

# 骨痹息痛巴布膏的质量标准研究

童学飞<sup>a</sup>, 吴雪<sup>a</sup>, 杜学辉<sup>b</sup>

(十堰市中医医院 a. 神农武当中医药研究所, b. 疼痛科, 湖北 十堰 442012)

**摘要:**目的 建立骨痹息痛巴布膏的质量标准。方法 采用薄层色谱法对其中的青风藤和延胡索等药材进行了鉴别, 高效液相色谱法对其中的盐酸巴马汀进行含量测定。色谱柱: InertSustain C<sub>18</sub> (5 μm, 4.6 mm × 250 mm); 流动相: 乙腈-0.4% 磷酸溶液 (30:70); 检测波长: 345 nm; 柱温: 30 °C; 流速: 1 mL · min<sup>-1</sup>。结果 制定了骨痹息痛巴布膏中青风藤和延胡索等药材的薄层鉴别方法和盐酸巴马汀的含量测定方法。结论 该分析方法简便可靠、重现性好, 基本可控制骨痹息痛巴布膏的质量。

**关键词:** 骨痹息痛巴布膏; 质量标准; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2017.01.006

## Quality standard of gubixitong babu plaster

TONG Xuefei<sup>a</sup>, WU Xue<sup>a</sup>, DU Xuehui<sup>b</sup>

(a. Research Institute of Traditional Pharmacy,

b. Department of Pain Clinic, Shiyan TCM Hospital, Shiyan, Hubei 442012, China)

**Abstract:** Objective To establish the quality standard of Gubixitong Babu Plaster. Methods TLC was adopted to identify the medicinal materials of Sinomenii Caulis and Corydalis in Gubixitong Babu Plaster. HPLC was applied to determinate the content of palmatine hydrochloride in Gubixitong Babu Plaster. The InertSustain C<sub>18</sub> (5 μm, 4.6 mm × 250 mm) was adopted with the Mobile Phase of acetonitrile-0.4% phosphoric acid solution (30:70). The detection wavelength was set at 345 nm with a column temperature of 30 °C and a flow rate of 1 mL · min<sup>-1</sup>. Results TLC of identifying the medicinal materials of Sinomenii Caulis and Corydalis and HPLC of determining the content of palmatine hydrochloride in Gubixitong Babu Plaster were formulated. Conclusions The method is simple, reliable and reproducible for the quality control of Gubixitong Babu Plaster.

**Key words:** Gubixitong Babu Plaster; Quality standard; TLC; HPLC

骨痹息痛巴布膏是由青风藤、延胡索、雷公藤等 13 味中药组成的复方制剂, 具有散结消肿、通络止痛、祛风除湿之功效, 临床用于治疗膝关节炎效果显著。青风藤能有效祛风除湿, 通经络, 利小便, 临床上多用于风湿性关节炎、肢体疼痛等; 青风藤中的有效成分青藤碱, 结构近似吗啡, 抗炎镇痛作用显著, 且无成瘾性, 治疗类风湿性关节炎效果良好<sup>[1-2]</sup>。延胡索是传统的止痛良药, 具有行气、止痛、活血的功效, 临床多用于胸胁痛, 脘腹疼痛, 跌扑肿痛等; 延胡索中所含的大量生物碱具有很强的镇静、镇痛、降压及抗心律失常作用; 新的研究表明, 延胡索还具有抗心肌缺血、抗氧化、抗肿瘤、保肝等其他广泛的生理活性; 而延胡索乙素作为主要活性成分发挥药理作用, 由于生物碱极性大、挥发性弱且碱性较强, 以常规的高效液相色谱以及气相

色谱分析都存在一定的困难, 因此生物碱的质量控制研究一直面临较多的问题; 近年来, 随着毛细管电泳, 质谱等技术的广泛应用, 生物碱的分析方法有了较多的突破, 但具体应用于延胡索的并不多, 在定性鉴别方面, 薄层色谱依然占据着主导地位<sup>[3-4]</sup>。雷公藤有清热解毒, 泻火通便之功效, 主要用于治疗类风湿性关节炎等自身免疫性疾病, 见效快、疗效确切, 其他中药均不可完全替代, 但频繁报道有雷公藤在使用过程中引起的毒性反应事件, 而雷公藤化学成分复杂, 其生物碱类成分作为药用具有明显的免疫抑制作用, 也是治疗类风湿性关节炎的有效成分<sup>[5]</sup>。盐酸巴马汀为雷公藤中的有效化学成分。为了更好地控制骨痹息痛巴布膏的质量, 确保临床用药安全有效, 我们对其质量标准进行了研究, 采用薄层色谱法对其中的青风藤和延胡索等药材进行了鉴别, 高效液相色谱法对其中的盐酸巴马汀进行含量测定。

### 1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津 LC-2030 型高效液相色谱仪 (紫

基金项目: 2015 年十堰市科学技术研究与开发项目计划 (15Y66)

