

复方延胡索乙素止痛凝胶制备及含量测定方法研究

王建芬, 姜玉梅*, 赵一纯, 沈苗, 王维

(湖南化工职业技术学院, 株洲 412000)

摘要: **目的** 确定复方延胡索乙素止痛凝胶的制备工艺及含量测定方法。**方法** 正交试验确定凝胶剂的处方配比, 采用反相高效液相色谱法。色谱柱为 Eclipse XDB-C18 (200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.6% 冰醋酸溶液 (三乙胺调 pH 至 6.0) 30 : 70, 检测波长 280 nm, 流速 1 mL/min。**结果** 1 g 卡波姆 940、20 g 丙二醇、8 g 甘油、0.5 g 三乙醇胺配比作为凝胶基质, 含量测定结果表明延胡索乙素和欧前胡素的线性范围分别为 16.1~96.6 μg/mL ($r=0.9999$)、10.4~62.4 μg/mL ($r=0.9999$); 平均加样回收率分别为 99.13% (RSD 为 0.79%)、99.26% (RSD 为 0.82%)。**结论** 该制剂制备方法简单, 含量测定方法准确、快速、简便, 为该制剂的生产与质量控制提供了科学的参考依据。**关键词:** 延胡索乙素; 欧前胡素; 凝胶剂; 高效液相色谱法

Study on preparation and determination of compound tetrahydropalmatine pain relief gel

WANG Jian-Fen, JIANG Yu-Mei*, ZHAO Yi-Chun, SHEN Miao, WANG Wei

(Hunan Chemical Vocational Technology College, Zhuzhou 412000, China)

ABSTRACT: Objective To study the preparation technology and determination of compound tetrahydropalmatine pain relief gel. **Methods** Orthogonal test was performed to determine the prescription ratio of the gel. RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Eclipse XDB-C18 (200 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-0.6% glacial acetic acid (pH 6.0) 30 : 70. The detection wavelength was 280 nm, the flow rate was 1 mL/min. **Results** With 1 g carbomer 940, 20 g propylene glycol, 8 g glycerol, 0.5 g triethanolamine as the gel matrix, the linear ranges of tetrahydropalmatine and imperatorin were 16.1~96.6 μg/mL ($r=0.9999$) and 10.4~62.4 μg/mL ($r=0.9999$), respectively. The average recoveries were 99.13% (RSD was 0.79%) and 99.26% (RSD was 0.82%), respectively. **Conclusion** The preparation method is simple, the determination method is accurate, rapid and simple, and provides a scientific reference for the production and quality control of calcium preparation.

KEY WORDS: tetrahydropalmatine; imperatorin; gels; high performance liquid chromatography

0 引言

中药凝胶剂能较长时间与病变部位紧密黏附, 生物相容性良好, 制备工艺简单、与软膏剂相比, 在临床上有良好的依从性^[1]。近年来聚乙烯醇、羟丙甲纤维素、Carbopol 等因其良好的制剂成型性和临床安全性已成为水溶性凝胶剂的主要药用辅料。本课题研究源于元胡止痛方制剂改良, 鉴于其止痛疗效佳,

且《中华人民共和国药典》(2020年版) 记载该组方以口服制剂^[2]为主, 制剂研究者在其固体制剂工艺改进方面做了大量研究^[3-4], 开发其外用制剂能进一步满足临床患者用药依从性。研究者秉承中药传承创新思路, 将方中延胡索乙素和欧前胡素按照一定配伍, 制备以卡波姆 940 为基质的外用凝胶剂。本研究采用高效液相色谱法同时测定该制剂中延胡索乙素、欧前胡素含量, 旨在确定复方延胡索乙素止痛凝胶的制备工艺及含量测定方法,

基金项目: 2022 年湖南省教育厅科学研究项目: 欧前胡素-延胡索乙素固体脂质纳米粒凝胶剂制备及镇痛研究 (湘教通 [2022] 323 号-22C0896)

