

关节炎膏质量标准提高研究

曲佳¹, 陈卓¹, 李文艳², 王杰¹

1. 天津市药品检验研究院, 天津 300070

2. 天津达仁堂京万红药业有限公司, 天津 300112

摘要: **目的** 完善提高关节炎膏的质量标准。**方法** 采用薄层色谱(TLC)法对关节炎膏中白芷进行了定性鉴别; 采用气相色谱(GC)法对方中樟脑及龙脑进行了定量检测。**结果** 处方中白芷的 TLC 鉴别斑点清晰, 重现性好且阴性无干扰。樟脑在 0.401 41~4.014 1 μg , 龙脑在 0.393 34~3.933 4 μg 线性关系良好; 平均质量分数分别为樟脑 6.038 0 mg/g、龙脑 5.353 9 mg/g; 各成分平均回收率分别为樟脑 99.32%, 龙脑 99.82%。**结论** 建立的质量标准准确简便可行, 可用于关节炎膏的质量控制。

关键词: 关节炎膏; 薄层色谱; 气相色谱; 质量标准; 樟脑; 龙脑

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)07-1350-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.07.015

Improvement of quality standards of Arthritis Ointment

QU Jia¹, CHEN Zhuo¹, LI Wen-yan², WANG Jie¹

1. Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China

2. Tianjin Darentang Jingwanhong Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300112, China

Abstract: **Objective** To improve the quality standards for Arthritis Ointment. **Methods** TLC was applied to identification of *Angelica dahurica* in qualitative identification. The camphor and borneol contents were determined by GC. **Results** The TLC spots of *A. dahurica* were distinct and reproducible, and negative without interference. The linear ranges of camphor and borneol were 0.401 41—4.014 1 and 0.393 34—3.933 4 μg . The average contents of camphor and borneol were 6.038 0 and 5.353 9 mg/g. The average recoveries of camphor and borneol were 99.32% and 99.82%. **Conclusion** The established quality standards are accurate, simple, and feasible, and could be used for quality control of Arthritis Ointment.

Key words: Arthritis Ointment; TLC; GC; quality standards; camphor; borneol

关节炎膏是由辣椒、马钱子、干姜、白芷、樟脑和冰片 6 味中药与冬青油组成的外用橡胶膏剂, 具有祛风舒筋、活血止痛的功效。主要用于治疗关节疼痛, 腰、肩、背酸痛, 类风湿红肿等症^[1]。现行质量标准^[2]对该药只有生物碱沉淀反应鉴别、含膏量和耐热性^[3]的检查, 没有其他检验指标对关节炎膏进行质量控制, 且相关文献报道较少。此外, 在对原标准中生物碱沉淀反应鉴别时发现, 该品种橡胶膏经三氯甲烷浸泡溶解后, 三氯甲烷液将膏药中大量基质溶出, 呈乳白色溶液, 且很难经滤纸滤除, 因此妨碍显色反应的进行, 使沉淀不明显, 该项理化鉴别存在很大的缺陷, 有待进一步改进。该品种中白芷具有解表散寒、祛风止痛等功效^[4]; 樟

脑具有芳香辟秽化浊、温散止痛的功效^[5-6]; 冰片具有开窍醒神、清热止痛的功效^[7-8]。故本实验采用薄层色谱(TLC)法对方中白芷进行了定性鉴别, 采用气相色谱(GC)法对樟脑及冰片中的龙脑等有效成分进行了定量测定^[5], 从而提高关节炎膏的质控水平。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

Agilent GC 6890N 气相色谱仪, 美国安捷伦科技有限公司; 无水乙醇、醋酸乙酯、三氯甲烷, 以上 3 种试剂均为色谱纯, 购于天津市康科德科技有限公司; 高纯氮, 天津市淦达气体有限公司; 石油醚(30~60 $^{\circ}\text{C}$)、乙醚, 以上 2 种试剂均为分析纯,

收稿日期: 2016-10-09

作者简介: 曲佳(1981—), 女, 硕士, 主管药师, 主要从事药品检验及质量标准起草研究。Tel: (022)23513806 E-mail: qj4599@sina.com

购于天津市康科德科技有限公司；薄层色谱硅胶 G 预制板，烟台市化学工业研究所；CAMAG REPROSTAR 3 薄层色谱点样展开成像系统，瑞士 CAMAG（卡玛）公司。

