

· 化学与分析 ·

## 干姜、姜皮和姜炭的 HPLC 指纹图谱比较

薛丹丹, 张科卫\*, 钱进  
(南京中医药大学, 南京 210023)

**[摘要]** 目的:建立干姜、姜皮、姜炭的高效液相色谱指纹图谱,指认其主要成分,分析比较其化学成分的差异。方法:采用 HPLC-UV 法,Agilent TC-C<sub>18</sub>(2) 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),检测波长 280 nm,柱温 30 ℃,二元梯度洗脱,二极管阵列检测器,对来源于全国 10 个产地的干姜、姜皮、姜炭的指纹图谱进行比较,采用国家药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 A)软件进行分析评价。结果:在该指纹图谱中,指认出了其中的 6-姜酚,8-姜酚,6-姜稀酚,10-姜酚 4 个色谱峰;与干姜相比,姜炭中的 6-姜酚含量明显降低,而 6-姜稀酚的含量明显增高,同时,姜炭中产生了一些原来干姜中没有的成分。结论:该指纹图谱专属性强,方法稳定、可靠,可为研究干姜、姜皮、姜炭中的成分差异提供参考,同时也为研究生姜的炮制机制进行了一定的探索。

**[关键词]** 干姜;姜皮;姜炭;高效液相色谱;指纹图谱

**[中图分类号]** R284.1;R283.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)05-0057-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015050057

**Comparison of HPLC Fingerprint of Dried Ginger, Ginger Peel and Charry Ginger** XUE Dan-dan, ZHANG Ke-wei\*, QIAN Jin (Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a sensitive and specific HPLC method for processed products of ginger and analyse the chemical composition of dried ginger, ginger peel and charry ginger. **Method:** HPLC-UV analysis was carried out on an Agilent TC-C<sub>18</sub> (2) column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) with binary solvent delivery gradient elution, photodiode-array-detector. The detection wavelength was set at 280 nm and the column temperature was kept at 30 ℃. Ten batches of fresh ginger were collected from different habitats in China, and the processed products were analyzed with the established method. The data were analyzed with ‘similarity evaluation system for chromatographic specific chromatogram of traditional Chinese medicine (Version2004A)’ **Result:** Four main peaks were designated as 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shaogol and 10-gingerol. Compared with dried ginger, the contents of 6-gingerol were gradually decreased while the 6-shaogol increased in charry ginger, and at the same time, some new elements were found in the later. **Conclusion:** The good reproducibility and stability are shown in experiment results. The fingerprint can be used for the comparison of died ginger, ginger peel, and charry ginger.

**[Key words]** dried ginger; ginger peel; charry ginger; HPLC; fingerprint chromatogram

生姜味辛,性微温,归肺、脾、胃经,具有解表散寒、温中止呕、化痰止咳、解鱼蟹毒等功效<sup>[1]</sup>。干姜、姜皮、姜炭均是生姜的炮制品。根据传统中医药理论,干姜味辛,性热,归脾、胃、肾、心、肺经,具有温经散寒,回阳通脉,温肺化饮之功<sup>[1]</sup>;姜皮味辛,性

凉,具有行水消肿的功效<sup>[2]</sup>;姜炭味苦、涩,性温,具有温经止血,温脾止泻的功效<sup>[3]</sup>。

干姜、姜皮、姜炭功效差异很大,这与其炮制后各自所含成分不同有关。《中国药典》中将姜辣素类成分作为干姜的指标性成分,以 6-姜酚,8-姜酚,

**[收稿日期]** 20140907(004)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81102728);南京中医药大学大学生实践创新训练项目(2013)

**[第一作者]** 薛丹丹, 学士, 从事中药炮制研究, Tel:025-85811513, Email:15150586424@163.com

**[通讯作者]** \*张科卫, 博士, 副教授, 从事中药炮制与复方、中药效应机制及药物相互作用机制研究, Tel:025-85811513, E-mail:kewei\_31@163.com

6-姜烯酚和10-姜酚为代表的姜辣素类化合物作为姜的特征性化学成分,研究证实姜酚具有强心、调节血管舒缩功能、抗血小板、降血脂、抗动脉粥样硬化、保护心肌等药理作用<sup>[3]</sup>,姜酚类物质还具有抗氧化<sup>[4]</sup>、抗肿瘤<sup>[5]</sup>、抗神经损伤和细胞保护<sup>[6]</sup>、抗呕吐<sup>[7]</sup>等多种生理活性。

姜药食两用,具有如此多的生理活性,且价格低廉,因此有必要对其进行深入研究。文献研究表明,国内已有学者在研究其抗呕吐剂型及作用机制,为把姜做成相关的药物剂型及保健食品<sup>[8]</sup>。查阅相关文献也表明,有关姜皮、姜炭的研究很少,仅有学者采用气相色谱-质谱联用方法对干姜和姜炭中的挥发油类成分的含量进行比较<sup>[9]</sup>。

