

· 中药工业 ·

GC 测定香砂养胃丸中乙酸龙脑酯、龙脑及樟脑的含量

程雅婷^{1*}, 王晓云¹, 王学涛^{1*}, 王艳博¹, 庞静¹, 刘凯娜¹, 郑斓²

1. 秦皇岛市食品药品检验中心, 河北 秦皇岛 066004; 2. 正大青春宝药业有限公司, 浙江 杭州 310000

[摘要] 目的: GC 测定香砂养胃丸中乙酸龙脑酯、龙脑和樟脑的含量, 以控制药品的有效性。方法: ACQUITY Agilent Technologies, Inc. DB-1(30 m × 0.320 mm, 0.50 μm) 色谱柱, 载气: 氮气, 流速 4.0 mL·min⁻¹, 进样量: 1 μL, 进样方式: 分流进样, 分流比: 10:1, 进样口温度: 230 °C, 梯度升温程序: 初始温度: 60 °C, 5 °C·min⁻¹ 升温至 130 °C, 保持 5 min, 20 °C·min⁻¹ 升温至 230 °C, 保持 5 min。检测器: FID 检测器, 检测器温度: 280 °C。结果: 乙酸龙脑酯、龙脑、樟脑 3 种成分分别在 0.807 3~322.903 2、0.647 6~259.036 8、1.014 1~405.657 0 ng 线性关系良好, 精密度、稳定性、重复性 RSD 均低于 3.0%, 平均加样回收率分别为 83.54% (RSD = 2.82%)、98.23% (RSD = 2.78%)、87.07% (RSD = 3.01%)。结论: 该方法准确、可靠, 可用于香砂养胃丸中 3 种成分的含量测定。

[关键词] 香砂养胃丸; 乙酸龙脑酯; 龙脑; 樟脑; 砂仁; 气相色谱法

[中图分类号] R286; R944.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)08-1114-04

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20181112004

Determination of Bornyl Acetate, Borneol and Camphor in Xiangsha Yangwei Pills by GC

CHENG Ya-ting^{1*}, WANG Xiao-yun¹, WANG Xue-tao^{1*}, WANG Yan-bo¹, PANG Jing¹,LIU Kai-na¹, ZHENG Lan²

1. Qinhuangdao Food and Drug Inspection Center, Qinhuangdao 066004, China;

2. Zhengda Qingchunbao Pharmaceutical Limited Company, Hangzhou, Zhejiang 310000, China

[Abstract] **Objective:** To establish a method using GC to measure bornyl acetate, borneol and camphor in Xiangshayangwei pills for effectiveness control. **Methods:** Agilent DB-1(30 m × 0.320 mm, 0.50 μm) chromatographic column was used for detection, carrier gas was nitrogen at a flow rate of 4.0 mL·min⁻¹. The injection volume was 1 μL and the split ratio was 10:1. The inlet temperature was 230 °C, the initial column temperature was 60 °C and was programmed at 5 °C·min⁻¹ to 130 °C and held for 5 min, then at 20 °C·min⁻¹ to 230 °C and held for 5 min. The detector was FID at 280 °C. **Results:** The linear relationship were all good when bornyl acetate was 0.807 3~322.903 2 ng, borneol was 0.647 6~259.036 8 ng and camphor was 1.014 1~405.657 0 ng. The RSD on precision, stability and repeatability were all below 3.0%, sample recovery rates were 83.54% (RSD = 2.82%), 98.23% (RSD = 2.78%) and 87.07% (RSD = 3.01%). **Conclusion:** The proposed method was accurate and reliable, it can be used in the measuring bornyl acetate, borneol and camphor in Xiangshayangwei pills.

[Keywords] Xiangsha Yangwei pills; bornyl acetate; borneol; camphor; Fructus Amomi; GC

香砂养胃丸为纳入我国基本医疗保险目录的甲类非处方药, 由木香、砂仁、白术、陈皮、茯苓、半夏(制)、醋香附、枳实(炒)、豆蔻(去壳)、姜厚朴、广藿香、甘草、生姜、大枣十四味药组成, 具有温中和胃的功效^[1]。香砂养胃丸中砂仁醒脾开胃, 与白术、木香共为君药, 起主要治疗作用。砂仁为

姜科植物阳春砂、绿壳砂或海南砂的干燥成熟果实^[1], 主要活性成分为乙酸龙脑酯、樟脑、龙脑等挥发油, 具有抗溃疡、抗炎、镇痛、抗菌、止泻等药理作用^[2-6]。豆蔻挥发油亦含少量乙酸龙脑酯^[6-7]。香砂养胃丸的现行质量标准《中华人民共和国药典》2015年版一部, 其中并未收载砂仁

