

HPLC 测定半夏厚朴汤不同煎液中厚朴酚

冯华¹, 王祥培², 聂明华¹, 罗秀琼¹, 邹孔强¹, 靳风云²

(1. 遵义市药品检验所, 贵州 遵义 563002; 2. 贵阳中医学院, 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 考察用合煎、分煎方法制备的半夏厚朴汤剂中厚朴酚含量的变化。方法: 建立高效液相色谱方法, 采用 Diamonist C₁₈ 柱 (4.6 mm × 200 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水 (78:22), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长为 294 nm。分析半夏厚朴汤合煎液和分煎液样品中厚朴酚的含量变化。结果: 半夏厚朴汤分煎液中厚朴酚的平均含量等于合煎液中厚朴酚的平均含量。结论: 分煎液与合煎液比较, 2 种煎液中厚朴酚的含量无差异性。

[关键词] 半夏厚朴汤; 厚朴酚; 合煎; 分煎; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0082-03

Determination of Magnolol in Different Decoctions of Banxia Houputang by HPLC

FENG Hua¹, WANG Xing-pei², NIE Ming-hua¹, LUO Xiu-qiong¹, ZOU Kong-qiang¹, JIN Feng-yun²

(Zunyi Institute for Drug Control, Zunyi 563002, China;

2. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the content of magnolol in hejian decoction (mixed the traditional Chinese herbs together, then boiling them with water) and in fenjian decoction (boiling the single traditional Chinese herb with water separately, then mixed the abstracts) of Banxia Houputang (composed of *Prunus Ephedra sinica armeniaca* and *Mangnolia officinalis*). **Method:** A HPLC method was established with a Diamonist C₁₈ column (4.6 mm × 200 mm, 5

[收稿日期] 20101231 (007)

[基金项目] 遵义市中药现代化科技产业研究开发专项项目课题 [(2009)4 号]

[第一作者] 冯华, 硕士, 主管药师, 从事新药研究及药品检验工作, Tel: 0852-8928059, 15085016387, E-mail: fenghua781014@yahoo.com.cn

的标准图谱, 本文利用一维图谱和相似度对黄芪的产地实现了鉴别; 二阶导数图谱由于放大了一维图谱中的差异, 所以分辨率更高, 特别适用于差异较小的对象的鉴别。本文利用二阶导数图谱对黄芪的品种和等级实现了鉴别。实验证明红外指纹图谱法专属性强、快速、稳定, 可用于黄芪的鉴别或质量监控。

[参考文献]

- [1] 冉先德. 中药药海 [M]. 哈尔滨: 黑龙江出版社, 1993.
- [2] 关瑾光. 近代傅立叶变换红外光谱技术及应用. 上卷 [M]. 北京: 科技文献出版社, 1994.

- [3] 孙素琴, 周群, 郝鉴源, 等. 分子振动光谱法与中药研究的最新进展 [J]. 光谱学与光谱分析, 2000, 20(2): 199.
- [4] 孙素琴, 周群, 秦竹. 中药二维相关红外光谱鉴定图集 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [5] 林森, 吴平平. 实用傅立叶变换红外光谱学 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1991: 12.
- [6] 谢培山. 中药制剂色谱指纹图谱 (图像) 鉴别 [J]. 中成药, 2000, 22(6): 391.
- [7] 芦锰, 樊克峰, 白雁. 红外光谱技术在中药整体质量评价中的应用 [J]. 河南中医, 2004, 11: 423.

[责任编辑 蔡仲德]

μm) a mobile phase of methanol-water(78:22) a flow rate of $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ and a detection wavelength of 294 nm in order to determine the content of magnolol. **Result:** The average content of magnolol of the *fenjian* decoction was equal to that of the *hejian* decoction. **Conclusion:** Comparing with both decoctions ,the content of magnolol in *hejian* and *fenjian* decoction was equal.

