

· 研究报告 ·

纯阳正气胶囊挥发油的质量标准研究

韦飞雪, 李小菊, 熊斯斯, 廖云芳, 陈 敏 (八加一药业股份有限公司, 广西 桂林 541000)

[摘要] **目的** 建立纯阳正气胶囊挥发油的质控方法。**方法** 采用 GC 法建立挥发油的特征图谱, 并测定桂皮醛与丁香酚的含量。**结果** 15 批样品中确定了 19 个共有峰, 指认了峰的归属, 选取了 9 个特征峰建立了特征图谱。桂皮醛与丁香酚分别在 0.522 ~ 1.565 mg/ml ($r=0.9994$) 和 3.038 ~ 9.115 mg/ml ($r=0.9997$) 范围内线性良好, 平均回收率分别为 97.1% 和 97.3%, RSD 分别为 1.5%、1.4%。**结论** 所建立的 GC 特征图谱及含量测定方法可从定性和定量两方面控制纯阳正气胶囊挥发油的质量, 方法准确、可行, 可作为纯阳正气胶囊挥发油的质量控制方法。

[关键词] 纯阳正气胶囊; 质量标准; 特征图谱; 气相色谱; 含量测定; 挥发油

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] 2097-2024(2022)06-0557-06

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202201042

Study on quality standards of volatile oil of Chunyang Zhengqi capsules

WEI Feixue, LI Xiaojue, XIONG Sisi, LIAO Yunfang, CHEN Min (Eight Plus One Pharmaceutical Co., Ltd, Guilin 541000, China)

[Abstract] **Objective** To establish a quality control system of volatile oil of Chunyang Zhengqi capsules. **Methods** The chromatogram of volatile oil was established by GC method, and the contents of cinnamaldehyde and eugenol were determined. **Results** In 15 batches of samples, 19 common peaks were identified, and 9 characteristic peaks were selected to establish the characteristic spectrum. The linear ranges of cinnamaldehyde and eugenol were 0.522 - 1.565 mg/ml ($r=0.9994$) and 3.038 - 9.115 mg/ml ($r=0.9997$), respectively. The average recoveries were 97.1% and 97.3%, with RSD of 1.5% and 1.4%, respectively. **Conclusion** The established GC characteristic map and content determination method could control the quality of essential oil in Chunyang Zhengqi capsules qualitatively and quantitatively. The method is accurate and feasible which could be used as the quality control method of essential oil in Chunyang Zhengqi capsules.

[Key words] Chunyang Zhengqi capsules; quality standards; characteristic atlas; GC; assay; volatile oil

纯阳正气胶囊为中药复方制剂 [药品批准文号: 国药准字 Z20205003], 由广藿香、姜半夏、土木香、陈皮、丁香、肉桂、苍术、白术、茯苓、花椒等十七味中药组成, 具有温中散寒的功效, 用于暑天感寒受湿, 腹痛吐泻, 胸膈胀满, 头痛恶寒, 肢体酸重。其处方来源《医学薪传·祠鹤亭集方》和《中药成方配本》, 方中肉桂辛、甘、大热, 为治寒凝要药, 活性成分桂皮醛可抗溃疡、抗菌、抗炎^[1]; 丁香辛温, 能治冷气腹痛, 活性成分丁香酚可抗菌、抗炎、解热镇痛^[2]; 广藿香辛而微温, 能化湿解暑、和胃止呕, 活性成分百秋李醇可抗炎、镇痛、保护胃肠道^[3]; 苍术及白术甘、苦、温, 能燥湿健胃、祛湿健脾止泻, 活性成分白术内酯类、苍术素、苍术酮可调节胃肠道及抗炎^[4-5]; 土木香辛、苦、温, 能健脾和胃、

行气止痛, 活性成分土木香内酯、异土木香内酯可抗菌及镇痛^[6]; 半夏及陈皮燥湿和胃, 理气和中^[7-8]。其制备工艺中包含挥发油的提取, 主要是将广藿香、姜半夏、土木香、丁香、肉桂、苍术、白术、花椒经水蒸气蒸馏提取而得, 内含成品的主要指标桂皮醛、丁香酚及多种功效成分如百秋李醇、苍术素、苍术酮、土木香内酯、异土木香内酯等。之前的工艺质控环节并未对该处方中的挥发油进行质量控制, 中间体的质控体系尚不完善, 为进一步提升中间体及成品的质量标准, 本文建立了纯阳正气胶囊挥发油的特征图谱, 并对其主要成分桂皮醛和丁香酚进行了含量测定, 从定性和定量两方面控制复方中的挥发油成分。