* [通信作者] 程雅婷, 主管中药师, 研究方向: 中药鉴定, 标准提高; E-mail: 583873821@qq.com
王学涛, 主管药师, 研究方向: 药物分析, 标准提高; E-mail: 247487493@qq.com

的含量测定方法,现有的针对香砂养胃丸的研究也多为白术、厚朴、香附的质量控制^[8-10]。笔者采用气相色谱^[11](GC)测定香砂养胃丸中乙酸龙脑酯、龙脑及樟脑的含量^[12],对控制药品的有效性有重要意义。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 7890A 气相色谱仪;METTLER TOLEDO AG-135 电子天平。

1.2 试药

乙酸龙脑酯对照品(批号:110759-201105,含量:99.6%)、龙脑对照品(批号:110881-201508,含量:96.8%)、樟脑对照品(批号:110747-201409,含量:98.7%)均购于中国食品药品检定研究院;无水乙醇、环己烷均为分析纯(天津市光复科技发展有限公司)。

香砂养胃丸 15 批,保定中药制药有限公司生产,批号分别为 161206(S1)、161005(S2);北京御生堂集团石家庄制药有限公司生产,批号分别为 16014003(S3)、16114008(S4);河南明善堂药业有限公司生产,批号为 161212(S5);山西旺龙药业集团有限公司生产,批号为 20151204(S6);石药集团河北永丰药业有限公司生产,批号分别为 10516080514(S7)、10516110114(S8)、10517010214(S9);药都制药集团股份有限公司生产,批号分别为 161201(S10)、170401(S11);湖北瑞华制药有限责任公司生产,批号分别为 161220(S12)、170521(S13);河北万岁药业有限公司生产,批号为 161002(S14);河南金鸿堂制药有限公司生产,批号为 20160401(S15)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent 7890A 气相色谱仪,Agilent Technologies Inc. DB-1 (30 m×0.320 mm, 0.50 μm) 色谱柱,进样口温度:230℃;载气为氮气,流速为 4.0 mL·min⁻¹,氮气-氢气-空气(1:1:10),进样量为 1 μL,进样方式为分流进样,分流比 10:1,氢火焰离子检测器(FID),检测器温度为 280℃。柱温采用程序升温,条件见表 1。

表 1 程序升温条件

升温速率/℃·min ⁻¹	柱温/℃	保持时间/min
	60	0
5	130	5
20	230	5

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取樟脑对照品 11.38 mg、龙脑对照品 10.82 mg、乙酸龙脑酯对照品 17.19 mg,加无水乙醇制成质量浓度分别为 45.06、21.49、34.24 μg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取本品适量,研细,取约 8 g,精密称定,照挥发油测定法(《中华人民共和国药典》2015 年版四部通则 2204)提取,加环己烷 3 mL,缓缓加热至沸,并保持微沸约 1 h,放置 30 min 后,取环己烷提取液转移至 5 mL 容量瓶中,再取 1 mL 环己烷冲洗挥发油测定器,合并冲洗液至上述 5 mL 容量瓶中,用环己烷稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 线性考察

分别配制乙酸龙脑酯、龙脑及樟脑系列浓度对照品溶液,以对照品进样量(ng)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程:乙酸龙脑酯 $Y=0.8560X+1.4943$, $r=0.9998$,进样量在 0.8073~322.9032 ng 与峰面积呈良好的线性关系;龙脑 $Y=0.9599X+1.3811$, $r=0.9998$,进样量在 0.6476~259.0368 ng 与峰面积呈良好的线性关系;樟脑 $Y=0.9778X+2.0557$, $r=0.9998$,进样量在 1.0141~405.6570 ng 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 稳定性试验

分别吸取同一供试品溶液(S2),分别在 0、4、12、24 h 进样,记录峰面积,不同时间供试品溶液乙酸龙脑酯、龙脑及樟脑峰面积 RSD 分别为 1.29%、1.42%、1.45%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6 重复性试验

取同一供试品(S2),按拟定含量测定方法制备 6 份供试品溶液,测定 3 种成分含量,供试品溶液乙酸龙脑酯、龙脑及樟脑含量测定结果 RSD 分别为 3.16%、2.39%、2.15%。本方法有较好重复性。

