关节克痹丸 UPLC 指纹图谱的建立及 6 种乌头类生物碱含量测定

龚佳佳[1,2]，黄春跃[1]，胡　晓[1]，邓继娜[3]，黄　婕[4*]

（1. 中国医药工业研究总院有限公司，上海医药工业研究院有限公司，先导物成药性研究全国重点实验室，上海 201203；2. 复旦大学药学院，上海 201203；3. 贵州信邦制药股份有限公司，贵州罗甸 550100；4. 贵州省食品药品检验所，贵州贵阳 550081）

摘要：建立了 UPLC 法测定 21 批关节克痹丸的指纹图谱，并采用中药色谱指纹图谱相似度评价软件（2012 版）进行相似度评价。同时，建立了 UPLC-QTRAP-MS/MS 法测定 6 种乌头类生物碱成分（苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、乌头碱和次乌头碱）。结果显示，21 批关节克痹丸的指纹图谱相似度均大于 0.952，确定了 17 个共有峰，通过标准品比对，确认了 8 个成分。6 种乌头类生物碱成分在相应质量浓度范围内线性关系良好，平均加样回收率在 84.3%～105.5%（RSD ≤ 1.37%）。建立的方法简单、灵敏、可靠，可重复性好，可应用于关节克痹丸的质量控制。

关键词：关节克痹丸；指纹图谱；UPLC-QTRAP-MS/MS；乌头类生物碱；质量评价

中图分类号：R917；R284.1　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2025)08-1036-08

引用：龚佳佳，黄春跃，胡 晓，等. 关节克痹丸 UPLC 指纹图谱的建立及 6 种乌头类生物碱含量测定［J］. 中国医药工业杂志，2025, **56**(8)：1036-1043. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.08.009

Establishment of UPLC Fingerprints and Determination of 6 Aconitum Alkaloids in *Guanjie Kebi Wan*

GONG Jiajia[1,2], HUANG Chunyue[1], HU Xiao[1], DENG Jina[3], HUANG Jie[4*]

(*1. National Key Lab. of Lead Druggability Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., China State Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai 201203; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Fudan University, Shanghai 201203; 3. Guizhou Xinbang Pharmaceutical Co., Ltd., Luodian 550100; 4. Guizhou Institute for Food and Drug Control, Guiyang 550081*)

ABSTRACT: An UPLC method was established to determine the fingerprints of 21 batches of *Guanjie Kebi Wan*, and the similarity evaluation software (2012 version) for traditional Chinese medicine chromatographic fingerprint was used for similarity evaluation. Meanwhile, the UPLC-QTRAP-MS/MS method was established to determine 6 types of aconitum alkaloids (benzoylmesaconine, benzoylaconine, benzoylhypaconine, mesaconitine, aconitine, and hypaconitine). The results showed that the fingerprint similarity of 21 batches of *Guanjie Kebi Wan* was greater than 0.952, and 17 common peaks were identified. Additionally, 8 components were confirmed according to the standard comparison. It was linear for the 6 aconitum alkaloids in the corresponding mass concentration ranges, with an average recovery rate of 84.3 % to 105.5 % (RSD ≤ 1.37%). The established method is simple, sensitive, reliable, and has good reproducibility, which can be applied to the quality control of *Guanjie Kebi Wan*.

Key Words: *Guanjie Kebi Wan*; fingerprint; UPLC-QTRAP-MS/MS; aconitum alkaloid; quality evaluation

关节克痹丸由川乌（制）、黄芩、片姜黄、薏苡仁、桑枝、虎杖、独活、苍术（炒）、牛膝、桂枝、草乌（制）、秦艽、麻黄、海桐皮和生姜 15 味药味制成，具有祛风散寒、活络止痛功效，用于治疗关节炎、四肢酸痛、伸展不利等症，临床服用量为 1 次 8 丸，1 日 2 次。关节克痹丸已作为内科用药祛风除湿剂被纳入国家医疗保险目录，临床上使用有效、安全，且不良反应发生率低[1—2]。关节克痹丸的处方药味较多，

收稿日期：2025-01-13

作者简介：龚佳佳，硕士研究生，专业方向：中药药效物质基础及药品质量评价。

通信作者：黄　婕，副主任药师，主要从事药品质量控制及质量评价研究。

含有川乌（制）、草乌（制）、虎杖和独活等多味需要临床监护的药味[3—4]，且多以药材粉末直接入药，致使制剂所含的化学成分更加复杂。

关节克痹丸质量标准收载于1998年《中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂》第二十册，内容仅涵盖性状、薄层鉴别、检查等项；其中，薄层鉴别仅对麻黄药味进行控制，并且缺乏含量测定项。目前，对关节克痹丸的质量控制研究较少，仅顾峥嵘等[5]、周红等[6]和施惠埙[7]对其中大黄素的含量进行了检测。川乌和草乌均属我国传统药用有毒植物，含有双酯型二萜类生物碱新乌头碱（mesaconitine，MA）、乌头碱（aconitine，AC）和次乌头碱（hypaconitine，HC），对心血管、神经及消化系统都有较强的毒性。但炮制后，这些双酯型生物碱可转化为苯甲酰新乌头原碱（benzoylmesaconine，BMA）、苯甲酰乌头原碱（benzoylaconine，BAC）、苯甲酰次乌头原碱benzoylhypaconine，BHC）等单酯型生物碱，毒性降低而疗效提高，成为本方的主要药效成分[8—9]。因此，为了监控关节克痹丸中这6种乌头类生物碱的含量，确保临床效果和用药安全，亟须建立针对双酯型和单酯型二萜生物碱的含量测定方法。同时，现行的关节克痹丸质量标准项目过于简单，单一药味的控制难以全面反映制剂的整体质量情况，也亟须对其质量评价体系进行深入研究。

