主峰保留时间为 5.8 min。

3 溶液配制

3.1 对照品储备液 精密称取华法林对照品约 250 mg 置于 25 ml 容量瓶中,加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液使溶解并稀释至刻度,摇匀,配成 10 mg/ml 的华法林对照品储备液。

3.2 供试品溶液 分别取样品 20 片,精密称定,研细,混匀。精密称取适量(约相当于华法林 2.5 mg),置于 50 ml 容量瓶中,加入 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 25 ml,水浴(28℃)振荡 30 min 使溶解,定容,离心(10 800 r/min)5 min,上清液用微孔滤膜滤过,精密量取续滤液 1 ml 于 25 ml 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,配成供试品溶液。

3.3 阴性对照品溶液 按华法林片的处方自制空白样品,精密称取适量,按“3.2”项下供试品溶液配制方法配成阴性对照品溶液。

4 方法和结果

4.1 色谱行为 在上述色谱条件下,色谱图见图 1。

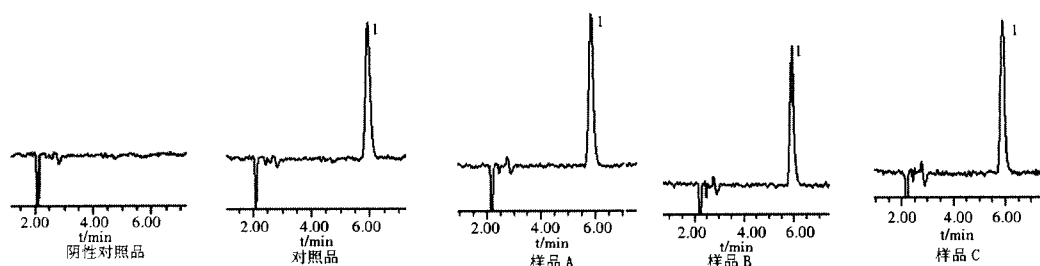


图 1 对照品及样品色谱图

4.2 标准曲线制备 精密吸取 10 mg/ml 的华法林对照品储备溶液 1 ml 置 50 ml 容量瓶,加水稀释至刻度,充分摇匀,得 200 μg/ml 的溶液,取上述溶液 2 ml 置 50 ml 容量瓶,加水稀释至刻度,充分摇匀,得 8 μg/ml 的溶液,再分别取此溶液 1、2、3、4、5、6、7 ml 置 10 ml 容量瓶,加水稀释至刻度,充分摇匀,得 0.8、1.6、2.4、3.2、4.0、4.8、5.6 μg/ml 的标准溶液。按色谱条件进行测定。以华法林标准溶液的浓度(C)对其峰面积 A 进行线性回归,得回归方程为: $A = 37\,319.69C + 228.58$ ($r = 0.9996$)。结果表明,华法林在 0.8 ~ 5.6 μg/ml 浓度范围内,华法林的峰面积与其浓度呈良好的线性关系。

4.3 回收率及精密度试验 精密称取已知含量的华法林供试品粉末适量(约相当于华法林 2.5 mg),置于 50 ml 容量瓶中,分别精密加入华法林对照品储备溶液 225、2.50、275 μl(相当于华法林 2.22、2.46、2.71 mg,即对照品含量的 90%、100%、110%),按供试品溶液制备方法进行操作,按上述色谱条件测定并以实测值除以华法林对照品加入量,计算加样回收率。结果见表 1。平均加样回收率为 100.64% ($n = 15$),RSD 为 1.11%。

表 1 回收率和精密度结果($n = 5$)

样品含量(mg)	加入量(mg)	实测值(mg)	回收率(%)	RSD(%)
2.37 ± 0.05	2.22	2.28 ± 0.12	101.23 ± 1.58	1.6
2.34 ± 0.02	2.46	2.57 ± 0.07	102.27 ± 1.10	1.1
2.45 ± 0.10	2.71	2.63 ± 0.08	98.44 ± 0.68	0.7

4.4 重复性试验 取同一批号样品 5 份,按供试品溶液制备方法制备,精密吸取 20 μl,每份进样 1 次,对主要色谱峰的峰面积进行考察,峰面积的 RSD 为 0.53% ($n = 5$)。

4.5 稳定性试验 精密吸取新配制的供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8 h 各进样 20 μl,记录色谱图,测定华法林峰面积值,RSD 为 0.93%,可见供试品溶液在 8 h 内稳定,峰面积无明显变化。

4.6 阴性试验 精密吸取“3.3”项下配好的阴性对照品溶液 20 μl,按色谱条件进行测定。结果华法林对照品的出峰时间处不出现色谱峰,可见辅料对主药测定无干扰。

4.7 样品测定 精密称取适量样品,按“3.2”项下供试品溶液配制方法配成样品溶液,按色谱条件进行测定,样品的含量测定结果见表 2。A、B、C 三个样品的含量分别为 95.18%、95.17% 和 97.24%。

表 2 样品含量测定结果($n = 3$)

样品	实测量(mg)	标示量(mg)	标示量(%)	RSD(%)
A	2.38 ± 0.004	2.5	95.18 ± 0.07	0.1
B	2.38 ± 0.006	2.5	95.17 ± 0.22	0.2
C	2.92 ± 0.004	3.0	97.24 ± 0.15	0.2

5 讨论

因受辅料影响,对样品进行前处理时,样品在水中溶解不完全,故加入适量 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液使溶解完全。在本法流动相:乙腈-水-冰醋酸(70:30:1)下进行测定,华法林的分离效果好,标准品以及 A、B、C 三个样品都得到很好的分离,无杂峰干扰。由图 1 可见,阴性对照试验下华法林对照品的出峰时间处不出现色谱峰,可见辅料对主药测定无干扰。用该 HPLC 法测定 A、B、C 三个样品,其含量分别为 95.18%、95.17% 和 97.24%,均在含量限度(93% ~ 107%)内,其含量合格。

中国药典 2005 版采用紫外分光光度法测定华法林片的含量,方法繁琐,操作复杂,而本法简便,快捷,结果准确,重现性好,可作为华法林片质量控制的有效方法。

参 考 文 献

- [1] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学.人民卫生出版社,2003:527-528.
- [2] USP. Sterile water for injection. U. S. Pharmacopeia convention Inc., Rand Macnally, Taunton, Mass. PP, 1995, 23:1635-1636.