

# 通脉糖眼明胶囊的质量标准研究<sup>△</sup>

周训蓉\*, 屈相玲, 朴春梅(贵阳中医学院第二附属医院, 贵阳 550001)

中图分类号 R283.65;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)11-1015-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.11.20

**摘要** 目的:提高通脉糖眼明胶囊的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对方中黄芪、丹参和三七进行定性鉴别,采用高效液相色谱法测定制剂中丹酚酸B的含量。结果:TLC斑点清晰,分离度好;丹酚酸B的进样量在0.076~3.890 μg( $r=0.9999, n=6$ )范围内与峰面积积分值呈良好线性关系,平均加样回收率为98.93%, $RSD=3.57\% (n=9)$ 。结论:所建标准可用于通脉糖眼明胶囊的质量控制。

**关键词** 通脉糖眼明胶囊;薄层色谱法;丹酚酸B;高效液相色谱法

## Quality Standard for Tongmai Tangyanming Capsule

ZHOU Xun-rong, QU Xiang-ling, PU Chun-mei(The Second Affiliated Hospital of Guiyang College of TCM, Guiyang 550001, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To improve the quality standard for Tongmai tangyanming capsule. METHODS: TLC was used for qualitative identification of Astragali Radix, *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*. The content of salvianolic acid B was determined by HPLC. RESULTS: TLC spot was clear and well-separated. The linear range of salvianolic acid B was 0.076-3.890 μg( $r=0.9999, n=6$ ) with an average recovery of 98.93% ( $RSD=3.57\%, n=9$ ). CONCLUSION: The method can be applied for the quality control of Tongmai tangyanming capsule.

**KEY WORDS** Tongmai tangyanming capsule; TLC; Salvianolic acid B; HPLC

通脉糖眼明胶囊是我院的医院制剂,组方源自内分泌科临床验方,由黄芪、丹参、三七、决明子、青箱子等8味中药组成,具有益气养阴、活血通络、明目退翳的功效,主治气阴两虚或气阴两虚夹血瘀引起的消渴、视瞻昏渺证。用黄芪补气升阳、益卫固表,为主药;丹参、三七活血通络,以增强行气之功效,为辅药;用决明子、青箱子清肝明目,直达发病部位,为使药。全方合用,标本兼治,共奏益气养阴、明目退翳之功效。

为了进一步完善、提高通脉糖眼明胶囊的质量标准,有效控制产品内在质量,笔者建立了黄芪、丹参、三七的薄层色谱(TLC)鉴别方法,并采用高效液相色谱(HPLC)法对制剂中有效成分丹酚酸B进行含量测定。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1100 HPLC 仪、紫外-可见光检测器(美国安捷伦科技公

司);十万分之一电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);HB-10250 超声波清洗器(上海跃进医用光学器械厂,功率:250 W,频率:40 kHz);高速离心机(北京医用离心机厂)。

### 1.2 药品与试剂

通脉糖眼明胶囊(批号:20100901、20100902、20100903)及相应阴性样品均由贵阳中医学院第二附属医院中药制剂室自制;丹酚酸B对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111562-200908);甲醇为色谱纯,甲酸为分析纯,水为娃哈哈饮用纯净水。

### 1.3 药材

黄芪、丹参、三七对照药材(中国食品药品检定研究院,批号:20974-201110、120923-201113、120941-201108)。

## 2 方法与结果

### 2.1 定性鉴别<sup>[1-6]</sup>

[12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录32.

[13] 高秀红,王朝晖,张桂荣,等.导数火焰原子吸收法测定六味地黄丸和枸杞子中的微量铬[J].中国医院药学杂志,2002,22(7):410.

[14] 刘志伟,郭巍,朱光华,等.火焰原子吸收光谱法测定几种中草药中金属元素含量[J].齐齐哈尔医学院学报,2010

(16):2598.

[15] 易刚强,李云耀,李晓龙,等.紫背金盘水提物和醇提物抑菌作用的研究[J].湖南中医药大学学报,2011,31(3):31.

[16] 易刚强,李云耀,李晓龙,等.紫背金盘水提物和醇提物解热作用的研究[J].湖南中医药大学学报,2010,30(11):26.

