

# 消渴脂黏胶囊的质量控制和临床应用

樊本茜<sup>1</sup>, 马昆<sup>2</sup> (1. 天津中医药大学第一附属医院制剂室, 天津 300193; 2. 天津市石天药业有限责任公司, 天津 300385)

**摘要:**目的 研究消渴脂黏胶囊的质量控制方法并进行临床疗效观察。方法 采用 TLC法对消渴脂黏胶囊中丹参进行定性鉴别;采用高效液相-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD)法测定了方中黄芪甲苷的含量。采用比较法进行临床疗效观察。结果 在 TLC法中能检出丹参,黄芪甲苷在  $0.0915 \sim 0.915 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  内线性关系良好,平均回收率为 98.7%, RSD为 1.29%。本制剂应用于 2型糖尿病总有效率为 86.6%。结论 该方法可准确地进行定性、定量检测。本制剂疗效确切,可应用于临床。

**关键词:**消渴脂黏胶囊;黄芪甲苷;HPLC-ELSD; II 型糖尿病

中图分类号: R285.6; R286 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)05-0463-03

## Quality Control and Clinical Application of Xiaoke Zhinian Capsules

FAN Ben-qian<sup>1</sup>, MA Kun<sup>2</sup> (1. The First Teaching Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China; 2. Tianjin Shitian Medicines Group Co., Ltd., Tianjin 300385, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study the method of quality control and application of Xiaoke Zhinian capsules. **METHODS** The Radix salviae miltiorrhizae in Xiaoke Zhinian capsules was distinguished by TLC. The Astragaloside IV was determined by HPLC-ELSD. The clinical effect was observed in method of comparison. **RESULTS** The Radix salviae miltiorrhizae could be distinguished by TLC. Astragaloside IV showed good linear relationship in range of  $0.0915 \sim 0.915 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ,  $r = 0.9995$ , the average recovery was 98.7% with RSD 1.29%. In patients with type-II diabetes, the total efficiency rate was 86.6%. **CONCLUSION** The methods could be used in quantitative and qualitative determination exactly. The clinical effect was reliable.

**KEY WORDS:** Xiaoke Zhinian capsules; Astragaloside IV; HPLC-ELSD; type-II diabetes

消渴脂黏胶囊为我院根据多年临床研究,在治疗消渴症的传统方剂“玉泉丸”基础上加减化裁得到,具益气滋阴,生津降糖,活血化瘀之功,主治 2型糖尿病。为控制本制剂的内在质量,对方中丹参进行了薄层鉴别,并采用 HPLC-ELSD 法测定黄芪甲苷的含量。本制剂经临床验证疗效确切。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

高效液相色谱-蒸发光散射器 softa corporation (ELSD Model 200), Ezchrom Elite System Component 工作站; DI01 型大孔吸附树脂柱 (内径 1.5 cm, 长 11 cm); Irregular-H  $\text{C}_{18}$  柱 (250 mm  $\times$  4.6 mm, 20  $\mu\text{m}$ ); Lab Alliance Series III 型泵; AP-Model 2006B 型空气发生器; AG135 型电子分析天平。

#### 1.2 试剂

消渴脂黏胶囊 (由天津市石天药业有限责任公司提供); 黄芪甲苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 0781-200109); 原儿茶醛对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 813-9201); 乙腈为色谱纯 (天大光复精细化工研究所); 甲醇、正丁醇、甲苯 (天津市化学试剂三厂), 三氯甲烷、甲酸 (天津市医药公司), 氨水 (天津市文达稀贵试剂化工厂), 乙醚 (天津市医药公司), 无水乙醇、乙酸乙酯、(天津市化学试剂批发公司) 以上均为分析纯; 硅胶板 (烟台市化学工业研究

所); 水为重蒸馏水 (自制)。

#### 2 丹参的薄层鉴别

取本品内容物 6 g, 加水 20 mL 溶解, 加 80% 乙醇调含醇量至 60%, 放置 2 h, 滤过, 滤液温热挥至无醇味, 用乙醚提取 2 次, 每次 20 mL, 合并乙醚液, 挥干, 残渣加无水乙醇 0.5 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取原儿茶醛对照品, 加无水乙醇制成 1  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2005 版一部附录 VI B) 试验, 吸取供试品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 对照品溶液 4  $\mu\text{L}$ , 分别点于同一高效硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯-甲酸 (8:5:0.8) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置氨气中熏至斑点清晰, 日光下检视。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。

#### 3 黄芪甲苷的含量测定

##### 3.1 色谱条件

色谱柱: Irregular-H  $\text{C}_{18}$  (4.6 mm  $\times$  250 mm, 20  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 乙腈-水 (32:68); 进样量 10  $\mu\text{L}$ ; 室温; 流速: 1  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

##### 3.2 对照品溶液的制备

精密称取黄芪甲苷对照品适量, 加甲醇制成 0.915  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液, 作为对照品溶液。

