

# 肾康宝胶囊质量标准研究

★ 孙栋梁 (江西中医学院附属医院 南昌 330006)

★ 黄慧成 (南昌市食品药品检验所 南昌 330029)

★ 熊国营 (南昌大学鹰潭医院 鹰潭 335001)

关键词:肾康宝胶囊;淫羊藿苷;补骨脂素;异补骨脂素;蛇床子素;大黄素;高效液相色谱法

中图分类号:TQ 460.6 文献标识码:A

肾康宝胶囊由淫羊藿、补骨脂、蛇床子、何首乌等二十多味中药组成。具有调和阴阳,温阳补肾,安神固精,扶正固本的功效。用于阳痿、遗精、腰腿酸痛,精神不振,夜尿频多,畏寒怕冷,月经过多,白带清稀诸症。肾康宝胶囊系我院使用多年的制剂,疗效确切。为制订肾康宝胶囊的质量标准,对其主药中的淫羊藿、补骨脂、蛇床子、何首乌进行了薄层色谱鉴别试验,并采用高效液相色谱法对其中的淫羊藿苷进行了含量测定试验,现报告如下。

## 1 仪器与试药

日本岛津 LC-10ATvp 液相色谱仪,CS-light 色谱工作站,SPD-10Avp 紫外可见检测器;淫羊藿苷对照品(批号:110737-200414)、补骨脂素对照品(批号:110739-200511)、异补骨脂素对照品(批号:110738-200511)、蛇床子素对照品(批号:110822-200406)、大黄素对照品(批号:110756-200110),以上对照品均由中国药品生物制品检定所供;供试样品自制(批号:20040501、20050301、20050302);乙腈为色谱纯,其余所用试剂均为分析纯。

## 2 薄层色谱鉴别<sup>[1,2]</sup>

2.1 淫羊藿的鉴别 供试品溶液的制备:取本品内容物 1 g,加水 20 mL 使溶解,加乙醚提取 2 次,每次 20 mL,水层蒸尽乙醚,用乙酸乙酯提取 2 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯提取液,蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,加入已处理好的聚酰胺柱(内径约 0.9 cm,聚酰胺粉 2 g,干法上柱)上,用乙酸乙酯 20 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。

阴性样品溶液的制备:除淫羊藿外,其它各味按处方量投料制成阴性样品,取阴性样品按供试品溶液的制备方法制成阴性样品溶液。

对照品溶液的制备:取淫羊藿苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。

展开:吸取供试品溶液 10  $\mu$ L 和对照品溶液 5  $\mu$ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的

硅胶 H 薄层板上,以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10:1:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,于 105  $^{\circ}$ C 烘 3~5 分钟后,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,且阴性无干扰。

2.2 补骨脂的鉴别 供试品溶液的制备:取本品内容物 1.4 g,加水 20 mL 使溶解,用乙酸乙酯提取 2 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯提取液,蒸干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。阴性样品溶液的制备:除补骨脂外,其它各味按处方量投料制成阴性样品,取阴性样品按供试品溶液的制备方法制成阴性样品溶液。

对照品溶液的制备:取补骨脂素和异补骨脂素对照品,加乙酸乙酯制成每 1 mL 各含 2 mg 的混合溶液,作为对照品溶液。

展开:吸取供试品溶液 10  $\mu$ L 和对照品溶液 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干。喷以 10% 氢氧化钾甲醇溶液,于 105  $^{\circ}$ C 烘 5 分钟后,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,且阴性无干扰。

2.3 何首乌的鉴别 供试品溶液的制备:取本品内容物 1.8 g,加水 20 mL 使溶解,用乙酸乙酯提取 2 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯提取液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。阴性样品溶液的制备:除何首乌外,其它各味按处方量投料制成阴性样品,取阴性样品按供试品溶液的制备方法制成阴性样品溶液。

对照品溶液的制备:取大黄素对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液,作为对照品溶液。

展开:吸取上述两种溶液各 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯-甲酸(30:10:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干。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;置氨蒸气中熏后,日光下检视,斑点变为红色,且阴性无干扰。

2.4 蛇床子的鉴别 供试品溶液的制备:取本品内容物 1 g,加乙醇 20 mL,超声处理 10 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。

阴性样品溶液的制备:除蛇床子外,其它各味按处方量投料制成阴性样品,取阴性样品按供试品溶液的制备方法制成阴性样品溶液。

对照品溶液的制备:取蛇床子素对照品,加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。

展开:吸取供试品溶液 10  $\mu$ L 和对照品溶液 5  $\mu$ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(30:1)为展开剂,展开,取出,晾干。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,且阴性无干扰。

