

藿芪灌注液中淫羊藿苷和黄芪甲苷稳定性试验研究*

杨洪早^{1,2}, 苗小楼¹, 张世栋¹, 董书伟¹, 闫宝琪¹, 桑梦琪¹,
那立冬^{1,2}, 王东升^{1*}, 严作廷^{1*}

(1. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 农业部兽用药物创制重点实验室, 甘肃兰州, 730050)

(2. 甘肃农业大学动物医学院, 甘肃兰州, 730070)

[收稿日期] 0000-00-00 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2016) 12-0000-00 [中图分类号] S

[摘要] 为了研究藿芪灌注液的稳定性, 采用 HPLC 法测定藿芪灌注液中淫羊藿苷与黄芪甲苷含量, 使用 WondaSil C18 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水 28:72, 柱温 40℃, 检测波长 270 nm, 进样量 10 μl, 流速 1.0 ml/min 测定淫羊藿苷的含量; 使用 ZORBAX SB-C18 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 漂移管温度为 90℃, 载气流速为 2.5 L/min, 流动相: 甲醇-水 65:35, 柱温: 40℃, 流速: 1 ml/分钟, 用蒸发光散射检测器检测测定黄芪甲苷的含量。藿芪灌注液于高温 60℃ 放置 10 d, 高湿度 90% ± 5% 放置 10 d, 经强光照射 4500 ± 500LX 放置 10 d, 加速试验在温度 40℃ ± 2℃、相对湿度 75% ± 5% 的条件下放置 6 个月, 长期试验在温度 25℃ ± 2℃、相对湿度 60% ± 10% 的条件下放置 12 个月, 考察藿芪灌注液在不同条件存放后的性状、鉴别、pH、淫羊藿苷含量、黄芪甲苷含量以及无菌检查等项目的变化。结果表明, 藿芪灌注液在不同条件存放后所有指标均未有明显变化, 符合质量标准要求。藿芪灌注液性质稳定可靠。

[关键词] 藿芪灌注液; 稳定性试验; 高效液相色谱法; 淫羊藿苷; 黄芪甲苷

Study on Stability of Icaritin and Astragaloside in Huoqi Perfusion*

Yang Hongzao^{1,2}, MIAO Xiaolou¹, ZHANG Shidong¹, DONG Shuwei¹, YAN Baoqi¹,
SANG Mengqi¹, NA Lidong^{1,2}, WANG Dongsheng^{1*}, YAN Zuoting^{1*}

(1. Lanzhou Institute of Animal Husbandry and Pharmaceutical Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences,

Key Laboratory of Veterinary Pharmaceutical Discovery, Ministry of Agriculture, Lanzhou 730050, China)

(2. College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: To investigate the stability of Huoqi Perfusion, the contents of icaritin and astragaloside were determined by HPLC. The separation of the icaritin was achieved by a WondaSil-C18 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) and mobile phase composed of acetonitrile-water (28:72), the detection wavelength was 270 nm, the column temperature

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程项目 (CAAS-ASTIP-2014-LIHP-03), "十二五" 国家科技支撑计划重点课题 (2012BAD12B03)

作者简介: 杨洪早 (1992-), 男, 云南临沧人, 硕士研究生, 研究方向: 中兽药的研究与开发, Email: yhz03008@163.com

通讯作者: 严作廷 (1962-), 男, 甘肃武威人, 研究员, 博士, 硕士生导师, 研究方向: 中兽药研发, 奶牛疾病诊断和预防,

Email: yanzuoting@caas.cn; 王东升 (1979-), 男, 甘肃临洮人, 副研究员, 硕士, 研究方向: 中兽药研发, 奶牛疾病诊断和预防,

Email: lzmyswdsh@126.com。



was 40℃, the injection volume of 10 μl, the flow rate was 1.0 mL/min; The separation of the astragaloside was achieved by a ZORBAX SB - C18 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), The drift tube temperature is 90℃, The carrier gas flow rate is 2.5L/min and mobile phase composed of methanol - water (65:35), the flow rate was 1.0 mL/min; the injection volume of 10 μl; the column temperature was 40℃, with evaporative light scattering detector. Huoqi Perfusion was treated respectively with high temperature (60℃) for 10 days, high wet (RH95% ± 5%) for 10 days, high light (4500 ± 500LX) for 10 days, accelerating testing (40℃ ± 2℃, RH75% ± 5%) for six months, and a long-term testing (25℃ ± 2℃, RH60% ± 10%) for twelve months, and then the changes of characters, identification, pH, Icariin, Astragaloside and sterility test under different storage conditions were observed. All of the tested indexes of Huoqi Perfusion were consistent with the quality standards. The tested of Huoqi Perfusion is stable and reliable.