1.2 试药

关节炎膏，天津同仁堂集团股份有限公司，批号 C90001、DX02002、D86001。对照品樟脑（批号 110747-201409，质量分数为 98.7%）、龙脑（批号 110881-201107，质量分数为 99.3%）、欧前胡素（批号 110826-201415，质量分数为 99.7%）及白芷（批号 120945-201309，对照药材），以上 3 种对照品均为定量测定用，且与对照药材均购于中国食品药品检定研究院；正十五烷，色谱纯，美国 Fluka 试剂公司。

2 方法与结果

2.1 白芷的 TLC 鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 取本品 2 片，除去盖衬，剪碎成小块（约 1 cm²），加醋酸乙酯 30 mL，超声处理 30 min，放冷，滤过，滤液低温浓缩至约 2 mL，加甲醇 2 mL 与之混合均匀，通过酸性氧化铝柱（100~200 目，2 g，内径 1 cm），收集流出液，作为供试品溶液。

2.1.2 对照药材溶液的制备 取白芷对照药材 0.5 g，加乙醚 10 mL，浸泡 1 h，时时振摇，滤过，滤液挥干，残渣加醋酸乙酯 1 mL 使溶解，作为对照药材溶液。

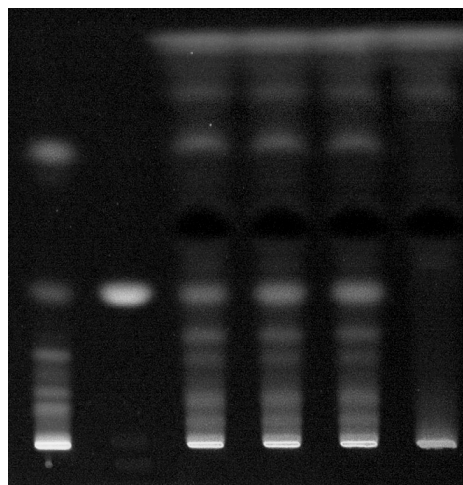
2.1.3 对照品溶液的制备 取欧前胡素对照品加醋酸乙酯制成含欧前胡素 1 mg/mL 的溶液，作为对照品溶液。

2.1.4 阴性样品溶液的制备 按关节炎膏的处方配比，取除白芷外的其他中药，按该品种工艺制备阴性样品，再按“2.1.1”项方法制得阴性样品溶液。

2.1.5 薄层色谱及结果 吸取供试品溶液 10~15 μL，对照品溶液及对照药材溶液各 5 μL，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以石油醚（30~60 °C）-乙醚（3:2）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外灯（365 nm）下检视。供试品色谱中，在与对照品及对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点^[9]，且阴性无干扰。见图 1。

2.2 樟脑及龙脑的定量测定

2.2.1 GC 条件^[10] 色谱柱为 Thermo TG-WAXMS（30 m×0.53 mm，1 μm）GC 柱，程序升温：初始温度 100 °C，以每分钟 5 °C 的速率升温至 160 °C，



从左至右依次为白芷对照药材，欧前胡素对照品，样 1（批号 C90001），样 2（批号 DX02002），样 3（批号 D86001），阴性样品
From left to right: reference herb of *A. dahurica*, reference substance of imperatorin, sample 1 (Batch No.: C90001), sample 2 (Batch No.: DX02002), sample 3 (Batch No.: D86001), negative sample

图 1 白芷薄层色谱图

Fig. 1 TLC of *A. dahurica*

保持 5 min，再以每分钟 30 °C 的速率升温至 180 °C，保持 5 min；进样口温度 200 °C；检测器温度 220 °C；分流进样，分流比 30:1；载气为氮气，气体体积流量为 3 mL/min。进样量 1 μL。理论板数按龙脑峰计算不低于 7 000。

2.2.2 校正因子测定^[11-12] 取正十五烷，精密称定，加醋酸乙酯制成质量浓度为 1 mg/mL 的溶液，作为内标溶液。再分别取樟脑及龙脑对照品各约 10 mg，精密称定，置同一 10 mL 量瓶中，用内标溶液稀释至刻度，摇匀，精密吸取 1 μL，注入气相色谱仪，计算校正因子（ $f_{\text{樟脑}}$ 为 1.26， $f_{\text{龙脑}}$ 为 1.28）。

2.2.3 测定方法^[13] 取本品 10 片，除去盖衬，剪碎成小块（约 1 cm²），混匀，取相当于 2 片的质量（约 4.5 g），精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入内标溶液 25 mL，密塞，称定质量，超声处理（功率 250 W，频率 40 Hz）30 min，放冷，再称定质量，用醋酸乙酯补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。精密吸取供试品溶液 1 μL，注入气相色谱仪，测定，即得。

