

References:

- [1] Wang C L, Li X, Wang Y X. Studies on pharmacological of *Herba Epimedii* and its active ingredient [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1998, 23(3): 183.
- [2] Peng Z C, Zhang S W, Liu D Y, *et al*. Study on clarification

procedure of Qingrejiedu Oral Liqueal [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22 (4): 299-300.

- [3] Miao L L, Qin X M, Qi X M, *et al*. Study on purification of Qingrejiedu Oral Liqueal through flocculation [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2002, 22 (7): 413-415.

五虎散质量标准的研究

毛彦杰¹, 岳敏¹, 谷学新^{1*}, 范国强², 段豫萍², 秦晨^{2*}

(1. 首都师范大学 化学系, 北京 100037; 2. 北京同仁堂股份有限公司 科学研究所, 北京 100011)

摘要: 目的 建立五虎散的质量标准。方法 采用 TLC 法对方中当归、白芷、红花进行定性鉴别; 采用 HPLC 法测定升麻苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的含量。结果 升麻苷在 0.370 0~1.850 0 μg , 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷在 0.191 0~0.955 0 μg 与峰面积具有良好的线性关系; 平均回收率分别为 100.74% 和 98.33%, RSD 分别为 0.67% 和 1.91% ($n=5$)。结论 建立的方法简便、准确、可靠, 可作为控制该药品的质量标准。

关键词: 五虎散; 升麻苷; 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷; 质量标准; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)12-1354-03

Quality standard of Wuhu Powder

MAO Yan-jie¹, YUE Min¹, GU Xue-xin¹, FAN Guo-qiang², DUAN Yu-ping², QIN Chen²

(1. Department of Chemistry, Capital Normal University, Beijing 100037, China; 2. Scientific Research Institute of Beijing Tong Ren Tang Co., Ltd., Beijing 100011, China)

Abstract: **Object** To establish the quality standard for Wuhu Powder. **Methods** *Radix Angelicae Sinensis* (RAS), *Radix Angelicae Dahuricae* (RAD), and *Flos Carthami* (FC) were determined qualitatively by TLC. The content of cimicifugoside and 5-*O*-methylvisammioside were determined by HPLC. **Results** The linear ranges of cimicifugoside and 5-*O*-methylvisammioside were 0.370 0—1.850 0 μg and 0.191 0—0.955 0 μg . The recoveries were 100.74% and 98.33%, RSD were 0.67% and 1.91% ($n=5$), respectively. **Conclusion** The method is simple, accurate, credibility, which can be used as the quality control standard of Wuhu Powder.

Key words: Wuhu Powder (a Chinese prescription composed of FC, RAS, and RAD, etc.); cimicifugoside; 5-*O*-methylvisammioside; quality standard; HPLC

由红花、当归、白芷等药材配伍而成的五虎散是一种具有活血散瘀、消肿止痛等功效的中药, 用于跌打损伤、瘀血肿痛的治疗^[1]。防风中的升麻苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷具有较好的解热、镇痛、抗炎消肿等生理活性^[2]。为了有效地控制五虎散的质量, 本实验采用高效液相色谱法对方中的升麻苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷进行测定, 并对当归、白芷、红花进行了薄层鉴别, 结果令人满意。

1 仪器与材料

Waters 高效液相色谱仪 (Waters515 高压泵, Waters515 柱温箱, Waters717 自动进样器, Waters2996 检测器)。

当归对照药材 (批号: 927-200110)、白芷对照药材 (批号: 945-9903)、红花对照药材 (批号: 907-200006)、欧前胡素对照品 (批号: 0826-200206)、异欧前胡素对照品 (批号: 0827-200105)、升麻苷对照品 (批号: 1522-200001, 含量测定用) 和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷对照品 (批号: 1523-200001, 含量测定用) 购于中国药品生物制品检定所。五虎散由北京同仁堂股份有限公司制药厂生产, 批号为 3100024、3100025。甲醇为色谱级试剂, 其他试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 当归、白芷的鉴别: 取五虎散 3 g, 加无水乙

