

HPLC 法同时测定沉香化滞丸中 11 种成分

段芳芳¹, 江雯雯¹, 吴珊湖¹, 刘佳卓¹, 杜明荣², 苏梦翔^{1*}

1. 中国药科大学药学院, 江苏 南京 210009

2. 河南省食品药品检验所, 河南 郑州 450003

摘要: **目的** 采用 HPLC 梯度洗脱法同时测定沉香化滞丸中沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、和厚朴酚、大黄素、厚朴酚、木香炔内酯、去氢木香内酯、大黄酚、大黄素甲醚 11 种成分。 **方法** 采用 Thermo Synchronis C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为水-乙腈, 梯度洗脱: 0~10 min, 20%乙腈; 10~20 min, 20%~40%乙腈; 20~24 min, 40%乙腈; 24~26 min, 40%~52%乙腈; 26~30 min, 52%乙腈; 30~31 min, 52%~90%乙腈; 31~35 min, 90%乙腈; 35~40 min, 90%~100%乙腈; 40~43 min, 100%乙腈; 43~45 min, 100%~20%乙腈; 检测波长 215 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL。 **结果** 各成分在 43 min 内分离良好, 沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、和厚朴酚、大黄素、厚朴酚、木香炔内酯、去氢木香内酯、大黄酚、大黄素甲醚的线性范围分别为 1.4~13.6、10.0~200.0、31.5~315.0、1.0~120.1、1.8~50.6、0.93~10.1、1.8~30.0、0.2~40.3、1.8~18.1、1.7~25.0、0.45~10.70 μg/mL; 样品中各成分的平均回收率均在 98.90%~100.87%; 11 种成分精密度 RSD 在 0.55%~1.54%; 供试品溶液在 30 h 内稳定性良好, RSD 在 0.75%~1.94%; 重复性 RSD 在 0.39%~1.73%。6 批次样品中沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、和厚朴酚、大黄素、厚朴酚、木香炔内酯、去氢木香内酯、大黄酚、大黄素甲醚质量分数分别为 92.0~201.0、511.5~9 033.0、5 475.0~12 635.5、54.5~5 095.5、192.0~2 137.5、117.0~391.5、106.5~1 281.5、13.0~136.5、93.5~199.0、177.0~1 207.0、33.5~251.5 μg/g。 **结论** 本方法准确、快速、简便, 重复性好, 精密度高, 适用于沉香化滞丸中多种活性成分的定量分析。

关键词: 沉香化滞丸; HPLC; 沉香四醇; 柚皮苷; 橙皮苷; 新橙皮苷; 和厚朴酚; 大黄素; 厚朴酚; 木香炔内酯; 去氢木香内酯; 大黄酚; 大黄素甲醚

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2019)09-2094-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.09.013

Simultaneous determination of eleven constituents in Chenxiang Huazhi Pills by HPLC

DUAN Fang-fang¹, JIANG Wen-wen¹, WU Shan-hu¹, LIU Jia-zhuo¹, DU Ming-luo², SU Meng-xiang¹

1. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

2. Henan Provincial Institute of Food and Drug Control, Zhengzhou 450003, China

Abstract: **Objective** To develop an HPLC method for simultaneous determination of the eleven constituents (agaric-alcohol, naringin, hesperidin, neohesperidin, honokiol, emodin, magnolol, costunolide, dehydrocostus, chrysophanol, and physcion) in Chenxiang Huazhi Pills (CHP) by HPLC with gradient elution. **Methods** The chromatographic separation was performed on an Thermo Synchronis C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) which was operated at 30 °C. The mobile phase was a linear gradient prepared from water (A) and acetonitrile (B). The linear gradient elution program was programmed as follows: 0—10 min, 20% acetonitrile; 10—20 min, 20%—40% acetonitrile; 20—24 min, 40% acetonitrile; 24—26 min, 40%—52% acetonitrile; 26—30 min, 52% acetonitrile; 30—31 min, 52%—90% acetonitrile; 31—35 min, 90% acetonitrile; 35—40 min, 90%—100% acetonitrile; 40—43 min, 100% acetonitrile; 43—45 min, 100%—20% acetonitrile. The flow rate was 1 mL/min and the detection wavelength was 215 nm. **Results** The analysis permitted very good separation of eleven constituents within 43 min. A good linear relationship between the peak area and the injection volume was obtained. The ranges of the eleven constituents were 1.4—13.6, 10.0—200.0, 31.5—315.0,