中药复方制剂一般组成药味较多，涉及的化学成分复杂多样，单一或多指标的评价模式难以全面反映复方制剂的整体质量。中药指纹图谱技术是一种综合的、可视化的分析方法，可同时检测多种化学成分，对多种药味进行控制[10]。因此，本研究采用UPLC法建立关节克痹丸的指纹图谱，进一步采用UPLC-QTRAP-MS/MS法测定该制剂中6种乌头类生物碱（BMA、BAC、BHC、MA、AC和HC）的含量，以期为关节克痹丸的质量控制和临床安全用药提供试验依据。

1 仪器与试药

1290 Infinity Ⅱ型超高效液相色谱仪（美国安捷伦科技有限公司）；MS204S型电子天平、MS105型电子天平［梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司］；LC-20A型超高效液相色谱仪（日本Shimadzu公司）；QTRAP® 4500型三重四极杆/线性离子阱质谱仪（美国AB SCIEX公司）。

龙胆苦苷（**1**，含量96.9%，批号110770-201918）、虎杖苷（**2**，含量87.3%，批号111575-201603）、黄芩苷（**3**，含量95.4%，批号110715-201821）、汉黄芩苷（**4**，含量98.5%，批号112002-201702）、黄芩素（**5**，含量98.5%，批号111595-201607）、大黄素（**6**，含量98.7%，批号110756-201512）、蛇床子素（**7**，含量100.0%，批号110822-201308）、苍术素（**8**，含量99.5%，批号111924-201806）、BMA（批号111795-202106，供含量测定用）、BAC（批号111794-202307，供含量测定用）、BHC（批号111796-202207，供含量测定用）、MA（批号110799-201307，供含量测定用，含量以98.3%计）、AC（批号230001-202403，HPLC≥98%）、HC（批号110798-202010，供含量测定用，含量以99.2%计）的对照品均购于中国食品药品检定研究院；独活（批号YP20220206）、黄芩（批号YP20230602）均购自安徽省万生中药饮片有限公司；虎杖（重庆市潼南区百丰家庭农场，批号20230506）、北苍术（麸炒，四川新荷花中药饮片股份有限公司，批号YP20230107）、秦艽（河北润华药业有限公司，批号P20211101）；乙腈及甲酸为质谱纯，其他试剂均为分析纯，水为纯化水；21批来自贵州信邦制药股份有限公司的关节克痹丸，样品信息如表1所示。

表1 关节克痹丸样品信息

Tab.1 The Sample Information of *Guanjie Kebi Wan*

编号	批号	编号	批号	编号	批号
S1	20230408	S8	20230706	S15	20231201
S2	20230501	S9	20230708	S16	20231202
S3	20230507	S10	20230801	S17	20231205
S4	20230702	S11	20230803	S18	20231208
S5	20230703	S12	20230804	S19	20240201
S6	20230704	S13	20230805	S20	20240204
S7	20230705	S14	20230902	S21	20240205

2 方法与结果

2.1 指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件

色谱柱Waters ACQUITYUPLC® HSS T3柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相A为0.1%磷酸溶液，B为乙腈，梯度洗脱（0—100 min，A 95%—

43 %；100—100.5 min，A 43 % —95 %；100.5—105 min，A 95%）；流速 0.30 mL/min；检测波长 254 nm；柱温 30 ℃；进样量 2 μL。

2.1.2 溶液配制

对照品溶液：取 **2** 对照品适量，精密称定，加入 50%乙醇制成质量浓度为 0.303 mg/mL 的对照品溶液；分别取 **1**、**3**、**4**、**5**、**6**、**7**、**8** 对照品适量，精密称定，加甲醇制成质量浓度分别为 0.201、0.538、0.108、0.202、0.204、0.206、0.118 mg/mL 的对照品溶液。精密吸取等体积的 **1**、**2**、**3**、**4**、**5**、**6**、**7**、**8** 对照品溶液混合，制成混合标准品溶液。

供试品溶液：取关节克痹丸粉末 3.0 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50 mL，密塞，精密称定，超声处理（功率 250 W，频率 50 Hz）40 min，放冷，再精密称定，用甲醇补足减失的质量，摇匀，过滤，取续滤液即得供试品溶液。

2.1.3 精密度试验

取编号 S5 的关节克痹丸粉末，按“**2.1.2**”项下制备供试品溶液，按“**2.1.1**”项下色谱条件进样测定，连续进样 6 次，记录 UPLC 色谱图。以峰 8（汉黄芩苷，**4**）为参照峰，分别计算共有峰 1 ～ 17 的相对峰面积及相对保留时间的 RSD。结果显示，共有峰 1 ～ 17 相对峰面积的 RSD（n=6）均小于 3.0%；17 个共有峰相对保留时间的 RSD（n=6）均小于 0.30%。这表明该仪器的精密度良好。

