

# 参桃软肝胶囊质量标准

贾建伟<sup>1,2</sup>, 李慧<sup>1\*</sup>, 张恩欣<sup>3</sup>, 周岱翰<sup>3</sup>, 李远彬<sup>1,2</sup>, 赖小平<sup>1,2</sup>

(1. 广州中医药大学新药开发研究中心, 广州 510006; 2. 东莞广州中医药大学中医药数理工程  
研究院, 广东 东莞 523808; 3. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405)

[摘要] 目的: 建立参桃软肝胶囊的质量控制标准。方法: 采用 TLC 对该制剂中生晒参、当归、丹参、大黄进行定性鉴别, 采用 HPLC 测定人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的含量, 色谱条件为以乙腈-水为流动相进行线性梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 203 nm。结果: TCL 专属性强, 均能检出目标物质, 且斑点清晰, 阴性对照无干扰。人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 线性范围 0.406~4.059 7 μg (r = 0.999 7), 平均加样回收率 100.96%, RSD 1.16%。结论: 方法简便准确、重复性好, 可有效控制参桃软肝胶囊的质量。

[关键词] 参桃软肝胶囊; 薄层色谱; 高效液相色谱法; 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>; 质量标准

[中图分类号] R284.1, R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)08-0063-03

[doi] 10.11653/syfyj2013080063

## Quality Standard of Shentao Ruangan Capsules

JIA Jian-wei<sup>1,2</sup>, LI Hui<sup>1\*</sup>, ZHANG En-xin<sup>3</sup>, ZHOU Dai-han<sup>3</sup>,  
LI Yuan-bin<sup>1,2</sup>, LAI Xiao-ping<sup>1,2</sup>

(1. Research and Development Center of New Drug, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Dongguan Research Institute of Mathematical Engineering of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Dongguan 523808, China; 3. First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the standard for quality control of Shentao Ruangan capsules. **Method:** *Panax ginseng*, *Angelica sinensis*, *Salvia miltiorrhiza*, *Rheum officinale* were identified qualitatively by TLC. The content of ginsenoside Rb<sub>1</sub> was determined by HPLC, chromatographic conditions were as follows: with acetonitrile-water as mobile phase in gradient elution, the detection wavelength of 203 nm, the flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. **Result:** TCL were reflecting a good specificity and could detect target substance with spots were clear and negative control was without interference. Ginsenoside Rb<sub>1</sub> showed a good linearity at the range of 0.406-4.059 7 μg (r = 0.999 7), the average recovery was 100.96% with RSD 1.16%. **Conclusion:** This established method was simple, accurate and reproducible, which could effectively control the quality of Shentao Ruangan capsules.

[Key words] Shentao Ruangan capsules; TLC; HPLC; ginsenoside Rb<sub>1</sub>; quality standard

参桃软肝胶囊是在名中医周岱翰验方参桃软肝

丸的基础上经过改革而研制的新制剂, 由生晒参、当归、大黄、桃仁等 8 味中药组成, 具有活血化瘀、软坚散结、扶正固本等功效<sup>[1]</sup>, 用于原发性肝癌属虚及转移性肝癌肝热血瘀者。生晒参为方中君药, 其抗肝癌有效成分为人参皂苷类<sup>[2]</sup>。本实验通过 TLC 对参桃软肝胶囊中生晒参、当归、丹参、大黄进行鉴别, 利用 HPLC 测定人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量, 并对该方法学进行考察, 为参桃软肝胶囊的质量控制提供实验依据。

[收稿日期] 20121024(016)

[基金项目] 东莞市高等院校科研机构科技计划项目 (2011108101009)

[第一作者] 贾建伟, 讲师, 从事新药研究与开发, Tel: 020-39358317, E-mail: vip.jianwei@gzhtcm.edu.cn

[通讯作者] \*李慧, 硕士, 从事中药新药研究, Tel: 15920418015, E-mail: lihuihubei@126.com

## 1 材料

LC-20 A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), BSA224S-CW 型分析天平(上海奕宇电子仪器有限公司)。人参、当归、丹参对照药材及大黄酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 917-9905, 120927-200613, 120923-200408, 0757-200405), 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品(供含量测定用,中国食品药品检定研究院,批号 110704-201122), 硅胶 G(青岛海洋化工有限公司), 参桃软肝胶囊(自制,批号分别为 20110701, 20110702, 20110703), 乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC 鉴别