收稿日期: 2019-01-31

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目 (201410316060); 大学生创新药物研制能力提高项目 (J1030830)

作者简介: 段芳芳 (1994—), 女, 研究生, 从事药学研究。Tel: (025)83271350 E-mail: dffcindyuan@foxmail.com

*通信作者 苏梦翔 (1979—), 男, 副教授, 硕士生导师, 从事药物分析研究。E-mail: sumengxiang@cpu.edu.cn

1.0—120.1, 1.8—50.6, 0.93—10.1, 1.8—30.0, 0.2—40.3, 1.8—18.1, 1.7—25.0, and 0.45—10.70 $\mu\text{g/mL}$. The average recoveries of eleven constituents in the samples were in the range of 98.90%—100.87%. The precision RSD of the peak areas of the 11 components ranged from 0.55%—1.54%; Eleven components had good stability within 30 h, and the concentration RSD of each component ranged from 0.75% to 1.94%; The repeatability RSD of each component ranged from 0.39% to 1.73%. The content of agaric-alcohol, naringin, hesperidin, neohesperidin, honokiol, emodin, magnolol, costunolide, dehydrocostus, chrysophanol, and physcion in six batches were 92.0—201.0, 511.5—9 033.0, 5 475.0—12 635.5, 54.5—5 095.5, 192.0—2 137.5, 117.0—391.5, 106.5—1 281.5, 13.0—136.5, 93.5—199.0, 177.0—1 207.0, and 33.5—251.5 $\mu\text{g/g}$, respectively. **Conclusion** The method is accurate, rapid and simple with high sensitivity, precision and repeatability, which has been successfully applied as an effective tool for the multicomponent analysis of CHP.

Key words: Chenxiang Huazhi Pills; HPLC; agaric-alcohol, naringin; hesperidin; neohesperidin; honokiol; emodin; magnolol; costunolide; dehydrocostus; chrysophanol; physcion

沉香化滞丸 (Chenxiang Huazhi Pills, CHP) 是经过多年临床验证的中药成方制剂, 起源于明代龚廷贤编写的《万病回春》和《寿世保元》^[1]。该药由沉香、大黄、香附 (制)、厚朴 (制)、莪术 (制)、牵牛子 (炒)、陈皮、枳实 (炒)、木香、青皮、三棱 (制)、砂仁、威灵仙、五灵脂 (制)、山楂 (炒) 等 15 味药物组成, 具有理气化滞的功效, 对于饮食停滞所致的胸膈胀满、消化不良、吞酸嘈杂、腹胀满等症状均有很好的疗效。该药原标准收载于卫生部药品标准《中药成方制剂 (第九册)》^[2]; 现收录于《国家中成药标准汇编 (内科脾胃分册)》^[3], 该标准中的仅对大黄素这一单组分指标进行了含量测定, 无法全面地反映产品的质量。因此, 建立多组分质量控制方法对提升本品的质量控制水平具有重要意义。有文献报道了 HPLC 法测定沉香化滞丸中的大黄酚和大黄素含量^[4-5], 以及橙皮苷含量^[6-9], 未见更多组分同时在沉香化滞丸中测定的报道; HPLC 法测定其他药物中沉香四醇^[10-11], 柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷^[12-17], 和厚朴酚、大黄素、厚朴酚、大黄酚、大黄素甲醚^[18-19], 木香炔内酯、去氢木香内酯^[20-21]的含量均有报道且相关技术方法成熟。本实验建立 HPLC 法同时对沉香化滞丸中大黄、厚朴、木香、枳壳中 11 个指标性成分大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、厚朴酚、和厚朴酚、木香炔内酯、去氢木香内酯、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、沉香四醇进行定量测定的方法, 并对国内 4 个厂家 A1、A2、A3、A4 的 6 个批次产品进行了多指标质量综合评价, 为进一步提高该药的质量标准提供了依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-2010CHT 型高效液相色谱仪、LC Solutions 色谱数据工作站、UV-1700 紫外可见分光光度计,

日本岛津公司; BS 21S 分析天平、BS A124S 分析天平, 德国赛多利斯公司; KQ-250DE 型医用数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; Milli-Q 超纯水器, 美国密理博公司。

1.2 试剂

无水甲醇、氯仿, 分析纯, 购于南京化学试剂有限公司; DMSO, 色谱纯, 购于 Aladdin 试剂 (上海) 有限公司; 乙腈, 色谱纯, 美国 Tedia 公司; 实验用去离子水经 Milli-Q 净化系统纯化。