Fund: Scientific Research Project of Education Department of Hunan Province in 2022: Preparation of Imperatorin Tetrahydropalmatine-Solid Lipid Nanoparticles Gel and Analgesia Research (XJT [2022] No. 323-22C0896)

* 通信作者: 姜玉梅, 副教授, 研究方向: 化学物质分析检测。E-mail: 1275431389@qq.com

* Corresponding author: JIANG Yu-Mei, Associate Professor, Hunan Chemical Vocational Technology College, Zhuzhou 412000, China. E-mail: 1275431389@qq.com

以期为元胡止痛方的外用制剂开发利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 仪器

PHS-3C 酸度计, 上海佑科仪器仪表有限公司; 2DF-10IS 集热式恒温磁力搅拌器, 长沙市裕丰化玻器械有限公司; NDJ-5S 黏度计, 青岛聚创环保集团有限公司; SHIMADAU 16A 高效液相色谱仪, 日本岛津

1.2 材料与试剂

欧前胡素批号 24011503, 纯度 99.5%; 延胡索乙素, 批号 23102303, 纯度 99.8%; 对照品均购于成都普菲德生物技术有限公司。复方延胡索乙素止痛凝胶, 实验室自制。甲醇, 色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 购自南京化学试剂股份有限公司。

表 1 凝胶剂评价指标
Table 1 Evaluation index of gel

评分	外观性状	黏度	涂展性	离心稳定性	热稳定性	低温稳定性
0-4	液化或干涸, 表面不均匀, 不细腻	<35 Pa·s 或 >90 Pa·s	不易涂展	分层	分层	分层
5-7	表面光滑性、均匀度、细腻度一般	80~90 Pa·s	可以涂展, 但细腻度差	药液析出	药液析出	药液析出
8-10	表面光滑、均匀、细腻	35~79 Pa·s	易于涂展	无分层	无分层	无分层

1.3.3 溶液的制备

对照品溶液制备: 分别取延胡索乙素和欧前胡素对照品适量, 精密称定, 用甲醇溶解, 稀释得浓度分别为 1.61、1.04 mg/mL 的混合对照品储备液。分别精密量取上述混合对照品储备液 100、200、300、400、500、600 μ L, 置于 10.0 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得系列混合对照品溶液。

供试品溶液制备: 取自制延胡索乙素止痛凝胶剂(批号 604) 约 4.0 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密量取甲醇 25.0 mL, 超声 15 min, 用甲醇补足减失重量, 过滤, 取续滤液即得。

阴性对照溶液制备: 按照“1.3.1 项”确定复方延胡索止痛凝胶处方制备缺延胡索乙素、欧前胡素空白凝胶, 按照“供试品溶液制备”步骤制备。

1.3.4 含量测定

色谱条件及系统适用性试验: 色谱柱, Eclipse XDB-C18 (200 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相, 甲醇-0.6% 冰醋酸溶液(三乙醇胺调 pH 为 6.0) 30:70; 检测波长 280 nm; 流速 1.0 mL/min; 进样体积 10 μ L, 理论板数按延胡索乙素峰计算应不低于 6000。

2 结果与分析

2.1 凝胶剂制备工艺考察结果

2.1.1 单因素试验

卡波姆 940 用量考察: 分别称取 0.5、0.75、1.0、1.25、1.5 g 卡波姆 940 溶胀后, 再将提前混合均匀的 10g 丙二醇、5 g 甘油、20 mL 乙醇、0.5 g 羟苯乙酯、0.5 g 三乙醇胺加到基质中, 按照 1.3.1 项方法平行制备 5 份, 依据“1.3.2”项进行评分。结果发现卡波姆 940 为 1.0 g 时, 凝胶剂综合评分最高。

