

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.21.017

沉香化气胶囊质量标准提升*

张琳琳^{1,2}, 马临科^{1,2}, 郑成^{1,2,Δ}

(1. 浙江省食品药品检验研究院, 浙江 杭州 310052; 2. 国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室, 浙江 杭州 310052)

摘要:目的 提高沉香化气胶囊的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对制剂中的广藿香、木香、沉香进行定性鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中沉香四醇含量,色谱柱为 Shim-Pack VP-ODS C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1%甲酸(15:85, V/V),流速为 1.0 mL/min,柱温为 30 ℃,检测波长为 252 nm,进样量为 10 μL。结果 制剂中广藿香、木香、沉香的 TLC 特征斑点显色清晰,分离度良好,阴性对照无干扰。沉香四醇进样量在 0.038~0.950 μg 范围内与峰面积线性关系良好($r = 1.000 0, n = 6$);精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 1.0%($n = 6$);平均加样回收率为 101.38%,RSD 为 0.54%($n = 6$)。10 批样品中沉香四醇的含量为每粒 0.216~1.004 mg($n = 2$)。结论 该方法操作简便、结果稳定可靠、专属性和重复性均较好,可用于沉香化气胶囊的质量标准提升。

关键词:沉香化气胶囊;薄层色谱法;高效液相色谱法;沉香;沉香四醇;质量标准

中图分类号:R932;R284.1;R286.0 文献标志码:A 文章编号:1006-4931(2022)21-0073-05

Improvement of Quality Standard of Chenxiang Huaqi Capsules

ZHANG Linlin^{1,2}, MA Linke^{1,2}, ZHENG Cheng^{1,2}

(1. Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou, Zhejiang, China 310052; 2. NMPA Key Laboratory of Quality Evaluation of Traditional Chinese Patent Medicine, Hangzhou, Zhejiang, China 310052)

Abstract: Objective To improve the quality standard of Chenxiang Huaqi Capsules. **Methods** Pogostemonis Herba, Aucklandiae Radix and Aquilariae Lignum Resinatum in the preparation were identified qualitatively by the thin-layer chromatography (TLC) method. The content of agarotetrol in the preparation was determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method. The chromatographic column was Shim-Pack VP-ODS C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% formic acid (15:85, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 30 ℃, the detection wavelength was 252 nm, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC chromatograms of Pogostemonis Herba, Aucklandiae Radix and Aquilariae Lignum Resinatum in the preparation had clear spots, good separation, and the negative control had no interference. The linear range of agarotetrol was 0.038-0.950 μg ($r = 1.000 0, n = 6$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 1.0% ($n = 6$). The average recovery of agarotetrol was 101.38% with an RSD of 0.54% ($n = 6$). The content of agarotetrol in the 10 batches of samples was in the range of 0.216-1.004 mg each capsule ($n = 2$). **Conclusion** The method is simple, reliable, specific and repeatable, which can be used to improve the quality standard of Chenxiang Huaqi Capsules.

Key words: Chenxiang Huaqi Capsules; TLC; HPLC; Aquilariae Lignum Resinatum; agarotetrol; quality standard

沉香化气胶囊由沉香、木香、广藿香、香附、砂仁、陈皮、莪术、六神曲、麦芽、甘草 10 味中药材组方,具有疏肝理气、消积和胃功效,可改善肝胃气滞、脘腹胀痛、胸膈痞满、不思饮食、暖气泛酸等症状^[1]。有研究表明,沉香化气胶囊具有改善糖尿病模型大鼠肠动力障碍的作用^[2],临床常用于治疗功能性消化不良^[3-4]和便秘型肠易激综合征^[5],并与西药奥美拉唑联用治疗非糜烂性反流病^[6]。现行标准收载于《国家药品标准 新药转正标准:第 64 册》WS_{3-036(Z-009)-2004(Z)-2019^[1],但仅收载了沉香、砂仁的显微鉴别项、广藿香的薄层色谱(TLC)鉴别项及陈皮的含量测定项,缺乏君药沉香的含量控制项。目前,关于沉香化气胶囊质量标准的研究报道较少。}

