

- [15] 梁 琨, 孙 辉, 安 骞, 等. LC-MS/MS 法同时测定护心口服液中 11 种成分[J]. 中成药, 2018, 40(1): 105-109.
- [16] 张 毅, 周 慧. HPLC-MS/MS 法同时测定参乌健脑胶囊中 8 种成分[J]. 中草药, 2016, 47(14): 2470-2474.
- [17] 徐小芳, 刘 敏, 安 骞, 等. LC-MS/MS 法同时测定复方附子口服液中 10 种成分含量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(5): 798-804.
- [18] 赵 莹. HPLC-MS/MS 法同时测定坤复康片中 5 种有效成分的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2015, 32(11): 869-874.

HPLC 法同时测定木香顺气丸中 6 种成分

李静华¹, 王丽琼^{2,3*}

(1. 乐山职业技术学院, 四川 乐山 614000; 2. 乐山市食品药品检验检测中心, 四川 乐山 614000; 3. 四川省药品监督管理局中药质量研究重点实验室, 四川 乐山 614000)

摘要: 目的 建立 HPLC 法同时测定木香顺气丸(厚朴、枳壳、陈皮等)中厚朴酚、和厚朴酚、新橙皮苷、橙皮苷、柚皮苷、甘草苷的含量。方法 该药物 *N,N*-二甲基甲酰胺提取液的分析采用 SVEA C₁₈ Opal 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相 0.1% 磷酸-乙腈-甲醇, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 276 nm。结果 6 种成分在各自范围内线性关系良好($r \geq 0.9998$), 平均加样回收率 99.1%~101.0%, RSD 1.4%~2.0%。结论 该方法简便、快速、准确, 可用于木香顺气丸的质量控制。

关键词: 木香顺气丸; 厚朴酚; 和厚朴酚; 新橙皮苷; 橙皮苷; 柚皮苷; 甘草苷; HPLC

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2022)09-2789-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.09.007

Simultaneous determination of six constituents in Muxiang Shunqi Pills by HPLC

LI Jing-hua¹, WANG Li-qiong^{2,3*}

(1. Leshan Vocational & Technical College, Leshan 614000, China; 2. Leshan Municipal Food and Drug Inspection Center, Leshan 614000, China; 3. SCMPA Key Laboratory of Quality Research of Traditional Chinese Medicine, Leshan 614000, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of liquiritin, naringin, hesperidin, neohesperidin, honokiol and magnolol in Muxiang Shunqi Pills (*Magnoliae officinalis Cortex*, *Aurantii Fructus*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, etc.). **METHODS** The analysis of *N,N*-dimethylformamide extract of this drug was performed on a 30 ℃ thermostatic SVEA C₁₈ Opal column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of 0.1% phosphoric acid-acetonitrile-methanol flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 276 nm. **RESULTS** Six constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r \geq 0.9998$), whose average recoveries were 99.1%–101.0% with the RSDs of 1.4%–2.0%. **CONCLUSION** This simple, rapid and accurate method can be used for the quality control of Muxiang Shunqi Pills.

KEY WORDS: Muxiang Shunqi Pills; magnolol; honokiol; neohesperidin; hesperidin; naringin; liquiritin; HPLC

收稿日期: 2021-06-11

作者简介: 李静华(1984—), 女, 硕士, 讲师, 从事药物化学、药物分析研究。E-mail: lijinghua0307@163.com

* 通信作者: 王丽琼(1986—), 女, 硕士, 副主任药师, 从事药物分析及药品质量控制研究。E-mail: 527414762@qq.com

木香顺气丸功效行气化湿、健脾和胃，方中厚朴、枳壳、陈皮、青皮为臣药，甘草为使药^[1]，其中甘草指标成分为甘草苷，健脾益气，补中除湿^[2-3]；陈皮、青皮、枳实指标成分为柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷^[4-6]，行气燥湿，散结消积；厚朴指标成分为和厚朴酚、厚朴酚^[7-8]，行气燥湿，散结消积。该制剂收载于 2020 年版《中国药典》一部，但只测定了和厚朴酚、厚朴酚含量^[9]，而中药质量和疗效提倡整体性，故多组分同时测定可更全面地体现其质量^[10-12]。

前期孙全明^[13]、曹瑞竹^[14]等采用 HPLC 法测定木香顺气丸中木香炔内酯、去氢木香炔内酯、厚朴酚、和厚朴酚、甘草酸含量，王玲娇等^[15]采用光谱指纹法评价木香顺气丸质量，但尚无同时测定甘草苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、和厚朴酚、厚朴酚含量的报道。因此，本实验建立 HPLC 法同时测定该制剂中上述 6 种成分的含量，以期为整体全面地控制其质量提供可靠科学的依据。

