

# 麟生颗粒的制备及质量控制

应海燕<sup>1</sup>, 沈国兴<sup>2</sup>, 张宇燕<sup>3</sup>, 李金辉<sup>3</sup> (1. 杭州市上城区中西医结合医院, 杭州 310008; 2. 浙江省青春医院, 杭州 310016; 3. 浙江中医药大学心脑血管病研究所, 杭州 310053)

**摘要:**目的 制备麟生颗粒并建立质量控制标准。方法 对麟生颗粒中的主要成分淫羊藿、仙茅进行了薄层色谱定性鉴别; 用高效液相色谱法对淫羊藿苷进行含量测定。结果 薄层鉴别方法专属性强。淫羊藿苷在  $1.1 \sim 20.9 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  内有良好的线性关系, 回归方程  $Y = 43.857X - 5.324.2$  ( $r = 0.9999$ ), 平均回收率为 98.28%, RSD 为 2.39%。结论 本法操作简便、准确、分离效率高、稳定性好、分析速度快, 为本制剂的质量控制提供了可靠的方法。

**关键词:**麟生颗粒; 制备工艺; 质量控制

中图分类号: R931.6; R917.4; R944.27

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2008)03-0260-03

## Preparation and Quality Control of Linseng Granules

YING Hai-yan<sup>1</sup>, SHEN Guo-xing<sup>2</sup>, ZHANG Yu-yan<sup>3</sup>, LI Jin-hui<sup>3</sup> (1. Hospital of Integrated TCM & WM in Shangcheng District in Hangzhou, Hangzhou 310008, China; 2. Zhejiang Qingchun Hospital, Hangzhou 310016, China; 3. Institute of Cardio-Cerebrovascular Disease, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

作者简介: 应海燕, 女, 主管中药师

Tel: (0571) 86952530

E-mail: yhy0528@126.com

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To prepare Linsheng Granules and establish the quality control standards. **METHODS** The main ingredients of Linsheng Granule: Epimedium and Baking were identified by TLC; HPLC was used to determine the content of Icaritin. **RESULTS** TLC method was highly specific. The linearity of Icaritin was in the range of 1.1 - 20.9  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . The regression equation was  $Y = 43.857X - 5.324.2$  ( $r = 0.9999$ ), The average recovery was 98.28% and RSD was 2.39%. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, reliable and rapid, and can be applied to the quality control of Linsheng Granule. **KEY WORDS:** Linsheng granule; preparation; quality control

麟生颗粒的处方是国家级名老中医裘笑梅先生根据多年的临床研究与探索,以病因联系,病机转化理论为依据,历经临床摸索与科学筛选自拟而成。其有温阳暖宫,填精益肾的功效,用于治疗肾阳不足,胞宫虚寒所致的不孕症。淫羊藿为处方中的主药,淫羊藿苷为其主要活性成分,运用高效液相色谱方法测定淫羊藿苷含量已多有报道<sup>[1-7]</sup>。为了有效、准确地控制麟生颗粒的质量,本实验选用淫羊藿苷为含量测定的指标成分,以淫羊藿、仙茅为定性指标对其进行质量控制。

### 1 仪器与试剂

日本岛津高效液相色谱仪: LC-10ADVP系列, VP-ODS  $\text{C}_{18}$ 柱(150 mm  $\times$  4.6 mm, 0.5  $\mu\text{m}$ ), LC-10ADVP高压泵, CTO-10AVP柱温箱, SPD-10AVP紫外检测器; USC-202超声波清洗器(上海波龙电子设备有限公司); AG135电子天平(瑞士梅特勒托利多仪器有限公司); Simplicity超纯水仪(美国 Millipore corporation)。

淫羊藿苷对照品、仙茅苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110737-200312, 110771-200203),麟生颗粒由我院制剂室生产(浙药剂 Z20050254,批号 061106, 061113, 061120)。乙腈、甲醇为色谱纯;水为纯化水;乙醇、乙酸乙酯均为分析纯。

### 2 处方与制备

#### 2.1 处方

淫羊藿,仙茅,紫石英,巴戟天,肉苁蓉,山茱萸,丹参,紫河车,肉桂。

#### 2.2 制备

以上九味,紫河车、肉桂粉碎成细粉,过 8 号筛,备用。紫石英先煎 1 h,再加入其余六味,加水煎煮两次,第一次 2 h,第二次 1.5 h,合并煎液,滤过,滤液浓缩至相对密度为 1.15~1.20(50  $^{\circ}\text{C}$ ),放冷,加入 95%乙醇使含醇量为 65%,充分搅拌,静置使沉淀 24 h,取上清液,回收乙醇并浓缩至相对密度为 1.30~1.35(50  $^{\circ}\text{C}$ )的浸膏。加入上述细粉与适量的蔗糖、糊精,混匀,制成颗粒,干燥(55~60  $^{\circ}\text{C}$ ),分装,即得。

### 3 质量控制

#### 3.1 性状

本品为深褐色颗粒;味甜而微苦。

#### 3.2 定性鉴别

**3.2.1 淫羊藿的鉴别** 取本品 4 g,加乙醇 20 mL,超声处理 15 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取淫羊藿苷对照品,制成每 1 mL含 25  $\mu\text{g}$ 的溶

液,照薄层色谱法(中国药典 2005 版一部附录 VIB)试验,吸取上述两种溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 H 薄层板上,以乙酸乙酯-丁酮-甲醇-水(10:1:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,再置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的橙红色荧光斑点。

**3.2.2 仙茅的鉴别** 取本品 4 g,加乙醇 20 mL,超声处理 10 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙酸乙酯 1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取仙茅苷对照品,加乙酸乙酯制成每 1 mL含 0.1 mg液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述两种溶液各 2  $\mu\text{L}$ ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-甲酸(10:1:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2%铁氰化钾-2%三氯化铁溶液(1:1)(临用新配)。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的蓝色斑点。

