

## HPLC 同时测定平胃散配方颗粒中 4 种有效成分的含量

张 美<sup>1</sup>, 崔园园<sup>1</sup>, 熊 瑞<sup>1</sup>, 陈志敏<sup>1</sup>, 李文兵<sup>2</sup>, 胡昌江<sup>1\*</sup>, 文建霞<sup>1</sup>, 陈海媚<sup>1</sup><sup>1</sup>成都中医药大学药学院, 成都 611137; <sup>2</sup>四川新绿色药业科技发展股份有限公司, 成都 611930

**摘要:** 本文应用 HPLC 同时测定平胃散配方颗粒中 4 种有效成分(苍术素、厚朴酚、和厚朴酚、橙皮苷)的含量。含量测定采用 Thermo C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 柱温为 30 °C, 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 300 nm, 以乙腈-0.2% 磷酸水溶液进行梯度洗脱。结果表明 3 批配方颗粒中苍术素、厚朴酚、和厚朴酚及橙皮苷的平均含量分别为: 0.015、0.253、0.227、2.567 mg/g。4 种成分的线性关系良好, 精密度、稳定性、重复性的 RSD 均低于 2%, 加样回收率为 97.72% ~ 99.41%。该方法简单、灵敏、准确, 可用于平胃散配方颗粒多指标质量控制。

**关键词:** 高效液相色谱法; 平胃散配方颗粒; 苍术素; 厚朴酚; 和厚朴酚; 橙皮苷

中图分类号: R284

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.S.018

## Simultaneously Determination of Four Components in Pingweisan Prescription Granule by HPLC

ZHANG Mei<sup>1</sup>, CUI Yuan-yuan<sup>1</sup>, XIONG Rui<sup>1</sup>, CHENG Zhi-ming<sup>1</sup>,  
LI Wen-bing<sup>2</sup>, HU Chang-jiang<sup>1\*</sup>, WEN Jian-xia<sup>1</sup>, CHEN Hai-mei<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

<sup>2</sup>Neo-green Pharmaceutical Co. LTD, Chengdu 611930, China

**Abstract:** In this study, a HPLC method was developed to simultaneously determine the content of atractyloidin, magnolol, honokiol and hesperidin in Pingweisan prescription granule. A Thermo C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used for chromatographic separation. The column oven temperature was set at 30 °C, the flow rate was 1.0 mL/min and the detection wavelength was 300 nm. The mobile phase was acetonitrile and 0.2% phosphoric acid in water with gradient elution. All the four compounds showed good linearity within the range of the tested concentration. The RSDs of the precision, reproducibility and stability tests were less than 2%, the recoveries of them were in the range of 97.72% -99.41%. The average contents of atractyloidin, magnolol, honokiol and hesperidin in three batches of Pingweisan prescription granule were: 0.015, 0.253, 0.227 mg/g and 2.567 mg/g, respectively. The developed HPLC method was simple, sensitive and accurate. It can be used for the quality control of Pingweisan prescription granule.

**Key words:** HPLC; Pingweisan prescribed granule; atractyloidin; magnolol; honokiol; hesperidin

平胃散出自宋《太平惠民和剂局方》<sup>[1]</sup>, 由麸炒苍术, 姜炙厚朴, 陈皮及蜜炙甘草四味药组成, 具有燥湿运脾、行气和胃的功效, 是治疗湿困脾胃证的代表方剂。现代常用于治疗慢性胃炎、消化道功能紊乱、胃及十二指肠溃疡等<sup>[1]</sup>。

湿困脾胃证指湿邪困阻脾胃, 是阻遏气机所表现的一种证候。临床上多表现为头身困重倦怠, 精神不振, 少气懒言, 饮食量减少, 小便短涩, 大便溏

泄, 舌白苔腻等。湿困脾胃证不仅是临床上众多疾病的常见证型, 而且其病程长, 危害大, 与当今社会人们的亚健康状态密切相关<sup>[2,3]</sup>。但其往往又多为人们所忽略, 使其成为某些流行疾病暴发的温床。因此平胃散作为治疗湿困脾胃的代表方剂具有重要的临床和社会意义。为符合现代临床应用, 故课题组已将其制备成配方颗粒。

平胃散君药苍术中主要有效成分苍术素具有对胃肠运动的调节作用, 能够促进胃肠运动, 具有抗乙酰胆碱引起的肠管平滑肌收缩等作用<sup>[4]</sup>; 臣药厚朴中主要有效厚朴酚及和厚朴酚具有抗溃疡<sup>[5,6]</sup>、抗病毒、抗肿瘤、防止炎症及恶性肿瘤的发生<sup>[7,8]</sup>等药

