

# 风湿痹痛胶囊质量标准\*

黄木土, 林兰兰, 谢新民, 肖俊峰, 韩丽萍

(广州军区广州总医院药学部, 广州 510010)

**摘要** 目的 建立风湿痹痛胶囊的质量标准。方法 采用薄层色谱法对风湿痹痛胶囊中羌活、独活、防风进行定性鉴别;薄层色谱法对黑顺片进行乌头碱限量检查;采用高效液相色谱法测定制剂中羌活主要成分异欧前胡素的含量。结果 薄层法色谱鉴别专属性强,斑点清晰,阴性无干扰;乌头碱限量符合《中华人民共和国药典》2010年版要求;异欧前胡素在  $3.668\ 96\sim 183.448\ 00\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  范围内线性关系良好( $r=1$ ),平均加样回收率 96.42%,RSD=2.64%。结论 该方法专属性强,稳定性好,重复性好,可有效控制风湿痹痛胶囊质量。

**关键词** 风湿痹痛胶囊;羌活;色谱法,薄层;色谱法,高效液相

中图分类号 R286;TQ460.1

文献标识码 B

文章编号 1004-0781(2017)07-0786-04

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.07.016

## Quality Standard of Fengshi Bitong Capsule

HUANG Mutu, LIN Lanlan, XIE Xinmin, XIAO Junfeng, HAN Liping (Department of Pharmacy, General Hospital of Guangzhou Military Command, Guangzhou 510010, China)

**ABSTRACT Objective** To establish the quality standard of Fengshi Bitong Capsule. **Methods** *Notopterygh Rhizoma*, *Angelicae Pubescentis*, and *Saposhnikovia Radix* were identified by thin layer chromatography (TLC). Aconitine limit test in this drug also carried out by TLC. The contents of Isoimperatorin in the *Notopterygh Rhizoma* were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results** The spots in the TLC were fairly clear and no interference was shown in the blank samples. The aconitine limited in conformity with the 《Chinese Pharmacopoeia》 2010. Isoimperatorin showed a good linear relationship within a range of  $3.668\ 96\sim 183.448\ 00\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  ( $r=1$ ). The average of recovery was 96.42%, RSD=2.64%, respectively. **Conclusion** The established methods are highly specific, stable and reproducible, which can be used as quality control of fengshi bitong capsule.

**KEY WORDS** Fengshi bitong capsule; *Notopterygh Rhizoma*; Chromatography, thin layer; Chromatograph, high performance liquid

风湿痹痛胶囊是根据广州军区广州总医院老中医验方进行研发和自行配制的中药制剂[批准文号:广制字(2011)F01011],由羌活、独活、秦艽、防风、乌梢蛇、黑顺片等13味中药组方。本方羌活为君药,对淋巴细胞增殖具有明显抑制作用,具有解热镇痛、抗炎、抗过敏及抗心肌缺血等作用<sup>[1-3]</sup>,是临床治疗风湿性关节炎的常用药,为保证临床用药安全性和有效性,参照《中华人民共和国药典》规定和相关文献报道<sup>[4-9]</sup>,笔者建立风湿痹痛胶囊中羌活、独活和防风的薄层色谱(TLC)鉴别方法,采用高效液相色谱法测定制剂中异

欧前胡素的含量。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 十万分之一 BP211D 型电子天平(德国赛多利斯股份公司);HWS28 型电热恒温水浴箱(上海恒科仪器有限公司);Agilent 1100 高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司);二级管阵列检测器(G1315B,安捷伦科技有限公司) KPQ-1200 型超声波清洗器(1 200 W,40 kHz,广州科普有限公司)。

**1.2 试剂** 羌活对照药材(批号:120935-200405)、独活对照药材(批号:120940-200809)、防风对照药材(批号:120947-200907)、异欧前胡素对照品(批号:110827-201410,含量:99.7%)、羌活醇(批号:111820-201303,含量:99.8%),乌头碱对照品(批号:110720-201111,含量:98.8%),由中国食品药品检定研究院提供。风湿痹痛胶囊(本医院制剂,批号:14J02002,150304,150305)。乙腈为色谱纯,水为双重蒸馏水,其他试剂为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 薄层鉴别

