



Cosmosil C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile–water (9:91, V/V), the flow rate was 1 mL/min, the column temperature was 35 °C, the detection wavelength was 238 nm, and the injection volume was 10 μL. **Results** Microscopic identification could effectively detect the characteristic structures of Atractylodis Macrocephalae Rhizoma, Puerariae Lobatae Radix, Rhei Radix et Rhizoma, Poria and Plantaginis Semen directly used as powder in the preparation. The TLC chromatograms of six kinds of Chinese medicinal herbs such as Gardeniae Fructus had clear spots, good separation, and the negative samples had no interference. The mass concentration of geniposide showed a good linear relationship with the peak area in the range of 8.652–173.040 μg/mL ( $r = 0.999\ 6$ ,  $n = 5$ ), and the average recovery of geniposide was 100.15% with an RSD of 2.02% ( $n = 6$ ). **Conclusion** The method is simple, repeatable and accurate, which can be used for the quality control of Xiaokejianpi Capsules.

**Key words:** Xiaokejianpi Capsules; geniposide; quality standard; stability

消渴健脾胶囊是新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市中医医院院内制剂, 临床疗效确切<sup>[1-2]</sup>, 由苍术、白术、栀子等13味中药材组方, 具有燥湿健脾、行气和胃、祛浊化郁功效, 常用于脾虚湿盛型2型糖尿病的治疗<sup>[3]</sup>, 主要用于糖尿病及其并发症的治疗<sup>[4]</sup>, 特别适用于西北地区的人群体质、气候因素及生活饮食习惯。但原质量标准中药味鉴别项较少, 且无含量测定项, 已不适用制剂的质量控制<sup>[5]</sup>。栀子具有明显的降糖活性, 有效成分栀子苷是其发挥降糖活性的主要成分<sup>[6-7]</sup>, 且含量较高, 性质稳定。本研究中以栀子苷为定量评价指标, 建立了消渴健脾胶囊的质量标准, 为提高其质量和保证临床疗效提供参考。现报道如下。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Agilent 1260 型色谱仪(美国安捷伦科技有限公司); KQ-500DE 型超声仪(江苏昆山超声仪器有限公司, 功率为300 W, 频率为50 kHz); WP-UP-IV-10 Water Purifier 型超纯水机(四川沃特科技有限公司); 硅胶G 薄层板(青岛海洋化工厂); BX50-32H01 型生物显微镜(日本奥林巴斯公司)。

### 1.2 试药

落新妇苷对照品(上海中药标准化研究中心, 批号为30-2017, 纯度为98%); 栀子苷对照品(批号为120986-201610, 纯度为98.8%), 栀子对照药材(批号为120986-201510), 大黄酚对照品(批号为110758-201507, 纯度为98.5%), 大黄对照药材(批号为120902-201311), 茯苓对照药材(批号为121117-201608), 芥子碱硫氰酸盐对照品(批号为111702-201605, 纯度为98.3%), 莱菔子对照药材(批号为121074-201402), 葛根对照药材(批号为121551-201103), 葛根素对照品(批号为110752-201813, 纯度为98%), 均购自中国食品药品检定研究院; 消渴健脾胶囊(新疆华世丹药业股份有限公司, 批号分别为190102, 190103, 190104, 180422, 180423, 180424, 180425, 180426, 180427, 180428); 乙腈(色谱纯, 美国Fisher公司); 其余试剂均为分析纯, 购自天津致远化学试剂有限公司。