本研究中在现行质量标准基础上,修订了广藿香的 TLC 鉴别,增加了木香和沉香的 TLC 鉴别,以及建立了测定沉香中沉香四醇含量的高效液相色谱(HPLC)法,为科学评价沉香化气胶囊的质量提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Thermo U3000RSLC 型高效液相色谱仪(美国赛默飞公司),配有二极管阵列(DAD)检测器;Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),配有 DAD 检测器;Shimadzu LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),配有 DAD 检测器;XPE-205 型分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司,精度为十万分之一);Milli-Q

*基金项目:国家药典委员会 2017 年《中国药典》药品标准提高项目[2017-390]。

第一作者:张琳琳,女,硕士研究生,主管中药师,研究方向为中药药效物质基础及质量标准,(电子信箱)amazing1212@163.com。

Δ通信作者:郑成,男,硕士研究生,副主任中药师,研究方向为中药质量标准,(电话)0571-87180315(电子信箱)185803541@qq.com。

Advantage A型超纯水机(美国Millipore公司);薄层显像系统(瑞士卡玛公司);薄层层析硅胶G板(青岛海洋化工有限公司);UF55 Plus型电热恒温干燥箱(德国美墨尔特公司);Elmasonic P型超声波清洗仪(美国Elma公司,功率为500 W,频率为37 kHz)。

1.2 试药

去氢木香内酯对照品(批号为111525-201711,纯度99.8%),百秋李醇对照品(批号为110772-201608,纯度99.8%),沉香四醇对照品(批号为111980-201602,纯度98.3%),沉香对照药材(批号为121222-201102),均由中国食品药品检定研究院提供;乙腈和甲酸均为色谱纯,水为纯化水,其余试剂均为分析纯;沉香化气胶囊(杭州胡庆余堂药业有限公司,批号分别为1511911,1611991,1611990,1711904,1711906,1711911,1811901,1811917,1911901,1911902)。

2 方法与结果

2.1 TLC鉴别

广藿香:取样品内容物4.5 g,置250 mL圆底烧瓶中,加水100 mL,浸泡过夜,连接挥发油测定器,自测定器上端加水至刻度,并溢入烧瓶为止,再加入乙酸乙酯1 mL,加热回流提取3 h,将提取液移至分液漏斗中,分取乙酸乙酯液作为供试品溶液。取百秋李醇对照品适量,精密称定,加乙酸乙酯制成每1 mL含2 mg的对照品溶液。称取除广藿香外的其余药材,制备阴性样品,取4.5 g,按供试品溶液制备方法制备缺广藿香的阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验,吸取供试品溶液4~8 μL、阴性对照品溶液5 μL、对照品溶液2 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-丙酮(10:3, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛-5%硫酸乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液

色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰。色谱图见图1 A。

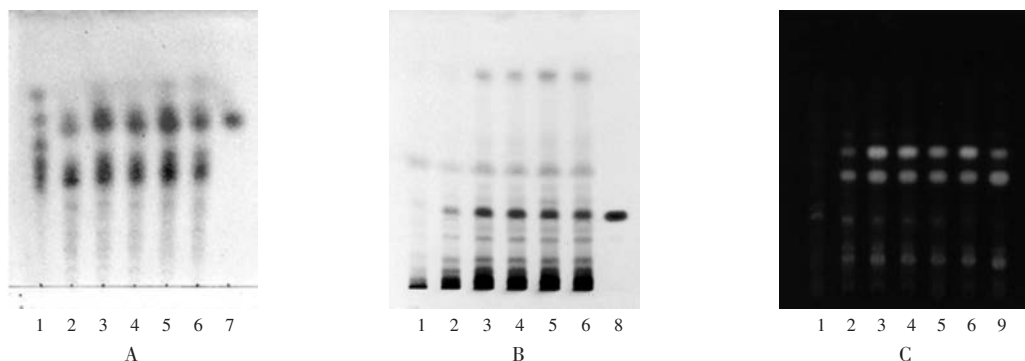
木香:取样品5 g,加水30 mL使溶解,加乙醚30 mL,超声处理30 min,置分液漏斗中分取乙醚液,挥干,残渣加乙酸乙酯1 mL使溶解,作为供试品溶液。取去氢木香内酯对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含0.5 mg的对照品溶液。称取除木香外的其余药材,制备阴性样品,取5 g,按供试品溶液制备方法制备缺木香的阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验,吸取上述3种溶液各5 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1, V/V/V)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%香草醛硫酸溶液,加热至斑点显色清晰。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰。色谱图见图1 B。

