

· 中药工业 ·

## 香砂养胃丸中枳实质量标准的改进

程雅婷, 王晓云<sup>1\*</sup>, 王艳博<sup>1</sup>, 王健<sup>1</sup>, 刘凯娜<sup>1</sup>, 王学涛<sup>1</sup>, 杨新宇<sup>1</sup>, 郑澜<sup>2</sup>

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: 建立高效液相色谱(HPLC)测定香砂养胃丸中辛弗林的方法, 以单独控制药品中枳实的质量, 弥补现行标准中以橙皮苷的含量同时控制药品中枳实、陈皮质量产生的专属性不强和不同品种枳实影响测定结果的缺陷。方法: 岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪, WondaSil C<sub>18</sub>-WR(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱, 以甲醇-磷酸二氢钾溶液(取磷酸二氢钾 0.6 g, 十二烷基磺酸钠 1.0 g, 冰醋酸 1 mL, 加水溶解并稀释至 1000 mL)(50:50)为流动相, 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长为 275 nm, 柱温为 30 ℃。结果: 测定成分在 0.014 65~2.344 μg 线性关系良好, 精密度、稳定性、重复性 RSD 均低于 2.0%, 平均加样回收率为 94.64% (RSD = 2.72%)。结论: 该方法准确、可靠, 可用于香砂养胃丸中辛弗林的含量测定, 有效改进了现行质量标准。

**[关键词]** 辛弗林; 香砂养胃丸; 枳实; 酸橙; 甜橙; 标准提高

**[中图分类号]** R944.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)07-0951-05

**doi:**10.13313/j.issn.1673-4890.20190131004

## Quality Standard Improvement of Fructus Aurantii Immaturus in Xiangsha Yangwei Pills

CHENG Ya-ting<sup>1</sup>, WANG Xiao-yun<sup>1\*</sup>, WANG Yan-bo<sup>1</sup>, WANG Jian<sup>1</sup>, LIU Kai-na<sup>1</sup>,  
WANG Xue-tao<sup>1</sup>, YANG Xin-yu<sup>1</sup>, ZHENG Lan<sup>2</sup>

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

2. Zhengda Qingchunbao pharmaceutical limited company, Hangzhou, Hangzhou 310000, China

**[Abstract]** **Objective:** To establish an HPLC method of determining synephrine in Xiangshayangwei Pills for quality control of Fructus Aurantii Immaturus, a herb in the formula, and make up the shortcoming of previous method in less specificity and interference in determination. **Methods:** Shimadzu LC-20AT was used, WondaSil C<sub>18</sub>-WR (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) chromatographic column was applied with methanol and potassium dihydrogen phosphate solution (50:50) as mobile phase, the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was set at 275 nm, and the column temperature was 30 ℃. **Results:** The linear relationship of peak area was very good when synephrine was in the range 0.014 65-2.344 μg. The RSD of precision, stability and repeatability were all below 2.0%, sample recovery rate was 94.64% (RSD = 2.72%). **Conclusion:** The established method was accurate and reliable, which can be used for the determination of synephrine in Xiangshayangwei Pills. It improved the current quality standards effectively.

**[Keywords]** synephrine; Xiangsha Yangwei Pills; Fructus Aurantii Immaturus; *Citrus aurantium*; *Citrus sinensis*; standard improvement

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, 处方由木香、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<sup>[1]</sup>。方中陈皮、枳实均源自芸香科植物, 含大量橙皮苷, 其中甜橙的橙皮苷含量又远高于酸橙<sup>[2-10]</sup>。《中华人民共和国药典》2015年版一部中

对橙皮苷进行了含量测定并规定了限度, 用以同时控制陈皮、枳实的质量, 方法不仅专属性差, 难以对二者质量进行区别考察, 且橙皮苷含量受枳实品种影响大, 难以客观反应陈皮、枳实的内在质量。笔者以枳实的专属性成分——辛弗林为指标, 采用 HPLC<sup>[11-15]</sup>测定香砂养胃丸中辛弗林的含量<sup>[16-17]</sup>, 为控制枳实的含量提供依据, 对药品标准进行了完善, 可用于香砂

\* [通信作者] 王晓云, 副主任中药师, 研究方向: 中药学; E-mail: 1162606733@qq.com

养胃丸的质量控制。

## 1 抽验情况及发现问题

2017年河北省评价性抽验中,共抽取香砂养胃丸(水丸)34批次,抽样单位涉及全省11个地市,涵盖全国5个省市的13家生产单位。其中经营单位抽样27批次,医疗单位抽样2批次,生产单位抽样5批次,分别占抽样总数的79.4%、5.9%、14.7%。

