

补肾健脑胶囊质量标准研究

丁辉,贾倩,朱仁愿,李坚,吴福祥,丁爱华

(兰州市食品药品检验检测研究院/国家市场监督管理总局食品中农药兽药残留监控重点实验室/

甘肃省种植中药材外源性污染物监测工程研究中心,甘肃 兰州 730050)

摘要:目的 建立医院制剂补肾健脑胶囊质量标准。方法 观察描述补肾健脑胶囊的性状特征,采用显微鉴别法对方中山茱萸、石菖蒲、牛膝、人参、熟地黄、远志的显微特征进行定性鉴别,采用薄层色谱法对方中龟甲、肉苁蓉进行定性鉴别,按照《中国药典》2020年版四部通则方法对胶囊剂常规检查项进行检验。结果 补肾健脑胶囊为硬胶囊,内容物呈棕褐色粉末。显微鉴别可确认山茱萸、石菖蒲、牛膝、人参、熟地黄和远志6种药味的组织特征,针对处方中龟甲和肉苁蓉的薄层色谱鉴别具有较强的专属性。检查项结果显示,水分和崩解时限均符合《中国药典》规定,而装量差异限度检查存在不符合标准规定的情况。结论 本方法操作简单,重复性好,结果准确,可作为补肾健脑胶囊的质量控制方法。

关键词:补肾健脑胶囊;质量标准;性状特征;显微特征;薄层色谱

中图分类号:R927.2

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2024.05.017

文章编号:1006-1959(2024)05-0102-06

Study on Quality Standard of Bushen Jiannao Capsule

DING Hui, JIA Qian, ZHU Ren-yuan, LI Jian, WU Fu-xiang, DING Ai-hua

(Lanzhou Institute for Food and Drug Control/Key Laboratory of Pesticide and Veterinary Drug Monitoring for State Market Regulation/
Gansu Engineering Research Center for Monitoring Exogenous Harmful Residues in Traditional Chinese Medicines,
Lanzhou 730050, Gansu, China)

Abstract: **Objective** To establish the quality standard of Bushen Jiannao capsule. **Methods** The characteristics of Bushen Jiannao capsule and the microscopic characteristics of Fructus Corni, Acori Tatarinowii Rhizoma, Achyranthes bidentata Blume, Radix Ginseng, Rehmannia glutinosa and Polygala tenuifolia Willd. were observed and described. The qualitative identification of Chinemys reevesii. and desertliving cistanche herb was carried out by thin layer chromatography, and the inspection items were checked according to the method of Chinese Pharmacopoeia. **Results** Bushen Jiannao capsule was a hard capsule, the contents were sepia powder. The microscopic identification could confirm the tissue characteristics of six kinds of medicinal tastes: Corni Fructus, Acori Tatarinowii Rhizoma, Achyranthes bidentata Blume, Radix Ginseng, Rehmannia glutinosa and Polygala tenuifolia Willd., and the identification of Chinemys reevesii. and desertliving cistanche herb by TLC had strong specificity. The results of the examination showed that the moisture and the disintegration time limit conformed to the provisions of Chinese Pharmacopoeia, but load difference limit inspection did not meet the standard. **Conclusion** The method is simple, reproducible and accurate, which can be used for the quality control of Bushen Jiannao capsule.

Key words: Bushen Jiannao capsule; Quality standard; Character characteristics; Microscopic characteristics; Thin layer chromatography

补肾健脑胶囊是兰州市某医院研制的医院制剂,处方由制首乌、醋龟板、怀牛膝、熟地黄、山茱萸、肉苁蓉、石菖蒲、益智仁、远志、人参、鹿茸、冬虫夏草等十二味药材加工制成,具健脾补肾、益脑壮骨之

效;主治脑发育不全、脑瘫、脑萎缩,症状见身体虚弱或僵硬、抽搐和言语障碍、痴呆、记忆力减退等^[1,2]。近年来,由于高龄产妇增多,致使脑瘫患儿患病率上升,该医院制剂通过医者总结临床经验,在对“补肾健脑汤”随症加减的基础上确立而成,取得了良好疗效。据院方统计,自1998年以来,补肾健脑共用于治疗脑瘫、脑萎缩病理近3万例,治愈率33%,显效率50%,无效率17%,总有效率达到83%。补肾健脑胶囊的处方来源于经验方“补肾健脑汤”,方中以醋龟板补肾阴、养血补心、益肾健骨,肉苁蓉补肾阳、益精血,共为君药;以怀牛膝、熟地黄、制首乌补益精血,山茱萸、人参、鹿茸、冬虫夏草补气补阳,共同为臣辅助君药;以石菖蒲、远志祛痰开窍、交通心肾而安神益智,共为佐使药。研究显示^[3-6],补肾健脑汤在老年性痴呆、老年轻度认知障碍、血管性痴呆和