Key words: huoqi perfusion; stability test; HPLC; icariin; astragaloside;

藿芪灌注液,又名催情助孕液,是由淫羊藿、黄芪、丹参等中药组成的子宫灌注剂,以中医药学理论为基础,运用现代中药制剂技术,其成分明确,具有益气壮阳、催情助孕、补血养阴之功,临床主治于奶牛卵巢静止和持久性黄体不孕症^[1]。目前,已有对本品的制备工艺、质量标准及药效学进行的相关研究报道^[2-4]。为保证该制剂的质量及疗效,为其生产、包装、贮存、运输和有效期的确定建立科学依据,依据《中国药典》(2015版一部)、《中国兽药典》(2010版二部)、《兽用中药、天然药物稳定性试验技术指导原则》规定^[5-7],在拟市售包装(钠钙玻璃模制注射剂瓶,强光照条件下除外)的基础上对藿芪灌注液进行影响因素试验、加速试验和长期试验研究,考察性状、pH、有效成分的含量变化以及无菌检查等来评价制剂稳定性。

1 仪器与药品

1.1 仪器设备 DL-101-2BS 电热恒温鼓风干燥箱, GH4500 型隔水式培养箱, PYX-DHS-40 × 50-BS 隔水式电热恒温培养箱, HH.BII420 S 型电热恒温培养箱, MT-250B 药品稳定性试验箱, PHS-3C 型 pH 计。岛津 LC 20AD 高效液相色谱仪, SPD-20A 紫外检测器;一元泵, LabSolutions 工作站, 柱温箱, WondaSil C18 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); Agilent 1260 高效液相色谱仪, Alltech ELSD2000ES 检测器; 在线脱气机, 四元泵, ChemStation 工作站, CSChrom Plus 工作站, 柱温箱, ZOR-

BAX SB - C18 柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)。

1.2 药品 藿芪灌注液【中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所研制, 含量测定批号 20120801、20120802、20120803、20120804、20120805、20120901、20120902、20120903、20120904、20120905; 稳定性试验批号 20121001、20121002、20121003, 模拟市售包装(钠钙玻璃模制注射剂瓶)]; 淫羊藿苷(批号 110737-200415, 中国药品生物制品检定所); 黄芪甲苷(批号 110781-200613, 购自中国药品生物制品检定所); 乙腈、甲醇均为色谱纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 性状、pH、相对密度测定、无菌检查 参照《中华人民共和国兽药典》2010年版二部附录 VII, 在自然光条件下白色背景中通过肉眼直接观察 **口服液** 性状; 使用酸度计测量 **口服液** pH; 使用薄膜过滤法检查无菌试验。

2.2 含量测定

2.2.1 淫羊藿苷含量测定

2.2.1.1 色谱条件 固定相: WondaSil C18 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈 - 水 28:72, 检测波长 270 nm, 柱温 40℃, 进样量 10 μl, 流速 1.0 ml/min, 理论塔板数以淫羊藿苷计不低于 1500。

2.2.1.2 样品溶液的制备 对照品溶液的制备: 精密称取淫羊藿苷对照品 11.68 mg, 置 50 ml 量瓶

中,加甲醇定容至刻度,摇匀,制成 233.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品储备溶液。精密移取储备液 5 ml,置 10 ml 量瓶中,加甲醇定容至刻度,制成 116.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品溶液①,吸取对照品溶液① 1 ml,置 10 ml 量瓶中,甲醇定容至刻度,即得浓度为 11.68 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品溶液②。