**2.1.1 生晒参<sup>[3]</sup>** 取本品内容物 3 g, 加三氯甲烷 40 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 残渣加甲醇 50 mL, 超声 20 min, 滤过, 滤液浓缩至约 8 mL, 过中性氧化铝柱子(100 ~ 200 目, 15 g, 内径 15 mm), 用 40% 甲醇 100 mL 洗脱, 洗脱液蒸干, 残渣加水 30 mL 使溶解, 用水饱和正丁醇萃取 2 次, 每次 25 mL, 合并提取液, 水洗 3 次, 每次 20 mL, 正丁醇液置水浴锅蒸干, 加甲醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取人参对照药材粉末 1 g, 采用同样方法制备对照药材溶液。取缺生晒参的阴性样品适量, 同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。吸取上述 3 种溶液各 15  $\mu$ L 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)于 10  $^{\circ}$ C 以下放置分层的下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 置日光下检视。结果供试品在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照样品无干扰。

**2.1.2 当归** 取本品内容物 3 g, 置具塞锥形瓶中, 加乙醇 50 mL, 超声 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙酸乙酯 4 mL 使溶解, 取上清液作为供试品溶液。另取当归对照药材粉末 1 g, 加甲醇 20 mL, 超声处理 10 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙酸乙酯 2 mL 使溶解, 取上清液作为对照药材溶液。取缺当归的阴性样品适量, 同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。吸取上述溶液各 15  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯(9:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示供试品在与对照药材色谱的相应位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照无干扰。

**2.1.3 丹参** 取本品内容物 3 g, 加甲醇 8 mL 浸泡 10 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取丹参对照

药材 1 g, 加甲醇 5 mL, 浸泡 10 min, 时时振摇, 滤过, 滤液作为对照药材溶液。取缺丹参的阴性样品适量, 同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验, 吸取上述 3 种溶液各 20  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:3:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液与对照药材色谱在相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性样品无干扰。

**2.1.4 大黄** 取本品 0.6 g, 加甲醇 20 mL 超声处理 20 min, 滤过, 滤液蒸至约 2 mL 作为供试品溶液。另取大黄酸对照品, 加甲醇制成 80  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的对照品溶液。取缺大黄的阴性样品适量, 同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。吸取上述 3 种溶液各 15  $\mu$ L, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(8:2:0.2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干。日光下检视发现, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的黄色主斑点, 而阴性对照则无干扰。

### 2.2 含量测定

**2.2.1 色谱条件** Waters Atlantis d C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm  $\times$  150 mm, 5  $\mu$ m), 流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0 ~ 10 min, 20% A; 10 ~ 50 min, 40% A), 流速 1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 检测波长 203 nm, 进样量 10  $\mu$ L。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品适量, 加甲醇制成 0.4  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的溶液, 精密量取 1 mL 至 50 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 即得。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取本品内容物 4 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 置水浴锅上回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL 置水浴锅上蒸干, 残渣加水 30 mL 使溶解, 用三氯甲烷 30 mL 振摇提取, 弃去三氯甲烷提取液, 用水饱和正丁醇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 蒸干, 残渣用甲醇转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 用 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过, 即得。

**2.2.4 阴性对照溶液的制备** 按处方组成, 取除生晒参的其余药味, 按工艺要求制成缺生晒参的阴性对照品溶液, 按上述色谱条件测定, 结果在与人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品相应的保留时间处未显色谱峰, 表明其他组分对测定无干扰, 见图 1。

**2.2.5 线性关系考察** 分别精密吸取 0.4  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  对照品溶液 1, 3, 5, 7, 9, 10 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 各进样 10  $\mu$ L, 测定峰面积积分值。

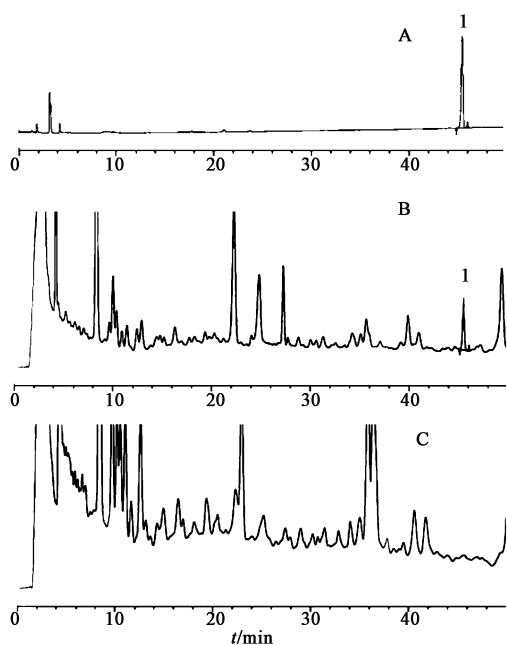
A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>