#### 3.3 含量测定

**3.3.1 色谱条件** 柱温为 30  $^{\circ}\text{C}$ ;流动相为乙腈-水(27:73);流速为 1.0  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ;检测波长为 270 nm;进样量为 20  $\mu\text{L}$ 。在此条件下淫羊藿苷与其他组分达到基线分离,阴性无干扰。

**3.3.2 对照品溶液的制备** 精密称取淫羊藿苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL含 0.22 mg的溶液作为对照品溶液。

**3.3.3 供试品溶液的制备** 取本品约 15 g,精密称定,精密加入 70%乙醇 50 mL,称重,超声提取 1 h,放冷,精密称重,加 70%乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取滤液水浴蒸干,加水 15 mL使溶解,用乙酸乙酯振摇提取 4 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯提取液,蒸干,用甲醇溶解并转移至 10 mL量瓶内,加甲醇稀释至刻度,摇匀,过 0.45  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜,即得。

**3.3.4 阴性样品溶液的制备** 取缺淫羊藿的处方药材,按照麟生颗粒的制备工艺,制成不含淫羊藿的阴性样品,再按“3.3.3”项下方法,制成阴性样品溶液。

**3.3.5 线性关系考察** 精密吸取浓度为 0.022  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液 0.05, 0.2, 0.35, 0.5, 0.65, 0.80, 0.95 mL置 10 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,所得浓度分别为 1.1, 4.4, 7.7, 11.0, 14.3, 17.6, 20.9  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。精密吸取上述对照品溶液 20  $\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪进行测定。以峰面积值为纵坐标(Y),样品浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,经统计学计算,得回归方程  $Y = 43.857X - 5.324.2$  ( $r = 0.9999$ )。表明淫羊藿苷在 1.1~20.9  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内有良好的线性关系。

**3.3.6 空白试验** 精密吸取阴性样品溶液 20  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定。结果在淫羊藿苷色谱峰处无

吸收峰出现,即阴性样品无干扰。

取辅料约 0.2 g,精密称定,按“3.3.3”项下方法依法制备,进样 20  $\mu\text{L}$ ,按上述色谱条件测定。结果在淫羊藿苷色谱峰处无吸收峰出现。

**3.3.7 精密度试验** 精密吸取对照品溶液 20  $\mu\text{L}$ ,重复进样 6 次,其峰面积值的  $\text{RSD} = 0.52$ ,表明精密度良好。

**3.3.8 稳定性试验** 取同一供试品溶液,按照上述色谱条件测定 6 次,在 0,1,2,4,8,12,24 h 分别进样 20  $\mu\text{L}$ ,测定峰面积。结果  $\text{RSD}$  为 1.30%,表明样品溶液在 24 h 内稳定。

**3.3.9 重复性试验** 取同一批号样品(批号 061106),按“3.3.3”项下方法平行制备 6 份,按照上述色谱条件测定含量,每份连续进样 2 次,每次 20  $\mu\text{L}$ 。结果淫羊藿苷的  $\text{RSD}$  为 0.81%。

**3.3.10 加样回收率试验** 精密称定已知淫羊藿苷含量的麟生颗粒(批号 061106),分别加一定量的淫羊藿苷对照品溶液,按照“3.3.3”项下方法依法制备加样样品液,按上述色谱条件测定。结果表明,本法具有良好的加样回收率,平均回收率为 98.28%, $\text{RSD}$  为 2.39% ( $n=3$ )。

**3.3.11 样品测定** 取 3 个批号的麟生颗粒样品,按照“3.3.3”项下方法制备供试品溶液各 6 份,分别进样 20  $\mu\text{L}$ ,按上述色谱条件测定,测定 3 个批号的麟生颗粒样品中淫羊藿苷的含量,结果见表 1。

表 1 样品测定结果 ( $n=6$ )

Tab 1 Results of content determination ( $n=6$ )

批号	样品重 /g	峰面积	淫羊藿苷含量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
061106	15.009 7	103 852	0.024 9
061113	15.007 8	102 637	0.024 6
061120	15.001 3	100 762	0.024 2

## 4 讨论

参考药典中淫羊藿苷的检测波长为本实验的检测波长<sup>[1]</sup>,并通过对流动相的比较试验,最终确定乙腈-水(27:73)为流动相,获得较好的分离效果,出峰时间适当、峰形对称,采用此法操作简单、稳定性好、精密度高,是控制麟生颗粒质量的可靠方法。

## REFERENCES

- [1] Ch. P(2005) Vol I (中国药典 2005 年版·一部) [S]. 2005: 229.
- [2] HAN Y, LIU L Y. Determination of icariin in Yishenling capsules by HPLC [J]. Drug Stand China(中国药品标准), 2004, 5(1): 42-43.
- [3] MA Z, FENG H G. Determination of icariin in Shen-An granules (sucrose-free) by HPLC [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2002, 22(11): 697.
- [4] YANG Y M, LIU X, CAI M Z. Determination of icariin in Shuding tablet by HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2003, 25(11): 1010-1012.
- [5] ZHANG L S. Determination of icariin in compound Yishengling granules by HPLC [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2005, 36(2): 221-222.
- [6] HUANG L M. Determination of icariin in Bushen-Qiangshen capsules by HPLC [J]. Chinese Pharmaceutical Affairs(中国药事), 2005, 19(7): 429-430.
- [7] NI Y, WANG R M, HE X L, et al. Determination of icariin in Nankang tablet by HPLC [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2003, 23(2): 148-149.

收稿日期: 2007-10-23