

# HPLC法同时测定桂朴微丸中厚朴酚、和厚朴酚的含量<sup>Δ</sup>

赵呈雷\*,黄一平,田耀洲,曹 鹏(南京中医药大学附属中西医结合医院/江苏省中医药研究院,南京 210028)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)33-4695-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.33.29

**摘要** 目的:建立同时测定桂朴微丸中厚朴酚、和厚朴酚含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Alltima C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-水(70:30, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为294 nm,柱温为35 ℃,进样量为10 μl。结果:厚朴酚、和厚朴酚检测进样量线性范围分别为0.206 4~2.064 μg( $r=0.999\ 8$ )、0.088 0~0.880 μg( $r=0.999\ 9$ );定量限分别为0.41、0.26 μg/ml,检测限分别为0.12、0.075 μg/ml;精密密度、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率分别为99.86%~102.11%(RSD=1.02%, $n=6$ )、96.53%~101.74%(RSD=1.83%, $n=6$ )。结论:该方法准确、灵敏、重复性好,可用于同时测定桂朴微丸中厚朴酚、和厚朴酚的含量。

**关键词** 桂朴微丸;厚朴酚;和厚朴酚;高效液相色谱法;含量测定

## Simultaneous Determination of Magnolol and Honokiol in Guipo Pellet by HPLC

ZHAO Chenglei, HUANG Yiping, TIAN Yaozhou, CAO Peng (Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine/Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of magnolol and honokiol in Guipo pellet. METHODS: HPLC was performed on the column of Alltima C<sub>18</sub> with mobile phase of methanol-water (70:30, V/V) at a flow rate at 1.0 ml/min, detection wavelength was 294 nm, column temperature was 35 ℃ and injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 0.206 4-2.064 μg for magnolol ( $r=0.999\ 8$ ) and 0.088 0-0.880 μg for honokiol ( $r=0.999\ 9$ ); limits of quantitation were 0.41, 0.26 μg/ml, detection limits were 0.12, 0.075 μg/ml, respectively; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.0%; recoveries were 99.86%-102.11% (RSD=1.02%, $n=6$ ) and 96.53%-101.74% (RSD=1.83%, $n=6$ ). CONCLUSIONS: The method is accurate, sensitive, reproducible, and suitable for the simultaneous determination of magnolol and honokiol in Guipo pellet.

**KEYWORDS** Guipo pellet; Magnolol; Honokiol; HPLC; Content determination

桂朴汤为临床上治疗胃气虚寒所致的胃脘痛以及消化不良、胃炎、胃或十二指肠溃疡等多种消化性疾病的常用方剂,该方出自清代孟河医派名医费伯雄所著《医醇胜义》中胃气虚寒作痛的效方<sup>[1]</sup>。原方为煎剂,患者使用不便,本课题组在桂

朴汤的基础上通过对原方提取、纯化,加入相关辅料采用挤出滚圆法制备了桂朴微丸<sup>[2]</sup>。桂朴微丸由厚朴、肉桂、当归、茯苓、大枣等中药材组成,厚朴为方中君药,其味苦、辛,性温,归脾、胃、肺、大肠经,具有燥湿消痰、下气除满的功效<sup>[3]</sup>。药理学研

- [2] 胡爽,李晓妮,葛新,等.风湿关节炎片中麻黄碱的HPLC测定[J].中草药,2005,36(1):62.
- [3] 蔡州,李海松,张滢.HPLC法测定风湿关节炎片中土的宁的含量[J].中医研究,2006,19(5):24.
- [4] 刘会东,李春英,叶敏,等.风湿关节炎片质量标准研究[J].药物分析杂志,2008,28(2):291.
- [5] 吴莉莉,杨飞.风湿关节炎片中土的宁含量测定方法的改进[J].风湿病与关节炎,2014,3(11):34.
- [6] 王光函,邸子真,赵玥,等.高效液相色谱法测定芩双片中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量[J].中国药业,2014,23(2):40.
- [7] 周军,张蕾,张莱,等.HPLC法同时测定香连化滞丸中7种成分的含量[J].中国药房,2016,27(6):840.