### 3 含量测定<sup>[2]</sup>

3.1 色谱条件与系统适应性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;乙腈-水(27:73)为流动相;检测波长为 270 nm。理论板数按淫羊藿苷峰计算应不低于 2000。

3.2 提取分离条件的选择 采用超声处理提取法制备供试品溶液,经注入液相色谱仪测定,结果淫羊藿苷峰形较好,分离度好,通过对超声提取时间进行考察,结果表明超声处理 30 分钟基本能把样品中的淫羊藿苷提取完全。

3.3 供试品溶液的制备 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品内容物约 0.25 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70%乙醇 50 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 250 W,频率 30 kHz)30 分钟,放冷,再称定重量,用 70%乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液,即得。

3.4 对照品溶液的制备 精密称取淫羊藿苷对照品 8.55 mg,置 50 mL 量瓶中,加 70%乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。(每 1 mL 含淫羊藿苷 171  $\mu$ g)。

3.5 阴性对照溶液的制备 取除淫羊藿以外的其余药味,按制备工艺制成不含淫羊藿的样品,按供试品溶液制备阴性对照溶液。

分别精密吸取阴性对照溶液和对照品溶液各 20  $\mu$ L,注入液相色谱仪,测定,结果阴性对照溶液在淫羊藿苷保留时间处无色谱峰,表明阴性对照和溶剂无干扰。

3.6 标准曲线的制备及线性关系的考察 精密吸

取对照品溶液(171  $\mu$ g/mL)1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 分别至 50 mL 量瓶中,加 70%乙醇至刻度,摇匀,精密吸取上述溶液各 20  $\mu$ L,注入液相色谱仪,测定,以淫羊藿苷峰面积(A)为纵座标,淫羊藿苷进样量( $\mu$ g)为横座标,绘制标准曲线,实验数据经线性回归,回归方程为: $Y = 104\ 108X - 5\ 634.6$ , $r = 0.999\ 9$ ( $n = 6$ ),淫羊藿苷对照品进样量在 0.0684~0.4104  $\mu$ g 范围内与其峰面积呈良好的线性关系。

3.7 精密度试验 精密吸取对照品溶液 20  $\mu$ L,注入液相色谱仪,重复进样 6 次,计算峰面积积分值,结果  $RSD = 0.42\%$ ( $n = 6$ )。

3.8 稳定性试验 取供试品液,在室温下每间隔 2 小时进样 20  $\mu$ L,测定峰面积,实验表明,在所测的 8 小时内淫羊藿苷基本稳定。

3.9 重复性试验 取同一批号样品 5 份,分别测定淫羊藿苷峰面积,计算含量,结果  $X = 1.0008$  mg/粒, $RSD = 0.42\%$ ( $n = 5$ )。

3.10 加样回收率试验 采用加样回收法,取已知含量的样品 5 份(含量为 1.0008 mg/粒,即 1.992 mg/g),分别添加淫羊藿苷对照品,依法进行测定,结果平均回收率为 98.97%, $RSD = 0.74\%$ 。

3.11 样品测定 按上述方法对三批样品中淫羊藿苷进行含量测定,结果见表 1。

表 1 样品的含量测定

批号	淫羊藿苷/mg·粒 <sup>-1</sup>	RSD(%)
20040501	1.11	1.4
20050301	1.62	0.3
20050302	1.70	0.3

## 4 讨论

肾康宝胶囊由淫羊藿、补骨脂、蛇床子、何首乌等二十多味中药组成,由于药味多,成分复杂,相互干扰严重,故选择主要药用成分进行研究。采用薄层色谱法对淫羊藿、补骨脂、蛇床子、何首乌进行了薄层色谱鉴别,结果专属性强、重现性好、操作简便;采用高效液相色谱法测定了肾康宝胶囊中淫羊藿苷的含量,该法用甲醇直接提取,操作简便,阴性对照无干扰、重复性好。回收率为 98.97%, $RSD$  为 0.74%,可以作为该制剂的质控方法。其他成分有待进一步研究。

### 参考文献

- [1]国家药典委员会编.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:化学工业出版社,2005
- [2]吕武清,龙新华.中成药中的药材薄层色谱鉴别[M].北京:人民卫生出版社,1997

(收稿日期:2006-10-16)