1.3 对照品

厚朴酚 (批号 110729-200412, 质量分数 98%)、和厚朴酚 (批号 110730-201313, 质量分数 98%)、木香炔内酯 (批号 111524-201208, 质量分数 98%)、大黄素 (批号 110756-200110, 质量分数 99%)、大黄酚 (批号 110796-201118, 质量分数 98%)、大黄素甲醚 (批号 110758-201013, 质量分数 98%)、新橙皮苷 (批号 111857-201102, 质量分数 98%)、沉香四醇 (批号 111980-201602, 质量分数 98%) 均购于中国食品药品检定研究院; 橙皮苷 (批号 DST180619-038, 质量分数 98%)、柚皮苷 (批号 DST180601-099, 质量分数 99%)、去氢木香内酯 (批号 DST170413-042, 质量分数 98%) 均购于成都德思特生物技术有限公司。

1.4 供试品

沉香化滞丸: A1 (批号 12160805)、A2 (批号 16110221、15082721)、A3 (批号 003805、005604)、A4 (批号 180907), 均购买于零售药店; 处方中的沉香、大黄、香附 (制)、厚朴、莪术 (制)、牵牛子 (炒)、陈皮、枳实 (炒)、木香、青皮、三棱 (制)、砂仁、威灵仙、五灵脂 (制)、山楂 (炒) 等 15 味中药材均购买于零售药店, 所购买的药材均经中国药科大学中药学院生药系副教授杨杰鉴定, 沉香为

瑞香科植物白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg 含有树脂的木材, 大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根和根茎, 香附(制)为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎的醋炙品, 厚朴为木兰科植物湖北凹叶厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils. 的干燥干皮, 莪术(制)为姜科植物广西莪术 *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 的干燥根茎的醋制品, 牵牛子(炒)为旋花科植物江西圆叶牵牛 *Pharbitis purpurea* (L.) Voigt 的干燥成熟种子的炒制品, 陈皮为芸香科植物浙江橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮, 枳实(炒)为芸香科植物四川酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥幼果的麸炒制品, 木香为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根, 青皮为芸香科植物四川橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的未成熟果实的果皮, 三棱(制)为黑三棱科植物黑三棱 *Sparganium stoloniferum* Buch. -Ham. 的干燥块茎的醋炙品, 砂仁为姜科植物广东阳春砂 *Amomum villosum* Lour. 的干燥成熟果实, 威灵仙为东北铁线莲(黑薇) *Clematis manshurica* Rupr. 的干燥根及根茎, 五灵脂(制)为鼯鼠科动物橙足鼯鼠 *Trogopterus xanthipes* Milne-Edwards 的干燥粪便的净制品, 山楂(炒)本品为蔷薇科植物山楂 *Crataegus pinnatifida* Bge. 的干燥成熟果实的炒制品。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液的制备 分别精密称取沉香四醇、柚皮苷、新橙皮苷、和厚朴酚、厚朴酚、木香烯内酯、去氢木香内酯对照品适量, 分别加甲醇制成含沉香四醇 0.872 mg/mL、柚皮苷 0.870 mg/mL、新橙皮苷 0.450 mg/mL、和厚朴酚 0.945 mg/mL、厚朴酚 2.20 mg/mL、木香烯内酯 1.0 mg/mL、去氢木香内酯 0.843 mg/mL 的单一成分对照品储备液; 另精密称取大黄素、橙皮苷对照品适量, 加 DMSO-甲醇(1:9)混合溶剂制成含大黄素 1.057 mg/mL、橙皮苷 1.040 mg/mL 的对照品储备液; 另精密称取大黄酚、大黄素甲醚对照品适量, 加氯仿-乙腈(1:9)混合溶剂制成含大黄酚 1.003 mg/mL、大黄素甲醚 1.138 mg/mL 的对照品储备液。精密吸取上述对照品储备液适量至 25 mL 量瓶中, 加甲醇制成含沉香四醇 7.9 μg/mL、柚皮苷 7.9 μg/mL、橙皮苷 9.45 μg/mL、新橙皮苷 4.1 μg/mL、大黄素 9.14 μg/mL、

