

中图分类号: R917; R927.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)04-0072-05  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.04.017



## 骨奇泰搽剂质量标准提升研究\*

林奕沁, 秦银燕, 陈贞伶, 何成章, 陆 华<sup>△</sup>

(广西医科大学第一附属医院, 广西南宁 530021)

**摘要:**目的 提升骨奇泰搽剂的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对制剂中徐长卿、细辛、威灵仙进行定性鉴别;采用高效液相色谱法同时测定三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 R<sub>g1</sub>、人参皂苷 Re 的含量,色谱柱为 Shimadzu WondaSil Superb C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 203 nm,柱温为 25 °C,进样量为 20 μL。结果 徐长卿、细辛、威灵仙的 TLC 图斑点清晰,阴性对照无干扰。三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 R<sub>g1</sub>、人参皂苷 Re 的进样量分别在 0.281 0~5.465 2 μg(R<sup>2</sup> = 1.000 0)、0.479 5~9.207 7 μg(R<sup>2</sup> = 0.999 8)、0.073 2~1.485 8 μg(R<sup>2</sup> = 0.999 9)范围内与峰面积线性关系良好;精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2.0%;平均加样回收率分别为 98.44%, 97.34%, 103.51%, RSD 分别为 0.81%, 1.69%, 0.58%(n = 6);4 批样品中,三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 R<sub>g1</sub>、人参皂苷 Re 的平均含量分别为 0.247 6, 1.038 8, 0.110 2 mg/mL。结论 所建立的方法专属性较强,重复性好,可用于控制骨奇泰搽剂的质量。

**关键词:**骨奇泰搽剂;质量标准;高效液相色谱法;薄层色谱法;三七皂苷 R<sub>1</sub>;人参皂苷 R<sub>g1</sub>;人参皂苷 Re;细辛

### Improvement of Quality Standard of Guqitai Liniment

LIN Yiqin, QIN Yinyan, CHEN Zhenling, HE Chengzhang, LU Hua

(The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi, China 530021)

**Abstract: Objective** To improve the quality standard of Guqitai Liniment. **Methods** Thin-layer chromatography (TLC) method was used to qualitatively identify Cynanchi Paniculati Radix et Rhizoma, Asari Radix et Rhizoma and Clematidis Radix et Rhizoma in the preparation. The high-performance liquid chromatography (HPLC) method was used to determine the contents of notoginsenoside R<sub>1</sub>, ginsenoside R<sub>g1</sub> and ginsenoside Re simultaneously; the chromatographic column was Shimadzu WondaSil Superb C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-water (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 203 nm, the column temperature was 25 °C, and the injection volume was 20 μL. **Results** The TLC chromatograms of Cynanchi Paniculati Radix et Rhizoma, Asari Radix et Rhizoma and Clematidis Radix et Rhizoma had clear spots, and there was no interference from the negative reference. The linear ranges of notoginsenoside R<sub>1</sub>, ginsenoside R<sub>g1</sub> and ginsenoside Re were 0.281 0 - 5.465 2 μg (R<sup>2</sup> = 1.000 0), 0.479 5 - 9.207 7 μg (R<sup>2</sup> = 0.999 8) and 0.073 2 - 1.485 8 μg (R<sup>2</sup> = 0.999 9) respectively. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 2.0%. The average recovery rates of the above three ingredients were 98.44%, 97.34%, and 103.51%, with the RSDs of 0.81%, 1.69% and 0.58% (n = 6)

\*基金项目:广西壮族自治区中医药管理局自筹经费科研课题[GXZY20210007]。

第一作者:林奕沁,女,壮族,硕士研究生,药师,研究方向为医院制剂质量标准,(电子信箱)771290865@qq.com。

<sup>△</sup>通信作者:陆华,男,汉族,博士研究生,主任药师,研究方向为医院制剂开发,(电子信箱)hualude@sina.com。

剂-可提取硫的测定[J]. 药物分析杂志,2017,37(4):702-706.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:1094-1097.

