

HPLC 法同时测定风湿骨痛片中 12 个乌头碱类成分的含量*

卢虹妃¹, 倪倩², 冯有龙^{2**}

(1. 中国药科大学, 南京 211198; 2. 江苏省食品药品监督检验研究院, 南京 210019)

摘要 目的: 建立风湿骨痛片中乌头碱类成分的含量测定方法。方法: 采用 Waters XSelect® CSH C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以 0.1% 醋酸水溶液 - 乙腈 - 甲醇系统为流动相进行梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 245 nm, 柱温 30 °C。结果: 冉乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、8-去乙酰基滇乌碱、10-羟基新乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、印乌头碱、乌头碱、滇乌头碱、草乌甲素的进样量分别在 0.022 8 ~ 0.136 6 μg、0.041 5 ~ 0.249 0 μg、0.033 5 ~ 0.200 8 μg、0.033 9 ~ 0.203 1 μg、0.033 1 ~ 0.198 6 μg、0.040 3 ~ 0.241 6 μg、0.030 2 ~ 0.181 4 μg、0.028 6 ~ 0.171 6 μg、0.033 6 ~ 0.201 6 μg、0.030 3 ~ 0.181 9 μg、0.063 4 ~ 0.381 5 μg、0.034 0 ~ 0.204 2 μg 时, 其峰面积与进样量呈现良好的线性关系; 精密性、重复性、稳定性试验结果均满足有关技术要求; 上述 12 个乌头碱类成分的平均回收率分别在 93.6% ~ 101.5%, RSD 分别在 0.55% ~ 3.3%。3 批风湿骨痛片(批号 211227、220823、230425)中冉乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、8-去乙酰基滇乌碱、10-羟基新乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、印乌头碱、滇乌头碱的每片平均含量为 0.492、65.78、7.319、10.164、1.068、5.583、2.573、5.865、2.021、2.050 μg; 乌头碱、草乌甲素未检出。结论: 所建立的方法专属性强、灵敏度和准确度均较高, 可用于风湿骨痛片中 12 个乌头碱类成分的含量测定, 实现对制剂进行全面的质控。

关键词: 风湿骨痛片; 乌头碱; 草乌甲素; 高效液相色谱; 质量控制

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)09 - 1578 - 08

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2023 - 0584

Determination of 12 aconite alkaloids in Fengshi Gutong tablets by HPLC*

LU Hong - fei¹, NI Qian², FENG You - long^{2**}

(1. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; 2. Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210019, China)

Abstract Objective: To establish a method for determination of aconite alkaloids in Fengshi Gutong tablets.

Methods: Analysis was performed on a Waters XSelect® CSH C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisting of 0.1% acetic acid aqueous solution, acetonitrile and methanol with gradient elution at a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹. The detection wavelength was set at 245 nm and the column temperature was 30 °C.

Results: Twelve aconite alkaloids could be separated well. When the injection amounts of ranaconitine, benzoylmesaconine, benzoylmesaconine, benzoylmesaconine, acoforestinine and beiwutine, mesaconitine,

* 江苏省市场监督管理局科研计划项目(KJ204121)

** 通信作者 Tel: 13851496828; E-mail: 13851496828@163.com

第一作者 Tel: 15305186790; E-mail: 3321020783@stu.cpu.edu.cn

hypaconitine, indaconitine, aconitine, yunaconitine, bulleyaconitine A were 0.022 8 - 0.136 6 μg , 0.041 5 - 0.249 0 μg , 0.033 5 - 0.200 8 μg , 0.033 9 - 0.203 1 μg , 0.033 1 - 0.198 6 μg , 0.040 3 - 0.241 6 μg , 0.030 2 - 0.181 4 μg , 0.028 6 - 0.171 6 μg , 0.033 6 - 0.201 6 μg , 0.030 3 - 0.181 9 μg , 0.063 4 - 0.381 5 μg and 0.034 0 - 0.204 2 μg , respectively, the peak area showed a good linear relationship with the injection amounts. The average recovery rates of 12 aconite alkaloid components ranged from 93.6% to 101.5%, and the RSD ranged from 0.55% to 2.6%. The average contents of ranaconitine, benzoylmesaconine, benzoylmesaconine, acoforestinine and beiwutine, mesaconitine, hypaconitine, indaconitine and yunaconitine in three batches of Fengshi Gutong tablets (batch No. 211227, 220823 and 230425) were 0.492 μg , 65.78 μg , 7.319 μg , 10.164 μg , 1.068 μg , 5.583 μg , 2.573 μg , 5.865 μg , 2.021 μg , 2.050 μg , respectively. And aconitine and bulleyaconitine A were not detected. **Conclusions:** The established method is accurate and reliable, and can be used for the determination of 12 aconite alkaloids compounds in Fengshi Gutong tablets to achieve comprehensive quality control of preparations.