和厚朴酚 8.6 μg/mL、木香烯内酯 9.1 μg/mL、去氢木香内酯 7.64 μg/mL、厚朴酚 10.0 μg/mL、大黄酚 9.09 μg/mL、大黄素甲醚 6.91 μg/mL 的混合对照品溶液。上述溶液于 4 ℃冰箱保存备用。

2.1.2 供试品溶液的制备 取供试品 100 丸, 精密称定, 计算平均丸质量, 研磨并混合均匀, 取约 1 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声(功率 250 W, 频率 40 kHz)处理 60 min, 放冷至室温, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取滤液作为供试品溶液。

2.1.3 阴性对照溶液的制备 按沉香化滞丸处方比例和工艺分别制备缺沉香、大黄、厚朴、木香、枳实、陈皮、青皮药材的阴性对照样品; 缺沉香、大黄的阴性对照样品; 缺青皮、陈皮、枳实药材的阴性对照样品; 缺厚朴、木香药材的阴性对照样品, 并按“2.1.2”项方法制成各阴性对照溶液。

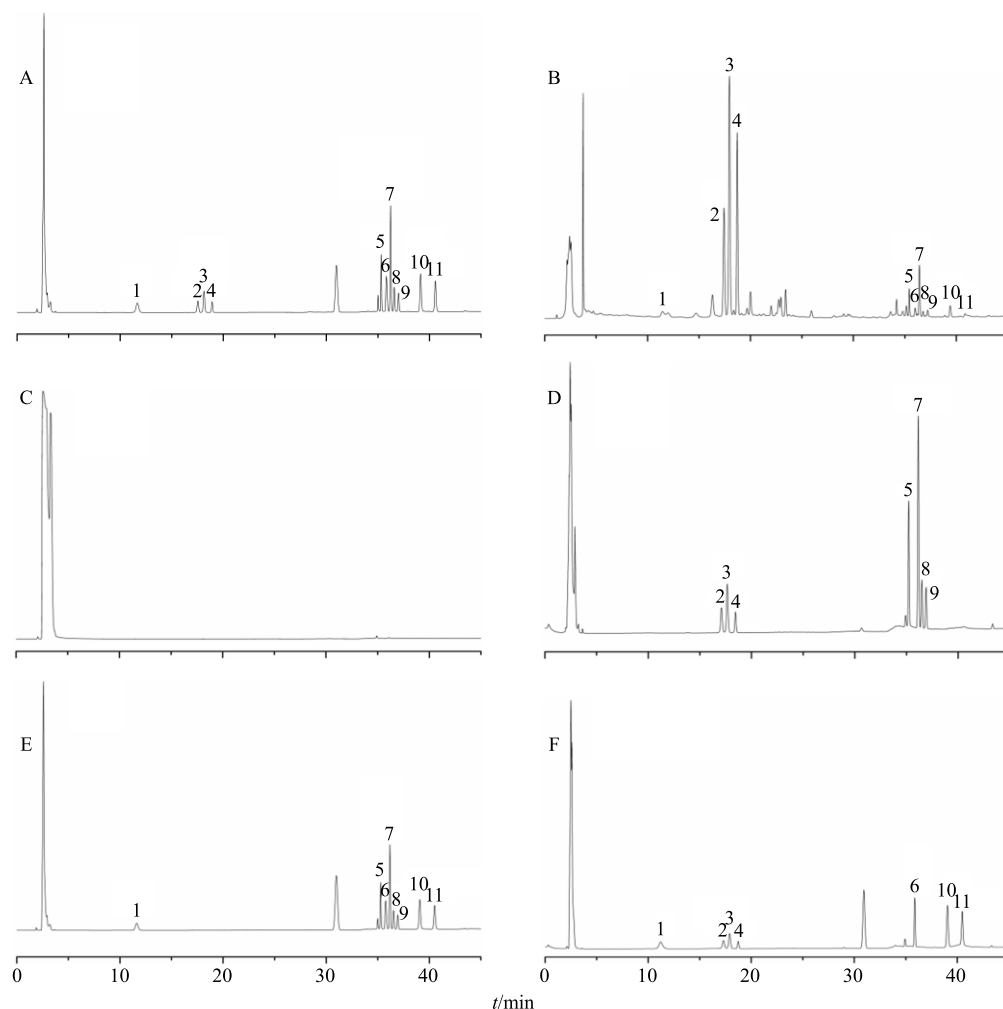
2.2 色谱条件

色谱柱为 Thermo Synchronis C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm, SN: 0413538N); 流动相为水-乙腈, 梯度洗脱: 0~10 min, 20%乙腈; 10~20 min, 20%~40%乙腈; 20~24 min, 40%乙腈; 24~26 min, 40%~52%乙腈; 26~30 min, 52%乙腈; 30~31 min, 52%~90%乙腈; 31~35 min, 90%乙腈; 35~40 min, 90%~100%乙腈; 40~43 min, 100%乙腈; 43~45 min, 100%~20%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长为 215 nm; 柱温 30 ℃; 进样量 20 μL。

