3.2.9 样品测定　按"3.2.3"项下条件制备供试品溶液，测定3批，结果见表4。

表4　样品测定结果

批号	盐酸小檗碱含量/mg/片
4120856	14.078 2
4121303	13.328 3
6128059	15.477 6

4　讨论

4.1 流动相选择

经实验比较，分别优选《中国药典》2005 年版一部白芍[2]的含量测定项下的流动相乙腈-0.1%磷酸溶液(15∶85)及复方黄连素片[3]含量测定项下的流动相乙腈-0.033%磷酸二氢钾溶液(32∶68)为本实验测定芍药苷、盐酸小檗碱的流动相。

4.2 检测波长的选择

分别取芍药苷和盐酸小檗碱对照品的甲醇溶液，在200～700 nm波长范围内进行扫描，结果表明二种对照品在230 nm处均有最大吸收，因此，本实验测定芍药苷选择230 nm为检测波长。为避免出现干扰，选择盐酸小檗碱第二最大吸收波长265 nm，作为测定盐酸小檗碱的检测波长。

4.3 提取条件的选择

试验中曾用30%乙醇、稀乙醇、70%乙醇分别作为提取溶剂，用超声15，30，45，60 min和加热回流15，30，45，60 min分别作为提取方法，结果表明，稀乙醇超声处理30 min能将治痢片中的芍药苷和盐酸小檗碱提取完全。

4.4 耐用性考察

试验中曾用Phenomenex Luna C_{18}(2)(4.6 mm×250 mm，5 μm)，Agilent Tc-18(4.6 mm×250 mm，5 μm)，Agilent Zorbax SB-C_{18}(4.6 mm×250 mm，5 μm)等3种不同型号的色谱柱，分别测定芍药苷和盐酸小檗碱的含量，结果表明测定含量数据基本一致，且峰型均对称，与其他组分色谱峰达到了基线分离。考虑到色谱柱性价比，本实验选择使用Phenomenex Luna C_{18}(2)柱。

参考文献

[1] 国家药典委员会．卫生部药品标准．《中药成方制剂》[S]．第四册：94.

[2] 国家药典委员会．《中国药典》．一部[S]．2005：68.

[3] 国家药典委员会．《中国药典》．一部[S]．2005：534.

天芪降糖胶囊质量标准研究

曹飞，张清波，姜文红(黑龙江省药品检验所 哈尔滨 150001)

摘要　**目的**：修订天芪降糖胶囊的质量标准。**方法**：建立及优化TLC对处方中女贞子、人参、黄芪、黄连、五倍子进行定性鉴别；采用HPLC法测定黄连中盐酸小檗碱的含量。色谱柱为Diamonsil C_{18}(4.6 mm×250 mm，5 μm)；流动相为乙腈-0.05 mol·L^{-1}磷酸二氢钾溶液(28∶72)；流速为1.0 mL·min^{-1}；检测波长为345 nm。**结果**：鉴别方法专属性强，分离效果好。含量测定盐酸小檗碱的进样量在0.163 05～1.358 75 μg范围内线性关系良好(r=1.000 0)，平均回收率为99.3%，RSD(n=6)为1.5%。**结论**：方法灵敏、准确，重现性好，可作为天芪降糖胶囊的质量控制方法。

关键词：天芪降糖胶囊；质量标准；薄层色谱法；高效液相色谱法；盐酸小檗碱

中图分类号：921.2　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1009－3656(2009)－5－346－4

Study on Quality Specification of Tianqi Jiangtang Capsules

Cao Fei, Zhang Qing-bo, Jiang Wen-hong (*Heilongjiang Institute for Drug Control, Harbin* 150001)

Abstract　**Objective**: The quality specification for Tianqi Jiangtang Capsules was established. **Methods**: A TLC method was used for the qualitative identification of Fructus ligustri Lucidi, Radix Et Rhizoma Ginseng, Radix Astragali, Rhizoma Coptidis and Galla Chinensis in the formula. The content of Berberine Hydrochloride was determined by HPLC method with a Diamonsil C18 column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) and a mobile phase of acetonitrile-0.05% solution of potassium dihydrogen phosphate (28∶72). The flow rate

作者简介：曹飞，女，主管药师。学科及研究方向：中药学。联系电话：13613613633。

万方数据

was 1.0 mL · min^{-1}. The detection wavelength was 345 nm. **Results**: The identification study showed strong specificity. The linear relation was good with the rang of 0.163 05 ~ 1.358 75 μg (r = 1.000 0). The average recovery was 99.3% with RSD 1.5% (n = 6). **Conclusions**: The method was sensitive, accurate and reproducible. It could be used in the quality control of Tianqi Jiangtang Capsules.