图1 参桃软肝胶囊 HPLC

以人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品进样量为横坐标,相应色谱峰面积为纵坐标,得回归方程  $Y = 244\ 890 X + 1\ 502.9$  ( $r = 0.999\ 7$ ),表明人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 进样量在  $0.406 \sim 4.059\ 7\ \mu\text{g}$  线性关系良好。

**2.2.6 精密度试验** 取 2.2.2 项下对照品溶液,连续进样 5 次,结果人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 峰面积的 RSD 0.27%。

**2.2.7 重复性试验** 取同一批样品胶囊 5 份,每份约 5 g,精密称定,按 2.2.3 项下方法制成供试品溶液,进样  $10\ \mu\text{L}$ ,结果人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 峰面积的 RSD 2.49%。

**2.2.8 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 进样测定,结果人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 峰面积的 RSD 0.26%,供试品溶液在 12 h 内稳定。

**2.2.9 加样回收率试验** 取已知含量的同一样品 6 份,每份约 2.5 g,精密称定,分别精密加入人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品适量,按 2.2.3 项下方法制成供试品溶液,测定,结果见表 1。

**2.2.10 样品测定** 取 3 批参桃软肝胶囊样品各 5 g,精密称定,按 2.2.3 项下方法制成供试品溶液,进样  $10\ \mu\text{L}$ ,测定人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的含量,结果分别为  $0.947\ 4, 0.3943\ 4, 0.955\ 4\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

### 3 讨论

参桃软肝胶囊为复方制剂,生晒参为君药,在制剂制备中分别进行了乙醇提取和水提取。供试品溶

表 1 参桃软肝胶囊中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品 中含量 / $\mu\text{g}$	加入量 / $\mu\text{g}$	测得量 / $\mu\text{g}$	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	2.501 3	2.349 4	2.55	4.771 2	102.23		
2	2.500 7	2.348 3	2.55	4.732 0	100.62		
3	2.501 0	2.349 1	2.55	4.717 2	99.96	100.96	1.16
4	2.500 8	2.349 0	2.55	4.775 0	102.41		
5	2.502 9	2.350 1	2.55	4.708 6	99.52		
6	2.501 7	2.349 8	2.55	4.743 0	101.02		

液制备中,曾按照 2010 年版《中国药典》方法进行制备,结果不佳,拖尾严重,优化条件过中性氧化铝柱子纯化后,能达到良好的分离。在当归的 TLC 鉴别中选择多种展开剂系统,效果均不理想,而参照文献[4]中方法展开,斑点清晰,有较强的专属性。

按照相关文献[5-7]测定人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量时,基线不平,峰形不对称,且杂峰多,干扰大;而采用文献[8]方法,分离效果好,但分析时间长;本试验通过预试验考察,建立了人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的含量测定方法,该法专属性强、重复性好,同时缩短了分析时间,节约溶剂,可用于该制剂的质量控制,也为其进一步开发提供科学依据。

### [参考文献]

- [1] 陈林香,戴馨仪,周岱翰,等.参桃软肝丸对肿瘤生长及 T 淋巴细胞亚群的影响[J].肿瘤防治杂志,2002,9(3):241.
- [2] 任非,马俊义,任晓丹,等.人参抗癌活性研究进展[J].河北中医药学报,2005,2(1):39.
- [3] 喻丽霞,战全荣.女宝胶囊中人参白芍陈皮薄层鉴别[J].中医药学刊,2001,19(3):286.
- [4] 孟舒,陈再兴,杨丹.强精胶囊质量标准研究[J].中国中医药信息杂志,2005,12(10):45.
- [5] 赵德华,杨德智.HPLC 测定田七痛经胶囊中人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、Rg<sub>1</sub> 的含量[J].中成药,2005,27(5):533.
- [6] 代广会,周卿,尚京川.HPLC 法测定维参锌胶囊中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 的含量[J].中国药房,2007,18(30):2366.
- [7] 楼晓峰,胡献跃,方肖庆,等.高效液相色谱法测定稳心胶囊三七中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的含量[J].药物鉴定,2009,18(10):44.
- [8] 黎玉翠,陈志维,暴梅佳,等.HPLC 法测定灵芝降糖胶囊中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 及三七皂苷 R<sub>1</sub> 的含量[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(7):10.

[责任编辑 全燕]