

## · 药 剂 学 ·

## 盐酸罗哌卡因温敏凝胶注射剂的制备及其含量测定

朱全刚<sup>1,2</sup>, 张迪<sup>2</sup>, 周芷筠<sup>2</sup>, 潘勇华<sup>2</sup>, 尤本明<sup>2</sup>, 刘继勇<sup>2</sup>, 高申<sup>2</sup> (1. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院药剂科, 上海 200437; 2. 第二军医大学长海医院药学部, 上海 200433)

**[摘要]** 目的 制备盐酸罗哌卡因温敏凝胶注射剂, 并建立其含量测定方法。方法 采用泊洛沙姆作为温敏材料, 以冷法制备, 利用反相高效液相色谱法测定其中药物的含量。结果 温敏凝胶注射剂中辅料泊洛沙姆 P407 与 P188 的质量比为 28 : 1, 盐酸罗哌卡因含量为 2%, 相变温度为 37 ℃。盐酸罗哌卡因在 2.03 ~ 48.72 μg/ml 范围内线性关系良好 ( $r=0.9998$ ), 精密度和重复性良好, 低、中、高浓度盐酸罗哌卡因的回收率分别为  $(99.58 \pm 0.20)\%$ 、 $(97.80 \pm 0.35)\%$ 、 $(103.60 \pm 0.63)\%$ ,  $n=3$ , 3 批样品中盐酸罗哌卡因的平均含量分别为标示量的  $(98.92 \pm 0.35)\%$ 、 $(99.18 \pm 0.38)\%$ 、 $(98.72 \pm 0.62)\%$ ,  $n=3$ 。结论 采用泊洛沙姆为基质制备的盐酸罗哌卡因温敏凝胶注射剂质量可控, 是一种很有开发前景的新型止痛剂。

**[关键词]** 盐酸罗哌卡因; 泊洛沙姆; 温敏凝胶; 含量测定

**[中图分类号]** R971<sup>·</sup>.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)05-0366-03

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.05.013

## Preparation and determination of ropivacaine hydrochloride thermosensitive gel injection

ZHU Quan-gang<sup>1,2</sup>, ZHANG Di<sup>2</sup>, ZHOU Zhi-yun<sup>2</sup>, PAN Yong-hua<sup>2</sup>, YOU Ben-ming<sup>2</sup>, LIU Ji-yong<sup>2</sup>, GAO Shen (1. Department of Pharmacy, Shanghai Yueyang Affiliated Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China; 2. Department of Pharmacy, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To prepare ropivacaine hydrochloride thermosensitive gel injection and establish the determination methods of contents. **Methods** Ropivacaine hydrochloride thermosensitive gel injection was prepared by cold methods with poloxamer as thermosensitive materials. The contents of ropivacaine hydrochloride were determined by RP-HPLC. **Result** The formulation contained 2% ropivacaine hydrochloride, poloxamer P407 and P188 (28 : 1) with phase-transition temperature of 37 ℃. Ropivacaine hydrochloride presented a good linearity in the range of 2.03 ~ 48.72 μg/ml ( $r=0.9998$ ), which had good precision, and reproducibility. The recovery rate of low, middle and high concentrations of ropivacaine hydrochloride were  $(99.58 \pm 0.20)\%$ ,  $(97.80 \pm 0.35)\%$  and  $(103.60 \pm 0.63)\%$ ,  $n=3$ , respectively. The average contents of ropivacaine hydrochloride in three batches of sample were  $(98.92 \pm 0.35)\%$ ,  $(99.18 \pm 0.38)\%$  and  $(98.72 \pm 0.62)\%$ ,  $n=3$ . **Conclusion** The quality of Ropivacaine hydrochloride thermosensitive gel injection with poloxamer as matrix could be controlled. It had a new development prospects for relieving pain.