Keywords: Fengshi Gutong tablets; aconitine; bulleyaconitine A; HPLC; quality control

风湿骨痛片由制川乌、制草乌、麻黄、木瓜、红花、乌梅肉、甘草组方,具有温经散寒、通络止痛的功效,临床上常用于寒湿闭阻经络所致的痹病。药理学研究表明,川乌和草乌均具有良好的抗炎、镇痛、免疫抑制、抗肿瘤、强心、降血压、扩张血管等作用,都可用于治疗慢性风湿病、慢性心力衰竭、慢性肾功能衰竭等疾病^[1-7]。川乌与草乌均来自毛茛科乌头属,乌头属植物主要药用成分为二萜类生物碱,具有镇痛、局麻、抗炎、杀虫等药理活性,但该类成分具有一定毒性,主要表现为心肌毒性、神经毒性等^[8-13],严重时可引起死亡。《中华人民共和国药典》^[14]对风湿骨痛片中的新乌头碱、次乌头碱、乌头碱进行了限量检查,对苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰乌头原碱进行了含量测定。而乌头属植物还含有其他乌头类生物碱:冉乌头碱、滇乌头碱、印乌头碱、草乌甲素是二萜类生物碱;8-去乙酰基滇乌头碱是滇乌头碱炮制后水解产物,这些生物碱都具有镇痛作用,同时具有毒性^[15-22];草乌中含有10-羟基新乌头碱(北乌碱),也是新乌头碱的体内代谢产物之一,具有较大的毒性^[23-24]。因此,为保障风湿骨痛片临床用药的安全、有效,本文建立了HPLC法同时测定风湿骨痛片中12个乌头类生物碱含量的方法,方法验证结果显示,所建立的方法简便、准确,结果可靠,可用于风湿骨痛片的质量控制。该方法除了2020年版《中华人民共和国药典》中风湿骨痛片控制的6个生物碱外,还同时测定了冉乌头碱、滇乌头碱、印乌头碱、草乌甲素、8-去乙酰基

滇乌头碱、10-羟基新乌头碱的含量,以利于更全面地控制制剂质量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(G7129A 自动进样器,G7111A 四元泵,G7116A 柱温箱,G7115A DAD 检测器,Agilent 色谱工作站),Milli-QIQ 7000 型纯水仪(MILLOPORE 公司),5510 型超声清洗仪(BRANSON 公司),XP6 型百万分之一天平(METTLER TOLEDO 公司),MS204S 型万分之一天平(METTLER TOLEDO 公司)。

1.2 试剂

风湿骨痛片(安徽美欣制药有限公司,批号 211227、220823、230425),乌头双酯型生物碱对照提取物(批号 11209-201601)、苯甲酰新乌头原碱(批号 111795-202106)、苯甲酰次乌头原碱(批号 111796-202207)、苯甲酰乌头原碱(批号 111794-202006)购自中国食品药品检定研究院,冉乌头碱(批号 DST200410-053)、滇乌头碱(批号 DST211211-058)、印乌头碱(批号 DST211211-077)、草乌甲素(批号 DSTDC005701)、10-羟基新乌头碱(批号 DST211211-465)购自成都德思特生物技术有限公司,8-去乙酰基滇乌头碱(批号 MUST-21111402)购自成都曼思特生物科技有限公司,分析纯乙醚、甲醇、氨水、盐酸(上海沪试实验室器材股份有限公司),色谱纯乙腈、甲醇(Merk 公司),色谱纯冰醋酸(上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 取乌头双酯型生物碱对照提取物、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、冉乌头碱、滇乌头碱、印乌头碱、草乌甲素、8-去乙酰基滇乌头碱、10-羟基新乌头碱对照品各适量,精密称定,分别置 20 mL 量瓶中,加 70% 甲醇使溶解并稀释至刻度,配制成质量浓度分别为 95.35、124.50、101.55、100.40、68.30、190.75、100.80、102.10、98.60、120.80 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的单一对照品储备液。分别精密量取苯甲酰新乌头原碱等对照品储备液各 1 mL 和乌头双酯型生物碱对照提取物储备液 3 mL,置同一 15 mL 量瓶中,用 70% 甲醇稀释至刻度,配制成混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液 取风湿骨痛片适量,研细,取约 2.0 g,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,加入氨水 2 mL 润湿,加乙醚 25 mL,超声(135 W,42 kHz)处理 30 min,滤过,滤渣用乙醚 5 mL 洗涤,合并乙醚液,于室温下挥干。以 1% 盐酸-甲醇(7:3)溶解并定量转移入 2 mL 量瓶中,定容,滤过(0.45 μm),取续滤液,即得。