2.1.4 重复性试验

取编号 S5 的关节克痹丸粉末，按“**2.1.2**”项下制备供试品溶液，按“**2.1.1**”项下色谱条件进样测定，记录 UPLC 色谱图，对共有峰进行考察。以峰 8（**4**）为参照峰，分别计算共有峰 1 ～ 17 的相对峰面积及相对保留时间的 RSD。结果显示，17 个共有峰相对峰面积的 RSD（n=6）均小于 3.7%；17 个共有峰相对保留时间的 RSD（n=6）均小于 0.50%。这表明该方法的重复性良好。

2.1.5 稳定性试验

取编号 S5 的关节克痹丸粉末，按“**2.1.2**”项下制备供试品溶液，常温放置，按“**2.1.1**”项下色谱条件在样品制备完成后 0、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36 h 时取样测定，记录 UPLC 色谱图。以峰 8（**4**）为参照峰，分别计算共有峰 1 ～ 17 的相对峰面积及相对保留时间的 RSD。结果显示，17 个共有峰相对峰面积的 RSD（n=19）均小于 2.8%；17 个共有峰相对保留时间的 RSD（n=19）均小于 0.3%。这表明供试品溶液在常温下放置 36 h 内稳定。

2.1.6 关节克痹丸 UPLC 指纹图谱的建立

取 21 批关节克痹丸粉末，按“**2.1.2**”项下方法制备供试品溶液，按“**2.1.1**”项下色谱条件下进样测定，记录 UPLC 色谱图。采用国家药典委员会颁布的中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件（2012.130723 版），以 S1 为参照图谱，选择中位数法，设定时间窗宽度为 0.15 min，进行峰匹配，确定了 17 个共有峰，生成对照指纹图谱 R，如图 1 所示，计算的相似度结果如表 2 所示。由表 2 可见，21 批关节克痹丸的指纹图谱相似度均大于 0.952，表明关节克痹丸的质量较稳定。

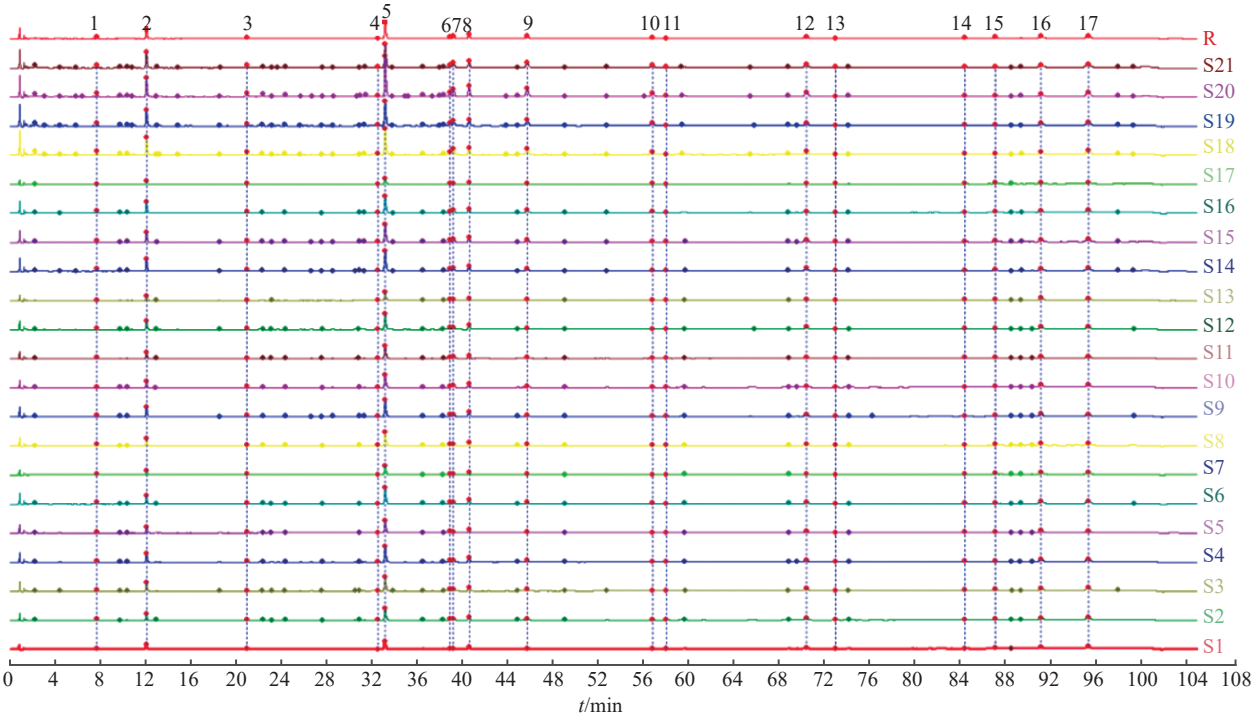
表 2　21 批关节克痹丸的指纹图谱相似度结果

Tab.2　Results of Fingerprint Similarity of 21 Batches of *Guanjie Kebi Wan*

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
S1	0.946	S8	0.994	S15	0.998
S2	0.984	S9	0.997	S16	0.996
S3	0.985	S10	0.991	S17	0.952
S4	0.996	S11	0.994	S18	0.989
S5	0.994	S12	0.996	S19	0.984
S6	0.992	S13	0.976	S20	0.979
S7	0.969	S14	0.996	S21	0.989