[7] 朱碧君,李婷婷,孙会敏,等. HPLC法同时测定药用卤化丁基胶塞中5种抗氧化剂和游离硫的含量[J]. 中国药房,2018,29(18):2745-2749.

[8] 张旭,傅萍,谢华,等. HPLC法同时测定药用卤化丁基胶塞中17种抗氧化剂向注射用伏立康唑中的迁移[J]. 药物分析杂志,2020,40(8):1481-1489.

[9] 李樾,杨会英,王峰,等. 药用卤化丁基橡胶塞中可提取硫的检测研究[J]. 中国药事,2014,28(11):1257-1260.

[10] 饶艳春,左军凤,熊马建,等. 胶塞中抗氧化剂测定及其在药品中的迁移研究[J]. 中国药物评价,2020,37(5):380-383.

[11] 韩海燕,蒲道俊,吴红洋,等. 高效液相色谱法同时测定输液器中7种抗氧化剂的迁移量[J]. 中国药业,2021,30(23):58-61.

[12] YBB00142002-2015,药品包装材料与药物相容性试验指导原则[S].

[13] 张艳惠,李海燕,岳洪水,等. 注射用益气复脉(冻干)与氯化丁基胶塞相容性研究中抗氧化剂和硫化剂的含量测定[J]. 药物评价研究,2018,41(3):496-500.

[14] 王丽,赵锐,田恩圣,等. 35批次头孢类抗生素注射用粉针丁基胶塞中游离硫及常见抗氧化剂的迁移研究[J]. 药物分析杂志,2020,40(11):2033-2041.

[15] 吴红洋,李莎,张璞,等. 药用胶塞中抗氧化剂2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚含量测定及迁移量研究[J]. 中国药业,2022,31(1):63-66.

(收稿日期:2023-04-03;修回日期:2023-06-15)

respectively. The average contents of notoginsenoside  $R_1$ , ginsenoside  $R_{g_1}$  and ginsenoside  $R_e$  in four batches of samples were 0.247 6, 1.038 8, 0.110 2 mg / mL, respectively. **Conclusion** The established method is specific and repeatable, which can be used for the quality control of Guqitai Liniment.

**Key words:** Guqitai Liniment; quality standard; HPLC; TLC; notoginsenoside  $R_1$ ; ginsenoside  $R_{g_1}$ ; ginsenoside  $R_e$ ; Asari Radix et Rhizoma

骨奇泰搽剂由川乌(制)、草乌(制)、细辛、乳香、威灵仙、徐长卿等12味药材组方,具有消肿止痛、舒筋活络、祛风除湿、化痰行气功效<sup>[1]</sup>。该制剂已在临床应用30余年,主要用于治疗腰椎间盘突出、关节炎、骨质增生等疾病引起的疼痛和功能障碍,因其使用简便、价格低廉,广受欢迎。但其现有质量标准仅对该制剂乙醇限量、澄明度、装量差异、微生物限度等进行了控制。为了更好地反映药品质量,确保临床用药安全有效,本研究中增加了薄层色谱(TLC)法定性鉴别徐长卿、细辛、威灵仙,并采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定三七主要成分三七皂苷 $R_1$ 、人参皂苷 $R_{g_1}$ 、人参皂苷 $R_e$ 的含量,为完善和提升骨奇泰搽剂的质量标准提供参考。现报道如下。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

LC-2030C 3D plus型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司);HWS-24型恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司);JP-100S型超声波清洗机(深圳洁盟技术股份有限公司);ZF-7型暗箱式紫外分析仪(成都华衡仪器有限公司);ME204型电子天平、ME155DU型分析天平[梅特勒托利多科技(中国)有限公司,精度均为0.01 mg];硅胶G薄层板(烟台新诺化工有限公司、青岛邦凯高新技术材料有限公司、青岛海洋化工有限公司、青岛海浪化工有限公司)。