2.2 色谱条件

采用 Waters XSelect[®] CSH C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为 0.1% 醋酸水溶液(A)-乙腈(B)-甲醇(C),梯度洗脱(见表 1),流速为 1 mL · min⁻¹,检测波长为 245 nm,柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$,进样量为 10 μL 。

表 1 流动相洗脱程序

Tab.1 Mobile phase elution procedure

<i>t</i> /min	流动相比例(ratio of mobile phase)/%		
	A	B	C
0	90	5	5
5	60	10	30
10	60	12	28
25	60	12	28
32	45	20	35
36	90	5	5
46	90	5	5

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性 按风湿骨痛片处方比例和制备工

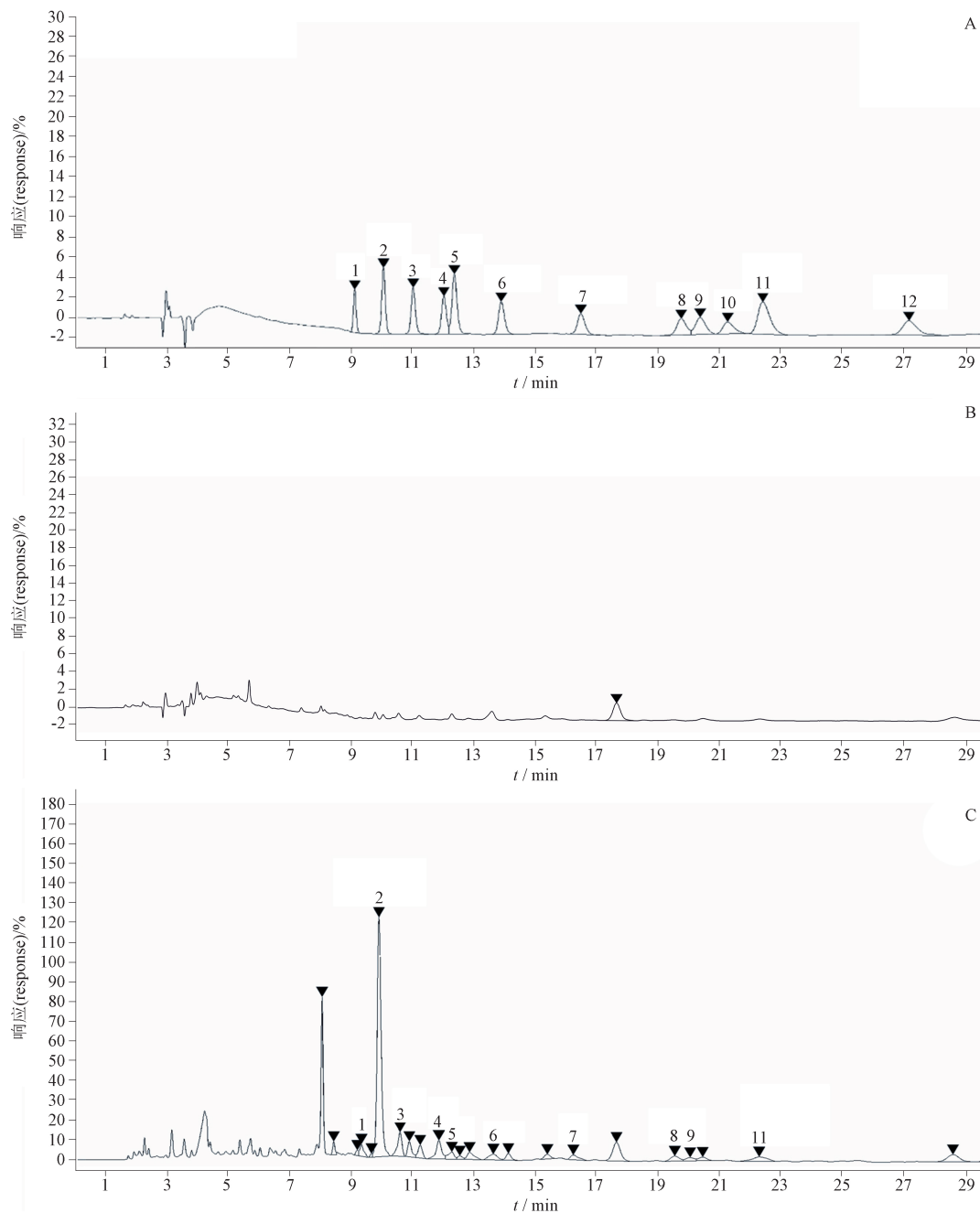
艺,自制缺少制川乌与制草乌的阴性对照样品,并按“2.1.2”项方法制备阴性对照溶液。分别精密吸取阴性对照溶液、供试品溶液与混合对照品溶液各适量,按“2.2”项色谱条件进样测定,记录色谱图(见图 1)。结果,阴性对照溶液色谱图中,在各待测物的色谱峰附近无其他色谱峰干扰测定,表明该方法具有较好的专属性。