**[Key words]** ropivacaine hydrochloride; poloxamer; thermosensitive gel; content determination

盐酸罗哌卡因 (ropivacaine hydrochloride) 是一种新型酰胺类长效局麻药, 具有作用持续时间长、心脏毒性低微、感觉-运动阻滞分离等优点, 特别适用于心脏外科手术及术后镇痛, 能够避免布比卡因等常用局麻药诱发的心脏聚停现象<sup>[1]</sup>, 因此研制盐酸罗哌卡因的缓释长效注射剂对于心脏外科手术镇痛具有重要的临床意义。温敏凝胶注射剂 (thermosensitive gel injection) 是一种环境敏感型智能凝胶注射剂, 在室温下为溶液状态, 而在体温环境下能发生相

转变成半固体凝胶, 具有良好的缓、控释性能及用药顺应性。泊洛沙姆 (poloxamer) 为聚氧乙烯聚氧丙烯醚嵌段共聚物, 是目前最常用的一类温敏凝胶材料<sup>[2]</sup>。笔者采用泊洛沙姆作为温敏材料, 以冷法制备温敏凝胶注射剂, 并建立了盐酸罗哌卡因含量测定的反相高效液相色谱方法。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** LC-10ADVP 高效液相色谱仪, 包括 LC-10AT 泵、SPD-10A 紫外检测器、CLASS vp 色谱工作站和 SCL-10Avp 系统控制器 (日本岛津制作所); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 (巩义市英峪予华仪器厂); HANGPING FA2004 电子天平 (上海

**[基金项目]** 国家自然科学基金 (No. 81072100)。

**[作者简介]** 朱全刚 (1968-), 博士, 副主任药师。E-mail: qgzhu@126.com。

**[通信作者]** 高申。E-mail: ggss99@126.com。

天平仪器厂);DL-720A 超声波清洗器(上海之信仪器有限公司);PHS-3TC 精密酸度计(上海天达仪器有限公司);TGL-16B 型高速离心机(上海安亭科学仪器厂)。

**1.2 药品和试剂** 盐酸罗哌卡因(含量 99.5%, 山东铂源化学有限公司);盐酸利多卡因(含量 99.7%, 江苏济川制药有限公司);泊洛沙姆(poloxamer, P188、P407, 德国 BASF 公司);乙腈(色谱纯, 美国 Tedia 公司);蒸馏水(长海医院制剂室自制);其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 处方和制备工艺** 采用转子法测定胶凝温度<sup>[3]</sup>。通过预实验确定本研究中盐酸罗哌卡因温敏凝胶的处方为:盐酸罗哌卡因 2%, 泊洛沙姆(P407) 14%, 泊洛沙姆(P188) 0.5%。按处方比例将泊洛沙姆 P407、P188 及盐酸罗哌卡因溶于适量蒸馏水中, 搅拌均匀, 置于 4 °C 冰箱中保存直至完全溶解成澄清溶液, 取出, 加水至全量, 分装, 121 °C 热压灭菌 20 min<sup>[4]</sup>, 即得胶凝温度为 37 °C 的盐酸罗哌卡因温敏凝胶注射剂。

### 2.2 含量测定

**2.2.1 溶液的配制** ①储备液的配制:精密称取盐酸利多卡因 50.00 mg、盐酸罗哌卡因 20.30 mg 分别置于 100 ml 容量瓶中, 加适量蒸馏水超声溶解, 定容, 分别制得 500 μg/ml 的盐酸利多卡因储备液及 203 μg/ml 的盐酸罗哌卡因储备液。②样品溶液的配制:取凝胶样品 1 g 置于 100 ml 容量瓶中, 加适量蒸馏水超声溶解, 定容;取 1 ml 置于 10 ml 容量瓶中, 加入 1 ml 盐酸利多卡因储备液, 再加蒸馏水定容, 即得。③阴性对照溶液的配制:按处方比例和制备工艺制备不含盐酸罗哌卡因的空白凝胶, 按样品溶液的配制方法制得阴性对照溶液。

**2.2.2 色谱条件与系统适应性试验** 色谱柱:Athena C<sub>18</sub>-WP 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm, 上海安普科学仪器有限公司);流动相:乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钠-三乙胺(48:52:0.15), 内含 0.015 mol/L 十二烷基硫酸钠(SDS), 用磷酸调节 pH 值至 3.15;检测波长 220 nm;流速 1.0 ml/min;进样量:20 μl;柱温:室温。在该色谱条件下, 内标盐酸利多卡因与盐酸罗哌卡因能够完全分离, 保留时间分别为盐酸利多卡因 6.5 min、盐酸罗哌卡因 10.0 min, 辅料对二种成分测定均不产生干扰, 且峰形好, 无拖尾(见图 1)。

**2.2.3 标准曲线的制备** 分别精密量取“2.2.1”项下的盐酸罗哌卡因储备液 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、2.0、2.4 ml 至于 10 ml 容量瓶中, 再分别加入

