

补肾强身胶囊质量标准的研究

于洋, 李倚云, 张厚宝
(扬州市药品检验所, 江苏 扬州 225009)

摘要: 目的: 研究制定补肾强身胶囊的质量标准。方法: 对淫羊藿、女贞子进行了薄层色谱鉴别, 用 HPLC 法测定了淫羊藿苷的含量, 流动相为乙腈-水 (30: 70), 检测波长 270nm。结果: 薄层色谱鉴别检出淫羊藿、女贞子, 含量测定平均回收率 100.7%, RSD = 2.55% (n = 5)。淫羊藿苷在 4~36 μ g/ml 范围内线性良好。结论: 本法操作简便, 方法稳定, 专属性强, 可作为该制剂的质量控制方法。

关键词: 补肾强身胶囊; 淫羊藿苷; 齐墩果酸; 薄层色谱; HPLC; 含量测定

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2003)01-0009-02

补肾强身胶囊依据元代古方五子补肾丸之意, 由淫羊藿、金樱子、菟丝子、女贞子、狗脊等五味中药制成的复方制剂^[1]。功能补肾强身, 主治腰酸足软, 头晕耳鸣, 眼花心悸, 阳痿遗精等。收载于卫生部药品标准中药成方制剂第四册, 其质量标准只有一般检查项, 为了有效地控制其内在质量, 完善其质量标准, 本文选择淫羊藿、女贞子进行了薄层色谱鉴别^[2]; 选择淫羊藿苷作为含量测定成分, 淫羊藿苷含量测定方法有薄层层析紫外分光光度法^[3]、二阶导数光谱法^[4]、高效液相色谱法^[5-7]、薄层扫描法^[8], 补肾强身胶囊中淫羊藿苷的含量测定未见报道。本文采用 HPLC 法测定了淫羊藿苷的含量。可作为修订该制剂质量标准的参考依据。

1 仪器与试剂

岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪, SPD-10AVP 紫外可见分光光度检测器, CR-6A 色谱数据处理机, 淫羊藿苷、齐墩果酸对照品(中国药品生物制品检定所提供), 乙腈(色谱纯), 其它试剂均为分析醇。补肾强身胶囊(贵州科辉制药一厂, 批号: 990503, 990125; 海南凤凰制药厂, 批号: 20000310; 三九万荣药业有限责任公司, 批号: 200000306)均为市售品。

2 鉴别试验

2.1 淫羊藿鉴别 取本品内容物 3g, 加 70% 乙醇 30ml, 置水浴上加热回流 1h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20ml 使溶解, 用水饱和的正丁醇提取 2 次, 每次 20ml, 合并提取液, 用正丁醇饱和的水洗涤 2 次, 每次 10ml, 将正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇 1ml 使溶解,

作为供试品溶液。取淫羊藿对照药材 1g, 同法制成对照药材溶液; 另取淫羊藿苷对照品, 加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液; 再按处方取不含淫羊藿的其它药味, 按成品工艺及上述供试品制备方法, 制成阴性对照溶液。吸取上述四种溶液各 5 μ l, 分别点于同一以 CMC-Na 为粘合剂的硅胶 H 薄层板上, 以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水 (10: 1: 1: 1) 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、对照品色谱相应的位置上显相同暗红色斑点, 喷以三氯化铝试液, 再置紫外光 (365nm) 下检视, 显相同的橙红色荧光斑点, 阴性对照无干扰。

2.2 女贞子鉴别 取女贞子对照药材 1g, 按淫羊藿鉴别项下供试品溶液制备方法, 制成对照药材溶液; 另取齐墩果酸对照品, 加乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液; 同时按处方取不含女贞子的其它药味, 按成品工艺及供试品制备方法, 制成阴性对照溶液。取淫羊藿鉴别项下供试品溶液及上述三种溶液各 10 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-丙酮-醋酸乙酯 (5: 2: 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 110 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材、对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰。

3 含量测定

3.1 色谱条件 C₁₈ 色谱柱 (5 μ m 200 \times 4.6mm 三津特纳); 流动相: 乙腈-水 (30: 70)^[11]; 流速 1.0ml/min; 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 检测波长 270nm; 检测灵敏度: 0.1AUFS。

3.2 溶液配制

3.2.1 对照品溶液的配制 精密称取淫羊藿苷对

照品 10mg, 置 100ml 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 5ml 置 25ml 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀即得。