2.3.2 线性范围及检测限、定量限 分别精密吸取混合对照品溶液 5、10、15、20、25、30 μL ,注入液相色谱仪,按“2.2”项下的色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量 *X* 为横坐标,峰面积 *Y* 为纵坐标,进行线性回归,得到各成分的线性回归方程及线性范围。以信噪比 $S/N=10$ 和 $S/N=3$ 时,各成分的含量作为定量限和检测限,结果见表 2。从表 2 可见,12 个成分在各自线性范围内呈良好的线性关系。

2.3.3 精密度 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液,按照“2.2”项下的色谱条件,连续进样 6 次,记录各个色谱峰的峰面积,计算得冉乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、8-去乙酰基滇乌头碱、10-羟基新乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、印乌头碱、乌头碱、滇乌头碱、草乌甲素峰面积的 RSD 分别为 0.45%、0.62%、0.88%、0.63%、0.37%、0.47%、0.80%、1.9%、0.71%、1.2%、0.94%、0.57%,表明仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性 取“2.1.1”项下的混合对照品溶液与“2.1.2”项下的供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 h 进样测定,记录各色谱峰的峰面积。结果,混合对照品溶液中冉乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、8-去乙酰基滇乌头碱、10-羟基新乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、印乌头碱、乌头碱、滇乌头碱、草乌甲素峰面积的 RSD 分别为 0.86%、0.42%、0.71%、0.59%、0.29%、1.3%、0.92%、2.8%、4.5%、1.8%、0.43%、1.0%,表明混合对照品溶液在 24 h 内保持稳定。供试品溶液中冉乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、8-去乙酰基滇乌头碱、10-羟基新乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、印乌头碱、滇乌头碱峰面积的 RSD 分别为 1.5%、0.50%、1.5%、0.83%、0.82%、1.3%、1.5%、1.5%、1.4%、1.5%;乌头碱、草乌甲素未检出,表明供试品溶液在室温条件下 24 h 内相对稳定。

2.3.5 重复性 同一批次风湿骨痛片样品,精密



1. 冉乌头碱 (ranaconitine) 2. 苯甲酰新乌头原碱 (benzoylmesaconine) 3. 苯甲酰乌头原碱 (benzoylmesaconine) 4. 苯甲酰次乌头原碱 (benzoylmesaconine) 5. 8-去乙酰基滇乌碱 (acoforestinine) 6. 10-羟基新乌头碱 (beiwutine) 7. 新乌头碱 (mesaconitine) 8. 次乌头碱 (hyaconitine) 9. 印乌头碱 (indaconitine) 10. 乌头碱 (aconitine) 11. 滇乌头碱 (yunaconitine) 12. 草乌甲素 (bulleyaconitine)

图 1 混合对照溶液 (A)、阴性对照溶液 (B)、供试品溶液 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances solution (A), negative solution (B) and test solution (C)

称定 6 份,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算各成分含量。结果冉乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、8-去乙酰基滇乌碱、10-羟基新乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、印乌头碱、滇

乌头碱的平均含量分别为 1.570、115.8、8.235、12.81、2.003、6.151、1.421、2.978、13.09、9.555 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 2.7%、0.85%、1.8%、1.8%、2.1%、3.1%、1.5%、1.2%、3.6%、3.1%;乌头碱、草乌甲素未检出。结果表明该方法重复性良好。