1 材料与试药

1.1 仪器

Agilent 7890B 气相色谱仪, 含自动进样器、FID 检测器 (美国, Agilent 公司); XS205DU 型电子天平

[作者简介] 韦飞雪, 本科, 执业药师、工程师, 研究方向: 药物分析, Email: fanshisqzr@163.com

[通信作者] 陈 敏, 本科, 执业药师、工程师, 研究方向: 药物分析, Email: kitty_811022@163.com

($d=0.01\text{mg}$, 梅特勒-托利多); ML204T 型分析天平($d=0.1\text{mg}$, 梅特勒-托利多); Goodsee-10 型薄层色谱成像仪(上海科哲生化科技有限公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药与试剂

纯阳正气胶囊挥发油(标记为 S1 至 S15, 本公司自制); 百秋李醇(批号: 110772-201909)、丁香酚(批号: 110725-201917)、桂皮醛(批号: 110710-202022)、柠檬烯(批号: 100470-201503)、苍术素(批号: 111924-201806)、土木香内酯(批号: 110760-201811)、异土木香内酯(批号: 110761-201806)等对照品, 购自中国食品药品检定研究院; 乙醇、石油醚($30\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$)、乙酸乙酯、冰醋酸等试剂均为分析纯; 硅胶 G 薄层板(烟台江友硅胶开发有限公司)。

2 方法与结果

2.1 特征图谱的建立与评价^[9-12]

2.1.1 色谱条件

Agilent DB-624 ($60\text{ m}\times 0.25\text{ mm}$, $1.4\text{ }\mu\text{m}$) 毛细管柱; 进样口温度 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$, FID 检测器温度 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$; 载气为高纯氮气; 进样量 $1\text{ }\mu\text{l}$; 分流比 5:1; 程序升温: 初始温度 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 20 min, 以每分钟 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$

的速率升温至 $160\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 25 min, 再以每分钟 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的速率升温至 $240\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 45 min。

2.1.2 溶液的制备

(1)对照品溶液: 取柠檬烯、桂皮醛、丁香酚、百秋李醇、苍术素、土木香内酯、异土木香内酯对照品适量, 精密称定, 加乙醇分别制成每 1 ml 含 1 mg 的溶液, 即得。

(2)供试品溶液: 取本品 0.2 g , 精密称定, 加乙醇制成每 1 ml 含 20 mg 的溶液, 即得。

(3)阴性溶液: 按照纯阳正气胶囊挥发油提取方法分别制备缺少广藿香、姜半夏、土木香、丁香、肉桂、苍术、白术、花椒的阴性样品。取阴性样品按供试品溶液的制备方法制备阴性溶液。

2.1.3 共有峰的归属及特征图谱的建立

按“2.1.1”项下色谱条件依法测定 15 批纯阳正气胶囊挥发油样品, 使用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012.130723 版本), 以 S1 为参照图谱, 按中位数计算, 进行共有峰标识, 共获得 19 个峰, 见图 1。将阴性样品与纯阳正气胶囊挥发油样品的气相图谱进行对比分析, 发现峰 1~10 及峰 16 主要来自花椒; 峰 11 来自肉桂; 峰 12、13、14 来自丁香; 峰 15 来自广藿香; 峰 17 来自苍术; 峰 18、