沉香:取沉香对照药材1 g,加乙醚30 mL,超声处理30 min,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯2 mL使溶解,作为对照药材溶液。称取除沉香外的其余药材,制备阴性样品,取5 g,按木香项下供试品溶液制备方法制备缺沉香的阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验,取木香TLC鉴别项下供试品溶液及上述阴性对照品溶液和对照药材溶液各2 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-丙酮(9:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛-5%硫酸乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰,紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与沉香对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰。色谱图见图1 C。

2.2 HPLC法测定沉香四醇含量

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Shim-Pack VP-ODS C₁₈柱(250 mm ×



1. 阴性对照品溶液 2-6. 供试品溶液 7-8. 对照品溶液(分别为百秋李醇和去氢木香内酯) 9. 对照药材溶液
A. 广藿香 B. 木香 C. 沉香

图1 薄层色谱图

1. Negative reference solution 2-6. Test solution 7-8. Reference solution (patchouli alcohol and dehydrocostus lactone, respectively)

9. Solution of reference medicinal materials

A. Pogostemonis Herba B. Aucklandiae Radix C. Aquilariae Lignum Resinatum

Fig.1 TLC chromatograms

4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 - 0.1% 甲酸 (15:85, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30 °C; 检测波长: 252 nm; 进样量: 10 μL。

2.2.2 溶液制备

取样品内容物适量, 混匀, 研细, 取 1.5 g, 精密称定, 加 70% 甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 60 min, 放冷, 再次称定质量, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。取沉香四醇对照品适量, 精密称定, 加 70% 甲醇制成质量浓度为 40 μg/mL 的对照品溶液。取除沉香外的其余 9 味药材, 制备阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备缺沉香的阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验: 取 2.2.2 项下 3 种溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 色谱图见图 2。结果显示, 供试品溶液在沉香四醇对照品溶液相同保留时间处检出了相应的色谱峰, 沉香四醇与其他杂质峰分离度良好, 且阴性对照无干扰, 表明方法专属性良好。

线性关系考察: 精密吸取沉香四醇对照品溶液 (质量浓度为 38.08 μg/mL) 1, 2, 5, 10, 20, 25 μL, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。以沉香四醇进样量 (X , μg) 为横坐标、色谱峰峰面积 (Y) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 2486.6X + 1.5949$ ($r = 1.0000, n = 6$)。结果表明, 沉香四醇进样量在 0.038 ~ 0.950 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 精密吸取供试品溶液 (批号为 1611991) 10 μL, 按 2.2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录沉香四醇的峰面积。结果的 RSD 为 0.18% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

重复性试验: 取样品 (批号为 1611991) 适量, 精密称定, 共 6 份, 依法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。结果沉香四醇平均含量为 1.673 mg/g, RSD 为 0.32% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

稳定性试验: 精密吸取同一批 (批号为 1611991) 样

品适量, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 于室温下放置 0, 2, 7, 12, 20, 24 h 时按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录沉香四醇的峰面积。结果的 RSD 为 0.56% ($n = 6$), 表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定性良好。

加样回收试验: 取已知含量的样品 (批号为 1611991) 0.75 g, 精密称定, 共 6 份, 分别精密加入沉香四醇对照品溶液 (质量浓度为 0.9520 mg/mL) 1 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, 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 (%)
0.7539	1.2610	0.9520	2.2199	100.72	101.38	0.54
0.7507	1.2560	0.9520	2.2142	100.65		
0.7548	1.2630	0.9520	2.2293	101.50		
0.7537	1.2610	0.9520	2.2305	101.84		
0.7551	1.2630	0.9520	2.2312	101.70		
0.7581	1.2680	0.9520	2.2376	101.85		

