

HPLC 法测定参香养胃胶囊中橙皮苷、丁香酚、 和厚朴酚、厚朴酚的含量

曾惠芳^{1*}, 曾 宝², 黄耀海², 苏子仁²

(1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510405)

[摘要] 目的: 建立复方制剂参香养胃胶囊中多种有效成分的含量测定方法。方法: 采用梯度洗脱 HPLC 法对制剂中橙皮苷、丁香酚、和厚朴酚、厚朴酚等有效成分进行含量检测。结果: 橙皮苷、丁香酚、和厚朴酚、厚朴酚等有效成分线性关系 r 在 0.9997~0.9998、回收率 96.4~102.0%、重复性 RSD 1.8~2.7%, 并对其进行含量测定。结论: 本测定方法简单可行、重复性好, 可用于本制剂中各有效成分的含量测定。

[关键词] 橙皮苷; 丁香酚; 和厚朴酚; 厚朴酚; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)01-0012-03

Determination of Hesperidin, Eugenol, Honokiol and Magnolol in Shenxiang Yangwei Capsule by HPLC

ZENG Hui-fang^{1*}, ZENG Bao², HUANG Yao-hai², SU Zi-ren²

(1. The 1st Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangdong, Guangzhou 510405, China

2. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine Guangdong, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the determination of four effective components in Shenxiang Yangwei Capsule. **Methods:** HPLC was used for the determination of hesperidin, eugenol, honokiol and magnolol. **Results:** Good linear relationship between peak area and concentration was observed for the four components. The average recoveries were ranged from 96.4% to 102.0%, and the RSDs of the values of repeatability were ranged from 1.8~2.7%. **Conclusion:** The method is simple, feasible and repeatable, it can be used as quality control in medicinal preparation.

[Key words] hesperidin; eugenol; honokiol; magnolol; HPLC

复方制剂参香养胃胶囊由党参、丁香、陈皮、厚朴等八味中药组成, 具有行气止痛, 养胃健脾之功。用于治疗胃及十二指肠溃疡中医辨证属于湿阳气滞, 脾胃虚弱引起的各种病证。法定标准^[1]中收载了上述药材的含量测定方法, 但未见采用同一条件对以上药材同时进行含量测定的报道。为建立参香养胃胶囊质量控制方法, 采用 HPLC 法同时测定橙

皮苷、丁香酚、和厚朴酚、厚朴酚的含量。

1 仪器、试剂和样品

1.1 仪器 HP1100 高效液相色谱仪; 二极管阵列检测器(DAD)。

1.2 试剂 甲醇(色谱纯, Merck 公司), 超纯水, 甲醇(分析纯)。

1.3 样品 参香养胃胶囊(批号: 20040115, 20040116, 20040117 共 3 批), 由广州中医药大学新药开发研究中心提供。

1.4 对照品 橙皮苷(供含量测定用, 0721-200010)、丁香酚(供含量测定用, 0725-200008)、厚朴

[收稿日期] 2005-04-12

[通讯作者] 曾惠芳, Tel: (020) 36591407; E-mail: zenghuifanggz@yahco.com.cn

酚(供含量测定用, 0729-200006)、和厚朴酚(供含量测定用, 0730-9204), 由中国药品生物制品检定所提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Hypersil ODS 柱(250×4mm, 5μm); 流动相: 甲醇-2% 醋酸溶液梯度洗脱(0~30min, 甲醇浓度由 30% 递升至 70%; 30~40min, 甲醇浓度由 70% 递升至 80%; 40min~45min, 甲醇浓度由 80% 递减至 30%); 流速: 1mL/min⁻¹; 检测波长: 橙皮苷、丁香酚为 283nm; 和厚朴酚、厚朴酚为 294nm; 柱温: 25℃; 进样量: 5μL。在该色谱条件下, 橙皮苷、丁香酚、厚朴酚、和厚朴酚四种成分可达基线分离, 其它成分对测定无干扰。

2.2 样品的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取橙皮苷、丁香酚、厚朴酚、和厚朴酚对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 各含 50 μg 的混合溶液, 摇匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 选择最常用的超声提取方法, 以不同超声处理时间进行试验。精密称取同一批样品内容物 0.25g, 精密加入甲醇 25mL, 称定重量, 分别超声提取 10、20、30、40min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5μL, 按上述色谱条件测定, 结果显示, 超声 20min 已提取完全, 故确定超声提取时间为 20min, 结果见表 1。

表 1 不同提取超声时间试验结果(mg/g, n=2, min)

成分剂量	10	20	30	40
橙皮苷	3.474	3.658	3.620	3.578
丁香酚	3.901	4.051	3.912	3.934
和厚朴酚	4.108	4.260	4.206	4.198
厚朴酚	4.448	4.676	4.587	4.581

供试品溶液的制备确定如下: 取参香养胃胶囊内容物, 研细, 取 0.25g, 精密称定, 精密加入甲醇 25mL, 称定重量, 超声处理 20min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液过(0.45μm)微孔滤膜, 即得。

2.3 线性关系 准确配制系列浓度的混合对照品溶液。精密吸取各 5μL。按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分值 A 为纵坐标, 进样量(μg)为横坐标进行线性回归, 结果各成分的线性关系良好。

橙皮苷回归方程为 $Y = 1900.32X - 6.52$, $r = 0.9998$, 线性范围为 0.050~1.011μg; 丁香酚回归方程为 $Y = 1049.02X - 4.23$, $r = 0.9998$, 线性范围为 0.054~1.091μg; 和厚朴酚回归方程为 $Y = 1694.37X + 8.91$, $r = 0.9998$, 线性范围为 0.050~0.994μg; 厚朴酚回归方程为 $Y = 1602.66X - 6.07$, $r = 0.9997$, 线性范围为 0.053~1.065μg。

