

## · 论著 ·

## 复方虎杖酊的质量标准研究

于基志<sup>a</sup>, 鲍佳妮<sup>b</sup>, 杨松<sup>b</sup> (解放军 65112 部队; a. 药品器材供应站, b. 药品仪器检验所, 辽宁 沈阳 110026)

**[摘要]** **目的** 建立复方虎杖酊的质量控制标准。**方法** 采用薄层色谱法对复方虎杖酊中虎杖、蜂房和冰片进行定性鉴别, 采用 HPLC 法测定虎杖中虎杖苷的含量, 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水 (23:77), 检测波长 306 nm, 流速 1.0 ml/min, 柱温 40 °C。**结果** 复方虎杖酊中虎杖、蜂房和冰片的薄层色谱图斑点明显, 阴性对照无干扰; 虎杖苷的定量测定在 8.25~66.0 μg/ml 范围内与峰面积呈良好的线性关系 ( $r=0.9999$ ), 平均回收率为 100.1%, RSD 为 0.2%。**结论** 本实验建立的方法快速简便, 准确可靠, 可作为该制剂的质量控制方法。

**[关键词]** 复方虎杖酊; 虎杖; 蜂房; 冰片; 质量标准

**[中图分类号]** R284.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1006-0111(2018)05-0430-03

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.05.010

## Quality standards of Fufang Huzhangding

YU Jizhi<sup>a</sup>, BAO Jiani<sup>b</sup>, YANG Song<sup>b</sup> (a. Station for Drug and Instrument Supply, b. Institute for Drug and Instrument Control, No. 65112 Army Unit of PLA, Shenyang 110026, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish quality standard for Fufang Huzhangding. **Methods** Qualitative identification of Polygonum cuspidatum, Apis mellifera and Borneolum in Fufang Huzhangding by thin layer chromatography; The mobile phase was acetonitrile-water (23:77). The detection wavelength was 306 nm, and the flow rate was 1.0 ml/min. The mobile phase consisted of Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), and the column temperature was maintained at 40 °C. **Results** Polygonum cuspidatum, Apis mellifera and Borneolum in Fufang Huzhangding appeared distinguishing characteristic of TLC, spots were clear, and showed the same reacts with a reference standard. There was a good linear relationship between the concentration of polydatin and the peak area in the range of 8.25-66.0 μg/ml ( $r=0.9999$ ). The average recoveries was 100.1%, RSD was 0.2%. **Conclusion** The method is simple, accurate and reliable, and can be used as a quality control method of the preparation.

**[Key words]** Fufang Huzhangding; Polygonum cuspidatum; Borneolum; Apis mellifera; quality standard

复方虎杖酊由虎杖、蜂房和冰片三味中药组成, 具有清热解毒、消肿止痛、祛腐生肌、消肿散结的功效, 主要用于烧伤、烫伤、火器伤等症。本实验采用薄层色谱 (TLC) 法对虎杖、蜂房和冰片进行定性鉴别<sup>[1]</sup>, 采用 HPLC 法测定制剂中虎杖苷含量<sup>[2,3]</sup>, 所建方法能有效控制该制剂的质量。

## 1 仪器与试剂

Agilent-1100 系列高效液相色谱仪 (在线脱气机、VWD 检测器、四元泵、自动进样器, ChemSta-

tion 化学工作站, 美国安捷伦公司); MS105DU 十万分之一电子分析天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); 202-00 台式电热恒温干燥箱 (天津市泰斯特仪器有限公司)。层析用硅胶 G (青岛海洋化工厂); 复方虎杖酊 (原沈阳军区总医院); 对照品 (批号: 111575-201302)、冰片对照品 (批号: 110743-200905)、蜂房对照药材均购自中国食品药品检定研究院; 乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

## 2.1 TLC 鉴别

## 2.1.1 虎杖

取本品 1 ml, 蒸干, 加入 4 ml 甲醇超声使其全部溶解, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取缺虎杖的阴性对照品同法制成阴性对照溶液。取虎杖对照药材 10 g, 加入 8 倍量 95% 乙醇溶液超声提取

