

HPLC-DAD 测定厚朴中 6 种活性成分的含量

薛珍珍¹, 晏仁义¹, 余盛贤^{1,2}, 曹阳阳¹, 邵爱娟¹, 杨滨^{1*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 北京双鹤药业股份有限公司, 北京 100102)

[摘要] 目的:以 6 种活性成分的含量为指标评价厚朴商品的质量。方法:建立了 HPLC-DAD 对厚朴样品中 4 种极性成分木兰花碱、紫丁香苷、木兰苷 A 及木兰苷 B 的含量测定方法,流动相醋酸水(pH 3.0)-甲醇梯度洗脱,流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 265,328 nm,柱温 35 ℃。参照本课题组前期报道的方法测定了脂溶性成分厚朴酚、和厚朴酚的含量。结果:所建立 4 种极性成分含量测定方法平均加样回收率范围 97.63%~103.84%,RSD 2.41%~4.55%。厚朴中各类成分的含量由高至低顺序为厚朴酚类、木兰苷类、木兰花碱和紫丁香苷。筒皮极性成分中除紫丁香苷外,其他成分含量均高于饮片($P < 0.05$);部分药材中厚朴酚与和厚朴酚含量未达到 2010 年版《中国药典》的要求。结论:所建立的厚朴样品中 4 种极性成分含量测定方法准确、可靠。不同等级厚朴商品质量不同,总体来说,“选货”中活性成分的含量较“统货”高。

[关键词] 厚朴;木兰花碱;紫丁香苷;木兰苷 A;木兰苷 B;高效液相色谱-二极管阵列

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)22-0045-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2014220045

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141010.1023.015.html>

[网络出版时间] 2014-10-10 10:23

Determination of Six Active Compounds in Commercial Samples of *Magnoliae Officinalis Cortex* by HPLC-DAD

XUE Zhen-zhen¹, YAN Ren-yi¹, YU Sheng-xian^{1,2}, CAO Yang-yang¹, SHAO Ai-juan¹, YANG Bin^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Beijing Double-crane Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** The study aimed to evaluate the quality of commercial samples of *Magnoliae Officinalis Cortex* based on the contents of six active compounds. **Method:** An HPLC-DAD method was established to determine the contents of four polar constituents, magnoflorine, syringin, magnolol, and honokiol. The HPLC separation was carried out on an Agilent Zorbax C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with a mixture solution of water-acetic acid (pH 3.0) and methanol as the mobile phase applied in a gradient elution at a flow rate of 1 mL·min⁻¹. The wavelength was set at 265 nm for magnoflorine and syringin and 328 nm for the two magnolols. The contents of magnolol and honokiol were determined using our previous method. **Result:** The average recovery of the four polar compounds ranged from 97.63% to 103.84% with RSDs less than 5.00%. The contents of honokiol/magnolol, magnolols, magnoflorine, syringin in samples decreased in turn. The contents of polar compounds except syringin in the bark samples were higher than those in the decoction pieces ($P < 0.05$). Contents of magnolol and honokiol in some samples didn't reach the requirement in Chinese Pharmacopoeia (2010 edition). **Conclusion:** The developed HPLC method is accurate and reliable. Generally speaking, the thick samples with good appearance possess higher contents of the active constituents than those thin and edge-damaged ones.

[收稿日期] 20140418(019)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药行业科研专项(200807020)

[第一作者] 薛珍珍,在读硕士,从事中药化学成分的研究, Tel:010-64014411-2848, E-mail: xuezhzhen99@126.com

[通讯作者] * 杨滨,研究员,从事中药质量评价研究, Tel:010-64014411-2848, E-mail: ybinmm@126.com

[**Key words**] Magnoliae Officinalis Cortex; magnoflorine; syringin; magnolide A; magnolide B; HPLC-DAD

厚朴具有燥湿消痰、下气除满的功效,用于湿滞伤中、脘痞吐泻、食积气滞、腹胀便秘、痰饮喘满^[1],在临床上应用广泛,采用厚朴配方的中成药多达 200 多种^[2]。目前对厚朴化学成分的研究主要集中在脂溶性成分上,对厚朴的质量评价多以脂溶性成分厚朴酚与和厚朴酚的含量为指标^[3],对水溶性成分的研究鲜有报道。厚朴多为水煎入药,药理试验表明厚朴水煎剂对消化系统具有促进作用^[4-5]。在前期研究中,从厚朴中分离到了水溶性的苯乙醇苷类成分,药效试验结果表明苷类成分能显著抑制大鼠离体肠管平滑肌痉挛,并在一定浓度范围内有剂量依赖性,说明苷类成分是厚朴治疗胃肠道实证的有效成分之一^[6]。