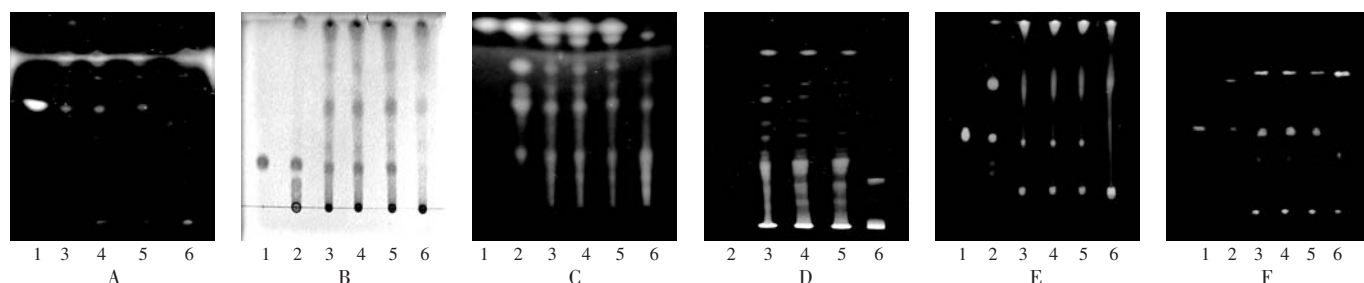
## 2 方法与结果

### 2.1 薄层色谱(TLC)鉴别

土茯苓: 取本品内容物3 g, 置25 mL具塞锥形瓶中, 加甲醇15 mL, 超声(功率为300 W, 频率为50 kHz)处理40 min, 过滤, 取滤液作为供试品溶液。取除土茯苓以外的其他药材, 按处方工艺和供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。取落新妇苷对照品, 加甲醇制成质量浓度为1 mg/mL的对照品溶液。按2015年版《中国药典(一部)》通则0502 TLC法<sup>[8]19</sup>, 吸取对照品溶液5 μL, 供试品溶液和阴性对照品溶液各10 μL, 依次点样, 以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(13:32:9, V/V/V)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以新配制的三氯化铝试液, 5 min后置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相应位置显相同颜色的荧光斑点, 且阴性对照无干扰。详见图1 A。

栀子: 取本品内容物5 g, 置100 mL具塞锥形瓶中, 加甲醇50 mL, 加热回流40 min, 滤过, 滤液蒸干, 加水20 mL溶解残渣, 再用饱和的正丁醇溶液提取2次, 每次20 mL, 合并正丁醇液, 蒸干, 加5 mL甲醇溶解残留物, 即得供试品溶液。取栀子对照药材, 按供试品溶液制备方法制备栀子对照药材溶液。取除栀子以外的其他药材, 按处方和供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。取栀子苷对照品, 加乙醇制成质量浓度为4 mg/mL的对照品溶液。按2015年版《中国药典(一部)》通则0502 TLC法<sup>[8]284</sup>, 取对照品溶液、对照药材溶液各3 μL, 供试品溶液、阴性对照品溶液各6 μL, 依次点样, 以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(10:0.5:0.5:1, V/V/V/V)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以2%香草醛硫酸溶液, 晾干至斑点显色清晰。结果供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液、对照药材溶液色谱对应位置显相同颜色的斑点, 且阴性对照无干扰。详见图1 B。

大黄: 取本品内容物7 g, 置50 mL具塞锥形瓶中, 加甲醇30 mL, 超声(功率为300 W, 频率为50 kHz)处理30 min, 滤过, 取5 mL, 滤液水浴蒸干, 加10 mL水、1 mL盐酸溶液溶解残留物, 加热回流30 min后放至室温, 加20 mL乙醚提取2次, 合并2次提取液, 水浴蒸干, 加



1. 对照品溶液 2. 对照药材溶液 3-5. 供试品溶液 6. 阴性对照品溶液  
A. 土茯苓(365 nm) B. 栀子(日光) C. 大黄(365 nm) D. 茯苓(365 nm) E. 莱菔子(365 nm) F. 葛根(365 nm)

图1 薄层色谱图

1. Reference solution 2. Reference medicinal material solution 3-5. Test solution 6. Negative reference solution  
A. Smilacis Glabrae Rhizoma (365 nm) B. Gardeniae Fructus (sunlight) C. Rhei Radix et Rhizoma (365 nm) D. Poria (365 nm) E. Raphani Semen (365 nm) F. Puerariae Lobatae Radix (365 nm)