在上述色谱条件下的混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液等的色谱图见图 1。结果表明 11 个组分理论塔板数均不低于 3 000, 分离度>1.5, 阴性对照不干扰测定, 本法具有较强的专属性。

2.3 线性关系考察

按“2.1.1”项下方法另制备对照品溶液, 用甲醇逐级稀释得到系列不同质量浓度的混合对照品溶液, 分别取 20 μL 进样, 以进样质量浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程分别为沉香四醇 $Y=60\ 730 X-9\ 330$, $r=0.999\ 0$, 线性范围 1.4~13.6 μg/mL; 柚皮苷 $Y=16\ 562 X-207\ 27$, $r=0.999\ 2$, 线性范围 10.0~200.0 μg/mL; 橙皮苷 $Y=17\ 486 X-516\ 214$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 31.5~315.0 μg/mL; 新橙皮苷 $Y=14\ 630 X-4\ 492$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 1.0~



1-沉香四醇 2-柚皮苷 3-橙皮苷 4-新橙皮苷 5-和厚朴酚 6-大黄素 7-厚朴酚 8-木香炔内酯 9-去氢木香内酯 10-大黄酚 11-大黄素甲醚
1-agaric alcohol 2-naringin 3-hesperidin 4-neohesperidin 5-honokiol 6-emodin 7-magnolol 8-costunolide 9-dehydrocostus lactone
10-chrysophanol 11-physcion

图 1 混合对照品 (A), 供试品 (B), 缺沉香、大黄、厚朴、木香、枳实、陈皮、青皮 (C), 缺沉香、大黄 (D), 缺青皮、陈皮、枳实 (E), 缺厚朴、木香药材的阴性样品 (F) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances (A), sample (B), blank sample without agarwood, rhubarb, magnolia, woody, sturdy, tangerine peel, green skin (C), blank sample without agarwood and rhubarb (D), blank sample without green skin, tangerine peel, and sturdy (E), blank sample without magnolia and woody (F)

120.1 $\mu\text{g/mL}$; 和厚朴酚 $Y=102\ 692\ X+80\ 139$, $r=0.999\ 2$, 线性范围 1.8~50.6 $\mu\text{g/mL}$; 大黄素 $Y=89\ 416\ X-5\ 539$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 0.93~10.1 $\mu\text{g/mL}$; 厚朴酚 $Y=210\ 555\ X+93\ 175$, $r=0.999\ 0$, 线性范围 1.8~30.0 $\mu\text{g/mL}$; 木香炔内酯 $Y=53\ 625\ X+2\ 228$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 0.2~40.3 $\mu\text{g/mL}$; 去氢木香内酯 $Y=50\ 516\ X-34\ 461$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 1.8~18.1 $\mu\text{g/mL}$; 大黄酚 $Y=117\ 968\ X+3\ 474$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 1.7~25.0 $\mu\text{g/mL}$; 大黄素甲醚 $Y=197\ 878\ X-2\ 027$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 0.45~10.70 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4 精密度考察

精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液 20 μL , 连续进样 6 次, 测得沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、和厚朴酚、大黄素、厚朴酚、木香炔内酯、去氢木香内酯、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 1.07%、1.54%、0.89%、0.69%、0.55%、0.63%、1.53%、1.07%、0.58%、1.17%、0.70%, 结果表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液 (A1-12160805 批) 20 μL , 分别在 0、2、4、8、10、12、30 h 进样分

析,测得沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、和厚朴酚、大黄素、厚朴酚、木香炔内酯、去氢木香内酯、去氢木香内酯、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 1.26%、1.16%、1.72%、1.14%、1.27%、1.47%、1.41%、1.62%、1.94%、0.75%、1.73%,表明供试品溶液在 30 h 内稳定性良好。

