

高效液相色谱法测定藿香正气丸(大蜜丸)中厚朴酚和厚朴酚含量

赵现红¹, 李向日¹, 袁永生², 周玉新²

(1 北京同仁堂股份有限公司, 北京 100083; 2 北京美德森医药技术开发有限公司, 北京 100029)

摘要:目的: 建立藿香正气丸(大蜜丸)中厚朴酚和厚朴酚的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 以 ZORBAX SB-C18 色谱柱(5 μ m, 4.6mm \times 150mm, SN: USCL012593), 乙腈-水(68: 32)为流动相, 流速为 1.0mL/min, 检测波长为 294nm, 室温 25 $^{\circ}$ C。结果: 厚朴酚在 0.18 μ g~ 3.5 μ g 范围内呈良好的线性关系, 该方法平均回收率为 98.5%, RSD 为 1.5%; 和厚朴酚在 0.11 μ g~ 2.2 μ g 范围内呈良好的线性关系, 该方法平均回收率为 101.8%, RSD 为 2.7%。结论: 本方法简单、灵敏度高, 可用于藿香正气丸(大蜜丸)中厚朴酚和厚朴酚的含量测定。

关键词: 藿香正气丸; 厚朴酚; 和厚朴酚; 高效液相色谱; 含量测定

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)02-0013-03

HPLC Method for the Quantitative Determination of Magnolol and Honokiol in the Huoxiang Zhengqi Wan

ZHAO Xian-hong¹, LI Xiang-ri¹, YUAN Yong-sheng², ZHOU Yu-xin²

(1 Beijing Tongrentang Company Limited, Beijing 100083, China; 2 Beijing Medsun Corp, Beijing 100029, China)

Abstract: Objective: To establish a method for determining Magnolol and Honokiol in the Huoxiang Zhengqi Wan. Method: An HPLC method was designed, which was performed under the following conditions: Zorbax sb- C18 column (4.6mm \times 150mm, 5 μ m) as the chromatographic column, acetonitrile-water (68: 32) as the mobile phase at a flow velocity of 1.0mL/min, and the wavelength of 294nm as the detecting wavelength. Results: The calibration curves were linear in the range of 0.18 μ g~ 3.5 μ g magnolol and 0.11 μ g~ 2.2 μ g honokiol. The RSD was 1.5% ($n=5$) and 2.7% ($n=5$), and the average recovery was 98.5% and 101.8%, respectively. Conclusion: This HPLC method is easy and accurate, and can be used as one of the methods for controlling the quality of the Huoxiang Zhengqi Wan.

收稿日期: 2004-04-09

通讯作者: 周玉新, Tel: (010) 64937613,

Fax: (010) 64934234, 手机: 13601078776

Key words: Huoxiang Zhengqi Wan; Magnolol; Honokiol; HPLC; Quantitative Detection

藿香正气丸(大蜜丸)作为一种解表祛暑,化湿和中的常用传统中药,广泛应用于临床。因方中含厚朴,曾有文献^[1]报道采用薄层扫描的方法测定方中厚朴酚与和厚朴酚的含量,但该方法重复性差,不宜采用,本文在文献^[1-3]的基础上,采用高效液相色谱法,同时测定本品厚朴中厚朴酚与和厚朴酚含量。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪 Agilent 1100(四元泵、在线脱气、自动进样、恒温箱、VWD 检测器);超声波清洗器(型号 SK5200H,功率 200W,频率 59KHz,上海科导超声仪器有限公司);ZORBAX SB-C18 色谱柱(5 μ m, 4.6mm \times 150mm, SN: USCL012593);Millipore 超纯水器。

厚朴酚对照品,购于中国药品生物制品检定所(供含量测定用,批号:0729-200006);和厚朴酚对照品,购于中国药品生物制品检定所(供含量测定用,批号:0730-9204)。

乙腈,色谱纯(Fisher);超纯水;其它试剂均为分析纯。藿香正气丸(大蜜丸)购于北京同仁堂药店。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 ZORBAX SB-C18(5 μ m, 4.6mm \times 150mm, SN: USCL012593);流动相:乙腈-水(68:32),检测波长 294nm;柱温:室温 25 $^{\circ}$ C。在上述色谱条件下厚朴酚、和厚朴酚与其他成分分离良好,且空白溶液无干扰,见图 1、图 2 和图 3。

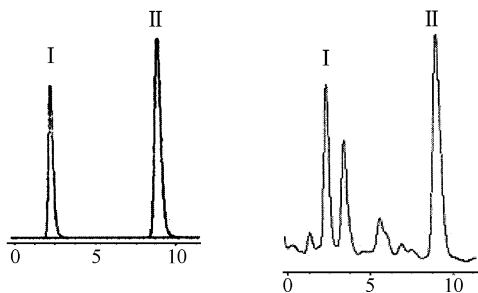


图 1 对照品液相色谱图 图 2 供试品液相色谱图

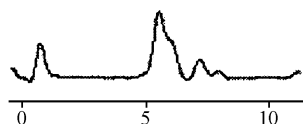


图 3 空白液相色谱图
(I 厚朴酚、II 和厚朴酚)

2.2 对照品溶液的制备 取厚朴酚、和厚朴酚对照品适量,精密称定,分别加甲醇制成每 1mL 含厚朴酚 100 μ g 和厚朴酚 40 μ g 的溶液,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过二号筛)约 2g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 20mL,密塞,称定重量,超声处理 60min,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。

2.4 空白溶液的制备 除厚朴外,称取苍术 1g,其余九味按处方比例称取,粉碎,加甲醇 50mL,超声处理 60min,放冷,滤过,滤液转移至 100mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,滤过,吸取续滤液 10 μ L 注入液相色谱仪,结果表明,空白溶液与供试品溶液比较,相应位置未出峰,认为无干扰。

