

# 颈痹合剂的质量标准研究

魏晓舒<sup>1\*</sup>, 刘燕<sup>2</sup>, 张敏娟<sup>2</sup>(1.江苏省无锡药品检验所, 江苏无锡 214028; 2.无锡市中医医院药剂科, 江苏无锡 214071)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)33-4721-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.33.40

**摘要** 目的:建立颈痹合剂的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对制剂中羌活、木香、葛根进行鉴别;根据药典方法测定相对密度与pH;采用高效液相色谱法测定制剂中葛根素含量。色谱柱为XTerra® RP18,流动相为乙腈-0.05%磷酸(10:90, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为250 nm,柱温为25 ℃,进样量为10 μl。结果:羌活、木香、葛根的TLC图斑点清晰,分离度好。制剂相对密度为1.08, pH为4.5。葛根素检测质量浓度线性范围为2.079~33.26 μg/ml( $r=0.999\ 8$ );精密性、重复性、稳定性试验的RSD<1.0%;加样回收率为99.50%~100.50%(RSD=0.42%,  $n=6$ )。结论:该方法操作简便、重复性好,可用于颈痹合剂的质量控制。

**关键词** 颈痹合剂;薄层色谱法;高效液相色谱法;质量控制;葛根素

## Study on the Quality Standard for Jingbi Mixture

WEI Xiao-shu<sup>1</sup>, LIU Yan<sup>2</sup>, ZHANG Min-juan<sup>2</sup>(1.Wuxi Institute for Drug Control, Jiangsu Wuxi 214028, China; 2.Dept. of Pharmacy, Wuxi Municipal Hospital of TCM, Jiangsu Wuxi 214071, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish quality standard for Jingbi mixture. METHODS: TLC was adopted to identify the *Notopterygii Rhizoma et Radix*, *Aucklandia lappa* and *Pueraria lobata* and determine the relative density and pH according to pharmacopoeia method. HPLC was adopted to determine the content of puerarin. Column was XTerra® RP18 with mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphoric(10:90, V/V) at flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 250 nm, column temperature was 25 ℃ and volume injection was 10 μl. RESULTS: TLC of *Notopterygii Rhizoma et Radix*, *A. lappa* and *P. lobata* showed clear spots and good separation. The relative density was 1.08, and pH was 4.5. The linear range of puerarin was 2.079-33.26 μg/ml( $r=0.999\ 8$ ); RSDs of precision, reproducibility and stability tests were lower than 1.0%; recovery was 99.50%-100.50%(RSD=0.42%,  $n=6$ ). CONCLUSION: The method is simple and good reproducibility, and can be used for the quality control of Jingbi mixture.

**KEYWORDS** Jingbi mixture; TLC; HPLC; Quality control; Puerarin

颈痹合剂是无锡市中医医院自制制剂,由羌活、葛根、木香等多味中药加工而成。该处方是成形的经验方,具有祛风除湿活血通络的功效,适用于风寒湿痹为主的颈型和神经根

型颈椎病的治疗<sup>[1-2]</sup>。根据难治性疾病中药制剂的研发思路<sup>[3]</sup>,并且根据《医疗机构制剂配制监督管理办法(试行)》<sup>[4]</sup>和《医疗机构制剂注册管理办法》<sup>[5]</sup>要求,本着确保特色制剂质量、提升

溶液超声提取45 min时延胡索乙素和迷迭香酸的提取效率最高<sup>[7]</sup>。

### 3.2 柱温的选择

取同一供试品溶液适量,分别在25、28、30 ℃下试验,结果均能达到基线分离,但25 ℃时迷迭香酸的出峰时间过长,30 ℃时延胡索乙素和相邻峰的分度不理想,故选择28 ℃为本研究的柱温。

### 3.3 检测波长的选择

根据延胡索乙素和迷迭香酸紫外吸收扫描结果可知,两者分别在282、330 nm波长处有最大吸收。故为了提高测定灵敏度,本试验采用了切换检测波长。结果显示,该方法具有较高的灵敏度,提高了检测结果的准确性。

综上所述,该方法操作简便,快速易行,结果准确、可靠,可作为消核灵胶囊中延胡索乙素和迷迭香酸的含量测定方法。

## 参考文献

[1] 李永溟,尹可华,戴翔铃.HPLC法测定消核灵胶囊中熊

果酸的含量[J].重庆医学,2002,31(11):1 145.