理作用;使药陈皮中主要有效成分橙皮苷具有抗炎、抗氧化等活性<sup>[9,10]</sup>。目前国内大部分配方颗粒都是以一个成分或多个方法多个成分进行含量测定控制,而少见一个方法同时测定配方颗粒的多个成分。本文为控制和提高平胃散配方颗粒的质量,建立 HPLC 法同时测定苍术、厚朴及陈皮的主要有效成分苍术素、厚朴酚、和厚朴酚及橙皮苷的含量。为更全面控制平胃散配方颗粒的内在质量提供参考依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪,含 DAD 检测器(美国 Agilent 公司);BP211D AG 电子天平(十万分之一天平,德国 Sartorius);KQ5200DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 药材

麸炒苍术,姜炙厚朴,陈皮,蜜炙甘草均由四川新绿色药业科技发展股份有限公司提供,由成都中医药大学卢先明教授鉴定苍术为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 的干燥根茎,厚朴为木兰科植物厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. 的干燥干皮,陈皮为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 的干燥成熟果皮,甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根。

### 1.3 试剂

苍术素对照品(批号: MUST-13070808,成都曼思特生物科技有限公司);厚朴酚,和厚朴酚对照品(批号分别为: MUST-13122405, MUST-13022406,成都曼思特生物科技有限公司);橙皮苷对照品(批号: MUST-14010315,成都曼思特生物科技有限公司);乙腈为色谱纯,水为重蒸水;其它试剂均为分析纯。平胃散配方颗粒及阴性对照品,自制,规格 5g/袋,批号分别为 20150301、20150302、20150303。

## 2 实验方法

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Thermo C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.2% 磷酸溶液, 梯度洗脱(0 min → 20 min → 35 min → 40 min → 45 min, 乙腈 15% → 40% → 70% → 100% → 100%), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 300 nm, 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL。

### 2.2 溶液的制备

#### 2.2.1 供试品溶液

取平胃散配方颗粒 10 g, 研细, 精密称定 1.0 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 50 mL, 超声处理 30 min, 取上清液作为供试品溶液。

#### 2.2.2 混合对照品溶液

分别精密称取苍术素, 厚朴酚, 和厚朴酚, 橙皮苷对照品适量, 以甲醇溶解并定容, 制成质量浓度分别为苍术素 0.210 mg/mL, 厚朴酚 0.506 mg/mL, 和厚朴酚 0.511 mg/mL, 橙皮苷 3.253 mg/mL 的对照品储备液; 分别精密量取 0.5、1、1、1 mL 储备液置 25 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 制得系列对照品溶液, 避光保存。

#### 2.2.3 阴性对照溶液

取按平胃散配方颗粒工艺方法制备缺苍术, 缺厚朴, 缺陈皮, 缺甘草提取物的阴性对照样品, 按“2.2.1”项下方法操作, 既得。

## 3 实验结果

### 3.1 系统适应性及专属性试验

分别精密吸取混合对照品溶液, 供试品溶液及阴性对照溶液各 10 μL, 按“2.1”项下色谱条件分析, 结果见图 1。橙皮苷、和厚朴酚、厚朴酚及苍术素的保留时间分别为 11.61、32.70、34.98、40.00 min, 与其相邻色谱峰的分度度均大于 1.5, 拖尾因子在 1.01 ~ 1.08 之间, 理论塔板数以各色谱峰计均在 5000 以上。阴性对照品在相应位置上未见色谱峰, 平胃散配方颗粒中其他组分不干扰 4 种成分的测定, 方法专属性良好。

### 3.2 线性关系考察

按“2.1”项下色谱条件, 分别精密量吸取“2.2.2”项下配制的系列对照品溶, 0.5、1、5、10、15、20 μL 注入高效液相色谱仪, 记录峰面积, 以峰面积为纵坐标(Y), 对照品质量为横坐标(X), 进行线性回归。结果见表 1。

### 3.3 精密度试验

取供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录峰面积, 分别计算苍术素, 厚朴酚, 和厚朴酚及橙皮苷峰面积的 RSD, 结果分别为 0.56%、0.48%、0.34%、0.37%, 表明仪器精密度良好。

### 3.4 稳定性试验

取同一批(批号 20150301)的供试品溶液, 分别于制备后 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 结果苍术素, 厚朴酚, 和厚朴酚及橙皮苷峰面积的 RSD 分别为