2.1.7 共有峰的指认及归属

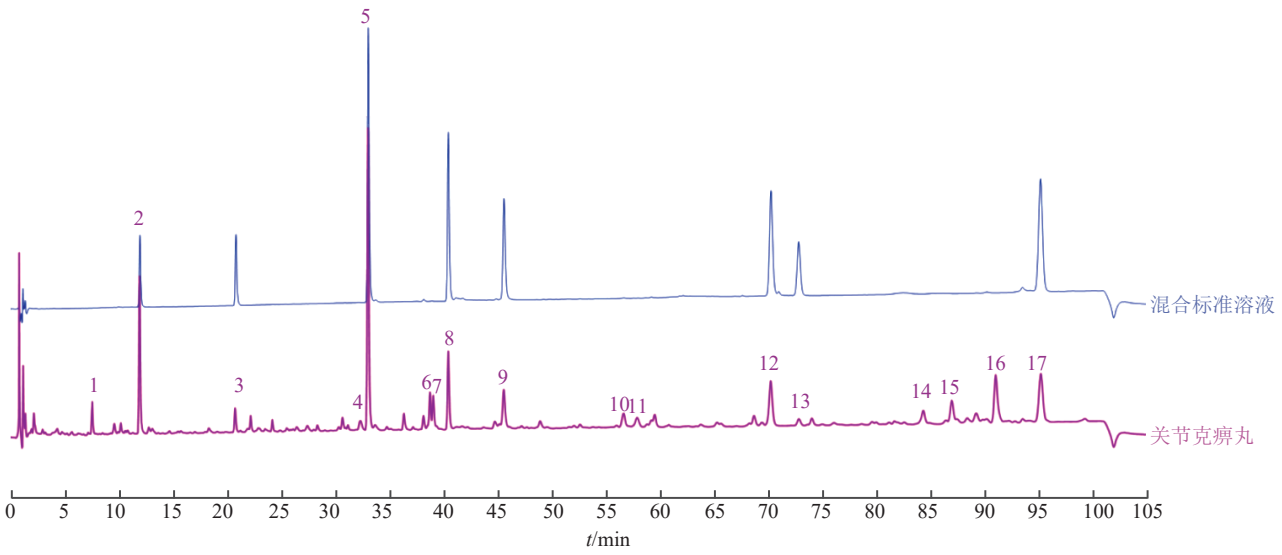
通过将关节克痹丸与对照品和单味药材色谱图的保留时间比对，结合紫外吸收光谱的确认（图 2 和图 3），17 个共有峰被指认了 8 种成分，分别为 2 号峰（**1**）、3 号峰（**2**）、5 号峰（**3**）、8 号峰（**4**）、9 号峰（**5**）、12 号峰（**6**）、13 号峰（**7**）、17 号峰（**8**）。共有峰中的 1、2 号峰来自秦艽；3、7、12 号峰来自虎杖；5、6、8、9 号峰来自黄芩；13 号峰来自独活；14、15、16、17 号峰来自苍术；10 号峰为黄芩与苍术的共有峰。