- [8] 周玲,孙汉斌,邓旭坤,等.高效液相色谱法测定3种马钱子属药材中土的宁和马钱子碱的含量[J].中国医院药学杂志,2012,32(16):1301.
- [9] 单婷婷,曹红,邢俊波,等.HPLC法测定麝香接骨胶囊中四种生物碱的含量[J].解放军药学报,2013,29(5):450.
- [10] 郭青,孙姗,吕霞,等.反相离子对高效液相色谱法测定疏风活络丸中4种生物碱的含量[J].药物分析杂志,2009,29(1):6.
- [11] 刁国兰,张贵华,马云淑,等.HPLC测定马钱子及其提取物中马钱子碱和土的宁含量[J].中国中医药信息杂志,2013,20(12):51.
- [12] 陈卫平,王伟影,毛菊华.HPLC法测定追风舒筋活血片中马钱子碱、土的宁的含量[J].中国药师,2016,19(1):191.

Δ 基金项目:江苏省科技厅“科技基础实施建设计划”专项项目(No.BM2008152-KF03)

\* 助理研究员,硕士。研究方向:中药新剂型与新技术。电话:025-52362182。E-mail:zhaoc1292@163.com

(收稿日期:2015-12-13 修回日期:2016-09-02)  
(编辑:刘 柳)

究表明,厚朴具有广谱抗菌、抗炎、抗溃疡等作用<sup>[4-5]</sup>。厚朴酚、和厚朴酚为厚朴中木质素类成分中含量最高的化合物,也是厚朴的主要有效成分<sup>[6]</sup>。因此,本课题组采用高效液相色谱法(HPLC)建立了同时测定桂朴微丸中厚朴酚、和厚朴酚含量的方法,以期为更好地控制该制剂的质量提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Alliance 2695型 HPLC仪,包括2695四元泵及自动进样系统、2996 二极管阵列检测器、Empower 色谱工作站(美国 Waters公司);KQ-3200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:150 W,频率:40 kHz);AB204-S型万分之一电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

### 1.2 药品与试剂

桂朴微丸(江苏省中医药研究院制剂室自制,批号:111220、111222、111224,规格:2.128 g/1 000 粒);厚朴酚对照品(批号:110729-200411,纯度:98.4%)、和厚朴酚对照品(批号:110730-201011,纯度:98.4%)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Alltima C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(70:30, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:294 nm;柱温:35 °C;进样量:10 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取厚朴酚、和厚朴酚对照品各适量,置于同一10 ml量瓶中,加甲醇溶解并定容,制得厚朴酚、和厚朴酚的质量浓度分别为1.032、0.440 g/L的混合对照品贮备液。精密量取上述混合对照品贮备液1 ml,置于10 ml量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,制得厚朴酚、和厚朴酚的质量浓度分别为103.20、44.00 μg/ml的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品适量,研细,取约2 g,精密称定,置于150 ml具塞锥形瓶中,加甲醇50 ml,称定质量,超声处理30 min,放冷,再次称定质量,以甲醇补足减失的质量,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按样品的配方比例和工艺制备不含厚朴的阴性样品,按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液,即得。

### 2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,在该色谱条件下,各成分均能达到基线分离,分离度>1.5;理论板数以厚朴酚峰计≥4 000。结果表明,其他成分对测定无干扰。

### 2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液2.0、4.0、8.0、12.0、16.0、20.0 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分进样量( $x, \mu\text{g}$ )为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得厚朴酚的回归方程为 $y=2\ 000\ 000x-44\ 700$ ( $r=0.999\ 8$ ),和厚朴酚的回归方程为 $y=2\ 000\ 000x-18\ 400$ ( $r=0.999\ 9$ )。结果表明,厚朴酚、和厚朴酚检测进样量线性范围