丙二醇用量考察: 分别称取丙二醇 5.0、10.0、15.0、20.0、25.0 g, 加到含 1.0 g 卡波姆 940 的基质中, 分别平行加入提前混合均匀的 5 g 甘油、20 mL 乙醇、0.5 g 羟苯乙酯、0.5 g 三乙醇胺, 按“1.3.1”项下方法平行制备 5 份, 依据“1.3.2”项进

1.3 方法

1.3.1 制备凝胶剂

称取一定量卡波姆 940 置于适量水中, 溶胀后为 I 相, 分别将一定量丙二醇, 甘油, 羟苯乙酯混合后加到 I 相中, 搅拌均匀得到 II 相; 取处方量延胡索乙素 30 mg 和欧前胡素 20 mg, 精密称定后, 用 20 mL 乙醇溶解, 加入 II 相中, 搅拌均匀, 得 III 相; 滴加三乙醇胺使其 pH 值为 6~7, 加蒸馏水至 100 g, 充分搅匀, 超声脱气直至形成透明凝胶, 即得^[5]。

1.3.2 凝胶剂评价指标

根据 2020 年版《中华人民共和国药典》四部^[6]规定, 凝胶剂应均匀、细腻, 在常温时保持胶状, 不干涸或液化。因此, 本研究中凝胶剂的质量以外观性状、黏度、涂展性和稳定性为考察指标, 按照表 1 的评价指标^[7]进行评分, 评分越高表明质量越高。

行评分。结果发现丙二醇为 15.0 g 时, 凝胶剂综合评分最高。

甘油用量考察: 分别称取甘油 1.0、3.0、5.0、8.0、10.0 g, 加到含 1.0 g 卡波姆 940 的基质中, 分别平行加入提前混合均匀的 10 g 丙二醇、20 mL 乙醇、0.5 g 羟苯乙酯、0.5 g 三乙醇胺, 按“1.3.1”项下方法平行制备 5 份, 依据“1.3.2”项进行评分。结果发现甘油为 5.0 g 时, 凝胶剂综合评分最高。

三乙醇胺用量考察: 称取 1.0 g 卡波姆 940、10 g 丙二醇、5 g 甘油、乙醇 20 mL、羟苯乙酯 0.5 g, 分别加入三乙醇胺的量为 0.25、0.5、0.75、1.0、1.25 g, 按“1.3.1”项下方法平行制备 5 份凝胶, 依据“1.3.2”项进行评分。结果为三乙醇胺为 0.5 g 时, 凝胶剂综合评分最高。

2.1.2 正交试验

在单因素试验基础上, 设计 $L_9(3^4)$ 正交试验, 因素水平如表 2 所示。将正交试验设计处方(见表 3)按“1.3.1”项下方法制备凝胶剂, 依据“1.3.2”项进行评分。结果表明影响凝胶剂成型因素依次顺序为 A>C>D>B, 根据 \bar{K}_1 , \bar{K}_2 , \bar{K}_3 结果, 处方最优配比组合为 A2B3C3D1, 即 1 g 卡波姆 940、20 g 丙二醇、8 g 甘油、0.5 g 三乙醇胺。

表 2 正交实验因素水平设计
Table 2 Orthogonal experimental factor level design

水平	A	B	C	D
	卡波姆(g)	丙二醇(g)	甘油(g)	三乙醇胺(g)
1	0.75	10.0	3.0	0.5
2	1.0	15.0	5.0	0.75
3	1.25	20.0	8.0	1.0

2.1.3 制备工艺验证

根据正交实验结果, 按照“1.3.1”项制备 4 批, 批号分别为 601、602、603、604, 结果显示, 所得凝胶剂符合《中华人民共和国药典》(2020 年版)凝胶剂项规定, 表明凝胶剂的制备工艺条件比较理想。