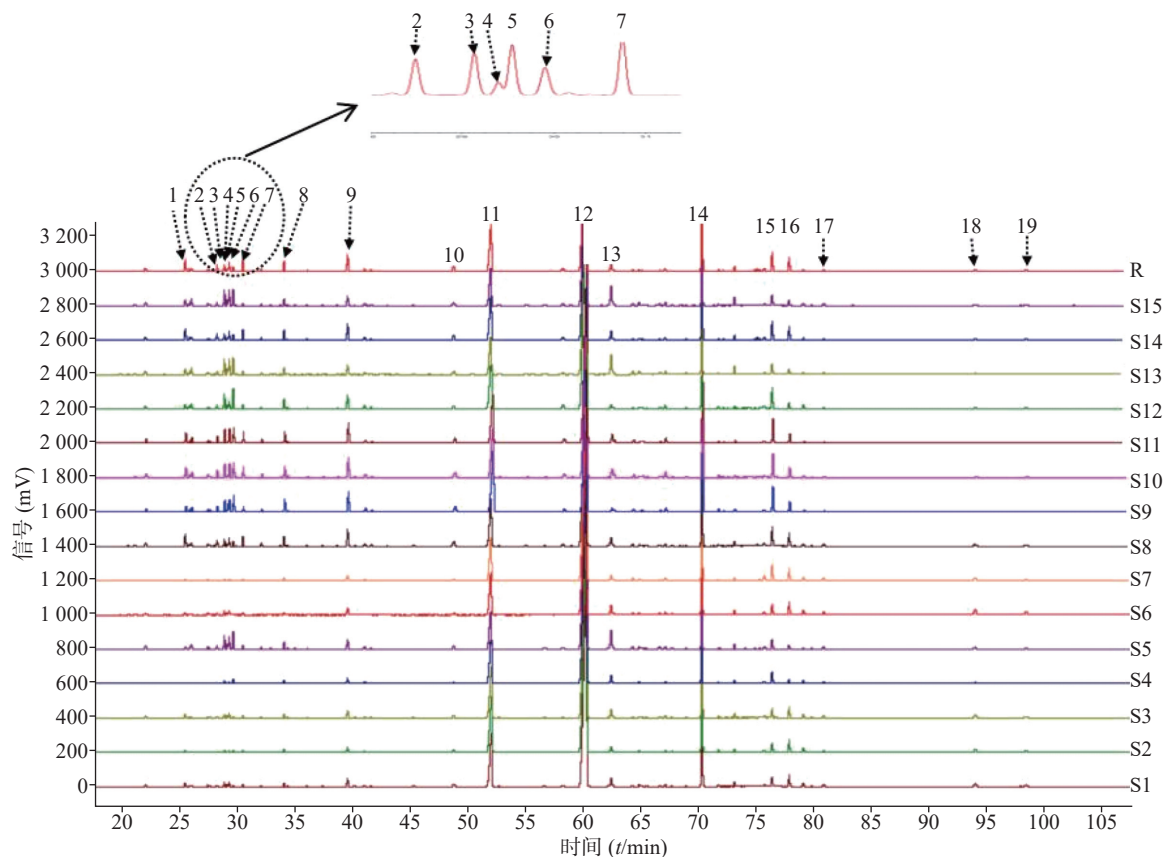


图 1 15 批纯阳正气胶囊挥发油特征图谱中共有峰标识

S1~S15 为样品; R 为对照品

19 来自土木香, 见图 2。经 GC-MS 测定^[13-18], NIST 质谱谱库检索以及对照溶液分析, 共指认了 7 个成分, 分别为柠檬烯、桂皮醛、丁香酚、百秋李醇、苍术素、土木香内酯和异土木香内酯, 见图 3。结合纯阳正气胶囊挥发油中功效成分及峰高、峰形等参

数, 选取了 9 个特征峰建立特征图谱, 见图 4。以丁香酚参照峰(S 峰), 参照《中国药典》(2020 年版) 相关品种关于特征图谱的规定, 计算各特征峰的相对保留时间, 见表 1, 结果表明 9 个特征峰的相对保留时间均在 $\pm 5\%$ 以内, 符合特征图谱要求。