本实验应用指纹图谱技术,对生姜的几个炮制品干姜、姜皮、姜炭中所含的成分进行比较研究,旨在为生姜的炮制机制做一些有益的探索。

## 1 材料

**1.1 仪器** BP211D型电子天平(Sartorius),e2695型高效液相色谱仪(包括2998PDA型检测器,Millennium32色谱管理系统,美国Waters)。

**1.2 试药** 6-姜酚,8-姜酚,10-姜酚,6-姜烯酚对照品(批号分别为111228,120302,120316,110516),均购自四川维克奇生物科技有限公司,经HPLC检测为单一成分,纯度>98%。

乙腈、甲醇为色谱纯,水为亚沸蒸馏水(自制),其他试剂均为国产分析纯。

本实验所用生姜药材来自安徽大别山、湖北武汉、山东临沂、云南文山、福建永春、湖南长沙、广西南宁、浙江台州、四川德阳、重庆10个产区。为2013年8月份收集得到。以上药材经南京中医药大学中药鉴定教研室王春根教授鉴定,均为姜科植物姜*Zingiber officinale*的新鲜根茎。

**1.3 干姜的制备** 取上述各产地的生姜,洗净,切片,50℃干燥,打粉,过4号筛,即得。

**1.4 姜皮的制备** 将上述各产地的生姜(与制备干姜的生姜为同一批次),洗净,刮皮,姜刮取得皮50℃干燥;打粉,过4号筛,即得。

**1.5 姜炭的制备** 将上述各产地的生姜(与制备干姜的生姜为同一批次),洗净,切片,50℃干燥,得干姜饮片;将此干姜饮片按炒炭法炒至鼓起,表面黑色,内部棕褐色时,取出,放凉;打粉,过4号筛,即得。

## 2 方法和结果

**2.1 色谱条件与系统适用性** Agilent TC-C<sub>18</sub>(2)色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-

水(B)梯度洗脱(0~9 min,5%~20% A;9~20 min,20%~42% A;20~38 min,42% A;38~39 min,42%~48% A;39~64 min,48% A;64~80 min,48%~85% A;80~81 min,85%~100% A;81~83 min,100%~5% A;83~96 min,5% A),流速1 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长280 nm,柱温30℃,进样量10 μL;理论塔板数以6-姜酚计不低于4 000,并且6-姜酚,8-姜酚,10-姜酚,6-姜烯酚与其他相邻组分的分离度均大于1.5。

**2.2 对照品溶液的制备** 取6-姜烯酚,6-姜酚,8-姜酚,10-姜酚对照品适量,精密称定,置于10 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,配制成一定浓度的对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取同一干姜(姜皮或姜炭)样品粉末0.5 g,精密称定,准确加入甲醇10 mL,超声30 min,取出,混匀,离心(12 000 r·min<sup>-1</sup>),3 min,取上清液,过0.45 μm的滤膜,取续滤液。即得。

**2.4 样品测定** 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各10 μL,注入高效液相色谱仪,记录色谱峰图。

**2.5 干姜、姜皮、姜炭 HPLC 指纹图谱方法学考察**

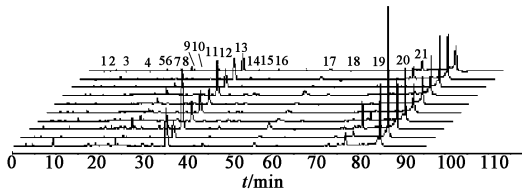
**2.5.1 精密度试验** 取重庆干姜、姜皮、姜炭的供试品溶液连续进样6次,按2.1项下色谱条件测定,以“中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件”(2004A版)评价,相似度都>0.99,表明仪器精密度良好。

**2.5.2 重复性试验** 取同一批重庆的干姜、姜皮、姜炭药材,按照2.3项下方法操作,分别制备6份供试品溶液,进样测定,以《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2004A版)评价,相似度结果都在0.98以上,表明样品的重复性良好。

**2.5.3 稳定性试验** 取同一批重庆的干姜、姜皮、姜炭药材的供试品溶液,分别在0,4,8,12,16,20,24 h进样,检测指纹图谱,以《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2004A版)评价,相似度均>0.98,表明样品的稳定性良好。

**2.6 不同产地干姜、姜皮、姜炭 HPLC 指纹图谱的建立及共有峰的标定** 取不同产地的干姜、姜皮、姜炭药材,按2.3项下方法制备供试品溶液,在2.1项色谱条件下测定。分别得到干姜、姜皮、姜炭各10批样品图谱。根据国家药典委员会颁布的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2004A版)处理图谱。结果确定干姜、姜皮、姜炭的共有指纹峰分别