2.6 重复性试验

分别精密称取同一批次(A1-12160805 批)样品溶液 6 份,依次进样 20 μL ,结果测得沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、和厚朴酚、大黄素、厚朴酚、木香炔内酯、去氢木香内酯、去氢木香内酯、大黄酚、大黄素甲醚质量分数的 RSD 分别为 1.70%、0.60%、0.39%、0.50%、1.62%、0.81%、1.39%、1.69%、1.09%、1.73%、1.27%,表明本方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

取同一批样品(A1-12160805 批)约 0.5 g,精密称定,精密加入沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、和厚朴酚、大黄素、厚朴酚、木香炔内酯、去氢木香内酯、去氢木香内酯、大黄酚、大黄素甲醚的对照品储备液各适量按“2.1.2”项下方法制备成加样供试品溶液,平行制样 6 份;精密吸取加样供试液 20 μL ,注入液相色谱仪,在“2.2”项色谱条件下分别进样进行测定,计算回收率,结果沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、和厚朴酚、大黄素、厚朴酚、

木香炔内酯、去氢木香内酯、大黄酚、大黄素甲醚的平均回收率分别为 100.08%、100.28%、99.11%、100.80%、100.80%、100.23%、99.62%、99.91%、98.90%、100.42%、100.87%,RSD 分别为 1.16%、1.13%、1.21%、1.02%、0.87%、0.70%、1.23%、1.42%、0.60%、1.02%、1.15%。

2.8 样品测定

取 4 个厂家共 6 批样品,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,每批样品制备 5 份,在上述色谱条件下测定 11 种成分,结果见表 1。根据《国家中成药标准汇编(内科脾胃分册)》^[3],该标准中沉香化滞丸仅对大黄素这一单组分指标进行了含量测定,每丸(9 g)含大黄以大黄素计,不得少于 0.75 mg。本研究结果表明 4 个厂家的 6 批产品中大黄素含量均符合现行国家标准的规定。但是批次之间的横向比较发现很多组分的测定结果差别较大,说明市场上沉香化滞丸质量差异大,本品需要进一步加强质量控制,也进一步证明本实验建立的多组分质量控制方法,对提升本品的质量控制水平具有重要参考意义。

3 讨论

3.1 评价指标的选择

在该药的组方中,沉香为君药,同时也是贵重药材,《中国药典》2010 年版收录的“沉香”药材

表 1 6 批供试品中 11 种成分定量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Quantitative determination of 11 components in six batches of samples ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

批号	质量分数/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)					
	沉香四醇	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷	和厚朴酚	大黄素
12160805	188.21 $\pm$ 4.12	5 044.79 $\pm$ 7.25	7 355.97 $\pm$ 5.80	5 245.88 $\pm$ 7.18	282.08 $\pm$ 6.50	119.14 $\pm$ 3.90
16110221	163.18 $\pm$ 2.80	2 915.58 $\pm$ 4.12	6 329.62 $\pm$ 3.98	1 393.50 $\pm$ 4.00	950.91 $\pm$ 3.85	337.94 $\pm$ 4.88
15082721	105.83 $\pm$ 0.98	639.33 $\pm$ 2.95	12 322.01 $\pm$ 7.69	573.00 $\pm$ 2.18	176.89 $\pm$ 5.29	294.33 $\pm$ 3.46
003805	112.69 $\pm$ 1.40	2 421.14 $\pm$ 3.01	8 717.46 $\pm$ 3.29	1 651.48 $\pm$ 2.98	747.34 $\pm$ 3.09	305.51 $\pm$ 3.34
005604	141.58 $\pm$ 1.22	8 930.36 $\pm$ 3.78	5 618.81 $\pm$ 3.82	55.94 $\pm$ 0.55	431.25 $\pm$ 2.59	356.43 $\pm$ 3.62
180907	117.41 $\pm$ 3.47	4 170.85 $\pm$ 1.31	5 611.37 $\pm$ 1.11	4 157.03 $\pm$ 1.13	2 328.00 $\pm$ 1.21	107.51 $\pm$ 3.66
批号	质量分数/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)					
	厚朴酚	木香炔内酯	去氢木香内酯	大黄酚	大黄素甲醚	
12160805	347.96 $\pm$ 8.59	144.71 $\pm$ 3.16	204.58 $\pm$ 1.50	171.48 $\pm$ 5.67	32.86 $\pm$ 0.18	
16110221	907.91 $\pm$ 3.94	72.95 $\pm$ 0.77	151.72 $\pm$ 3.60	814.47 $\pm$ 5.66	175.64 $\pm$ 3.41	
15082721	92.61 $\pm$ 1.46	12.47 $\pm$ 0.24	138.78 $\pm$ 7.11	525.02 $\pm$ 9.25	115.52 $\pm$ 3.01	
003805	552.22 $\pm$ 3.04	121.10 $\pm$ 2.31	112.54 $\pm$ 1.97	460.09 $\pm$ 3.63	122.10 $\pm$ 4.85	
005604	381.90 $\pm$ 2.67	16.73 $\pm$ 0.45	192.90 $\pm$ 3.52	1 173.56 $\pm$ 3.53	240.22 $\pm$ 5.49	
180907	1 371.07 $\pm$ 1.50	57.92 $\pm$ 0.42	106.13 $\pm$ 0.84	339.20 $\pm$ 0.93	69.10 $\pm$ 0.60	