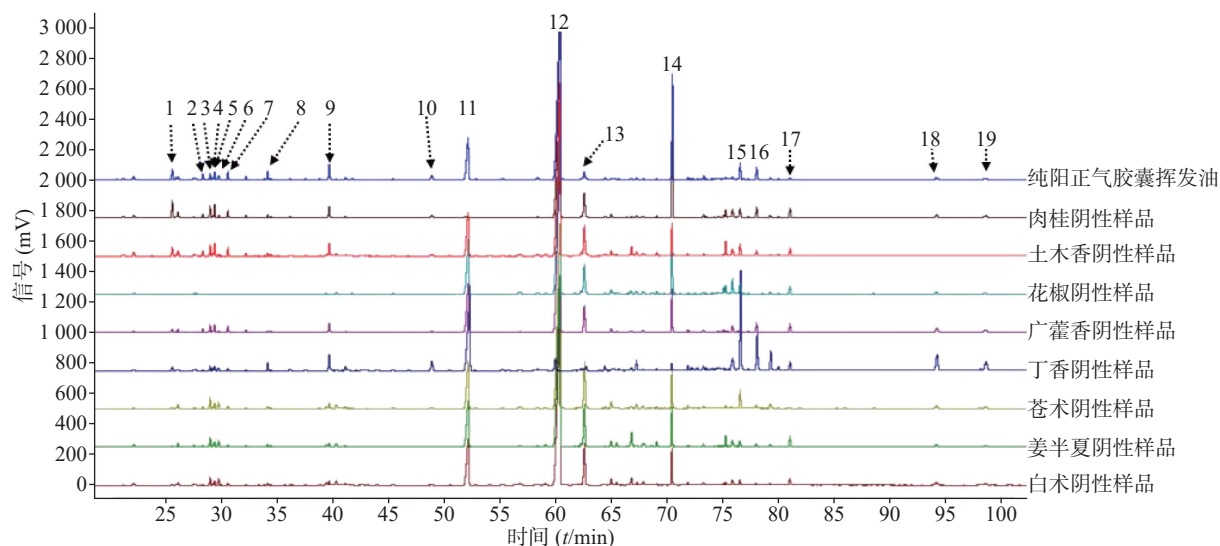


图 2 纯阳正气胶囊挥发油特征图谱中共有峰归属

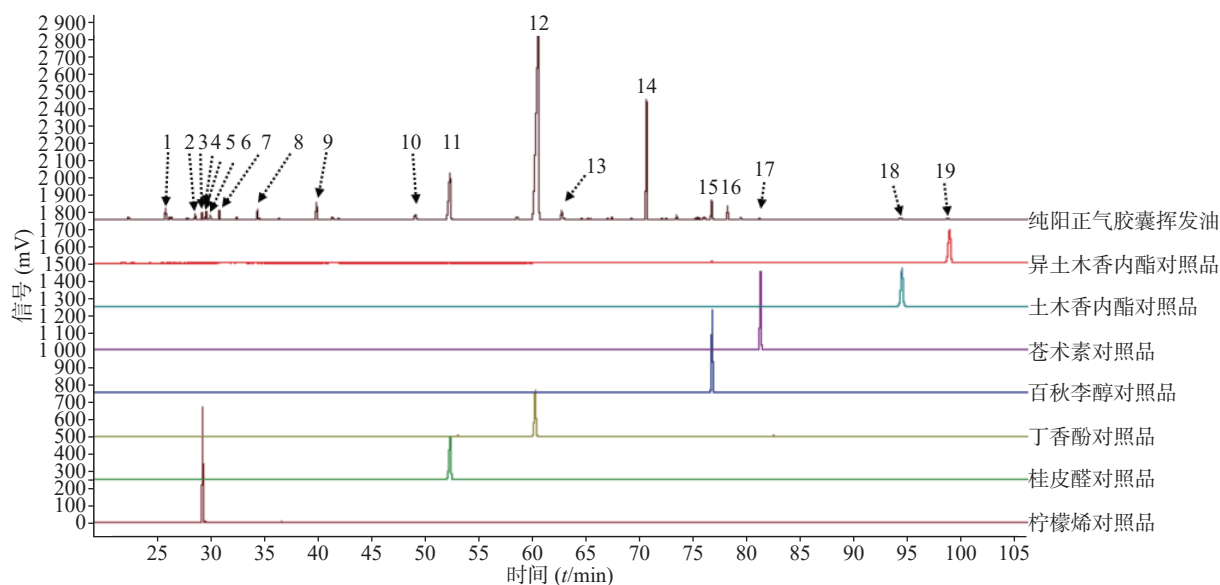


图 3 纯阳正气胶囊挥发油特征图谱中共有峰指认

2.2 桂皮醛与丁香酚的含量测定^[19-20]

2.2.1 色谱条件

Agilent DB-624 (60 m $\times$ 0.25 mm, 1.4 μ m) 毛细管柱; 进样口温度 280 $^{\circ}$ C, FID 检测器温度 280 $^{\circ}$ C; 载气为高纯氮气; 进样量 1 μ l; 分流比 10:1; 程序升温: 初始温度 170 $^{\circ}$ C, 保持 30 min, 以每分钟 20 $^{\circ}$ C 的速率升温至 220 $^{\circ}$ C, 保持 27 min。

2.2.2 溶液的制备

(1) 对照品溶液: 取桂皮醛、丁香酚对照品适

量, 精密称定, 加乙醇制成每 1 ml 含 1 mg、6 mg 的溶液, 即得。

(2) 供试品溶液: 取本品 0.1 g, 精密称定, 加乙醇制成每 1 ml 含 10 mg 的溶液, 即得。

2.2.3 系统适用性试验

取对照品溶液按“2.2.1”项下色谱条件进行测定, 桂皮醛、丁香酚的保留时间为 21.053、26.492 min, 两者峰面积的 RSD ($n=5$) 均 $<2\%$, 理论板数按丁香酚峰计算均 >10000 , 见图 5。