供试品溶液的制备:精密量取藿苳灌注射液 1 ml,置 25 ml 量瓶中,加水定容至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

阴性对照溶液的制备:取按处方比例并以相同工艺制备的淫羊藿的阴性对照供试品,按供试品溶液制备法制得阴性对照溶液。

2.2.1.3 样品含量测定 精密量取 10 批藿苳灌注射液,按 2.1.2.2 项下供试液样品的制备方法处理样品,按以上色谱条件测定淫羊藿苷含量。结果得平均含量为 0.242 mg/ml, RSD 为 7.49%。考虑到大规模生产中的各种损失和测量误差,取其平均值的 80% 作为其含量限度,即得 0.1936 mg/ml,故暂定本品含淫羊藿按淫羊藿苷计不少于 0.20 mg/ml。

照影响因素试验条件下测其含量,按 2.1.2.2 项下供试液样品制备方法处理同批次两份样品,同以上色谱条件进样 10 μl ,按外标法测定淫羊藿苷含量,详见影响因素试验结果表。

2.2.2 黄芪甲苷含量测定

2.2.2.1 色谱条件 固定相:ZORBAX SB - C18 柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm),漂移管温度为 90 $^{\circ}\text{C}$,载气流速为 2.5 L/min,流动相:甲醇 - 水 65:35,流速:1 ml/分钟,柱温:40 $^{\circ}\text{C}$,进样量 10 μl 用蒸发光散射检测器检测。理论板数按黄芪甲苷峰计算应不低于 3000,

2.2.2.2 样品溶液的制备 对照品溶液的制备:精密称取黄芪甲苷对照品 11.95 mg,置 10 ml 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,制成 1.195 mg/ml 的对照品储备液,精密量取对照品储备液 1 ml,置 5 ml 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,制成浓度 0.239 mg/ml 的对照品溶液。

供试品溶液的制备:精密量取藿苳灌注射液 25 ml,用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次,每次

40 ml,合并正丁醇提取液,用氨试液洗涤 2 次,每次 25 ml,弃去氨液,取正丁醇液,挥干溶剂,残渣加甲醇溶解并移至 5 ml 量瓶中,加甲醇稀定容至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

阴性对照溶液的制备:取按处方比例并以相同工艺制备的缺黄芪的阴性对照供试品,按供试品溶液制备法制得阴性对照溶液。

2.2.2.3 样品含量测定 精密量取 10 批藿苳灌注射液样品 25 ml,按 2.2.2.2 项下供试品溶液的制备方法制备样品,按以上色谱条件测定黄芪甲苷含量。结果 10 批藿苳灌注射液样品中黄芪甲苷的平均含量为 64.653 $\mu\text{g}/\text{ml}$,考虑到大规模生产中的各种损失,取其平均值的 80% 作为其含量限度,即得 45.55 $\mu\text{g}/\text{ml}$,故暂定本品黄芪按黄芪甲苷计不少于 45.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

照影响因素试验条件下测其含量,按 2.2.2.2 项下供试液样品制备方法处理同批次两份样品,同以上色谱条件进样 10 μl ,按外标法测定黄芪甲苷含量,详见影响因素试验结果表。

2.3 影响因素试验

2.3.1 高温试验 将三批样品(批号 20121001、20121002、20121003)置于 DL - 101 - 2BS 电热恒温鼓风干燥箱(控制温度:室温 ~ 300 $^{\circ}\text{C}$),在温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下放置 10 天。依据质量标准草案在 0 天、5 天、10 天各取样品,考察其性状、鉴别、含量、相对密度、pH 值及无菌。结果见表 1。

2.3.2 高湿试验 将三批样品置于 GH4500 型隔水式培养箱,在温度 25 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 90% \pm 5% 的条件下放置 10 天。在 0 天、5 天、10 天各取样品,依据质量标准草案考察其性状、鉴别、含量、pH 值及无菌。结果见表 1。

2.3.3 强光照射试验 将三批样品置于 MT - 250B 药品稳定性试验箱,在温度 20 $^{\circ}\text{C}$,暴露于 4500 \pm 500 LX 的条件下放置 10 天。依据质量标准草案在 0 天、5 天、10 天各取样品,考察其性状、鉴别、含量、pH 值及无菌。结果见表 1。