表 2 回归方程、线性范围、检测限和定量限测定结果
Tab. 2 Regression equation, linear range, LOD and LOQ

成分 (component)	回归方程 (regressive equation)	<i>r</i>	线性范围 (linear range)/ μg	LOD/ μg	LOQ/ μg
冉乌头碱(ranaconitine)	$Y = 3.039X - 0.1733$	0.9999	0.0228 ~ 0.1366	0.002277	0.005691
苯甲酰新乌头原碱(benzoylmesaconine)	$Y = 4.385X + 0.1533$	1.000	0.0415 ~ 0.249	0.00415	0.00664
苯甲酰乌头原碱(benzoylaconine)	$Y = 3.922X + 0.3200$	0.9999	0.0335 ~ 0.2008	0.00335	0.00535
苯甲酰次乌头原碱(benzoylhypaconitine)	$Y = 3.529X + 1.607$	0.9999	0.0339 ~ 0.2031	0.00339	0.00677
8-去乙酰基滇乌碱(acoforesstinine)	$Y = 6.483X + 0.5000$	1.000	0.0331 ~ 0.1986	0.00331	0.00530
10-羟基新乌头碱(beiwutine)	$Y = 3.954X + 0.2333$	1.000	0.0403 ~ 0.2416	0.00403	0.00805
新乌头碱(mesaconitine)	$Y = 3.210X + 1.547$	0.9998	0.0302 ~ 0.1814	0.00605	0.01209
次乌头碱(hypaconitine)	$Y = 2.853X + 0.3800$	0.9985	0.0286 ~ 0.1716	0.00572	0.01144
印乌头碱(indaconitine)	$Y = 4.670X - 8.380$	0.9974	0.0336 ~ 0.2016	0.00538	0.02016
乌头碱(aconitine)	$Y = 3.378X + 0.3067$	0.9999	0.0303 ~ 0.1819	0.00485	0.00606
滇乌头碱(yunaconitine)	$Y = 10.36X - 12.24$	0.9999	0.0634 ~ 0.3815	0.00636	0.01272
草乌甲素(bulleyaconitine A)	$Y = 4.484X - 0.6533$	1.000	0.0340 ~ 0.2042	0.00681	0.01361

2.3.6 加样回收试验 取已测定含量的同一批风湿骨痛片适量,研细,取约 1.0 g,精密称定,共 6 份,分别加入一定量的对照品溶液,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进行测定,计算回收率,结果冉乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原

碱、苯甲酰次乌头原碱、8-去乙酰基滇乌碱、10-羟基新乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、印乌头碱、乌头碱、滇乌头碱、草乌甲素的平均回收率分别在 93.6%~101.5% 范围内,RSD 分别在 0.55%~3.3% 范围内,表明该方法具有较好的回收率,准确度高。结果见表 3。

表 3 风湿骨痛片 12 个成分的加样回收率
Tab. 3 Recoveries of the 12 components in Fengshi Gutong tablets

成分 (component)	已有量 (content)/ μg	加入量 (added)/ μg	测得量 (detected)/ μg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average)/%	RSD %
冉乌头碱(ranaconitine)	1.45	13.66	14.16	93.0	93.6	0.89
	1.45	13.66	14.22	93.5		
	1.43	13.66	14.40	94.9		
	1.47	13.66	14.16	92.9		
	1.43	13.66	14.14	93.1		
	1.44	13.66	14.33	94.4		
苯甲酰新乌头原碱(benzoylmesaconine)	117.41	24.90	265.71	100.7	100.5	1.7
	115.18	24.90	264.92	100.5		
	116.25	24.90	262.05	99.1		
	115.23	24.90	269.83	103.7		
	115.98	24.90	261.07	99.1		
	114.64	24.90	263.42	99.9		
苯甲酰乌头原碱(benzoylaconine)	5.59	20.08	25.63	99.8	101.5	3.3
	5.57	20.08	25.83	100.9		
	5.52	20.08	25.47	99.4		
	5.67	20.08	25.32	97.9		
	5.49	20.08	26.71	105.7		
	5.54	20.08	26.74	105.6		

表 3(续)