1 材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪，配置二极管阵列检测器（美国 Agilent 公司）；XS205 电子天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；KQ5200DB 超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；ULUP-II-10T 优普系列超纯水器（成都超纯科技有限公司）。

厚朴酚（批号 110729-201513，纯度 98.8%）、和厚朴酚（批号 110730-201614，纯度 99.3%）、新橙皮苷（批号 111857-201804，纯度 99.4%）、橙皮苷（批号 110721-201818，纯度 96.2%）、柚皮苷（批号 110722-201613，纯度 94.3%）、甘草苷（批号 111610-201607，纯度 93.1%）对照品均购自中国食品药品检定研究院。木香顺气丸（甘肃佛仁制药科技有限公司，批号 200401；山西万辉制药有限公司，批号 191101；甘肃河西制药有限公司，批号 200901），规格均为每袋 6 g。乙腈、甲醇为色谱纯（北京百灵威科技有限公司）；*N-N* 二甲基甲酰胺为分析纯（成都市科隆化学制品有限公司）；磷酸为分析纯〔重庆川东化工（集团）有限公司〕；水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取对照品厚朴酚 24.78 mg、和厚朴酚 14.19 mg、新橙皮苷 17.50 mg、橙皮苷 120.62 mg、柚皮苷 27.61 mg、甘草苷 11.04 mg，分别置于 6 个 25 mL 量瓶中，*N-N* 二甲

基甲酰胺溶解并稀释至刻度，摇匀，分别精密量取 5、5、10、10、10、2 mL，置于同一 50 mL 量瓶中，*N-N* 二甲基甲酰胺稀释至刻度，摇匀，作为贮备液，精密量取 5 mL，置于 10 mL 量瓶中，*N-N* 二甲基甲酰胺稀释至刻度，摇匀，即得。

2.1.2 供试品溶液 将本品粉碎，取约 1 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入 *N-N* 二甲基甲酰胺 50 mL，称定质量，超声处理 1 h，放冷，*N-N* 二甲基甲酰胺补足减失的质量，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

2.1.3 阴性样品溶液 按处方制得不含陈皮、青皮、枳壳、甘草、厚朴的阴性样品，按“2.1.2”项下方法制备，即得。

2.2 色谱条件 SVEA C₁₈ Opal 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相 0.1% 磷酸（A）-乙腈（B）-甲醇（C），梯度洗脱，程序见表 1；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 276 nm；进样量 10 μL。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs

时间/min	A 0.1% 磷酸/%	B 乙腈/%	C 甲醇/%
0	80	20	0
10	80	20	0
15	78	22	0
17	77.8	22.2	0
25	40	45	15
30	35	49	16
35	30	53	17
40	26	56	18
45	20	80	0
46	80	20	0
51	80	20	0

2.3 专属性考察 取对照品、供试品、阴性样品溶液适量，在“2.2”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由此可知，供试品溶液色谱图中各成分保留时间与对照品溶液色谱图中一致，并且分离度符合要求，阴性无干扰，表明该方法专属性良好。

2.4 线性关系考察 精密吸取“2.1.1”项下贮备液 8、6、4、2、1 mL，分别置于 5 个 10 mL 量瓶中，*N-N* 二甲基甲酰胺稀释至刻度，摇匀，在“2.2”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（*X*），峰面积为纵坐标（*Y*）进行回归，再以 *S/N*=10 计算定量限，结果见表 2，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 取“2.1.1”项下对照品溶液适量，在“2.2”项色谱条件下进样测定 6 次，测得厚朴酚、和厚朴酚、新橙皮苷、橙皮苷、柚皮

