

复方人参胎盘胶囊的质量标准研究

陈 兴¹ 任荣军²

1 岳阳市一人民医院 湖南岳阳 414000 2 岳阳市食品药品检验所 湖南岳阳 414000

[摘 要] **目的** 建立复方人参胎盘胶囊的质量标准。**方法** 采用 TLC 法对复方人参胎盘胶囊中何首乌、山茱萸进行了 TLC 鉴别；采用 HPLC 法对方中红参的主要成分人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re 进行了含量测定分析。色谱柱为 Symmetry®-C18(250mm×4.6mm, 5 μm)；，流动相为乙腈-0.05% 磷酸溶液 (20:80)，流速为 1.0 mL·min⁻¹，检测波长为 203nm，柱温为 30℃。**结果** 定性鉴别斑点清晰，阴性对照无干扰；人参皂苷 R_{g1} 在进样量 0.4962 ~ 4.9620 μg 范围内与峰面积线性关系良好，r=0.9996(n=5)，平均回收率为 98.92% (n=6)，RSD 为 1.08%；人参皂苷 Re 在进样量 0.4108 ~ 4.1080 μg 范围内与峰面积线性关系良好，r=0.9998(n=5)，平均回收率为 98.71% (n=6)，RSD 为 0.65%。**结论** TLC 和 HPLC 用于控制复方人参胎盘胶囊的质量，方法简单、可行。

[关键词] 复方人参胎盘胶囊；质量标准；TLC；HPLC；人参皂苷 R_{g1}；人参皂苷 Re

[中图分类号] R286 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-9561 (2018) 05-004-03

Study on Quality Standard for Fufang Rensheng Taipan Capsules

Chen Xing¹ Ren Rongjun² (1 The First People's Hospital of Yueyang 2 Food and Drug inspection in YueYang city, Hunan YueYang 414000)

[Abstract] **Objective** To establish the quality standard of Fufang Rensheng Taipan Capsules. **Method** Polygoni multiflori Radix and Corni fructus were identified by TLC. The contents of ginsenoside R_{g1} and ginsenoside Re were determined by HPLC. The separation was performed on a Symmetry®-C18(250mm×4.6mm, 5 μm) column with acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution (20:80) as mobile phase. The flow rate was 1.0 ml/min. The wavelength for detection was 203nm. The column temperature was 30 °C. **Results** The TLC spots developed were fairly clear, and the blank test showed no interference. The linear range of ginsenoside R_{g1} was 0.4962 ~ 4.9620 μg (r=0.9996); the average recovery was 98.92 % (n=6), RSD was 1.08%; The linear range of ginsenoside Re 0.4108 ~ 4.1080 μg (r=0.9998); the average recovery was 98.71 % (n=6), RSD was 0.65%. **Conclusion** TLC and HPLC are used to control the quality of Fufang Rensheng Taipan Capsules, and the method is simple and feasible.

[Key words] Fufang Rensheng Taipan Capsules; quality standard; TLC; HPLC; Ginsenoside R_{g1}; Ginsenoside Re

复方人参胎盘胶囊为某医院制剂，处方由红参、紫河车、制何首乌、山茱萸等十一味组成。该方为多年临床实践证明疗效确切的经验方，具有益气补血，强身健脑之功效，主要用于气血两虚，神疲乏力，头晕食少，体虚健忘，失眠等症状。笔者在对复方人参胎盘胶囊的质量标准研究中，对方中制何首乌、山茱萸^[1]的薄层色谱条件进行了研究，建立了方中红参人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re 含量测定^[2-8]方法，报道如下。