耐用性试验: 比较了 3 种品牌 (岛津、安捷伦及赛诺菲) 高效液相色谱仪、3 种品牌 [VP-ODS C₁₈ 柱、Agilent 5TC C₁₈ (2) 柱及 Hypersil GOLD C₁₈ 柱, 规格均为 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)] 色谱柱对测定结果的影响。结果供试品溶液均能较好分离, 含量测定结果的 RSD 均小于 1.0%, 表明方法耐用性良好。

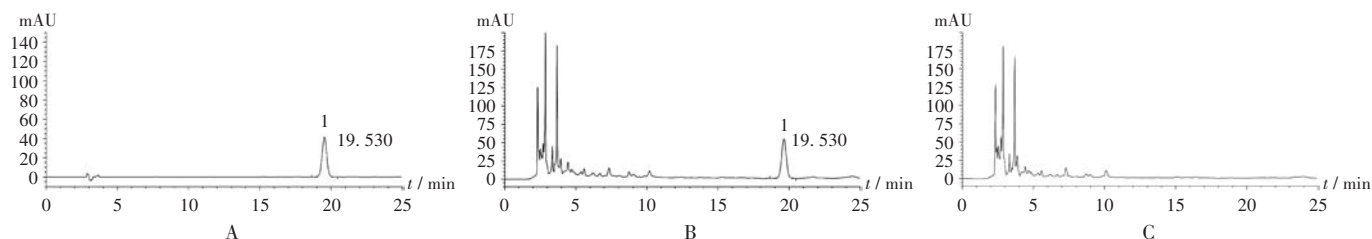
2.2.4 样品含量测定

取 10 批样品, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 并按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 每批平行测定 2 次, 计算样品中沉香四醇的含量。结果见表 2。

3 讨论

3.1 TLC 建立

广藿香药材的 TLC 法为修订项目, 原标准收载于《国家药品标准 新药转正标准: 第 64 册》WS₃-036 (Z-009)-2004 (Z)-2004^[7], 该标准中直接用石油醚提取, 但由于制剂工艺将提取的挥发油进行了包合, 石油醚提取不易渗入胶囊包合物中, 无法对挥发性成分



1. 沉香四醇

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 2 高效液相色谱图

1. Agarotretrol

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

Fig. 2 HPLC chromatograms

表2 样品含量测定结果($n=2$)Tab. 2 Results of the content determination of agarotretrol in samples ($n=2$)

批号	含量(mg/粒)	RSD(%)	批号	含量(mg/粒)	RSD(%)
1511911	0.332	0.42	1711911	0.831	0.09
1611991	0.772	0.32	1811901	0.777	0.02
1611990	0.756	0.05	1811917	0.999	0.15
1711904	0.243	0	1911901	0.999	0.17
1711906	0.216	1.16	1911902	1.004	0.26

进行有效提取,造成TLC中百秋李醇斑点不易检视,故对提取方法进行了修改,采用挥发油提取。本研究中对现行标准进行了验证,但斑点不够清晰,故进一步改进制剂中广藿香的TLC鉴别。木香TLC鉴别中,以木香对照药材、去氢木香内酯和木香烃内酯对照品为对照,结果制剂中仅检出去氢木香内酯,并经HPLC法进行了验证,故仅以去氢木香内酯为对照。沉香TLC鉴别中,比较了三氯甲烷-丙酮(9:1, V/V)和环己烷-丙酮(10:3, V/V)2种不同展开剂及喷/不喷显色剂的影响。结果表明,以三氯甲烷-丙酮(9:1, V/V)为展开剂时的斑点集中,比移值适中,分离度良好,且阴性对照无干扰,故选择此展开剂;喷以5%香草醛-5%硫酸乙醇溶液较不喷显色剂主斑点干扰较少,且主斑点清晰,故选择喷5%香草醛-5%硫酸乙醇溶液后检视。

此外,本研究中也对制剂中香附和莪术的TLC鉴别分别进行了探索。其中,以 α -香附酮为指标对香附进行TLC鉴别,发现方法的专属性差,故未增加香附的TLC鉴别。以莪术对照药材和吉马酮、莪术二醇对照品为指标,进行莪术的TLC鉴别,结果沉香化气胶囊样品中未检出莪术的特征斑点,故未增加莪术的TLC鉴别。