藿苳灌注射液影响因素试验结果表明高温和高湿及强光照射条件下,其考察项性状、鉴别、无

菌检查项目无异常, pH 和淫羊藿苷含量变化不显著, 生产与贮存环境的湿度与温度, 这样可以保证该制剂, 黄芪甲苷含量变化差异极显著 ($P < 0.01$), 但未⁵剂全、稳定、有效。该试验为藿芪注射液大生产中低于最低含量限制 ($45.0 \mu\text{g/ml}$), 故从此变化得出控制车间生产条件与储存条件提供了理论依据。该制剂应在室温下密闭贮存, 在生产中要严格控制

表 1 藿芪注射液影响因素试验 ($n=3$)

试验	时间 (天)	性状	鉴别	pH	淫羊藿苷 (mg/ml)	淫羊藿苷 变化%	黄芪甲苷 (mg/ml)	黄芪甲苷 变化%	无菌
高温	0	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.22 ± 0.0173	0.242 ± 0.00424	/	66.8 ± 0.424	/	未检出
	5	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.32 ± 0.0513	0.250 ± 0.0141	103.30%	$65.0 \pm 0.212^{\text{aabb}}$	97.31%	未检出
	10	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.36 ± 0.0666	0.253 ± 0.00707	104.55%	$63.1 \pm 0.113^{\text{aabb}}$	94.46%	未检出
高湿	0	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.23 ± 0.0551	0.212 ± 0.003	/	66.8 ± 0.503	/	未检出
	5	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.33 ± 0.0666	0.252 ± 0.00551	118.87%	$68.2 \pm 0.407^{\text{aabb}}$	102.10%	未检出
	10	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.35 ± 0.0603	0.251 ± 0.00608	118.40%	$61.6 \pm 0.592^{\text{aabb}}$	92.22%	未检出
强光 照射	0	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.23 ± 0.0436	0.257 ± 0.00379	/	66.8 ± 0.0862	/	未检出
	5	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.34 ± 0.0404	0.261 ± 0.00413	101.56%	$68.8 \pm 0.579^{\text{aabb}}$	103.00%	未检出
	10	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.34 ± 0.0603	0.255 ± 0.00764	99.22%	$63.8 \pm 0.821^{\text{aabb}}$	95.51%	未检出

注:与初始值相比,标注(a)表示 $P < 0.05$ 显著; (aa) 表示 $P < 0.01$ 极显著; 同组间相比,标注(b)表示 $P < 0.05$ 显著; (bb) 表示 $P < 0.01$ 极显著; 下同。所有数字结果均保留三位有效数字。淫羊藿苷、黄芪甲苷其含量变化百分比 (%) = 所测得含量/初始含量

2.4 加速试验 将三批样品(批号 20121001、20121002、20121003)置于 PYX - DHS - 40 × 50 - BS 隔水式电热恒温培养箱,在温度 $40 \pm 2^\circ\text{C}$,相对湿度 $75\% \pm 5\%$ 的条件下放置 6 个月。在 0 个月、1 个月、2 个月、3 个月、6 个月各取样品,依据质量标准草案考察其性状、鉴别、含量、pH 值及无菌,结果

显示:其考察项性状、鉴别、无菌检查项目无异常, pH 和淫羊藿苷含量变化不显著,其中黄芪甲苷含量 20121002 批变化无显著性,而 20121001 批和 20121003 批差异显著 ($P < 0.05$),但未⁵低于最低含量限制 ($45.0 \mu\text{g/ml}$),综合其考察项在 6 个月内变化不明显,样品较稳定,符合规定。结果见表 2。

表 2 藿芪注射液加速试验 ($n=2$)