“2.2.1”项下的盐酸利多卡因储备液 1.0 ml, 用蒸馏水稀释定容, 得到系列浓度分别为 2.03、4.06、8.12、16.24、32.48、40.60、48.72 μg/ml 的标准溶液。按“2.2.2”项下色谱条件依次进样, 测定峰面积。以盐酸罗哌卡因峰面积与内标盐酸利多卡因峰面积的比值 Y 与盐酸罗哌卡因浓度 C 作线性回归, 得标准曲线方程:Y = 0.019 2C + 0.021 3 (r = 0.999 8), 线性范围为 2.03 ~ 48.72 μg/ml。

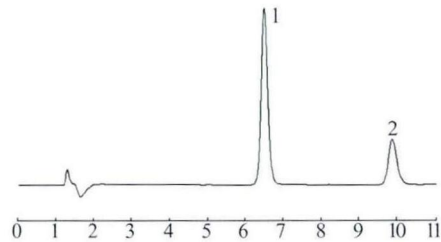


图 1 盐酸罗哌卡因温敏凝胶注射剂的 HPLC 色谱图  
1-盐酸利多卡因;2-盐酸罗哌卡因

**2.2.4 精密度试验** ①日内精密度:分别配制低、中、高 3 种浓度(16.24、24.36、32.48 μg/ml)的盐酸罗哌卡因标准溶液, 按“2.2.2”项下色谱条件各重复进样 3 次, 进样间隔时间 4 h, 记录峰面积, 计算得到低、中、高 3 种浓度盐酸罗哌卡因的日内 RSD 分别为 0.62%、1.35% 和 1.03%, n = 3。②日间精密度:取低、中、高 3 种浓度(16.24、24.36、32.48 μg/ml)的盐酸罗哌卡因标准溶液各 20 μl, 每天测定 1 次, 连续测定 3 d, 记录峰面积, 计算得到低、中、高 3 种浓度盐酸罗哌卡因的日间 RSD 分别为 1.82%、1.25% 和 2.04%, n = 3。结果表明, 日内精密度与日间精密度均良好。

**2.2.5 回收率试验** 按照“2.1”项下的方法制备空白凝胶, 精密称取空白凝胶 1 g 置于 100 ml 容量瓶, 分别精密加入 15.98、20.01、24.01 mg 盐酸罗哌卡因, 加水定容制成低、中、高 3 种浓度(159.8、200.1、240.1 μg/ml)的溶液;取 1 ml 溶液置于 10 ml 容量瓶, 再分别加入“2.2.1”项下的盐酸利多卡因储备液 1.0 ml, 用蒸馏水稀释定容;按“2.2.2”项下色谱条件进样测定峰面积, 计算得低、中、高 3 种浓度盐酸罗哌卡因的加样回收率分别为 (99.58 ± 0.20)%、(97.80 ± 0.35)%、(103.60 ± 0.63)%, n = 3。结果表明, 该方法准确度高。

**2.2.6 重复性实验** 取盐酸罗哌卡因温敏凝胶注射剂 6 份, 按“2.2.1”项下(2)制备样品溶液, 测定峰面积, 计算得到 RSD 为 0.36%, n = 6, 表明该方法重复性良好。

(下转第 383 页)

### 3 讨论

3.1 根据文献报道<sup>[4]</sup>,维生素C在水溶液中极易被氧化,按文献报道<sup>[3]</sup>,可采用0.1%硫代硫酸钠-0.03 mol/L磷酸氢二铵(1:1)溶解样品,经实验,维生素C与维生素B<sub>1</sub>在pH 3.0酸性条件下较稳定。

3.2 参考文献报道<sup>[3]</sup>的流动相,并在0.03 mol/L磷酸氢二铵溶液中加入离子对抑制剂庚烷磺酸钠,以延长维生素B<sub>1</sub>的保留时间。在梯度比例不变的情况下,发现采用加入0.01%庚烷磺酸钠的方法既可使维生素C达到较好的分离,亦可使维生素B<sub>1</sub>能较快洗脱。

3.3 对样品进样浓度选择实验中,维生素C的浓度为0.2 mg/ml,进样量为10 μl较适合,且维生素B<sub>1</sub>的峰响应值较好。笔者试用了5种不同品牌的

