

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2023)13-0091-05

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.13.020



## 通脉降浊颗粒质量标准研究\*

张贺廷<sup>1</sup>, 李磊<sup>1△</sup>, 杨永<sup>2</sup>, 王洪强<sup>3</sup>, 丁小凡<sup>1</sup>

(1. 安徽省阜阳市中医医院, 安徽 阜阳 236025; 2. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012; 3. 安徽省阜阳市食品药品检验检测中心, 安徽 阜阳 236069)

**摘要:**目的 建立通脉降浊颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱法对制剂中丹参、决明子、姜黄进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定丹参主要成分丹酚酸 B 的含量,色谱柱为 Thermo Scientific Hypersil GOLD C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1% 磷酸溶液(23:77, V/V),流速为 1.0 mL/min,柱温为 30 ℃,检测波长为 286 nm,进样量为 10 μL。结果 丹参、决明子、姜黄的薄层色谱斑点清晰,阴性对照无干扰。丹酚酸 B 进样量在 0.081 25~2.600 00 μg 范围内与峰面积积分值线性关系良好( $r=0.999\ 9$ ,  $n=6$ );精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2%;平均加样回收率为 99.10%,RSD 为 1.45%( $n=6$ )。结论 该方法可用于通脉降浊颗粒的质量控制。

**关键词:** 通脉降浊颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;丹酚酸 B;质量标准

### Quality Standard of Tongmai Jiangzhuo Granules

ZHANG Heting<sup>1</sup>, LI Lei<sup>1</sup>, YANG Yong<sup>2</sup>, WANG Hongqiang<sup>3</sup>, DING Xiaofan<sup>1</sup>

(1. Fuyang Hospital of TCM, Fuyang, Anhui, China 236025; 2. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui, China 230012; 3. Fuyang Institutes for Food and Drug Control, Fuyang, Anhui, China 236069)

**Abstract: Objective** To establish the quality standard of Tongmai Jiangzhuo Granules. **Methods** Thin-layer chromatography (TLC) method was used for the qualitative identification of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, *Cassiae Semen* and *Curcumae Longae Rhizoma* in Tongmai Jiangzhuo Granules. High-performance liquid chromatography (HPLC) method was used for the content determination of the main component salvianolic acid B in *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, the chromatographic column was Thermo Scientific Hypersil GOLD C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (23 : 77, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 30 ℃, the detection wavelength was 286 nm, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC spots of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, *Cassiae Semen* and *Curcumae Longae Rhizoma* were clear, and the negative control had no interference. The linear range of salvianolic acid B was 0.081 25 - 2.600 00 μg ( $r=0.999\ 9$ ,  $n=6$ ). The RSDs of precision, stability, and repeatability tests were all lower than 2%. The average recovery of salvianolic acid B was 99.10% with an RSD of 1.45% ( $n=6$ ). **Conclusion** The method can be used for the quality control of Tongmai Jiangzhuo Granules.

**Key words:** Tongmai Jiangzhuo Granules; TLC; HPLC; salvianolic acid B; quality standard

通脉降浊颗粒由丹参、半夏、制首乌、山楂、决明子、苍术、胆南星、绞股蓝、姜黄等12味中药组方,具有活血化瘀、降浊祛湿、清热益肾功效,临床用于痰浊瘀阻所致眩晕、胸闷、乏力、口干口苦、肢体困重、舌苔黄腻或黄白相兼,有齿痕、瘀点,脉滑、弦等症。方中君药丹参活血化瘀、通经止痛、活血行气,为治疗血证的要药,治疗瘀阻心脉、胸痹心痛疗效较好<sup>[1]</sup>。现代药理学研究表明,丹参具有保护心血管、抗动脉粥样硬化、调血脂等作用<sup>[2-4]</sup>,所含丹酚酸 B 具有抗心肌缺血、抗氧化活性<sup>[5]</sup>及抑制千里光碱所致肝毒性等<sup>[6]</sup>。决明子有调血脂、保肝、明目功效<sup>[7]</sup>,其中的橙黄决明素是一种潜在的血管扩张剂<sup>[8]</sup>,热裂解酶水解物具有抗高血压作用<sup>[9]</sup>。

