

## 芪丹消渴胶囊质量标准研究\*

李晓军, 刘 军, 宫凯敏, 王银洁, 李文静

(银川市中医医院, 宁夏 银川 750001)

**摘要:** **目的** 制定芪丹消渴胶囊的质量标准。**方法** 采用薄层色谱法(TLC)对方中的黄芪、黄连进行定性鉴别,运用高效液相色谱(HPLC)法对制剂中的丹酚酸 B 进行含量测定。**结果** TLC 斑点清晰,阴性对照无干扰,分离度良好;丹酚酸 B 在 0.2856~2.856 $\mu$ g 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系 ( $r=0.9996$ ), 平均加样回收率为 99.55%, RSD=0.965%。**结论** 所建立的定性定量方法分离度好,重现性好,结果准确,可用于芪丹消渴胶囊的质量控制。

**关键词:** 芪丹消渴胶囊; 质量标准; 丹酚酸 B; 黄芪; 黄连

**中图分类号:** R286.0 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)06-0036-04

**DOI:** 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.06.009

芪丹消渴胶囊来自银川市中医医院临床经验方,该药具有益气养阴清热、补肾化痰祛瘀之功效。用于 2 型糖尿病患者气阴两虚血瘀所致的口渴喜饮,倦怠乏力,气短懒言,自汗,盗汗,五心烦热,肢体麻木或刺痛,糖尿病 2 型及并发症见上述症候者<sup>[1-3]</sup>。临床实践表明其疗效确切,毒副作用较少,目前本方已开发为医院制剂,本研究旨在建立制剂中黄芪、黄连的薄层鉴别,并对方中丹参有效成分丹酚酸 B 含量进行测定,以期建立该制剂的质量标准,有效并全面的控制其质量,为临床用药提供保障。

### 1 仪器与材料

#### 1.1 仪器

电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司),1260 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),Agilent 5TC-C18 色谱柱(250mm $\times$ 4.6mm, 5 $\mu$ m),旋转蒸发器(上海光学仪器厂),循环水式真空泵(巩义市市宇翔仪器有限公司),紫外分析仪(上海嘉鹏科技有限公司),DM 型控温电热套(山东聊城华鲁电热仪器有限公司),超声清洗机(昆山市超声仪器有限公司),硅胶 G 薄层板分别为青岛海洋化工厂分厂、烟台市化学工业研究所生产(规格为 100 mm $\times$ 100mm,厚 0.20mm)。

#### 1.2 试药

黄芪甲苷对照品(批号:110781-201413)、黄连对照药材(批号:12103-200607)、丹酚酸 B(111562-201313)均购于中国药品生物制品检定所,甲醇、乙腈为色谱纯(天津科密欧化学试剂有限公司),水为超纯水,其他试剂均为分析纯。芪丹消渴胶囊自制(批号:20150501, 20150510, 20150616)。

### 2 方法与结果

#### 2.1 TCL 鉴别

##### 2.1.1 黄芪<sup>[4-6]</sup>

##### 2.1.1.1 供试品溶液制备

取消渴胶囊内容物 5g,加甲醇 30mL,加热回流 1h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 30mL 使溶解,用水饱和的正丁醇溶液萃取 3 次,每次 20mL,合并正丁醇液,用 4%的氢氧化钠溶液洗涤 3 次,每次 20mL,弃去碱液,再用水洗涤 3 次,每次 20mL,弃去水液,分取正丁醇溶液,蒸干,残渣加甲醇 1mL 充分振摇使溶解,作为供试品溶液。

##### 2.1.1.2 阴性对照溶液制备

按处方比例及制法制成缺黄芪消渴胶囊内容物,取相当于供试品的量,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

\* 基金项目:银川市科技局立项项目(2014012)