标准中未设置含量测定项目, 仅仅通过鉴别来控制真伪^[22];《中国药典》2015 年版对“沉香”质量标准进行了大幅提升, 不仅对沉香四醇采用对照品外标法进行了含量测定, 而且规定了特征色谱图^[23]。大黄、木香、枳壳为臣药, 其主要活性特征成分分别为大黄素、大黄酚、大黄素甲醚, 木香炔内酯、去氢木香内酯, 柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷; 厚朴为佐药, 其主要有效成分分别为厚朴酚、和厚朴酚。因此, 本研究选择的 11 个代表性组分, 能相对全面地反映沉香化滞丸的代表性活性成分, 而且 11 个对照品都能从中检院或生物技术公司获得稳定的供应, 对该产品的质量标准提高提供了技术依据。

3.2 对照品配制和样品前处理方法的优化

在配制高浓度的大黄素、橙皮苷对照品储备液时发现其在甲醇中的溶解性较差, 经试验后选用 DMSO-甲醇(1:9)的混合溶剂可解决溶解性问题; 大黄酚和大黄素甲醚用 DMSO-甲醇也不易溶解, 经试验后选用氯仿-乙腈(1:9)的混合溶剂可解决溶解性问题。虽然在对照品色谱图中会出现 DMSO 溶剂和氯仿的色谱峰(图 1), 但并不干扰 11 个组分的定量分析。供试品的制备比较了超声提取法和回流提取法, 结果回流提取与超声提取结果差别不大, 超声提取简单方便, 故采用超声提取法。在溶剂选择上, 对甲醇、乙醇进行比较, 显示甲醇提取效率高。通过对提取溶剂倍数(10、50 和 100 倍)和提取时间(0.5、1、2 h)的考察, 综合考虑提取效率和溶剂用量, 选择 50 倍量甲醇超声提取 1 h。

3.3 色谱条件的优化

对 11 个组分的适当质量浓度的对照品溶液(流动性为背景)进行了紫外扫描, 结果显示最大吸收波长各有不同, 但都有末端吸收, 为兼顾所有组分的检测, 选择了 215 nm 为检测波长, 方法学验证表明其灵敏度和回收率均能满足要求。比较了汉邦 Hedra ODS-2、Thermo Synchronis C₁₈ 和 Waters-C₁₈ 色谱柱, 发现 Thermo Synchronis C₁₈ 色谱柱色谱柱分离效果及峰形更好。考察了甲醇-乙腈、磷酸-水以及甲酸-水溶液组成的流动相体系, 结果表明选用简单的乙腈-水作为流动相, 配合梯度优化就能使各成分获得良好的基线分离, 峰形对称, 保留时间适当。试验还考察不同柱温(30、35、40 ℃)对 11 个活性成分的分离度的影响, 结果表明柚皮苷(峰 2)和橙皮苷(峰 3), 以及和厚朴酚(峰 7)和木香炔内酯(峰 8)在 30 ℃时可以达到基线分离, 在其他

温度下两两之间分离效果较差。考察了 0.8 和 1.0 mL/min 体积流量对 10 个活性成分的分离度的影响, 2 种体积流量对厚朴酚、和厚朴酚、木香炔内酯、去氢木香内酯、大黄酚、大黄素甲醚的分离度影响不大, 但是柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、大黄素在 0.8 mL/min 时分离效果较差, 最终选择 1.0 mL/min 体积流量。