2.7 精密度试验

精密吸取对照品溶液 1 μL , 按拟定色谱条件重复进样 6 次, 记录 3 种成分峰面积积分值。结果乙酸龙脑酯、龙脑及樟脑峰面积 RSD 分别为 0.69%、0.32%、0.63%。表明本方法有较好精密度。

2.8 回收率试验

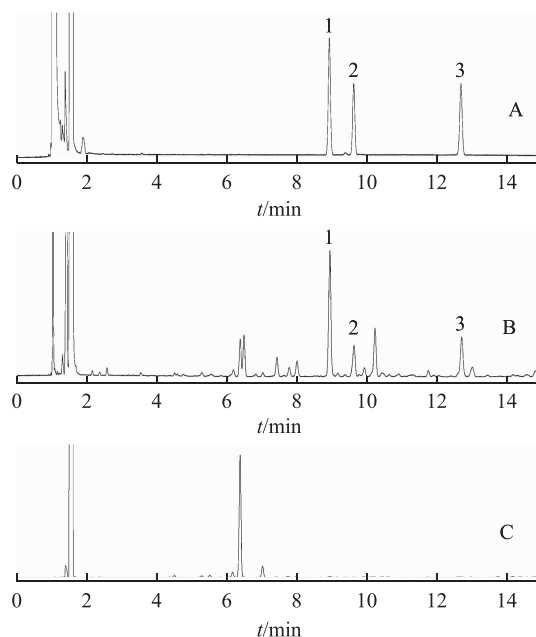
精密称取已知含量的供试品 (S2, 乙酸龙脑酯 0.017 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、龙脑 0.011 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、樟脑 0.039 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 6 份, 每份约 4 g, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入一定浓度的混合对照品溶液, 按上述供试品溶液的制备方法制备回收率试验用供试品溶液并测定含量, 计算回收率。结果表明, 本方法回收较好。回收率试验结果见表 2。

表 2 香砂养胃丸中 3 种成分的加样回收率结果 ($n=6$)

化合物	样品中 含量/mg	对照品加入 量/mg	测出总 量/mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
乙酸龙脑酯	0.068 76	0.068 27	0.126 99	85.29	83.54	2.82
	0.068 58	0.068 27	0.123 96	81.12		
	0.068 72	0.068 27	0.127 00	85.37		
	0.068 83	0.068 27	0.124 36	81.34		
	0.069 07	0.068 27	0.124 92	81.81		
	0.068 68	0.068 27	0.127 60	86.30		
龙脑	0.043 76	0.043 75	0.088 01	101.14	98.23	2.78
	0.043 65	0.043 75	0.086 67	98.33		
	0.043 74	0.043 75	0.088 12	101.44		
	0.043 81	0.043 75	0.085 90	96.21		
	0.043 97	0.043 75	0.086 74	97.76		
	0.043 72	0.043 75	0.085 06	94.49		
樟脑	0.154 9	0.152 5	0.284 90	85.25	87.07	3.01
	0.154 5	0.152 5	0.288 70	88.00		
	0.154 8	0.152 5	0.294 80	91.80		
	0.155 1	0.152 5	0.284 50	84.85		
	0.155 6	0.152 5	0.288 40	87.08		
	0.154 8	0.1525	0.285 10	85.44		

2.9 专属性试验

按工艺要求制备砂仁及豆蔻阴性对照样品, 并依次精密吸取对照品溶液、样品溶液及阴性样品溶液各 1 μL , 按 2.1 色谱条件测定, 结果表明, 香砂养胃丸中其他成分不影响乙酸龙脑酯、龙脑及樟脑的检出, 本方法专属性强。见图 1。



注: A. 对照品; B. 样品; C. 阴性; 1. 樟脑; 2. 龙脑; 3. 乙酸龙脑酯。

图 1 对照品、样品、阴性样品气相色谱图

2.10 检验结果

取全部 15 批香砂养胃丸, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 并按 2.1 色谱条件测定含量, 结果见表 3。

3 讨论

3.1 提取时间考察

分别考察了提取供试品 0.5、1、1.5 h 的含量测定结果, 确定提取时间为 1 h。

3.2 色谱条件优化

试验中分别考察了不同流速、不同程序升温条件对分离结果的影响, 同时考察了不同进样口、检测器温度对测定结果的影响, 表明在 2.1 项下的气相色谱条件效果最佳。

3.3 测定结果讨论

本方法测定的 3 种成分是香砂养胃丸中君药砂仁的主要成分, 测定结果能直观反映君药砂仁的质量及香砂养胃丸的有效性。经测定, 15 批香砂养胃丸样品中, 乙酸龙脑酯的含量均较低, 且仅有 2 批乙酸龙脑酯的含量高于樟脑。根据文献记载, 《中华人民共和国药典》收载的砂仁——阳春砂、绿壳砂及海南砂中, 乙酸龙脑酯的含量远高于樟脑, 而《中华人民共和国药典》未收录的红砂仁中, 樟脑含量高于乙酸龙脑酯^[6,13-14]。国内市场砂仁质量问题