批号	时间 (月)	性状	鉴别	pH	淫羊藿苷 (mg/ml)	淫羊藿苷 变化%	黄芪甲苷 (mg/ml)	黄芪甲苷 变化%	无菌
20121001	0	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.37 ± 0.0283	0.247 ± 0.00283	/	61.7 ± 0.290	/	未检出
	1	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.37 ± 0.00707	0.246 ± 0.00219	99.60%	$60.6 \pm 0.0566^{\text{ab}}$	97.34%	未检出
	2	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.37 ± 0.0141	0.241 ± 0.00636	97.57%	$60.4 \pm 0.0778^{\text{ab}}$	97.89%	未检出
	3	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.35 ± 0.0212	0.245 ± 0.00919	99.19%	$62.2 \pm 0.537^{\text{b}}$	100.80%	未检出
	6	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.35 ± 0.0354	0.230 ± 0.0156	93.12%	62.23 ± 0.184	100.86%	未检出
20121002	0	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.28 ± 0.00707	0.279 ± 0.00424	/	76.5 ± 0.622	/	未检出
	1	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.31 ± 0.0283	0.278 ± 0.0113	99.64%	76.3 ± 0.212	99.74%	未检出
	2	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.31 ± 0.0141	0.279 ± 0.00848	100.00%	75.9 ± 0.753	99.22%	未检出
	3	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.30 ± 0.0212	0.274 ± 0.0106	98.56%	76.1 ± 0.233	99.48%	未检出
	6	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.27 ± 0.0141	0.271 ± 0.00849	97.48%	76.4 ± 0.236	99.87%	未检出
20121003	0	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.31 ± 0.0354	0.255 ± 0.00651	/	84.6 ± 0.580	/	未检出
	1	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.29 ± 0.0424	0.256 ± 0.00905	100.40%	85.2 ± 0.127	100.71%	未检出
	2	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.31 ± 0.00707	0.254 ± 0.00184	99.61%	84.0 ± 0.375	99.29%	未检出
	3	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.29 ± 0.0212	0.251 ± 0.00354	98.43%	85.3 ± 0.304	100.83%	未检出
6	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.28 ± 0.0141	0.249 ± 0.0106	97.65%	$88.2 \pm 0.445^{\text{ab}}$	104.30%	未检出	

2.5 长期试验 将三批样品置于 HH. BII420 S 型电热恒温培养箱,在温度 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $60\% \pm 10\%$ 的条件下放置 24 个月。依据质量标准草案在 0 个月、3 个月、6 个月、9 个月、12 个月、18 个月、24 个月月末取样,考察其性状、鉴别、含量、

pH 值及无菌,结果表明:其考察项性状、鉴别及无菌无异常现象,淫羊藿苷和黄芪甲苷含量在放置 24 个月均有显著差异变化,但都未低于最低含量(淫羊藿苷不少于 0.20mg/ml ,黄芪甲苷不少于 $45.0 \mu\text{g/ml}$),样品较稳定,符合规定。结果见表 3。

表 3 藿芪灌注液长期试验结果 (n=2)