[Key words] Banxia Houputang; magnolol; *Hejian decoctions*; *Fenjian decoctions*; HPLC

半夏厚朴汤出自张时诃《金匱要略》,处方由半夏、厚朴、茯苓、生姜、紫苏组成,具有行气散结,降逆化痰等之功效。用分煎法与合煎法制备的中药复方汤剂,其有效成分含量有何变化,药理作用有何变化,一直是中医药理论和临床实践中值得探讨的课题,特别是近年来单味中药精制颗粒逐渐在临床上推广应用,更引起国家对单味中药精制颗粒的重视。本论文以中药经方半夏厚朴汤中的有效成分厚朴酚作为指标,比较该方用合煎法与分煎法制得的汤剂中厚朴酚含量差异,探索中药复方汤剂不同制法对其有效成分溶出量的影响,对单味中药精制配方颗粒应用于临床提供一些理论依据。

1 仪器、药材与试剂

Waters1525 型高效液相色谱仪, KQ-300DE 超声仪, Diamonsil C_{18} 色谱柱: (4.6 mm $\times$ 200 mm 5 μm)。半夏、厚朴、茯苓、生姜、苏叶以上 5 味药材饮片由遵义医药有限公司提供,经遵义市药品检验所邓顺超副主任中药师鉴定均符合《中国药典》2010 年版一部收载品种。厚朴酚对照品(批号 110729-200310,中国药品生物制品检定所),甲醇为色谱纯,水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil C_{18} 柱(4.6 mm $\times$ 200 mm, 5 μm) 流动相甲醇-水(78:22), 流速 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 检测波长为 294 nm 柱温 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ [1], 色谱图见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取厚朴酚对照品 11.2 mg, 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 1 mL 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.2 合煎液的制备(传统煎煮法) 称取药材饮片半夏 12.0 g, 厚朴 9.0 g, 茯苓 12.0 g, 生姜 9.0 g, 苏叶 6.0 g, 加 8 倍量的水煎煮, 保持微沸 30 min, 倒出煎液; 药渣再加 8 倍量的水煎煮 20 min, 合并 2 次煎液, 减压干燥成干粉。称取相当原药材处方量的干粉, 置 100 mL 量瓶中, 用开水溶解定容至刻度。精密吸取 5

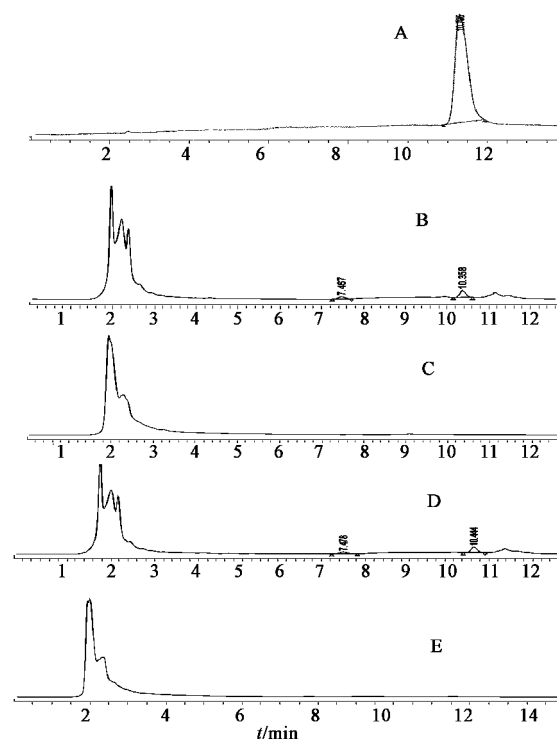


图1 厚朴酚对照品(A)、合煎液样品(B)、合煎液阴性对照液(C)、分煎液样品(D)、分煎液阴性对照液(E) HPLC

mL, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 称重, 超声处理(功率 250 W, 频率 20 kHz) 25 min, 取出, 放冷, 加甲醇补足质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 即得。

2.2.3 分煎液样品溶液的制备 称取上述处方量的药材半夏、厚朴、茯苓、生姜、苏叶分别加 8 倍量的水与合煎液相同时间煎煮 2 次, 制备各药材的煎液, 减压干燥成干粉。称取相当原药材处方量各药材的干粉混合均匀, 同合煎液法制得分煎液样品溶液。

2.2.4 阴性对照液的制备 再分别按上法制备不含厚朴药材的合煎液、分煎液的阴性对照液。

2.3 线性关系考察 标准曲线的绘制 分别精密称取厚朴酚对照品, 用甲醇稀释配制浓度分别为 0.006 72 μg , 0.008 96 μg , 0.011 20 μg , 0.013 44 μg , 0.015 68 μg , 0.017 92 μg 的厚朴酚系列对照品溶液, 精密吸取厚朴酚系列对照品溶液 10 μL , 按上述色谱条件依次测定, 以峰面

