

## 通阻颗粒质量标准研究

王桂玲<sup>1</sup>, 顾政一<sup>2\*</sup>, 毛艳<sup>1,2</sup>, 杨伟俊<sup>2</sup>, 贺金华<sup>2</sup>

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002;

2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004)

[摘要] 目的:建立通阻颗粒质量标准。方法:采用薄层鉴别方法进行定性鉴别,运用高效液相色谱法测定芦荟苷含量。结果:确立了制剂中芦荟、甘草、诃子肉鉴别方法,通过方法学系统考察,建立了芦荟苷的含量测定方法,其芦荟苷的线性范围为 0.41~2.46 μg,回归方程  $Y = 12\ 704X + 48.84$  ( $r = 0.999\ 9$ ),平均加样回收率 96.39%,RSD 0.76% ( $n = 9$ )。结论:建立的鉴别和含量测定方法简便、准确、重复性好,适用于质量控制。

[关键词] 通阻颗粒; 芦荟苷; 薄层色谱; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)15-0089-03

[doi] 10.11653/syjf2013150089

## Studies on Quality Standard of Tongzu Granules

WANG Gui-ling<sup>1</sup>, GU Zheng-yi<sup>2\*</sup>, MAO Yan<sup>1,2</sup>, YANG Wei-jun<sup>2</sup>, HE Jin-hua<sup>2</sup>

(1. Pharmacy College of Shihezi University, Shihezi 832002, China;

2. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standards for Tongzu Granules. **Method:** The thin layer chromatography (TLC) was adopted for qualitative identification; aloin was detected by HPLC. **Result:** The identifying method of *Aloe*, *Glycyrrhiza uralensis* and *Terminalia chebula* were established. The determination method for the content of aloin was established. The calibration curve of aloin was liner in the range of 0.41-2.46 μg. The regression equation was  $Y = 12\ 704X + 48.84$  ( $r = 0.999\ 9$ ). The average recovery was 96.39% and RSD was 0.76% ( $n = 9$ ). **Conclusion:** The method is simple, accurate and reproducible. It can be used for the quality control of Tongzu granules.

[Key words] Tongzu granules; aloin; TLC; HPLC

通阻颗粒是由芦荟、诃子肉、甘草、小茴香、清泻山扁豆、天山莖菜等 12 味中药组成的维药复方制剂,具有清除异常胆液质、润肠之功效,用于异常胆液质所致的便秘、闭经等,临床上广泛应用于便秘的治疗,疗效显著<sup>[1]</sup>。为了更好的控制产品的内在质量,参照有关文献<sup>[2-5]</sup>,本实验采用了 TLC 对制剂中的芦荟、甘草、诃子肉进行了定性鉴别,采用高效液

相色谱分析法对制剂中芦荟的主要有效成分芦荟苷进行了含量测定。

### 1 材料

Agilent 1260 型高效液相色谱仪,包括 Agilent G1313A 四元泵及自动进样系统、Ezchrom 色谱工作站(安捷伦科技有限公司);BS110S 型电子天平(Sartorius),S10-1 型超纯水机(四川沃特纯水设备有限公司),101A-2 型干燥器(上海实验仪器总厂),DHG-9023A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海申贤恒温设备厂),DZT-6050 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),通阻颗粒(由新疆西部加斯特药业有限公司提供),芦荟苷(批号 110787-200905,供含量测定用),没食子酸(批号 110831-200803),甘草对照药材(批号 1120904-201016),诃子对照药材

[收稿日期] 20130104(014)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区“十二五”科技重大专项(201130105-4)

[第一作者] 王桂玲,硕士研究生,从事新药研究与开发,Tel: 15999127075, E-mail: wgl2010110033@126.com

[通讯作者] \*顾政一,硕士,研究员.从事新药研究与开发,Tel: 0991-2828537, E-mail: zhengyi@xj.cninfo.net

(批号 121015-201004)均系中国药品生物制品检定所提供,甘草、芦荟、诃子肉均购于齐康哈博药材有限公司,甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch, 芦荟 *Aloe barbadensis* Miller, 诃子肉 *Terminalia chebula* Retz 均由新疆药物研究所何江助理研究员鉴定,质量符合《中国药典》2010 年版一部有关规定,硅胶 G, 硅胶 GF<sub>254</sub>(薄层色谱用,青岛海洋化工厂),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 薄层色谱鉴别