基金项目:1. 国家市场监督管理总局科技计划项目(编号:2021MK110);2. 甘肃省自然科学基金项目(编号:21JR1RA169;22JR5RA1059);3. 甘肃省自然科学基金实验动物专项(编号:22JR5RA1060);4. 甘肃省药品监督管理局科研项目(编号:2022GSMPA0067);5. 甘肃省市场监督管理局科研项目(编号:SS-CJG-SP-A202205);6. 兰州市人才创新创业项目(编号:2022-3-66)

作者简介:丁辉(1983.5-),男,甘肃兰州人,本科,工程师,主要从事食品药品检验分析工作

通讯作者:朱仁愿(1983.3-),男,甘肃兰州人,本科,正高级工程师,主要从事中药质量控制研究工作

中风痴呆等疾病的治疗中取得较好的疗效。为了更全面地控制该医院制剂的内在质量,本研究通过描述补肾健脑胶囊的性状特征,同时建立处方中山茱萸、石菖蒲、牛膝、人参、熟地黄、远志的显微特征,以及龟甲、肉苁蓉的薄层色谱鉴别方法,并对水分、装量差异、崩解时限等检查项目^[7-9]进行了检验,为科学评价药品质量提供参考依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Canon EOS 6D 数码照相机(日本佳能公司);BX53+DP73 正置荧光生物显微镜,配有 cellSensEntry 成像系统(日本奥林巴斯公司);CA-MAGLinomat 5 自动点样仪,配备 TLC Visualizer 成像系统(瑞士卡玛公司);YP502 电子天平(上海津平科学仪器有限公司);DGG-9140B 电热恒温鼓风干燥箱(上海森信实验仪器有限公司);MS105DU 电子天平(上海梅特勒-托利多仪器公司);ZB-1D 智能崩解仪(天津精拓仪器科技有限公司);SBL-10DT 超声清洗仪和 SCG-4 智能恒温槽(宁波新芝生物有限公司)。

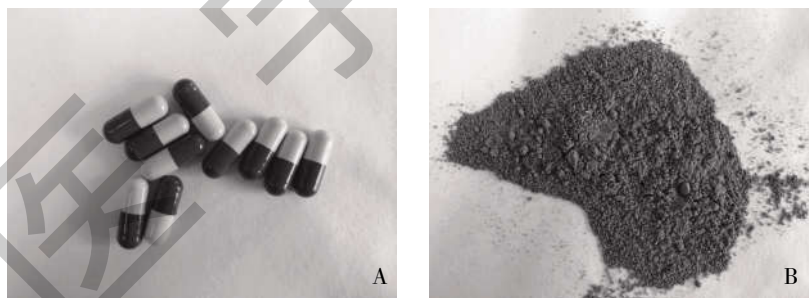
1.2 试剂试药 龟甲对照药材(121494-201604)、胆固醇对照品(111618-200301)及肉苁蓉对照药材(121101-200402)均购自中国食品药品检定研究院。硅胶 G 薄层板(德国默克公司),聚酰胺薄膜(浙

江路桥四甲生化塑料厂)。甲醇、甲苯、乙酸乙酯、甲酸、硫酸、乙醇、正丁醇、冰醋酸、水合氯醛均为分析纯,水为纯化水。补肾健脑胶囊试制样品 3 批,均由兰州市某医院制备提供,批号:BSJN-S-1、BSJN-S-2 和 BSJN-S-3。