批号	时间(月)	性状	鉴别	pH	淫羊藿苷(mg/ml)	淫羊藿苷变化%	黄芪甲苷(mg/ml)	黄芪甲苷变化%	无菌
20121001	0	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.35 ± 0.0141	0.247 ± 0.00566	/	61.95 ± 0.601	/	未检出
	3	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.34 ± 0.00707	0.246 ± 0.00636	99.59%	61.8 ± 0.106	99.75%	未检出
	6	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.37 ± 0.0141	0.244 ± 0.0134	98.78%	62.9 ± 0.771	101.50%	未检出
	9	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.34 ± 0.0141	0.243 ± 0.00566	98.38%	$59.8 \pm 0.778^{\text{aa}}$	96.53%	未检出
	12	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.34 ± 0.0283	0.242 ± 0.00424	97.98%	$66.2 \pm 0.120^{\text{abb}}$	106.90%	未检出
	18	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.33 ± 0.0212	0.235 ± 0.00566	95.10%	$58.8 \pm 0.0990^{\text{bb}}$	94.91%	未检出
	24	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.35 ± 0.0566	0.239 ± 0.00778	96.76%	57.9 ± 1.28	93.46%	未检出
	20121002	0	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.28 ± 0.0212	0.281 ± 0.00424	/	76.54 ± 0.134	/
3		棕红色液体	与对照品、药材一致	6.31 ± 0.354	0.277 ± 0.00354	98.92%	77.33 ± 0.0919	101.00%	未检出
6		棕红色液体	与对照品、药材一致	6.28 ± 0.0141	0.271 ± 0.00354	96.78%	$77.34 \pm 0.0495^{\text{a}}$	101.10%	未检出
9		棕红色液体	与对照品、药材一致	6.28 ± 0.00707	0.272 ± 0.000566	97.14%	$77.34 \pm 0.0141^{\text{a}}$	101.10%	未检出
12		棕红色液体	与对照品、药材一致	6.26 ± 0.00707	0.271 ± 0.00283	96.43%	$81.33 \pm 0.0849^{\text{abb}}$	106.30%	未检出
18		棕红色液体	与对照品、药材一致	6.27 ± 0.0566	0.264 ± 0.00424	94.29%	$73.32 \pm 0.0919^{\text{aab}}$	95.78%	未检出
24		棕红色液体	与对照品、药材一致	6.21 ± 0.0424	0.262 ± 0.00999	93.57%	$72.93 \pm 0.0283^{\text{aab}}$	95.28%	未检出
20121003		0	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.32 ± 0.0283	0.255 ± 0.00283	/	84.63 ± 0.0424	/
	3	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.34 ± 0.00707	0.251 ± 0.0113	98.04%	$85.83 \pm 0.0707^{\text{aa}}$	101.40%	未检出
	6	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.35 ± 0.00707	0.250 ± 0.00424	98.43%	$84.39 \pm 0.0779^{\text{bb}}$	99.71%	未检出
	9	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.31 ± 0.0354	0.251 ± 0.00636	98.04%	$85.54 \pm 0.0424^{\text{aab}}$	99.89%	未检出
	12	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.32 ± 0.141	0.247 ± 0.00424	96.86%	$87.54 \pm 0.0779^{\text{aab}}$	103.40%	未检出
	18	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.29 ± 0.0566	0.241 ± 0.00566	94.51%	$82.44 \pm 0.0919^{\text{aab}}$	97.41%	未检出
	24	棕红色液体	与对照品、药材一致	6.28 ± 0.0354	0.37 ± 0.00283	92.94%	$81.07 \pm 0.0495^{\text{aab}}$	95.80%	未检出

3 讨论

淫羊藿和黄芪作为该制剂中的君药,也是发挥主要药理活性作用,对其药材中主要成分淫羊藿苷和黄芪甲苷进行含量测定研究,对完善本品的质量标准具有十分重要的作用,同时也能有效控制该制剂的内在质量,对发挥临床药效具有重要的意义^[8,9]。本制剂参考中国药典淫羊藿苷含量测定方法进行研究,对其柱温、流速、流动相比比例进行系统适用性试验以及波长的选择,试验证明以流动相乙腈-水 28:72、检测波长 270 nm、柱温 40°C 、流速 1.0 ml/min 的色谱条件对淫羊藿苷的测定具有较强的专属性,能达到基线平衡、与其他组分离度较

高、峰形对称、阴性对照无干扰、也缩短了分析时间,便于作为该制剂的含量测定研究^[10,11]。其黄芪甲苷含量测定参考中国药典方法,考察了流动相比比例、流速及温度的变化,最终确定色谱条件为:漂移管温度为 90°C ,载气流速为 2.5 L/min ,流动相:甲醇-水 65:35,流速: 1 ml/分钟 ,柱温: 40°C ,其所测得结果得出灵敏度高、分离度好、前处理简便、重现性好^[12,13]。其含量测定方法学研究在此前已进行试验,在此就不做研究说明。