**2.1.1 羌活鉴别** 取本品内容物 2 g,加乙醇 20 mL,

收稿日期 2016-03-27 修回日期 2016-04-22

**基金项目** \*军队医疗机构制剂标准提高计划-治疗内分泌代谢与老年病非标准制剂质量标准提高研究(14ZJZ15-3);广州市科技计划项目-广州市老年慢病患者合理用药重点实验室(201509010012)

**作者简介** 黄木土(1983-),男,福建泉州人,主管药师,硕士,研究方向:中药制剂开发及有效成分分析。电话:020-36652004,E-mail:huangmutu@126.com。

**通信作者** 韩丽萍(1958-),女,河北石家庄人,主任药师,硕士,研究方向:中药新药开发与利用。电话:020-88654456,E-mail:hanliping@163.com。

超声提取 30 min,滤过,滤液浓缩至 1 mL,作为供试品溶液。另取羌活对照药材 0.5 g,加乙醇 10 mL,同法制成对照药材溶液。另按处方取缺羌活药材,制备缺羌活阴性样品,取阴性样品 2 g,同法制成缺羌活阴性样品溶液。照薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录 VIB)实验,吸取上述 3 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(30~60  $^{\circ}$ C)-乙醚-醋酸(10:10:0.5)为展开剂,展开,展距约 8 cm,取出,晾干,置紫外灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性样品无相应斑点。薄层色谱结果表明,其他药材对羌活鉴别无影响。见图 1。

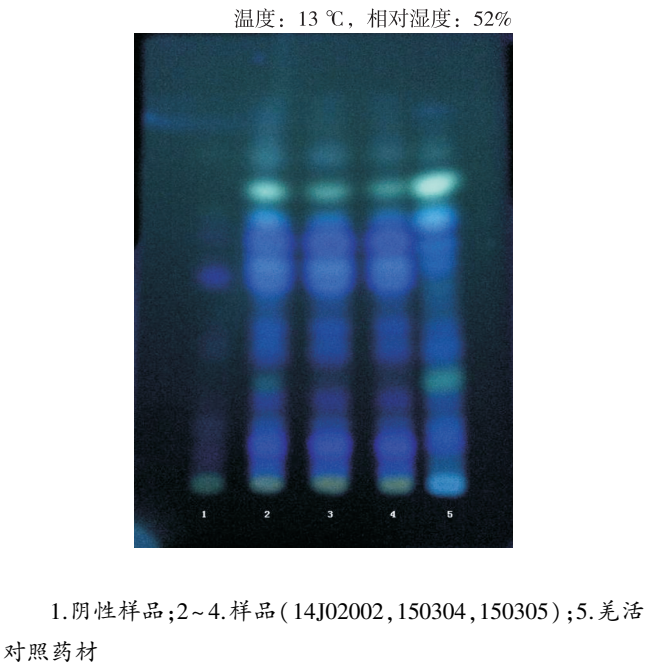


图 1 羌活 TLC 色谱图

1. negative sample; 2 - 4. samples (14J02002, 150304, 150305); 5. *Notopterygium Rhizoma* reference

Fig.1 TLC of *Notopterygium Rhizoma*

**2.1.2 独活鉴别** 取本品内容物 2 g,加乙醇 20 mL,超声提取 30 min,滤过,滤液浓缩至 1 mL,作为供试品溶液。另取独活对照药材 0.5 g,加乙醇 10 mL,同法制成对照药材溶液。另按处方取缺独活药材,制备缺独活阴性样品,取阴性样品 2 g,同法制成缺独活阴性样品溶液。照薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录 VIB)实验,吸取上述 3 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(30~60  $^{\circ}$ C)-乙醚-醋酸(10:10:0.5)为展开剂,展开约 8 cm,取出,晾干,喷以 8%磷钼酸乙醇溶液,在 105  $^{\circ}$ C 烘约 10 min,检视。供

试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性样品无相应斑点。薄层色谱结果表明,其他药材对独活鉴别无影响。见图 2。