* 收稿日期: 2004-02-15

作者简介: 毛彦杰 (1977—), 男, 河北省张家口市人, 首都师范大学分析化学专业研究生, 从事中草药分析。

* 通讯作者 E-mail: Guxuexin@263.net

醇 10 mL, 超声处理 10 min, 静置, 滤过, 滤液浓缩至约 1 mL, 作为供试品溶液。另取当归、白芷对照药材各 1 g, 分别同法制成对照药材溶液。另取欧前胡素、异欧前胡素对照品, 加无水乙醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述对照品、对照药材溶液各 2 μ L, 供试品溶液 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-醋酸乙酯(4:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干。置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应位置上, 显相同颜色的荧光斑点。在与欧前胡素、异欧前胡素对照品色谱相应位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 阴性无干扰。见图 1。

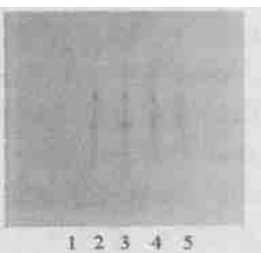


1-当归对照药材 2~4-五虎散
5-白芷对照药材 6-欧前胡素对照品 7-异欧前胡素对照品
1-RAS 2-4-Wuhu Powder
5-RAD 6-imperatorin
7-isoimperatorin

图 1 五虎散中当归、白芷薄层鉴别

Fig. 1 TLC of RAS and RAD in Wuhu Powder

2. 1. 2 红花的鉴别: 取五虎散 3 g, 加 80% 丙酮溶液 10 mL, 超声处理 10 min, 静置, 吸取上清液, 作为供试品溶液。同法制备缺红花的空白对照溶液。另取红花对照药材 0.5 g, 同法制成对照药材溶液。吸取上述 3 种溶液 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-甲酸-水-甲醇(7:2:3:0.4)为展开剂, 展开, 取出, 晾干。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。见图 2。



1-红花空白对照 2~4-五虎散 5-红花对照药材
1-blank solution
2-4-Wuhu Powder
5-FC

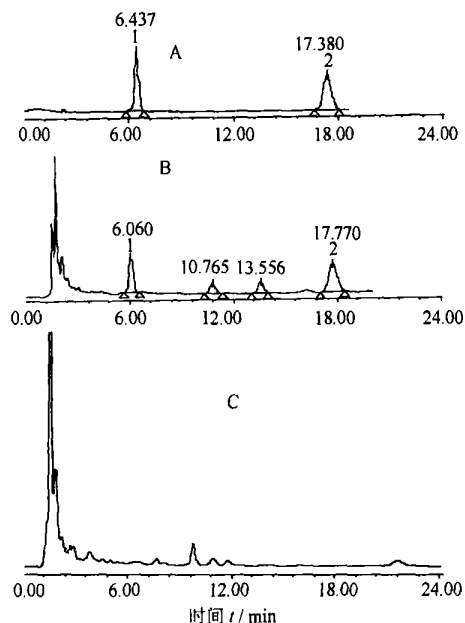
图 2 五虎散中红花薄层鉴别

Fig. 2 TLC of FC in Wuhu Powder

2. 2 含量测定

2. 2. 1 色谱条件: 色谱柱: Zorbax SB-C₁₈ (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水(38:62); 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 254 nm; 柱温: 35 $^{\circ}$ C。在上述条件下, 升麻苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷与其他组份均能达到基线分离, 升麻苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷出峰位置分别在 6.0 min 和 17.7 min

左右(图 3)。



1-升麻苷 2-5-O-甲基维斯阿米醇苷
1-cimicifugoside 2-5-O-methylvisammioside

图 3 混合对照品(A)、五虎散(B)和缺防风的阴性对照(C)的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), Wuhu Powder (B), and negative sample without *Radix Saposhnikoviae* (C)

2. 2. 2 对照品溶液的制备: 精密称取 110 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的升麻苷及 5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品适量, 精密称定, 各加入甲醇制成含升麻苷 0.370 mg/mL 及 5-O-甲基维斯阿米醇苷 0.191 mg/mL 的溶液。

2. 2. 3 供试品溶液的制备: 取装量差异项下的本品 3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率 100 W, 频率 40 kHz) 45 min, 取出, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过, 取续滤液, 即得。

2. 2. 4 线性关系考察: 精密吸取升麻苷对照品溶液(0.370 mg/mL) 1、2、3、4、5 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 按上述色谱条件, 分别精密吸取 10 μ L, 注入液相色谱仪测定峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y = 881\,550.10 X - 10\,439.26$, $r = 0.999\,95$ 。结果表明, 升麻苷在 0.370 0~1.850 0 μ g 与峰面积具有良好的线性关系。