本实验建立了厚朴中苯乙醇苷类成分的 HPLC 含量测定方法,同时对购自安国及亳州药材市场的厚朴商品进行了木兰花碱、紫丁香苷、木兰苷 A、木兰苷 B、厚朴酚、和厚朴酚的含量测定。

1 材料

1.1 仪器 2996 型高效液相色谱系统(包括 2695 Separations Module 四元泵,Empower 色谱工作站,美国 Waters 公司),2004MP6 型微量电子显示天平(德国 Sartorius 公司),SPS202F 型普通电子天平(梅特勒-托利多公司)。

1.2 试剂 甲醇(20100123,分析纯)、乙酸(分析纯)购于北京化工厂,甲醇(331698-05295,色谱纯,购于天津四友),高纯水(18.2 MΩ)由 Millipore 纯化系统所制(美国 Millipore)。和厚朴酚(批号 110730-200408)、厚朴酚(批号 110729-200310)购于中国食品药品检定研究院,木兰花碱、紫丁香苷、木兰苷 A、木兰苷 B 对照品均为自制,在 HPLC 色谱条件下,各对照品的纯度均 >98%。

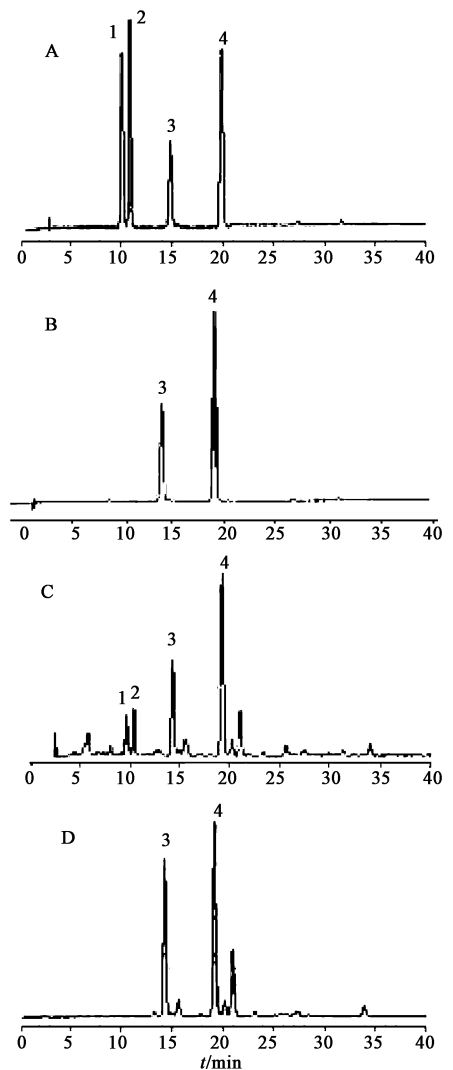
厚朴于 2009 年购于安国和亳州市,由晏仁义博士鉴定为木兰科植物厚朴 *Magnolia officinalis* 或凹叶厚朴 *M. officinalis* var. *biloba* 的干燥干皮、根皮及枝皮。厚朴商品研磨,过 40 目筛,备用。在对安国、亳州市的实地考察中发现,外观完整皮厚的厚朴称为“选货”,质优价高;其他的为“统货”,价格较低。

2 方法与结果

2.1 苷类及生物碱类成分的含量测定

2.1.1 色谱条件 Agilent Zorbax Sb C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相 A 醋酸水(pH

3.0)-B 甲醇,(0 ~ 40 min,19% ~ 35% B),木兰花碱、紫丁香苷的检测波长 265 nm,木兰苷 A、木兰苷 B 的检测波长 328 nm,流速 1 mL · min⁻¹,柱温 35 °C。理论塔板数按木兰花碱峰计不低于 7 000,以紫丁香苷峰计不低于 14 000,以木兰苷 B 峰计不低于 13 000,以木兰苷 A 峰计不低于 26 000。对照品与厚朴样品的 HPLC 见图 1。



1. 木兰花碱;2. 紫丁香苷;3. 木兰苷 B;4. 木兰苷 A

图 1 对照品(A. 265 nm;B. 328 nm)

及厚朴样品(C. 265 nm;D. 328 nm) HPLC

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取对照品木兰花碱 2.15 mg,紫丁香苷 2.59 mg,木兰苷 A 3.96 mg,木兰苷 B 4.10 mg,置于 5 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,制得 430,518,792,820 mg ·