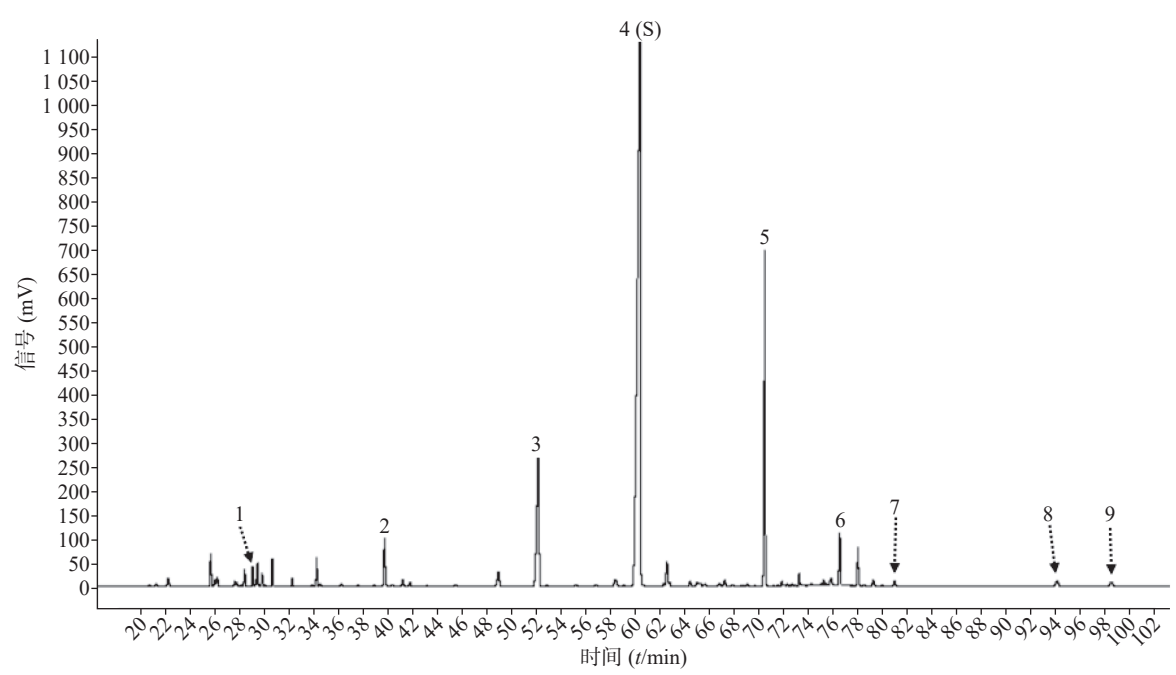


图 4 纯阳正气胶囊挥发油特征图谱

峰 1.柠檬烯;峰 3.桂皮醛;峰 4(s).丁香酚;峰 6.百秋李醇;峰 7.苍术素;峰 8.土木香内酯;峰 9.异土木香内酯

表 1 15 批纯阳正气胶囊挥发油特征峰相对保留时间 (t/min)

峰号									
编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
S1	0.480	0.657	0.863	1.000	1.166	1.265	1.338	1.554	1.626
S2	0.479	0.655	0.860	1.000	1.162	1.261	1.334	1.548	1.620
S3	0.480	0.657	0.865	1.000	1.165	1.264	1.337	1.553	1.625
S4	0.480	0.657	0.864	1.000	1.164	1.264	1.337	1.553	1.625
S5	0.480	0.657	0.864	1.000	1.164	1.264	1.337	1.553	1.625
S6	0.480	0.657	0.863	1.000	1.164	1.265	1.338	1.553	1.625
S7	0.480	0.656	0.863	1.000	1.164	1.264	1.337	1.552	1.624
S8	0.480	0.656	0.863	1.000	1.165	1.264	1.337	1.552	1.624
S9	0.480	0.657	0.863	1.000	1.165	1.264	1.338	1.553	1.625
S10	0.480	0.657	0.863	1.000	1.165	1.264	1.337	1.553	1.624
S11	0.480	0.656	0.862	1.000	1.163	1.263	1.336	1.551	1.623
S12	0.480	0.657	0.863	1.000	1.165	1.265	1.338	1.553	1.625
S13	0.480	0.657	0.863	1.000	1.165	1.265	1.338	1.553	1.625
S14	0.480	0.656	0.862	1.000	1.165	1.264	1.337	1.552	1.624
S15	0.480	0.656	0.862	1.000	1.165	1.264	1.337	1.552	1.624
平均值	0.480	0.657	0.863	1.000	1.164	1.264	1.337	1.552	1.624
RSD(%)	0.01	0.01	0.01	0	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