### 1.2 试剂

骨奇泰搽剂(批号分别为20200728, 20210308, 20211019, 20220620),缺徐长卿、细辛、威灵仙、三七药

材的单一阴性样品,均由医院制剂室提供;细辛对照药材(批号为121204-201608)、威灵仙对照药材(批号为121189-201102),丹皮酚对照品(批号为110708-201908,含量99.8%),细辛脂素对照品(批号为111889-201705,含量99.8%),齐墩果酸对照品(批号为110709-201808,含量91.1%),三七皂苷 $R_1$ 对照品(批号为110745-201921,含量90.4%),人参皂苷 $R_{g_1}$ 对照品(批号为110703-202034,含量94.0%),人参皂苷 $R_e$ 对照品(批号为110754-202028,含量93.9%),均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC鉴别

徐长卿:取样品100 mL,置圆底烧瓶中,加水40 mL,蒸馏,弃去蒸馏液;加水60 mL,蒸馏,收集蒸馏液60 mL,用乙醚提取2次(35, 30 mL),合并提取液,浓缩至干,残渣加丙酮2 mL使溶解,即得供试品溶液。取丹皮酚对照品3 mg,加丙酮1.5 mL,制成对照品溶液。取缺徐长卿的阴性样品100 mL,同供试品溶液制备方法制备缺徐长卿的阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502薄层色谱法<sup>[2]</sup>,吸取上述溶液各6  $\mu$ L,以环己烷-乙酸乙酯(8:1, V/V)为展开剂,展开,取出,喷以盐酸酸化的5%三氯化铁乙醇溶液,置电热板上加热至斑点显色清晰,置日光下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图1A。

细辛:取样品20 mL,水浴蒸干,残渣加水30 mL使

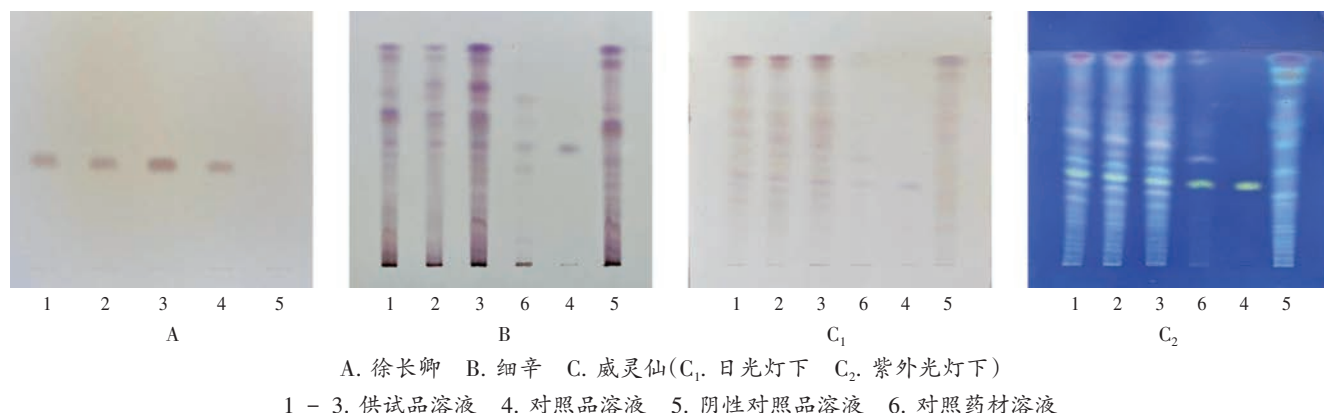


图1 薄层色谱图

A. *Cynanchi Paniculati Radix et Rhizoma* B. *Asari Radix et Rhizoma* C. *Clematidis Radix et Rhizoma* (C<sub>1</sub>. Under daylight lamp C<sub>2</sub>. Under ultraviolet lamp)  
1 - 3. Test solution 4. Reference solution 5. Negative reference solution 6. Reference medicinal solution