藿芪灌注液采用经典的水提醇沉工艺制备^[2],可保留较全的有效成分,口服液性状棕红色澄清液体,并通过淫羊藿苷、黄芪甲苷含量以控制口服液

的质量。该制剂进行影响因素实验和加速实验的目的是考察制剂处方与生产工艺及包装条件的合理性。在影响因素试验中淫羊藿苷、黄芪甲苷含量都有不同程度下降,此两种成分在强光和高温条件下容易分解^[14, 15],说明高温和强光是影响本品稳定性的一个主要因素,因此在提取、浓缩灭菌等生产环节需注意对温度和控制,以及运输、存放时需注意强光和高温对本品的稳定性影响^[16]。而且药液 pH 也是是影响其稳定性的一个重要因素,在酸性、弱碱性和中性条件下其结构稳定,但在强酸性和强碱性条件下淫羊藿苷、黄芪甲苷稳定性差,结构易改变^[17],故在进行批量生产时应慎重处理或进一步研究是否调整药液 pH。

4 结论

综上所述,根据本试验的稳定性考察结果,笔者建议可将藿芪灌注液的有效期暂定为 2 年,使用棕色无菌聚酯瓶,贮藏条件为密闭,室温保存。本实验通过对该制剂的稳定性研究,进一步为其质量标准的建立提供理论依据,也为该新药的申报资料提供实验方法和数据,对该药物的进一步深入研究和有效开发利用奠定理论基础。

参考文献:

[1] 李世宏,严作廷,王东升,等. 纯中药催情助孕液治疗奶牛卵巢性不孕症试验[J]. 中兽医医药杂志. 2010(06): 52-53.

[2] 王东升,张世栋,李世宏,等. 正交试验法优化催情助孕液制备工艺[J]. 中国农学通报. 2012(29): 75-78.

[3] 张世栋,王旭荣,杨峰,等. 催情助孕液对小鼠雌、孕激素水平及其受体 mRNA 表达的影响[J]. 中国兽医学报. 2013(07): 1127-1131.

[4] 王东升,张世栋,苗小楼,等. 藿芪灌注液局部刺激性试验[J]. 江苏农业科学. 2016(04): 303-305.

[5] 农业部兽药审评中心. 兽药研究技术指导原则[M]. 化学工业出版社, 2010: 151.

[6] 中国兽药典委员会. 中国兽药典 2010 版二部[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010.

[7] 国家药典委员会. 中国药典 2015 版一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 45.

[8] Huang D, Jie Y, Lu X, et al. An integrated plasma and urinary metabolomic study using UHPLC-MS: Intervention effects of *Epimedium koreanum* on Kidney-Yang Deficiency syndrome rats [J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis. 2013, 76: 200-206.

[9] Chen, Wang, Wei, et al. Effects of astragalosides from *Radix Astragali* on high glucose-induced proliferation and extracellular matrix accumulation in glomerular mesangial cells [J]. Experimental & Therapeutic Medicine. 2016.

[10] 徐作刚,段萍,茅向军,等. 金乌骨通胶囊 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国民族民间医药. 2014(22): 8-10.

[11] Han S, Xie Y Y, Wang Y M, et al. Comparative study on chemical quality of main species of *epimedium*. [J]. Acta pharmaceutica Sinica. 2012, 47(4): 502-507.

[12] Su B R, Deng H M, Ma H L, et al. Quality evaluation of *Astragalus Radix* through chemical pattern recognition of fingerprint by HPLC-dAD-ELSD[J]. China journal of Chinese materia medica. 2013, 38(19): 3319-3323.

[13] Chen H, Zhou X, Zhao Y, et al. HPLC-DAD-ELSD Combined Pharmacodynamics and Serum Medicinal Chemistry for Quality Assessment of *Huangqi Granule*. [J]. Plos One. 2015, 10(4).

[14] 陈毅平,陈双英,陈文财,等. 淫羊藿苷的稳定性及其影响因素[J]. 中国实验方剂学杂志. 2014(05): 78-81.

[15] 陈祖云,石凌云,黄勇,等. HPLC-ELSD 法测定脑通颗粒中黄芪甲苷和人参皂苷 Rb₁ 的含量及稳定性[J]. 中国药房. 2011(23): 2164-2166.

[16] 刘泽干,黄良永,朱海涛,等. 金茵清热口服液稳定性考察[J]. 医药导报. 2014(11): 1502-1505.

[17] 陈毅平,陈双英,陈文财,等. 淫羊藿苷的稳定性及其影响因素[J]. 中国实验方剂学杂志. 2014(05): 78-81.

(编辑:陈希)