3.4 方法应用

本品种目前执行的是《国家中成药标准汇编(内科脾胃分册)》, 该标准中沉香化滞丸仅对大黄素这一单组分指标进行了含量测定, 规定每丸(9 g)含大黄以大黄素计不得少于 0.75 mg, 研究发现 4 个厂家的 6 批产品的大黄素含量均符合现行国家标准规定。对 4 个厂家的 6 批产品对比分析发现, 11 个组分的含量在不同厂家之间存在一定差异, 例如新橙皮苷在不同厂家产品的含量可相差约 10 倍, 这可能与不同厂家的原料来源, 以及生产工艺不同有关系。生产厂家应加强原料来源和质量的把控, 规范成熟的制剂工艺才能保障中药制剂质量的稳定性。本实验建立的多组分质量控制方法对进一步完善该产品的质量标准有一定的参考意义。

参考文献

- [1] 金世元. 历代中成药选介 [J]. 北京中医杂志, 1991(2): 33-35.
- [2] 卫生部颁药品标准 (中药成方制剂): 第九册 [S]. 1995.
- [3] 国家中成药标准汇编: 内科脾胃分册 [S]. 2002.
- [4] 徐成志. HPLC 法测定沉香化滞丸中大黄素、大黄酚的含量 [J]. 安徽医药, 2006, 10(12): 924-925.
- [5] 苏瑞林, 侯 凯, 徐 华, 等. HPLC 法测定沉香化滞丸中的大黄酚和大黄素的含量 [J]. 北方药学, 2006, 3(4): 12-14.
- [6] 郭巧技, 肖丽和, 熊 英. HPLC 法测定沉香化滞丸中橙皮苷的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(10): 32-33.
- [7] 郭巧技, 肖丽和, 熊 英. 沉香化滞丸质量标准研究 [J]. 中国药房, 2010, 21(7): 632-634.
- [8] 梅全喜, 林焕泽, 李红念. 沉香的药用历史、品种、产地研究应用浅述 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2013, 11(8): 85-88.
- [9] 张玉洁, 李和平, 张晓珂. 沉香化滞丸质量标准研究 [J]. 时珍国医国药, 2001, 12(8): 702-703.
- [10] 顾宇凡, 张 倩, 霍会霞, 等. HPLC-DAD 测定沉香药材中沉香四醇的含量 [J]. 世界科学技术—中医药现代

- 化, 2014, 16(12): 2643-2646.
- [11] 那顺白乙拉, 孟 和. HPLC 法测定清心沉香八味散中沉香四醇的含量 [J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(12): 11-13.
- [12] 宋剑锋, 冯敬骞, 胡建华, 等. HPLC 法同时测定常山胡柚花中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的量 [J]. 中草药, 2014, 45(6): 854-856.
- [13] 凌宁生, 杨 瑾, 律兆荣, 等. HPLC 法测定胃肠安丸中柚皮苷 [J]. 中草药, 2005, 36(12): 1815-1816.
- [14] 严晓丽, 闫倩倩, 刘晓政, 等. 高效液相色谱法测定衢枳壳中新橙皮苷及柚皮苷 [J]. 食品研究与开发, 2018, 39(21): 161-166.
- [15] 彭玲娜, 丁 野, 孙 辉, 等. HPLC 法同时测定胃痛丸中柚皮苷、新橙皮苷的含量 [J]. 中国药师, 2017, 20(6): 1112-1114.
- [16] 李 松, 浦香兰. HPLC-DAD 法测定接骨丸中芍药苷、柚皮苷、橙皮苷、丹酚酸 B 和丹参酮 II_A [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(2): 153-156.
- [17] 王景文, 邢晓东. HPLC 法测定宁嗽化痰丸中的橙皮苷 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(3): 269-271.
- [18] 刘 翔. HPLC 法测定麻仁丸中厚朴酚、和厚朴酚、大黄素和大黄酚 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 582-583.
- [19] 蒙 毅, 范卫锋, 钟一雄, 等. HPLC 法测定红穿破石中大黄素和大黄素甲醚 [J]. 中草药, 2007, 38(9): 1410-1411.
- [20] 焦正花, 刘效栓, 杨金草. RP-HPLC 测定藏药六味木香丸中木香烯内酯和去氢木香内酯含量 [J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(10): 94-96.
- [21] 常 炜. HPLC 法测定智托洁白丸中木香烯内酯和去氢木香内酯 [J]. 中成药, 2011, 33(11): 1923-1926.
- [22] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [23] 中国药典 [S]. 一部. 2015.