Fig. 1 TLC chromatograms

溶解,加盐酸调pH至2,用乙醚振摇提取2次,每次20 mL,合并乙醚液,挥发至干,残渣加乙酸乙酯1 mL使溶解,即得供试品溶液。取细辛脂素对照品2 mg,加甲醇2 mL制成对照品溶液。取细辛对照药材0.5 g,加甲醇20 mL,超声(功率250 W,频率40 kHz)处理45 min,滤过,取续滤液,浓缩至2 mL,即得对照药材溶液。取缺细辛的阴性样品100 mL,同供试品溶液制备方法制备缺细辛的阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502薄层色谱法<sup>[2]</sup>,吸取上述溶液各2  $\mu$ L,以环己烷-三氯甲烷-乙酸乙酯(16:3:4, V/V/V)为展开剂,展开,取出,喷以2%香草醛硫酸溶液,热风吹至斑点显色清晰,置日光下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液和对照品溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图1 B。

威灵仙:取样品70 mL,滤过,滤液浓缩至30 mL,加盐酸调pH至1~2,加热回流1 h,加水15 mL,冷却至室温,加石油醚(60~90  $^{\circ}$ C)35 mL振摇,分取石油醚部,蒸干,残渣加无水乙醇5 mL使溶解,即得供试品溶液。取齐墩果酸对照品2 mg,加甲醇2 mL制成对照品溶液。另取威灵仙对照药材0.5 g,加乙醇45 mL,加热回流2 h,滤过,取续滤液,浓缩至30 mL,同供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。取缺威灵仙的阴性样品70 mL,同供试品溶液制备方法制备缺威灵仙的阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502薄层色谱法<sup>[2]</sup>,吸取上述溶液各5  $\mu$ L,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(20:3:0.2, V/V/V)为展开剂,展开,取出,喷以10%硫酸乙醇溶液,置电热板上加热至斑点显色清晰,分别置日光下和紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液和对照品溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图1 C。

## 2.2 含量测定

### 2.2.1 色谱条件

色谱柱:Shimadzu WondaSil Superb C<sub>18</sub>柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~30 min时20%A,30~40 min时20%A  $\rightarrow$  29%A,40~41 min时29%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:203 nm;柱温:25  $^{\circ}$ C;进样量:20  $\mu$ L。

### 2.2.2 溶液制备

混合对照品溶液:称取人参皂苷Re对照品1.98 mg,精密称定,置5 mL容量瓶中,得对照品贮备液I;另取三七皂苷R<sub>1</sub>对照品5.03 mg,人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品8.10 mg,精密称定,置同一10 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,即得对照品贮备液II。精密吸取对照品贮备液I 0.3 mL、对照品贮备液II 1.2 mL,置同一容量瓶中,用甲醇定容至5 mL,即得。

供试品溶液:取样品4 mL,置90  $^{\circ}$ C水浴蒸至近干,用15 mL水分次溶解,转入分液漏斗中,每次加入水饱和的正丁醇15 mL,振摇提取,重复5次,合并提取液;用氨试液洗涤3次,每次20 mL,再用正丁醇饱和的水洗涤3次,每次20 mL,正丁醇液蒸干,残渣用甲醇溶解,并转入25 mL容量瓶,加甲醇定容,摇匀,经0.45  $\mu$ m微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

阴性对照品溶液:精密吸取缺三七的阴性样品4 mL,同供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

### 2.2.3 方法学考察

系统适用性试验:取2.2.2项下混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各适量,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,理论板数按三七皂苷R<sub>1</sub>峰计应不低于8 000,分离度均大于1.8,基线分离良好。详见图2。

线性关系考察:分别精密量取2.2.2项下对照品贮备液I 4 mL,用甲醇稀释成20 mL,精密吸取0.25, 0.75, 1.5, 2.5, 3.0, 5.0 mL,置5 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得系列对照品溶液I。分别精密量取