按《中华人民共和国药典》2015年版一部检验橙皮苷的含量,全部符合规定,但不同批次样品间结果差异巨大。橙皮苷为芸香科柑橘属植物共有的抗氧化及抗炎活性成分<sup>[1-10]</sup>,在香砂养胃丸处方中,为陈皮、枳实共有。陈皮来源单一,原植物为芸香科植物橘及其栽培变种,枳实有两种基原,原植物分别为芸香科植物酸橙及甜橙。笔者通过比较液相色谱图并与生产厂家沟通,分别确认了每一批样品中枳实的基原,并根据制剂中选用枳实不同基原对橙皮苷含量进行箱式图分析,结果显示,以甜橙生产的香砂养胃丸橙皮苷含量高,以酸橙生产的成药橙皮苷含量低。见图1。橙皮苷的含量受枳实基原影响,难以客观反应处方中陈皮、枳实的含量,现行标准收载的香砂养胃丸方法中选择橙皮苷作为指标成分同时控制陈皮、枳实的质量存在不妥。

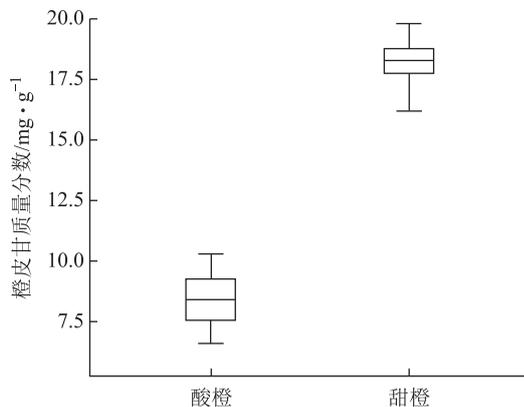


图1 不同基原枳实生产的香砂养胃丸橙皮苷含量对比箱式图

## 2 枳实指标成分的选定

### 2.1 仪器

岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪; METTLER TOLEDO AG-135 电子天平。

### 2.2 试药

辛弗林对照品(中国食品药品检定研究院,批

号:110727-201608,纯度99.9%);橙皮苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110721-201617,纯度96.1%);甲醇、磷酸二氢钾、十二烷基磺酸钠(美国 MREDA 公司,色谱纯);水为纯净水;冰醋酸为分析纯(天津市风船化学试剂科技有限公司)。

枳实饮片共15批,其中酸橙9批(Y1~Y9),甜橙6批(Y10~Y15),分别产自江西(Y1、Y2)、湖南(Y3、Y4、Y12)、浙江(Y5、Y6)、四川(Y10、Y13、Y14)等地,另有部分为安国药材市场自购(Y7、Y11、Y15)及药品生产厂家提供(Y8、Y9)。

### 2.3 方法与结果

15批枳实样品分别按照《中华人民共和国药典》2015年版一部枳实项下方法测定辛弗林的含量,又按照香砂养胃丸项下方法测定橙皮苷的含量,并根据枳实不同基原分别对辛弗林和橙皮苷的含量进行箱式图分析,结果显示,甜橙中橙皮苷含量高,酸橙中橙皮苷含量低。不同基原枳实中橙皮苷含量差异大,与成药香砂养胃丸的测定结果一致,辛弗林差异较小,更适合作为枳实质量控制的指标成分。见图2~3。