L⁻¹的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取厚朴粉末约 0.8 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称重,超声处理(功率 100 W,频率 40 kHz) 0.5 h,放冷,用甲醇补足减失的质量。滤过,续滤液过 0.2 μm 微孔滤膜,即得。

2.1.4 线性关系考察 取上述混合对照品溶液,稀释成系列浓度,按上述色谱条件测定。以进样量为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归。木兰花碱、紫丁香苷、木兰苷 B 及木兰苷 A 的回归方程分别为 $Y = 1\ 562\ 611X - 31\ 808$ ($r = 0.999\ 6$), $Y = 2\ 494\ 702X - 28\ 134$ ($r = 0.999\ 5$), $Y = 1\ 184\ 338X - 56\ 818$ ($r = 0.999\ 3$), $Y = 1\ 704\ 456X - 80\ 434$ ($r = 0.999\ 2$)。木兰花碱在 0.041 8 ~ 3.01 μg,紫丁香苷在 0.037 8 ~ 3.63 μg,木兰苷 B 在 0.099 2 ~ 5.54 μg,木兰苷 A 在 0.096 0 ~ 5.74 μg 进样量与峰面积呈良好线性关系。木兰花碱、紫丁香苷、木兰苷 B 及木兰苷 A 的定量限分别为 41.8, 37.8, 99.2, 96.0 ng ($S/N = 10$),最小检测限分别为 20.9, 18.9, 49.6, 48.0 ng ($S/N = 3$)。

2.1.5 精密度试验 取同一厚朴样品,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,连续进样 6 次,木兰花碱、紫丁香苷、木兰苷 B 及木兰苷 A 峰面积 RSD 分别为 1.41%, 2.22%, 2.24%, 1.38%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取同一厚朴样品,按 2.1.3 项下方法平行制备 6 份,按上述色谱条件进样测定,木兰花碱、紫丁香苷、木兰苷 B、木兰苷 A 的平均质量分数分别为 0.083 0%, 0.057 7%, 1.89%, 2.34%, RSD 分别为 3.23%, 1.53%, 2.45%, 2.06%。

2.1.7 稳定性试验 取同一厚朴样品,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,室温下样品溶液 24 h 内木兰花碱、紫丁香苷、木兰苷 B、木兰苷 A 峰面积的 RSD 均 < 1.97%。对上述样品溶液进行 3 d 内稳定性考察,室温下样品溶液木兰花碱、紫丁香苷、木兰苷 B 及木兰苷 A 峰面积的 RSD 均 < 2.86%。

2.1.8 回收率试验 取已知含量的厚朴样品 0.4 g,共 6 份,精密称定,分别精密加入含木兰花碱 0.34 mg,紫丁香苷 0.23 mg,木兰苷 B 7.18 mg,木兰苷 A 8.85 mg 的甲醇溶液 25 mL,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下测定,结果见表 1。

2.1.9 样品测定 精密称取各厚朴样品,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下测定,

表 1 厚朴样品中 4 种成分加样回收率试验

成分	样品中 量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
木兰花碱	0.332	0.340	0.686	104.14	97.63	3.67
	0.332	0.340	0.659	96.20		
	0.332	0.340	0.664	97.74		
	0.332	0.340	0.667	98.46		
	0.332	0.340	0.652	94.03		
	0.332	0.340	0.656	95.19		
紫丁香苷	0.231	0.230	0.451	95.50	101.54	4.55
	0.231	0.230	0.458	98.51		
	0.231	0.230	0.472	104.60		
	0.231	0.230	0.481	108.62		
	0.231	0.230	0.462	100.31		
	0.231	0.230	0.465	101.70		
木兰苷 B	7.580	7.180	14.888	101.78	103.27	2.08
	7.580	7.180	14.943	102.55		
	7.580	7.180	15.071	104.33		
	7.580	7.180	15.275	107.18		
	7.580	7.180	14.917	102.19		
	7.580	7.180	14.875	101.60		
木兰苷 A	9.370	8.850	18.431	102.38	103.84	2.41
	9.370	8.850	18.426	102.33		
	9.370	8.850	18.533	103.54		
	9.370	8.850	19.005	108.87		
	9.370	8.850	18.502	103.19		
	9.370	8.850	18.462	102.74		

结果见表 2。市售厚朴样品木兰花碱、紫丁香苷、木兰苷 B 及木兰苷 A 含量均值的 95% 置信区间分别为 0.034% ~ 0.048%, 0.012% ~ 0.019%, 0.065% ~ 0.148%, 0.086% ~ 0.159%。