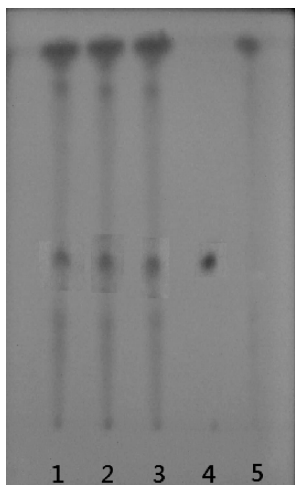
收稿日期:2016-09-20

作者简介:李晓军(1978-),男,甘肃泾川人,副主任药师,主要从事医院制剂生产与研发。E-mail:lxj197811@163.com

### 2.1.1.3 对照品溶液制备

取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成每 1mL 含 1mg 的对照品溶液。

2.1.1.4 照 2015 年版《中国药典》四部制剂通则 0502: 分别吸取按上述方法制成三批次供试品、对照品以及阴性溶液各 5 $\mu$ L,按照一定顺序点在硅胶 G 薄层板上,在展缸中以三氯甲烷-乙醇-水(5:3:2, v/v)10℃以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱与对照样品斑点相应的位置相同;阴性样品无相同颜色的斑点。结果见图 1。



(1、2、3.供试品;4.黄芪甲苷对照品;5.阴性对照)

图 1 芪丹消渴胶囊之黄芪薄层色谱图

### 2.1.2 黄连<sup>[7-8]</sup>

#### 2.1.2.1 供试品溶液制备

取芪丹消渴胶囊内容物 5g, 加盐酸-甲醇(1:100, v/v)混合溶液 25mL, 超声处理 40min, 放冷, 滤过, 滤液作为供试品溶液。

#### 2.1.2.2 阴性对照溶液制备

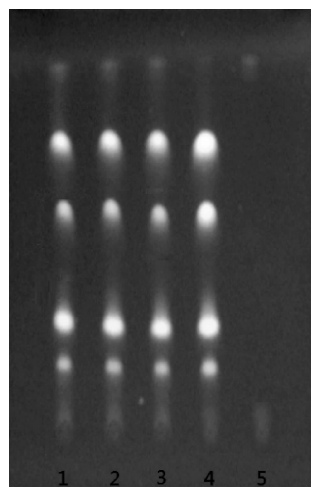
按处方比例及制法制成缺黄连的阴性对照样品。取相当于供试品的量,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

#### 2.1.2.3 对照品溶液制备

取黄连对照药材 0.1g, 同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。

2.1.2.4 照 2015 年版《中国药典》四部制剂通则 0502: 分别吸取按上述方法制成 3 批次供试品、对照品以及阴性溶液各 5 $\mu$ L,按照一定顺序点在硅胶 G 薄层板上,以苯-异丙醇-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(12:3:6:3:1, v/v)为展开剂,另槽加入等体积的

浓氨试液,预饱和 15min 后,展开晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱与对照样品荧光斑点相应的位置相同;阴性样品无相同颜色的荧光斑点。结果见图 2。



(1、2、3.供试品;4.黄连对照药材;5.阴性对照)

图 2 芪丹消渴胶囊之黄连薄层色谱图

## 2.2 HPLC 含量测定<sup>[9]</sup>

### 2.2.1 色谱条件

Agilent eclipse XDB -C18 (250mm  $\times$  4.6mm, 5 $\mu$ m, 柱号 990967-902); 流动相: 甲醇-乙腈-甲酸-水(30:10:1:59, v/v); 检测波长为 286nm; 流速: 1.0mL/min.

### 2.2.2 对照品溶液制备

精密称取丹酚酸 B 对照品适量,加 75%甲醇制成 0.14mg/mL 的溶液,即得。

### 2.2.3 供试品溶液的制备

取装量差异项下的本品内容物,混匀,研细,精密称定 2g, 置具塞锥形瓶中,精密加入 75%甲醇 50mL, 密塞,称定重量,超声处理(功率 250W, 频率 50kHz)30min, 放冷,再称定重量,用 75%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

### 2.2.4 阴性溶液的制备

按处方比例及制法制成缺丹参的阴性对照样品。按“2.2.3”项下供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

### 2.2.5 标准曲线制备

精密称取丹酚酸 B 对照品适量,制成浓度为 0.1428mg/mL 的溶液。分别依法进样 2.0 $\mu$ L、4.0 $\mu$ L、6.0 $\mu$ L、8.0 $\mu$ L、10.0 $\mu$ L,以峰面积积分值为纵坐标,进样量为横坐标,计算回归方程为:  $Y=1084.660477X-$

39.7483871,  $\gamma=0.9996$ , 试验结果表明, 丹酚酸 B 在 0.2856~1.428  $\mu\text{g}$  范围内, 呈良好的线性关系。