1 仪器与试剂

Waters 2695e/2489 HPLC；分析天平（梅特勒-托利多仪器上海有限公司）；超声波清洗机（宁波新芝生物科技股份有限公司）。

制何首乌对照药材（120934-201009）、熊果酸对照品（110742-201220）、人参皂苷 R_{g1}对照品（110703-201529，纯度 95.0%）、人参皂苷 Re（110754-201324，纯度 92.7%），大黄素对照品（110756-200510）试药来源于中国食品药品检定研究院；硅胶 G 板由青岛海洋化工厂生产；复方人参胎盘胶囊（湖南省某医院生产，批号：20131012、20131106、20131215，规格：0.4g/粒，）；乙腈（色谱纯）；重蒸馏水；其余试剂为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 制何首乌的鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备：取批号为 20131012 样品 4g，加乙醇 50ml，加热回流 60 分钟，滤过，滤液置水浴上蒸干，得残渣，加 20ml 水使其溶解，加 2ml 盐酸，80℃水浴加热 30 分钟，置分液漏斗中，用 40ml 乙醚振摇提取 2 次，每次 20ml，取乙醚层，置蒸发皿中挥干，残渣加 1ml 氯仿溶解，得供试品溶液。

2.1.2 阴性样品溶液的制备：按 2.1.1 方法制备不含制何首乌的阴性样品溶液。

2.1.3 对照药材及对照品溶液的制备：取制何首乌对照药材（120934-201009）1g，同法制成对照药材溶液。取大黄素对照品（110756-200510）适量，加三氯甲烷使溶解，制成浓度为 1mg / ml 的溶液，即得。

2.1.4 方法：分别吸取上述四种溶液各 2 μl，点于同一薄层板上，用甲苯-乙酸乙酯-甲酸（15:2:1）作展开剂，展开，取出，晾干，放置在紫外光灯（365nm）下检视。

结果：供试品色谱中，与对照品、对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点，阴性无干扰。见图 1。

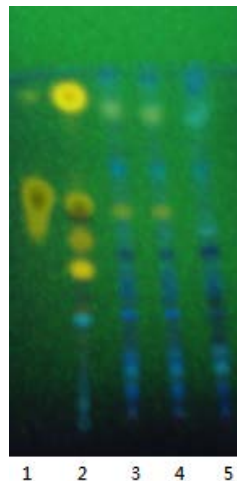


图 1: 制何首乌鉴别 (荧光)



图 2: 山茱萸鉴别

Fig 1 TLC of Polygoni multiflori Radix Fig 2 TLC of corni fructus

图 1(1-大黄素 2-何首乌对照药材 3,4-供试品 5-阴性)

Fig 1 (1-emodin, 2-polygonum multiflorum contrast

作者简介：陈兴，硕士研究生，副主任药师，主要从事制剂质量标准研究。

medicinal materials; 3,4-sample; 5-negative sample)

图 2 (1- 熊果酸, 2,3- 供试品, 4- 阴性)

Fig 2 (1-ursolic acid, 2,3-sample; 4-negative sample)

2.2 山茱萸的鉴别^[1]

2.2.1 供试品溶液的制备: 取批号为 20131012 样品 8g, 加 10ml 乙酸乙酯, 超声提取 15 分钟, 滤过, 滤液水浴蒸干, 残渣加 2ml 无水乙醇使溶解, 即得。

2.2.2 阴性样品溶液的制备: 按 2.2.1 方法制备不含山茱萸的阴性样品溶液。

2.2.3 对照品溶液的制备: 取熊果酸 (110742-201220) 对照品适量, 加无水乙醇制成浓度为 1mg/ 1ml 的溶液, 即得。

2.2.4 方法: 吸取上述三种溶液各 5 μ l, 分别点于同一薄层板上, 用甲苯-乙酸乙酯-甲酸 (20:4:0.5) 作展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷 10% 硫酸乙醇溶液, 置 105℃ 加热至斑点显色清晰。

结果: 供试品色谱中, 与对照品色谱相应的位置上, 显相同的紫红色斑点。阴性无干扰。见图 2。

3 含量测定

3.1 色谱条件^[4]