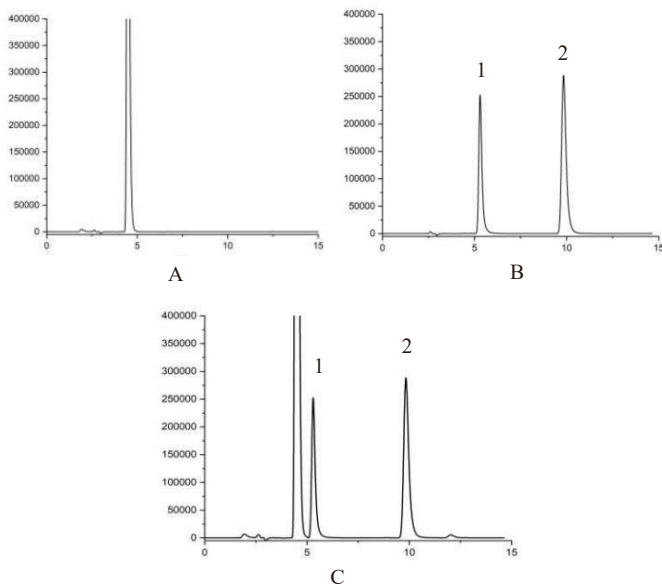
表 3 正交实验考察结果
Table 3 Orthogonal experimental investigation results

编号	卡波姆 940(g)	丙二醇(g)	甘油(g)	三乙醇胺(g)	外观性状	黏度	涂展性	离心稳定性	热稳定性	低温稳定性	评分
1	0.75	10	3	0.5	4	5	8	5	4	4	5.00
2	0.75	15	5	0.75	3	5	8	5	3	3	4.50
3	0.75	20	8	1	3	6	7	8	7	7	6.33
4	1	10	5	1	5	8	7	8	8	7	7.17
5	1	15	8	0.5	9	9	9	10	9	9	9.17
6	1	20	3	0.75	7	7	6	7	7	7	6.83
7	1.25	10	8	0.75	5	5	7	7	6	7	6.17
8	1.25	15	3	1	5	4	4	6	5	6	5.00
9	1.25	20	5	0.5	7	7	5	6	6	5	6.00
\bar{K}_1	5.28	6.11	5.61	6.72	—	—	—	—	—	—	—
\bar{K}_2	7.72	6.22	5.89	5.83	—	—	—	—	—	—	—
\bar{K}_3	5.72	6.39	7.22	6.17	—	—	—	—	—	—	—
极差	2.45	0.27	1.61	0.89	—	—	—	—	—	—	—

2.2 含量测定方法学考察

2.2.1 专属性试验

将“1.3.3”项所制得阴性对照品溶液、对照品溶液和供试品溶液(批号: 604)按照“1.3.4”项下要求测定, 结果在待测成分对应的保留时间处, 未出现其他色谱峰, 表明该含量测定方法有较好的选择性, 见图 1。



(A: 阴性供试品; B: 对照品; C: 供试品; 1. 延胡索乙素; 2. 欧前胡素)

图 1 高效液相色谱图
Fig.1 Chromatogram of HPLC

2.2.2 线性范围考察

取“1.3.3”项下系列混合对照品溶液, 依“1.3.4”项下条件。以对照品溶液浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 进行线性方程回归, 结果显示延胡索乙素和欧前胡素在浓度为 16.1~96.6 $\mu\text{g/mL}$, 10.4~62.4 $\mu\text{g/mL}$ 范围内均呈良好线性关系, 见图 2。