#### 2.2.6 专属性考察

分别对对照品溶液、供试品溶液、缺丹参阴性对照溶液进行测定, 结果供试品色谱在与对照品色谱相同保留时间处有色谱峰出现, 供试品主峰分离度良好, 保留时间与丹酚酸 B 对照品一致, 其分离度  $>1.5$ , 理论板数按丹酚酸 B 峰计算应不低于 4 000。测定结果见图 3。

#### 2.2.7 精密度考察

精密吸取丹酚酸 B 对照品溶液 0.14mg/mL, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 计算  $\text{RSD}=0.45\%$ , 表明仪器精密度良好。

#### 2.2.8 重复性测定

取同一批芪丹消渴胶囊样品 (批号:

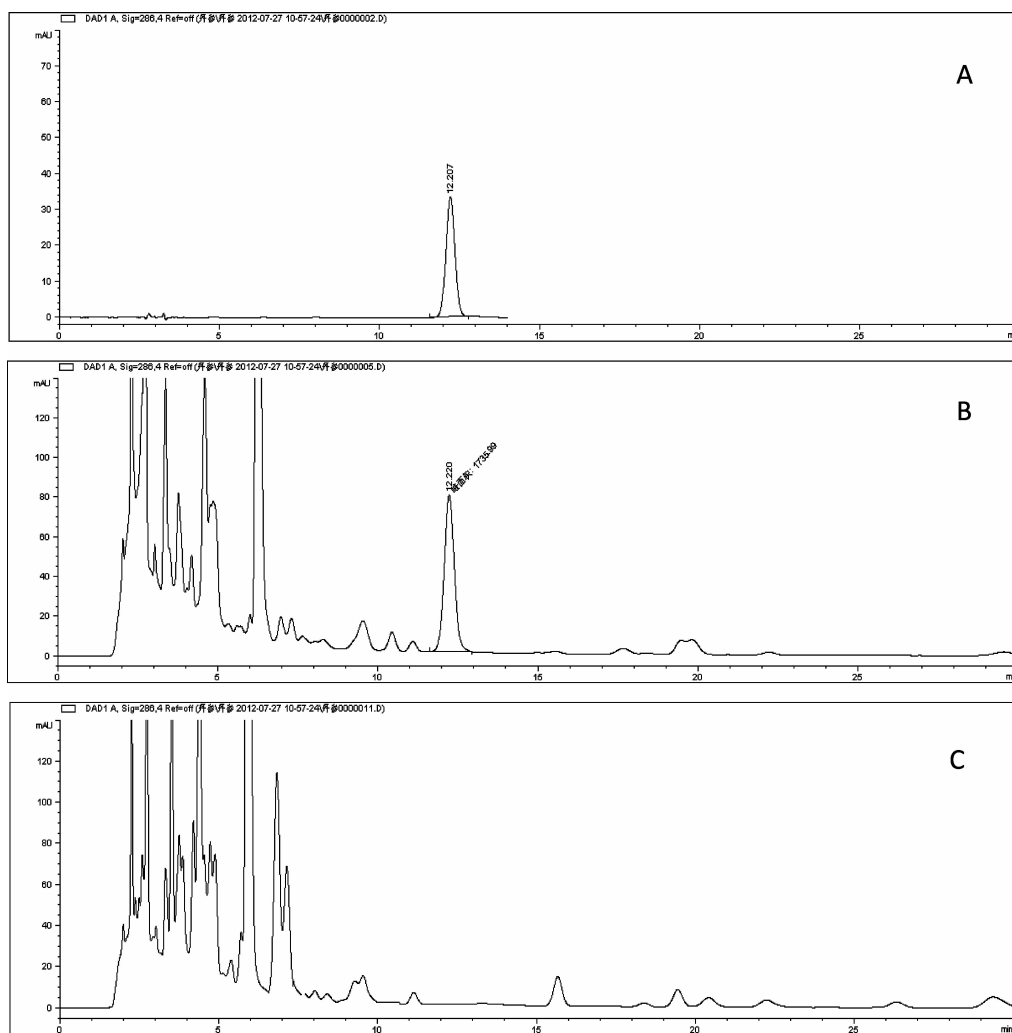
20150501), 按含量测定项下操作, 吸取 10  $\mu\text{L}$  进样, 进样 6 次, 测定丹酚酸 B 峰面积, 计算  $\text{RSD}=0.41\%$ , 表明方法重复性良好。