姜黄、山楂具有活血化瘀、行气温中功效,姜黄中的姜黄素具有调血脂、抗氧化功效<sup>[10]</sup>。苍术、决明子、绞股蓝、胆南星、干姜、黄连具有化湿健脾、降浊祛痰等功效,绞股蓝有较强的调血脂作用<sup>[11-12]</sup>,黄连中的活性物质小檗碱、黄连素等具有较强的降血压、调脂、抗炎活性,还有诱导血管扩张的作用<sup>[13]</sup>;胆南星中的活性物质有胆汁酸、黄酮等,有保护肝功能的作用<sup>[14]</sup>;干姜主要活性物质6-姜酚等物质具有抗炎、降压功效,以上药物均为臣药。制首乌清热益肾,杜仲具有补肝肾、养筋骨、降血压功效,均为佐药。为了有效控制通脉降浊颗粒的质量,本研究中采用薄层色谱(TLC)法对方中丹参、决明子、姜黄进行定性鉴别,采用高效液相色谱

\*基金项目:安徽省阜阳市卫生健康委员会科研课题[FY2019-078]。

第一作者:张贺廷,男,硕士研究生,主管药师,研究方向为中药制剂质量评价,(电子信箱)634464393@qq.com。

△通信作者:李磊,男,大学本科,副主任中药师,研究方向为中药制剂,(电子信箱)fzyzyy@163.com。

(HPLC)法测定丹参中丹酚酸B的含量,为其质量标准的建立提供参考。现报道如下。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

LC-10AT型高效液相色谱仪(日本岛津公司),配有SPD-10A型检测器;Scanner-3型薄层扫描仪(瑞士Camag公司);ME55型分析天平(梅特勒-托利多有限公司,精度为十万分之一);JK-DY300型超声波清洗器(合肥金克尼机械制造有限公司,功率为300 W,频率为40 kHz)。

### 1.2 试剂

丹参对照药材(批号为120923-201816),决明子对照药材(批号为121011-201506),姜黄对照药材(121188-201605),丹酚酸B对照品(批号为111562-201916,纯度为96.6%),均购自中国食品药品检定研究院;通脉降浊颗粒(医院制剂,批号分别为20200513, 20200514, 20200515, 20200601, 20200602, 20200603);乙腈为色谱纯,甲醇、乙醇为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC鉴别

丹参<sup>[15-17]</sup>:取样品(批号为20200513)5 g,研细,加入30 mL乙醇超声处理30 min,滤过,滤液浓缩至1 mL,作为供试品溶液。按处方工艺制备缺丹参的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。另取丹参对照药材0.5 g,加10 mL乙醇,按供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。取丹酚酸B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。照2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验,吸取上述4种溶液各2  $\mu$ L,分别点于同一硅胶GF<sub>254</sub>薄层板上,以三氯甲烷-甲苯-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(3:2:4:2:0.5, 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。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液和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。

决明子<sup>[18-19]</sup>:取样品(批号为20200513)5 g,研细,加30 mL甲醇,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,加水20 mL使溶解,用盐酸调pH至2,加乙酸乙酯萃取2次,每次20 mL,合并有机相,挥干,加1 mL乙酸乙酯使溶解,作为供试品溶液。按处方工艺制备缺决明子的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。另取决明子对照药材1 g,按供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。照2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验,吸取上述3种溶液各2  $\mu$ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯-甲酸(15:2:0.2, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与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 B。

姜黄<sup>[20-22]</sup>:按丹参TLC鉴别项下方法制备供试品溶液。按处方工艺制备缺姜黄的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。另取姜黄对照药材0.5 g,按供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。照2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验,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-甲酸(96:4:0.7, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与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。

### 2.2 丹酚酸B含量测定

#### 2.2.1 色谱条件<sup>[23-24]</sup>与系统适用性试验

色谱柱:Thermo Scientific Hypersil GOLD C<sub>18</sub>柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:乙腈-0.1%磷酸