[2] 国家药典委员会编.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:263、525-527.

[3] 花汝凤,姚江雄,黎志坚,等.HPLC同时测定夏桑菊颗粒中迷迭香酸与异迷迭香酸苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(24):75.

[4] 徐婷,曹惠明,金昔陆,等.延胡索乙素临床应用的研究进展[J].上海中医药大学学报,2000,14(4):60.

[5] 王晓玲,郑振,洪战英,等.中药延胡索的化学成分与质量控制研究进展[J].时珍国医国药,2011,22(1):227.

[6] 王发,张秉华,郭欢迎.HPLC法测定复方甘草麻黄碱片中盐酸麻黄碱和延胡索乙素的含量[J].药物分析杂志,2010,30(3):541.

[7] 陈玲玲,朱德全,蔡月娥,等.正交试验优化溪黄草中咖啡酸和迷迭香酸的超声提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(12):12.

\*主任药师。研究方向:药品质量分析。电话:0510-66112737。  
E-mail:weixiaoshu.2007@163.com

(收稿日期:2014-10-23 修回日期:2015-08-27)

(编辑:陈宏)

医院制剂标准的宗旨,笔者采用薄层色谱(TLC)法对紫花前胡苷、去氢木香内酯、葛根素进行定性鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法对葛根的主要有效成分葛根素进行含量测定,并分析了制剂的相对密度、pH,为其质量控制提供一定参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1200型HPLC仪,包括紫外检测器(美国Agilent公司);AG-285型电子天平、XP-6型电子天平、MP220型pH计(瑞士Mettler-Toledo公司);ZF-20D型暗箱式紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂)。

### 1.2 药品与试剂

颈痲合剂(无锡市中医医院自制,批号:110302、110927、110928、120104、120105、120106,规格:500 ml/瓶);葛根素对照品(批号:110752-200912,纯度:96%)、去氢木香内酯对照品(批号:111525-200505,纯度>98%);紫花前胡苷对照品(批号:111821-201102,纯度>98%)均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂)乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 定性鉴别

2.1.1 羌活 取样品20 ml,加乙醚振摇提取2次(每次20 ml),合并乙醚液备用;水液加水饱和正丁醇振摇提取2次(每次20 ml),合并正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇2 ml使溶解,作为供试品溶液。取紫花前胡苷对照品适量,加甲醇溶解制成每1 ml含0.5 mg的对照品溶液。按处方及制备工艺制备羌活的阴性对照样品,按上述供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按上述TLC法[2010年版《中国药典》(一部)附录VIB]试验,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,以三氯甲烷-甲醇(4:1, V/V)为展开剂,置氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图1A。

2.1.2 木香 取“2.1.1”项下乙醚液,低温挥去乙醚,残渣加三氯甲烷2 ml使溶解,作为供试品溶液。取去氢木香内酯对照品适量,加三氯甲烷溶解制成每1 ml含0.5 mg的对照品溶液。按处方及制备工艺制备羌活的阴性对照样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2010年版《中国药典》(一部)附录VIB]试验,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,以环己烷-甲苯-乙酸乙酯(2:1:1, V/V/V)为展开剂,置氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,喷以1%香草醛硫酸溶液,热风吹至斑点显色清晰,置日光下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图1B。

2.1.3 葛根 取样品30 ml,用氢氧化钠调pH至9~10,加乙酸乙酯振摇提取2次(每次20 ml),弃去乙酸乙酯液;水液加稀盐酸调pH至5~6,用乙酸乙酯振摇提取2次(每次30 ml),合并提取液,经无水硫酸钠2 g滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇2 ml使溶解,作为供试品溶液。按处方及制备工艺制备羌活的阴性对照样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。取葛根素对照品适量,加甲醇制成每1 ml含0.5 mg的对照品溶液。吸取上述溶液各10  $\mu$ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(7:2.5:0.25, V/V/V)为展开剂,展开,取

