

# 人参败毒胶囊质量标准的研究

王志安, 王晓丹, 李志明

(深圳太太药业股份有限公司, 深圳 518057)

**摘要:** 采用薄层色谱法对方中独活、羌活、人参、枳壳进行了定性鉴别, 并应用高效液相色谱法对君药独活指标成分二氢欧山芹醇当归酸酯进行了定量分析。结果表明, 本法线性关系好( $r=0.9994$ ), 分离效果佳。

**关键词:** 人参败毒胶囊; 橙皮苷; 人参二醇; 人参三醇; 二氢欧山芹醇当归酸酯

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2001)03-0006-03

## Studies on the Quality Control of *Renshenbaidu* Capsule

WANG Zhi-an, WANG XIAO-dan, LI Zhi-ming

(Shenzhen Taita Pharmaceutical Company Ltd., Shenzhen, 518057)

**Abstract:** The qualitative analysis of *Renshenbaidu* capsule were used by identification of radix angelicae pubescens, rhizoma et radix notopterygii, radix ginseng and fructus aurantii with TLC methods. The quantitative control were used by determining the content of angeloyloxy-columbianetin, a component from *Angelica pubescens f. biserrata*, as a marker

收稿日期: 2001-03-02

component, of the capsule with HPLC method. The linear correlation ( $r = 0.9994$ ) and recovery(102.4%) showed this method is suitable to control the quality.

**Key words:** *Renshenbaidu* capsule; hesperidin; panaxadiol; panaxatriol; angeloyloxy-columbianetin

人参败毒胶囊系由独活、羌活、人参、枳壳等十二味中药提取制成的胶囊剂,原方见于钱乙《小儿药证真诀》,主要用于气虚外感风寒湿邪所致恶寒,发热,发汗,口不渴,头痛,肢体酸痛沉重,乏力,咳嗽,鼻塞流清涕,舌苔白腻,脉浮无力。依据其化学成分的性质,应用薄层色谱和高效液相色谱法分别对人参败毒胶囊进行了定性和定量,为该制剂的生产提供了质量控制依据。

### 1 仪器和试验

仪器:惠普 1100 高效液相色谱仪。色谱柱: Spher C-18,  $\phi 4\text{mm} \times 250\text{cm}$ , GL Sciences, Inc. Japan。试剂:甲醇(色谱纯)、乙醇、磷酸、硫酸均为分析纯。对照品:橙皮苷、人参二醇、人参三醇、独活对照药材、羌活对照药材均为中国药品生物制品检定所提供,二氢欧山芹醇当归酸酯为南京药用植物研究所提供。

### 2 薄层鉴别

供试品的制备 取本品内容物 1.5g,加甲醇 20ml,搅拌使溶解,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为供试品溶液。

**2.1 羌活鉴别** 取羌活对照药材 0.5g,加甲醇 20ml 浸泡 30min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为对照药材溶液。按人参败毒胶囊处方,除去羌活药材,按工艺制成空白对照溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 II) 试验,吸取上述三种溶液各 5 $\mu\text{l}$  分别点于同一硅胶 G 薄层板上,使成 1cm 的条状,以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(5:3:0.5:0.5) 为展开剂展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm) 下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,空白对照无干扰。

**2.2 独活鉴别** 取独活对照药材 0.5g,加甲醇 20ml 浸泡 30min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为对照药材溶液。取二氢欧山芹醇当归酸酯对照品加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液。按人参败毒胶囊处方,除去独活药材,按工艺制成空白溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VIB) 试验,吸取供试品溶液及上述二种对照品、空白对照溶液各 5 $\mu\text{l}$ ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚-醋酸乙酯(7:3) 为展开剂,展

开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm) 下检视。供试品色谱中,在与独活对照药材和二氢欧山芹醇当归酸酯对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,空白无干扰。

**2.3 枳壳鉴别** 取枳壳对照药材 0.5g,加甲醇 20ml 浸泡 30min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为对照药材溶液。取橙皮苷对照品,加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液。按人参败毒胶囊处方,除去枳壳药材,按工艺制成空白溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VIB) 试验,吸取供试品溶液及上述两种对照溶液、空白对照液各 5 $\mu\text{l}$ ,分别点于同一用 0.5% 氢氧化钠制备的硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-甲醇-水(100:17:13) 为展开剂展开 3cm,取出,晾干,再以甲苯-醋酸乙酯-甲酸-水(20:10:1:1) 的上层溶液为展开剂,展至约 8cm,取出,晾干,喷以 5% 三氯化铝乙醇溶液,置紫外光灯(365nm) 下检视。供试品色谱中,在与枳壳对照药材和橙皮苷对照品色谱相应的位置上,显相同的黄绿色荧光斑点,空白无干扰。

**2.4 人参鉴别** 取本品内容物 3g,加 7% 硫酸的 45% 乙醇溶液 45ml,超声处理 10min,离心,取上清液,置锥形瓶中,置水溶液回流 1h,放冷,用石油醚(60-90 $^{\circ}\text{C}$ ) 提取 3 次,每次 15ml,合并提取液,加水 10ml 洗涤,石油醚液挥干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为供试品溶液。取人参二醇、人参三醇对照品,加甲醇制成每 1ml 各含 1mg 的混合溶液,作为对照品溶液。按人参败毒胶囊处方,除去枳壳药材,按工艺制成空白溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VIB) 试验,吸取上述三种溶液各 5 $\mu\text{l}$ ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以苯-丙酮(5:2) 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以硫酸乙醇溶液(1 $\rightarrow$ 10),在 105 $^{\circ}\text{C}$  加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365nm) 下检视。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,空白无干扰。

