

壮骨肾宝胶囊的质量标准研究*

刘江琴 梁 统¹ 庄海旗¹ 莫丽儿¹ 吴 铁² 李青南² (湛江 524023 广东医学院化学教研室; ¹ 广东省天然药物研究与开发实验室; ² 广东医学院骨生物研究室)

摘要 目的: 建立壮骨肾宝胶囊的质量控制的方法。方法: 用薄层析法对壮骨肾宝胶囊制剂中的白术、黄芪、淫羊藿进行定性鉴别; 用高效液相外标法测定淫羊藿苷的含量。结果: 鉴别方法简单, 灵敏, 准确; 测定淫羊藿苷的线性范围为 12~ 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, $r = 0.9991$, 精密度 $\text{RSD} = 1.2\%$ ($n = 6$), 重复性 $\text{RSD} = 1.4\%$ ($n = 6$), 平均回收率 96.8% ($n = 6$)。结论: 该方法为壮骨肾宝胶囊质量标准控制提供了依据。

关键词 壮骨肾宝胶囊制剂; 白术; 黄芪; 淫羊藿; 鉴别; 高效液相; 质量标准

Study on quality standards for Zhuanggushenbao capsules

Liu Jiangqin (Liu JQ), Liang Tong (Liang T), Zhuang Haiqi (Zhuang HQ), Mo Lier (Mo LE), Wu tie (Wu T), Li Qingnan (Li QN) (Department of Chemistry, Guangdong medical College, Zhanjiang, 524023)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To develop effective methods for the quality control of Zhuanggushenbao capsule. **METHOD:** TLC was performed to identify Rhizoma Atractylodis Macrocephalae, Radix Astragali and Herba Epimedii in the capsule preparations. HPLC was used to determine the content of icariin. **RESULTS:** The methods are simple, sensitive and accurate. The standard curve of icariin by HPLC was Linear in the range of 12~ 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, $r = 0.9991$. The average recovery of icariin was 96.8%, $\text{RSD} = 1.2\%$ ($n = 6$), the precision test $\text{RSD} = 1.4\%$ ($n = 6$), and reproducibility test $\text{RSD} = 3.1\%$ ($n = 6$). **CONCLUSION:** These studies provide the scientific base for quality evaluation control of Zhuanggushenbao capsule.

KEY WORDS Zhuanggushenbao capsule, Atractylodis macrocephalae, Radix Astragali, Herba Epimedii, identification, HPLC, quality standards.

壮骨肾宝胶囊为我院研制的新药^[1], 该处方是由黄芪 (Astragalus membranaceus)、箭叶淫羊藿 (Epimedium sagittatum)、白术 (Atractylodes macrocephala) 等三味中药组成, 经水煎提取, 喷雾干燥后加少量淀粉作赋形剂, 填入胶囊而成。药理实验证明: 该制剂对类固醇性及长期应用羟基脲或肾上腺皮质激素醋酸泼尼松所致的骨质疏松症具有显著的防治作用^[1-4]。本文建立了该制剂主药的薄层色谱鉴别和淫羊藿苷的定量分析, 为质量控制提供方法和科学数据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 HP1100 型高效液相色谱仪 (美国惠普公司); 紫外分析仪 (上海顾村电光仪器厂)。

1.2 试剂和药材 白术内酯甲 (atractylenolide-1) 对照品、淫羊藿苷 (icariin) 对照品、黄芪甲苷 (astragaloside IV) 对照品 (均购自中国药品生物制品检定所); 化学试剂均为 AR 级; 白术、黄芪、箭叶淫羊藿均购自广东省医药公司。

2 方法与结果

2.1 白术的鉴别

2.1.1 样品溶液制备: ① 胶囊制剂样品溶液: 称取胶囊内容物 3 g 于烧瓶中, 加丙酮 50 mL, 置水浴上回流 30 min, 滤过, 滤液浓缩至 2 mL。② 对照品溶液: 称取白术药材粉 2 g, 按样品溶液制备法制备。③ 阴性对照溶液: 称取空白药材成药 3 g, 按样品溶液制备法制备。④ 白术内酯甲对照品溶液: 用甲醇配成 1 mg/mL 溶液。

2.1.2 薄层色谱鉴别: 移取制剂样品溶液、白术药材对照液、阴性对照液及白术内酯甲标准品溶液各 5 μL 。分别点样于同一硅胶 G-0.3% CMC-Na 板 (自制, 8×16 cm), 以甲苯-乙酸乙酯 (95: 5) 为展开剂, 展距 6~7 cm。喷 10% 硫酸-乙醇溶液, 110℃ 加热 10 min, 置紫外灯 (365 nm) 下观察。样品色谱中, 与白术药材对照品和白术内酯甲对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色 (青色) 荧光斑点, 阴性对照液上无此三点, 见图 1(a) 所示。