**2.1.1 芦荟的 TLC 鉴别** 取本品粉末 5 g,加甲醇 40 mL,置水浴上加热至沸,振摇数分钟,滤过,取滤液作为供试品溶液。另取芦荟苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 5 mg 的溶液,作为对照品溶液。按其处方比例制备不含芦荟的阴性样品,照上述供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(附录 VI B)试验,吸取上述两种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 氢氧化钾甲醇溶液,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。阴性对照品无此斑点。

**2.1.2 甘草 TLC 鉴别** 取本品粉末 5 g,加乙醚 40 mL,加热回流 1 h,滤过,弃去醚液,药渣加甲醇 40 mL,加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 40 mL 使溶解,用乙酸乙酯提取 3 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯液,用水洗涤 3 次,弃去水液,乙酸乙酯液蒸干,残渣加甲醇 5 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取甘草对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液。按其处方比例制备不含甘草的阴性样品,照上述供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(附录 VI B)试验,吸取上述 3 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,置日光下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同颜色的橙黄色斑点。阴性对照品无此斑点。

**2.1.3 诃子肉的 TLC 鉴别** 取本品粉末 5 g,加 95% 乙醇 30 mL,超声提取 30 min,滤过,滤液,水浴浓缩至 1 mL,作为供试品溶液。另取诃子对照药材(去核)0.5 g,同法制成对照药材溶液。按其质量标准中处方比例制备不含诃子肉的阴性样品,照上述供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。精密称

定没食子酸对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液,作为对照品溶液。溶液照薄层色谱法(附录 VI B)试验,吸取上述 4 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-乙酸乙酯-甲酸(5:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 1% 三氯化铁溶液。在室温下显色至斑点清晰,置日光下检视。供试品色谱中,在与对照药材及没食子酸对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性对照品无此斑点。

### 2.2 芦荟苷的含量测定

**2.2.1 供试品溶液的制备** 取本品 5 g,研细,取约 0.5 g,精密称定,置 25 mL 具塞三角瓶中,精密加入甲醇 10 mL,称定质量,超声处理 30 min,稍放置,再称定质量,用甲醇补足减少的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取芦荟苷对照品 10.25 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得(每 1 mL 含有芦荟苷 1.025 mg)。

**2.2.3 阴性对照品溶液的制备** 按处方取不含芦荟的其他药材,照本制剂的制备工艺制成阴性对照剂,再按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。

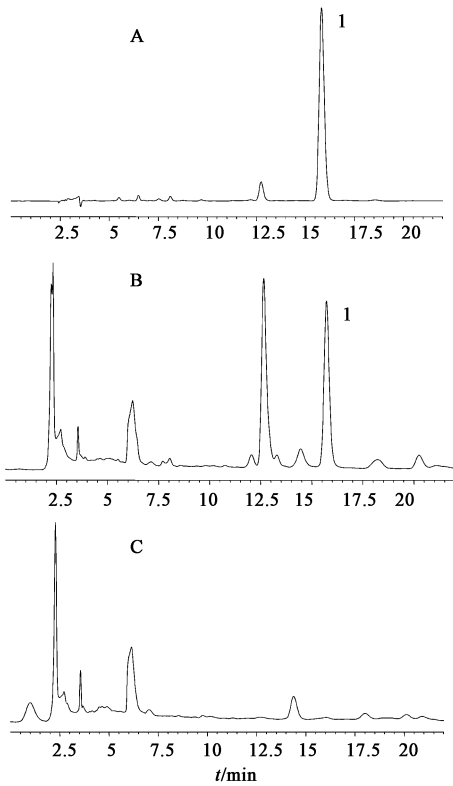
**2.2.4 色谱条件** Phenomenex C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m),流动相乙腈-水(23:77),检测波长 355 nm,流速 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,柱温 30  $^{\circ}$ C,进样量 10  $\mu$ L,理论板数按芦荟苷峰计算不低于 3 000。

**2.2.5 阴性干扰试验** 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液与阴性对照品溶液各 10  $\mu$ L,注入液相色谱仪。结果表明,供试品色谱中在与对照品色谱相应位置上有色谱峰,而阴性对照品色谱中在与对照品色谱相应位置上则未出现明显色谱峰,表明在该 HPLC 测定条件下,芦荟苷的测定无明显干扰。见图 1。

**2.2.6 线性关系考察** 分别精密移取对照品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mL, 分别置 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。分别吸取 10  $\mu$ L,注入液相色谱仪中进行测定,将样品浓度与峰面积进行线性回归处理,方程为  $Y = 12\ 704X + 48.84$  ( $r = 0.999\ 9$ ),芦荟苷在 0.41 ~ 2.46  $\mu$ g 呈良好的线性关系。