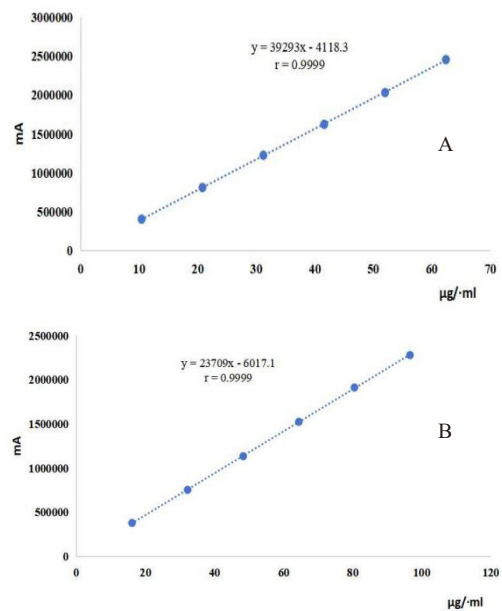
2.2.3 精密度试验

取同浓度混合对照品溶液, 依“1.3.4”项下测定条件连续进样 6 次, 记录被测物质峰面积, RSD 分别为 1.92% 和 1.81%,

表明精密度良好。

2.2.4 稳定性试验

取供试品溶液(批号 604), 分别在第 0、2、4、6、8、12、18、24 h 依“1.3.4”项下条件进样, 记录被测物质峰面积, RSD 分别为 1.78%、2.18%, 表明供试品溶液 24 h 内稳定性良好。



(A: 延胡索乙素; B: 欧前胡素)

图 2 线性关系图
Fig.2 Linear relationship diagram

2.2.5 重复性试验

用同一批号供试品(批号: 604)分别称取 6 份, 每份约 4.0 g, 精密称定, 按“1.3.3 项”方法制备供试品溶液, 依“1.3.4”项下色谱条件进样, 记录待测成分峰面积, 测得凝胶中延胡索乙素含量 0.298 mg/g、欧前胡素 0.202 mg/g, RSD 分别为 1.19%、1.01%, 表明方法重复性良好。

2.2.6 回收率试验

取已知含量复方延胡索止痛凝胶供试品约 2.0 g (批号: 604), 精密称定, 分别精密加入低、中、高浓度对照品溶液各 3 份, 按“1.3.3 项”采用超声法制得供试品溶液, 依“1.3.4”项下条件进样,

记录峰面积,计算加样回收率,延胡索乙素、欧前胡素平均加样回收率分别为99.13% (RSD为0.79%)、99.26% (RSD为0.82%),表明该分析方法测定具有较高的准确性,结果见表4~5。

表4 延胡索乙素加样回收实验结果

Table 4 Experimental results of sample recovery of tetrahydropalmatine

称样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)
2.0032	0.5970	0.4830	1.0742	98.81
2.0102	0.5990	0.4830	1.0814	99.87
2.0058	0.5977	0.4830	1.0814	100.14
2.0012	0.5964	0.5957	1.1846	98.75
2.0011	0.5963	0.5957	1.1815	98.23
2.0023	0.5967	0.5957	1.1820	98.26
2.0062	0.5978	0.7084	1.3077	100.21
2.0047	0.5974	0.7084	1.3015	99.39
2.0013	0.5964	0.7084	1.2944	98.53

表5 欧前胡素加样回收实验结果

Table 5 Experimental results of sample recovery of imperatorin

称样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)
2.0032	0.4046	0.3328	0.7312	98.12
2.0102	0.4061	0.3328	0.7392	100.10
2.0058	0.4052	0.3328	0.7341	98.84
2.0012	0.4042	0.4160	0.8133	98.33
2.0011	0.4042	0.4160	0.8194	99.80
2.0023	0.4045	0.4160	0.8139	98.42
2.0062	0.4053	0.4992	0.9047	100.05
2.0047	0.4049	0.4992	0.9035	99.87
2.0013	0.4043	0.4992	0.9023	99.77

2.3 含量测定

取3批复方延胡索乙素止痛凝胶(批号为601、602、603),按“供试品溶液的制备”制得供试品溶液,按“1.3.4”项下色谱条件测定,结果显示该制剂中延胡索乙素、欧前胡素平均含量为0.297、0.202 mg/g, RSD分别为1.36%、1.49%。结果见表6,三批制剂测定结果表明该方法能准确测定复方制剂中延胡索乙素、欧前胡素含量,方法可靠、方便、能快速解决该制剂生产中的有效成分检测。