分别为0.206 4~2.064、0.088 0~0.880 μg。

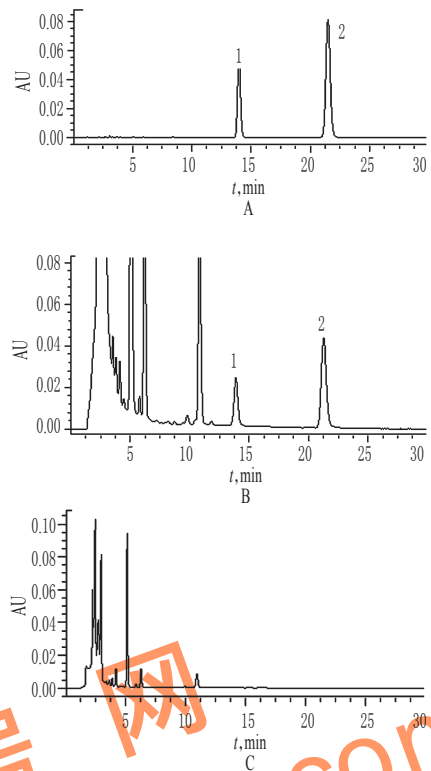


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.和厚朴酚;2.厚朴酚

Fig 1 HPLC chromatograms

A. mixed reference substance; B. test sample; C. negative control; 1. honokiol; 2. magnolol

### 2.5 定量限与检测限考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,等倍逐步稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得厚朴酚、和厚朴酚的定量限分别为0.41、0.26 μg/ml;当信噪比为3:1时,得厚朴酚、和厚朴酚的检测限分别为0.12、0.075 μg/ml。

### 2.6 精密度试验

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定6次,记录峰面积。结果,厚朴酚、和厚朴酚峰面积的RSD分别为0.31%、0.51%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号:111220)适量,分别于室温下放置0、1、2、4、6、8、10、12 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,厚朴酚、和厚朴酚峰面积的RSD分别为1.07%、0.37%( $n=8$ ),表明供试品溶液在室温下12 h内稳定性良好。

### 2.8 重复性试验

精密称取同一批样品(批号:111220)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,厚朴酚、和厚朴酚峰面积的RSD分别为1.15%、1.91%( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

### 2.9 加样回收率试验

取已知含量的样品(批号:111220)适量,精密称定,共6份,分别置于10 ml量瓶中,分别加入一定质量的厚朴酚、和厚朴酚对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=6)  
Tab 1 Results of recovery test(n=6)

待测成分	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
厚朴酚	0.250 0	0.762 0	0.740 0	1.504 0	100.26	100.92	1.02
	0.249 3	0.760 0	0.740 0	1.516 0	102.11		
	0.250 3	0.763 0	0.740 0	1.519 0	102.10		
	0.249 9	0.762 0	0.740 0	1.503 0	100.13		
	0.251 3	0.766 0	0.740 0	1.505 0	99.86		
	0.250 7	0.764 0	0.740 0	1.512 0	101.05		
和厚朴酚	0.250 0	0.288 0	0.298 0	0.584 0	99.31	99.42	1.83
	0.249 3	0.287 0	0.298 0	0.590 0	101.74		
	0.250 3	0.288 0	0.298 0	0.583 0	98.96		
	0.249 9	0.288 0	0.298 0	0.576 0	96.53		
	0.251 3	0.289 0	0.298 0	0.590 0	101.04		
	0.249 1	0.287 0	0.298 0	0.582 0	98.95		

### 2.10 样品含量测定

取3批样品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(n=3, mg/g)

样品批号	厚朴酚		和厚朴酚	
	含量	RSD, %	含量	RSD, %
111220	3.256		1.176	
111222	3.349	2.83	1.162	0.63
111224	3.165		1.165	

## 3 讨论

### 3.1 提取溶剂和溶剂用量的选择

本课题组预试验考察了不同浓度的甲醇、乙醇及氯仿作为提取溶剂对桂朴微丸中厚朴酚、和厚朴酚提取总量的影响<sup>[7-9]</sup>。结果,甲醇的提取率最高且分离效果最好,因此本试验选择甲醇为提取溶剂。同时,还考察了甲醇用量(30、50、80 ml)对上述两种成分提取率的影响,结果显示甲醇为50 ml时,厚朴酚、和厚朴酚提取完全,因此本试验选择甲醇的用量为50 ml。