[17] 杨晓华,刘英华,王玉春,等.流动注射氯化物发生-原子吸收法测定乙肝疫苗中硫柳汞的含量[J].中国药房,2008,19(13):1013.

△基金项目:贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目(黔科合中药字[2011]5012号)

\*副主任药师。研究方向:中药学,医院药学。电话:0851-5283585。E-mail:13308500362@189.cn

(收稿日期:2012-04-01 修回日期:2012-11-09)

2.1.1 黄芪的TLC鉴别 取本品内容物3 g,加甲醇30 ml,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水20 ml使溶解,加乙酸乙酯20 ml,振摇,分取乙酸乙酯层,加适量无水硫酸钠脱水,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1 ml溶解,作为供试品溶液;取缺黄芪的阴性样品3 g,同法制成阴性对照溶液;另取黄芪对照药材1 g,同法制成对照药材溶液。照TLC法<sup>[7]</sup>试验,吸取上述3种溶液各5  $\mu$ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-乙酸乙酯(10:1:1, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸气中熏约5 min,取出,置紫外光灯(254 nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同的2个蓝色荧光斑点;阴性对照无干扰。黄芪的TLC见图1。

2.1.2 丹参的TLC鉴别 按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液;取缺丹参的阴性样品3 g,同法制成阴性对照溶液;另取丹参对照药材1 g,同法制成对照药材溶液;取丹酚酸B对照品适量,加甲醇制成每1 ml含1 mg的溶液,作为对照品溶液。照TLC法<sup>[7]</sup>试验,吸取上述4种溶液各10  $\mu$ l,分别点于同一硅胶GF<sub>254</sub>薄层板上,以甲苯-三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(2:3:4:0.5:2, V/V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照品及对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;阴性对照无干扰。丹参的TLC见图2。

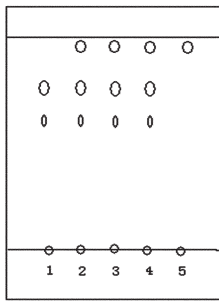


图1 黄芪的TLC

1.黄芪对照药材;2~4.供试品; 5.阴性对照

Fig 1 TLC of Astragali Radix

1.Astragali Radix reference substance; 2-4. test samples; 5. negative control

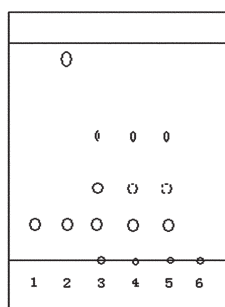


图2 丹参的TLC

1.丹酚酸B对照品;2.丹参对照药材;3~5.供试品;6.阴性对照

Fig 2 TLC of Salvia miltiorrhiza

1.salvianolic acid B control; 2.Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma reference substance; 3-5.test samples; 6. negative control

2.1.3 三七的TLC鉴别 取本品内容物10 g,加水50 ml使溶解,离心滤过,残渣用水洗涤2次,每次50 ml,离心滤过,残渣60  $^{\circ}$ C干燥。取残渣1 g,加甲醇10 ml,超声处理20 min,滤过,滤液水浴蒸干后,加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液;取缺三七的阴性样品3 g,同法制成阴性对照溶液;另取三七对照药材1 g,同法制成对照药材溶液。照TLC法<sup>[7]</sup>试验,吸取上述3种溶液各15  $\mu$ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇(4:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,105  $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰,日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;阴性对照无干扰。三七的TLC见图3。

## 2.2 含量测定<sup>[7]</sup>

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Hypersil ODS C<sub>18</sub>(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:甲醇-乙腈-甲酸-水(32:

7:1:60, V/V/V/V);流速:1 ml/min;检测波长:286 nm;柱温:30  $^{\circ}$ C;进样量:5  $\mu$ l。在此色谱条件下,在与对照品色谱相应的保留时间处(约9.6 min),供试品有一相同的色谱峰出现,且丹酚酸B和样品中其他组分色谱峰可达到基线分离,分离度>1.5,理论板数按丹酚酸B色谱峰计算应不低于1 000;阴性对照无干扰。色谱见图4。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品内容物约0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入50%甲醇25 ml,称定质量,超声处理(功率:150 W,频率:33 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用50%甲醇补足失质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