2—**1**；3—**2**；5—**3**；8—**4**；9—**5**；12—**6**；13—**7**；17—**8**。

图 1 21 批关节克痹丸 UPLC 指纹图谱

Fig.1 UPLC Fingerprints of 21 Batches of *Guanjie Kebi Wan*



2—**1**；3—**2**；5—**3**；8—**4**；9—**5**；12—**6**；13—**7**；17—**8**。

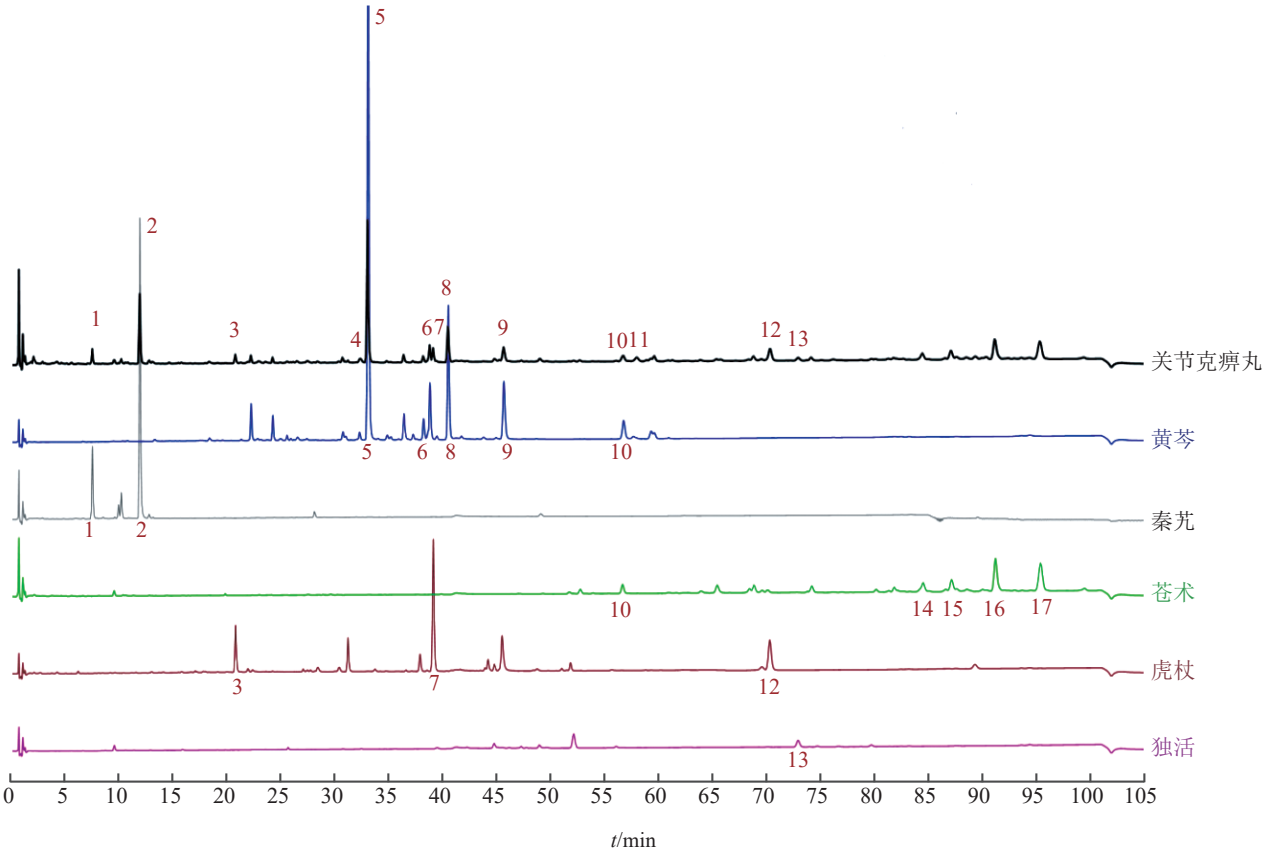
图 2 关节克痹丸样品和混合对照品 UPLC 色谱图

Fig.2 UPLC Chromatograms of the Mixed Standards and *Guanjie Kebi Wan*

2.2 含量测定研究

2.2.1 色谱和质谱条件

色谱条件：色谱柱 Waters ACQUITYUPLC® HSS T3 柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相 A 为 0.1%甲酸溶液，B 为乙腈，梯度洗脱（0—5 min，B 5%—30%；5—12.0 min，B 30%—55%；12.0—



2—**1**；3—**2**；5—**3**；8—**4**；9—**5**；12—**6**；13—**7**；17—**8**。

图 3　各单味药材和关节克痹丸的 UPLC 色谱图

Fig.3　UPLC Chromatograms of *Guanjie Kebi Wan* and Raw Herbs

12.1 min，B 55%—95%；12.1—16.0 min，B 95%；16.0—16.1 min，B 95%—5%）；流速 0.30 mL/min；柱温 40 ℃；进样量 2 μL。

质谱条件：离子源　电喷雾离子（electrospray ionization，ESI）源；模式检测 正离子模式，多反应监测（multiple reaction monitoring，MRM）；喷雾电压 5 500 V(+)，－4 500 V(－)；雾化温度 550 ℃；气帘气 241 kPa；喷雾气（GS1）379 kPa；辅助加热气（GS2）379 kPa；6 个待测成分的母离子（Q1）、子离子（Q2）、去簇电压（declustering potential，DP）及碰撞能量（collision energy，CE）如表 3 所示。

2.2.2　溶液配制

对照品溶液：取 BMA、BAC、BHC、MA、AC、HC 对照品适量，精密称定，分别加入甲醇溶解并制成质量浓度分别为 137.0、123.2、126.0、119.4、119.2、145.0 μg/mL 的对照品贮备液。分别精密量取上述对照品贮备液适量，混合并逐级稀释成系列不同质量浓度的混合对照品溶液，于 4 ℃冰箱保存，备用。

表 3　6 种生物碱成分的多反应监测参数

Tab.3　MRM Parameters of 6 Alkaloid Components

化合物	Q1(*m/z*)	Q2(*m/z*)	DP/V	CE/V	保留时间 /min
BMA	590.3	104.8	161.85	96.56	6.315
BAC	604.2	105.0	151.70	92.04	6.750
BHC	574.1	105.1	148.26	92.01	7.027
MA	632.2	354.3	128.76	56.17	7.913
AC	646.4	554.1	111.00	52.89	8.620
HC	616.3	524.3	162.13	51.06	8.636

供试品溶液：取关节克痹丸粉末 0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 80%甲醇 50 mL，密塞，精密称定，超声处理（功率 400 W，频率 40 kHz）40 min（水温 40℃以下），放冷，再精密称定，用 80%甲醇补足减失的质量，过滤，取续滤液即得。

阴性样品溶液：按关节克痹丸的处方比例与制备工艺，制备缺制草乌和制川乌的阴性样品，按上述供试品溶液配制方法制备阴性样品溶液。

2.2.3 专属性试验

精密吸取“**2.2.2**”项下对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液适量，按“**2.2.1**”项下条件进行测定，分别记录 MRM 色谱图。结果如图 4 ～ 6 所示，样品的色谱峰与 6 种生物碱的色谱峰保留时间相同，但阴性样品溶液中未出现上述峰，表明没有药味干扰测定，方法专属性良好。