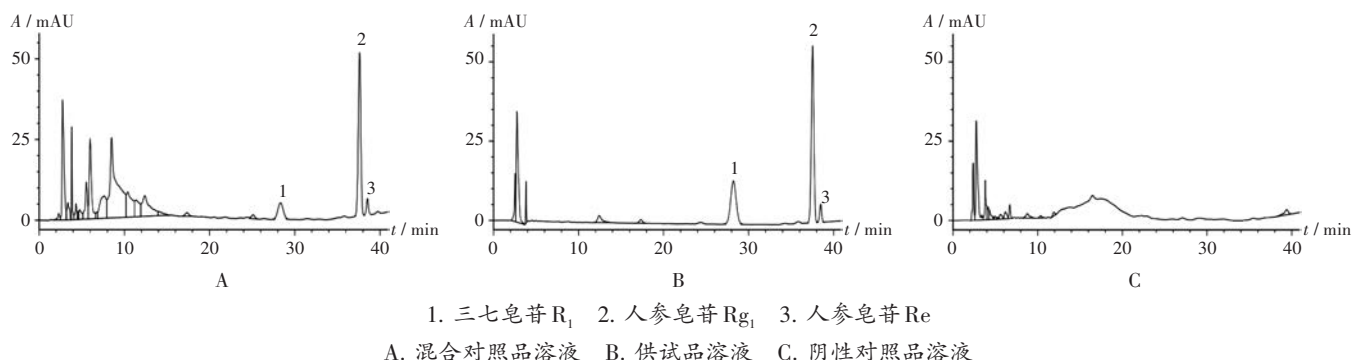


图2 高效液相色谱图

1. Notoginsenoside R<sub>1</sub> 2. Ginsenoside Rg<sub>1</sub> 3. Ginsenoside Re

A. Mixed reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

2.2.2项下对照品贮备液Ⅱ 0.15, 0.25, 0.75, 1.5, 2.5, 3.0 mL, 置5 mL容量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 制成系列对照品溶液Ⅱ。精密量取20 μL, 按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以待测成分进样量( $X, \mu\text{g}$ )为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归, 得三七皂苷 $R_1$ 、人参皂苷 $R_{g_1}$ 、人参皂苷 $R_e$ 的回归方程分别为 $Y_1 = 287\,556X_1 - 2\,537 (R^2 = 1.000\,0, n = 6)$ ,  $Y_2 = 320\,059X_2 + 756 (R^2 = 0.999\,8, n = 6)$ ,  $Y_3 = 227\,889X_3 - 112.49 (R^2 = 0.999\,9, n = 6)$ 。结果表明, 三七皂苷 $R_1$ 、人参皂苷 $R_{g_1}$ 、人参皂苷 $R_e$ 进样量分别在0.281 0~5.465 2 μg、0.479 5~9.207 7 μg、0.073 2~1.485 8 μg范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 取2.2.2项下混合对照品溶液适量, 按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次, 记录峰面积。结果, 三七皂苷 $R_1$ 、人参皂苷 $R_{g_1}$ 、人参皂苷 $R_e$ 峰面积的RSD为0.04%, 0.21%, 0.22% ( $n = 6$ ), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 取2.2.2项下供试品溶液(批号为

20211019)适量, 分别于室温下放置0, 2, 4, 8, 12, 24 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 三七皂苷 $R_1$ 、人参皂苷 $R_{g_1}$ 、人参皂苷 $R_e$ 峰面积的RSD分别为0.36%, 0.97%, 0.65% ( $n = 6$ ), 表明供试品溶液在室温放置24 h内基本稳定。

重复性试验: 取样品(批号为20211019)适量, 精密称定, 各6份, 按2.2.2项下方法制备供试品溶液, 再按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算含量。结果, 三七皂苷 $R_1$ 、人参皂苷 $R_{g_1}$ 、人参皂苷 $R_e$ 平均含量分别为0.244 7, 1.013 8, 0.110 1 mg/mL, RSD分别为1.36%, 0.13%, 0.89% ( $n = 6$ ), 表明方法重复性良好。

加样回收试验: 取已知含量的样品(批号为20211019)2 mL, 共6份, 分别加入一定质量浓度的三七皂苷 $R_1$ 、人参皂苷 $R_{g_1}$ 、人参皂苷 $R_e$ 对照品溶液, 按2.2.2项下方法制备供试品溶液, 再按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算加样回收率, 结果见表1。