通信作者: 杜学辉, 女, 副主任医师, 研究方向: 中西医结合疼痛, E-mail: 2239069816@qq.com

外检测器), Good See-20E 薄层色谱成像系统, KQ5200DE 型数控超声波清洗器, HHS 型电热恒温水浴锅。

**1.2 试药** 骨痹息痛巴布膏(十堰市中医医院制剂室,批号 20151008、20151102、20151123),青风藤(批号:110774-200507)、延胡索乙素(批号:110726-201112)、盐酸巴马汀(批号:15032604)均购自中国药品生物制品检定所,乙腈(色谱纯),甲醇、乙醇、乙酸乙酯、丙酮、乙醚、甲苯、浓氨试液、磷酸、盐酸、碘化铍钾均为分析纯,碘、纯化水、硅胶 G 板。

## 2 方法与结果

### 2.1 薄层鉴别

**2.1.1 青风藤的薄层鉴别** 取骨痹息痛巴布膏 1 片,剪成小块,除去盖衬,加乙醇 50 mL,加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,加乙醇 1 mL 溶解残渣,作为供试品溶液<sup>[6]</sup>。另取青藤碱对照品 10 mg,加乙醇 10 mL 制成对照品溶液。按薄层色谱法(药典四部 0502)试验,吸取上述两种溶液各 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,配制苯-乙酸乙酯-甲醇-水(2:4:2:1)溶液于 10  $^{\circ}$ C 以下放置分层,取上层溶液为展开剂,置浓氨试液预饱和 20 min 的展开缸内展开,取出,晾干,喷以碘化铍钾试液。供试品色谱的一系列斑点中,其中一点与对照品处相同位置,且显相同颜色,提示供试品样品中含有青风藤。见图 1。

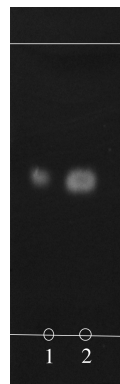


注:1. 供试品溶液;2. 青藤碱对照品溶液。

图 1 青风藤薄层鉴别色谱图

**2.1.2 延胡索的薄层鉴别** 取骨痹息痛巴布膏 1 片,剪成小块,除去盖衬,加甲醇 50 mL,超声 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,用浓氨试液调至碱性,加乙醚萃取 3 次,每次 10 mL,合并上层萃取液,挥尽溶剂,残渣用 1 mL 甲醇溶解,制成供试品溶液<sup>[7-8]</sup>。另取延胡索乙素对照品 5 mg,加甲醇 10 mL 制成对照品溶液。按薄层色谱法(中国药典四部 0502)试验,吸取供试品溶液及对照

品溶液各 2  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,用甲苯-丙酮(9:2)展开,取出,晾干,放入碘缸中约 3 min 后取出,挥尽吸附在板上的碘后,放于紫外灯(365 nm)下检视。在与对照品色谱相应的位置上,供试品色谱中显有相同颜色的荧光斑点,提示供试品样品中含有延胡索。见图 2。

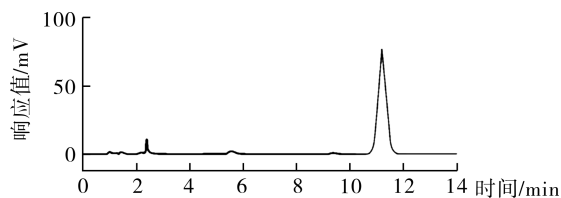


注:1. 供试品溶液;2. 延胡索乙素对照品溶液。

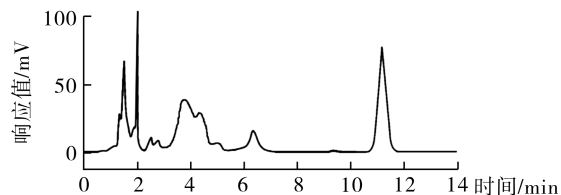
图 2 延胡索薄层鉴别色谱图

### 2.2 含量测定

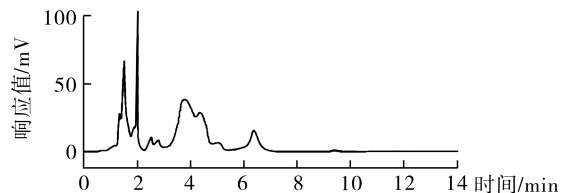
**2.2.1 色谱条件** 色谱柱:InertSustain  $C_{18}$  (5  $\mu$ m, 4.6 mm  $\times$  250 mm);流动相为乙腈-0.4% 磷酸溶液(30:70);检测波长为 345 nm;柱温为 30  $^{\circ}$ C;流速为 1 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>。色谱图见图 3。



A. 盐酸巴马汀对照品



B. 骨痹息痛巴布膏样品



C. 缺雷公藤阴性样品

图 3 HPLC 图

表 1 加样回收率试验结果

| 取样量/g  | 样品中盐酸巴马汀含量/mg | 加入盐酸巴马汀的量/mg | 测得量/mg | 回收率/%  | 平均回收率/% | RSD/% |
|--------|---------------|--------------|--------|--------|---------|-------|
| 0.5136 | 0.9326        | 0.5000       | 1.4392 | 101.31 |         |       |
| 0.5271 | 0.9437        | 0.5000       | 1.4465 | 100.56 |         |       |
| 0.4993 | 0.9235        | 0.5000       | 1.4198 | 99.27  | 99.71   | 1.17  |
| 0.4879 | 0.9142        | 0.5000       | 1.4072 | 98.60  |         |       |
| 0.5102 | 0.9325        | 0.5000       | 1.4266 | 98.83  |         |       |

