

References:

- [1] The Health Bureau of Xinjiang Uighur Autonomous Region. *Xinjiang Herbal Medicine* (新疆中草药) [M]. Urumchi: Xinjiang People's Publishing House, 1975.
- [2] Xinjiang Institute of Biology, Soil and Desert. *Xinjiang Medicinal Plants* (新疆药用植物志) [M]. Urumchi: Xinjiang People's Publishing House, 1977.
- [3] Xinjiang Flora Editing Committee. *Flora of Xinjiang* (新疆植物志) [M]. Vol. 5 Urumchi: Xinjiang Science and Technology Publishing House, 1999.
- [4] Qi K B, Chang H, Ru H. *Dictionary of Endangered and Threatened Animal and Plants in China* (中国珍稀濒危动植物辞典) [M]. Guangzhou: People's Publishing House, 2001.
- [5] Rukiye Sadik. *Materia Medica of Uighur Medicine* (维吾尔医常用药材学) [M]. Kashgar: Xinjiang Health and Science Publishing House, 1993.
- [6] *Drug Standards of Chinese Materia Medica* (卫生部药品标准中药材第一册) [S]. Vol 1. 1991.
- [7] Jia Z J, Li Y, Du M, et al. Studies on chemical constituents of *Saussurea involucreata* (1) [J]. *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 1983, 4(5): 581-583.
- [8] Li Y, Jia Z J, Zhu Z Q. Studies on chemical constituents of *Saussurea involucreata* (V) [J]. *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 1989, 10(9): 909-912.
- [9] Li J S, Zhu Z Y, Cai S Q. Research progress in chemical and pharmacology studies of *Saussurea involucreata* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1998, 33(8): 449-452.
- [10] Yu M Q, Chen J M. HPLC Determination of syringin and rutin in 11 different *Saussurea* species [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 2001, 19(3): 243-244.
- [11] Chen F K. *Active Constituents Determination of Common Chinese Traditional Herbal Drugs* (常用中草药有效成分含量测定) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997.

HPLC 法测定高乌头药材中高乌甲素

周军辉, 李 静, 王新莉, 王答祺, 李思峰

(陕西省西安植物园, 陕西省植物研究所, 陕西 西安 710061)

高乌甲素是从毛茛科植物高乌头 *Aconitum sinomontanum* Nakai 根中提取的一种二萜类单体生物碱拉巴乌头碱(lappacontine)。高乌头又名九连环、麻布七、统天袋, 分布于我国西部和中部, 民间用于治疗跌打损伤、风湿、急慢性细胞性痢疾、急慢性肠炎等; 具有镇痛作用^[1-3]、抗心律失常作用^[2]、抗炎作用^[3], 临床上适合癌痛和各种手术后疼痛等中度以上疼痛的治疗, 能够代替阿片类药物控制癌症病人的疼痛, 并可减少阿片类药物所带来的呼吸抑制和成瘾症。关于高乌头药材的质量控制报道极少, 未见应用 HPLC 法测定其中的高乌甲素的报道。通过实验研究, 建立了 HPLC 法测定高乌头药材中有效成分高乌甲素的方法, 结果令人满意, 可以较好地用于高乌头药材的质量控制, 为相关的复方制剂及生药的内在质量控制提供可靠依据。

1 仪器、药材与试剂

1.1 仪器: Waters 515 高效液相色谱仪(包括 Waters 515 泵, Waters 2487 检测器等), N2000 色谱工作站; 天津东康 DS6150 超声波清洗机(频率为 40 kHz, 功率为 150 W)。

1.2 药材与试剂: 高乌头药材由陕西大河药业有限

责任公司提供(为甘肃永登、皋兰等地产商品药材), 均由陕西省植物研究所王答祺副研究员鉴定为毛茛科植物高乌头 *Aconitum sinomontanum* Nakai 的根, 样本保存于陕西省植物研究所。所用高乌甲素对照品(自制)由陕西大河药业有限责任公司提供, 经红外光谱、紫外光谱、¹³C-NMR 和 ¹H-NMR 等方法确定结构, 熔点为 221~223 °C; TLC 检查为单一斑点; 面积归一化法计算质量分数在 99.0% 以上; 高乌头药材粉碎后过 40 目筛, 60 °C 干燥 3 h, 密封保存, 待用。甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为江苏汉邦 Lichrospher C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-0.05 mol/L NaH₂PO₄ 溶液(10:20:70), 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长 252 nm; 柱温 25 °C; 进样量: 10 μL; 理论塔板数按高乌甲素峰计算应不低于 2 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取高乌甲素对照品 16.2 mg 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取高乌头粉末 0.500 g, 与 0.1 g 生石灰混合均匀, 置具塞锥形瓶

