

# 高乌甲素凝胶的质量控制方法

王英姿<sup>1</sup>, 任天池<sup>1</sup>, 肖永庆<sup>2</sup>, 惠建国<sup>3</sup>

(1 北京中医药大学药学院, 北京 100102; 2 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700;

3 山东中医药大学中药学院, 山东济南 250014)

**摘要:**目的: 研究高乌甲素凝胶剂质量控制方法, 为制定高乌甲素凝胶剂质量标准打下基础。方法: 采用薄层色谱法、紫外分光光度法对凝胶剂中高乌甲素进行定性鉴别, 采用 HPLC 法测定高乌甲素的含量。结果: 薄层定性条件合适, 斑点清晰, 紫外特征吸收峰稳定, 重现性好, 含量测定条件稳定, 灵敏度高, 测定结果准确, 精密度好。结论: 本研究可作为制定高乌甲素凝胶剂质量标准的依据。

**关键词:** 高乌甲素; 凝胶剂; 质量控制

**中图分类号:** R284.1   **文献标识码:** B   **文章编号:** 1005-9903(2005)02-0008-02

高乌甲素(又称刺乌头碱, 拉巴乌头碱, Lappaconitine)系由毛茛科乌头属植物高乌头(*Aconitum sinomontanum* Nakai)<sup>[1]</sup>根中提取的生物碱, 用于治疗中度以上疼痛<sup>[2]</sup>。高乌甲素凝胶是以卡波姆和羟丙基甲基纤维素为基质、高乌甲素为主药组成的制剂, 它具有绕过肝脏的首过效应及避免胃肠道的破坏, 提供可预定的和较长的作用时间, 降低药物毒性及不良反应, 给药方便等优点。我们采用薄层色谱法、紫外分光光度法对方中高乌甲素进行定性分析, 采用 HPLC 法测定高乌甲素的含量, 进行了该制剂质量控制方法的研究。

## 1 仪器与药品

**1.1 仪器** U-3010spectrophotometer UV-VIS 分光计(HITACHI); HP1090 高效液相色谱仪(美国惠普公司); pH5-2C 型数字酸度计(上海雷磁仪器厂); NDJ-4 旋转黏度计(上海天平仪器厂); KQ-100E 医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 改良 Franz 扩散池(自制)。

**1.2 试剂** 高乌甲素对照品(HPLC 测定纯度为 98% 以上)及样品(中国中医研究院中药研究所提供); 卡波姆-934P(BF Good rich, 批号: CC86GBB675); 羟丙基甲基纤维素(山东聊城阿华制药有限公司, 批号: 20031016); 三乙醇胺(天津博迪化工有限公司); 磷酸二氢钠(天津博迪化工有限公司); EDTA-2Na(华美生物工程公司); 高乌甲素凝胶(自制); 高效液

相色谱所用甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 溶液的制备** 取本品 0.5g 置 50mL 量瓶中, 加甲醇 40mL, 超声处理 30min, 放冷至室温, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。取高乌甲素适量, 加甲醇溶解并稀释制成每 1mL 中约含 1mg 的溶液作为阳性对照品溶液。取不含高乌甲素的空白凝胶 0.5g, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照品溶液。

### 2.2 鉴别

**2.2.1 薄层色谱法** 取 2.1 项下 3 种溶液各 10 $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-乙酸乙酯-氨水(2:18:0.02)为展开剂, 展开, 取出后晾干, 喷以稀碘化铋钾试液显色。结果供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相应的位置上, 显相同橙红色斑点, 而阴性对照品溶液无此斑点。

**2.2.2 紫外分光光度法** 取本品 1g(约相当于高乌甲素 15mg)于 100mL 量瓶, 加甲醇适量, 超声 30min, 放冷至室温, 滤过, 取续滤液用甲醇稀释成约每 1mL 含高乌甲素 20 $\mu$ g 的溶液, 照分光光度法<sup>[3]</sup>测定, 在 252nm 波长处有最大吸收。

### 2.3 检查

**2.3.1 pH 值** 称取凝胶剂 0.5g, 用 25mL 蒸馏水稀释后测 pH 值范围在 7.0~7.5。

**2.3.2 粘度** (21 $\pm$ 2) Pa $\cdot$ s(2 号转子, 25 $^{\circ}$ C)。

**2.3.3 其他** 应符合凝胶剂项下的有关各项规定<sup>[3]</sup>。

### 2.4 含量测定

**2.4.1 色谱条件** C<sub>18</sub> 色谱柱 (250mm × 4.6mm, 5μm); 流动相: 甲醇: 0.01mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钠 (80:20); 检测波长: 252nm; 流速: 1mL·min<sup>-1</sup>; 进样量: 20μL; 灵敏度: 0.02Aufs。