##### 3.3 供试品溶液的制备

作者简介: 樊本茜, 女, 主管药师 Tel: 13672039807 E-mail: shitian\_fan@163.com

取本品内容物约 1.5 g,精密称定,置索氏提取器中,加甲醇 50 mL,加热回流 4 h,提取液回收溶剂并浓缩至干,残渣加水 10 mL,微热溶解,用水饱和正丁醇振摇提取 3 次,每次 20 mL,合并正丁醇,再用氨试液充分洗涤 3 次,每次 20 mL,弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣加水 5 mL 微热溶解,放冷,加入 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5 cm,长 11 cm),用水 50 mL 洗脱,弃去水液,再用 30%乙醇 50 mL 洗脱,弃去洗脱液,继用 70%乙醇 50 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,用甲醇溶解并转移至 2 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

3.4 线性关系考察

分别精密吸取对照品溶液(0.915 mg·mL<sup>-1</sup>)1.0,3.0,5.0,7.0,10.0 mL,至于 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为对照品溶液,在选定的色谱条件下测定黄芪甲苷,以峰面积的对数(X)与浓度的对数(Y)进行线性回归。得回归方程为 Y=0.674X-1.536 2, r=0.999 5(n=5)。表明黄芪甲苷对照品在 0.091 5~0.915 mg·mL<sup>-1</sup> 范围内,进样量与峰面积呈良好的线性关系。

3.5 重复进样精密度实验

取同一供试品溶液,重复进样 6 次,每次 10.0 μL,测定峰面积,得 RSD=1.75%(n=6)。结果表明,本方法进样精密度较好。

3.6 重复性实验

取同一批号样品,按供试品溶液制备方法制备 6 份供试液,分别吸取 10.0 μL 进样,测定峰面积,求得 RSD=1.88%(n=6)。表明本方法具有良好的重复性。

3.7 阴性对照实验

取缺黄芪的处方药材,按制备工艺制成缺黄芪的阴性制剂,照供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。分别吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液各 10.0 μL,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定。从色谱图中可以看出,方中其他成分在本测定条件下对黄芪甲苷的含量测定无干扰。

3.8 加样回收率实验

分别取已知含量的(0.667 5 mg·g<sup>-1</sup>)样品 6 份,每份约 0.75 g,精密称定,分别加入黄芪甲苷对照品 0.5 mL(浓度为 0.915 mg·mL<sup>-1</sup>),照供试品溶液制备方法制成供试品溶液,分别吸取供试品液各 10.0 μL,按上述色谱条件测定黄芪甲苷的含量,计算加样回收率<sup>[1]</sup>。结果表明,本实验测定方法回收率良好。结果见表 1。

表 1 黄芪甲苷加样回收率实验结果

| Tab 1 Recovery results of Astragaloside IV |            |         |       |         |       |
|--------------------------------------------|------------|---------|-------|---------|-------|
| 样品中黄芪甲苷的量/mg                               | 黄芪甲苷加入量/mg | 测得量/mg  | 回收率/% | 平均回收率/% | RSD/% |
| 0.500 5                                    | 0.457 5    | 0.952 1 | 98.7  |         |       |
| 0.500 6                                    | 0.457 5    | 0.947 1 | 97.6  |         |       |
| 0.501 2                                    | 0.457 5    | 0.950 0 | 98.1  | 98.7    | 1.29  |
| 0.500 3                                    | 0.457 5    | 0.956 9 | 99.8  |         |       |
| 0.500 8                                    | 0.457 5    | 0.946 4 | 97.4  |         |       |
| 0.500 9                                    | 0.457 5    | 0.961 1 | 100.6 |         |       |

3.9 含量测定

分别取不同批号的样品,按本方法的测定条件,分别测定各样品中黄芪甲苷的含量。结果见表 2。

表 2 黄芪甲苷含量测定结果

| Tab 2 Determination results of Astragaloside IV |                       |       |
|-------------------------------------------------|-----------------------|-------|
| 样品批号                                            | 含量/mg·g <sup>-1</sup> | RSD/% |
| 20060430                                        | 0.689 0               | 1.23  |
| 20060331                                        | 0.655 6               | 1.45  |
| 20060338                                        | 0.668 7               | 1.33  |

4 临床疗效

4.1 临床资料

所选病例,根据中华人民共和国卫生部药政司新药(中药)治疗消渴病(糖尿病)临床研究的技术指导原则,确定为 2 型糖尿病,共 56 例。随机分为治疗组 and 对照组。治疗组 30 例,其中男 13 例,女 16 例;年龄 32~65 岁,平均(44.6±5.78)岁;病程 1~7 年,平均(3.1±0.53)年;对照组 26 例,其中男 12 例,女 15 例,年龄 33~67 岁,平均(45.32±6.62)岁;病程 1~8 年,平均(3.75±0.61)年。两组均无严重的心、脑、肾等并发症,均无胰岛素治疗史,除外其他内分泌病史。两组患者性别、年龄、病程等资料经统计学均衡性检验,差异无显著性(P>0.05),具有可比性。