2 方法与结果

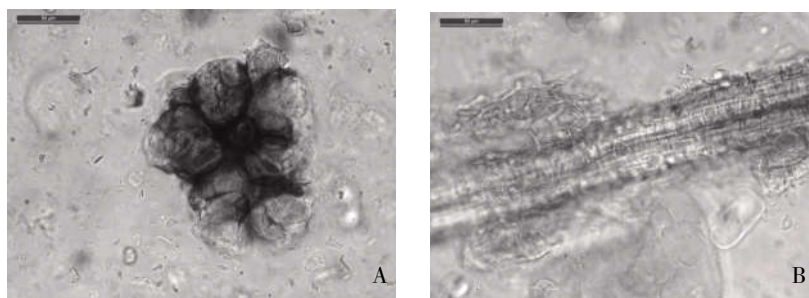
2.1 性状特征 利用数码照相机拍照,记录补肾健脑胶囊的性状特征^[10]。结果可见:本品为硬胶囊,见图 1A,内容物为棕褐色的粉末,见图 1B。取内容物进行口、鼻实验,可知其气微香,味淡、微甜、苦。

2.2 显微特征鉴别 取补肾健脑胶囊的内容物,用研钵研细,置载玻片上,滴加水合氯醛试液,加盖玻片加热透化,放置 10 min 后用生物显微镜及数码成像系统观察记录粉末显微特征^[11,12]。结果可见:山茱萸的果皮表皮细胞橙黄色,表面观多角形或类长方形,垂周壁连珠状增厚,外平周壁颗粒状角质增厚,胞腔含淡橙黄色物,图 2A。石菖蒲纤维束周围细胞中含草酸钙方晶,形成晶纤维,见图 2B。牛膝的草酸钙砂晶存在于薄壁细胞中,见图 2C。人参的草酸钙簇晶直径 20~68 μm ,棱角锐尖,见图 2D。熟地黄的薄壁组织灰棕色至黑棕色,细胞多皱缩,内含棕色核状物,见图 2E。远志的木栓细胞表面观呈多角形、类方形或类长方形,垂周壁较薄,有纹孔,呈断续状,见图 2F。



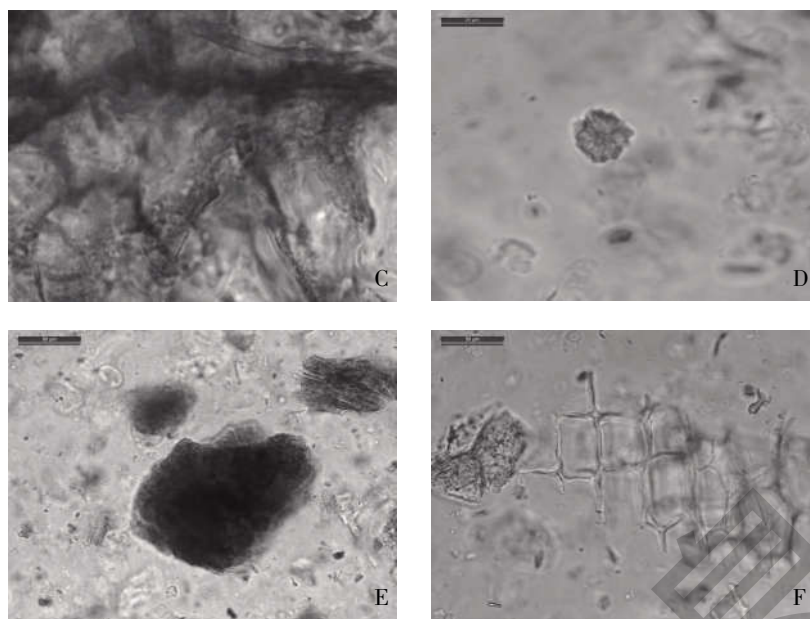
注:A:硬胶囊;B:内容物

图 1 补肾健脑胶囊性状特征



注:A:果皮表皮细胞;B:晶纤维;C:草酸钙砂晶;D:草酸钙簇晶;E:薄壁组织;F:木栓细胞

图 2 补肾健脑胶囊内容物的显微特征



注:A:果皮表皮细胞;B:晶纤维;C:草酸钙砂晶;D:草酸钙簇晶;E:薄壁组织;F:木栓细胞

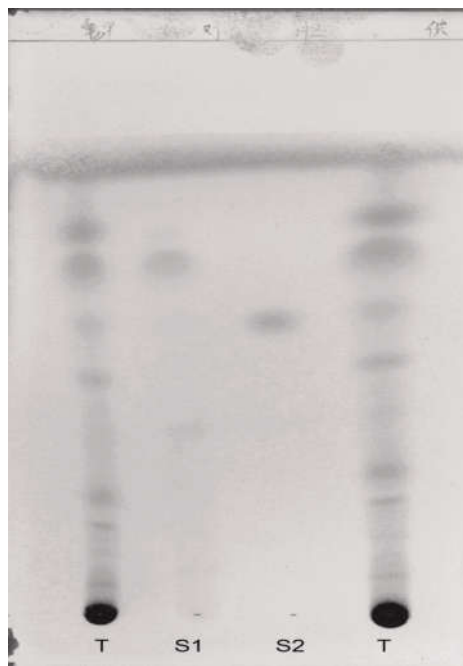
图 2 补肾健脑胶囊内容物的显微特征(续)