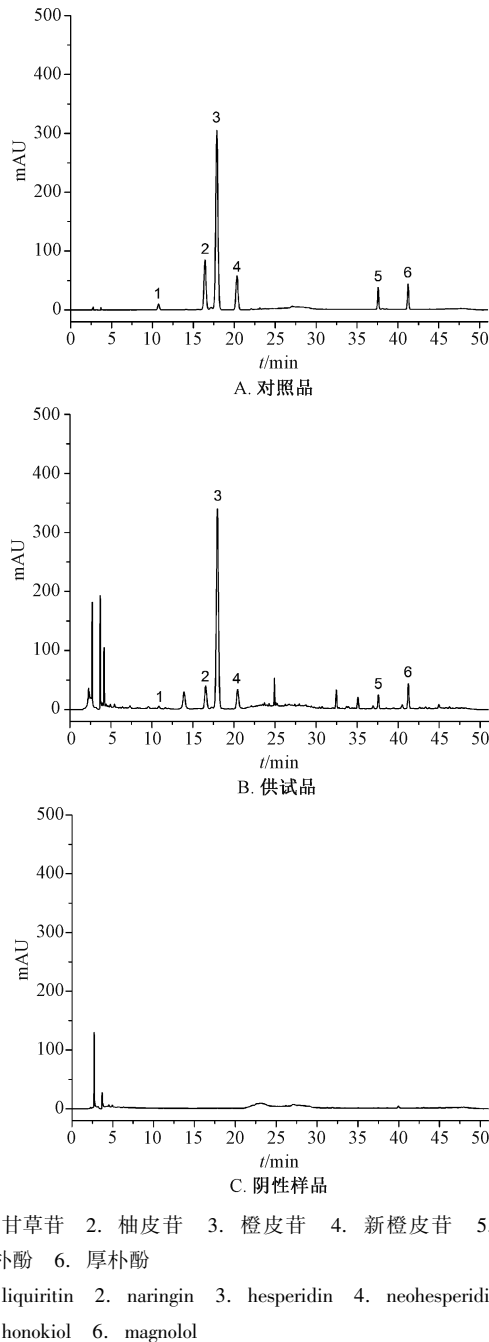


图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

表 2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	r	定量限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
厚朴酚	$Y=9.5643X-1.6944$	9.79~97.93	0.9999	0.05
和厚朴酚	$Y=12.7361X-0.4698$	5.64~56.36	1.0000	0.04
新橙皮苷	$Y=15.2081X-5.8541$	13.92~139.16	0.9998	0.06
橙皮苷	$Y=12.4836X-26.9829$	92.83~928.29	1.0000	0.07
柚皮苷	$Y=14.4725X-0.7733$	20.83~208.29	0.9999	0.08
甘草苷	$Y=17.7731X-1.8826$	1.64~16.45	0.9998	0.11

苷、甘草苷峰面积 RSD 分别为 0.4%、0.3%，

0.7%，0.8%，1.1%、0.9%，表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批本品（批号 200401），按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，测得厚朴酚、和厚朴酚、新橙皮苷、橙皮苷、柚皮苷、甘草苷含量 RSD 分别为 1.2%，1.3%，1.6%，1.6%，1.9%、1.9%，表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取同一份供试品溶液（批号 200401）适量，室温下于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.2”项色谱条件下进样测定，测得厚朴酚、和厚朴酚、新橙皮苷、橙皮苷、柚皮苷、甘草苷峰面积 RSD 分别为 0.9%、0.9%、1.2%、1.3%、1.4%、1.1%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验 取各成分含量已知的本品（批号 200401，厚朴酚、和厚朴酚、新橙皮苷、橙皮苷、柚皮苷、甘草苷含量分别为 2.089 2、0.752 7、1.443 7、20.935 5、1.935 4、0.148 5 mg/g）6 份，每份约 0.5 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入“2.1.1”项下 0.2 mL 甘草苷贮备液、1 mL 柚皮苷贮备液、2 mL 橙皮苷贮备液、1 mL 新橙皮苷贮备液、0.7 mL 和厚朴酚贮备液、1 mL 厚朴酚贮备液，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液各 6 份，在“2.2”项色谱条件下各进样 10 μL 测定，计算回收率。结果，厚朴酚、和厚朴酚、新橙皮苷、橙皮苷、柚皮苷、甘草苷平均加样回收率分别为 101.0%（RSD=2.0%）、100.7%（RSD=1.5%）、100.1%（RSD=1.4%）、99.8%（RSD=1.7%）、100.6%（RSD=1.9%）、99.1%（RSD=1.9%）。

2.9 样品含量测定 取 3 批样品，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，每批平行 3 份，在“2.2”项色谱条件下进样测定，外标法计算含量，结果见表 3。

表 3 各成分含量测定结果（mg/g， $n=3$ ）

Tab. 3 Results of content determination of various constituents (mg/g, $n=3$)

批号	厚朴酚	和厚朴酚	新橙皮苷	橙皮苷	柚皮苷	甘草苷
200401	2.104 4	0.761 1	1.443 7	20.812 7	1.977 6	0.150 9
	2.062 3	0.738 4	1.423 8	21.158 3	1.911 4	0.146 8
	2.100 8	0.758 5	1.463 4	20.835 3	1.917 3	0.148 0
191101	1.751 4	1.502 8	0.405 5	25.586 3	0.826 2	0.185 0
	1.768 7	1.519 3	0.395 8	25.652 6	0.806 9	0.181 2
	1.768 7	1.519 3	0.395 8	25.652 6	0.806 9	0.181 2
200901	1.375 5	0.842 7	3.484 9	21.806 0	3.148 7	0.194 2
	1.352 6	0.818 3	3.403 5	21.528 3	3.101 3	0.196 8
	1.386 7	0.843 1	3.524 7	21.809 4	3.148 6	0.197 4