#### 2.2.4 样品含量测定

取4批样品各适量, 分别按2.2.2项下方法制备供

表1 加样回收试验结果( $n = 6$ )

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

样品含量(mg)			加入量(mg)			测得量(mg)			回收率(%)			$\bar{X}$ (%)			RSD(%)		
A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
0.489 5	2.027 6	0.220 2	0.569 5	2.053 9	0.225 4	1.049 0	3.987 7	0.455 8	98.24	95.44	104.56						
0.489 5	2.027 6	0.220 2	0.569 5	2.053 9	0.225 4	1.043 5	4.014 3	0.452 6	97.28	96.73	103.13						
0.489 5	2.027 6	0.220 2	0.569 5	2.053 9	0.225 4	1.050 7	4.089 5	0.452 3	98.54	100.39	103.00	98.44	97.34	103.51	0.81	1.69	0.58
0.489 5	2.027 6	0.220 2	0.569 5	2.053 9	0.225 4	1.048 7	4.023 3	0.454 3	98.19	97.17	103.88						
0.489 5	2.027 6	0.220 2	0.569 5	2.053 9	0.225 4	1.057 5	4.027 2	0.452 8	99.74	97.36	103.23						
0.489 5	2.027 6	0.220 2	0.569 5	2.053 9	0.225 4	1.051 2	4.019 2	0.452 9	98.63	96.97	103.25						

注: A为三七皂苷 $R_1$ , B为人参皂苷 $R_{g_1}$ , C为人参皂苷 $R_e$ 。

Note: A refers to notoginsenoside  $R_1$ , B refers to ginsenoside  $R_{g_1}$ , and C refers to ginsenoside  $R_e$ .

试品溶液, 再按2.2.1项下色谱条件进样测定, 平行测定2次, 记录峰面积, 并计算样品含量, 结果见表2。

### 3 讨论

骨奇泰搽剂组方药材多达12味, 成分复杂, 对有效成分进行提取分离, 并同时定性鉴别和定量分析的研究尚未见报道。本研究中增加了威灵仙、徐长卿和

细辛的TLC鉴别, 并对提取方式、提取溶剂、展开剂及比例和进样量进行了考察。其中, 徐长卿的主要活性成分丹皮酚属挥发油, 熔点低, 不溶于冷水, 可随水蒸气蒸馏<sup>[3]</sup>, 故采用水蒸气蒸馏法提取。细辛TCL鉴别预试验中, 供试品溶液尝试了用石油醚(60~90 °C)和乙醚提取。首先参考2020年版《中国药典(一部)》<sup>[4]</sup>提取方法, 采用石油醚振摇提取, 结果主斑点不明显且始终有拖尾; 尝试用乙醚提取, 发现所得斑点较清晰; 同时分别考察了4种不同展开剂及比例, 石油醚-乙酸乙酯(17:1, V/V), 石油醚-乙酸乙酯(3:1, V/V), 甲苯-乙酸乙酯-甲酸(20:3:0.5, V/V/V), 环己烷-三氯甲烷-乙酸乙酯(16:3:4, V/V/V)。经过多次对比, 最后选择第4个组合作为展开剂时的分离效果较好, 斑点清晰, 且阴性对照无干扰。

预试验中以人参皂苷 $R_{b_1}$ 作为主成分之一, 参考药

表2 样品含量测定结果(mg/mL,  $n = 2$ )

Tab. 2 Results of the content determination of three ingredients in samples (mg/mL,  $n = 2$ )

批号	三七皂苷 $R_1$	人参皂苷 $R_{g_1}$	人参皂苷 $R_e$
20200728	0.249 6	1.047 6	0.110 9
20210308	0.244 9	1.013 0	0.109 1
20211019	0.246 3	1.046 5	0.110 4
20220620	0.249 5	1.048 0	0.110 5
$\bar{X}$	0.247 6	1.038 8	0.110 2