2.3 薄层色谱鉴别

2.3.1 龟甲的检测 ①供试品溶液的制备:取 10 粒补肾健脑胶囊的内容物,置研钵中研细,粉末全部放入锥形瓶中,加甲醇 30 ml,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 ml 使溶解^[13,14]。②对照药材溶液的制备:取龟甲对照药材 1 g,依照供试品溶液制备方法进行操作。③对照品溶液的制备:取胆固醇对照品 1 g,加甲醇 10 ml 使溶解,即浓度为 1 mg/ml。用自动点样仪的微量取样器吸取上述供试品溶液和对照品溶液各 10 μ l、对照药材溶液 20 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲醇-无水甲酸(15:2:1:0.6)为展开剂,展开 18 cm,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,于 110 $^{\circ}$ C 加热直至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,见图 3。

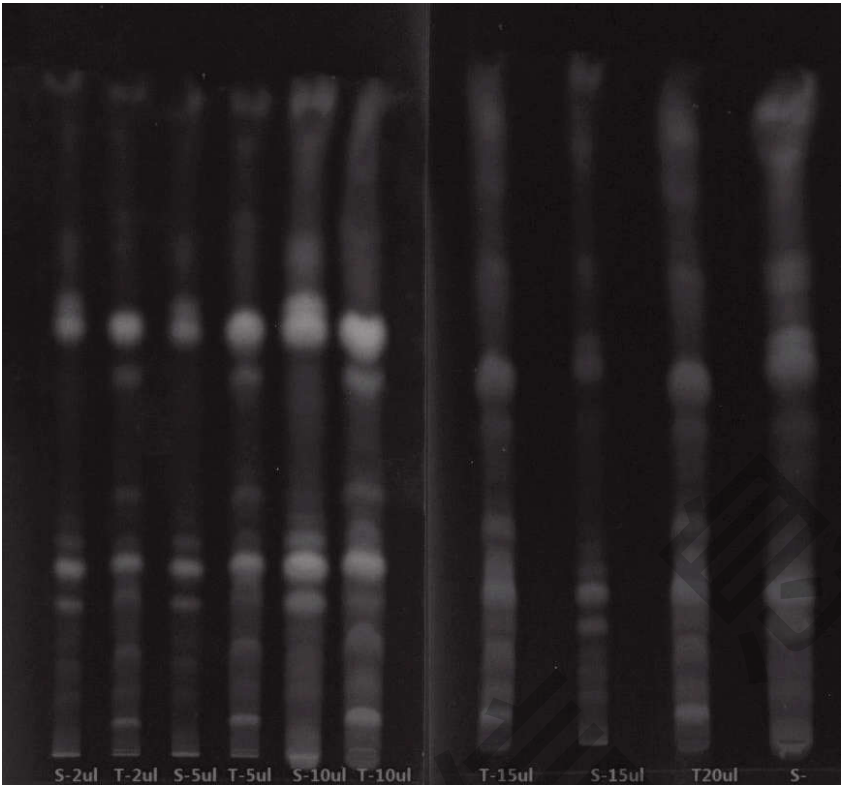
2.3.2 肉苁蓉的检测 ①供试品溶液的制备:取 10 粒补肾健脑胶囊的内容物,置研钵中研细,粉末全部放入锥形瓶中,加甲醇 25 ml,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 25 ml 溶解,加水饱和的正丁醇振摇提取 2 次,每次 25 ml,分取正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇 2 ml 使溶解^[15,16]。②对照药材溶液的制备:取肉苁蓉对照药材 1 g,加 75%乙醇 30 ml 加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 25 ml,依照供试品溶液制备方法进行操作。用自动点样仪的微量取样

器吸取上述供试品溶液和对照药材溶液各 5 μ l,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以甲醇-醋酸-水(2:1:7)为展开剂,展开,展距 8 cm,取出,晾干,在紫外光(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,见图 4。