色谱柱,Insteril ODS-3 色谱柱的分离效果较好,且可耐受含维生素C的浓度至0.5 mg/ml。

### 【参考文献】

- [1] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学[M].第17版.北京:人民卫生出版社,2011:778.
- [2] 国家药典委员会.《国家药品标准》化学药品地方标准上升国家标准第三册[S].2002:3.
- [3] 何笑荣,姜文清,霍秀颖,等.RP-HPLC法同时测定利明滴眼液中维生素C和维生素B<sub>1</sub>的含量[J].中国药房,2012,23(17):1613.
- [4] 张爽,张华,赵思奇.维生素C稳定性紫外分光光度测定法的建立[J].黑龙江医药,2008,21(1):26.

[收稿日期]2012-07-27

[修回日期]2013-01-21

(上接第367页)

2.2.7 含量测定 取3批盐酸罗哌卡因温敏凝胶注射剂样品(规格20 mg/g,批号分别为120601、120602、120603),按“2.2.1”项下(2)的处理方法制备成样品溶液,按“2.2.2”项下色谱条件测定峰面积。根据内标标准曲线方程计算得3批样品中盐酸罗哌卡因的平均含量分别为标示量的(98.92 ± 0.35)%、(99.18 ± 0.38)%、(98.72 ± 0.62)%,*n* = 3,均在标示量的95% ~ 105%之间,符合含量测定要求。

### 3 讨论

温敏凝胶在室温下是流动性液体,易于保存,使用方便;在达到人体正常温度时发生相变形成半固体凝胶,从而实现缓慢释药的目的。因此,相变温度是温敏凝胶最重要的指标之一,若相变温度过低,则保存不易,且注射时不方便;若相变温度过高,则在人体中无法形成半固体凝胶,就没有足够的缓释作用,还会造成局部药物浓度过大。盐酸罗哌卡因能溶于水,但其在温敏凝胶中的含量受凝胶的辅料用量影响较大,本法制备的温敏凝胶中盐酸罗哌卡因含量已接近其最大溶解量,而盐酸罗哌卡因的加入对该温敏凝胶的相变温度影响不大。盐酸罗哌卡因温敏凝胶注射剂能够在体温37℃情况下形成半固体凝胶,从而维持较长时间的有效药物浓度,但其在体内的具体缓释时间有待进一步验证,可望给心脏外科手术的术后止痛等提供一种新的缓释注射剂。

HPLC流动相对于内标物质和待测物质的出峰时间、峰形和分离度等有很大的影响。本实验参考

陆松伟等<sup>[5]</sup>研究采用乙腈-0.02 mol/L磷酸二氢钠-三乙胺(48:52:0.15)为流动相,用磷酸调节pH至3.15,内含0.015 mol/L十二烷基硫酸钠(SDS)作为离子对试剂,不仅延长了药物在非极性固定相中的保留时间,而且减少了色谱峰的拖尾现象,改善了色谱分离的效果。盐酸罗哌卡因在pH 6.0以上难溶,在碱性溶液中会产生沉淀,因此利用磷酸调节合适的pH非常重要。笔者所建立的HPLC法,专属性高,线性关系良好,回收率、精密度、重复性均符合要求,可用于盐酸罗哌卡因温敏凝胶注射剂的质量控制。

### 【参考文献】

- [1] Akoglu E, Akkurt BC, Inanoglu K, et al. Ropivacaine compared to bupivacaine for post-tonsillectomy pain relief in children: A randomized controlled study[J]. In J Pediatr Otorhinolaryngol, 2006,70(7):1169.
- [2] 项佳音,杨洪军,熊欣,等.常见温度敏感型原位凝胶载体的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(2):252.
- [3] Seo HJ, Kim JC. Effects of additives on phase transitions of Poloxamer 407/Poloxamer 188 mixture and release property of monolein cubic phase containing the poloxamers[J]. J Ind Eng Chem, 2012,18(1):88.
- [4] 陈钢,侯世祥,秦凌浩.动态流变实验评价温敏凝胶的方法研究[J].中国药学杂志,2008,43(6):444.
- [5] 陆松伟,朱全刚,陈方剑,等.用RP-HPLC法测定三利乳膏中盐酸利多卡因的含量[J].药学服务与研究,2011,11(4):291.

[收稿日期]2012-10-17

[修回日期]2013-03-13