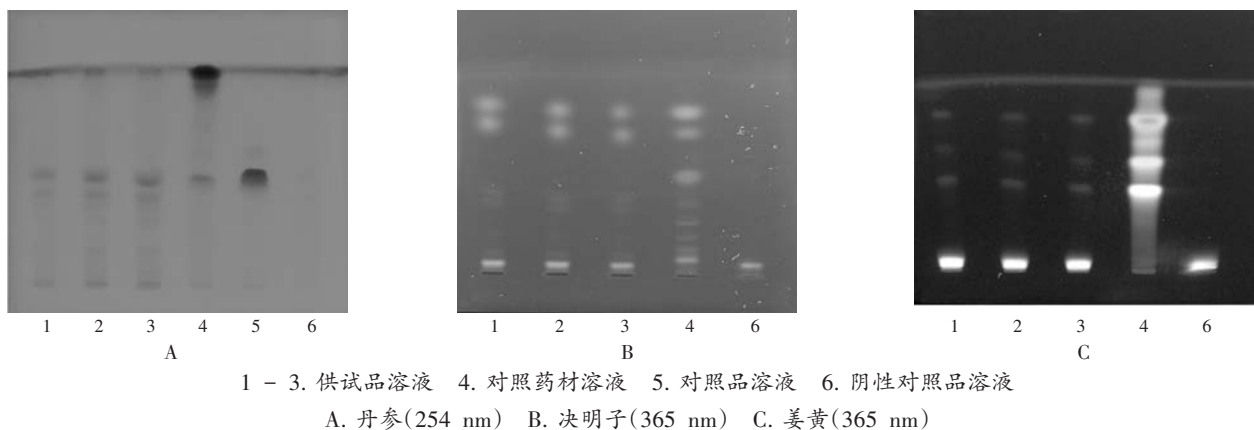


图1 薄层色谱图

1-3. Test solution 4. Reference medicinal material solution 5. Reference solution 6. Negative reference solution  
A. Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma (254 nm) B. Cassiae Semen (365 nm) C. Curcumae Longae Rhizoma (365 nm)

Fig. 1 TLC chromatograms

溶液(23:77,  $V/V$ );流速:1.0 mL/min;柱温:30℃;检测波长:286 nm;进样量:10  $\mu$ L。理论板数按丹酚酸B峰计应大于3 000。

2.2.2 溶液制备

取丹酚酸B对照品16.25 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加75%甲醇定容,制成质量浓度为0.162 5 mg/mL的对照品溶液。取装量差异项下的样品,研细,取2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入75%甲醇50 mL,密塞,称定质量,加热回流30 min,放冷,再称定质量,用75%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,0.45  $\mu$ m微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。按处方工艺制备缺丹参的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:取2.2.2项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各10  $\mu$ L,按2.2.1项下色谱条件进样测定。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吸收峰,且丹酚酸B分离度及拖尾因子均符合要求,阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。色谱图见图2。

线性关系考察:精密量取2.2.2项下丹酚酸B对照品溶液0.5,1,2,4,8,16  $\mu$ L,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量( $X$ ,  $\mu$ g)为横坐标、峰面积积分值( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 10\,988X + 28\,600$  ( $r = 0.999\,9$ ,  $n = 6$ )。结果表明,丹酚酸B进样量在0.081 25~2.600 00  $\mu$ g范围内与峰面积积分值线性关系良好。

精密度试验:精密量取2.2.2项下对照品溶液(质量浓度为40.72  $\mu$ g/mL),按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果丹酚酸B峰面积的RSD为0.66% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(批号为20200513)适量,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,分别于0,4,8,12,24 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果丹酚酸B峰面积的RSD为0.24% ( $n = 5$ ),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

重复性试验:取同一批(批号为20200513)样品6份,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果丹酚酸B平均含量为1.35 mg/g, RSD为1.97% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取同一批(批号为20200513)样品6份,每份1.0 g,精密称定,分别加入丹酚酸B(质量浓度为40.72  $\mu$ g/mL)对照品溶液50 mL,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果( $n = 6$ )

| Tab. 1 Results of the recovery test ( $n = 6$ ) |          |         |         |        |               |        |
|-------------------------------------------------|----------|---------|---------|--------|---------------|--------|
| 取样量(g)                                          | 样品含量(mg) | 加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) | $\bar{X}$ (%) | RSD(%) |
| 1.06                                            | 1.35     | 2.04    | 3.37    | 99.02  | 99.10         | 1.45   |
| 1.00                                            | 1.28     | 2.04    | 3.27    | 97.55  |               |        |
| 0.93                                            | 1.19     | 2.04    | 3.25    | 100.98 |               |        |
| 1.10                                            | 1.40     | 2.04    | 3.45    | 100.49 |               |        |
| 1.05                                            | 1.34     | 2.04    | 3.33    | 97.55  |               |        |
| 0.81                                            | 1.03     | 2.04    | 3.05    | 99.02  |               |        |