表6 含量测定结果

Table 6 Content determination results

批号	601	602	603	平均值	RSD
延胡索乙素(mg/g)	0.301	0.296	0.293	0.297	1.36%
欧前胡素(mg/g)	0.199	0.205	0.202	0.202	1.49%

3 讨论与结论

3.1 处方配比考察

处方中卡波姆940的用量不同则会使基质的pH值有较大差异,影响基质的黏性大小,从而影响其稳定性^[8-9],故在凝胶处方成型考察时设置三乙胺醇用量考察。处方中甘油作为保湿剂之外,还有稠度调节作用,故根据卡波姆940和丙二醇的加入量进行调整甘油处方量。另外,丙二醇兼具了溶剂和促进皮肤渗透的作用^[10],不足之处是本次研究并未开展凝胶剂透皮效果的考察,后续需要进一步开展其促进皮肤渗透的效果。

3.2 含量测定

制剂中有效成分的含量控制是满足制剂量效达标的前提,采用高效液相色谱法同时测定处方中延胡索乙素和欧前胡素含量,不仅能做到生产工艺中有效成分的监测,并且为后续凝胶剂的体外透皮吸收评价提供含量测定依据。

本次研究以凝胶剂的外观形态、稳定性、涂展性以及均匀性为指标,结合处方中影响其成型性的关键物料,在单因素考察的前提下,通过正交试验方法确定各因素在处方中的最优配比,结果表明,复方延胡索乙素止痛凝胶剂最佳制备工艺条件为:卡波姆940的用量为1g,丙二醇的用量为20g,甘油的用量为8g,三乙醇胺的用量为0.5g。根据验证性试验的结果可知,所得复方延胡索乙素止痛凝胶剂符合凝胶剂质量要求,稳定性好,是较为理想的制备工艺条件。延胡索乙素和欧前胡素的含量测定方法学验证结果表明,高效液相色谱法建立的含量测定方法准确、快速、简便,为该制剂的生产与质量控制提供了科学的参考依据。本研究为元胡止痛方外用剂型开发提供一条新思路,为后续研究和利用元胡止痛方,提高患者依从性的角度改良制剂提供一条新思路,满足临床疾病的治疗多样化需求。同时,本实验中只考虑了影响凝胶剂的成型因素,并没有考虑最佳制备工艺下的条件透皮吸收情况和安全性,后续的工作中,我们将进一步对凝胶剂进行体外透皮试验、皮肤毒性试验以及皮肤刺激等试验,使研究更加全面。

参考文献

- [1] 朱红梅,刘涛,何秋蓉,等.中药经皮凝胶的研究进展[J].中成药,2018,40(08):1811-1814.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:中国医药科技出版社.2020:630-633.
- [3] 唐婷,罗红梅,李志华,等.元胡止痛亲水凝胶骨架片制备辅料的筛选[J].时珍国医国药,2020,31(12):2924-2925.
- [4] 施婷婷,洪超,韩丽妹,等.元胡止痛方两种有效组分固体分散体的制备与评价[J].中国医药工业杂志,2016,47(09):1151-1157.
- [5] 林风云,李芳,祁秀玲.药剂学[M].北京:高等教育出版社,2020:328-329.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)[S].北京:中国医药科技出版社,2020:53.
- [7] 宋学忠,曾丽婧,闫明,等.复方南星止痛凝胶的制备及评价[J].世界科学技术-中医药现代化,2023,25(07):2256-2265.
- [8] 熊佳佳,王柏.卡波姆凝胶流变学特性及其影响因素研究[J].海峡药学,2006,18(04):34.
- [9] 谭有珍,郑芳昊,刘东文,等.凝胶材料及其在经皮给药系统中的应用与研究进展[J].中国现代应用药学,2024,41(08):1151-1158.
- [10] 张红,张华,张伟.促进药物透皮吸收方法研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2015,17(08):101.

作者简介



王建芬, 硕士, 副教授, 研究方向: 中药、新药研究。



姜玉梅, 副教授, 研究方向: 化学物质分析检测。