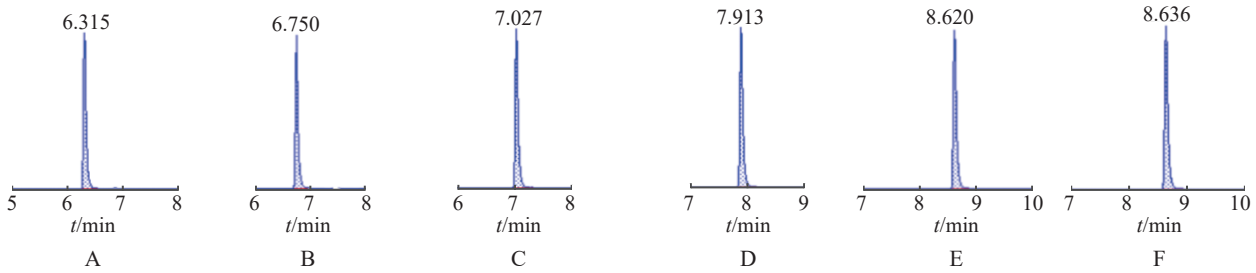
2.2.4 线性关系考察

取“**2.2.2**”项下制备的系列质量浓度的混合对照品溶液，按“**2.2.1**”项下色谱和质谱条件进样测定，以对照品质量浓度（*c*）为横坐标、峰面积（*A*）为纵坐标，分别绘制标准曲线，结果如表 4 所示，表明各成分在各自线性范围内线性关系良好。

表 4 6 个生物碱成分的线性关系考察结果

Tab.4 Results of Linear Relationship of 6 Alkaloid Components

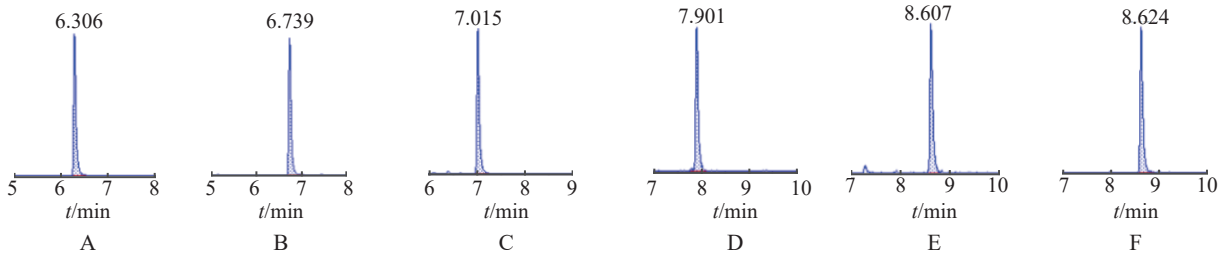
化合物	回归方程	*r*	线性范围 /(ng·mL^{-1})
BMA	*A*=4 974.27*c*+30 195.21	0.999 7	23.61 ～ 341.60
BAC	*A*=11 197.27*c*+7 566.11	0.999 6	1.23 ～ 86.24
BHC	*A*=43 673.72*c*+35 352.52	0.999 7	1.26 ～ 88.20
MA	*A*=48 423.61*c*+75 519.59	0.999 8	1.19 ～ 83.58
AC	*A*=53 221.39*c*+37 414.71	0.999 9	1.19 ～ 83.44
HC	*A*=33 136.10*c*+25 500.41	0.999 9	1.45 ～ 101.50



A—BMA；B—BAC；C—BHC；D—MA；E—AC；F—HC。

图 4 6 种生物碱对照品的 MRM 色谱图

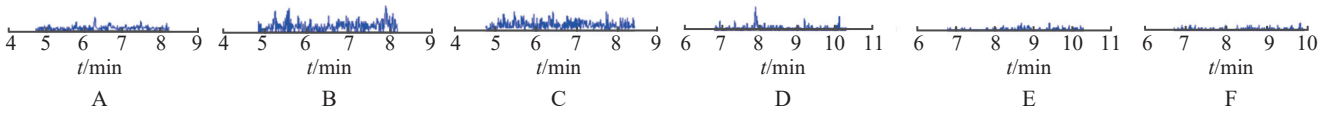
Fig.4 MRM Chromatograms of the Reference Substances of 6 Alkaloid Components



A—BMA；B—BAC；C—BHC；D—MA；E—AC；F—HC。

图 5 关节克痹丸供试品溶液的 MRM 色谱图

Fig.5 MRM Chromatogram of Test Solution of *Guanjie Kebi Wan*



A—BMA；B—BAC；C—BHC；D—MA；E—AC；F—HC。

图 6 阴性样品溶液的 MRM 色谱图

Fig.6 MRM Chromatograms of Negative Sample Solution

2.2.5 精密度试验

吸取“**2.2.2**”项下混合对照品溶液，按“**2.2.1**”项下色谱和质谱条件测定，连续进样 6 次，记录各成分峰面积。结果显示，BMA、BAC、BHC、MA、AC、HC 峰面积的 RSD（n=6）分别为 2.12%、1.24%、2.25%、2.61%、2.61%、2.57%，表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验