**2.2.2 供试品溶液配制** 精密称定本品膏体 1 g, 加入 1% 盐酸甲醇 50 mL, 称定重量, 置水浴中回流提取 2 h, 放冷, 再次称定重量, 用 1% 盐酸甲醇补足至首次称定的重量, 摇匀, 滤过, 收集续滤液即得<sup>[9]</sup>。

**2.2.3 对照品溶液配制** 精密称取盐酸巴马汀对照品 10 mg, 置 100 mL 容量瓶中, 加 1% 盐酸甲醇适量使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制得每 1 mL 含盐酸巴马汀 100 μg 的对照品溶液。

**2.2.4 阴性样品溶液的制备** 按处方除去雷公藤制成阴性样品, 按供试品溶液的制备方法制得阴性对照溶液。

**2.2.5 线性关系** 精密吸取每 1 mL 含盐酸巴马汀对照品 100 μg 对照品溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mL 定容到 10 mL 容量瓶中, 分别进样 10 μL, 绘制纵坐标为对照样品峰面积 *A*, 横坐标为相应的对照品浓度 *C* 的标准曲线。标准曲线方程为  $A = 28932C + 36510$ ,  $r = 0.999\ 8$ , 以上指标成分在线性范围内, 有良好的线性关系。

**2.2.6 精密度试验** 精密吸取每 1 mL 含盐酸巴马汀对照品 100 μg 的对照品溶液 10 μL, 连续进样 5 次, 结果盐酸巴马汀峰面积的 RSD 值为 0.7%。结果表明仪器和方法具有良好的精密度。

**2.2.7 重复性试验** 取批号为 20151008 的样品 5 份, 制成供试液, 测定样品中盐酸巴马汀的含量, RSD 为 1.4%。

**2.2.8 稳定性试验** 精密吸取批号为 20151008 的巴布膏供试液 10 μL, 每间隔 2 h 进一针, 连续考察 12 h, 测定盐酸巴马汀峰面积, 其 RSD 为 0.9%, 结果表明放置供试液 12 h, 盐酸巴马汀含量稳定。

**2.2.9 加样回收率试验** 取批号为 20151008 的巴布膏 5 份, 分别精密加入每 1 mL 含盐酸巴马汀对照品 100 μg 的对照品溶液 5 mL, 按供试品溶液的制备方法制得样品溶液, 测定并计算样品中盐酸巴马汀的含量及加样回收率, 结果见表 1。

**2.2.10 样品的含量测定** 取批号为 20151008、20151102、20151123 的骨痹息痛巴布膏 3 片, 按供

试品溶液的制备方法制得供试品溶液, 按含量测定方法测得 3 批样品中盐酸巴马汀的含量, 结果见表 2。

表 2 样品中盐酸巴马汀含量测定结果

| 批号       | 样品中盐酸巴马汀含量(毫克/贴) |
|----------|------------------|
| 20151008 | 5.21             |
| 20151102 | 4.97             |
| 20151123 | 5.08             |

3 讨论

从制剂中提取生物碱, 一般多用氯仿浸泡, 加氨水调 pH 值至碱性后回流提取, 但对于青藤碱, 该法提取率低且干扰因素较多。因此我们采用文中所述方法, 用甲醇提取后挥干溶剂, 加水溶解后调至碱性, 再用乙醚萃取, 此法可减少干扰, 提高青藤碱得率。

延胡索鉴别过程中的显色方法, 可用碘蒸气熏至斑点清晰, 但这种显色方法碘熏后底色较浓, 斑点不易辨认, 因此采用放入碘缸中约 3 min 后取出, 挥尽吸附在板上的碘后, 放于紫外灯(365 nm)下检视, 方法简便, 斑点清晰易辨认<sup>[7]</sup>。

经紫外分光光度计扫描, 盐酸巴马汀在 227、277 和 345 nm 处有最大吸收, 再经高效液相色谱法测定比较, 当测定波长为 345 nm 时, 供试品色谱中干扰峰较少, 主峰与其相邻的杂质峰可实现基线分离, 分离度大, 因此选择 345 nm 为测定波长<sup>[10]</sup>。文献报道流动相多采用乙腈-水体系, 加入磷酸调整 pH 值以改善分离, 经实验选择, 乙腈-0.4% 磷酸溶液体系在比例为 30:70 时各组分可实现基线分离, 方法稳定, 测量准确。

本研究所述骨痹息痛巴布膏中青风藤、延胡索的薄层鉴别方法及 HPLC 法测定其中盐酸巴马汀的含量重现性好, 分析速度快, 操作简便, 可准确地进行质量控制。

参考文献

[1] 李影. 中药青风藤药理作用及临床应用[J]. 中国医药指南, 2011, 9(16):321-322.