注:S1:龟甲对照药材溶液;S2:胆固醇对照品人员;T:补肾健脑胶囊供试品溶液

图 3 补肾健脑胶囊中龟甲的薄层色谱图



注:S:肉苁蓉对照药材溶液;T:补肾健脑胶囊供试品溶液

图 4 补肾健脑胶囊中肉苁蓉的薄层色谱图

2.4 检查 按《中国药典》2020 年版四部制剂通则胶囊剂(通则 0103)项下有关的规定对水分、装量差异和崩解时限进行检验,为考察补肾健脑胶囊样品的均匀性以及保证检验结果的准确可靠,每批样品平行进行三组测定。

2.4.1 水分 按照《中国药典》2020 年版四部通则 0832 水分测定法中第二法(烘干法)测定。取补肾健脑胶囊内容物粉末取 5 g,精密称定,平铺于干燥至恒重的扁形称量瓶中,开启瓶盖在 105℃干燥 5 h。将瓶盖盖好,移置干燥器中,放冷 30 min,精密称定,再在上述温度干燥 1 h,放冷,精密称重,至连续两次称重的差异不超过 5 mg 为止。根据减失的重量,计算补肾健脑胶囊中的含水量,结果见表 1,3 批次补肾健脑胶囊的水分结果均符合标准规定^[17]。

2.4.2 装量差异 取补肾健脑胶囊 10 粒,分别精密称定重量,倾出内容物,囊壳用小刷拭净,再分别精密称定囊壳重量,根据减失的重量计算出每粒内容物的装量,结果见表 2。本品规格为 0.45 g/粒,根据《中国药典》标准规定,每粒装量与标示装量比较,超出装量差异限度的应不得多于 2 粒,并应不得有 1 粒超出限度 1 倍,其中装量差异限度为±10%,即限度范围为 0.405~0.495 g/粒,1 倍限度范围为 0.36~0.54 g/粒。结果显示,BSJN-S-1 的装量差异均符合规定;BSJN-S-3 的第二组和第三组中各有 1 份样品装量差异超出限度范围,但均未超出限度的 1 倍,故符合标准规定;BSJN-S-2 中,第一组有 4 份样品超出限度范围,第二组有 6 份样品超出限度范围,第三组有 4 份样品超出限度范围,不符合标准规定^[18]。

表 1 水分检查结果(%)

| 标准规定 | BSJN-S-1 | | | BSJN-S-2 | | | BSJN-S-3 | | |
|-----------|----------|-----|-----|----------|-----|-----|----------|-----|-----|
| | 第一组 | 第二组 | 第三组 | 第一组 | 第二组 | 第三组 | 第一组 | 第二组 | 第三组 |
| 应不得过 9.0% | 8.1 | 8.3 | 8.6 | 8.2 | 8.4 | 8.4 | 8.0 | 8.5 | 8.3 |

表 2 装量差异检查结果(g/粒)

| 标准规定 | BSJN-S-1 | | | BSJN-S-2 | | | BSJN-S-3 | | |
|----------------------------|----------|--------|--------|----------|---------|---------|----------|---------|---------|
| | 第一组 | 第二组 | 第三组 | 第一组 | 第二组 | 第三组 | 第一组 | 第二组 | 第三组 |
| 每粒装量 | 0.4909 | 0.4719 | 0.4923 | 0.5059* | 0.4164 | 0.5049* | 0.4935 | 0.4890 | 0.4755 |
| 与标示装量比较,超出装量差异限度 | 0.4557 | 0.4863 | 0.4923 | 0.5089* | 0.5087* | 0.3769* | 0.4764 | 0.4999* | 0.4785 |
| 的不得多于 2 粒,并不得有 1 粒超出限度 1 倍 | 0.4499 | 0.4751 | 0.4378 | 0.4953* | 0.5053* | 0.4985* | 0.4732 | 0.4456 | 0.4766 |
| | 0.4843 | 0.4918 | 0.4753 | 0.4694 | 0.3730* | 0.4693 | 0.4479 | 0.4796 | 0.4784 |
| | 0.4699 | 0.4432 | 0.4783 | 0.4597 | 0.4844 | 0.4922 | 0.4684 | 0.4605 | 0.4674 |
| | 0.4911 | 0.4640 | 0.4726 | 0.4941 | 0.4883 | 0.4570 | 0.4917 | 0.4866 | 0.4548 |
| | 0.4658 | 0.4815 | 0.4807 | 0.4954* | 0.5041* | 0.4394 | 0.4874 | 0.4480 | 0.4807 |
| | 0.4359 | 0.4752 | 0.4743 | 0.4907 | 0.4920 | 0.4629 | 0.4753 | 0.4665 | 0.5034* |
| | 0.4856 | 0.4417 | 0.4740 | 0.4944 | 0.5100* | 0.5001* | 0.4855 | 0.4820 | 0.4884 |
| | 0.4607 | 0.4588 | 0.4861 | 0.4670 | 0.4952* | 0.4945 | 0.4791 | 0.4508 | 0.4649 |