精密称取 S5 样品 6 份，按“**2.2.2**”项下方法制备供试品溶液，按“**2.2.1**”项下色谱和质谱条件进样测定，计算得 BMA、BAC、BHC、MA、AC、HC 含量的 RSD（n=6）分别为 0.74%、0.43%、0.80%、2.18%、0.64%、0.56%，表明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验

精密称取 S5 样品，按“**2.2.2**”项下制备供试品溶液，常温放置，按“**2.2.1**”项下色谱和质谱条件，分别在制备后 0、1、2、4、6、8、10、12、16、20、24 h 时取样检测，计算得 BMA、BAC、BHC、MA、AC、HC 含量的 RSD（n=11）分别为 4.90%、2.32%、3.59%、1.09%、0.50%、1.40%，表明试验制得的供试品溶液在常温下 24 h 内稳定。

2.2.8 加样回收率试验

取已知 6 种生物碱含量的关节克痹丸样品 0.25 g，精密称定，按 100%的比例加入各对照品，按“**2.2.2**”项下方法制备供试品溶液，按“**2.2.1**”项下色谱和质谱条件测定，计算 BMA、BAC、BHC、MA、AC、HC 的平均加样回收率和 RSD。结果显示，BMA、BAC、BHC、MA、AC、HC 的平均加样回收率（n=6）分别为 104.1%、84.3%、105.5%、100.7%、96.9%、101.9%，RSD 分别为 1.09%、0.93%、1.37%、1.26%、1.29%、0.73%。

2.2.9 关节克痹丸样品含量测定

采用“**2.2.2**”项下方法制备 21 批关节克痹丸样品供试品液，按照“**2.2.1**”项下色谱和质谱条件测定，计算样品中 BMA、BAC、BHC、MA、AC、HC 的含量，结果如表 5 所示。

3 讨论

3.1 关节克痹丸的指纹图谱研究

本研究在指纹图谱建立时还考察了检测波长（254、280、330 nm），流速（0.27、0.30、0.33 mL/min），柱温（25、30、35 ℃）等参数，发现在波长 254 nm、流速 0.30 mL/min、柱温 30 ℃时，分离效果佳。此外，还筛选了供试品溶液的提取条件，考察了不同提取溶剂（甲醇、50%甲醇、50%乙醇）、提取方式（超声法和回流法）、提取溶剂用量（25、50 mL）以及不同的提取时间（20、40、60 min）对样品提取效果的影响。结果显示，采用甲醇为提取溶剂时，提取溶剂用量为 50 mL，超声法处理 40 min，提取的成分较为充分，各色谱峰的比例较为合适。

本研究建立了关节克痹丸的 UPLC 指纹图谱，21 批样品的指纹图谱相似度均大于 0.952，表明不同批次关节克痹丸样品相似度较高，质量稳定。共确定了 17 个共有峰，通过对照品比对共指认了 8 个化

表 5　21 批关节克痹丸含量测定结果 /（μg·g^{-1}）（n=2）

Tab.5　Results of the Content of 21 Batches of *Guanjie Kebi Wan*/（μg·g^{-1}）（n=2）

编号	BMA	BAC	BHC	MA	AC	HC	3 个苯甲酰乌头碱类成分总和	3 个乌头碱类成分总和	编号	BMA	BAC	BHC	MA	AC	HC	3 个苯甲酰乌头碱类成分总和	3 个乌头碱类成分总和
S1	16.4	3	4.5	0.7	0.6	1.1	23.9	2.4	S12	17	3	4.8	0.7	0.6	1.2	24.8	2.5
S2	16.5	2.8	4.6	0.7	0.6	1	23.9	2.3	S13	16.8	3	4.7	0.8	0.6	1.1	24.5	2.5
S3	17	3	4.8	0.7	0.6	1.1	24.8	2.4	S14	17.4	3.1	4.8	0.8	0.6	1.2	25.3	2.6
S4	17	3	4.6	0.7	0.6	1.2	24.6	2.5	S15	16.6	3	4.6	0.7	0.6	1.2	24.2	2.5
S5	16.3	2.9	4.6	0.7	0.6	1.1	23.8	2.4	S16	16.3	2.9	4.4	0.7	0.6	1.2	23.6	2.5
S6	17.2	3	4.7	0.7	0.6	1.1	24.9	2.4	S17	16.6	3	5	0.7	0.6	0.9	24.6	2.2
S7	17.7	3.1	4.8	0.7	0.6	1.1	25.6	2.4	S18	16.8	3	4.8	0.8	0.6	1.1	24.6	2.5
S8	15.7	2.8	4.4	0.7	0.6	1.1	22.9	2.4	S19	14.7	2.7	4.2	0.8	0.6	1.1	21.6	2.5
S9	16.8	2.9	4.7	0.7	0.6	1.2	24.4	2.5	S20	15.9	2.8	4.4	0.8	0.6	1.1	23.1	2.5
S10	16.3	2.9	4.5	0.7	0.6	1.1	23.7	2.4	S21	16.2	2.9	4.5	0.8	0.6	1.2	23.6	2.6
S11	16.2	3	4.6	0.7	0.6	1.2	23.8	2.5	平均值	16.5	2.9	4.6	0.7	0.6	1.1	24	2.4