Fig. 1 TLC chromatograms

2 mL三氯甲烷溶解残留物,即得供试品溶液。取大黄对照药材,按供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。取除大黄以外的其他药材,按处方工艺和供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。取大黄酚对照品,加甲醇制成质量浓度为1 mg/mL的对照品溶液。按2015年版《中国药典(一部)》通则0502 TLC法<sup>[8]24</sup>,取对照药材溶液、对照品溶液各4  $\mu$ L,供试品溶液、阴性对照品溶液各6  $\mu$ L,依次点样,用石油醚(30~60  $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1, V/V/V)上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液、对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 C。

茯苓:取本品内容物3 g,置100 mL具塞锥形瓶中,加70%乙醇50 mL,超声处理(功率为300 W,频率为50 kHz)10 min,滤过,滤液蒸干,加2 mL甲醇溶解残留物,即得供试品溶液。取茯苓对照药材,按供试品溶液制备方法制备茯苓对照药材溶液。取除茯苓以外的其他药材,按处方工艺和供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按2015年版《中国药典(一部)》通则0502 TLC法<sup>[8]251</sup>,取对照药材溶液5  $\mu$ L,供试品溶液、阴性对照品溶液各10  $\mu$ L,依次点样,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(20:5:0.5, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相对应位置显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰。详见图1 D。

莱菔子:取本品内容物3 g,置100 mL具塞锥形瓶中,加乙醚60 mL,加热回流60 min,挥去乙醚,加20 mL甲醇溶液,加热回流60 min,滤过,蒸干,加2 mL甲醇溶解残渣,即得供试品溶液。取莱菔子对照药材,按供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。取除莱菔子以外的其他药材,按处方工艺和供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。取芥子碱硫氰酸盐对照品,加甲醇制

成质量浓度为1 mg/mL的对照品。按2015年版《中国药典(一部)》通则0502 TLC法<sup>[8]284</sup>,取对照品溶液、对照药材溶液各5  $\mu$ L,供试品、阴性对照品溶液各10  $\mu$ L,依次点样,以乙酸乙酯-甲酸-水(10:2:3, V/V/V)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液、对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 E。

葛根:取本品内容物3 g,加甲醇25 mL,超声(功率为300 W,频率为50 kHz)处理20 min,滤过,蒸干,残渣加甲醇2 mL使溶解,即得供试品溶液。取葛根对照药材,按供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。取除葛根以外的其他药材,按处方工艺和供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。取葛根素对照品,加甲醇制成质量浓度为1 mg/mL的对照品溶液。按2015年版《中国药典(一部)》通则0502 TLC法<sup>[8]347</sup>,取对照品溶液、对照药材溶液各5  $\mu$ L,供试品溶液、阴性对照品溶液各10  $\mu$ L,依次点样,以二氯甲烷-甲醇-水(7:2.5:0.25, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液、对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 F。