Key words: Tianqi Jiangtang Capsules; Quality Specification; TLC; HPLC; Berberine Hydrochloride

天芪降糖胶囊是由黄芪、天花粉、女贞子、黄连、人参等十味药组成。临床上有益气养阴，清热生津之功效，用于Ⅱ型糖尿病气阴两虚证。原质量标准为国家药品监督管理局标准（试行）WS-666（Z-186）-2002，规定了女贞子、人参、黄芪、黄连、五倍子的 TLC 鉴别，并采用 TLCS 测定黄连中盐酸小檗碱的含量[2]。但在实际检验操作中，发现提取及展开系统都或多或少的存在一些问题，而 TLCS 测定盐酸小檗碱的误差较大且重现性也较差，为了更加快速、准确的检测药品的内在质量，本文研究优化了女贞子、人参、黄芪、黄连、五倍子的薄层色谱鉴别，并采用 HPLC 建立了黄连中盐酸小檗碱的含量测定方法，获得满意结果，可作为该制剂的质量控制方法。

1　仪器与材料

1.1　仪器

美国 waters 2487 高效液相色谱系统；超声清洗机（无锡超声电子设备厂）；CAMAR1100 薄层成像系统（CAMAG）；BP211D 电子天平。

1.2　材料、试药及试液

盐酸小檗碱对照品（批号 110713-200208）、齐墩果酸（批号 0709-9803）、人参皂苷 Rg1（批号 110703-200323）、人参皂苷 Re（批号 110754-200218）、人参皂苷 Rb1（批号 110704-200318）、黄芪甲苷（批号 0781-200210）、没食子酸（批号 10831-9501）、黄连（批号 913-8902）均购自中国药品生物制品检定所。乙腈为色谱纯，水为净化水，其它试剂及试药均为分析纯。

2　鉴别方法及结果

2.1　薄层色谱鉴别

2.1.1　女贞子的鉴别　取本品内容物 2 g，加甲醇 10 mL，超声处理 20 min，滤过，滤液作为供试品溶液。另取齐墩果酸对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液，作为对照品溶液。另取缺女贞子的阴性样品，同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法（《中国药典》2005 年版一部附录Ⅵ B）试验，吸取上述三种溶液各 4 μL，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，以甲苯-乙酸乙酯（1∶1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10% 硫酸乙醇溶液，在 105 ℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；阴性对照无干扰（见图 1）。

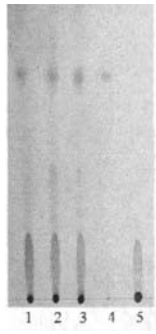

图 1　女贞子薄层色谱图

1 ~ 3. 供试品；4. 齐墩果酸对照品；5. 阴性对照

2.1.2　人参、黄芪的鉴别　取本品内容物 5 g，加甲醇 50 mL，超声处理 30 min，滤过，滤液蒸干，残渣加水 30 mL 使溶解，用水饱和正丁醇振摇提取 3 次，每次 20 mL，合并正丁醇液，用氨试液洗涤 2 次，每次 20 mL，取正丁醇液蒸干，残渣加水 30 mL 使溶解，滤过，滤液通过 D101 型大孔吸附树脂柱（内径 1.5 cm，柱高 12 cm），以水 50 mL 洗脱，弃去水液，再用 40% 乙醇 30 mL 洗脱，弃去洗脱液，继用 70% 乙醇 50 mL 洗脱，收集洗脱液，蒸干，残渣加甲醇 1 mL 使溶解，作为供试品溶液。另取人参皂苷 Rg1 对照品、人参皂苷 Re 对照品、人参皂苷 Rb1 对照品及黄芪甲苷对照品，分别加甲醇制成每 1 mL 含 1mg 的溶液，作为对照品溶液。另取缺人参、黄芪的阴性样品，同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法（《中国药典》2005 年版一部附录Ⅵ B）试验，吸取上述七种溶液各 4 ~ 10 μL，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，以三氯甲烷-甲醇-水（13∶7∶2）的下层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10% 硫酸乙醇溶液，在 105 ℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；阴性对照无干扰（见图 2）。