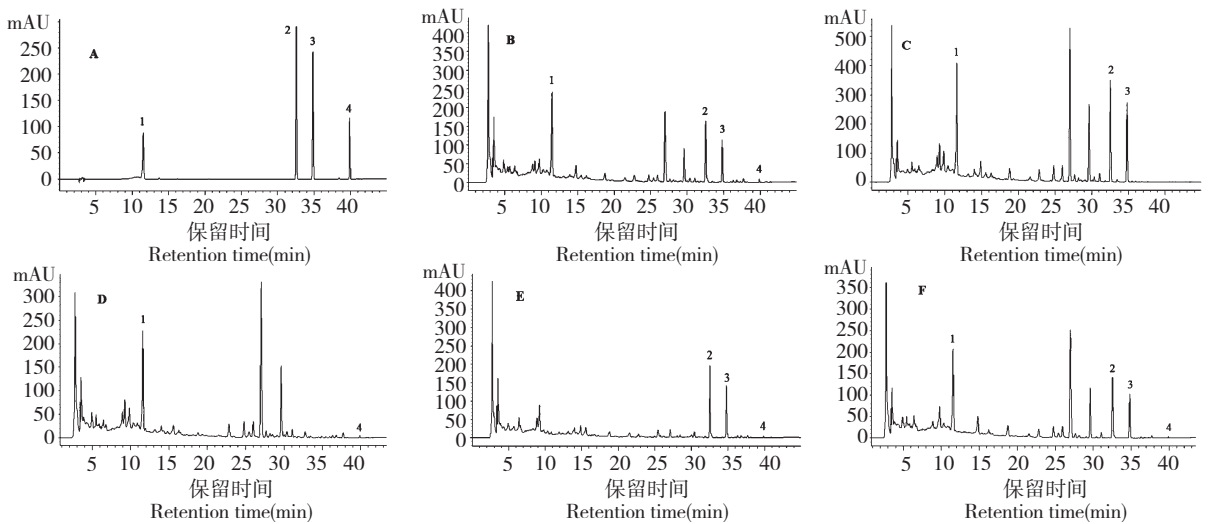


图1 混合对照品(A)、平胃散配方颗粒(B)、缺苍术提取物(C)、缺厚朴提取物(D)、缺陈皮提取物(E)、缺甘草提取物(F)的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substance (A), Pingweisan prescription granule (B), lack of Rhizoma Atractylodis sample (C), lack of magnolia bark sample (D), lack of dried tangerine sample (E), lack of licorice sample (F)

1-橙皮苷 2-和厚朴酚 3-厚朴酚 4-苍术素  
1-hesperidin 2-magnolol 3-honokiol 4-atractylodin

表1 线性范围、回归方程及相关系数

Table 1 Linear range, regression equation and correlation coefficient

测定成分 Analyte	线性范围 Linear range (ng)	回归方程 Regression equation	<i>r</i>
苍术素 Atractylodin	2.10 ~ 42.00	$Y = 1.075 + 7.319 \times 10^3 X$	0.9998
厚朴酚 Magnolol	10.12 ~ 202.40	$Y = 8.961 + 1.664 \times 10^3 X$	0.9999
和厚朴酚 Honokiol	10.22 ~ 204.40	$Y = 8.401 + 1.538 \times 10^3 X$	0.9999
橙皮苷 Hesperidin	65.06 ~ 1301.20	$Y = 28.896 + 1.593 \times 10^3 X$	0.9997

1.82%、0.89%、1.07%、1.17%。表明供试品溶液在24 h内稳定。

### 3.5 重复性试验

取同一批(批号20150301)样品6份,研细,精密称定每份0.5 g,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分别进样测定。结果样品中苍术素、厚朴酚、和厚朴酚及橙皮苷平均含量( $n=6$ )分别为0.016、0.26、0.24、2.23 mg/g, RSD分别为1.47%、0.72%、0.85%、1.02%,表明本方法重复性良好。

### 3.6 加样回收率试验

取已知含量的同一批(批号20150301)样品6份,研细,精密称定每份0.5 g,分别精密添加含苍术素0.34  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,厚朴酚5.62  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,和厚朴酚4.87  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及橙皮苷45.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合对照品溶液25

mL,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,并分别计算加样回收率,结果见表2。试验结果表明,本方法具有良好的回收率。

### 3.7 样品的测定

取3个批号的样品,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录苍术素、厚朴酚、和厚朴酚及橙皮苷的峰面积,按外标法计其算质量分数。结果见表3。