2.2.4 线性关系考察

分别精密吸取桂皮醛、丁香酚对照品溶液适量,采用逐级稀释法加乙醇制成含桂皮醛 0.522、0.782、1.043、1.304、1.565 mg/ml,含丁香酚 3.308、

4.051、6.076、7.089、9.115 mg/ml 的混合线性溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进行测定,以桂皮醛、丁香酚溶液浓度(mg/ml)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得桂皮醛和丁香酚的回归方程分别为: $Y=1482.5X+18.445$ ($r=0.9994$); $Y=1383.6X+57.04$ ($r=0.9997$),表明桂皮醛在 0.522 ~ 1.565 mg/ml、丁香酚在 3.038 ~ 9.115 mg/ml 范围内与峰面积呈良好线性关系。

2.2.5 检测限与定量限

当信噪比为 3 时,测得桂皮醛、丁香酚的检测限为 0.7、1.1 μ g/ml;当信噪比为 10 时,测得桂皮醛、丁香酚的定量限为 2.6、3.8 μ g/ml。

2.2.6 重复性试验

取同一供试品 6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,依法测定。结果桂皮醛平均含量为 8.38%,RSD 为 0.5% ($n=6$);丁香酚平均含量为 55.88%,RSD 为 0.5% ($n=6$),表明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 按“2.2.1”项下色谱条件测定,记录峰面积。结果桂皮醛、丁香酚峰面积的 RSD ($n=8$) 分别为 1.0%、1.1%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.8 加样回收率试验

取已知含量的同一批样品 9 份,每份约 50 mg,精密称定,每份精密加入桂皮醛、丁香酚对照品溶液适量,配制成低、中、高 3 个不同浓度的回收率

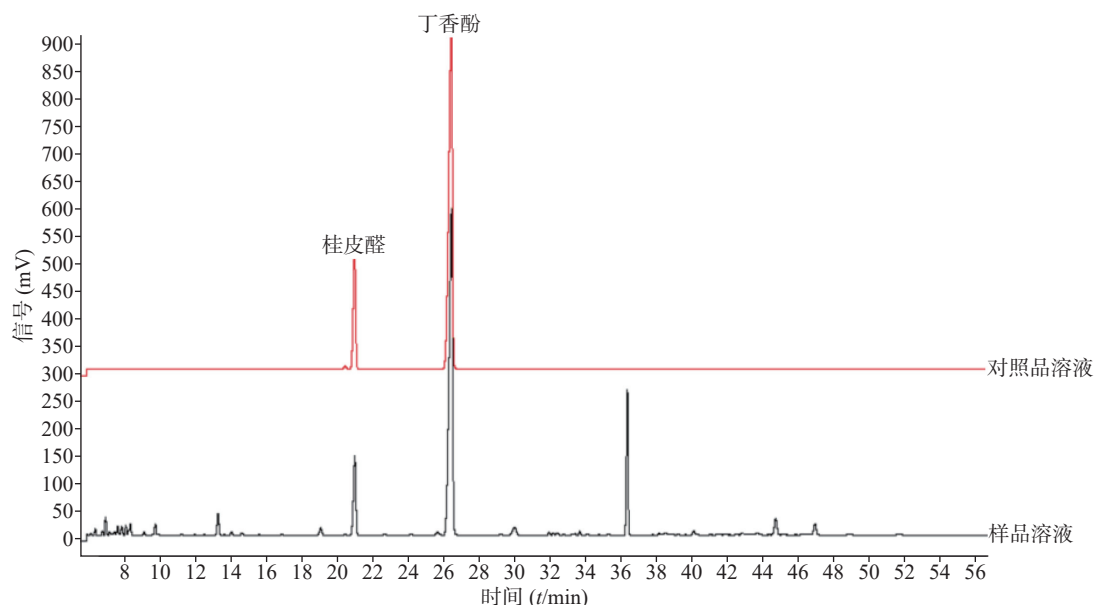


图 5 系统适用性图谱

溶液, 每个浓度 3 份, 按供试品溶液的制备方法操作, 分别精密吸取 1 μ l 注入气相色谱仪进样测定, 计算回收率。结果桂皮醛、丁香酚的平均回收率 ($n=9$) 分别为 97.1%、97.3%; RSD ($n=9$) 分别为 1.5%、1.4%。结果见表 2。