#### 2.2.9 稳定性考察

取同一批芪丹消渴胶囊样品 (批号: 20150501), 按含量测定项下操作, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24h 测定 1 次, 共测定 6 次, 测定丹酚酸 B 峰面积, 其  $\text{RSD}=0.41\%$ , 表明供试品溶液在 24h 内基本稳定。

#### 2.2.10 加样回收率

取芪丹消渴胶囊 (批号: 20120501) 6 份, 置锥形瓶中, 准确加入浓度为 1.971mg/mL 的丹酚酸 B 对照品溶液 2.0mL, 按含量测定方法提取并测定, 结果丹酚酸 B 平均回收率为 99.8%,  $\text{RSD}=0.97\%$ , 表明回收率良好。结果见表 1。



(A. 丹酚酸 B 对照品; B. 供试品溶液; C. 阴性对照品溶液)

图 3 芪丹消渴胶囊的高效液相色谱图

表1 丹酚酸B加样回收率试验

| 称样量    | 样品含量/mg | 加入量/mg | 测得值/mg | 回收率/%  | 平均回收率/% | RSD/% |
|--------|---------|--------|--------|--------|---------|-------|
| 1.1381 | 4.888   | 3.942  | 8.772  | 98.53  | 99.8    | 0.97  |
| 1.0818 | 4.646   | 3.942  | 8.103  | 100.38 |         |       |
| 1.1547 | 4.959   | 3.942  | 8.872  | 99.26  |         |       |
| 1.0701 | 4.596   | 3.942  | 8.516  | 99.34  |         |       |
| 1.0750 | 4.617   | 3.942  | 8.607  | 101.22 |         |       |
| 1.0116 | 4.345   | 3.942  | 8.297  | 100.25 |         |       |

### 2.2.11 样品测定

取样品3批,照含量测定方法操作,测定其丹酚酸B的含量,分别为5.23mg/g,5.08mg/g,5.13mg/g。

## 3 讨论

### 3.1 TLC方法建立

通过薄层色谱方法学验证试验,对比不同厂家薄层板、不同温度及湿度下的展开效果进行耐用性的考察,结果显示黄芪、黄连所建立的相应薄层鉴别方法专属性、重现性等良好,且阴性均无干扰,故此二味药材列入薄层鉴别正文,本研究还进行了太子参、玄参、粉葛等中药材饮片的薄层色谱及方法学研究,因阴性样品均存在干扰,故未列入质量标准正文。

### 3.2 HPLC方法建立

我院制剂芪丹消渴胶囊以黄芪、丹参健脾益气为君药。丹参中主要有效成分水溶性酚性酸类<sup>[9-12]</sup>,糖尿病并发症有良好的作用,因此参考文献以丹参中水溶性成分丹酚酸B进行HPLC测定<sup>[6,13-17]</sup>及一系列方法学考察后,发现其线性关系良好、重现性好、回收率好、专属性强,且在24h内较为稳定,可列入我院芪丹消渴胶囊质量标准进行质量控制。

### 参考文献:

- [1] 金少举,蒋袁絮,胡旭珍,等.糖维康对胰岛素抵抗大鼠血糖、胰岛素及血脂水平的影响[J].华西药学杂志,2006,21(2):126-128.
- [2] 金汀龙,陈霞波.临床常用中药降糖作用研究进展[J].浙江中西医结合杂志,2015,25(5):526-528.
- [3] 赵轩,高彦彬.改善胰岛素抵抗的单味中药成分和机制研究[J].世界中医药,2013,8(7):840-843.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015.