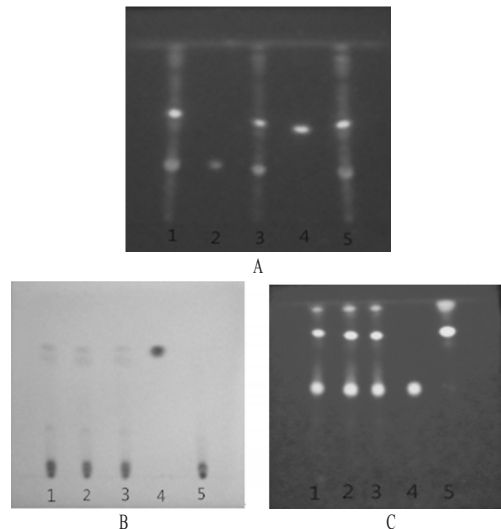


图1 薄层色谱图

A.羌活[1、3、5.供试品(批号:120104、120105、120106);2.阴性对照;4.对照品];B.木香[1~3.供试品(批号:120104、120105、120106);4.对照品;5.阴性对照];C.葛根[1~3.供试品(批号:120104、120105、120106);4.对照品;5.阴性对照]

### Fig 1 TLC chromatograms

A. *Notopterygium Rhizoma et Radix*[1.3.5.test samples (batch number: 120104, 120105, 120106); 2.negative control; 4.reference substance]; B. *Aucklandia lappa*[1-3.test samples (batch number: 120104, 120105, 120106); 4.negative control; 5.reference substance]; C. *Pueraria lobata* [1-3. test samples (batch number: 120104, 120105, 120106); 4.negative control; 5.reference substance]

出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰,详见图1C。

### 2.2 相对密度和pH测定

按2010年版《中国药典》(一部)附录VII A 相对密度测定法比重瓶法测定样品的相对密度。结果显示,6批样品的相对密度平均值为1.08, RSD为0.6%( $n=6$ )。按2010年版《中国药典》(一部)附录VII G pH测定法测定样品pH。结果显示,6批样品pH平均值为4.5, RSD为1.5%( $n=6$ )。

### 2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: XTer-ra<sup>®</sup>RP18 (250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 乙腈-0.05%磷酸(10:90, V/V); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 250 nm; 柱温: 25  $^{\circ}$ C; 进样量: 10  $\mu$ l。当信噪比为12:1、3.9:1时,葛根素定量限、检测限分别为0.33、0.17  $\mu$ g/ml。在上述色谱条件下,理论板数以葛根素峰计应不低于5 000,分离度应不小于1.5,详见图2。

2.3.2 对照品溶液的制备 分别精密称取葛根素对照品1.257、1.732 mg,用30%乙醇分别制成每1 ml含葛根素0.120 7、0.166 3 mg的对照品贮备液I、II。精密吸取对照品贮备液I适量,用30%乙醇制成每1 ml含葛根素6.034  $\mu$ g的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密吸取样品5 ml,置于100 ml量瓶中,用30%乙醇定容,摇匀,静置1 h,取上清液,滤过;精密吸取续滤液1 ml,置于10 ml量瓶中,用30%乙醇定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.4 阴性对照溶液的制备 取不含葛根的其他药味各适

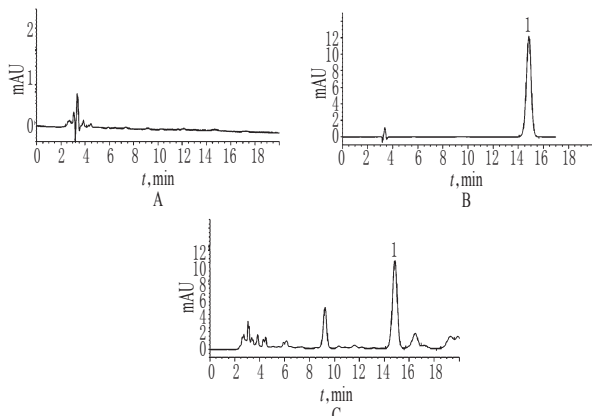


图2 高效液相色谱图

A.阴性对照;B.对照品;C.供试品;1.葛根素

Fig 2 HPLC chromatograms

A.negative control; B.reference substance; C.test sample; 1.puerarin

量,按颈痹合剂的制备工艺制成缺葛根的阴性样品,再按“2.3.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3.5 线性关系考察 分别精密量取“2.3.2”项下葛根素对照品贮备液Ⅱ适量,用30%乙醇制成质量浓度分别为33.26、16.63、8.315、4.158、2.079 μg/ml的系列对照品溶液。精密吸取上述系列对照品溶液各10 μl,按“2.3.1”项下色谱条件进样6次测定,记录峰面积。以葛根素质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=44.048x-14.042$ ( $r=0.9998, n=6$ )。结果表明,葛根素检测质量浓度线性范围为2.079~33.26 μg/ml。