色 谱 柱: Symmetry®-C18 (250×4.6mm, 5 μ m); 流 动 相 为 乙 腈-0.05% 磷酸溶液 (20:80), 检测波长 203nm, 流速 1.0mL·min⁻¹, 柱温 30℃。

3.2 溶液的制备

对照品溶液的制备: 取人参皂苷 R_{g1}13.06mg、人参皂苷 Re11.08mg, 精密称定, 置同一 50ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 (人参皂苷 R_{g1}0.2481mg·mL⁻¹、人参皂苷 Re0.2054mg·mL⁻¹)。

供试品溶液的制备: 取批号为 20131012 样品内容物约 5g, 研细, 精密称定, 置索氏提取器中, 加 100ml 三氯甲烷, 加热提取 3 小时, 滤过, 药渣挥干, 连同滤纸移入具塞锥形瓶中, 精密加入 50ml 水饱和的正丁醇, 密塞, 称定重量, 超声处理 30 分钟, 滤过, 精密量取续滤液 25ml, 置蒸发皿中水浴蒸干, 加甲醇使残渣溶解, 转移至 5ml 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

阴性样品溶液的制备: 按处方称取除红参外的各味药, 制备阴性样品, 按上述供试品溶液的制备方法制备, 即得。

3.3 专属性试验

取“3.2”项下溶液各 10 μ l 按“3.1”项色谱条件测定记录色谱图, 阴性样品无干扰, 色谱图见图 3。

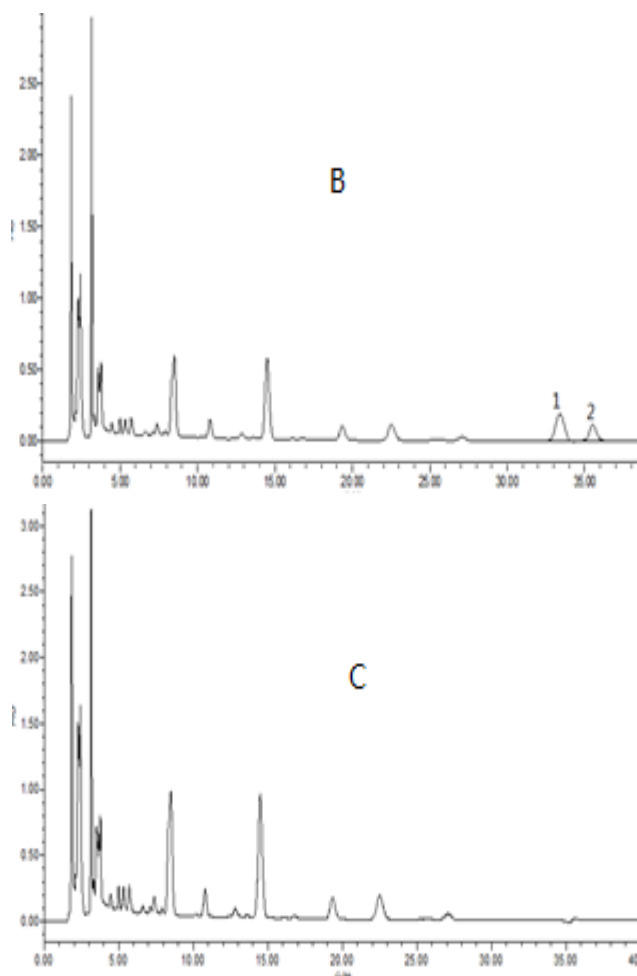
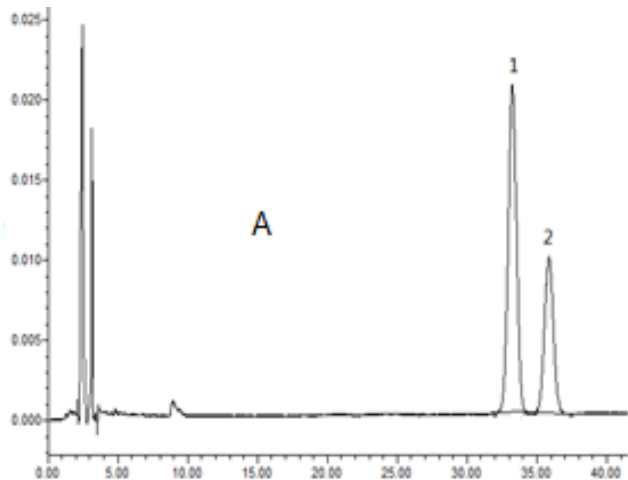