2.2 淫羊藿和黄芪的鉴别

2.2.1 样品溶液制备: ① 胶囊制剂样品: 称取胶囊内容物 6 g, 加蒸馏水 200 mL 于烧瓶中, 加热回流 30 min, 趁热过滤,

滤液减压浓缩至 60 mL, 放冷, 用以水饱和的正丁醇萃取 (20、20、10 mL), 合并萃取液用 1% NaOH 洗涤三次 (10、10、5 mL), 再用蒸馏水洗涤一次 (30 mL), 弃去洗涤液, 正丁醇溶液置水浴上蒸干, 残渣用 6 mL 甲醇溶解, 浓缩至 2 mL。②对照品溶液: 取淫羊藿甙、黄芪甲苷对照品, 分别用甲醇配成 1 mg/mL 溶液。③药材对照品溶液: 分别称取淫羊藿药材 2 g、黄芪药材 2 g, 分别按样品溶液制备法制备。④缺淫羊藿阴性对照液、缺黄芪阴性对照液: 分别称取缺淫羊藿药材的成药 2 g 和缺黄芪药材的成药 2 g, 按样品溶液制备法制备。

2. 2. 2

① 黄芪的鉴别:

取胶囊剂样品液、黄芪甲苷对照品溶液、黄芪药材对照液和缺黄芪阴性对照液各点样约 4 μ L, 点样于硅胶 G-0.3% CMC 板 (自制) (8 $\times$ 16 cm), 氯仿-甲醇-水 (65: 35: 10)

(于 10℃ 以下放置 3 h, 取下层液) 作展开剂, 展距 10 cm。喷 10% 硫酸-乙醇溶液, 110℃ 加热 10 min, 在可见光下观察, 在供试品色谱中, 与黄芪对照药材, 甲芪甲苷对照品相应的位置上, 显相同颜色的紫黑色斑点, 阴性对照液上无此斑点, 见图 1(b) 所示。

② 淫羊藿的鉴别:

取胶囊剂样品液、淫羊藿苷对照品溶液、淫羊藿药材对照液和缺淫羊藿阴性对照液各点样约 2 μ L 于聚酰胺薄膜 (浙江黄岩化学实验厂), 以无水乙醇: 水 (55: 45) 为展开剂, 展距 6 cm, 晾干, 放置一天后再显色。喷以 1% 三氯化铝乙醇溶液, 热风吹干, 置紫外灯 (365 nm) 下观察。在样品色谱中, 与淫羊藿苷对照品的色谱相应的位置上, 显相同颜色 (亮黄色) 荧光斑点。阴性对照液上无此斑点, 见图 1(c) 所示。

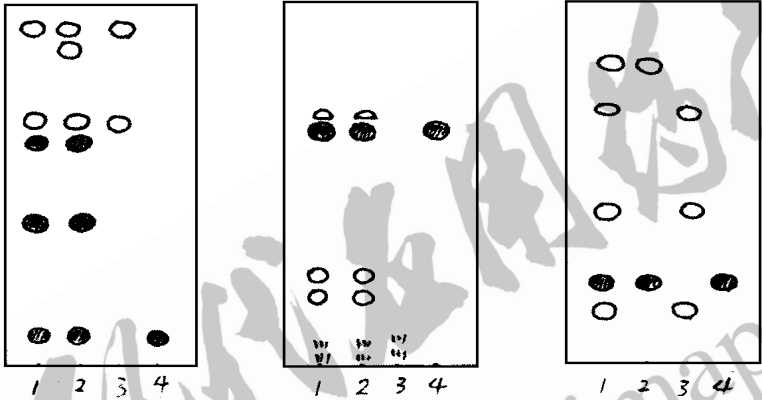


图 1 白术、淫羊藿及黄芪鉴别 TLC 图

a 白术鉴别 TLC 图

- 1. 壮骨肾宝制剂样品
- 2. 白术药材对照样品
- 3. 缺白术阴性对照样品
- 4. 白术内酯甲标准品

b 淫羊藿鉴别 TLC 图

- 1. 壮骨肾宝制剂样品
- 2. 淫羊藿药材对照样品
- 3. 缺淫羊藿阴性对照样品
- 4. 淫羊藿苷标准品

c 黄芪鉴别 TLC 图

- 1. 壮骨肾宝制剂样品
- 2. 黄芪药材对照样品
- 3. 缺黄芪阴性对照样品
- 4. 黄芪甲苷标准品

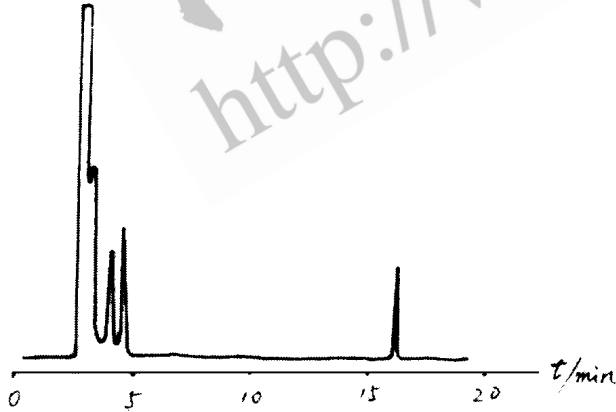


图 2 壮骨肾宝胶囊剂中淫羊藿苷的高效液相色谱图

1. 淫羊藿苷

2. 3 淫羊藿苷的含量测定

2. 3. 1 高效液相色谱 (HPLC) 条件: 色谱柱 Spherisorb C18

柱 (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), 流动相: 甲醇: 0.02 mol/L 磷酸盐 (59: 40, pH = 3.0), 流速: 0.8 mL/min; 柱温: 30℃; 检测波长: 270 nm, 进样 10 μ L; 定量方法: 外标法; 分离图谱见图 2。缺淫羊藿药材成药样品无干扰色谱峰。