注:* 超出装量差异限度

2.4.3 崩解时限 按照《中国药典》2020 年版四部通则 0921 崩解时限检查法测定。取补肾健脑胶囊 6 粒,分别置崩解仪吊篮的玻璃管中,放上挡板,浸入

盛有水的烧杯中,设定温度为 37 ℃,记录胶囊全部崩解的时间,测定结果见表 3,3 批次补肾健脑胶囊的崩解时限结果均符合标准规定^[19]。

表 3 崩解时限检验结果(min)

| 标准规定 | BSJN-S-1 | | | BSJN-S-2 | | | BSJN-S-3 | | |
|-----------------|----------|-----|-----|----------|-----|-----|----------|-----|-----|
| | 第一组 | 第二组 | 第三组 | 第一组 | 第二组 | 第三组 | 第一组 | 第二组 | 第三组 |
| 应在 30 min 内崩解完全 | 18 | 20 | 19 | 20 | 25 | 21 | 22 | 21 | 20 |

3 讨论

3.1 显微鉴别 由于制剂处方中的各药味原料在生产过程中已被粉碎,因此选取具有代表性的显微组织特征极其关键。补肾健脑胶囊中,山茱萸是干燥成熟果肉,果皮表皮细胞是其主要特征;石菖蒲含有大量草酸钙方晶,且易形成晶纤维;人参的典型组织特征是棱角锐尖的草酸钙簇晶。薄壁细胞和木栓细胞是植物中常见的组织,但牛膝的薄壁细胞含有草酸钙砂晶,熟地黄的薄壁细胞内含类圆形核状物,远志的木栓细胞呈多角形、类方形或类长方形,垂周壁较薄。

3.2 薄层鉴别 龟甲的薄层鉴别中,通过梯度点样对比发现,对照药材、对照品及供试品溶液的点样量分别为 20、10 及 10~15 μl 时,薄层板上的斑点清晰,分离度较好。检视条件选用喷以 10%硫酸乙醇溶液,在加热后即可直接观察到粉红色斑点,需要注意加热温度不易过高,避免导致薄层板被烤焦。肉苁蓉的薄层色谱鉴别中,考察了 3 种前处理方法,分

别是:①取 10 粒内容物,加甲醇 30 ml,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 25 ml 溶解,加水饱和的正丁醇振摇提取 2 次,每次 25 ml,分取正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇 2 ml 使溶解,作为供试品溶液。另取肉苁蓉对照药材 1 g,加 75%乙醇 30 ml 加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 25 ml,同法制成对照药材溶液。②取 10 粒内容物,加乙醚 60 ml,超声处理 30 min,弃去乙醚液,残渣挥干,加甲醇 100 ml,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 ml 微热使溶解,通过 D101 型大孔吸附树脂柱(柱内径为 1.5 cm,柱高为 15 cm),用水 70 ml 洗脱,弃去水液,再用 20%乙醇 70 ml 洗脱,弃去洗脱液,继用 60%甲醇 100 ml 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 2 ml 使溶解,作为供试品溶液。另取松果菊苷对照品,加甲醇制成 1 mg/ml 的溶液,作为对照品溶液。③取 10 粒内容物,加甲醇 30 ml,超声处理 15 min,滤过,滤液回收溶剂至干,残渣加甲醇 5 ml 使溶解,作为供试品溶液。另取肉苁蓉对照药

材 1 g,同法制成对照药材溶液。经过对比分析,最终确定采用方法①,其结果准确可靠,操作性强。通过梯度点样对比,对照药材及供试品的点样量分别为 2~5 μl 时,薄层板上的斑点清晰,分离度好。