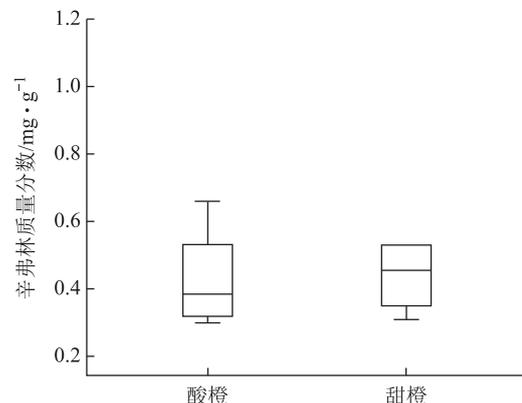


图2 不同品种枳实辛弗林含量对比箱式图

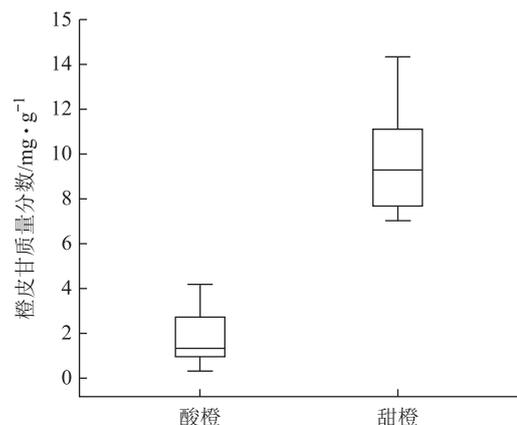


图3 不同品种枳实橙皮苷含量对比箱式图

### 3 含量测定方法的建立

#### 3.1 仪器

同2.1项下仪器。

#### 3.2 试药

对照品及试剂同2.2项下。

香砂养胃丸样品18批,保定中药制药有限公司生产,批号分别为160302(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16034008(S3)、16114008(S4);河北万岁药业有限公司生产,批号为161002(S5);河南金鸿堂制药有限公司生产,批号为20160401(S6);河南明善堂药业有限公司生产,批号为161209(S7);河南省康华药业股份有限公司生产,批号为16101601(S8)、16122901(S9);江苏平光信谊(焦作)中药有限公司生产,批号为161101(S10);民生药业集团有限公司生产,批号为161101(S11);山西旺龙药业集团有限公司生产,批号为20161101(S12);陕西香菊药业集团有限公司生产,批号为170301(S13);石药集团河北永丰药业有限公司生产,批号为10516080514(S14)、10516110114(S15);药都制药集团股份有限公司生产,批号为161201(S16)、170401(S17);湖北瑞华制药有限责任公司生产,批号为170521(S18)。

#### 3.3 色谱条件

岛津LC-20AT高效液相色谱仪,色谱柱:WondaSil C<sub>18</sub>-WR(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-磷酸二氢钾溶液(取磷酸二氢钾0.6 g,十二烷基磺酸钠1.0 g,冰醋酸1 mL,加水溶解并稀释至1000 mL)(50:50);流速为1.0 mL·min<sup>-1</sup>;进样量为10 μL;检测波长为275 nm;柱温为30 ℃。理论板数按辛弗林峰计算应不低于2000。

#### 3.4 对照品溶液的制备

取辛弗林对照品适量,精密称定,加水制成每1 mL含10 μg的溶液,即得。

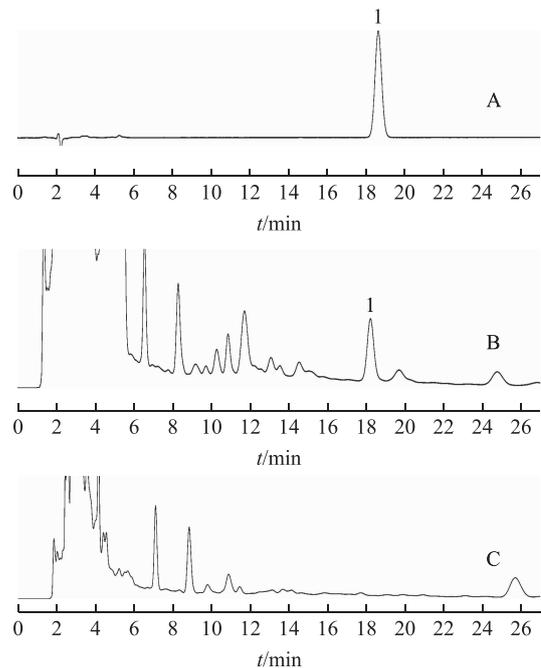
#### 3.5 供试品溶液的制备

取本品适量,研细,取约3.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,称定质量,加热回流1.5 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液10 mL,蒸干,残渣加水10 mL使溶解,通过聚酰胺柱(60~

90目,2.5 g,内径1.5 cm,干法装柱),用水25 mL洗脱,收集洗脱液,转移至25 mL量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得。

#### 3.6 专属性考察

按处方及工艺要求制备枳实、陈皮的阴性样品并按3.5项下方法制备阴性样品溶液,依次精密吸取对照品溶液、样品溶液及阴性样品溶液各10 μL,按3.3项下色谱条件测定,结果表明香砂养胃丸中其他成分不影响辛弗林的检出,本方法专属性强,见图4。