**2.4.2 标准曲线制备** 精密称取 105℃干燥至恒重的高乌甲素对照品适量, 用甲醇制成浓度为 10、20、40、80、120、160、200μg·mL<sup>-1</sup> 的系列溶液。以峰面积 A 为纵坐标, 高乌甲素浓度 C (μg·mL<sup>-1</sup>) 为横坐标绘制标准曲线, 并进行线性回归。高乌甲素浓度在 10~200μg·mL<sup>-1</sup> 范围内呈良好线性关系, 回归方程为: A = 16499C + 436, r = 0.9998。

**2.4.3 回收率试验** 按处方比例配成空白基质, 精密加入不同量的高乌甲素, 混合均匀, 配制成凝胶样品。称取不同凝胶各 0.5g 置于 100mL 量瓶中, 用适量甲醇振摇, 超声 30min, 放冷至室温, 滤过。取续滤液 5.0mL, 置于 50mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 微孔滤膜滤过, 取滤液 20μL 进样, 记录峰面积, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 高乌甲素回收率测定结果

编号	投入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	7.576	7.566	99.87		
2	8.004	7.919	98.94		
3	6.926	6.956	100.43	100.3 ± 1.56	1.55
4	7.746	7.971	102.90		
5	8.238	8.184	99.35		

**2.4.4 精密度试验** 取回收率试验项下的溶液, 1d 内每隔 2h 测 1 次含量, 计算日内回收率为 101.6%, RSD 为 1.08%; 3d 内每天测 1 次, 计算日间回收率为 102.1%, RSD 为 1.71%。

**2.4.5 稳定性试验** 取回收率试验项下的溶液分别在室温放置 0、2、4、6、8h 后进行测定, 主峰面积的 RSD 为 1.67% (n = 5); 另取同一批高乌甲素凝胶于不同时间按样品测定方法处理, 分别在不同的液相色谱仪器 (HP1100, LC-9A)、不同的色谱柱 (大连依利特 HypersilC<sub>18</sub>, Zorbax SB C<sub>18</sub>) 上进行测定, 按外标法以峰面积计算高乌甲素含量, 结果基本一致, RSD 为 1.96% (n = 6)。

**2.4.6 样品测定** 取本品适量 (约相当于高乌甲素 15mg) 精密称定, 置 100mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声处理 30min, 放冷至室温, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过。精密吸取续滤液 5mL 于 50mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。精密称取高乌甲素 15mg, 置 100mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度,

摇匀。精密量取 5mL, 用流动相稀释至 50mL, 摇匀, 作为对照品溶液。分别取 10μL 进样分析, 按外标法以峰面积计算。结果见表 2, 图 1~3。图 1 为高乌甲素阳性对照液色谱图, 图 2 为 20040315 批凝胶的 HPLC 图, 图 3 为空白凝胶 (阴性对照液) 的 HPLC 图。

表 2 高乌甲素凝胶含量测定结果 (n = 3)

批号	高乌甲素含量 (mg/g)	RSD (%)	相当于标示量的百分数 (%)
20040315	15.52 ± 0.2049	1.32	99.54
20040316	14.84 ± 0.2315	1.56	99.27
20040317	15.34 ± 0.1918	1.25	101.52

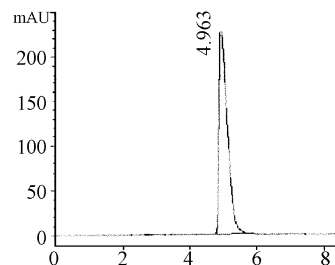


图 1 高乌甲素阳性对照液色谱图

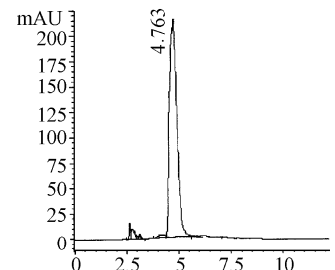


图 2 高乌甲素凝胶供试品液色谱图

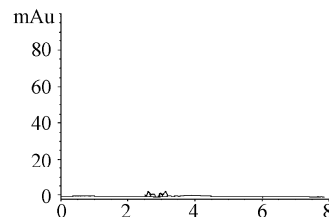


图 3 空白凝胶 HPLC 图

### 3 讨论

超声提取时间对高乌甲素回收率有一定影响, 随超声时间延长, 高乌甲素回收率升高, 但 30、40、50min 提取效果无明显变化, 且 50min 提取时, 有降解产物出现, 故确定提取时间为 30min。

#### 参考文献:

[1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴 (第一册) [M]. 北京: 科学出版社, 1992. 688.  
[2] 唐希灿, 朱梅英, 冯洁, 等. 刺乌头碱氢溴酸盐的药理作用研究[J]. 药学学报, 1983, 18(8): 579-58.  
[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 附录 VA, IU.