3.3 检查 本实验按《中国药典》2020 年版四部通则胶囊剂项下规定,分别对三批补肾健脑胶囊的常规检查项目进行了检验,结果显示 3 批样品的水分和崩解时限结果均符合规定,BSJN-S-1 和 BSJN-S-3 的装量差异限度检测也符合规定,但是 BSJN-S-2 的装量差异超出限度范围,不符合规定,表明该医院制剂在生产过程中,灌装过程存在一定的风险,还需进一步加强质量控制^[20]。

总之,中药制剂的质量是否均一稳定,直接影响临床有效性与安全性,因此对其质量的控制尤其重要。本实验建立了医院制剂补肾健脑胶囊的性状特征、显微特征和薄层色谱鉴别方法,操作简单,专属性强,对于实验条件要求不高,有利于全面控制制剂质量,为保障药品安全有效提供技术支持,可为其后续进一步开发利用提供参考依据。

参考文献:

- [1]王宝盛,张宁宁,陈海鹏,等.从少阳为枢论治儿童多动症[J].河北中医药学报,2022,37(6):7-10.
- [2]房国林.基于益气补肾、祛瘀化痰法的黄蒲通窍胶囊对于非痴呆型血管性认知功能障碍的临床疗效评价及对血清炎症指标、血浆 Hcy 水平的影响[D].合肥:安徽中医药大学,2018.
- [3]黄桥生,徐止浩.补肾健脑方联合奥氮平治疗精神行为障碍老年痴呆疗效观察[J].现代中西医结合杂志,2019,28(24):2701-2703,2713.
- [4]罗伦,苏文渊,袁茵,等.健脑补肾丸联合认知康复训练治疗脑卒中后认知功能障碍疗效及对血液流变学指标影响[J].临床军医杂志,2019,47(11):1197-1199,1203.
- [5]胡勇军,徐艳丽.补肾祛瘀化痰健脑汤联合多奈哌齐治疗阿尔茨海默病的疗效观察[J].中国中医药科技,2022,29(5):848-850.
- [6]张勇,李媛.健脑补肾通络方治疗肾虚血瘀型脑动脉硬化症临床研究[J].现代中医药,2020,40(4):68-71.
- [7]国家药典委员会.中华人民共和国药典四部[M].北京:中国医药科技出版社,2020:5-6.
- [8]宿曼筠,王友兰,吴爱英.珍母丸质量标准研究[J].中国现代应用药学,2020,37(6):685-688.
- [9]乔卫林,张礼行,彭丽华,等.壮腰健肾片的物质基础及质量标准提升研究[J].分析测试学报,2023,42(4):402-410.
- [10]林翠,董静文,王田田.复合亚氯酸钠泡腾胶囊的制备及质量研究[J].煤炭与化工,2022,45(11):123-127.
- [11]沙马里牛,李文兵,沙冬梅,等.铧头草质量标准研究[J].中成药,2023,45(4):1270-1274.
- [12]崔静,赵南,崔国涛.通脉化痰胶囊制备工艺及质量标准研究[J].中国处方药,2023,21(4):27-31.
- [13]吕晓娜.龟甲、龟甲胶的氨基酸类成分分析及质量评价研究[D].北京:北京中医药大学,2019.
- [14]史兆松,马栋栋,张淹,等.龟鹿二仙口服液质量标准研究[J].中国现代中药,2019,21(4):494-497,507.
- [15]李洋,秦亚迪,布比阿加尔·哈依拉提,等.肉苁蓉饮片及相关产品中苯乙醇苷的鉴别及测定[J].中国食品添加剂,2022,33(3):228-235.
- [16]苏学秀,张富娟,贾存勤,等.甘肃栽培肉苁蓉的鉴别研究[J].中国民族民间医药,2021,30(21):25-27.
- [17]胡杨,丁晓倩,严辉,等.川芎质量标准的研究[J].中成药,2021,43(3):692-699.
- [18]潘南,邓玉凤,徐清云,等.复方紫海胆黄油软胶囊制备工艺的研究[J].渔业研究,2021,43(6):587-596.
- [19]路婷婷,范月莹,吕娜,等.QbD 质量源于设计在软胶囊工艺开发中的应用[J].化工设计通讯,2023,49(3):203-205.
- [20]张翠莲,许婷婷,王彪,等.基于国家药品监督管理局药品质量公告发布不合格软膏与乳膏类药品的数据分析与提示[J].中国药事,2022,36(9):1078-1086.

收稿日期:2023-05-08;修回日期:2023-05-31

编辑/成森