2.5 线性关系考察 精密称量厚朴酚 4.38mg 置 25mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。分别精密吸取(1.5、10、15、20) μ L 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录峰面积。以峰面积积分值(X)为横坐标、厚朴酚的量(μ g)为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程, $Y(\mu\text{g}) = -0.00693 + 0.000629792X$ ($r = 0.9999, n = 5$)。结果表明厚朴酚在 0.18 μ g~ 3.5 μ g 范围内呈良好的线关系。

精密称量和厚朴酚 2.69mg 置 25mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。分别精密吸取(1.5、10、15、20) μ L 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定。以峰面积积分值为横坐标、和厚朴酚的量(μ g)为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程, $Y(\mu\text{g}) = 0.000823417 + 0.00056875X$ ($r = 0.9999, n = 5$)。结果表明和厚朴酚在 0.11 μ g~ 2.2 μ g 范围内呈良好的线关系。

2.6 精密度试验 精密吸取厚朴酚、和厚朴酚混合对照品溶液 10 μ L,连续进样 5 次,测得峰面积平均值为厚朴酚 496.42、和厚朴酚 284.13, RSD 值为厚朴酚 0.73%、和厚朴酚 0.56%,表明二者精密度良好。

2.7 供试品溶液稳定性试验 取同一供试品溶液(批号:20011201),在室温下分别于配制后 0、2、4、6、8h 依法测定,峰面积平均值为厚朴酚 1355.44、和厚朴酚 582.00, RSD 值为厚朴酚 0.47%、和厚朴酚 0.40%,表明样品溶液在 8h 内稳定。

2.8 重复性试验 按上述供试品溶液制备方法,称取同批号样品(批号:20011201) 5 份,分别进行测定,得厚朴酚的平均含量 0.89mg/g, RSD 值为 1.7%、和厚朴酚的平均含量 0.34mg/g, RSD 值为 0.86%,表明该测定方法重复性良好。

2.9 回收率试验 采取加样回收法(按 1:1 加入),精密称取已知含量的同一批(批号 20011201)样品 1g,共 5 份,分别精密加入厚朴酚、和厚朴酚适量,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,精密吸取 10 μ L,注入液相色谱仪,同法测定,计算平均回收率为厚朴酚 98.5%,RSD 值为 1.5%、和厚朴酚 101.8%,RSD 值为 2.7%,结果见表 1、2。

表 1 厚朴酚回收率试验结果

序 号	样品称样量 (g)	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测定总量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	1.0035	0.8455	0.9636	1.8091	100.0		
2	1.0072	0.8489	0.9636	1.7805	96.7		
3	1.0047	0.8464	0.9636	1.7831	97.2	98.5	1.48
4	1.0081	0.8497	0.9636	1.8094	99.6		
5	1.0115	0.8523	0.9636	1.8045	98.8		

表 2 和厚朴酚回收率试验结果

序 号	样品称样量 (g)	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测定量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	1.0035	0.3310	0.3981	0.7187	97.4		
2	1.0072	0.3323	0.3981	0.7460	103.9		
3	1.0047	0.3313	0.3981	0.7457	104.1	101.8	2.66
4	1.0081	0.3326	0.3981	0.7365	101.4		
5	1.0115	0.3336	0.3981	0.7402	102.1		

2.10 样品测定结果 分别称取各批藿香正气丸(大蜜丸)约 2g,按 2.3 项下方法制备各供试品溶液,精密吸取各供试品溶液 2.2 项下厚朴酚与和厚朴酚对照品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,依法测定,按外标一点法分别计算厚朴酚、和厚朴酚的含量。结果见表 3。

3 讨论

流动相条件考察 (1) 甲醇-乙腈-水(50:20:40)、(2) 乙腈-水(65:35)、(3) 乙腈-水(68:32),结果

表明,流动相甲醇-乙腈-水(50:20:40)及流动相乙腈-水(65:35)对厚朴酚、和厚朴酚与其它色谱峰未得到基线分离,流动相乙腈-水(68:32)时厚朴酚及和厚朴酚均与其它色谱峰达到基线分离。故选择乙腈-水(68:32)为流动相。

表 3 样品中厚朴酚与和厚朴酚含量测定结果(n=3)

批号	厚朴酚 平均含量	RSD (%)	和厚朴酚 平均含量	RSD (%)
20011107	0.83	2.3	0.33	2.5
20011115	0.84	0.6	0.33	0.7
20011123	0.85	0.8	0.34	0.8
20011130	0.84	2.2	0.34	2.0
20011229	0.84	2.2	0.33	2.1
20011217	0.86	2.8	0.34	2.8
20011208	0.86	2.0	0.34	2.0
20011201	0.85	1.4	0.33	1.5
20011203	0.87	1.3	0.34	1.3
20011212	0.84	1.0	0.32	2.2

参照藿香正气水的含量测定方法并结合本品制剂的特点,将原药典中三元流动相系统,改进为乙腈-水流动相系统,并将供试品萃取制备方法,改进为甲醇直接超声提取,具有操作简单、重复性好、误差小的特点。

参考文献:

- [1] 芦金清,李红艳,黄远淳.聚酰胺薄层扫描法测定藿香正气丸中厚朴酚与和厚朴酚的含量[J].中成药,1994,6(2):17-18.
- [2] 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,2000.633.
- [3] 李章万,郭平,刘三康,等.几种藿香正气制剂中化学成分的比较[J].中成药,1994,16(11):12-14.