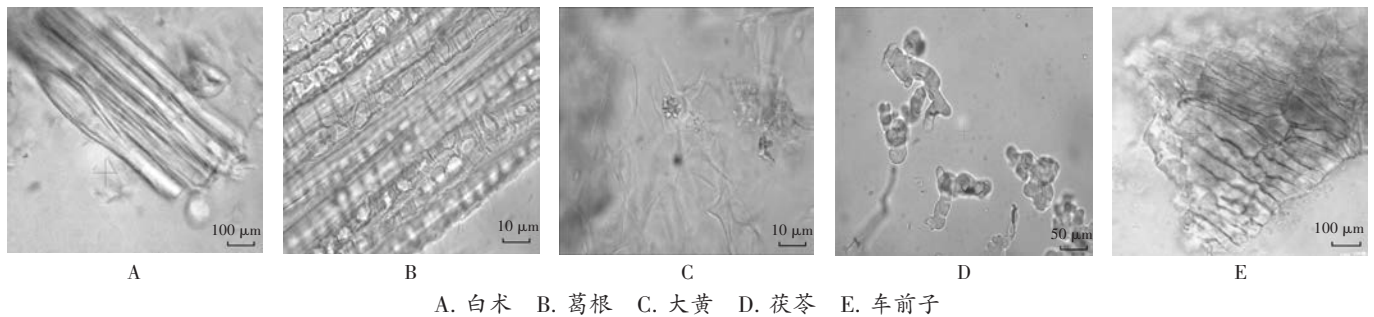
## 2.2 显微鉴别

取胶囊内容物适量,研成粉末,经水合氯醛透化,加稀甘油1滴、间苯三酚1滴,几分钟后加浓硫酸1滴,经显微鉴别其特征性结构。可见,药物粉末纤维木化,呈长梭形,黄色,多成束(白术),草酸钙方晶(葛根),草酸钙簇晶(大黄),不规则颗粒状团块(茯苓),种皮内表皮细胞类长方形(车前子)。详见图2。

## 2.3 栀子苷含量测定

### 2.3.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Cosmosil C<sub>18</sub>柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m);

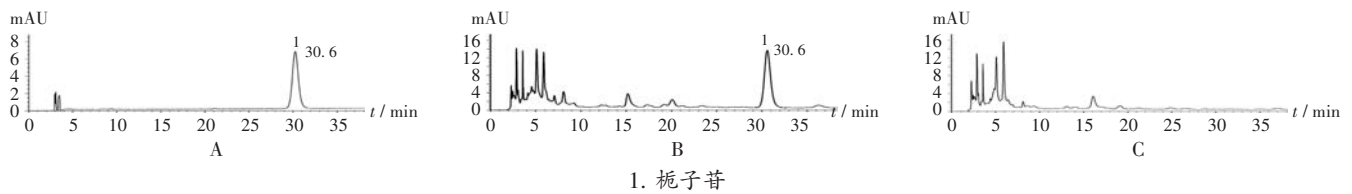


A. 白术 B. 葛根 C. 大黄 D. 茯苓 E. 车前子

图2 显微鉴别特征(×100)

A. Atractylodis Macrocephalae Rhizoma B. Puerariae Lobatae Radix C. Rhei Radix et Rhizoma D. Poria E. Plantaginis Semen

Fig. 2 Microscopic identification characteristics(×100)



1. 栀子苷

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图3 系统适用性试验高效液相色谱图

1. Geniposide

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 3 HPLC chromatograms of the system suitability test

流动相:乙腈-水(9:91, V/V);流速:1 mL/min;柱温:35℃;检测波长:238 nm;进样量:10 μL。理论板数按栀子苷峰计应不低于2 000。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰出现,且阴性对照无干扰。色谱图见图3。

### 2.3.2 溶液制备

取对照品8.652 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,制成栀子苷质量浓度为0.865 2 mg/mL的对照品贮备液;取2.5 mL置10 mL量瓶中,加甲醇至刻度,即得质量浓度为0.216 3 mg/mL的对照品溶液。取胶囊内容物,研成粉末,取粉末0.5 g,精密称定,置50 mL容量瓶中,加甲醇适量,超声处理15 min,冷却,加甲醇稀释并定容,混匀,吸取上层澄清溶液,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按处方工艺取缺栀子药材的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

### 2.3.3 方法学考察

线性关系考察:精密量取质量浓度为0.865 2 mg/mL的对照品溶液5 mL,置25 mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,得栀子苷质量浓度为173.04 μg/mL的溶液。分别精密吸取对照品溶液0.5,1.0,2.0,4.0,5.0 mL,置10 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,充分混匀。分别精密量取上述溶液10 μL,按2.3.1项下色谱条件进样分析。以质量浓度(X, μg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进

行线性回归,得回归方程 $Y = 14.125X + 7.1126$  ( $r = 0.9996, n = 5$ )。结果表明,栀子苷质量浓度在8.652~173.040 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取栀子苷对照品溶液,按2.3.1项下色谱条件进样分析6次。结果峰面积的RSD小于0.66% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取同一批(批号为190102)样品,研细,取0.5 g,精密称定,共6份,依法制备供试品溶液,按2.3.1项下色谱条件进样分析,计算栀子苷的含量。结果栀子苷的平均质量浓度为1.69 mg/g, RSD小于2.13% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取同一批(批号为190102)样品,依法制备供试品溶液,按2.3.1项下色谱条件分别于0,3,6,12,18,24 h时进样分析,记录峰面积。结果峰面积的RSD为1.34% ( $n = 6$ ),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