精密吸取 5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品溶液

(0.191 mg/mL) 1、2、3、4、5 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 按上述色谱条件, 分别精密吸取 10 μ L, 注入液相色谱仪测定峰面积。以对照品进样量为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程: $Y = 2\,086\,267 X - 12\,881.00$, $r = 0.999\,97$ 。结果表明, 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷在 0.191 0~0.955 0 μ g 与峰面积具有良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验: 精密吸取升麻苷(0.011 mg/mL)、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷(0.057 3 mg/mL) 对照品溶液 10 μ L, 重复进样 5 次, 计算得升麻苷峰面积的 RSD 为 0.21%, 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷峰面积的 RSD 为 0.07%。

2.2.6 稳定性试验: 取同一供试品溶液(批号: 3100026), 分别于配制后 0、2、4、8、12、24 h 依法测定峰面积, 结果表明, 供试品溶液在 24 h 内基本稳定, 升麻苷峰面积的 RSD 为 0.32%, 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷峰面积的 RSD 为 0.99%。

2.2.7 重现性试验: 精密称取同一批号(批号: 3100026) 五虎散样品 5 份, 制备供试品溶液按上述方法测定峰面积, 计算得升麻苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的质量分数分别为 0.90、0.51 mg/g, RSD 分别为 1.72%、1.28% ($n=5$)。

2.2.8 回收率试验: 采用加样回收法。精密称取已知含量的同一批号(批号: 3100026, 含升麻苷 0.898 8 mg/g, 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷 0.512 2 mg/g) 1.5 g, 分别精密加入 0.321 6 mg/mL 升麻苷对照品溶液、0.222 4 mg/mL 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷对照品溶液各 4 mL, 平行测定, 按上述供试品溶液的制备方法 & 色谱条件进行测定, 结果升麻苷的平均回收率为 100.74%, RSD= 0.67%, 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的平均回收率为 98.33%, RSD = 1.91%。

2.2.9 样品测定结果: 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定结果见表 1。

表 1 五虎散中升麻苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的测定结果 ($n=4$)

Table 1 Determination of cimicifugoside and 5-*O*-methyll-risammioside in Wuhu Powder ($n=4$)

批号	升麻苷/(mg·g ⁻¹)	5- <i>O</i> -甲基维斯阿米醇苷/(mg·g ⁻¹)
3100024	0.91	0.53
3100025	0.91	0.51

3 讨论

3.1 五虎散中当归、白芷和红花的定性鉴别, 采用 TLC 法, 并分别与各自的阴性对照液进行了对照试验, 结果没有干扰, 斑点明显, 专属性好, 收到良好效果。

3.2 按照《中华人民共和国药典》2000 年版一部红花薄层鉴别方法中的硅胶 H 薄层板进行试验时, 发现硅胶 H 薄层板展开速度极慢, 后改用青岛产硅胶 G 薄层板进行试验, 通过对阴性及 3 批样品的试验观察, 阴性无干扰, 并且节约展开时间 10 min 左右。

3.3 超声时间的选择: 取本品装量差异项下的内容物 3 g 4 份, 按照 2.2.3 项下方法处理, 分别超声处理 15、30、45、60 min, 测定。结果表明, 超声处理 45、60 min 提取效果相差不大, 故选择超声提取时间为 45 min。

3.4 空白试验: 按处方药味的比例, 自配不含防风的群药, 按其工艺制成空白制剂, 按供试品溶液制备方法制成空白溶液, 在上述色谱条件下测定, 结果空白溶液在与对照品相同保留时间处未出现色谱峰, 故认为无干扰。

3.5 采用高效液相色谱法同时测定五虎散中升麻苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的含量, 处理方法简单, 所测结果重现性、精密度好, 适用于多种中药组份配伍使用的升麻苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的定量分析。

References:

[1] Ch P (中国药典) [S]. Vol I. 2000.
[2] Xiao Y Q, Yang B, Yao S T, et al. Studies on quality specification standards for *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2001, 26 (3): 185-187.

《中草药》杂志被确认为允许刊载处方药广告的第一批医药专业媒体

据国家药品监督管理局、国家工商行政管理局和国家新闻出版总署发布的通知, 《中草药》杂志作为第一批医药专业媒体, 允许发布粉针剂、大输液类和已经正式发文明确必须凭医生处方才能销售、购买和使用的品种以及抗生素类的处方药”广告。