注:A.对照品;B.样品;C.阴性对照品;1.辛弗林。

图4 香砂养胃丸及其对照品、样品、阴性HPLC图

#### 3.7 精密度考察

取同一对照品溶液,按3.3项下色谱条件连续进样5次,记录辛弗林色谱峰的峰面积,结果RSD为0.35%。仪器精密度良好。

#### 3.8 线性关系考察

配制系列浓度对照品溶液,使每1 mL分别含辛弗林0.732 5、3.662、7.325、14.65、29.30、58.60、117.2 μg,按3.3项下色谱条件测定,以峰面积积分值(Y)为纵坐标,浓度(X, μg·mL<sup>-1</sup>)为横坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程 $Y = 10\,308.20X + 128.66$ ,  $r = 0.999\,9$ ;进样量在14.65~2344 ng与峰面积呈良好的线性关系。

#### 3.9 稳定性考察

取同一样品(S1),按3.5项下方法制备供试品

溶液,分别在0、2、4、8、12、24 h按3.3项下色谱条件测定,峰面积RSD为0.42%。供试品溶液在24 h内稳定。

### 3.10 重复性考察

取同一样品(S1),按3.5项下方法平行制备供试品溶液6份,按3.3项下色谱条件测定,记录峰面积并计算含量,平均质量分数为0.304 0 mg·g<sup>-1</sup>,RSD为1.75%。该方法重复性好。

### 3.11 加样回收率考察

精密称取已知质量分数(S1, 0.304 0 mg·g<sup>-1</sup>)的样品9份,每份约1.8 g,平行分为3组,每组分别加入低、中、高3个浓度的对照品,按3.5项下方法制备供试品溶液并按3.3项下色谱条件测定,计算平均回收率为94.8%,RSD值为2.72%。结果表明,本方法加样回收较好,见表1。

表1 香砂养胃丸中辛弗林加样回收率结果(n=9)

编号	样品含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
1	0.548 2	0.278 4	0.807 5	93.14	94.64	2.72
2	0.550 5	0.278 4	0.812 7	94.18		
3	0.549 1	0.278 4	0.815 6	95.73		
4	0.549 9	0.556 8	1.091 0	97.18		
5	0.548 6	0.556 8	1.062 2	92.24		
6	0.548 9	0.556 8	1.087 0	96.64		
7	0.548 3	0.835 2	1.373 3	98.78		
8	0.550 2	0.835 2	1.311 7	91.18		
9	0.547 6	0.835 2	1.321 7	92.68		

### 3.12 耐用性考察

3.12.1 色谱柱的考察 考察了日本 Inertsustain C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱及 Wondasil C<sub>18</sub>-WR(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,均能达到较好的分离效果,样品测定结果RSD为0.53%,测定结果一致。

3.12.2 高效液相色谱仪的考察 分别考察了岛津 LC-20AT、Waters 2695、Agilent 1260 3种品牌的高效液相色谱仪,结果相同样品的测定结果RSD为0.95%,测定结果一致。

### 3.13 样品测定

取全部18批样品,按3.5项下方法制备供试品溶液,并按3.3项下色谱条件测定,结果见表2。

表2 香砂养胃丸中辛弗林含量测定结果

mg·g <sup>-1</sup>			
编号	辛弗林	编号	辛弗林
S1	0.30	S10	0.19
S2	0.38	S11	0.21
S3	0.23	S12	0.39
S4	0.35	S13	0.20
S5	0.21	S14	0.46
S6	0.24	S15	0.36
S7	0.31	S16	0.38
S8	0.41	S17	0.32
S9	0.49	S18	0.09

## 4 讨论

### 4.1 提取方法的考察

本实验参考《中华人民共和国药典》2015年版一部枳实【含量测定】项下的提取方法,分别以甲醇、流动相为提取溶剂对样品前处理后进行检测,结果以流动相为提取溶剂的样品色谱图干扰峰多,影响主成分峰分离度,而以甲醇为提取溶剂的分离效果好。实验继续考察了溶剂加入量、上柱洗脱用水量对测定结果的影响,最终确定3.3项下方法制备供试品溶液。

### 4.2 现行标准薄层鉴别的改进

本实验对收集的全部香砂养胃丸样品(S1~S18)按照《中华人民共和国药典》一部规定方法——以枳实(酸橙)为对照药材进行枳实薄层色谱鉴别,结果薄层鉴别图谱差异大,部分出现假阴性结果。为探究原因,笔者分别用不同基原枳实饮片(Y1~Y15)分别按照香砂养胃丸中枳实的薄层色谱鉴别方法进行检验,结果酸橙为阳性,甜橙薄层色谱斑点不易见,为假阴性,证明香砂养胃丸中枳实薄层色谱的差异是由枳实来源不同引起的。建议中国食品药品检定研究院调整枳实对照药材的品种,增加或更换甜橙作为枳实对照药材。