图 3: 复方人参胎盘胶囊 HPLC 图

Fig 3 HPLC of Fufang Rensheng Taipan Capsules

A. 混合对照品 (reference substance); B. 供试品 (sample); C. 阴性样品 (negative sample); 1. 人参皂苷 R_{g1} (ginsenoside R_{g1}); 2. 人参皂苷 Re (ginsenoside Re)

3.4 线性关系考察

精密吸取混合对照品溶液 (0.2506mg·mL⁻¹) 2 μ l、5 μ l、10 μ l、15 μ l、20 μ l, 按“3.1”项色谱条件测定其峰面积, 以进样量 (μ g) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程人参皂苷 R_{g1} 为 $A=338278.03C+21731.36$, $R=0.9996$; 人参皂苷 Re 为 $A=215924.18C-4343.80$, $R=0.9998$ 。结果表明: 人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 分别在 0.4962 ~ 4.9620 μ g 和 0.4108 ~ 4.1080 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

3.5 精密度试验

精密吸取混合对照品溶液 10 μ l, 重复进样 6 次, 人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re 峰面积平均值分别为 839187 和 436561, RSD 分别为 0.9%、0.8%, 表明所用仪器精密性良好。

3.6 稳定性试验

取样品 (批号: 20131012) 一份, 精密称定, 按“3.2”项下方法制备样品溶液, 分别于 0、2、4、8、12、24 小时, 精密吸取同一样品溶液 10 μ l, 注入液相色谱仪测定, 人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re 峰面积 RSD 分别为 1.1%、0.9%, 表明样品溶液中的人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re 在 24 小时内稳定。

3.7 重复性试验

取同一批号 (20131012) 样品 6 份, 精密称定, 按“3.2”

项下方法制备样品, 依法测定, 人参皂苷 R_{g1} 平均含量为 $0.120\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 0.8%; 人参皂苷 Re 平均含量为 $0.102\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.1%。

3.8 回收率试验

取复方人参胎盘胶囊样品(批号 20131012)(人参皂苷

$R_{g1}0.120\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、人参皂苷 $R_{g1}0.102\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 约 2g, 精密称定, 精密加入混合对照品溶液(人参皂苷 $R_{g1}0.2481\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 Re $0.2054\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 1ml, 水浴蒸干, 再按“3.2”项下方法制备供试品溶液, 测定, 结果见表 1。

表 1: 回收率试验 (n=6)

Tab1 Results of recovery

成分 (component)	取样量 (sample weight)/g	样品中含量 (sample content)/mg	对照品加入量 (added amount)/mg	测得量 (detected amount)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD /%
人参皂苷 R_{g1}	2.0125	0.2415	0.2481	0.4893	99.88	98.92	1.08
	2.0211	0.2425	0.2481	0.4894	99.50		
	2.0632	0.2476	0.2481	0.4889	97.27		
	2.0816	0.2498	0.2481	0.4979	100.00		
	2.0017	0.2402	0.2481	0.4849	98.63		
	2.0534	0.2464	0.2481	0.4901	98.22		
人参皂苷 Re	2.0125	0.2053	0.2054	0.4075	98.45	98.71	0.65
	2.0211	0.2062	0.2054	0.4095	99.00		
	2.0632	0.2104	0.2054	0.4129	98.57		
	2.0816	0.2123	0.2054	0.4159	99.11		
	2.0017	0.2042	0.2054	0.4085	99.48		
	2.0534	0.2094	0.2054	0.4100	97.64		