2.2 厚朴酚类成分的含量测定 参考文献[7]的方法,对上述厚朴样品中厚朴酚与和厚朴酚含量进行了测定,结果见表 3。

3 讨论

四川选货和统货中厚朴酚类总量的平均值分别为 2.820% 和 2.022%;湖南选货与统货的平均值为 3.624% 和 2.081%;浙江选货和统货的平均值分别为 3.120% 和 2.610%,表明同产地样品中,选货的厚朴酚类总量高于统货。四川选货和统货中苷类和生物碱总量的平均值为 0.554% 和 0.330%;湖南选货和统货的平均值为 0.634% 和 0.188%;浙江选货

表 2 亳州与安国药材市场厚朴苷类和生物碱类成分的含量测定 (n=2) %

No.	产地	规格	木兰花碱	紫丁香苷	木兰花碱 B	木兰花碱 A
1	浙江	筒皮(选货)	-	-	0.025	0.017
2	湖南	筒皮(选货)	0.126	0.027	0.060	0.421
3	浙江	筒皮(统货)	-	-	-	-
4	四川	筒皮(选货)	0.130	0.046	1.185	0.982
5	四川	饮片(统货)	0.036	0.005	0.138	0.098
6	湖南	饮片(统货)	0.035	0.024	0.087	0.192
7	湖南	饮片(统货)	-	-	-	-
8	浙江	饮片(统货)	0.042	0.005	0.064	0.091
9	浙江	饮片(选货)	0.015	-	0.015	0.044
10	四川	筒皮(统货)	0.054	0.050	0.159	-
11	四川	筒皮(统货)	-	-	-	-
12	四川	筒皮(统货)	0.034	0.002	-	0.028
13	湖南	饮片(统货)	0.015	0.061	0.199	0.154
14	四川	饮片(统货)	0.069	0.012	0.117	0.095
15	四川	饮片(选货)	0.033	0.050	0.026	0.092
16	四川	饮片(统货)	0.066	0.023	0.084	0.144
17	四川	饮片(选货)	0.039	-	-	-
18	四川	饮片(选货)	0.008	0.003	0.047	0.102
19	四川	饮片(统货)	0.087	0.029	0.051	0.126
20	不详	饮片(统货)	-	-	-	-
21	云南	饮片(统货)	-	-	-	-
22	湖南	饮片(统货)	0.029	0.005	0.044	0.052
23	四川	饮片(选货)	0.026	0.022	0.402	0.241
24	四川	饮片(选货)	0.053	0.024	0.153	0.320
25	四川	饮片(选货)	0.016	0.005	0.101	0.123
26	四川	饮片(选货)	0.113	0.006	0.027	0.056
27	四川	饮片(统货)	0.070	0.009	0.098	0.035
28	四川	饮片(统货)	0.056	0.046	0.018	0.141
29	湖南	饮片(统货)	0.037	0.004	-	-

注：“-”未检出。1~9 批样品来源于亳州药材市场，10~29 批样品来源于安国药材市场。

和统货的平均值分别为 0.058% 和 0.101%。表明同产地样品中，选货的苷类和生物碱总量多高于统货。

厚朴商品中各类成分的含量依厚朴酚类、木兰花碱、木兰花碱和紫丁香苷的顺序下降。筒皮中苷类成分的含量远低于从产地采集的厚朴药材^[6]，但

表 3 安国与亳州药材市场厚朴中厚朴酚类的含量 (n=2) %

No.	产地规格	和厚朴酚	厚朴酚	和厚朴酚 + 厚朴酚
1	四川(选货)	2.212	1.228	3.440
2	四川(选货)	1.199	0.929	2.128
3	四川(选货)	1.287	1.810	3.097
4	四川(统货)	0.979	0.889	1.867
5	四川(统货)	1.629	1.170	2.799
6	四川(统货)	0.932	0.958	1.890
7	湖南(统货)	1.696	1.361	3.057
8	湖南(统货)	0.528	0.578	1.106
9	云南	5.530	2.097	7.627
10	产地不详(统货)	0.051	0.037	0.088
11	湖南(选货)	1.303	2.321	3.624
12	四川(选货)	2.421	2.009	4.430
13	浙江(选货)	0.885	1.554	2.439
14	浙江(统货)	0.800	1.357	2.157
15	四川(统货)	2.250	1.740	3.990
16	湖南(统货)	1.574	2.092	3.666
17	浙江(统货)	1.127	1.935	3.062
18	浙江(选货)	1.957	1.843	3.800
19	湖南枝朴	0.388	0.692	1.080