### 4.3 制订枳实炮制工艺的建议

香砂养胃丸处方中为炒枳实,《中华人民共和国药典》一部枳实项下记载麸炒枳实的含量测定方法及限度均与药材相同<sup>[1]</sup>。有文献报道,根据炮制时间、炮制温度、麸用量的不同,辛弗林、橙皮苷等有效成分亦随之增减<sup>[18-20]</sup>。经市场调查,炒枳实为各生产企业自行炒制,因《中华人民共和国药典》中未

明确规定炮制的工艺,各厂家在炒制时间、温度等方面掌控不同。为从源头稳定麸炒枳实的质量,建议国家药典委员会制订科学的麸炒枳实的炮制工艺。

### 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,2015:191,247,1205-1206.
- [2] 许姗姗,许浚,张笑敏,等. 常用中药陈皮、枳实和枳壳的研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中草药,2018,49(1):35-44.
- [3] SILVIA T, SAMUEL P, MIQUEL M, et al. Potential Anti-inflammatory Effects of Hesperidin from the Genus Citrus[J]. Curr Med Chem, 2018, 25(37):4929-4945.
- [4] TONG C H Y, GUO K K, XU J J, et al. Online extraction and cleanup-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry for rapid analysis of bioactive components in natural products [J]. Anal Bioanal Chem, 2019, 411(3):679-687.
- [5] YU X, SUN S H, GUO Y Y, et al. Citri Reticulatae Pericarpium (Chenpi): Botany, ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of a frequently used traditional Chinese medicine [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 220(28):265-282.
- [6] LIU W Y, ZHOU C H, YAN C M, et al. Characterization and simultaneous quantification of multiple constituents in aurantii fructus immaturus extracts by HPLC-DAD-ESI-MS/MS[J]. Chin J Nat Med, 2012, 10(6):456-463.
- [7] XU X N, JIANG J H, LIANG Y Z, et al. Chromatographic fingerprint analysis of fructus aurantii immaturus by HPLC-DAD and chemometric methods [J]. J Cent South Univ Technol, 2011, 18(2):353-360.
- [8] 曾鸿莲,刘振丽,宋志前,等. 不同品种枳实 HPLC 指纹图谱及成分含量差异性研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(17):3272-3278.
- [9] 贾富霞,王秀娟,罗容. 酸橙枳实 HPLC 指纹图谱方法研究及6种黄酮类药效组分的含量测定[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(12):2917-2920.
- [10] LIU Y Y, WANG C H, ZHA Q L, et al. Study on essential oils from four species of Zhishi with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Chem Cent J, 2014, 8(1):22.
- [11] 许俊哲. 高效液相色谱技术在药品检验中的应用分析[J]. 首都食品与医药, 2019, 26(2):165.
- [12] 王磊. 高效液相色谱法在中药质量检测中的运用实践研究[J]. 中国处方药, 2018, 16(8):27-28.
- [13] LIU H M, LU A X, FU H L, et al. Affinity capture of aflatoxin B1 and B2 by aptamer-functionalized magnetic agarose microspheres prior to their determination by HPLC [J]. Mikrochim Acta, 2018, 185(7):326.
- [14] AHMED G, HANI A S, CRISPIN R D. Development and validation of a new analytical HPLC method for simultaneous determination of the antidiabetic drugs, metformin and gliclazide[J]. J Food Drug Anal, 2019, 27(1):315-322.
- [15] LI P H, LIU A L, LI Y H, et al. Development and validation of an analytical method based on HPLC-ELSD for the simultaneous determination of rosmarinic acid, carnosol, carnosic acid, oleanolic acid and ursolic acid in rosemary [J]. Molecules, 2019, 24(2):323.
- [16] 樊明月. NIRS 与色谱技术在香砂养胃丸(浓缩丸)质量分析中的应用[D]. 郑州:河南中医药大学, 2015.
- [17] 窦金凤. 反相高效液相色谱法测定香砂养胃丸中辛弗林含量[J]. 中国药业, 2012, 21(23):16-17.
- [18] 王芳,于欢,李凤琴,等. 枳实制白术的炮制工艺优选及 HPLC 特征图谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(17):6-13.
- [19] 马雪松,邹兵,尹丽波,等. 多指标优选麸炒枳实的炮制工艺研究[J]. 中国医药指南, 2012, 10(9):72, 74.
- [20] 刘振丽,宋志前,李林福,等. 枳实炮制前后化学成分含量的变化[J]. 中成药, 2006, 28(8):1148-1150.

(收稿日期:2019-01-31 编辑:王笑辉)