4.2 治疗方法

两组病例均于疗前 1 周,原则上停用任何降糖药物,检测各项实验室指标后,在要求其控制饮食的基础上,对治疗组投消渴脂黏胶囊,口服,一次 4~6 粒,一日 3 次。对照组投益气养阴为主的玉泉丸方,口服汤剂,每次 150 mL,日服 2 次。两组均以 2 个月为 1 疗程。

4.3 疗效评定标准

根据中药新药治疗消渴病(糖尿病)的临床研究指导原则。显效:治疗后症状基本消失,空腹血糖(FBG)≤6.1 mmol·L<sup>-1</sup>,餐后 2 h 血糖≤8.0 mmol·L<sup>-1</sup>,或血糖较治疗前下降 30%;有效:治疗后症状明显改善,空腹血糖≤7.0 mmol·L<sup>-1</sup>,或较疗前下降 20%,餐后 2 h 血糖≤10.1 mmol·L<sup>-1</sup>,或较疗前下降 20%;无效:治疗后症状无明显改善,血糖下降未达上述标准。

4.4 治疗结果

临床疗效按上述原则标准来判定,结果见表 3,治疗组总有效率明显优于对照组(P<0.05)。如表 4 所示,两组治疗后空腹血糖均有明显下降,以消渴脂黏汤组下降明显(P<0.01 \ P<0.001),对照组为(P<0.05 \ P<0.01),两组组间比较亦有显著差异(P<0.05),血清胆固醇消渴脂黏汤组治疗前后有显著差异(P<0.05),而对照组治疗前后无显著差异(P>0.05)。表明消渴脂黏汤不仅在降糖方面优于对照组,而且在降血脂方面亦显示了其优势。

5 讨论

从中医辨证分型理论来看,临床大部分糖尿病病人的证型属于气阴两虚,兼挟瘀浊,占病人总数的 74.66%<sup>[2]</sup>。治则

表 3 两组疗效比较

Tab 3 Comparison of curative effect of two groups

| 组别  | 显效率 /% | 有效率 /% | 无效率 /% | 总有效率 /%            |
|-----|--------|--------|--------|--------------------|
| 对照组 | 26.9   | 42.3   | 30.0   | 69.2               |
| 治疗组 | 63.3   | 23.7   | 13.3   | 86.6 <sup>1)</sup> |

注: <sup>1)</sup> 组间比较,  $P < 0.05$

Note: <sup>1)</sup> Comparison of two groups,  $P < 0.05$

表 4 两组治疗前后空腹血糖和胆固醇改变

Tab 4 Change of FBG and TG before/after treatment in two group

| 组别  | 治疗时间    | FBG /mmol·L <sup>-1</sup>   | TG /mmol·L <sup>-1</sup> |
|-----|---------|-----------------------------|--------------------------|
| 对照组 | 治疗前     | 10.98 ± 2.07                | 6.34 ± 0.42              |
|     | 疗后 2 个月 | 9.61 ± 0.77 <sup>1)</sup>   | 5.67 ± 0.41              |
|     | 疗后 3 个月 | 8.58 ± 1.88 <sup>2)</sup>   |                          |
| 治疗组 | 治疗前     | 11.16 ± 2.52                | 6.98 ± 1.1               |
|     | 疗后 2 个月 | 8.61 ± 1.08 <sup>2)4)</sup> | 5.30 ± 0.43              |
|     | 疗后 3 个月 | 6.89 ± 0.78 <sup>3)4)</sup> |                          |

注: 组内比较, <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ ; 组间比较, <sup>4)</sup>  $P < 0.05$

Note: Comparison of inner groups, <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ ;

Comparison of among groups, <sup>4)</sup>  $P < 0.05$

应益气养阴, 清热化瘀。本方谨守病机, 标本兼治, 具益气养

阴, 清热解毒, 活血化瘀之功。临床结果显示本方治疗后患者临床症状基本消失, 血糖血脂下降, 尤以乏力、口干等气阴不足症状改善极为明显, 可见本方切中病机, 行之有效。

本制剂中黄芪生炙并用, 补气生阳, 益卫固表, 尤健脾肺之气, 为君药。故选择黄芪甲苷作为指标性成分, 能够有效控制质量。本方法结果表明, 采用乙腈-水 (32:68) 为流动相分离效果良好, 且出峰保留时间适度。用 HPLC-ELSD 法测定克服了背景的干扰, 且结果准确。HPLC-ELSD 法操作简便, 且不受外界环境干扰, 试剂在检测中全部蒸发, 灵敏度、稳定性及重复性很好, 适用于黄芪及相关制剂中黄芪甲苷成分的检测。

## REFERENCES

- [1] Ch. P (2005) Vol II (中国药典 2005 年版, 一部) [S]. 2005: Addenda 144-145.
- [2] DING X P. The related study of pattern identification in Chinese medicine in non-insulin-dependent diabetes mellitus with glucagon and insulin sensitivity [J]. Shanghai J Tradit Chin Med (上海中医药杂志), 1999, (9): 18-20.

收稿日期: 2007-06-29