3.9 样品测定

取 3 个不同批号的供试品溶液, 混合对照品溶液(人参皂苷 $R_{g1}0.120\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、人参皂苷 $R_{g1}0.102\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 各 $10\mu\text{L}$, 注入高效液相色谱仪, 按外标法以峰面积计算人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 的含量, 结果见表 2。

表 2: 样品含量测定结果 (n=3)

Tab2 Sample determination

批号 (Batch No.)	含量 $\mu\text{g}/\text{粒}$			
	(content) $\mu\text{g}/\text{capsule}$			
	人参皂苷 R_{g1}	RSD	人参皂苷 Re	RSD
	Ginsenoside R_{g1}	/%	Ginsenoside Re	/%
20131012	48.2	0.69	40.8	0.60
20131106	47.4		40.2	
20131215	47.9		40.5	

4 讨论

4.1 本实验对方中制何首乌、山茱萸进行了薄层色谱鉴别条件摸索, 确定薄层色谱鉴别展开剂, 色谱图斑点清晰, 阴性对照无干扰, 专属性较强, 可用于复方人参胎盘胶囊定性鉴别。

4.2 色谱条件优化: 在参考《中国药典》2015 年版中红参项下含量测定及文献中检测人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 检测波长选定基础上, 本文选用 203nm 作为检测波长。流动相的选择在参考文献^[2-8]的基础上, 考察了乙腈-水、乙腈-磷酸盐缓冲液及乙腈-0.05% 磷酸溶液等几种, 通过观察比较供试品溶液中主峰峰形、分离度、理论塔板数等评价参数, 认为流动相为乙腈-0.05% 磷酸溶液(20:80)时, 出峰时间短, 分离度好, 系统稳定, 峰形也较好, 故选择其作为该色谱的分析条件。供试品溶液的制备时, 考察比较了不加三氯甲烷和加三氯甲烷前处理供试品, 结果表明加三氯甲烷前处理供

试品可有效减少杂质对主峰的干扰。提取时间选择了 15 分钟、30 分钟、45 分钟, 结果表明提取 30 分钟, 人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 基本提取完全。

4.3 本制剂为湖南省某医院经过多年实践的临床经验方, 具有益气补血, 强身健脑功效, 对于临床出现的气血两虚, 神疲乏力, 头晕食少, 体虚健忘, 失眠等症疗效显著。本实验对方中制何首乌、山茱萸进行了薄层色谱鉴别条件摸索, 建立了红参的主要成分人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 的含量测定方法-HPLC 法, 该方法简便快速、准确可靠, 可作为定量指标控制复方人参胎盘胶囊的质量。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:27
- [2] 朱照静, 邓开英. 红参中人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(5): 10
- [3] 尤慧莲, 国明, 方义钢. 脑得生咀嚼片中人参皂苷 R_{g1} 含量测定方法的改进[J]. 中国药事, 2004, 18(2):36
- [4] 华彬, 陆兔林. 复方心脑舒颗粒剂中人参皂苷 R_{g1} 的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(8):469-470
- [5] 肖金芳, 周建红. 反相高效液相色谱法测定益气强身胶囊中人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{g1} 的含量[J]. 中南药学, 2010, 11(8):842-844
- [6] 陈桂云, 陈卫平. HPLC-ELSD 测定红参中人参皂苷 R_{g1} 、Re、Rb1 含量[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(5):754-756
- [7] 吴建梅, 林宏英, 赵李宏. 等. 同仁堂红参与高丽红参品质的初步比较研究-人参皂苷和人参多糖的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(7):573-577
- [8] 任睿, 贾宜君, 金红宇. HPLC 测定益气复脉口服液中药红参的含量[J]. 现代食品与药品杂志, 2006, 16(4):8-11