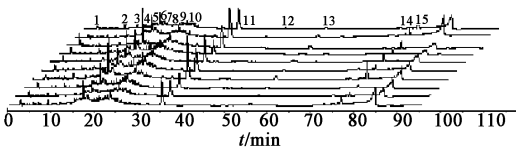
为21,15,20个。10批不同产地干姜、姜皮、姜炭药材的特有指纹图谱见图1~3。



14. 6-姜酚;16. 8-姜酚;17. 6-姜烯酚;19. 10-姜酚

图1 10批干姜饮片的HPLC指纹谱

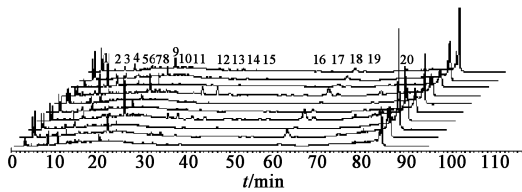
Fig.1 HPLC chromatogram of 10 batches of dried ginger samples



11. 6-姜酚;12. 8-姜酚;13. 6-姜烯酚;15. 10-姜酚

图2 10批姜皮饮片的HPLC指纹谱

Fig.2 HPLC chromatogram of 10 batches of ginger skin samples



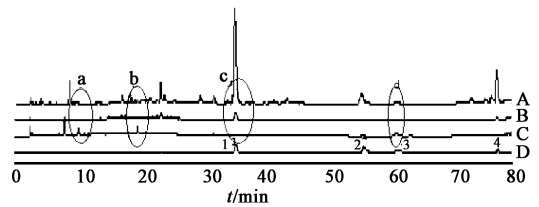
14. 6-姜酚;16. 8-姜酚;18. 6-姜烯酚;20. 10-姜酚

图3 姜炭饮片的HPLC指纹谱

Fig.3 HPLC chromatogram of 10 batches of charry ginger samples

**2.7 干姜、姜皮、姜炭指纹图谱的直观比较** 将干姜、姜皮、姜炭的对照指纹图谱导出,与混合对照品图谱比对见图4。其中,D为混合对照品图谱,1,2,3,4分别对应的是6-姜酚,8-姜酚,6-姜烯酚,10-姜酚。确定部分峰归属并进行直观比较分析。由图可见,干姜、姜皮、姜炭在相关区域中的色谱峰有明显的差异,其中姜炭在a和b区中出现较为明显的色谱峰,说明干姜在炮制过程中产生了新的色谱峰,提示在炮制过程中有明显的成分生成;干姜中c区的成分含量较高,姜炭中几乎没有,而姜炭在d区中的成分明显增加,由此可见干姜在炒炭的过程中c区成分下降,d区成分增加,与对照品比对可知c区为6-姜酚,d区为6-姜烯酚。这与文献中的报道结果较为相似<sup>[8]</sup>。干姜的紫外吸收明显较姜皮强,说明干姜中的成分的含量比姜皮中多。直观分析结果可见干姜、姜炭的共有色谱峰差异明显,表明干姜在高温炒炭过程中,多种成分发生了质与量的变化,这为其药效差异提供了物质基础。

**2.8 干姜、姜皮和姜炭的指纹图谱相似度计算** 采



A. 干姜;B. 姜皮;C. 姜炭;D. 混合对照品;1. 6-姜酚;2. 8-姜酚;3. 6-姜烯酚;4. 10-姜酚

图4 干姜、姜皮和姜炭对照特征谱和混合对照品HPLC

Fig.4 Common HPLC chromatogram of 10 batches of samples and mixed reference substances

用国家药典委员会推荐的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》2004A版,分别对不同产地的干姜、姜皮、姜炭药材的指纹图谱进行相似度分析,10批干姜、姜皮和姜炭饮片的指纹图谱各自的相似度基本都大于0.8,只有浙江和江西的姜炭的相似度小于0.8。说明不同产地间各批药材相似性较好,其代表性指纹图谱的选择较为合理,干姜、姜皮和姜炭的质量差异主要是在炮制过程中产生的。

