

微达康颗粒的质量标准研究

李玉生,付永强,商桂春

(利华益集团股份有限公司,山东 东营 257400)

微达康颗粒由刺五加、黄芪、陈皮、熟地黄、女贞子、附子(制)、淫羊藿等组成,具有扶正固本,补肾安神之功效,用于微波、肿瘤放疗、化疗和射线损伤引起的白细胞、血小板减少、免疫功能降低、体虚乏力、失眠多梦、食欲不振等具有较好疗效。该药收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第20册,但原标准中只建立了刺五加的薄层色谱鉴别。为了更好的控制产品质量,确保疗效,本实验采用薄层色谱法对黄芪、陈皮、淫羊藿进行定性鉴别,并采用HPLC法对制剂中淫羊藿苷进行了测定。

1 仪器与试剂

美国 Waters 高效液相色谱仪(2487型双波长紫外检测器,515单泵),大连江申色谱工作站,KQ-250型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

黄芪甲苷(批号 0781-200109,供定量测定用)、橙皮苷(批号 721-9909,供定量测定用)、淫羊藿苷(批号 110737-200312)对照品均购于中国药品生物制品检定所;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为重蒸馏水。微达康颗粒及各阴性对照样品均由山东凤凰制药药物研究所根据微达康颗粒标准项下方法制备。

2 方法与结果

2.1 黄芪的薄层色谱鉴别:取微达康颗粒 8 g,研细,加甲醇 80 mL,加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用水饱和正丁醇提取 4 次,每次 20 mL,合并提取液,蒸干,残渣加适量甲醇使溶解,加于中性氧化铝柱(100~120目,5 g,内径 12 mm)上,用甲醇 40 mL 洗脱,弃去洗脱液,再用 40% 甲醇 50 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取缺黄芪的阴性样品 8 g,同法制成阴性对照溶液。取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成 1 mg/mL 对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液和阴性对照溶液各 6 μ L、对照品溶液 4 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(13:7:2)的下层溶液为展开

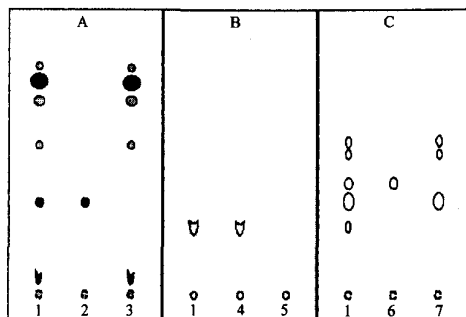
剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照色谱则无此斑点。见图 1-A。

2.2 陈皮的薄层色谱鉴别:取微达康颗粒 2 g,研细,加甲醇 30 mL,加热回流 30 min,滤过,滤液浓缩至约 5 mL,作为供试品溶液。另取缺陈皮的阴性对照样品 2 g,同法制成阴性对照溶液。取橙皮苷对照品适量,加甲醇制成饱和溶液,作为对照品溶液。吸取上述溶液各 4 μ L,分别点于同一用 0.5% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-甲醇-水(100:17:13)为展开剂,展至约 4 cm,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 12 cm,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,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,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照则无此荧光斑点。见图 1-B。

2.3 淫羊藿的薄层色谱鉴别:取微达康颗粒 3.5 g,研细,加乙醇 30 mL,加热回流 30 min,滤过,滤液蒸干后,残渣加甲醇 2 mL 溶解,作为供试品溶液。另取缺淫羊藿的阴性对照样品 3.5 g,同法制成阴性对照溶液。取淫羊藿苷对照品适量,加乙醇制成 0.5 mg/mL 对照品溶液。吸取上述溶液各 6 μ L,分别点于同一含 0.1 mol/L 磷酸氢二钠的 0.3% 羧甲基纤维素钠制备的硅胶 G 薄层板上,以醋酸丁酯-甲酸-水(1.3:1:1)10 $^{\circ}$ C 以下放置的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 三氯化铝乙醇溶液,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,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照则无此荧光斑点。见图 1-C。

2.4 淫羊藿苷的 HPLC 法测定

2.4.1 色谱条件与系统适用性试验:瑞士 Spherigel C₁₈柱(250 mm $\times$ 4.6 mm,5 μ m)(大连江申分离科学技术公司),乙腈-水(27:73)为流动相,检测波长为 270 nm,体积流量为 1 mL/min,柱温为 30 $^{\circ}$ C。理论板数按淫羊藿苷峰计算应不低于 3 000。