成分 (component)	已有量 (content)/ μg	加入量 (added)/ μg	测得量 (detected)/ μg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average)/%	RSD %
苯甲酰次乌头原碱(benzoylhypaconitine)	16.16	20.31	36.44	99.9	100.4	0.72
	16.11	20.31	36.43	100.0		
	15.94	20.31	36.32	100.3		
	16.39	20.31	36.68	99.9		
	15.88	20.31	36.33	100.7		
	16.02	20.31	36.69	101.8		
8-去乙酰基滇乌碱(acoforestinine)	2.34	19.72	21.99	99.7	99.1	0.74
	2.33	19.72	21.80	98.7		
	2.30	19.72	21.71	98.4		
	2.37	19.72	21.75	98.3		
	2.30	19.72	21.96	99.7		
	2.32	19.72	22.00	99.8		
10-羟基新乌头碱(beiwutine)	6.32	24.16	30.29	99.2	99.8	0.55
	6.30	24.16	30.54	100.3		
	6.24	24.16	30.46	100.3		
	6.41	24.16	30.34	99.0		
	6.21	24.16	30.30	99.7		
	6.27	24.16	30.45	100.1		
新乌头碱(mesaconitine)	1.39	18.14	26.70	99.1	100.4	0.76
	1.43	18.14	27.02	101.0		
	1.45	18.14	26.95	101.2		
	1.43	18.14	26.98	100.0		
	1.41	18.14	26.85	100.8		
	1.42	18.14	26.83	100.3		
次乌头碱(hypaconitine)	2.99	17.16	24.27	99.2	100.2	0.88
	2.91	17.16	24.47	100.5		
	2.99	17.16	24.51	101.1		
	3.01	17.16	24.35	99.0		
	2.99	17.16	24.43	100.9		
	2.99	17.16	24.43	100.5		
印乌头碱(indaconitine)	12.27	20.16	32.53	100.5	100.2	0.62
	12.23	20.16	32.38	99.9		
	12.10	20.16	32.34	100.4		
	12.44	20.16	32.49	99.5		
	12.05	20.16	32.18	99.9		
	12.16	20.16	32.57	101.2		
乌头碱(aconitine)	0.00	18.19	18.17	99.9	99.1	1.7
	0.00	18.19	18.05	99.2		
	0.00	18.19	18.13	99.7		
	0.00	18.19	18.21	100.1		
	0.00	18.19	18.16	99.8		
	0.00	18.19	17.42	95.8		

表 3(续)

成分 (component)	已有量 (content)/ μg	加入量 (added)/ μg	测得量 (detected)/ μg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average)/%	RSD %
滇乌头碱 (yunaconitine)	9.38	38.15	38.50	100.9	99.2	1.1
	9.53	38.15	37.86	99.2		
	9.31	38.15	38.16	100.0		
	9.85	38.15	37.45	98.2		
	9.98	38.15	37.71	98.8		
	9.29	38.15	37.40	98.0		
草乌甲素 (bulleyaconitine A)	0.00	20.42	19.55	95.7	95.1	2.6
	0.00	20.42	20.22	99.0		
	0.00	20.42	19.32	94.6		
	0.00	20.42	19.67	96.3		
	0.00	20.42	18.98	93.0		
	0.00	20.42	18.81	92.1		

2.3.6 含量测定 取风湿骨痛片(批号 211227、220823、230425),研细、混匀,取约 2.0 g,精密称定,每批平行制备 2 份,分别按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项色谱条件进样测定,结果 3 批风湿骨痛片中冉乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、8-去乙酰基滇乌头碱、10-羟基新乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、印乌头碱、滇乌头碱的平均含量为 0.492、65.78、7.319、10.164、1.068、5.583、2.573、5.865、2.021、2.050 $\mu\text{g} \cdot \text{片}^{-1}$;乌头碱、草乌甲素未检出。

3 讨论与结论

乌头所含生物碱类成分既是其毒性成分,又是其发挥疗效的活性成分。乌头中主要毒性成分为双酯型生物碱,经炮制加工后水解为毒性相对较小的单酯型生物碱;因此,在中成药质量标准中必须全面控制乌头碱类成分的含量,既要满足临床疗效的需要,又要避免正常用药引起的毒性反应。本文在 2020 年版《中华人民共和国药典》中对风湿骨痛片所测定 6 个乌头类生物碱成分的基础上增加了 6 个其他生物碱类成分的测定,从色谱条件的优化入手,试验了不同品牌的色谱柱、不同的流动相系统、不同的供试品溶液制备方法,在此基础上,确立了最佳色谱条件;然后,按照相关技术要求对所建立的方法进行验证,结果表明该方法专属性强、准确度和灵敏度均较高,适用于风湿骨痛片中乌头碱等 12 个成分的含量测定。基于本研究结果建立的风湿骨痛片中“乌头碱限量”检查项,对毒性较大的双酯型生物碱规定