2.2.9 样品含量测定

分别取 6 批不同批号的纯阳正气胶囊挥发油

表 2 纯阳正气胶囊挥发油加样回收率试验结果

成分	称样量 (m/mg)	样品含量 (m/mg)	加入量 (m/mg)	测得量 (m/mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
桂皮醛	50.74	4.240	3.150	7.362	99.1	97.1	1.5
	51.82	4.331	3.150	7.423	98.2		
	50.53	4.223	3.150	7.230	95.5		
	53.80	4.496	5.249	9.546	96.2		
	51.85	4.333	5.249	9.486	98.2		
	52.20	4.362	5.249	9.382	95.6		
	51.63	4.315	7.349	11.34	95.6		
	50.85	4.250	7.349	11.40	97.3		
丁香酚	51.21	4.280	7.349	11.49	98.1	97.3	1.4
	50.74	28.35	17.20	45.17	97.8		
	51.82	28.96	18.86	47.71	99.4		
	50.53	28.24	18.40	45.93	96.1		
	53.80	30.06	29.57	58.73	97.0		
	51.85	28.97	32.03	60.34	97.9		
	52.20	29.17	30.95	58.81	95.8		
	51.63	28.85	44.63	71.58	95.7		
	50.85	28.42	41.23	68.54	97.3		
	51.21	28.62	41.03	69.17	98.8		

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, 样品测定结果见表 3。

表 3 纯阳正气胶囊挥发油含量测定结果

编号	桂皮醛含量(%)	丁香酚含量(%)
S1	8.4	55.9
S2	10.4	56.6
S3	9.3	57.7
S4	9.4	57.9
S5	9.5	63.8
S6	9.1	66.6

3 讨论

中药复方制剂成分复杂, 对生产工艺环节的挥发油、浸膏等中间体的质量控制很大程度上会影响终产品制剂的质量以及生产效率, 因此对中间体的质量控制方法既要准确、可行, 又要简单、快速。中药特征图谱作为系统全面的质量评价体系, 是复方制剂物质基础研究和质量控制的最佳途径^[21-22]。本文对来自于小试和中试的 15 批挥发油样品进行了气相色谱分析, 通过与挥发油阴性对照色谱的对比研究, 对各色谱成分进行了归属, 其中花椒、丁香、土木香、肉桂、广藿香及苍术均有相应的色谱峰, 但未见姜半夏及白术的相关成分, 推测姜半夏可能是由于挥发油量相对较小或是受其他成分影响未能检出, 白术及苍术挥发油中的苍术酮在薄层色谱中可检出, 但相对不稳定^[23], 后续会

进一步探索。综合色谱峰指认结果以及峰形、峰高等因素^[24],最终确定了 9 个峰作为纯阳正气胶囊挥发油特征谱的特征峰,15 批挥发油的特征图中利用面积归一化法得 9 个特征峰面积占比均在 90% 以上,相似度均在 0.9~1.0 之间,说明挥发油的制备工艺稳定。

本文建立的气相特征谱可从整体上对纯阳正气胶囊挥发油进行控制,根据成品的功能主治及指标成分^[24]对桂皮醛和丁香酚进行含量测定,可从定量基础上更准确地反映挥发油成分的存在情况,故本实验建立的气相特征图谱和挥发油的含量测定方法可分别作为纯阳正气胶囊挥发油的质量控制方法,同时也为后续进一步提升纯阳正气胶囊质量标准提供了有效依据。