1-供试品 2-黄芪甲苷对照品 3-缺黄芪阴性对照 4-橙皮苷对照品 5-缺陈皮阴性对照 6-淫羊藿苷对照品 7-缺淫羊藿阴性对照

1-sample 2-astragaloside N 3-negative sample without *Radix Astragali* 4-hesperidin reference snbstance 5-negative sample without *Pericarpium Citri Reticulatae* 6-icariin reference snbstance 7-negative sample without *Herba Epimedii*

图 1 微达康颗粒中黄芪(A)、陈皮(B)、淫羊藿(C)的薄层色谱鉴别图谱

Fig. 1 TLC Chromatograms of *Radix Astragali* (A), *Pericarpium Citri reticulatae* (B), and *Herba Epimedii* (C) in Weidakang Granula

2.4.2 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 36.44 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 溶液,即得。

2.4.3 供试品溶液的制备:取装量差异项下的内容物,研细,取 2 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加甲醇适量,超声处理 1 h,取出,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。同法制成缺淫羊藿的阴性对照溶液。

2.4.4 干扰试验:将淫羊藿苷对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液分别进样,测定,结果见图 2。可以看出其他成分对淫羊藿苷的测定没有干扰。

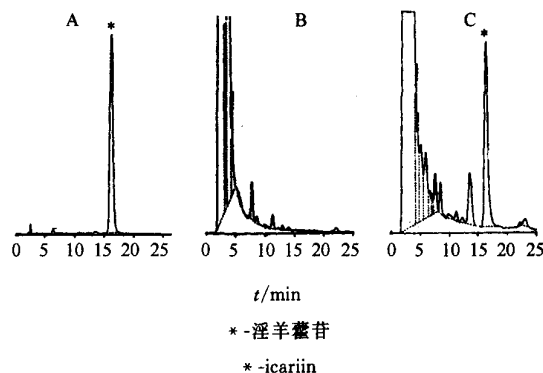


图 2 淫羊藿苷对照品(A)、阴性对照(B)和微达康颗粒(C)的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC Chromatograms of icariin reference substance (A), negative sample (B), and Weidakang Granula (C)

2.4.5 线性关系考察:精密吸取淫羊藿苷对照品溶液 2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15 μL 分别注入高效液相色谱仪,测定峰面积。以淫羊藿苷峰面积对进样质量进行线性回归,得回归方程 $Y=47\ 809 X+251\ 980$, $r=1.000$ 。结果表明淫羊藿苷在 0.109 32 ~ 0.546 60 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4.6 精密度试验:精密吸取淫羊藿苷对照品溶液 10 μL ,重复进样 5 次,测定峰面积,计算得其 RSD 为 0.74%。

2.4.7 稳定性试验:取批号 0412021 微达康颗粒,精密称定 1.938 2 g,按供试品溶液的制备方法制备,精密吸取 10 μL ,每隔 2 h 进样 1 次,共 7 次,测定淫羊藿苷峰面积,计算得其 RSD 为 0.22%,结果表明淫羊藿苷溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.7.8 重现性试验:取批号 0412022 微达康颗粒,精密称定 5 份,按照供试品溶液的制备方法制备,精密吸取溶液各 10 μL ,进样测定淫羊藿苷峰面积,计算其质量分数,得其 RSD 为 0.81%。

2.4.9 回收率试验:取批号 0412022 微达康颗粒 1.0 g(含淫羊藿苷约 0.725 1 mg),共计 5 份,精密称定,分别加入一定量的淫羊藿苷对照品(淫羊藿苷对照品加入量约等于微达康颗粒 1.0 g 中所含淫羊藿苷的量),照供试品溶液的制备方法制备,进样测定,计算得其平均回收率为 99.38%,RSD 为 0.50%。

2.4.10 样品测定:取 7 批样品,按供试品溶液的制备方法制备,进样测定,采用外标法计算淫羊藿苷的质量分数,结果见表 1。本品每袋装 20 g,根据实验数据规定每袋含淫羊藿苷不得低于 12.0 mg。

表 1 微达康颗粒中淫羊藿苷的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of icariin in Weidakang Granula ($n=3$)

批 号	淫羊藿苷/(mg·袋 ⁻¹)
0412018	15.656
0412019	12.965
0412020	14.106
0412021	15.270
0412022	14.410
0412023	14.116
0412024	13.602

3 讨论

薄层色谱鉴别试验中,样品和阴性对照均采用平行试验。结果表明,样品中均检出黄芪甲苷、橙皮苷、淫羊藿苷,且检出成分不受该药内容物中其他成分的干扰,说明上述各鉴别方法重现性好,专属性强。

含淫羊藿复方制剂中淫羊藿苷的测定方法已报

道的有薄层扫描法^[1]、高效液相色谱法^[2]。薄层扫描法操作较繁琐,且影响结果的因素较多,因此选用高效液相色谱法对该样品中淫羊藿苷进行测定。经比较,采用乙腈-水(27:73)为流动相,检测波长为 270 nm,柱温为 30 ℃时,能使各峰得到较好分离,且基线稳定。

References:

- [1] Yang X, Luo X P. Determination of the contents of icariin in Yingyanghuo and Xlongfeng Capsule by double-wave HTLC methods [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1993, 24 (10): 520.
- [2] Zhang L H, Liu Y H. Improvement of determination of icariin in Shenbao Mixture [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2001, 32(5): 378-380.