了含量范围,既保证临床疗效又不至于引起毒性反应,较现有质量标准(只规定上限)更合理,能全面控制制剂中生物碱类成分的含量。本研究为风湿骨痛片中所含乌头碱类成分的全面质量控制奠定基础,为其质量标准提高提供依据,为风湿骨痛片临床用药的安全、有效提供保障。

本文的供试品前处理方法为碱化后乙醚萃取,相较于 2020 年版《中华人民共和国药典》中对风湿骨痛片前处理所采用的固相萃取法更简便,提取出的成分种类更多。

参考文献

- [1] 李双,黎锐,曾勇,等. 川乌的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(12): 2433
LI S, LI R, ZENG Y, et al. Chemical components and pharmacological action of Aconiti Radix [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2019, 44(12): 2433
- [2] 黄为飞. 中药川乌与草乌的鉴别比较及药理活性分析[J]. 北方药学, 2020, 17(12): 10
HUANG WF. Identification, comparison and pharmacological activity analysis of *Aconitum carmichaeli* and *Aconitum kusnezoffii* [J]. *J North Pharm*, 2020, 17(12): 10
- [3] 荣宝山,黄凯丽,袁琳嫣,等. 乌头类药材化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国药事, 2021, 35(8): 932
RONG BS, HUANG KL, YUAN LY, et al. Research progress on chemical composition and pharmacological action of aconitum [J]. *Chin Pharm Aff*, 2021, 35(8): 932
- [4] 张晓滕,金勇男,张冰,等. 川草乌治疗类风湿性关节炎的效益-风险评价[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(2): 234
ZHANG XM, JIN YN, ZHANG B, et al. Aconitum in treatment