## 4 讨论

采用二级管阵列检测器在190~380 nm分别扫描混合对照品溶液中苍术素,厚朴酚,和厚朴酚及橙皮苷色谱峰的紫外吸收,发现待测成分在300 nm均有较高的吸光值,且峰形较好,干扰少,色谱图比较

表 2 平胃散配方颗粒中 4 种成分回收率试验结果 ( $n=6$ )Table 2 Recovery test results of the 4 investigated compounds in Pingweisan prescription granule ( $n=6$ )

成分 Ingredient	配方颗粒 Sample weight (g)	样品原有量 Original amount ( $\mu\text{g}$ )	加入量 Added amount (mL)	对照品量 Reference amount ( $\mu\text{g}$ )	测得量 Measured amount ( $\mu\text{g}$ )	平均回收率 Average recovery rate (%)	RSD (%)
苍术 Atractylodin	0.5	7.62	25	8.50	15.93	97.76%	1.71%
厚朴酚 Magnolol	0.5	125.90	25	140.50	265.57	99.41%	1.05%
和厚朴酚 Honokiol	0.5	113.60	25	121.75	233.52	98.50%	1.14%
橙皮苷 Hesperidin	0.5	1288.40	25	1127.50	2397.41	98.36%	1.29%

表 3 平胃散配方颗粒中 4 种成分含量测定结果 ( $n=3$ )Table 3 Content determination results of the 4 investigated compounds in Pingweisan prescription granule ( $n=3$ )

批号 Batch number	质量分数 Concentration (mg/g)			
	苍术素 Atractylodin	厚朴酚 Magnolol	和厚朴酚 Honokiol	橙皮苷 Hesperidin
20150301	0.015	0.25	0.21	2.10
20150302	0.016	0.24	0.23	2.85
20150303	0.014	0.27	0.24	2.78

理想,故测定波长选择为 300 nm。

流动相的选择是在前期提取工艺试验基础上,选用了甲醇-2.0% 冰醋酸、甲醇-0.1% 磷酸、乙腈-0.1% 磷酸、乙腈-0.2% 磷酸,流速 1.0 mL/min,检测波长 300 nm。结果乙腈-0.2% 磷酸的分离效果较好,主要峰的分度大于 1.5。

复方的功效是多种成分共同作用的结果,仅以某单一成分含量高低作为反映平胃散配方颗粒的内在质量的指标并不全面。本实验采用 HPLC 同时测定平胃散配方颗粒君药、臣药、佐药 3 味药中 4 种有效成分(苍术素、厚朴酚、和厚朴酚、橙皮苷)的含量。使药甘草的有效成分甘草酸铵在本实验条件下也可以检测出来,但检测波长在 237 nm 左右。该含量测定方法科学合理,能够同时控制复方 4 味药中重要的 3 味,为平胃散配方颗粒质量标准的提高研究提供参考依据。

中药配方颗粒作为中药饮片的补充,是国际化的一种创新形式。其不仅保持了中医药的理论和特色,又具有“三效、三小、五方便”的综合性优势。据调查<sup>[11]</sup>,目前国内临床使用中药配方颗粒的频率有大幅度的提高,但由于其缺乏形态学鉴别,所以建立的质量标准应高于现行的中成药的标准,对于含量测定成分应尽可能的多,以保证其有效性。本文为

中药配方颗粒的质量评价提供了一个尝试。

#### 参考文献

- Li F (李飞). Prescriptions (方剂学). Beijing: People's Health Publishing House, 2002. 1564-1565.
- Pang J (庞军), Hong L (宏亮), Yang Y (杨扬), et al. Sub-health the related documents statistical analysis. *Chin J Clin Reh* (中国临床康复), 2006, 10: 105-108.
- Zhou GQ (周国琪). An Empirical Analysis of the mechanism of sub-health state. *Shanghai J TCM* (上海中医药杂志), 2005, 39: 5-8.
- Editorial board of "Chinese herbal medicine", State Administration of Tradition Chinese Medicine (国家中医药管理局《中华本草》编委会). Chinese herbal medicine, Vol 2 (中华本草, 下). Shanghai: Shanghai Science and Technology Science and Technology Press, 1998. 1889-1890.
- Editorial board of "Chinese herbal medicine", State Administration of Tradition Chinese Medicine (国家中医药管理局《中华本草》编委会). Chinese herbal medicine, Vol 1 (中华本草, 上). Shanghai: Shanghai Science and Technology Science and Technology Press, 1998. 427-428.
- Li Y, Xu C, Zhang Q, et al. In vitro anti-helicobacter pylori action of 30 Chinese herbal medicines used to treat ulcer diseases. *J Ethnoparmacol*, 2005, 98: 329-333.