3.2 含量测定指标成分选择

现行标准中采用HPLC法,以橙皮苷为指标性成分,测定了方中陈皮的含量,但沉香为沉香化气胶囊中的君药,却无含量控制项。制剂中沉香以生粉入药,2020年版《中国药典(一部)》中沉香项下规定沉香四醇为含量测定指标^[8]。沉香四醇既是沉香药材的差异成分,也是其主要活性成分^[9-11],且在沉香药材中含量较高,稳定性较好^[12-13],适合作为沉香质量评价的指标性成分。故增加了制剂中沉香四醇的含量测定项。此外,本研究中也曾采用HPLC法测定沉香化气胶囊中木香烃内酯和去氢木香内酯的总含量,结果样品中未检出木香烃内酯,检出去氢木香内酯,但峰面积较低,达不到定量要求,故木香成分的含量测定未纳入标准。

3.3 样品提取方法选择

比较了超声和回流提取方法对沉香四醇提取率的影响,结果这2种提取方法的提取结果无显著差异,超声提取更简便,故选择超声提取。比较了不同提取溶剂

(乙醇、甲醇、20%甲醇、50%甲醇与70%甲醇),不同提取时间(30, 60, 90 min)和不同提取量(25, 50, 100 mL)对沉香四醇提取效率的影响,最终确定供试品溶液的制备方法为取样品约1.5 g,加入50 mL 70%甲醇,超声处理60 min。

3.4 含量限度制订

含量测定结果显示,10批样品中沉香四醇的含量范围为每粒0.216~1.004 mg,最高值是最低值的4.65倍。李远彬等^[14]的研究显示,52批沉香中沉香四醇的含量范围为0.10%~6.60%。不同产区沉香中沉香四醇的含量差异也较大^[15]。调研企业生产投料的10批沉香饮片的沉香四醇含量范围为0.42%~2.29%。沉香饮片中沉香四醇含量差异较大。沉香以生粉入药,影响制剂中沉香四醇含量的主要因素是沉香药材的质量。按处方工艺沉香的量折算每粒沉香化气胶囊中含沉香细粉0.074 g,2020年版《中国药典(一部)》沉香含量测定项下沉香四醇含量限度为0.10%^[8],每粒胶囊理论最低含量为0.074 mg。结合10批样品含量测定结果,综合考虑限度暂定为每粒含沉香以沉香四醇($C_{17}H_{18}O_6$)计,不得少于0.15 mg。

3.5 方法评价

本研究中的方法操作简便、结果稳定可靠、专属性和重复性均较好,可用于沉香化气胶囊的质量标准提升。

参考文献

- [1] WS₃-036(Z-009)-2004(Z)-2019,国家药品标准 新药转正标准:第64册[S].
- [2] 陈凤琴. 沉香化气胶囊促肠动力机制研究[D]. 合肥:安徽医科大学,2013.
- [3] 蔡振寨,王建璋,曹曙光,等. 沉香化气胶囊对功能性消化不良患者肠道气体的治疗作用[J]. 实用医学杂志,2010,26(6):1036-1037.
- [4] 厉兰娜,戴蕾,朱惠芳,等. 沉香化气胶囊治疗功能性消化不良的临床研究——附40例临床疗效观察[J]. 浙江中医杂志,2002,37(10):42-43.
- [5] 蔡振寨,曹曙光,王建璋,等. 沉香化气胶囊对便秘型肠易激综合征肠道气体的治疗作用[J]. 海峡药学,2010,22(3):99-100.
- [6] 李华铭,傅志泉. 奥美拉唑联合沉香化气胶囊治疗非糜烂性反流病60例[J]. 中国中西医结合消化杂志,2012,20(4):177-178.
- [7] WS₃-036(Z-009)-2004(Z)-2004,国家药品标准 新药转正标准:第64册[S].
- [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,2020:192-193.
- [9] 杨慧珍,和润莹,李映,等. 沉香的质量标志物预测与指纹图谱分析验证[J]. 中国现代应用药学,2022,39(3):285-293.
- [10] TAKAMATSU S, ITO M. Agarotretrol in agarwood: Its use in