2.2.4 阴性样品溶液的制备 按关节炎膏处方配比，取除樟脑及冰片之外的各味中药，制得阴性样品，再按“2.2.3”项方法制成阴性样品溶液。结果显示，阴性样品无干扰。见图 2。

2.2.5 线性关系考察 取樟脑及龙脑对照品适量，精密称定，加内标醋酸乙酯溶液分别制成含樟脑

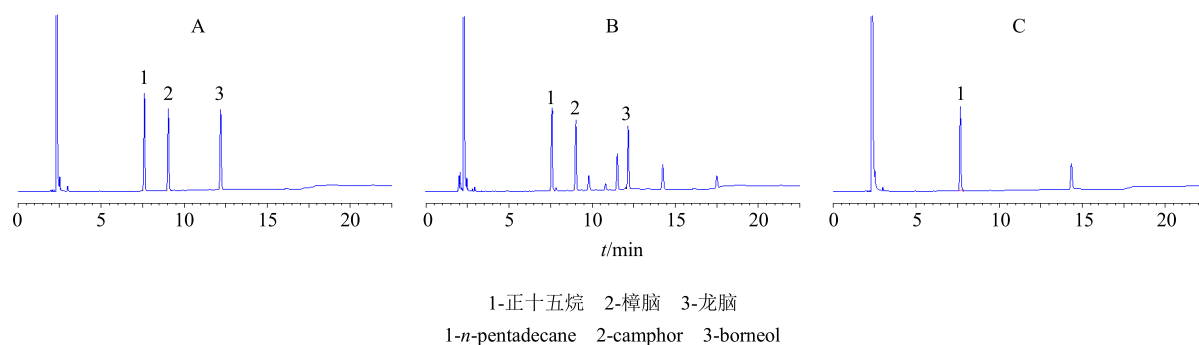


图2 内标物与混合对照品 (A)、内标物与关节炎膏 (B)、阴性供试品 (C) 的 GC 图

Fig. 2 GC of internal standard and mixed reference substances (A), internal standard and Arthritis Ointment sample (B), and negative sample (C)

4.014 1 mg/mL、龙脑 3.933 4 mg/mL 的混合对照品储备液，精密吸取混合对照品储备液 1、2、3 mL 分别稀释至 5 mL 量瓶中，再精密吸取混合对照品储备液 1 mL 稀释至 2 mL 量瓶中，分别加内标醋酸乙酯溶液至刻度，精密吸取稀释不同质量浓度的混合对照品溶液及储备液各 1 μ L，分别注入气相色谱仪，按“2.2.1”项色谱条件分析，测定各自峰面积，以对照品进样量为横坐标 (X)，对照品与内标峰面积的比值为纵坐标 (Y)，求得回归方程为樟脑 $Y=0.814\ 6\ X-0.016\ 5$ ， $r=0.999\ 8$ ；龙脑 $Y=0.904\ 3\ X-0.054\ 7$ ， $r=0.999\ 9$ ；结果表明樟脑在 0.401 41~4.014 1 μ g，龙脑在 0.393 34~3.933 4 μ g 呈良好线性关系。

2.2.6 重复性试验 取批号为 C90001 的样品 6 份，按照“2.2.3”项方法制备得供试品溶液 6 份，分别精密吸取各供试液 1 μ L，注入气相色谱仪，测定每份样品中樟脑及龙脑的量。结果平均质量分数分别为 6.038 0、5.353 9 mg/g，RSD 分别为 1.11%、1.75%，结果表明本方法重复性良好。

2.2.7 精密度试验 取重复性试验中供试品溶液 1，按“2.2.1”项色谱条件分析，连续进样 6 次，测定样品中樟脑及龙脑峰面积，其 RSD 分别为 1.45%、1.59%，表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取重复性试验中供试品溶液 1，按“2.2.1”项色谱条件分析，分别在 0、2、4、6、10、15 h，测定样品中樟脑及龙脑峰面积，其 RSD 分别为 1.89%、1.47%，结果表明供试品溶液在 15 h 内稳定。

2.2.9 加样回收率试验 取樟脑及龙脑对照品适量，精密称定，加内标醋酸乙酯溶液制成质量浓度分别为樟脑 524.1 μ g/mL 及龙脑 494.3 μ g/mL 的混合

对照品溶液，作为回收用对照品储备液。再取同一批号（批号 C90001）样品 10 片，除去盖衬，剪碎，混匀，取相当于 1 片的质量（2.25 g），共 6 份，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入回收用对照品储备液 25 mL，密塞，称定质量，超声处理（功率 250 W，频率 40 Hz）30 min，放冷，再称定质量，用醋酸乙酯补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，制得供加样回收试验用供试品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件分析，计算回收率，结果平均回收率樟脑为 99.32%，RSD 为 1.89%；龙脑为 99.82%，RSD 为 1.57%。