注：1~10 批样品来源于安国药材市场，11~19 批样品来源于亳州药材市场。

高于饮片，提示不良的贮藏及饮片的加工过程可能造成苷类成分的流失。

2010 年版《中国药典》规定，厚朴酚及和厚朴酚总量应不低于 2.0%。从表 2 可看出，4,6,8,10,19 号样品中厚朴酚类含量没有达到药典标准。9 号云南厚朴习用品中厚朴酚类含量最高为 7.627%，但苷类成分和生物碱类成分没有检出。

本课题组曾采集了厚朴干皮、根皮及枝皮样品，对其水溶性成分和脂溶性成分的含量进行了比较，木兰花碱、紫丁香苷、总苯乙醇苷的含量从高至低分别为枝朴 > 筒朴 = 靴朴 > 根朴^[6]，这与和厚朴酚及厚朴酚在厚朴不同药用部位的存在规律正好相反^[7]。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 235.

HPLC同时测定虎贞痛风胶囊中大车前苷、 虎杖苷、特女贞苷、白藜芦醇的含量

樊化¹, 崔蕴慧², 利弈成¹, 王治平^{3*}

(1. 暨南大学 生物医药研究院, 广州 510632; 2. 暨南大学 附属第一医院, 广州 510632;
3. 广东药学院 药科学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:建立同时测定虎贞痛风胶囊中大车前苷、虎杖苷、特女贞苷、白藜芦醇含量的HPLC方法。方法:采用高效液相法测定,色谱条件为Agilent SB-C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1%甲酸溶液梯度洗脱,检测波长280 nm,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30℃。结果:大车前苷、虎杖苷、特女贞苷、白藜芦醇分别在0.099 6~1.992 ($r=0.999\ 9$), 0.123~2.46 ($r=0.999\ 9$), 0.145~2.90 ($r=0.999\ 9$), 0.025~0.50 μg ($r=0.999\ 8$)与峰面积呈良好的线性关系,平均回收率分别为99.27%, 99.43%, 98.83%, 98.07%。结论:该方法快速简便,重复性好,专属性强,可作为虎贞痛风胶囊的质量控制方法。

[关键词] 虎贞痛风胶囊; 大车前苷; 虎杖苷; 特女贞苷; 白藜芦醇

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)22-0049-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014220049

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141010.0949.003.html>

[网络出版时间] 2014-10-10 9:49

Simultaneous Determination of Plantamajoside, Polydatin, Specnuezhenide and Resveratrol in Huzhentongfeng Capsule with HPLC

FAN Hua¹, CUI Yun-hui², LI Yi-cheng¹, WANG Zhi-ping^{3*}

(1. Jinan University Institute of Biological Medicine, Guangzhou 510632, China;
2. The First Hospital of Jinan University, Guangzhou 510632, China;

[收稿日期] 20140106(026)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2011ZX09401-307);广东省科技厅项目(2012A080204003);广州市生物产业科技重大专项(2013000000060);广东高校产学研结合示范基地项目(cgzhd0905)

[第一作者] 樊化, 硕士, 从事天然药物质量控制研究, Tel:020-85220504, E-mail: fh225@163.com

[通讯作者] *王治平, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 从事中药药效物质、新剂型及质量控制研究, Tel:020-85220908, E-mail: wzping_jshb@126.com

[2] 王承南, 夏传格. 厚朴药理作用及综合利用研究进展 [J]. 经济林研究, 2003, 21 (3): 80.

[3] 孟超, 吴丰, 马林. 厚朴类中药厚朴酚及厚朴酚含量测定 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(6): 1024.

[4] 张启荣, 丁立, 赵训明. 厚朴对兔离体胃肠平滑肌运动的影响 [J]. 陕西医学杂志, 2007, 36 (6): 656.

[5] 彭博, 贺蓉, 杨滨, 等. 厚朴和凹叶厚朴对实验性胃肠动力障碍的药效作用差异研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(19): 2624.

[6] 余盛贤. 基于水溶性成分分析的厚朴质量评价 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2011: 6.

[7] 张春霞, 杨立新, 余星, 等. 种源、产地及采收树龄对厚朴药材质量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34 (19): 1695.

[8] 余盛贤, 晏仁义, 张春霞, 等. 厚朴干皮商品规格的探讨 [J]. 中药材, 2011, 34(4): 522.

[责任编辑 顾雪竹]