加样回收试验:采用标准加入法,取重复性试验项下样品粉末0.25 g(栀子苷含量为3.289 mg/g),精密称定,共6份。按样品含量的100%加入栀子苷对照品溶液,依法制备供试品溶液,按2.3.1项下色谱条件进样测定,计算回收率。结果见表1。

### 2.3.4 样品含量测定

取10批样品,依法制备供试品溶液,按2.3.1项下色谱条件平行检测3次,各批样品中栀子苷平均含量为3.292 mg/g。结果见表2。制剂中指标性成分的含量

按80%设限<sup>[9]</sup>,初步拟订消渴健脾胶囊中栀子苷的平均含量不得少于2.633 mg/g,各批样品含量均符合要求。

表1 栀子苷加样回收试验结果( $n=6$ )

Tab. 1 Results of the recovery rate of geniposide( $n=6$ )

| 取样量(g)  | 样品含量(mg) | 加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) | $\bar{X}$ (%) | RSD(%) |
|---------|----------|---------|---------|--------|---------------|--------|
| 0.250 1 | 0.822 5  | 0.865 2 | 1.685 6 | 99.76  | 100.15        | 2.02   |
| 0.250 3 | 0.823 2  | 0.865 2 | 1.688 0 | 99.95  |               |        |
| 0.250 6 | 0.824 3  | 0.865 2 | 1.695 1 | 100.65 |               |        |
| 0.251 6 | 0.827 5  | 0.865 2 | 1.692 1 | 99.93  |               |        |
| 0.252 3 | 0.829 8  | 0.865 2 | 1.725 0 | 103.47 |               |        |
| 0.249 6 | 0.820 9  | 0.865 2 | 1.661 5 | 97.16  |               |        |

表2 样品含量测定结果(mg/g, $n=3$ )

Tab. 2 Results of the content determination of geniposide in the samples(mg/g, $n=3$ )

| 批号     | 含量    | 批号     | 含量    |
|--------|-------|--------|-------|
| 190102 | 3.289 | 180424 | 3.296 |
| 190103 | 3.323 | 180425 | 3.268 |
| 190104 | 3.298 | 180426 | 3.329 |
| 180422 | 3.258 | 180427 | 3.287 |
| 180423 | 3.252 | 180428 | 3.321 |

### 3 讨论

#### 3.1 TLC 鉴别条件选择

本研究中对消渴健脾胶囊中大黄、莱菔子等6味药材进行了鉴别,所建立的TLC方法显色清楚,分离良好,专属性较强,无明显拖尾,阴性对照无干扰,能快速实现对各药材的鉴别。土茯苓、莱菔子的鉴定采用了2015年版《国家药典(一部)》收录的方法。栀子的鉴别参考文献[10-11],以甲醇作溶剂,栀子苷的提取率较高;以乙酸乙酯-甲酸-乙酸-纯水(10:0.5:0.5:1, V/V/V/V)为展开剂展开,比移值适中且分离度良好。茯苓鉴别参考文献[12],以75%乙醇处理样品,杂质较少,可排除干扰因素,调整展开条件<sup>[13]</sup>为石油醚(60~90℃)-乙醚(1:1, V/V),分离效果较好。大黄的鉴别以大黄酚为对照品,结果供试品溶液、对照品溶液斑点清晰,指标性成分分离良好。葛根展开条件、显色条件参考文献[14-15],将展开剂三氯甲烷-甲醇-水更改为二氯甲烷,并更改各相比比例。因三氯甲烷属危险化学品,具有致癌可能,综合考虑后选择二氯甲烷-甲醇-水作为展开剂。