**2.2.7 精密度** 精密吸取同一供试品溶液 10  $\mu$ L,重复进样 6 次,测定峰面积积分值,结果 RSD 0.65%,表明精密度良好。

**2.2.8 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液 10  $\mu$ L,分别在 0, 3, 6, 12, 18, 24 h 时间内注入液相色谱仪中,测定芦荟苷峰面积,结果表明本品在 24 h 内稳定, RSD 0.89%。



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性;1. 芦荟苷

图1 通阻颗粒样品 HPLC

**2.2.9 重复性试验** 取同一批样品6份,按上述色谱条件测定,分别测定各份样品中芦荟苷的含量,结果含量平均值为 $1.68 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,RSD 0.91%,表明样品的重复性良好。

**2.2.10 加样回收率试验** 精密称取已知含量的样品0.25 g,分别精密加入上述芦荟苷对照品0.3,0.4,0.5 mL,各平行3份,置25 mL具塞三角瓶中,精密加入甲醇10 mL,称定质量,超声处理30 min,稍放置,再称定质量,用甲醇补足减少的质量,摇匀,滤过,取续滤液,按以上测定方法进行测定,结果见表1,平均回收率为96.39%,RSD 0.76%。

表1 芦荟苷回收率测定

No.	样品中的含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.420 4	0.307 5	0.715 4	95.95		
2	0.420 2	0.307 5	0.716 5	96.36		
3	0.420 8	0.307 5	0.719 4	97.11		
4	0.420 6	0.410 0	0.813 9	95.91		
5	0.421 1	0.410 0	0.818 8	96.99	96.39	0.76
6	0.420 8	0.410 0	0.810 9	95.16		
7	0.420 5	0.512 5	0.912 8	96.05		
8	0.420 9	0.512 5	0.914 9	96.41		
9	0.421 2	0.512 5	0.921 2	97.55		

**2.2.11 样品测定** 取本品5 g,研细,取约0.5 g,精密称定,置10 mL具塞三角瓶中,余下照确定的方法制成供试品溶液,注入液相仪进行外标一点法测定,测定3批样品结果为1.70,1.74,1.68  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

### 3 讨论

芦荟苷是芦荟的主要活性成分,具有健胃缓泻、抗炎等多种药理作用,对多种便秘有显著的治疗作用<sup>[6-8]</sup>,其为本制剂的主要有效成分之一,因此选择芦荟苷作为含量测定指标成分,并建立了其HPLC含量测定方法,方法学研究表明该法具有简便、灵敏、重复性好的特点,可以用于本制剂的质量控制。

薄层色谱研究中,诃子肉、甘草供试品的取样量原选为3 g,但展开晾干后,检视发现斑点不清晰,样品浓度低,后经试验,供试品取样量改为5 g后,斑点清晰、分离效果好。

含量测定中,选用超声提取法提取芦荟苷<sup>[9]</sup>,并对供试品溶液提取溶媒考察:选用30%、50%、70%、95%乙醇、甲醇及流动相6种溶液为提取溶媒,结果为甲醇提取的芦荟苷含量最高,故确定甲醇为提取溶媒。对超声提取的时间也进行了考察<sup>[10]</sup>,当超声时间为30 min,芦荟苷含量不再增加,故确定为超声提取时间为30 min。

### [参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部. 药品标准:维吾尔药分册[S]. WS<sub>3</sub>-BW-0180-98.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:112.
- [3] 吴韬. 百癣夏塔热片质量标准研究[J]. 中成药,2004,26(6):463.
- [4] 李静梅,吴颖. 高效液相色谱法检测芦荟及其芦荟制品中芦荟苷的含量[J]. 食品工业科技,2003,24(11):76.
- [5] 黄丽英,陈敬华,林水森,等. RP-HPLC测定复方芦荟胶囊中芦荟苷、芦荟大黄素、靛蓝的含量[J]. 中国中药杂志,2006,31(15):1289.
- [6] 林子洪,吴敬勋,肖梓栋,等. 芦荟对小鼠便秘的作用及其机制初探[J]. 广东医学,2005,26(10):1336.
- [7] 张中建,阎小伟. 芦荟制剂润肠通便作用的实验研究[J]. 浙江实用医学,2002,10(7):275.
- [8] 解欣然,洪纓,樊江波. 复方芦荟胶囊药理作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(11):47.
- [9] 章为,李文莉,丁野,等. 参苓健体散质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):83.
- [10] 曹红,刘云. 液相色谱法测定进口芦荟药材中芦荟苷的含量[J]. 中国中药杂志,2003,28(4):349.

[责任编辑 顾雪竹]