表3 乙酸龙脑酯、龙脑及樟脑的含量测定结果

编号	质量分数			编号	质量分数		
	乙酸龙脑酯	龙脑	樟脑		乙酸龙脑酯	龙脑	樟脑
S1	0.131	0.011	0.040	S9	0.021	0.012	0.033
S2	0.017	0.011	0.039	S10	0.036	0.010	0.028
S3	0.028	0.017	0.086	S11	0.043	0.010	0.028
S4	0.028	0.025	0.093	S12	0.013	0.006	0.033
S5	0.019	0.016	0.062	S13	0.012	0.006	0.034
S6	0.026	0.023	0.058	S14	0.011	0.008	0.030
S7	0.013	0.009	0.025	S15	0.018	0.014	0.059
S8	0.022	0.013	0.023				

严峻,以近缘品种冒充砂仁的情况较为突出^[15-17],相关厂家投料的砂仁品种是否为正品有待进一步考察。本方法的建立对考察香砂养胃丸的质量,确保药品的有效性有重大意义。

参考文献

- [1] 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,2015:167-168,253,1205-1206.
- [2] SUO S Z, LAI Y F, LI M, et al. Phytochemicals, pharmacology, clinical application, patents, and products of Amomi fructus[J]. Food Chem Toxicol, 2018, 119(9):31-36.
- [3] 李婧琳,王媚,邵佳,等. HS-GC-MS 分析不同影响因素对砂仁挥发油主要成分的影响[J]. 中国现代中药, 2018, 20(12):1504-1508.
- [4] 张明发,沈雅琴. 砂仁临床药理作用的研究进展[J]. 抗感染药学, 2013, 10(1):8-13.
- [5] 李光,李学兰,唐德英,等. 砂仁药材质量现状分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(9):1608-1616.
- [6] 肖培根. 新编中药志:第二卷[M]. 北京:化学工业出版社, 2002:274-279, 490-495.
- [7] 冯佳祺,李伟,陆占国. 白豆蔻香气成分研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2014, 30(3):338-341.
- [8] 陈琴华,李鹏,易勇. 高效液相色谱法测定香砂养胃片中白术内酯 III 的含量[J]. 医药导报, 2010, 29(3):365-367.
- [9] 卫洪清,刘二保,吉海滨. HPLC-荧光法测定中成药中厚朴酚与和厚朴酚含量[J]. 石家庄学院学报, 2005, 7(3):1-5.
- [10] 钱鑫,徐飞. HPLC 法测定香砂养胃丸中 α -香附酮含量[J]. 辽宁中医学院学报, 2013, 15(4):61-62.
- [11] GUO S S, WANG Y, PANG X, et al. Seven herbs against the stored product insect: Toxicity evidence and the active sesquiterpenes from Atractylodes lancea[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2019, 169(3):807-813.
- [12] XU D, LIN Y, BAUER R. et al. Organoleptic evaluation of Amomi Fructus and its further background verified via morphological measurement and GC coupled with E-Nose[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2018, doi:10.1155/2018/4689767.
- [13] 杨彩霞. 云南产阳春砂仁与进口砂仁化学成分及主要药效学的比较研究[D]. 昆明:云南中医学院, 2017.
- [14] 鲁艺,申丽,王洋,等. 砂仁挥发油中7种活性成分的含量测定研究[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(9):1536-1543.
- [15] 赵红宁,黄柳芳,刘喜乐,等. 不同产地阳春砂仁药材的质量差异研究[J]. 广东药学院学报, 2016, 32(2):176-180.
- [16] LI G, LI X L, TANG D Y, et al. Quality of commercial Amomum villosum[J]. China J Chin Mater Med, 2016, 41(9):1608-1616.
- [17] 苏畅,杜晓娟,刘雪婷,等. 砂仁药材及其饮片的质量分析[J]. 中国药事, 2018, 32(11):1483-1489.

(收稿日期:2018-11-12 编辑:王笑辉)