#### 3.2 色谱条件和提取条件选择

消渴健脾胶囊成分复杂,干扰多。故考察了不同流动相[甲醇-0.2%磷酸水溶液<sup>[16]</sup>、甲醇-水(30:70, V/V)<sup>[17]</sup>、乙腈-水(13:87, V/V)<sup>[18]</sup>和乙腈-水(9:91, V/V)]的洗脱状况,考察指标定为色谱峰的峰形和分离度。采用乙腈-水(9:91, V/V)流动相洗脱时,栀子苷色

谱峰分离度大于1.5,对称性良好,故流动相选用此系统。分别考察了超声波处理和加热冷凝回流处理样品,发现超声处理操作简便,栀子苷的提取率更高,故选择超声处理。

#### 3.3 方法评价

本研究中所建立的方法操作简单,重复性好,结果准确,可用于控制消渴健脾胶囊的质量。

#### 参考文献

- [1] 肖艳,王冬云,许公平. 消渴健脾胶囊对乌鲁木齐市维吾尔族 IGT 患者作用的观察[J]. 新疆中医药,2007,25(4):24-25.
- [2] 李娜,贺红梅,王齐有,等. 消渴健脾胶囊治疗肥胖痰湿型 2 型糖尿病 40 例临床观察[J]. 湖南中医杂志,2017,33(5):4-6.
- [3] 马丹,邓德强,张亚琼,等. 消渴健脾胶囊对脾虚湿盛型 2 型糖尿病胰岛  $\beta$  细胞功能的影响[J]. 世界中西医结合杂志,2019,14(10):1333-1335.
- [4] 贺红梅,李凯利. 消渴健脾胶囊对维吾尔族 2 型糖尿病患者痰湿体质的干预研究[J]. 临床合理用药杂志,2014,7(12):115-117.
- [5] 徐兴燕,许丽丽,于雅萌,等. 山东省医疗机构中药制剂质量标准现状 & 标准提高问题分析[J]. 药学研究,2021,40(2):134-137.
- [6] 肖小华,徐丽瑛,王丽华,等. 栀子降血糖有效成分及机制研究[J]. 时珍国医国药,2014,25(11):2614-2616.
- [7] 姚冬冬,舒雯,杨蕾,等. 栀子苷降糖作用及相关机制研究[J]. 中草药,2014,45(8):1121-1125.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015.
- [9] 孔燕,王健. 益气通脉胶囊质量标准的研究[J]. 中成药,2019,41(3):516-521.
- [10] 郭时金,邓旭明,沈志强. 清瘟败毒颗粒中栀子苷和菝葜皂苷元的薄层鉴别[J]. 黑龙江畜牧兽医,2013(9):125-126.
- [11] 郑珊. 中药抗炎制剂的研发[D]. 重庆:西南大学,2015.
- [12] 刘玉明,蒋玉虎,张海滨. 小儿清肺颗粒质量标准研究[J]. 中药新药与临床药理,2014,25(5):610-614.
- [13] 杨亮,曾真,李正胜,等. 尿毒营养合剂质量标准研究[J]. 中国药业,2021,30(6):54-57.
- [14] 侯彦婕,林建翠,花卉,等. 参芪降糖颗粒提取工艺的优化及定性鉴别[J]. 食品安全质量检测学报,2021,12(5):1982-1986.
- [15] 黄晓婧,肖春霞,王欣,等. 风寒感冒颗粒质量标准的建立[J]. 中国药师,2021,24(1):188-193.
- [16] 唐德智. HPLC 同时测定玉叶金花清热片中 3 种有效成分的含量[J]. 中国现代应用药学,2015,32(4):486-489.
- [17] 朱慧慧,白岩. 栀子花中栀子苷的提取与测定[J]. 浙江中医杂志,2018,53(7):543-544.
- [18] 曲琰,贾天柱. HPLC 法测定椴刺人參中人参皂苷  $R_{g1}$ 、 $R_e$ 、 $R_{b1}$  和栀子苷的含量[J]. 中国药房,2016,27(24):3449-3452.

(收稿日期:2021-05-10;修回日期:2021-07-29)