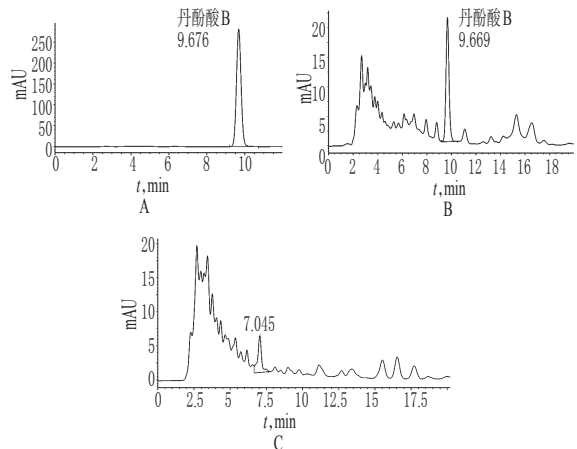


图4 高效液相色谱图

A.丹酚酸B对照品;B.供试品;C.阴性对照

Fig 4 HPLC chromatograms

A.salvianolic acid B control; B. test sample; C. negative control

2.2.3 对照品溶液的制备 取丹酚酸B对照品适量,加75%甲醇制成每1 ml含丹酚酸B 0.189 6 mg的溶液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 取缺丹参的阴性样品内容物约0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入50%甲醇25 ml,称定质量,超声处理(功率:150 W,频率:33 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用50%甲醇补足失质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.5 线性关系考察 精密称取丹酚酸B对照品19.4 mg,置25 ml量瓶中,用50%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成含丹酚酸B 0.777 9 mg/ml的对照品溶液,分别精密吸取此对照品溶液0.2、0.4、0.8、2.0、3.9、7.1 ml,置10 ml量瓶中,用50%甲醇依次稀释至刻度,摇匀,得系列浓度的对照品溶液。分别精密吸取5  $\mu$ l系列浓度对照品溶液,按上述色谱条件测定。以峰面积积分值(y)为纵坐标,进样量(x,  $\mu$ g)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=6\ 184.770\ 282x-1.535\ 487\ 7(r=0.999\ 9)$ 。结果表明,丹酚酸B进样量在0.076~3.890  $\mu$ g范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2.6 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液5  $\mu$ l,按上述色

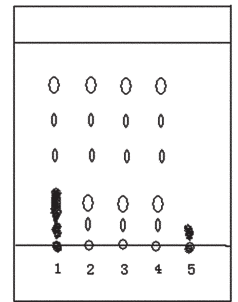


图3 三七的TLC

1.三七对照药材;2~4.供试品;5.阴性对照

Fig 3 TLC of Panax notoginseng

1.Notoginseng Radix et Rhizoma reference substance;

2-4. test samples; 5. negative control

谱条件测定,连续进样6次。结果,RSD=0.25%(n=6),表明仪器精密良好。

2.2.7 稳定性试验 取本品内容物适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别在0、1、2、3、4、5、6、7、8 h照上述色谱条件测定。结果,RSD=0.40%(n=9),表明供试品溶液在8 h内稳定。

2.2.8 重复性试验 取本品内容物适量,共9份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件测定。结果,每1 g样品中平均含丹酚酸B 8.669 2 mg,RSD=5.94%(n=9),表明方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 取已知含量的同一批样品约0.10 g,共9份,分别置25 ml量瓶中,分别精密加入丹酚酸B含量为样品含量80%、100%、120%的对照品溶液25 ml,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件测定,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery test

试验号	样品含量,mg	加入量,mg	测得值,mg	回收率,%	$\bar{x}$ ,%	RSD,%
1	0.910 1	0.855 7	1.719 0	94.53		
2	0.909 2	0.855 7	1.722 3	95.02		
3	0.910 1	0.855 7	1.715 6	94.13		
4	0.906 6	1.011 3	1.926 9	100.90		
5	0.905 7	1.011 3	1.921 0	100.40	98.93	3.57
6	0.905 7	1.011 3	1.905 0	98.82		
7	0.908 3	1.166 9	2.092 2	101.50		
8	0.909 2	1.166 9	2.088 6	101.10		
9	0.907 5	1.166 9	2.120 5	104.00		