2.2.4 样品含量测定与含量限度

含量测定:取6批(批号分别为20200513, 20200514, 20200515, 20200601, 20200602, 20200603)样品,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,并计算含量。结果6批样品中丹酚酸B含量分别为每袋18.62, 19.18, 20.30, 13.44, 12.87, 14.70 mg。

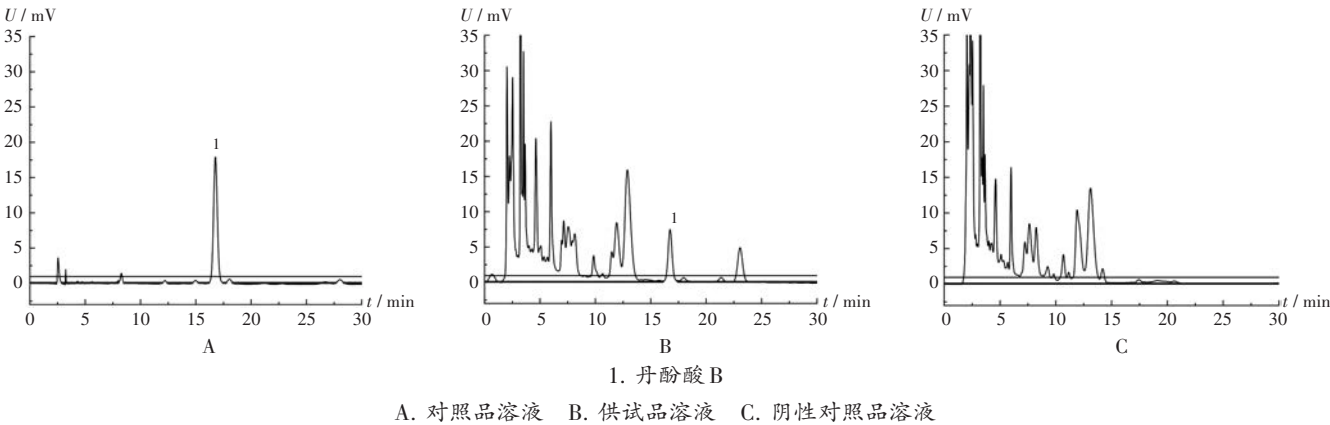


图2 高效液相色谱图

1. Salvianolic acid B

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

Fig. 2 HPLC chromatograms

含量限度:根据2020年版《中国药典(一部)》记载,由丹参中丹酚酸B(丹酚酸B含量不低于3.0%)含量计算通脉降浊颗粒中丹酚酸B最低理论值为每袋28.14 mg,以水煎液中转移率最低32%计算,丹酚酸B含量每袋不低于9.0 mg。考虑到丹酚酸B在水中的溶解度及实际生产中可能的损耗及药材批次间的差异,结合实际测量值,最终拟订每袋含丹参以丹酚酸B含量计不少于10.0 mg。

### 3 讨论

#### 3.1 TLC鉴别

在对通脉降浊颗粒中12种主要物质进行TLC鉴别发现,通脉降浊颗粒中姜黄、决明子、丹参药材的TLC斑点清晰,阴性对照无干扰。但颗粒中苍术的TLC鉴别结果显示,薄层色谱对应位置无苍术对应TLC斑点。查阅文献[25-26]发现,苍术中主要TLC鉴别物质苍术素在高温加热过程中易挥发,在TLC鉴别过程中会有斑点不清晰或无斑点的情况。本研究中通过优化苍术TLC鉴别方法,仍未能检测到其TLC斑点。考虑到我院制剂室中药颗粒剂提取设备采用蒸汽发生器供气,设备功率较小,提取浓缩过程耗时较长,该制剂在制备过程中经高温水煮后可能导致苍术中苍术素及其他药材中挥发油类、水溶性物质挥发或分解,从而导致TLC斑点不清晰或无斑点。

对颗粒剂中山楂、绞股蓝、苍术、胆南星、杜仲、干姜、姜半夏、制首乌等其余药材进行TLC鉴别,发现前6种药材分离效果较差,且斑点不清晰;制首乌TLC鉴别中,阴性样品存在一定干扰,在改变展开剂后仍不能排除阴性干扰,故暂未列入质量标准。