2.1.3 黄连鉴别　取黄连对照药材 0.1 g，加甲醇 10

万方数据

mL，超声处理 15 min，滤过，滤液作为对照药材溶液。再取盐酸小檗碱对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液，作为对照品溶液。另取缺黄连的阴性样品，同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法（《中国药典》2005 年版一部附录 ⅥB）试验，吸取上述 3 种溶液及【含量测定】项下的供试品溶液各 5 μL，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，以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水（10∶7∶1∶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，在与对照药材色谱和对照品色谱相应位置上，显相同的黄色荧光斑点；阴性对照无干扰（见图 3）。

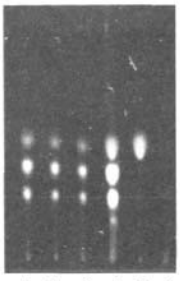

图 2　人参、黄芪薄层色谱图

1～3. 供试品；4. 人参皂苷 Rb1；5. 人参皂苷 Rg1；6. 人参皂苷 Re；7. 黄芪甲苷；8. 黄芪阴性对；9. 人参阴性对照

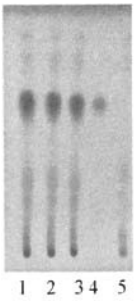

图 3　黄连薄层色谱图

1～3. 供试品；4. 黄连药材；5. 盐酸小檗碱；6. 阴性对照

2.1.4 五倍子鉴别　取没食子酸对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液，作为对照品溶液。另取缺五倍子的阴性样品，同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法（《中国药典》2005 年版一部附录Ⅵ B）试验，吸取上述两种溶液及【女贞子的鉴别】项下的供试品溶液各 2 μL，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 GF254 薄层板上，以三氯甲烷-甲酸乙酯-甲酸（5∶5∶1）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯（254 nm）下检视。供试品色谱中，在与对照品色谱相应位置上，显相同颜色的斑点；阴性对照无干扰（见图 4）。

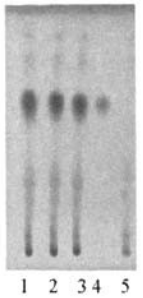

图 4　五倍子薄层色谱图 1～3. 供试品；4. 没食子酸；5. 阴性对照

3　含量测定[1]

3.1　色谱条件

色谱柱：Diamonsil C_{18}（4.6 mm × 250mm，5μm）；流动相：乙腈-0.05 mol·L^{-1}磷酸二氢钾溶液（28∶72）；流速：1.0 mL·min^{-1}；检测波长：345 nm；进样量：10 μL；理论板数按盐酸小檗碱峰计算应不低于 3 000。

3.2　溶液的制备

3.2.1 对照品溶液的制备　取盐酸小檗碱对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1 mL 含 50 μg 的溶液，即得（色谱图见图 5）。

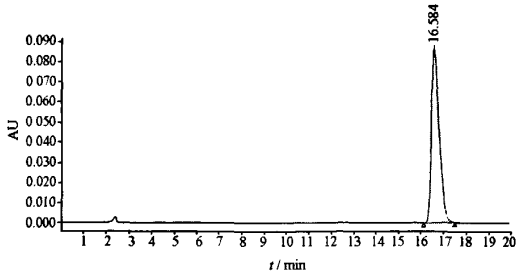

图 5　对照品 HPLC 色谱图　（Rt = 16.584 min）

3.2.2 供试品溶液的制备　取装量差异项下的本品内容物约 0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入盐酸-甲醇（1∶100）混合溶液 50 mL，密塞，称定重量，超声处理（功率 250 W，频率 40 kHz）30 min，放冷，再称定重量，用盐酸-甲醇（1∶100）混合溶液补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 10 mL，通过中性氧化铝柱（100～200 目，5 g，内径 1.0 cm，湿法装柱，用乙醇 30 mL 预洗）上，以乙醇 30 mL 洗脱，收集洗脱液，置 50 mL 量瓶中，加乙醇至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得（色谱图见图 6）。

3.2.3 阴性对照液的制备　按处方中药味的比例取缺黄连的药材，按天芪降糖胶囊的制备工艺制得阴性样品，按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶

万方数据

液(色谱图见图 7)。

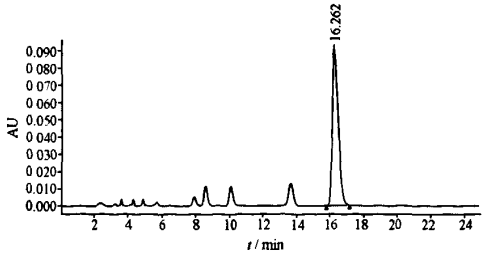

图 6　供试品 HPLC 色谱图(盐酸小檗碱 Rt = 16.262 min)