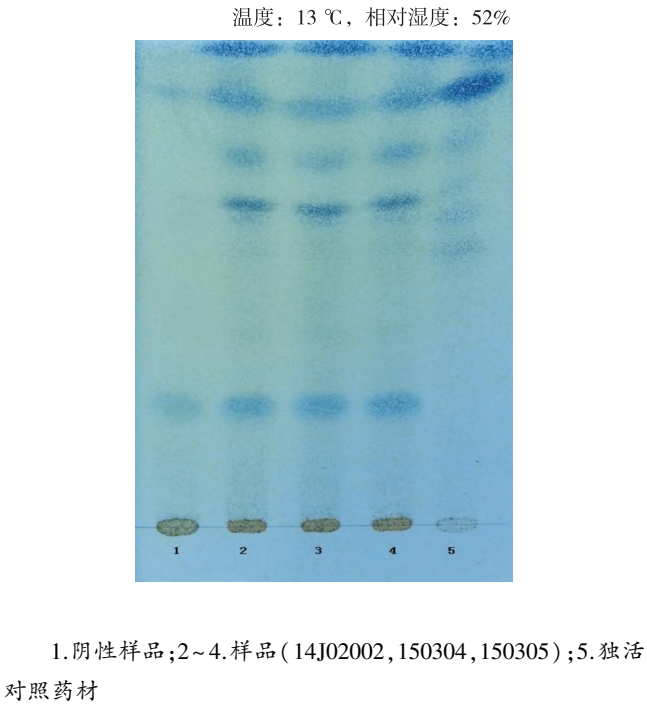


图 2 独活 TLC 色谱图

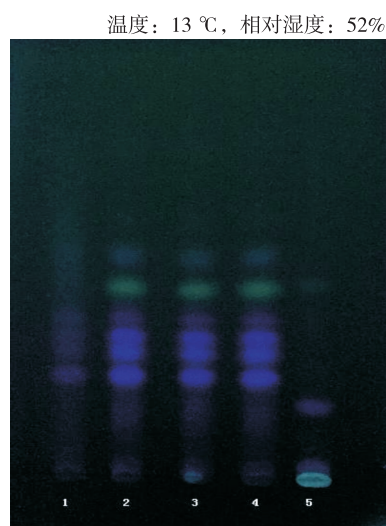
1. negative sample; 2 - 4. samples (14J02002, 150304, 150305); 5. *Angelicae Pubescentis* reference

Fig.2 TLC of *Angelicae Pubescentis*

**2.1.3 防风的鉴别** 取本品内容物 5 g,加 1%盐酸溶液 10 mL,混匀后移入分液漏斗,加石油醚(60~90  $^{\circ}$ C) 10 mL,振摇提取,分取石油醚层,蒸干,残渣加乙醇 1 mL溶解,作为供试品溶液。另取防风对照药材 0.5 g,加乙醇 10 mL,超声处理 10 min,滤过,滤液浓缩至 1 mL,作为对照药材溶液。另按处方取缺防风药材,制备阴性样品,取阴性样品 5 g,同法制成缺防风阴性样品溶液。照薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录 VIB)实验,吸取上述 3 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90  $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(8:2)为展开剂,展开约 8 cm,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性样品无相应斑点。薄层色谱结果表明,其他药材对防风鉴别无影响。见图 3。

**2.2 乌头碱限量检查** 取本品内容物 10 g,置表面皿中,加氨试液 4 mL,拌匀,放置 2 h,加乙醚 75 mL,振摇 1 h,放置 24 h,滤过,滤液蒸干,残渣加无水乙醇 1 mL

使溶解,作为供试品溶液。另取乌头碱对照品,加无水乙醇制成每毫升含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录 VI B)实验,吸取供试品溶液 12  $\mu\text{L}$ 、对照品溶液 5  $\mu\text{L}$ ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以苯-乙酸乙酯-二乙胺(14:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以改良的碘化铋钾试液。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上出现的斑点不出现斑点。乌头碱的含量满足《中华人民共和国药典》2010 年版限量要求。见图 4。



1. 阴性样品; 2~4. 样品(14J02002, 150304, 150305); 5. 防风对照药材

图 3 防风 TLC 色谱图

1. negative sample; 2 ~ 4. samples (14J02002, 150304, 150305); 5. *Saposhnikovia divaricata* reference