#### 3.2 提取方法选择

本研究中考察了加热回流提取与超声提取对通脉降浊颗粒中丹酚酸B含量的影响,结果丹酚酸B含量分别为1.32, 1.13 mg/g,故最终选择加热回流提取。同时,考察了不同提取溶剂(75%甲醇、50%甲醇、100%甲醇)及不同取样量对通脉降浊颗粒中丹酚酸B含量的影响,结果显示,以75%甲醇为提取溶剂时含量最高,取样量为1.5~2.5 g时含量差异不明显。故最终确定2.2.2项下样品处理方法。

#### 3.3 质量控制

中药制剂处方药味较多,其活性物质相对丰富,很难用一种成分衡量其临床疗效,在制订其质量标准中应用一种或几种物质也不能完全代表该处方的质量标准。结合中药传统的煎煮方法与临床实际疗效,在对其工艺研究与质量标准制订中考察加水量、煎煮时间与煎煮次数,并结合实际生产情况进行制订。本制剂在质量控制中以君药丹参的活性物质为指标,丹参的活性物质包括脂溶性成分隐丹参酮、丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>及水溶性成

分酚酸类如丹酚酸B、丹参素等,考虑到本制剂以水为溶剂提取,故在质量控制中以水溶性成分相对较稳定的丹酚酸B为主要指标考察<sup>[27]</sup>。

#### 3.4 方法评价

本研究中建立的定性、定量方法简便易行、专属性强、准确度高、重复性好,可用于通脉降浊颗粒的质量控制。

#### 参考文献

- [1] 刘 硕,贾树培. 贾树培教授以益气养阴化痰法治疗冠心病心绞痛经验[J]. 中西医结合心血管病电子杂志,2019,7(29):4-5.
- [2] 万新焕,王瑜亮,周长征,等. 丹参化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中草药,2020,51(3):788-798.
- [3] 李庆菊,潘韵铮,张 琦,等. 丹酚酸B调节SIRT1信号途径抑制H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的NLRP3炎症小体激活[J]. 中药新药与临床药理,2021,32(5):604-611.
- [4] 陈 路,胡何节,方征东,等. 丹酚酸B通过JAK2/STAT3信号通路抑制大鼠胸主动脉瘤的机制研究[J]. 中药材,2021,44(8):1971-1975.
- [5] 周 欢,王冬梅,路 勇,等. 丹酚酸B通过Nrf2通路改善CCl<sub>4</sub>介导的大鼠肾损伤[J]. 皖南医学院学报,2021,40(5):413-416.
- [6] 叶铨玲,姜凯元,杨 莉,等. 丹酚酸B对千里光碱致小鼠肝损伤的保护作用[J]. 药学报,2021,56(4):1079-1085.
- [7] 杨 冰,任 娟,秦昆明,等. 决明子药理作用及其机制研究进展[J]. 中药材,2018,41(5):1247-1251.
- [8] LI S, LI Q, LV X, et al. Aurantio-obtusin relaxes systemic arteries through endothelial PI3K/AKT/ENOS-dependent signaling pathway in rats [J]. J Pharmacol Sci, 2015, 128(3): 108-115.
- [9] SHIH YH, CHEN FA, WANG LF, et al. Discovery and study of novel antihypertensive peptides derived from *Cassia obtusifolia* seeds [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(28):7810-7820.
- [10] NELSON KM, DAHLIN JL, BISSON J, et al. The essential medicinal chemistry of curcumin [J]. J Med Chem, 2017, 60(5): 1620-1637.
- [11] 徐世明,高 海,彭 勇. 一种绞股蓝皂苷XLIX的提取方法和治疗糖尿病和高血脂症的药物:CN11349135A[P]. 2020-06-30.
- [12] 曾 迪,周昌园,龙 健,等. 基于脂质组学的绞股蓝总苷调血脂作用研究[J]. 中草药,2023,54(4):1149-1156.
- [13] KO WH, YAO XQ, LAU CW, et al. Vasorelaxant and antiproliferative effects of berberine [J]. Eur J Pharmacol, 2000, 399:187.
- [14] 史丛晶,邓雅方,张志宏,等. 胆南星对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用及机制研究[J]. 中国药房,2022,33(23):2835-2839.
- [15] 张小华,马新换,杨春霞,等. 佛手化癥胶囊的显微和薄层色谱鉴别研究[J]. 甘肃中医药大学学报,2019,36(4):26-29.
- [16] 杨仁耐,吴红燕,李慧媛,等. 柴萼宁肺颗粒质量标准研究[J].