2.4 精密度试验 精密吸取对照品混合溶液(每 1mL 含橙皮苷 50.55μg、丁香酚 54.55μg、和厚朴酚 49.70μg、厚朴酚 53.25μg) 5μL, 重复进样 5 次, 测定各成分峰面积, 结果橙皮苷平均峰面积为 467.213, RSD 为 1.3%; 丁香酚平均峰面积为 278.240, RSD 为 1.2%; 和厚朴酚平均峰面积为 414.284, RSD 为 2.0%; 厚朴酚平均峰面积为 411.834, RSD 为 1.5%。

2.5 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 5μL, 按上述色谱条件, 分别在 0、2、4、7、10h 测定各成分峰面积, 结果橙皮苷平均峰面积为 464.935, RSD 为 1.0%; 丁香酚平均峰面积为 276.689, RSD 为 0.8%; 和厚朴酚平均峰面积为 418.230, RSD 为 2.3%; 厚朴酚平均峰面积为 410.412, RSD 为 1.10%; 表明 10h 内各成分较稳定。

2.6 重复性试验 按拟定的含量测定方法, 对同一批样品(20040115) 平行做 5 份, 并计算含量, 结果橙皮苷平均含量为 3.588mg/g, RSD 为 1.8%; 丁香酚平均含量为 3.925mg/g, RSD 为 2.1%; 和厚朴酚平均含量为 4.207mg/g, RSD 为 2.7%; 厚朴酚平均含量为 4.650mg/g, RSD 为 2.02%; 表明方法有较好的重现性。

2.7 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 0.13g, 分别精密加入一定量的橙皮苷、丁香酚、厚朴酚、和厚朴酚对照品, 按供试品溶液制备项下操作, 制成加样供试品溶液, 按色谱条件测定含量, 计算回收率, 结果见表 2。

2.8 样品测定 精密吸取供试品溶液和对照品溶液各 5μL, 按上述色谱条件测定, 结果见表 3。

3 讨论

本实验曾采用乙腈-水系统、甲醇-水系统的不同梯度为流动相, 结果以文中条件分离效果好, 重现性强, 在同一色谱条件下同时检测到橙皮苷、丁香酚、和厚朴酚、厚朴酚, 各成分均达到基线分离, 理论塔板数均在 5000 以上。本测定方法可用于复方制剂参香养胃胶囊中各有效成分的含量测定。

表 2 回收率试验结果 (n = 6)

成分	序号	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
橙皮苷	1	0.4453	0.464	0.9164	101.5	102.0	1.5
	2	0.4499	0.464	0.9229	101.9		
	3	0.4517	0.464	0.9336	103.9		
	4	0.4636	0.464	0.9433	103.4		
	5	0.4481	0.464	0.9195	101.6		
	6	0.4478	0.464	0.9102	99.7		
丁香酚	1	0.4871	0.512	0.9819	96.6	99.5	1.7
	2	0.4922	0.512	0.9961	98.4		
	3	0.4942	0.512	1.0069	100.2		
	4	0.5071	0.512	1.0184	99.9		
	5	0.4902	0.512	1.0088	101.3		
	6	0.4898	0.512	1.0037	100.4		
和厚朴酚	1	0.5221	0.518	1.0444	100.8	100.9	1.6
	2	0.5276	0.518	1.0547	101.8		
	3	0.5297	0.518	1.0595	102.3		
	4	0.5435	0.518	1.0500	97.8		
	5	0.5255	0.518	1.0476	100.8		
	6	0.525	0.518	1.053	101.9		
厚朴酚	1	0.5771	0.575	1.1253	95.4	96.4	0.9
	2	0.5831	0.575	1.1343	95.9		
	3	0.5854	0.575	1.1448	97.3		
	4	0.6008	0.575	1.1589	97.1		
	5	0.5808	0.575	1.1310	95.7		
	6	0.5803	0.575	1.1387	97.1		

表 3 样品含量测定结果(mg/g, n = 2)

批号	橙皮苷	丁香酚	和厚朴酚与厚朴酚总和
20040115	3.59	3.93	8.86
20040116	3.55	4.18	8.52
20040117	3.54	4.23	8.36

中国药典^[1] 2000 年版一部“丁香”是用气相色谱法测定丁香酚的含量。本试验改用高效液相色谱法测定丁香酚的含量。文献报导丁香酚的测定波长有 270 nm^[2~3] 及 280nm^[4~5], 文献[4] 认为 280nm 比较合理。经试验丁香酚的甲醇溶液的紫外光谱在 282nm 处有最大吸收, 与橙皮苷的检测波长 283nm 几乎一致, 故确定丁香酚的检测波长为 283nm, 与橙皮苷^[1] 检测波长相同。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2000. 3-4, 148-149, 204-205, 273-274.
- [2] 余锦雄, 朱炳辉. 风油精中丁香酚含量的高效液相色谱法测定[J]. 中药材, 1995, 18(1): 34.
- [3] 贾天柱, 沙明, 曹爱民, 等. 肉豆蔻不同炮制品挥发油中丁香酚类成分测定[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(8): 474.
- [4] 赵阳, 张纯, 郭澄, 等. HPLC 法测定丁香油-β-环糊精中丁香酚的含量[J]. 解放军药学报, 2000, 16(4): 213.
- [5] 赵阳, 张纯, 郭澄, 等. 高效液相色谱法测定苏合香丸中丁香酚的含量[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(3): 175.