积分值(A)对进样量(C)进行线性回归,得回归方程 $A = 2.1 \times 10^6 C - 30\ 425$ ($r = 0.999\ 1$),厚朴酚在 $0.067\ 2 \sim 0.179\ 2\ \mu\text{g}$ 质量浓度与峰面积的线性关系良好。

2.4 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 $10\ \mu\text{L}$,重复进样 5 次,测得平均峰面积为 $121\ 370$,RSD 0.5% 。表明精密度良好。

2.5 稳定性试验 取分煎液、合煎液,分别于 $0\ 4\ 8\ 16\ 24\ \text{h}$ 测定,合煎液 RSD 1.2% ;分煎液 RSD 1.5% ,表明分煎液、合煎液在 $24\ \text{h}$ 内稳定。

2.6 重复性试验 分别取同一样品各 5 份,按样品测试条件测定,结果厚朴酚含量合煎液 $1.400\ \text{mg}$,分煎液 $1.410\ \text{mg}$,RSD 0.8% ,分煎液 RSD 1.0% ,重复性好。

2.7 回收率试验 按分煎液、合煎液制备项下制备半夏厚朴汤传统汤剂及其配方颗粒汤剂各 5 份,精密加入厚朴酚对照品($0.372\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) $2\ \text{mL}$,进行加样回收,过 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜,并按色谱条件项下进样,同法测定,结果见表 1 2。

表 1 分煎汤剂厚朴酚加样回收测定

No.	称样量 $/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	样品中 含量 $/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	加入量 $/\text{mg}$	测得量 $/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	回收率 $/\%$	平均值 $/\%$	RSD $/\%$
1	4.680	0.772	0.744	1.523	100.94		
2	4.223	0.697	0.744	1.438	99.60		
3	4.685	0.773	0.744	1.519	100.27	99.97	1.10
4	4.564	0.753	0.744	1.494	99.59		
5	4.428	0.730	0.744	1.470	99.46		

注: $\text{mg}\cdot\text{m}^{-1}$ 代表一个处方中含 mg 厚朴酚,表 2 同。

2.8 样品含量测定 分别按分煎液、合煎液制备方法制备合煎液、分煎液各 5 份,测定其含量,求平均样品含量。厚朴酚在 1 个复方中的含量分别为合煎液 $1.411\ \text{mg}$,分煎液 $1.425\ \text{mg}$ 。

表 2 合煎汤剂厚朴酚加样回收率测定

No.	称样量 $/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	样品 含量 $/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	加入量 $/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	实测量 $/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	回收率 $/\%$	平均值 $/\%$	RSD $/\%$
1	4.142	0.646	0.744	1.358	95.69		
2	4.002	0.624	0.744	1.347	97.18		
3	4.130	0.644	0.744	1.357	95.83	96.53	0.80
4	4.132	0.643	0.744	1.357	95.96		
5	4.158	0.648	0.744	1.377	97.98		

3 讨论

采用 HPLC 法测定中药复方制剂中的厚朴酚,文献报道可用多种不同组成的流动相系统^[2-5],本试验选择药典方法,厚朴酚与杂质峰能达到基线分离。

厚朴有燥湿消痰,下气除满等之功效,对半夏厚朴汤合煎汤剂与分煎汤剂进行了厚朴酚含量的对比研究。从以上研究结果可以看出,分煎液、合煎液中有效成分厚朴酚的含量变化无影响。

本试验表明在相同条件下半夏厚朴汤中厚朴酚的含量在分煎、合煎煎煮过程中无其他因素影响,因此本实验研究为中药精制配方颗粒应用于临床提供一些理论依据。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2010:235.
[2] 杨红兵,石磊,詹亚华,等.湖北产凹叶厚朴质量研究(I)[J].湖北中医杂志,2007,(11)29:59.
[3] 孟超,吴丰,马林.厚朴类中药和厚朴酚及和厚朴酚的含量测定[J].天然产物研究与开发.2007,19:1024.
[4] 冯慧萍,杨中林,胡育筑.厚朴及不同炮制品 HPLC-DAD/MS 色谱指纹图谱研究[J].中成药,2007,29(1):84.
[5] 高效液相色谱法测定厚朴叶不同采收期中厚朴酚、和厚朴酚的含量测定[J].中国中药杂志,2005,30(9):717.

[责任编辑 蔡仲德]