### 3 含量测定

**3.1 供试液的制备** 试验采用索氏回流提取,通过不同溶剂 95% 乙醇、甲醇及不同提取时间考察二氢欧山芹醇当归酸酯的提取效果,结果以甲醇索氏回流提取 3h 提取率较高,详见表 1。

表1 供试品溶液制备方法的选择

提取溶液	提取时间(h)	二氢欧山芹醇当归酸酯(μg/粒胶囊)	提取溶剂	提取时间(h)	二氢欧山芹醇当归酸酯(μg/粒胶囊)
95%乙醇	1	79.6	甲醇	1	78.5
	2	78.3		2	78.5
	3	80.1		3	82.4
				4	81.9

**3.2 色谱条件与分离效果** 仪器: 惠普 1100 高效液相色谱仪。色谱柱: Spher C-18, φ4mm × 250cm, GL Sciences Inc. Japan。流动相: A: 甲醇; B: 水(含4%磷酸)。梯度洗脱: 0~40min, 60% B~20% B; 40~50min, 60% B; 50~55min, 20% B~60% B。

检测波长: 根据处方中主要中药成分的紫外吸收图谱, 选择对二氢欧山芹醇当归酸酯干扰较少的波长 λ=327nm 为测定波长。流速: 0.6ml/min

色谱分离情况: 二氢欧山芹醇当归酸酯对照品、供试品、独活对照药材及独活阴性对照样品的 HPLC 分离效果。

**3.3 线性关系考察** 精密吸取浓度为 0.040mg/ml 的二氢欧山芹醇当归酸酯对照品溶液 1.0 3.0 5.0、7.0 9.0、11.0μl(相当于含二氢欧山芹醇当归酸酯 0.040、0.120、0.200、0.280、0.360、0.440μg) 进行 HPLC 测定, 以二氢欧山芹醇当归酸酯量(μg) 为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果见表 2。

表2 二氢欧山芹醇当归酸酯 HPLC 标准曲线测定

序号	1	2	3	4	5	6
标准溶液浓度(mg/ml)	0.040					
进样量(μl)	1	3	5	7	9	11
(μg)	0.040	0.120	0.200	0.280	0.360	0.440
A	123129	279439	411476	565142	734662	860969
回归方程	Y= 1860191.07x + 49356.98 (r= 0.9994)					

线性关系表明, 二氢欧山芹醇当归酸酯含量在 0.040~0.440μg 范围内, 供试品溶液浓度与峰面积线性关系良好, 直线外推基本过原点, 可采用外标一点法进行测定计算。

**3.4 精密度试验** 精密吸取浓度为 0.040mg/ml 的二氢欧山芹醇当归酸酯对照品溶液 10μl, 重复进样 6 次, 测定二氢欧山芹醇当归酸酯吸收峰面积。结果分别为 747497、735736、749361、755530、750792、745133, RSD=0.89%。

**3.5 重现性试验** 取同一批号 9903072 供试品, 按“供试液的制备”方法平行制备 5 份, 依法测定二氢欧山芹醇当归酸酯含量。结果分别为 0.1069、

0.1106、0.1088、0.1100、0.1081mg/粒胶囊, 平均值为 0.1089mg/粒胶囊, RSD=1.4%(n=5)。

**3.6 回收率试验** 精密称以批号为 98122101、已知含量的人参败毒胶囊内容物 1.2g(含二氢欧山芹醇当归酸酯 0.40mg) 5 份, 分别加入二氢欧山芹醇当归酸酯对照品 0.16、0.24、0.32、0.40、0.48mg, 以下按“供试品的制备”方法操作, 依法测定样品中二氢欧山芹醇当归酸酯含量。结果见表 3。

表3 回收率试验

序号	二氢欧山芹醇当归酸酯(mg)		回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD(n=5) (%)
	样品含量	加入量			
1		0.16	0.18	105.3	
2		0.24	0.27	98.5	
3	0.40	0.32	0.33	101.4	102.4
4		0.40	0.43	103.7	
5		0.48	0.49	101.7	

**3.7 样品测定及含量限度** 按上文所确定的分析方法对 14 批人参败毒胶囊中二氢欧山芹醇当归酸酯含量进行测定, 结果见下表:

表4 人参败毒胶囊 14 批样品二氢欧山芹醇当归酸酯含量测定结果

批号	每粒胶囊含 C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> (μg)	批号	每粒胶囊含 C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> (μg)
98072201	37.5	98112201	95.2
98073001	39.0	98112401	82.4
98080501	50.1	98121801	29.5
98090801	62.3	98122101	100.0
98091301	61.7	98122501	77.9
98091601	59.5	99030701	104.4
98111801	59.8	99030702	108.9

根据以上测得值以及稳定性观察结果, 拟定本品二氢欧山芹醇当归酸酯含量限度为: 本品每粒含二氢欧山芹醇当归酸酯(C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>), 不得少于 30μg。

#### 4 结论

通过薄层定性测定, 羌活、独活、枳壳、人参二醇、人参三醇可作为该制剂的定性指标。

对样品中二氢欧山芹醇当归酸酯(C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>) 成分进行了定量分析, 《中国药典》2000 年版对独活含量测定以蛇床子素为指标成分, 但蛇床子素含量较低(0.3% 以上), 以水为溶媒提取独活, 蛇床素含量较难达到万分之一以上, 我们参照相关文献, 选作了二氢欧山芹醇当归酸酯(0.6% 以上) 为独活含量测定指标成分, 不仅主成分含量高, 而且方法可行, 可作为该制剂的控制指标。