### 3 讨论

**3.1 检测波长考察** 采用二极管阵列检测器对检测波长进行考察,分别取210,230,254,267,280,375 nm波长处的色谱图,得到在280 nm下色谱峰数多,基线比较稳定,色谱信息最为丰富,所以选择该波长为检测波长。

**3.2 流动相系统选择** 干姜、姜皮、姜炭的成分主要是姜酚类成分,极性差异较大,等度洗脱难以分离,故采用梯度洗脱方法。比较①乙腈-水等度不同比例及不同梯度洗脱系统;②甲醇-水等度不同比例及不同梯度洗脱系统;③乙腈-0.1%磷酸水等度不同比例及不同梯度洗脱系统;④甲醇-0.1%磷酸水等度不同比例及不同梯度洗脱系统。结果证明乙腈-水梯度洗脱系统可以使干姜、姜皮、姜炭中的成分在色谱图中很好的分离,提供的色谱信息较为丰富,故选乙腈-水为流动相。

**3.3 提取溶剂的考察** 取各个产地的干姜、姜皮、姜炭粉末各0.5 g,精密称定,分别置于10 mL量瓶中加甲醇至刻度,超声30 min,离心(12 000 r·min<sup>-1</sup>, 3 min)。取上清液,过0.45 μm的滤膜,取续滤液进行HPLC检测。对指纹图谱分别进行考察,经过对出峰个数、分离度和以6-姜酚,8-姜酚,10-姜酚,6-姜烯酚为对照品的指纹图谱进行综合比较,确定干姜、姜皮和姜炭中的成分。

**3.4 提取方法的考察** 分别比较超声提取60,50,40,30,20 min对干姜、姜皮、姜炭的提取效果。取同

一产地的干姜、姜皮、姜炭粉末各0.5 g,每个品种平行制备5份供试品溶液,上HPLC检测。结果发现,超声提取30 min即可将其中的成分提取完全。

本实验利用HPLC-UV对姜的不同炮制品干姜、姜皮和姜炭进行了比较分析研究。结果证实,干姜炒成姜炭后其中6-姜酚受热分解而使其含量逐渐降低,这与王宇航的实验结果相一致<sup>[11]</sup>,也与《中国药典》2010年版一部的规定相一致<sup>[1]</sup>。同时,炒炭过程中,6-姜稀酚的含量升高。根据这两个成分的化学结构可以得到其中存在着转化关系,干姜炒成姜炭后,其辛燥之性减弱并具有止血的功效,这应该与这两种成分有关,但有止血作用的具体有效物质有待进一步研究;也有学者的研究结果是6-姜酚在炒成姜炭后其含量略有升高<sup>[12]</sup>,这可能与提取率有关;不同产地姜的不同炮制品干姜、姜皮、姜炭中的有效成分差异也较为明显。

本实验建立的干姜、姜皮、姜炭HPLC-UV特征指纹图谱对建立姜的炮制工艺有一定的参考意义。由本次实验结果可得出,姜的不同炮制品中的成分存在质与量的改变,这对其所发挥的功效差异做出了很好的解释,是临床应用不同的内在依据。

#### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:14,93.  
[2] 中华人民共和国药政管理局. 全国中药炮制规范[M]. 北京:人民卫生出版社出版, 1988:32.  
[3] 蒋苏贞,宓穗卿,王宁生. 姜酚心血管药理作用研究进展[J]. 时珍国医国药, 2007,18(1):219-221.  
[4] Chakraborty D, Mukherjee A, Sikdar S, et al. [6]-

Gingerol isolated from ginger attenuates sodium arsenite induced oxidativestress and plays a corrective role in improving sulin signaling in mice [J]. Toxicol Lett, 2012, 210:34-43.

[5] Weng C J, Yen G C. Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastasis: Phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives [J]. Cancer Treat Rev, 2012, 38(1): 76-87.  
[6] Shim S, Kim S, Kwon Y B, et al. Protection by [6]-shogaol against lipopolysaccharide-induced toxicity in murine astrocytes is related to production of brain-derived neurotrophic factor [J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50(3/4):597-602.  
[7] Kawai T, Kinoshita K., Koyama K, et al. Anti-emetic principles of Magnolia obovata Bark and Zingiber officinale Rhizome[J]. Plan Med, 1994,60(1):17-20.  
[8] 郭琪,李翔,雷虹,等. 姜及其制剂抗呕吐作用的研究进展[J]. 解放军医药杂志, 2013,25(2):54-46.  
[9] 李娟,王智民,高慧敏. 炮制对生姜及其不同炮制品中挥发性成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,18(19):77-81.  
[10] 王维皓,李娟,高慧敏,等. 从HPLC特征图谱分析姜在炮制过程中的化学成分变化[J]. 药物分析杂志, 2009,29(8):1248-1252.  
[11] 王航宇,李国玉,张珂,等. 干姜经不同炮制法对6-姜酚含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1):77-80.  
[12] 张永鑫,李俊松,陈丽华,等. 高效液相色谱法同时测定姜及其不同炮制品中5种姜辣素的含量[J]. 中国药理学杂志, 2012,47(6):471-474.

[责任编辑 顾雪竹]