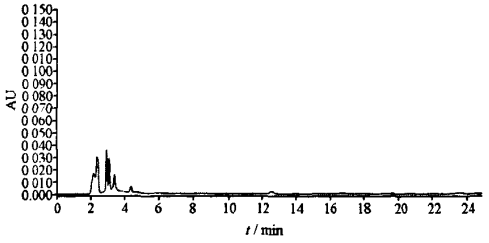

图 7　阴性对照溶液 HPLC 色谱图

3.3　线性关系考察

分别精密吸取盐酸小檗碱对照品溶液(0.054 35 g·L^{-1})3,5,10,20,25 μL,注入液相色谱仪,测定峰面积,以峰面积为纵坐标(Y),盐酸小檗碱进样量(μg)为横坐标(X),求得回归方程 $Y = 2.639\ 9 \times 10^{-7}X - 5.067\ 3 \times 10^{-4}$,$r = 1.000\ 0$,结果表明盐酸小檗碱在 0.163 05 ~ 1.358 75μg 范围内线性关系良好。

3.4　精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μL(0.054 35 g·L^{-1}),重复进样 5 次,所得的峰面积 RSD 为 0.2%,表明仪器精密度良好。

3.5　重复性试验

取同一批号(061109)样品 6 份,精密称定,按供试品溶液的制备方法制成供试品溶液,分别进行含量测定,盐酸小檗碱的平均含量为每粒 10.0 mg,RSD 为 1.6%,表明测定方法的重复性良好。

3.6　稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液 10 μL,分别于配制后 1,2,4,6,8,24 h,进样,记录峰面积,RSD 为 0.6%,结果表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

3.7　加样回收率试验

精密称取已知含量的同一批号(061101,含量每粒 10.4 mg,每粒重 0.328 4 g)的样品 6 份,各约 0.19 g,分别精密加入盐酸小檗碱对照品溶液(0.712 5 g·L^{-1})各 8 mL,蒸干后,依"3.2.2"方法提取,进样,记录色谱图,计算回收率,结果见表 1。

表 1　加样回收率试验

序号	取样量 /g	样品中的含量 /mg	加入对照品量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.185 9	5.887 2	5.70	11.471 2	97.96		
2	0.192 5	6.096 2	5.70	11.821 2	100.44		
3	0.185 7	5.880 9	5.70	11.480 8	98.24	99.3	1.5
4	0.203 7	6.450 9	5.70	12.087 2	98.88		
5	0.192 6	6.099 4	5.70	11.890 5	101.59		
6	0.184 7	5.849 2	5.70	11.460 2	98.44		

3.8　含量测定结果

按上述含量测定方法,测定 10 批样品(表 2)。

表 2　含量测定结果

批号	061101	061102	061103	061104	061105	061106	061107	061108	061109	061110
含量/mg/粒	10.4	9.4	9.6	9.8	8.5	8.7	8.4	8.3	10.0	9.7

4　讨论

4.1 原标准中提取溶剂与展开系统有毒性较大的试剂苯,因此对提取方法与展开系统进行了修改。对有背景干扰且分离较差的提取方法及展开系统进行了优化。

4.2 关于检测波长、流动相的选择　通过紫外扫描,盐酸小檗碱在 348,264 nm 处有最大吸收,由于在 264 nm 下测定杂质峰较多且基线不稳,故选择 345 nm 为检测波长。先后试用了两种流动相系统:乙腈-0.05 mol·L^{-1}磷酸二氢钾溶液(28∶72)和乙腈-水-冰醋酸-三乙胺(34∶64∶1∶1),通过实验证明前者的峰形及分离效果较后者好。

参考文献

[1]　《中国药典》. 2005 年版. 一部[S]. 2005;454.

[2]　国家药典委员会. 国家药品监督管理局标准(试行)WS-666(Z-186)-2002.

万方数据

天芪降糖胶囊质量标准研究

万方数据 WANFANG DATA 文献链接

作者： 曹飞， 张清波， 姜文红， Cao Fei， Zhang Qing-bo， Jiang Wen-hong
作者单位： 黑龙江省药品检验所,哈尔滨,150001
刊名： 中国药品标准
英文刊名： DRUG STANDARDS OF CHINA
年，卷(期)： 2009,10(5)

参考文献(2条)

1. 国家约典委员会 WS-666(Z-186)-2002.国家药品监督管理局标准(试行)

2. 中国药典(一部)2005年版 2005

本文链接：http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgypbz200905012.aspx