【参考文献】

- [1] 陈旭,刘畅,马宁辉,等.肉桂的化学成分、药理作用及综合应用研究进展[J].*中国药房*,2018(18):2581-2584.
- [2] 李莎莎,李凡,李芳,等.丁香的化学成分与药理作用研究进展[J].*西北药学杂志*,2021(5):863-868.
- [3] 许家其,张海红.广藿香作用的研究进展[J].*神经药理学*,2020(3):27-32.
- [4] 欧阳臻,江涛涛,缪亚东,等.苍术的化学成分、道地性和药理活性研究进展[J].*时珍国医国药*,2006(10):1936-1938.
- [5] 左军,张金龙,胡晓阳.白术化学成分及现代药理作用研究进展[J].*辽宁中医药大学学报*,2021(10):6-9.
- [6] 李雪莲,朴惠善.土木香的化学成分及药理作用研究进展[J].*中国现代中药*,2007(6):28-29+50.
- [7] 李哲,玄静,赵振华,等.半夏化学成分及其药理活性研究进展[J].*辽宁中医药大学学报*,2021(11):154-158.
- [8] 王昌亚.对陈皮药理作用的探讨[J].*临床医药文献电子杂志*,2020(15):135.
- [9] 马丽端,于密密,傅欣彤,等.感冒清热颗粒挥发油特征图谱及薄荷酮和胡薄荷酮的含量测定[J].*药物分析杂志*,2012(8):1374-1378.
- [10] 谭霖,严华,张丽艳,等.坤泰胶囊HPLC特征图谱及多成分含量测定方法的研究[J].*药物分析杂志*,2019(9):1673-1682.
- [11] 杜微波,张志强,万莹莹,等.茵陈蒿汤物质基准特征图谱的建立[J].*亚太传统医药*,2021(12):82-86.
- [12] 程艳芹,朱珊,李明春,等.鼻渊净胶囊的HPLC指纹图谱研究[J].*药学实践杂志*,2021(5):431-436.
- [13] 张志军,张桂芝,王朋朋.广藿香挥发油的红外光谱鉴定和气相色谱-质谱分析[J].*中国医药科学*,2015(1):86-88.
- [14] 姚芳,俞腾飞,朱惠珍,等.水蒸气蒸馏与超临界CO₂萃取土木香挥发油的GC-MS分析[J].*中国民族医药杂志*,2008(1):61-62.
- [15] 张怀予,王军节,陈园凡,等.水蒸气蒸馏法提取花椒精油及挥发性成分分析[J].*食品与发酵工业*,2014(7):166-172.
- [16] 李升,郭楚君,张燕,等.气相色谱-质谱技术分析中药丁香挥发油成分[J].*黑龙江医药科学*,2016(4):8-9.
- [17] 金宏,于慧荣,公衍玲.肉桂挥发油GC-MS指纹图谱研究[J].*中国林副特产*,2010(5):28-30.
- [18] 逢健,姜宇珺,马善鹏,等.基于GC-MS法分析比较四种苍术和白术挥发油成分的异同[J].*亚太传统医药*,2020,16(10):60-66.
- [19] 张新新,梁晋如,赵文娜,等.气相色谱法测定瑞克卫消毒液中桂皮醛和丁香酚的含量[J].*西北大学学报(自然科学版)*,2015(2):257-260.
- [20] 曾惠芳,黄耀海,李湘力,等.百草油中薄荷脑、肉桂醛、丁香酚的含量测定[J].*中成药*,2007(4):558-560.
- [21] 赵娟,谢世静,赵兴华,等.中药指纹图谱质控方法研究进展[J].*云南中医中药杂志*,2020(1):82-86.
- [22] 赵晨曦.中药复方制剂指纹图谱质量评价研究进展[J].*临床医药文献电子杂志*,2019(A2):194.
- [23] 李玲辉,窦德强.白术挥发油中苍术酮的稳定性研究[J].*世界科学技术-中医药现代化*,2014(1):193-198.
- [24] 国家药品监督管理局.中药新药质量标准研究技术指导原则(试行)[EB/OL].(2020-10-16).<https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20201016144518188.html>.

【收稿日期】 2021-01-13 【修回日期】 2022-01-31

【本文编辑】 李睿旻

(上接第 552 页)

- [2] 赵元.对乙酰氨基酚:能最小限度地缓解膝关节炎的疼痛[J].*心血管病防治知识(科普版)*,2017(9):52.
- [3] 肖壮,唐涛,孙先润,等.骨关节炎治疗药物的研究进展[J].*中国药房*,2016,27(35):5037-5040.
- [4] 尤启冬.药物化学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2016:257-258.
- [5] 王二兵,赵正保,曲婷丽.⁶⁰Co辐照灭菌对止咳立效口服液主要成分的影响[J].*中成药*,2013,35(9):2056-2058.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)2020版[S].北京:中国医药科技出版社,2020:387.
- [7] 谢笑英,黄文峰.中成药中对乙酰氨基酚含量测定的4种方法及比较[J].*河北医学*,2005,11(6):563-565.
- [8] 孙晶,薛壮.常用解热镇痛药中对乙酰氨基酚含量测定[J].*科技视界*,2014(5):184-185.
- [9] 中华人民共和国卫生部.⁶⁰Co辐照中药灭菌剂量标准(卫药发[1997]第38号文件)[S].1997.
- [10] United States Pharmacopeial Convention. United States Pharmacopoeia [S]. 42 edition. NF37. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention Press, 2019: 292.

【收稿日期】 2021-09-18 【修回日期】 2021-11-24

【本文编辑】 李睿旻