2.3.6 精密度试验 取“2.3.2”项下对照品溶液适量,按“2.3.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,葛根素峰面积的RSD为0.14%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

2.3.7 稳定性试验 取“2.3.3”项下供试品(批号:110302)溶液适量,分别于放置0、3、6、9、12 h时进样测定,记录峰面积。结果,葛根素峰面积的RSD为0.2%( $n=5$ ),表明供试品溶液在12 h内基本稳定。

2.3.8 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:110302)适量,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,葛根素峰面积的RSD为0.2%( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

2.3.9 加样回收率试验 取已含量的样品(批号:110302)适量,共6份,分别加入一定量葛根素对照品,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 1 Results of recovery test( $n=6$ )

取样量, ml	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
1	1.398	1.394	2.787	99.64	99.87	0.42
1	1.398	1.394	2.789	99.78		
1	1.398	1.394	2.785	99.50		
1	1.398	1.394	2.785	99.50		
1	1.398	1.394	2.796	100.29		
1	1.398	1.394	2.799	100.50		

2.3.10 样品含量测定 取6批样品各适量,分别按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,

计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果( $n=3$ )

Tab 2 Results of content determination of samples( $n=3$ )

批号	葛根素含量, mg/ml
110302	1.398
110927	1.635
110928	1.615
120104	1.580
120105	1.545
120106	1.605

### 3 讨论

颈痹合剂属多组分制剂,其中主药羌活中紫花前胡苷、木香中去氢木香内酯和葛根中葛根素均具有鉴别的特征性意义,而处方中其他药材均不含这些特征成分<sup>[6]</sup>,因此选择这三种成分进行TLC鉴别。经过对供试品溶液前处理、展开剂的选择及显色方式筛选,该色谱结果专属性较强、斑点清晰、阴性对照无干扰,这对原药材的质量及制备工艺都起到了监督作用。

有研究报道,HPLC测定颈痹颗粒中葛根素含量时流动相采用甲醇-水(25:75, V/V)<sup>[7]</sup>。本研究的预试验结果表明,针对以水为溶剂的供试品溶液,应采用乙腈-水配比的流动相,用适量磷酸调节可使葛根素峰形对称,清除杂峰能力增强,重现性较好。当水比例占很大部分时,不宜采用一般的ODS色谱柱,而利用屏蔽技术的XTerra® RP色谱柱有很好的水浸润性,即便是使用100%的水溶液作为流动相,亦可获得稳定的色谱结果。2010年版《中国药典》(一部)规定:葛根药材按干燥品计算,葛根素含量不得少于2.4%<sup>[8]</sup>,这为制定颈痹合剂中葛根素定量指标提供了参考依据,也给制备工艺提出了新要求。

综上所述,该方法操作简便、重复性好,可用于颈痹合剂的质量控制。

### 参考文献

- [1] 张兴国,周文浩.颈痹合剂治疗颈型及神经根型颈椎病80例临床观察[J].长春中医药大学学报,2011,27(2):263.
- [2] 吴震海.颈痹合剂治疗颈型及神经根型颈椎病的疗效观察[J].临床合理用药,2012,5(3A):79.
- [3] 宋洪涛,张晶,周欣,等.当前医院制剂发展策略与研发思路探讨[J].中国药房,2009,20(13):999.
- [4] 国家食品药品监督管理局.医疗机构制剂配制监督管理办法:试行[S].2005-06-01.
- [5] 国家食品药品监督管理局.医疗机构制剂注册管理办法:试行[S].2005-08-01.
- [6] 肖培根.新编中药志:第一卷[M].北京:化学工业出版社,2002:121.
- [7] 何建华,钱永昌,许勇.HPLC测定颈痹颗粒中葛根素的含量[J].海峡药学,2005,17(6):81.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:313.

(收稿日期:2015-02-15 修回日期:2015-06-18)

(编辑:张静)