3.2.2 供试品及阴性对照品溶液的制备 取本品 20 粒的内容物, 混匀, 精密称取 0.6g 置蒸馏瓶中, 精密加稀乙醇 20ml, 密塞, 称重, 水浴上回流 1h, 放冷, 称重, 用稀乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。同法制备不含淫羊藿的阴性对照品溶液。

3.3 系统适用性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液各 10 μ l, 注入色谱仪, 记录色谱图, 理论塔板数以淫羊藿苷峰计算为 6000, 淫羊藿苷峰与其它杂质峰分离良好。淫羊藿苷峰保留时间约为 9min, 阴性对照品图谱在淫羊藿苷峰位置处无其它干扰峰。

3.4 线性关系考察 精密称取淫羊藿苷对照品 10mg 置 100ml 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 精密吸取该溶液 1、3、5、7、9ml 置 25ml 容量瓶中, 加甲醇至刻度。分别吸取上述溶液各 10 μ l 进样, 依法测定, 以峰面积为纵坐标, 相应浓度为横坐标, 进行线性回归, 回归方程为: $Y = 1.4409 \times 10^4 X + 0.02983 \times 10^5$, $r = 0.9998$ 。结果淫羊藿苷在 4~36 μ g/ml 范围内呈良好线性关系。

3.5 精密度试验 取线性关系考察项下对照品溶液, 连续进样 6 次, 依法测定, $RSD = 0.7\%$ ($n = 6$)。

3.6 重复性试验 对同一批号(990503)样品, 平行试验 6 次, 分别按供试品溶液制法制备后依法测定, 计算淫羊藿苷的含量, $RSD = 1.17\%$ ($n = 6$)。

3.7 回收率试验 取已测知含量的同一样品 5 份, 分别精密加入淫羊藿苷对照品的甲醇溶液(0.10002mg \cdot ml $^{-1}$) 2ml, 以下按供试品溶液的制法制备后依法测定, 计算回收率。平均回收率为 100.7%, $RSD = 2.55\%$ ($n = 5$)。

3.8 稳定性试验 供试品溶液在室温下放置, 精密吸取供试品溶液在 0.1、2、4、8、16、24h 进样, 测定含量。结果淫羊藿苷峰面积的 $RSD = 1.02\%$, 说明供试品溶液在 24h 内稳定。

3.9 样品测定 按 3.2 项下方法制备对照品溶液及供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 10 μ l 进样, 按上述色谱条件测试, 结果见表

1。

表 1 样品含量测定结果($n = 4$)

批号	含量(mg/g)	RSD(%)
990503	0.222	1.45
990125	0.198	1.01
20000310	0.330	1.35
20000306	0.249	1.12

4 讨论与小结

通过薄层色谱法定性鉴别淫羊藿、女贞子, 色谱斑点清晰, 重复性好、专属性强, 可作为该制剂的定性指标。

淫羊藿苷为黄酮醇苷类化合物, 易溶于乙醇、甲醇、水等溶剂, 根据其溶解性, 分别采用水、稀乙醇、乙醇、甲醇为溶媒提取试验, 结果稀乙醇提取制得的样品分离较好, 含量较高。提取方法及流动相均参考了 2000 年版中国药典收载的淫羊藿[含量测定]项的方法。本文建立了补肾强身胶囊的 HPLC 定量分析方法, 具有简便、准确、灵敏的优点。其含量限度可在进一步多批量测定后确定。

参考文献:

- [1] 卫生部药品标准. 中药成方制剂第七册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993, 142.
- [2] 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 34, 286.
- [3] 顾学梅. 抗骨增生丸中淫羊藿甙的含量测定[J]. 中成药, 1999, 21(4): 208.
- [4] 靳风云. 二阶导数光谱法测定仙灵骨葆胶囊中淫羊藿苷的含量[J]. 贵阳中医学院学报, 2000, 22(4): 55-57.
- [5] 朱逸举. 用反相 HPLC 法测定淫羊藿及其制剂中淫羊藿苷的含量研究[J]. 药物分析杂志, 1991, 11(4): 20.
- [6] 罗维早. 高效液相色谱法测定慢肾宁胶囊中淫羊藿苷的含量[J]. 华西药学杂志, 1998, 13(2): 88-90.
- [7] 谭生建. RP-HPLC 测定补肾宁片中淫羊藿苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5(2): 5-7.
- [8] 胡润淮, 殷明方, 万炎. 薄层扫描法测定复方仙灵脾注射液淫羊藿苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(5): 8-9.
- [9] 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 268.