收稿日期: 2006-12-14

作者简介: 周军辉(1978—), 男, 河南鄢陵人, 硕士, 助理研究员, 主要从事植物化学分离分析与新药开发。 Tel: (029) 85251515

E-mail: zhoujunhui@sohu.com

中,加入 90% 甲醇溶液 30 mL,超声 20 min 后取出,放冷至室温,滤过,滤液置 100 mL 量瓶中;重复上述操作 2 次,每次加入 90% 甲醇 20 mL,最后用适量 90% 甲醇洗涤高乌头残渣,分别滤过,合并滤液置上述 100 mL 量瓶中,加 90% 甲醇至刻度,摇匀,精密量取该溶液 50 mL,真空浓缩至适量,置 10 mL 量瓶中,加 90% 甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.4 线性关系考察:精密吸取高乌甲素对照品溶液 4、6、8、10、12、14 μ L 注入高效液相色谱仪,记录高乌甲素峰面积,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y=390\ 436\ X+333\ 834$, $r=0.999\ 2$ 。高乌甲素在 1.27~3.81 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验:取同一批供试品溶液,精密吸取 10 μ L,按 2.1 项下色谱条件重复进样 5 次,测定高乌甲素峰面积,结果其峰面积的 RSD 为 0.54%。

2.6 重现性试验:取同一批高乌头药材,按 2.3 项下供试品溶液制备方法制备 5 份供试品溶液,结果该批高乌头药材中含高乌甲素的量平均为 0.85%, RSD 为 0.62%。

2.7 稳定性试验:取同一批供试品溶液,精密吸取 10 μ L,每隔 2 h 测定一次高乌甲素峰面积,共 5 次,结果其峰面积的 RSD 为 1.12%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.8 回收率试验:分别精密称取 3 个批次已测定量的高乌头约 0.500 g,6 份,分别加入含高乌甲素 0.324 mg/mL 的对照品溶液 4、6、8 mL,按 2.3 项下供试品溶液制备方法制备供试品溶液,各进样 10 μ L,结果加样回收率为 98.2%,RSD 为 1.22% ($n=6$)。

2.9 样品测定:取高乌头粉末每批各 3 份,每份约 0.500 g,按供试品溶液制备方法制备供试品,在上述色谱条件下测定样品中高乌甲素,色谱图见图 1,结果见表 1。

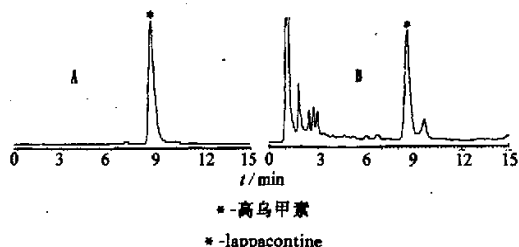


图 1 高乌甲素对照品(A)和高乌头药材(B)的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC Chromatograms of lappaconitine reference substances (A) and *Radix Aconiti Sinomontani* (B)

表 1 不同批次高乌头药材中高乌甲素的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of lappaconitine in different batches of *Radix Aconiti Sinomontani* ($n=3$)

批次	高乌甲素/%	批次	高乌甲素/%
050815	0.68	061011	0.62
050902	0.72	061210	0.75
060213	0.86	061213	0.80
060502	0.69	070301	0.79
060801	0.87	070302	0.89

3 讨论

3.1 对于由高乌甲素制成的盐在各种制剂中的量的测定方法已有报道。但由于高乌头药材中所含成分复杂多样,对于高乌头药材以及含高乌头药材的复方制剂中高乌甲素的测定,仅有薄层扫描法^[6]和毛细管区带电泳法^[7]的报道,且存在不同程度的局限性,有必要寻求新的测定方法以适应当前对于高乌头药材及含高乌头药材制剂中主要有效成分高乌甲素的质量控制。

3.2 通过多次实验研究,分别试用了 Waters、Phenomen、大连物化所和汉邦等所产 C_{18} 柱, Phenomen 及汉邦 C_8 柱;以及由甲醇、乙腈、醋酸、磷酸和 NaH_2PO_4 分别组成的不同流动相系统,最终确定了本实验的 HPLC 色谱条件。采用的样品处理方法易于操作;本实验证实,按供试品制备方法,超声 3 次对于高乌甲素可基本提取完全。随机测定了 10 批高乌头药材中高乌甲素的量,结果令人满意,本方法可对高乌头药材以及含高乌头药材的相关复方制剂中高乌甲素的测定提供依据。

References:

- [1] Chen S Y, Liu Y Q, Yang C R. Chemical constituents of *Aconitum sinomontanum* Nakai [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1980, 18(8): 579-584.
- [2] Tang X C, Zhu M Y, Feng J, et al. Studies on pharmacologic actions of lappaconitine hydrobromide [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1983, 18(8): 579-584.
- [3] Chen M G, Wang Q H, Lin W. Clinical study in epidural injection with lappaconitine compound for post operative analgesia [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1996, 16(9): 525-528.
- [4] Drug Specification Promulgated by the Ministry of Public Health, P. R. *China Preparation of Chinese Patent Medicine* (中华人民共和国卫生部药品标准) [S]. Part I. Vol V. 1995.
- [5] Lü Y. Determination of lappaconitine hydrobromide in lappaconitine hydrobromide by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2001, 21(5): 361.
- [6] Yu Y, Li S M, Xu H H. Determination of lappaconitine in combination Chinese traditional medicine drug Qiangtongning by UV [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1998, 20(7): 11-12.
- [7] Fan R F, Shi X Y, Gu J L, et al. Quality control of Chinese traditional medicine *Aconitum sinomontanum* Nakai by CE [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2000, 28(6): 720-722.