3 讨论

3.1 检测波长选择 本实验发现,甘草苷在276 nm波长处有吸收峰,而且吸收强度较大,同时厚朴酚、和厚朴酚、新橙皮苷、橙皮苷、柚皮苷在该处的吸收强度也较好。最终确定,检测波长为276 nm。

3.2 流动相选择 本实验比较了乙腈、甲醇对各成分分离效果的影响,发现采用乙腈时色谱峰保留时间提前,峰形尖锐,并且加入一定比例甲醇后保留时间适中,分离度良好。由于各成分理化性质不一致,故前10 min进行大比例水相等度洗脱,10~17 min进行梯度洗脱,可将柚皮苷、橙皮苷与相邻杂质峰的分离度提高到3.0左右,从而排除干扰峰的影响。

3.3 提取溶剂选择 本实验比较了50%甲醇、2%醋酸甲醇、甲醇、*N-N*二甲基甲酰胺、甲醇- (*N-N*二甲基甲酰胺)混合溶液(比例分别为45:5、40:10、30:20、20:30、10:40、5:45)对各成分提取能力的影响,发现甘草苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷提取率受溶剂种类的影响较大,尤其是含量较高的橙皮苷;以*N-N*二甲基甲酰胺提取时,各成分溶解性较好,提取完全。最终确定,提取溶剂为*N-N*二甲基甲酰胺。

4 结论

本实验采用HPLC法同时测定木香顺气丸中厚朴酚、和厚朴酚、新橙皮苷、橙皮苷、柚皮苷、甘草苷的含量,该方法操作简单,方法学考察结果良好,可为整体全面地控制该制剂质量提供可靠科学的依据。

参考文献:

[1] 蔡 威,陈文莉,付会玲.木香顺气丸对尿毒症前期患者消化功能紊乱的影响及机制研究[J].中国中西医结合杂

志,2017,37(1):34-38.

- [2] 仲锡铜,耿 晖,曹艳花.杏苏止咳颗粒 HPLC 指纹图谱及7种成分含量的研究[J].中国药师,2020,23(10):1935-1940.
- [3] 宋兴发,周 军,郭守城.杏仁止咳合剂 HPLC 指纹图谱及7种成分的含量测定[J].中国现代应用药学,2020,37(1):50-56.
- [4] 梁伟娜,肖云娜.基于指纹图谱分析和多成分同时定量的枳实消痞丸质量评价研究[J].中国药师,2019,22(11):2020-2024.
- [5] 田 芳,何小芳,谭梓君,等.枳壳 HPLC 特征图谱及6个黄酮苷类成分含量测定[J].药物分析杂志,2020,40(6):1090-1096.
- [6] 岳 超,赵维良,郭增喜,等.高效液相色谱法同时测定不同来源柑橘幼果中10种类黄酮化合物和香豆素类化合物[J].理化检验(化学分册),2021,57(1):52-56.
- [7] 孙戡平,秦昆明,李伟东,等.基于UHPLC-UV-Q-TOF-MS/MS的厚朴不同方法姜制前后化学成分定性研究[J].世界中医药,2019,14(2):287-291.
- [8] 魏 担,吴清华,裴 瑾,等.厚朴花的本草考证、真伪鉴别、化学成分、药理作用、临床应用及新兴研究[J].中国药房,2019,30(1):140-144.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2020年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2020:639-640.
- [10] 王玉林,邵晓玮,王建强,等.HPLC法同时测定万氏牛黄清心丸中7种成分[J].中成药,2021,43(3):601-604.
- [11] 陈 影,吴 婷,姜 超,等.一测多评法同时测定4种中药注射液中9种丹酚酸[J].中成药,2021,43(3):590-595.
- [12] 余秀萍,崔 灿.高效液相色谱法同时测定香砂平胃丸中7种有效成分的含量[J].中国药师,2018,21(11):2053-2056.
- [13] 孙全明,朱朝德,李春雨.HPLC测定木香顺气丸中的4种有效成分[J].华西药学杂志,2008,23(2):215-216.
- [14] 曹瑞竹.木香顺气丸 HPLC 特征指纹图谱研究及多成分含量测定[J].药物分析杂志,2017,37(6):1127-1134.
- [15] 王玲娇,孙国祥,戴 娜,等.光谱指纹定量法评价木香顺气丸质量[J].中国药业,2019,28(4):1-5.