### 3.2 提取方法和提取时间的选择<sup>[9-11]</sup>

本课题组比较了超声提取法和热回流提取法对厚朴酚、和厚朴酚提取效率的影响。结果,超声提取和热回流提取对上述两种成分提取效率无显著差别,因超声提取法操作简单,因此本试验采用甲醇超声提取的方法制备供试品溶液。此外,本试验还考察了超声提取(15、30、45、60 min)对厚朴酚、和厚朴酚提取总量的影响,结果表明甲醇超声提取30 min后,延长提取时间,提取总量无明显差别,即超声提取30 min可将厚朴酚、和厚朴酚提取完全,因此本试验选择提取时间为30 min。

### 3.3 流动相的选择

本课题组考察了不同比例甲醇-磷酸<sup>[12]</sup>、甲醇-乙酸<sup>[13]</sup>、甲

醇-水<sup>[14]</sup>以及乙腈-乙酸<sup>[15-16]</sup>等作为流动相时两种成分的分

离情况。结果,以甲醇-水(70:30, V/V)为流动相时厚朴酚、和厚朴酚的出峰时间合适、分离度良好、峰形好、无拖尾,且不受杂质干扰,故本试验选择甲醇-水(70:30, V/V)为流动相。

综上所述,本方法准确、灵敏、重复性好,可用于同时测定桂朴微丸中厚朴酚、和厚朴酚的含量。

## 参考文献

- [1] 朱雄华.孟河四家医集[M].南京:东南大学出版社,2006:87-87.
- [2] 谢燕,胡勇,马越鸣,等.挤出滚圆法制备泻心汤中黄连效应组分速释微丸的处方工艺研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(16):8.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:251.
- [4] 李婷,杨舒然,陈敏,等.姜厚朴水提物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌机理研究[J].现代食品科技,2016,32(2):84.
- [5] 杨红兵,杨晓琴,陈学昆,等.厚朴不同部位的体外抑菌试验研究[J].湖北中医药大学学报,2016,18(1):40.
- [6] 杨云,张晶,陈玉婷.天然药物化学成分提取分离手册[M].北京:中国医药出版社,2003:540.
- [7] 叶锦雄,刘柳毅.HPLC法测定胃健宁胶囊中和厚朴酚及厚朴酚的含量[J].药学研究,2014,33(4):203.
- [8] 刘颖新,刘利利,喻祖文,等.星点设计-响应面法优化厚朴提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(7):27.
- [9] 任虹,何瑶,刘芳,等.厚朴酚与和厚朴酚HPLC含量测定方法及厚朴提取工艺研究[J].中药与临床,2014,5(2):32.
- [10] 辛祎,刘佳佳,隋欣蕙,等.HPLC法同时测定香砂胃灵散中橙皮苷、和厚朴酚及厚朴酚的含量[J].沈阳药科大学学报,2016,33(7):551.
- [11] 黄澜,黄丽.RP-HPLC法同时测定保济丸中厚朴酚、和厚朴酚、木香烯内酯及去氢木香内酯的含量[J].药物分析杂志,2012,32(3):396.
- [12] 赵彩霞,闫辉.麻仁丸中厚朴酚与和厚朴酚测定方法的研究[J].湖南中医药大学学报,2012,32(6):15.
- [13] 刘宏明,杨福伟.HPLC法同时测定开胸顺气丸中橙皮苷、和厚朴酚与厚朴酚的含量[J].中国药房,2012,23(40):3 825.
- [14] 黄健,张辉,张建芳.不同炮制方法对厚朴中厚朴酚含量的影响[J].浙江中医杂志,2015,50(8):622.
- [15] 邓开英,余佳文,彭涛,等.藿香正气口服液中3个活性成分的UPLC法测定[J].中国医药工业杂志,2012,43(9):780.
- [16] 秦郁文.高效液相色谱法测定香砂养胃胶囊中厚朴酚与和厚朴酚含量[J].中国药业,2013,22(17):36.

(收稿日期:2015-12-30 修回日期:2016-09-10)

(编辑:刘柳)