2. 3. 2 标准曲线的制作 精密称取于 105℃ 干燥恒重的淫羊藿苷标准品 10 mg, 加甲醇溶解于 10 mL 容量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 精密移取一定量配成 12.5, 25.0, 50.0, 75.0, 100.0 μ g/mL 系列标准溶液。于高效液相中进样 10 μ L, 外标峰面积法定量, 以浓度为横坐标, 峰面积值为纵坐标, 得回归方程: $Y = 15.17X - 38.19$ $r = 0.9991$ 。

2. 3. 3 样品淫羊藿苷的含量测定 精密称取壮骨肾宝胶囊内容物 300 mg, 置 100 mL 三角烧瓶中, 加入 70% 乙醇 30 mL, 超声波提取 45 min, 过滤于 50 mL 容量瓶中, 用 70% 乙醇稀释至刻度, 为定量分析试液。取 10 μ L 于高效液相分析, 外标峰面积法定量, 结果见表 1。

表 1 不同批号样品含量测定结果($n=8$)

批号	981107	981115	981222	991027
含量(mg/g)	6.9±0.4	7.7±0.3	4.1±0.5	7.2±0.1

2.3.4 进样精密度和方法重复性试验 取同一定量分析试液,在高效液相上测定 5 次,测量进样精密度;称取同一批号的样品 6 份,按 2.3.3 项下方法进行 6 次提取和测定,作测定方法重复性试验。结果见表 2。

表 2 精密度和重复性试验

进样精密度试验		方法重复性试验	
测定次数	样品含量(mg/g)	样品编号	样品含量(mg/g)
1	7.1	1	7.2
2	7.2	2	7.2
3	7.1	3	7.0
4	7.0	4	7.3
5	7.2	5	7.2
6	7.0	6	7.1
$\bar{X}=7.1$		$\bar{X}=7.2$	
RSD=1.2%		RSD=1.4%	

2.3.5 加样回收率试验 精密称取批号 981115 号胶囊样品 300 mg 6 份,准确加入一定量的淫羊藿苷标准品,按 2.3.3 项下方法提取和测定,结果见表 3。

3 讨论

3.1 白术的薄层层析通常用苍术醚进行显色鉴定,但经炮制或生产工艺制备后,苍术醚已难以检测,故本法首次利用白术中的白术内酯甲的鉴别特征,选择了新的展开剂和显色系统,所得色谱图非常清晰易辨;淫羊藿和黄芪经本法处理后,所含杂质相对很少,色谱样品中的淫羊藿苷和黄芪甲苷显色点均明显地区别于其它杂质点。

表 3 回收率测定($n=6$)

编号	样品中含量 (mg)	加入标准量 (mg)	测定量 (mg)	回收率 (%)
1	2.06	1.25	3.32	100.8
2	2.06	1.25	3.30	99.2
3	2.06	1.25	3.28	97.6
4	2.06	2.50	4.41	94.0
5	2.06	2.50	4.51	98.0
6	2.06	2.50	4.34	91.2
				$\bar{X}=96.8\%$
				RSD=3.7%

3.2 在定量分析的流动相系统中,若淫羊藿苷的保留时间过短,淫羊藿苷的峰形明显拖尾,本法选择在保留时间约 16 min 时,峰形对称,且阴性样品无其它成分存在,线性考察、精密度、重复性及回收率试验均符合制剂质量标准要求。

3.3 淫羊藿苷是防治骨质疏松的主要有效成分之一^[6],故以之作定量分析的参考标准。但由于淫羊藿的品种、产地和采摘时间不同,其淫羊藿苷含量差异较大,因此制剂生产中应注意淫羊藿的材料来源及时调整制剂的生产工艺流程。

参考文献

1 吴 铁,崔 燎,陈志东,等.壮骨肾宝抗骨质疏松药效学研究及毒性实验.中国药理学通报,1996,12(增刊):22.

2 吴 铁,崔 燎,陈志东,等.壮骨肾宝对抗泼尼松不良反应的实验研究.中国中医药科技,1996,3(4):16.

3 李青南,黄连芳,廖进民,等.中药补骨 2 号对去势雌性大鼠骨代谢影响的定量研究.中国老年学杂志,1995,15(2):113.

4 李朝阳,等.中药补骨 2 号对去势雌大鼠密质骨代谢影响的定量研究.中成药,1994,16(10):32.

5 李青南,廖进民,吴 铁,等.淫羊藿预防羟基脲至雄大鼠骨质疏松的定量研究.中国中医骨伤科杂志,1996,4(3):1.