Fig.3 TLC of *Saposhnikovia divaricata*

## 2.3 含量测定方法

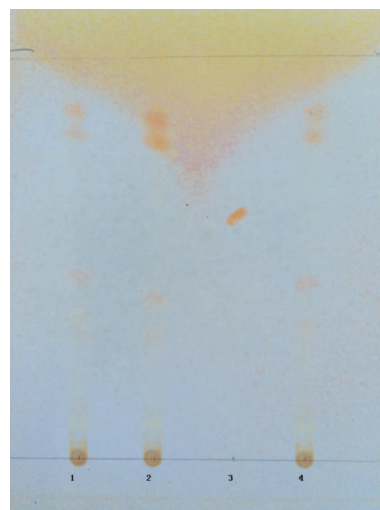
**2.3.1 色谱条件** 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以乙腈-水(41:59)为流动相,检测波长 310 nm,流速为 1.0  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ 。理论板数按异欧前胡素峰计算应不低于 3 000。

**2.3.2 对照品贮备液** 取异欧前胡素对照品 18.40 mg 精密称定,置 100 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制得含异欧前胡素为 183.448  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的贮备液。

**2.3.3 供试品溶液制备** 取胶囊粉内容物 5 g(相当于胶囊 10 粒),精密称定,置具塞三角瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 30 min,取出,放冷,再称定质量,以甲醇补足质量,摇匀,滤过,续滤液为供试品溶液。

**2.3.4 阴性对照溶液** 取不含羌活的阴性样品适量 5.0 g,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。

温度: 13  $^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度: 52%



1. 样品 14J02002; 2. 样品 150304; 3. 乌头碱对照品; 4. 样品 150305

图 4 乌头碱 TLC 色谱图

1. sample 14J02002; 2. sample 150304; 3. aconitine reference of; 4. sample 150305

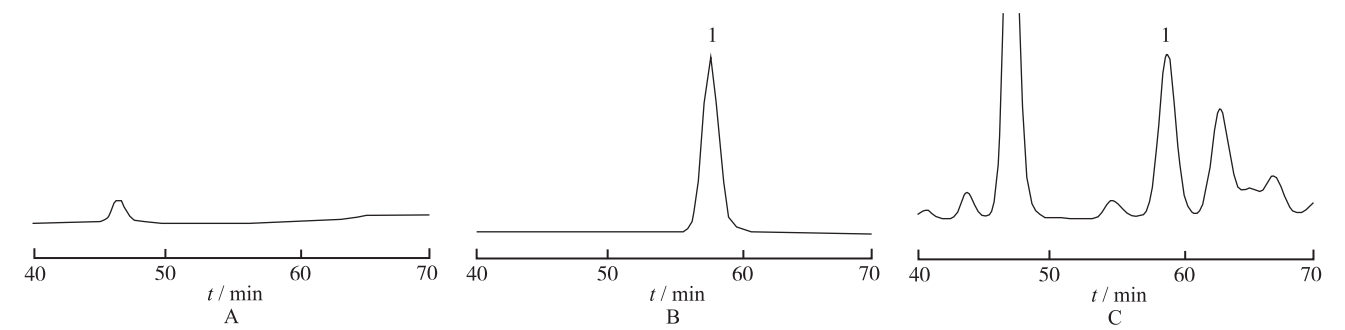
Fig.4 TLC of aconitine in limit test

**2.3.5 专属性实验** 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,注入高效液相色谱仪,记录色谱图。可见在供试品溶液色谱中,与对照品溶液色谱相应位置上有相同保留时间的色谱峰,阴性对照溶液在此保留时间无相应色谱峰。实验结果表明该制剂中除羌活外的其他药材对异欧前胡素的含量测定没有干扰,阴性对照溶液未见异欧前胡素的色谱峰,该方法具有专属性(图 5)。

**2.3.6 线性关系考察** 精密吸取对照品贮备液适量,制成含有异欧前胡素浓度分别为 3.668 96, 7.337 92, 14.675 84, 36.689 60, 73.379 2, 183.448 00  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  对照品溶液。依次注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积( $Y$ )为纵坐标,浓度( $X$ )为横坐标,进行线性回归,得异欧前胡素回归方程为  $Y = 21.004X - 9.3413$ ,  $r = 1.0000$  ( $n = 6$ ),异欧前胡素浓度在 3.668 96~183.448 00  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内与其峰面积线性关系良好。

**2.3.7 精密度实验** 精密吸取混合对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,重复进样 5 次,测定峰面积。结果显示,异欧前胡素峰面积  $\text{RSD} = 0.67\%$  ( $n = 5$ ),表明高效液相色谱仪精密度良好。