天芎注射液干扰鲎试验检查的研究

肖贵南¹, 陆惠文^{1*}, 宜全²

(1. 广东省药品检验所, 广东 广州 510180; 2. 广州医学院, 广东 广州 510182)

天芎注射液由天麻和川芎组成,临床上主要用于治疗头疼和风湿痹症。自从 20 世纪 60 年代阐明鲎血凝集的机制并由此建立鲎试验方法学以来,世界各国越来越多地通过鲎试验法来替代家兔热原检查法以检测药品、生物制品中的致热物质。近年来国内也逐步开展了鲎试验在中药注射液细菌内毒素检查中的应用,但由于大多数中药注射液成分复杂,对鲎试验存在较大的干扰作用。天芎注射液细菌内毒素的量是关系到该药质量好坏的一个重要指标。本实验采用普通鲎试剂和特异性鲎试剂,通过调节 pH 值、稀释法和超滤法对天芎注射液干扰鲎试验的检查进行了研究,考察了该药进行细菌内毒素检查的可行性,同时为建立中药注射液细菌内毒素检查法提供一定参考。

1 材料与仪器

天芎注射液由广东彼迪药业公司提供,规格为 100 mL/瓶,批号分别为 020806、020814、020822。普通鲎试剂(灵敏度 λ 为 30 EU/L,批号为 2002621)、特异性鲎试剂(λ 为 60 EU/L,批号为 20020806)由广东湛江海洋生物制品厂生产,普通鲎试剂(λ 为 30 EU/L,批号为 0301151)、特异性鲎试剂(λ 为 60 EU/L,批号为 0206052)由广东湛江安度斯生物有限公司生产,细菌内毒素标准品(9000 EU/瓶,批号为 981)由中国药品生物制品检定所提供。细菌内毒素检查用水(规格为 5.0 mL/瓶,批号为 020309)由湛江海洋生物制品厂生产。

漩涡振荡器和 19A 恒温水浴系统均由德国 Ju-

labo 公司生产;PB-20 pH 计由德国 Sartorius 公司生产;超滤系统(包括三醋酸纤维素滤膜)由美国 Millipore 公司生产;实验所用的玻璃器皿经重铬酸钾浓硫酸洗液处理后,以 250 ℃干烤 2 h 去除外源性细菌内毒素。

2 方法与结果

2.1 鲎试剂标示灵敏度(λ)的复核:按《中国药典》2005 年版的方法对所用鲎试剂(TAL)进行灵敏度复核,结果鲎试剂实测灵敏度在 0.5~2.0 λ ,符合规定。

2.2 样品细菌内毒素限值(L)的确定^[1]:药品中细菌内毒素的限值 $L=K/M$,其中 K 为人用每千克体重每小时最大可接受的细菌内毒素剂量,非放射性药品在 iv 给药时 K 值定为 5 EU/(kg·h); M 为人用每千克体重每小时最大可接受的药品剂量,企业内控标准规定天芎注射液的成人每次最大临床用量为 100 mL,故 $M=1.67$ mL/(kg·h),得 $L=3$ 000 EU/L。

2.3 样品中细菌内毒素的常规检查:取 3 批样品分别稀释 100 倍,并以灵敏度为 30 EU/L 的普通鲎试剂进行常规凝胶法细菌内毒素检查,结果见表 1。可见样品阳性管出现阴性,表明样品原液对细菌内毒素检查有一定的干扰抑制作用。

2.4 样品调节 pH 值后细菌内毒素的检查:取 3 批样品分别测定其 pH 值,结果在 3.2~3.6。推测上述样品阳性管出现阴性的原因可能是由于样品的 pH 值不在鲎试剂缓冲范围 6.0~8.0 内,因而对细菌内毒素检查产生了干扰抑制作用。取上述 3 批样品,以

收稿日期:2006-09-01

作者简介:肖贵南(1972—),男,江西南康人,硕士,副主任药师,研究方向为新药药理及细菌内毒素分析。

Tel:(020)81853842 E-mail:gzxgn@163.com

* 通讯作者 陆惠文