2.2.10 样品含量测定 取3批(批号:20100901、20100902、20100903)样品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,平行制备3份,照上述色谱条件测定,计算各样品中丹酚酸B含量,结果见表2。

由表2可知,上述3批样品中丹酚酸B平均含量为9.37 mg/g。从生产实际考虑,以样品中丹酚酸B含量的80% $[9.37 \times 0.8 \times 0.5 = 3.74(\text{mg}/\text{粒})]$ 设定含量限度,故本品的含量限度定为

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=3)

批号	丹酚酸B含量,mg/g	$\bar{x}$ ,mg/g
20100901	9.39	
20100902	9.45	9.37
20100903	9.26	

每粒含丹参以丹酚酸B(C<sub>36</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>)计,不得少于3.74 mg。

### 3 讨论

笔者曾对方中除黄芪、丹参、三七以外的其他药味进行TLC鉴别,经试验研究发现,其阴性干扰较大,故不列入质量标准。用HPLC法测定丹参中丹酚酸B含量时,笔者曾分别用乙醇、甲醇、水和45%甲醇作为提取溶剂,并采用加热回流和超声两种方法进行提取。结果,上述提取溶剂提取效果均不理想,而超声提取较加热回流提取更简便、快捷。经过试验,最终选取50%甲醇为提取溶剂。

### 参考文献

- [1] 温燕梅. 黄芪的化学成分研究进展[J]. 中成药, 2006, 28(6): 879.
- [2] 何正显, 信玉琼. 丹参的化学成分及其临床应用探讨[J]. 中华临床新医学, 2004, 4(4): 350.
- [3] 鲍建才, 刘刚, 丛登立. 三七的化学成分研究进展[J]. 中成药, 2006, 28(2): 246.
- [4] 于沈晶, 殷文广, 修志龙. 丹参不同提取工艺的研究[J]. 中草药, 2007, 38(4): 542.
- [5] 聂继红, 周玲. 复方中丹参提取工艺及含量测定的研究[J]. 中成药, 2007, 29(6): 889.
- [6] 雷钧涛, 吕士杰, 任旷. TLC法定性鉴别芩丹颗粒中4味中药[J]. 中国药房, 2008, 19(3): 194.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010; 附录34.

(收稿日期:2012-03-09 修回日期:2012-09-19)

## 卫生部、总后勤部卫生部联合启动人类辅助生殖技术管理专项整治行动

本刊讯 2013年2月5日,卫生部和总后勤部卫生部联合召开人类辅助生殖技术管理专项整治行动启动电视电话会议。卫生部部长陈竺、总后勤部卫生部副部长王玉民出席会议并讲话,卫生部副部长马晓伟、刘谦出席会议。

陈竺指出,人类辅助生殖技术20世纪80年代在我国进入临床应用以来,技术水平逐步提高,服务能力不断增强。卫生部先后制定印发了一系列法律法规和技术规范,为促进辅助生殖技术规范、有序应用发挥了重要作用。但是,近年来少数地区准入把关不严,日常监管松懈,对违法违规行为打击力度不够,致使辅助生殖技术服务市场出现混乱现象。一些未取得资质的机构和个人,违法违规开展辅助生殖技术服务;一些非法机构在网络上随意销售促排卵药物;个别医务人员受利益驱使,参与违法违规活动,起到了推波助澜作用;一些地方还存在法规明令禁止的代孕和非法买卖卵子等现象,社会影

响极为恶劣。

陈竺强调,违法违规开展辅助生殖技术的行为,严重侵害群众健康权益,易造成社会伦理关系混乱和法律纠纷,是对法律法规严肃性的公然挑衅,也是对卫生行政部门依法行政的巨大挑战。开展专项整治行动既是促进技术规范应用的重要举措,又是强化卫生监督职责的重要手段,也是维护广大群众健康权益的迫切需要。

陈竺要求,各级卫生行政部门要充分认识开展专项整治行动的重要意义,坚持“集中整治,标本兼治,强化监管,建立长效机制”的原则,精心组织、周密部署,以对党和人民高度负责的精神和求真务实的作风,集中力量开展专项整治行动,务求取得实效,切实维护广大群众的健康权益。要严格审批行为,全面清理现有审批情况,暂缓新的审批,严肃查处违法违规案件,依法严惩涉案责任人员。