学成分，涵盖了秦艽、虎杖、黄芩、独活和苍术（炒）5味药材；其中峰1、2表征秦艽，峰3、7、12表征虎杖，峰5、6、8、9表征黄芩，峰14、15、16、17表征苍术（炒），峰13来源于独活，峰10来源于黄芩和苍术（炒）；峰2为环烯醚萜苷类，峰3为二苯乙烯苷类，峰5、8、9为黄酮类，峰12为蒽醌类，峰13为香豆素类，峰17为聚乙炔类，结构类别丰富多样，具有较好的代表性。

3.2 关节克痹丸中6种生物碱的研究

3.2.1 供试品溶液制备方法的确定

本研究筛选了供试品溶液的提取条件，考察了不同提取溶剂（甲醇、80%甲醇、50%甲醇、20%甲醇、0.1%甲酸的甲醇溶液）、提取方式（超声法和固相萃取法）对样品提取效果的影响。结果显示，采用80%甲醇为提取溶剂、超声法处理时，提取的成分较为充分，最终确定供试品溶液制备方法。

3.2.2 限度测定

制川乌与制草乌含有双酯型二萜生物碱MA、AC、HC，因剧毒特性，在用药安全方面至关重要，必须设定合理的限量标准以确保安全[11−12]。根据ChP 2020年版一部规定，制川乌与制草乌中MA、AC、HC总含量不得超过0.040%；结合关节克痹丸处方，折算样品中3种双酯型生物碱含量应控制在9.6 μg/g以内（基于每8丸关节克痹丸含制川乌、制草乌各0.016 g的换算结果）。文献[13]指出，乌头碱中毒剂量通常为1～2 mg，而按本制剂的服用量（1次8丸，1日2次）计算，每次摄入的双酯型生物碱约为12.8 μg，每日摄入量约为25.6 μg，远低于中毒剂量，从而能确保用药的安全性。本研究结果显示，21批关节克痹丸中这3种双酯型生物碱的总含量介于2.2～2.6 μg/g，均处于理论安全范围。制川乌与制草乌所含有的单酯型生物碱BMA、BAC、BHC，药效与双酯型生物碱相当，但毒性降低[12]。因此，合理调控这些单酯型生物碱的含量范围，对于在确保临床药效的同时降低药物毒性至关重要。根据ChP 2020年版一部对制川乌和制草乌的规定，BMA、BAC、BHC总含量应分别控制在0.070%～0.15%和0.020%～0.070%，参照二者限度值，结合制剂中制川乌、制草乌的处方量，推算3种单酯型生物碱成分的理论含量范围应为14.4～35.2 μg/g（基于每8丸关节克痹丸含制川乌、制草乌各0.016 g的换算结果）。本研究结果显示，21批关节克痹丸中的BMA、BAC、BHC总含量范围为21.6～25.6 μg/g，处于理论推算的安全范围。

参考文献：

[1] 党 兴, 张铎安. 关节克痹丸联合西药治疗寒湿痹阻型膝骨关节炎临床研究 [J]. 新中医, 2024, **56**(5): 117-122.

[2] 殷生楠, 殷 勇, 柳冬梅, 等. 关节克痹丸的有效性和安全性临床研究 [J]. 现代医药卫生, 2007, (21): 3176-3177.

[3] 杨琼梁, 孔祥柏, 张小娟, 等. 祛湿类中成药临床药学监护研究 [J]. 中成药, 2025, **47**(1): 315-320.

[4] 戎 萍, 张喜莲, 刘 晖, 等. 基于《中华人民共和国药典》探讨含毒性中药饮片的中成药现状与思考 [J]. 辽宁中医杂志, 2023, **50**(6): 178-182.

[5] 顾峥嵘, 承 晨. 反相高效液相色谱法测定关节克痹丸中大黄素的含量 [J]. 时珍国医国药, 2007, (3): 602-603.

[6] 周 红, 俞春芳, 王金锋. HPLC法测定关节克痹丸中大黄素含量 [J]. 中国药师, 2007, (5): 474-475.

[7] 施惠埙. 高效液相色谱法测定关节克痹丸中大黄素含量 [J]. 实用中医药杂志, 2010, **26**(11): 807.

[8] 张 珊, 杨 涵, 陈顺琴, 等. 乌头属中药的毒性及毒代动力学研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2024, **42**(8): 232-236.

[9] 刘天宇, 宋 歌, 杨瑞琴, 等. 乌头属植物中生物碱毒素检验方法及溯源研究进展 [J]. 药学学报, 2024, **59**(4): 899-907.

[10] 张畅然. 指纹图谱在中药质量控制中的应用探讨 [J]. 内蒙古中医药, 2022, **41**(6): 124-125.

[11] 王守宝, 龚宁波, 段昌令, 等. 乌头类中药毒的历史认识与现代研究 [J]. 中药药理与临床, 2019, **35**(2): 149-151.

[12] 孙继华. 有毒乌头类中药炮制与配伍减毒机制的研究进展 [J]. 世界复合医学（中英文）, 2024, **10**(3): 195-198.

[13] 李 谦, 过立农, 郑 健, 等. 乌头属药用植物的研究进展 [J]. 药物分析杂志, 2016, **36**(7): 1129-1149.