**[基金项目]** 解放军原总后勤部卫生部军队医疗制剂质量标准提高基金重点课题 (2013ZJZ01-4)

**[作者简介]** 于基志, 学士, 主管药师, 研究方向: 中药质量标准研究, Tel: (024) 28869545

**[通讯作者]** 杨松, 硕士, 副主任药师, Tel: (024) 28869578, Email: 1330988036@163.com

30 min, 滤过, 滤液蒸干, 加 45% 乙醇溶液 100 ml, 滤过。取滤液 1 ml, 蒸干, 并用 4 ml 甲醇使其溶解, 作为对照药材溶液。按照 TLC 法(中国药典 2015 年版薄层色谱法通则 0502)试验, 吸取供试品溶液、阴性对照品及对照药材溶液各 10  $\mu$ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(30~60  $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯-乙酸(15:5:1)的溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置于氨蒸汽中熏, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的主斑点, 且阴性无干扰。结果如图 1。

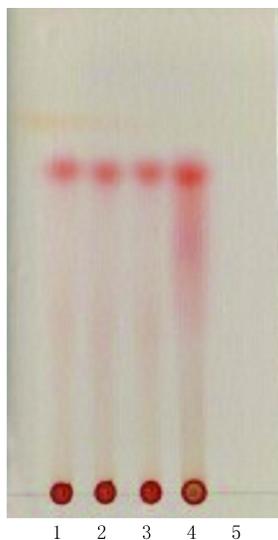


图 1 虎杖 TLC 图

1~3. 供试品; 4. 虎杖对照药材; 5. 阴性对照品溶液

### 2.1.2 蜂房

取本品 10 ml, 蒸干, 加酸性水(49 ml 水加入 1 ml 稀硫酸)10 ml 超声浸提 1 h, 滤过, 用 10 ml 酸性水, 分 3 次洗涤残渣, 合并滤液, 水浴蒸干, 用 0.5 ml 甲醇溶解, 作为供试品溶液。另取缺蜂房的阴性对照品同法制成阴性对照溶液。另取蜂房药材, 同法制成对照药材溶液。按照 TLC 法试验, 吸取上述 3 种溶液各 5  $\mu$ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正丁醇-冰醋酸-水(19:5:5)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以茚三酮-乙醇溶液, 在 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 且阴性无干扰。结果如图 2。

### 2.1.3 冰片

取本品 1 ml, 作为供试品溶液。取缺冰片的阴性对照品同法制成阴性对照溶液。另取冰片对照品, 加乙醇制成每 1 ml 含 5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。按照 TLC 法试验(图 3), 吸取上述 3 种溶液各 5  $\mu$ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯(85:15)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以

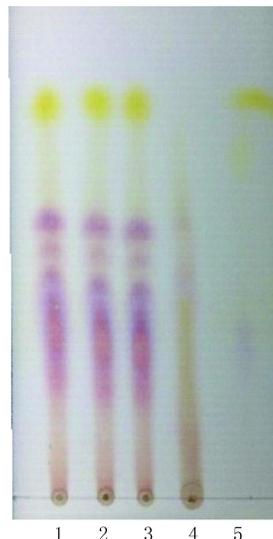


图 2 蜂房 TLC 图

1~3. 供试品; 4. 蜂房对照药材; 5. 阴性对照品溶液

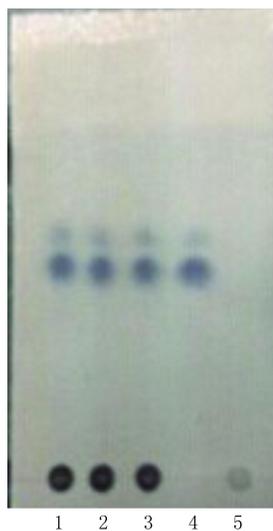


图 3 冰片 TLC 图

1~3. 供试品; 4. 冰片; 5. 阴性对照品溶液

5% 香草醛硫酸溶液, 在 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 且阴性无干扰。结果见图 3。

## 2.2 含量测定

### 2.2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m); 以乙腈-水(23:77)为流动相; 检测波长 306 nm; 流速 1.0 ml/min; 进样量 10  $\mu$ l; 柱温 40  $^{\circ}$ C。理论塔板数按虎杖苷峰计算应不低于 3 000。对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液 HPLC 图见图 4。

### 2.2.2 溶液的制备

(1) 供试品溶液: 精密量取本品 1 ml, 置 50 ml 量瓶中, 加稀乙醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤

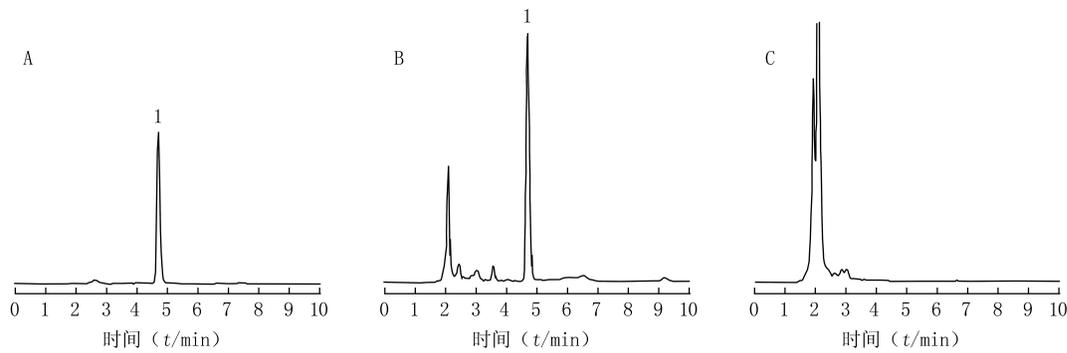


图4 复方虎杖酊 HPLC 图

A. 虎杖苷对照品; B. 复方虎杖酊供试品; C. 阴性溶液; 1. 虎杖苷

液,即得。

(2)阴性对照品溶液:按处方配制缺虎杖的阴性样品,按供试品溶液的制备方法制得阴性对照溶液。

(3)对照品溶液:取干燥 24 h 的虎杖苷对照品适量,精密称定,加稀乙醇制成每 1 ml 含 16.5  $\mu\text{g}$  的对照品溶液。

### 2.2.3 线性关系考察

精密量取对照品溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 ml,分别置于 10 ml 容量瓶中,加稀乙醇稀释至刻度,摇匀,进样,记录峰面积,以虎杖苷浓度( $X$ )为横坐标,峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程  $Y=34.881X+6.7604$  ( $r=0.9999$ )。结果表明,虎杖苷浓度在 8.25~66.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  范围内与峰面积呈良好的线性关系。

### 2.2.4 精密度试验

精密吸取对照品溶液,重复进样 5 次,记录峰面积,虎杖苷峰面积的 RSD 为 0.1%,表明方法的精密度良好。

### 2.2.5 稳定性试验

取已测虎杖苷含量的供试品溶液,分别在 0、4、8、12、24 h 进样,记录峰面积,计算其 RSD 为 0.5%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

### 2.2.6 重复性试验

取同一批号的样品 5 份,按“供试品溶液制备”方法制备,进样测定。结果虎杖苷峰面积的 RSD 为 0.7%,表明方法的重复性良好。

### 2.2.7 加样回收率试验

精密量取已测定虎杖苷含量的同一样品 6 份,每份 0.5 ml,分别准确加入虎杖苷对照品溶液 3.4 ml(浓度为 165  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ),按“供试品溶液制备”项方法制备,并按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。虎杖苷平均回收率为 100.1%,RSD 为 0.2%。详见表 1。

### 2.2.8 样品含量测定

表 1 加样回收率试验结果( $n=6$ )

样品含量 ( $m/\text{mg}$ )	加入量 ( $m/\text{mg}$ )	测得量 ( $m/\text{mg}$ )	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.624 2	0.561 0	1.186	100.1	100.1	0.2
0.624 2	0.561 0	1.188	100.5		
0.624 2	0.561 0	1.185	100.0		
0.624 2	0.561 0	1.185	100.0		
0.624 2	0.561 0	1.184	99.8		
0.624 2	0.561 0	1.185	100.0		

取 3 批不同批号的样品,按“供试品溶液制备”项方法制备供试品溶液,并测定虎杖苷含量,结果见表 2。

表 2 样品中虎杖苷含量测定结果( $n=3$ )

批号	含量( $\text{mg}/\text{ml}$ )
20141110	1.235
20141112	1.245
20141113	1.253

## 3 讨论

采用 TLC 法对制剂中虎杖、蜂房和冰片进行薄层鉴别,主斑点可清晰分离,且阴性无干扰,方法具有专属性。本实验首次建立 TLC 法对蜂房进行鉴别。需要注意的是,配制虎杖苷对照品时,应避光操作。

## 【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部). 2015 年版[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:194-195.
- [2] 田文涛,杨茂文,杨金琰,等. 高效液相色谱法测定复方伸筋片中虎杖苷的含量[J]. 中国药师, 2014, 17(3):522-523.
- [3] 张国跃,刘春河. RP-HPLC 法测定肝康宁片中虎杖苷的含量[J]. 中国医药科学, 2017, 7(9):39-41.

[收稿日期] 2018-04-27 [修回日期] 2018-08-01

[本文编辑] 李睿旻