2.2.10 样品测定 取 3 批样品（批号分别为 C90001、DX02002、D86001），按照“2.2.3”项供试品溶液制备操作，按“2.2.1”项色谱条件分析，测定样品中樟脑及龙脑的量。其中各成分平均质量分数为樟脑 6.137 8 mg/g，龙脑 5.493 4 mg/g。结果见表 1。

表1 样品中樟脑及龙脑测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determinati of camphor and borneol in samples ($n=2$)

批号	质量分数/(mg·g ⁻¹)	
	樟脑	龙脑
C90001	6.038 5	5.391 5
DX02002	7.013 1	5.528 6
D86001	5.361 7	5.560 1

3 讨论

对白芷的 TLC 鉴别进行了耐用性的考察，包括不同薄层板、低温（<10 $^{\circ}$ C）及高湿（相对湿度>70%）等因素对样品分离情况的影响，结果显示环境因素对本实验均无显著影响。

在测定樟脑及冰片时,根据关节炎膏的材质及被测物的性质,分别考察了醋酸乙酯和无水乙醇2种溶剂,因三氯甲烷极易将该品种膏药的基质溶出,呈乳白色溶液,且无法滤除,故未选用三氯甲烷作为提取溶剂的考察对象。实验表明,醋酸乙酯高于无水乙醇的提取。另外,同时还对提取时间、提取方式、溶剂用量等进行了考察,结果显示超声处理(功率250 W,频率40 Hz)30 min即可提取完全,因樟脑与龙脑均为易挥发不稳定的成分,超声处理提取效率高于加热回流,溶剂用量25 mL与100 mL的测定值相当,故选用25 mL作为供试品提取溶剂用量。综上,采用25 mL醋酸乙酯超声提取30 min作为供试品溶液的制备方法。

膏药是传统医学中的常用制剂,随着科技的发展与检验技术的提高,现行膏药质量标准已经远远不能反应出膏药的内在质量指标,这显然不能满足现代药物的发展趋势,因此膏药质量标准与检测手段亟待提高。众所周知膏药的组成十分复杂,其中不同中药成分互相作用,生成新物质,故选取代表性成分至关重要。本实验采用TLC对白芷进行了定性鉴别,利用气相色谱法对樟脑及冰片进行定量测定,以期提高关节炎膏质量控制,促使其标准化、规范化,为传统中药现代化生产提供良好的检验检测手段。

参考文献

[1] 龙智铨. 关节炎膏外敷治疗膝关节骨关节炎疗效观察

[J]. 现代中西医结合杂志, 2006, 15(18): 2494.

[2] 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第十七册 WS₃-B-3183-98 [S]. 2008.

[3] 中国药典 [S]. 四部. 2015.

[4] 庄俊嵘, 徐德生, 刘力, 等. 白芷的功效与临床应用 [J]. 上海中医药杂志, 2013, 47(6): 82-83.

[5] 马朝阳, 王远辉, 田洪芸, 等. GC法测定艾片中1-龙脑、异龙脑和樟脑 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2428-2430.

[6] 丁元刚, 马红梅, 张伯礼. 樟脑药理毒理研究回顾及安全性研究展望 [J]. 中国药物警戒, 2012, 9(1): 38-42.

[7] 姜晓飞, 邹佳丽, 袁月梅, 等. 中药冰片再动物体内转化为樟脑的研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2008, 10(3): 27-36.

[8] 庞瑞. 冰片及其复方实验研究文献评价 [J]. 现代中医药, 2011, 31(3): 69-70.

[9] 中国药典 [S]. 一部. 2015.

[10] 黄惠琼, 胡睿恩. GC法同时测定狗皮膏中樟脑、异龙脑、龙脑的含量 [J]. 中国药品标准, 2012, 13(6): 428-430.

[11] 甘勇强. GC法测定痛肿灵酊中樟脑、薄荷脑、异龙脑、龙脑的含量 [J]. 中国药师, 2013, 16(8): 1122-1124.

[12] 丁宁, 王栋, 何轶, 等. 冠脉宁片中樟脑的限量检查及冰片的含量测定研究 [J]. 中国药学杂志, 2015, 50(4): 310-313.

[13] 曲佳, 牛辰瑾, 李晶, 等. 狗皮膏(改进型)质量标准研究 [J]. 中国药品标准, 2015, 16(2): 112.