- [5] 高辉,李晓燕,李冰,等.归脾丸质量标准研究[J].药学研究,2015,34(5):276-279.
- [6] 刘军,李晓军,宫凯敏.不同干燥方式对糖维康浸膏质量的影响[J].宁夏医学杂志,2014,36(5):453-455.
- [7] 李洪.复方芩连清解颗粒的质量控制[J].中国医院药学杂志,2014,34(19):1681-1684.
- [8] 曾彬.左金分散片的研制[D].成都:成都中医药大学,2006.
- [9] 邵命海,王琛,杨婧,等.丹参多酚酸盐对慢性肾功能衰竭大鼠肾功能和肾内氧耗的影响[J].上海中医药大学学报,2012,26(3):66-68.
- [10] 齐栋,邢韵,张燕,等.贝那普利联合丹参多酚酸盐对糖尿病肾病大鼠的肾脏保护作用[J].中国中西医结合肾病杂志,2012,13(4):314-316.
- [11] 高玉琪,李晓燕,牛爱军,等.丹参多酚酸盐对ApoE基因敲除小鼠血清脂质的干预作用[J].国际心血管病杂志,2012,39(2):118-120.
- [12] 张晓雷,陈俊华,郭春霞,等.丹参多酚酸盐的药理作用研究[J].世界临床药物,2013,34(5):292-297.
- [13] 王爱武,李美艳,刘丽清,等.丹藤颗粒质量标准研究[J].辽宁中医药大学学报,2015,17(11):8-10.
- [14] 翁立冬,乡世健,洪军辉,等.HPLC法测定灵丹多糖胶囊中丹酚酸B的含量[J].今日药学,2015,25(10):712-714.
- [15] 程沛,韩东岐,胡伟慧,等.高效液相色谱法同时测定丹参中10种水溶性和4种脂溶性成分的含量[J].药物分析杂志,2015,35(6):991-996.
- [16] 吴慷青,叶莹,张俊.健脑灵片质量标准研究[J].药物鉴定,2009,18(5):21-22.
- [17] 严亚锋,白海侠,史亚军.脑清通颗粒质量标准的研究[J].西部中医药,2016,29(2):23-26.

(编辑:徐建平)

(英文摘要见第53页)

## Clinical Observation on Electroacupuncture Treatment of Senile Functional Constipation of Qi Deficiency Type

XIN Yu<sup>1</sup>, XU Huafang<sup>1</sup>, ZHANG Hongxing<sup>2</sup>, XU Paidi<sup>3</sup>, MAO Zhen<sup>4</sup>

(1. Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430010, China;

2. Wuhan Integrated TCM with Western Medicine Hospital, Acupuncture and Moxibustion Department, Wuhan 430022, China;

3. Hubei University of Chinese Medicine, Teaching and Research Massage Department, Wuhan 430065, China;

4. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

**ABSTRACT:** **Objective** To observe the clinical efficacy of EA on elderly Qi-deficiency Functional Constipation. **Methods** 40 patients were randomly divided into an acupuncture group and electroacupuncture group, 20 cases in each group. Bilateral Tianshu, abdominal knot and Shangjuxu acupuncture are selected to treat the patients by Ordinary acupuncture and Electroacupuncture. 4 weeks of continuous treatment, 5 times per week for 30 minutes/time. To observe the changes of the number of self defecation (SBM), the characteristics of feces and the degree of difficulty of defecation before treatment (baseline), 2 weeks and 4 weeks later in the observation group. **Results** The two groups can improve the symptoms of constipation (defecation frequency, stool character score, defecation difficulty level 2 weeks and 4 weeks later ( $P<0.01$ ). Acupuncture group and electro acupuncture group were respectively 65% and 70% of the total effective rate. At the end of the first course of treatment, the acupuncture group was better than the electroacupuncture group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** 1 Electro-acupuncture and general acupuncture treatment of qi deficiency type of functional constipation can be received satisfactory curative effect; 2 It was faster in effect and shorter in treatment course in EA group.

**KEY WORDS:** acupuncture; electroacupuncture; senile; functional constipation; Qi deficiency type; curative effect observation

(原文见第 36 页)

## The Study on Quality Standard of Qidan Xiaoke Capsule

LI Xiaojun, LIU Jun, GONG Kaimin, WANG Yinjie, LI Wenjing

(Yinchuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yinchuan 750001, China)

**ABSTRACT:** **Objective** To establish the quality standard of Qidan Xiaoke Capsule. **Methods** Qualitative identification of Astragalus, Rhizoma Coptidis in the formula was carried out by thin-layer chromatography (TLC). High performance liquid chromatography (HPLC) was used for the content of Salvianolic acid B in the preparation. **Results** TLC spots were clear and well-separated without negative interference, the line range of Salvianolic acid B was 0.2856~2.856 $\mu$ g, respectively, with good linear relationship with the peak area integral value( $r=0.9996$ ), the average recovery rate was 99.55%, RSD was 0.965%. **Conclusion** The qualitative and quantitative method with good resolution and was simple, convenient and reliable with good precision, which can be used for the quality control of Qidan Xiaoke Capsule.

**KEY WORDS:** Qidan Xiaoke Capsule; quality standard; Salvianolic acid B; Astragalus; Rhizoma Coptidis