- of rheumatoid arthritis: benefit – risk assessment [J]. Chin J Chin Mater Med, 2018, 43(2):234
- [5] 徐新亮,李桂莹. 风湿骨痛片联合盐酸氨基葡萄糖片治疗膝骨性关节炎的疗效分析[J]. 中国实用医药,2023,18(20):141
XU XL, LI GY. Efficacy analysis of Fengshi Gutong tablets combined with glucosaminehydrochloride tablets in treatment of knee osteoarthritis[J]. Chin Pract Med, 2023, 18(20):141
- [6] 房光,邵士元,王祯. 风湿骨痛片辅助艾瑞昔布治疗冻结肩的疗效观察[J]. 食品与药品,2023,25(5):462
FANG G, SHAO SY, WANG Z. Efficacy of Imrecoxib assisted with rheumatic bone pain tablets in treatment of frozen shoulder [J]. Food Drug, 2023, 25(5):462
- [7] 胡锐. 风湿骨痛片联合双氯芬酸钠片治疗退行性骨关节炎的疗效分析[J]. 中国现代药物应用,2023,17(5):17
HU R. Efficacy analysis of Fengshi Gutong tablets combined with diclofenac sodiumtablets in the treatment of degenerative osteoarthritis[J]. Chin J Mod Drug Appl, 2023, 17(5):17
- [8] 张志清,伍福仙,林信. 超高效液相色谱 – 四极杆 – 飞行时间质谱法测定珠芽瓜叶乌头中毒患者血液、尿液中乌头生物碱及其代谢产物[J]. 食品安全质量检测学报,2020,11(12):4000
ZHANG ZQ, WU FX, LIN Z. Determination of aconitum alkaloids and its metabolites in blood and urineof patient with *Aconitum hemslayanum* var. *hsiae* poisoning by ultraperformance liquid chromatography coupled with quadrupole – time of flightmass spectrometry[J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(12):4000
- [9] 苏帆. 高乌甲素的临床应用及研究进展[J]. 实用疼痛学杂志,2009,5(1):50
SU F. Clinical application and research progress of lappaconitine A [J]. Pract J Med Pharm, 2009, 5(1):50
- [10] 严妍,杨茂, Wolf – dieter Rausch, 等. 乌头碱对胎鼠中脑多巴胺能神经元细胞的神经毒性作用[J]. 江苏大学学报(医学版),2013,23(3):212
YAN Y, YANG M, RAUSCH WD, *et al.* Neurotoxic effect of aconitine based on the midbrain dopaminergic neurons cell culture [J]. J Jiangsu Univ (Med Edit), 2013, 23(3):212
- [11] 支绍册,王磊,赵光举,等. 双黄连注射液对大鼠急性乌头碱中毒脑损伤的干预研究[J]. 中华危重症医学杂志(电子版),2014,7(5):323
ZHI SS, WANG L, ZHAO GJ, *et al.* The intervention of Shuanghuanglian injection on acute brain injury inducedby aconitine in rats [J]. Chin J Crit Care Med (Electronic Edit), 2014, 7(5):323
- [12] YANG HQ, WANG H, LIU YB, *et al.* The PI3K/Akt/mTOR signaling pathway plays a role in regulating aconitine – induced autophagy in mouse liver [J]. Res Vet Sci, 2019, 124: 317
- [13] LI TF, GONG N, WANG YX. Ester hydrolysis differentially reduces aconitine – induced anti – hypersensitivity and acute neurotoxicity: involvement of spinal microglial dynorphin expression and implications for Aconitum processing [J]. Front Pharmacol, 2016, 7: 367
- [14] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020:724
ChP 2020. Vol I [S]. 2020:724
- [15] 刘泓,岳兰昕,邱丽珍,等. 低剂量乌头碱持续给药重塑 hiPS-Cs – CM 线粒体能量代谢模式[J]. 中国药理学通报,2021,37(5):617
LIU H, YUE LX, QIU LZ, *et al.* Repeated administration of low – dose aconitine remodels mitochondriaenergy metabolism pattern of human iPSCs – CM[J]. Chin Pharm Bull, 2021, 37(5):617
- [16] HE JS, LI SC, DING YM, *et al.* Research progress on natural products' therapeutic effects on atrial fibrillation by regulating ion channels [J]. Cardiovasc Ther, 2022, 2022:4559809
- [17] FEI L, XIAOXIN T, XU H, *et al.* Cytotoxicity of Aconitum alkaloid and its interaction with calf thymus DNA by multi – spectroscopic techniques. [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 14509
- [18] ZONG XX, YAN XJ, WU JL, *et al.* Potentially cardiotoxic diterpenoid alkaloids from the roots of *Aconitum carnichaelii* [J]. J Nat Prod, 2019, 82(4): 980
- [19] NIE JH, WANG F, JI TF, *et al.* Assessment of *in vitro* cardiotoxicity of extract fractions and diterpene alkaloids from *Aconitum leucostomum* Worosch: a short communication [J]. J Pharm Biomed Anal, 2017, 137: 84
- [20] 张慧灵,王翔毅,杨玉梅,等. 冉乌头碱的镇痛作用及其对麻醉大鼠心电图的影响[J]. 包头医学院学报,2000(4):261
ZHANG HL, WANG XY, YANG YM, *et al.* Effects of Ranaconitine on Analgesia and ECG in anesthetized rats[J]. J Baotou Med Coll, 2000(4):261
- [21] 郭志俊,段小花,陈翠玲,等. 制黄草乌中滇乌碱及其转化产物 8 – 去乙酰基滇乌头碱药效和毒性的初步研究[J]. 中国中医药信息杂志,2015,22(10):60
GUO ZJ, DUAN XH, CHEN CL, *et al.* A preliminary research on the efficacy and toxicity of Yunaconitine and 8 – deacetylyunaconitine isolated from the processed products of *Aconiti Knsnezoffii* Radix[J]. Chin J Inf Trad Chin Med, 2015, 22(10):60
- [22] 林彦君,宋流东. 草乌甲素的研究进展[J]. 中国民族民间医药,2021,30(20):58
LIN YJ, SONG LD. The research status of bulleyaconitine A[J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm, 2021, 30(20):58
- [23] 朱元龙,朱任宏. 中国药用乌头生物碱的研究概况[J]. 中药通报,1981(6):38
ZHU YL, ZHU RH. Research overview of medicinal Aconitum alkaloids in China[J]. Chin J Chin Mat Med, 1981(6):38
- [24] 中国农业大学. 一种 10 – 羟基新乌头碱半抗原、人工抗原、抗体及其制备方法与应用: 中国, CN202010710938. 8 [P]. 2022 – 01 – 25
China Agricultural University. A Semi Antigen, Artificial Antigen, Antibody of 10 – Hydroxy Mesaconitine and Its Preparation Method and Application: China, CN202010710938. 8 [P]. 2022 – 01 – 25

(本文于 2024 年 6 月 11 日修改回)