A. 阴性对照溶液;B. 对照品溶液;C. 样品溶液;1. 异欧前胡素

图 5 3 种溶液的高效液相色谱图

A. negative control solution;B. reference solution;C. sample solution;1. isoimperatorin

Fig.5 HPLC Chromatograms of three kinds of solution

**2.3.8 稳定性实验** 取同一供试品溶液,分别于第 0, 2,4,8,12,18 h 进样,测定峰面积。结果显示,异欧前胡素峰面积 RSD=1.94%(n=6),表明 18 h 内样品稳定性良好。

**2.3.9 重复性实验** 取同一批样品(批号:14J02002)6 份各 5.0 g,按供试品制备方法制备供试品溶液,测定峰面积。结果显示,样品中异欧前胡素平均含量分别为 0.335 4 mg·g<sup>-1</sup>,RSD 为 1.91%(n=6),该方法可重复。

**2.3.10 加样回收率实验** 分别精密称取已知含量样品(约 3.0 g)6 份(批号:14J02002),取其中 5 份分别精密加入对照品异欧前胡素 0.917 24 mg,按供试品溶液制备方法制备溶液,测定含量,计算回收率。平均加样回收率为 96.42%,RSD=2.64%。满足含量测定的回收率要求。见表 1。

表 1 异欧前胡素加样回收率实验结果				
Tab.1 Result of recovery test of isoimperatorin n=5				
取样量/ g	样品量	加入量 mg	测得量	回收率/ %
3.000 8	0.981	0	0.981	
3.029 7	0.990	0.917 24	1.860	94.85
3.054 8	0.998	0.917 24	1.877	95.83
3.009 8	0.984	0.917 24	1.854	94.85
3.008 0	0.983	0.917 24	1.861	95.72
3.040 7	0.994	0.917 24	1.919	100.85

**2.4 样品含量测定** 取 3 批样品各 3.0 g,精密称定,分别按供试品制备方法制备样品溶液,测定峰面积,计算异欧前胡素含量。3 批次样品每粒胶囊含异欧前胡素的量分别为 0.167 5,0.162 2,0.172 9 mg。

3 讨论

笔者在本实验中提供的研究方法操作简便,结果准确,重复性好,可用于该制剂的质量控制。

羌活主要成分为羌活醇和异欧前胡素,经高效液相色谱法分析<sup>[4]</sup>,样品中未见羌活醇相应色谱峰。羌活醇为不稳定物质,容易受温度等影响,推测该成分在产品的提取纯化过程中已经损耗,以至无法再进行定量检测,其损耗的过程及程度有待进一步研究。

参照《中华人民共和国药典》2010 年版一部各药材项下鉴别项,分别考察了样品制备方法、展开条件等研究内容,最后确定了优化方法,实验结果表明薄层鉴别色谱图斑点分离清楚,重复性好,阴性无干扰,可进行定性鉴别。

参考文献

[1] 陈智煌,廖华军,刘晨,等.羌活挥发油的 GC-MS 分析及其抗炎镇痛的药理作用初探[J].海峡药学,2015,27(8):20-23.

[2] 李芸达,颜祖弟,黄涛,等.羌活不同提取物对小鼠缺血缺氧的保护作用[J].中国医院药学杂志,2015,35(4):296-299.

[3] 王连荣,吴伟康.25 味中药对小鼠类风湿性关节炎脾脏淋巴细胞增殖反应的影响[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(6):234-236.

[4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:中国医药科技出版社,2010:170-171.

[5] 刘庆焕,傅予,王文彤.高效液相色谱法测定养血生发胶囊中羌活醇和异欧前胡素的含量[J].天津中医药,2014,31(11):693-695.

[6] 鱼江,封家福,曾邦国.HPLC 测定羌活药材中羌活醇和异欧前胡素含量的效果分析[J].重庆医学,2014,43(35):4769-4773.

[7] 周刚,马宝花.独活的研究进展[J].中国当代医药,2012,19(16):15-16.

[8] 许良葵,聂阳.中风活心软胶囊的薄层鉴别研究[J].中国当代医药,2015,22(5):9-11.

[9] 谢嗽,赵庆华,巩伟.独藤丸质量标准研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(4):143-145.