

HPLC 测定复方止呕颗粒剂中 6-姜酚的含量

冯果¹, 刘文^{1*}, 张永萍¹, 马雯雯², 冯泳¹

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 中国人民解放军第一医院药剂科, 兰州 730030)

[摘要] 目的: 建立复方止呕颗粒剂中 6-姜酚含量的测定方法。方法: 采用高效液相色谱法测定复方止呕颗粒剂中 6-姜酚含量。色谱柱 Agilent C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(65:35), 流速 0.8 mL · min⁻¹, 柱温 30 ℃, 进样量 10 μL, 检测波长 280 nm。结果: 6-姜酚在 0.113 5 ~ 2.270 0 μg 与峰面积呈良好的线性关系, 回归方程为 $Y = 540\ 646X - 1\ 188$ ($r = 0.999\ 9, n = 6$), 平均回收率为 99.90%, RSD 1.14%。结论: 方法简便可行、重复性好, 可作为复方止呕颗粒剂中 6-姜酚的含量测定方法。

[关键词] 高效液相色谱; 复方止呕颗粒剂; 6-姜酚; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0068-03

Content Determination of 6-gingerol in Antiemetic Compound Particles by HPLC

FENG Guo¹, LIU Wen^{1*}, ZHANG Yong-ping¹, MA Wen-wen², FENG Yong¹

(1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

2. People's Liberation Army First Hospital Pharmacy, Lanzhou 730030, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determining 6-gingerol in Antiemetic compound particles. **Method:** 6-gingerol in decoction of Antiemetic compound particles was determined by HPLC. The column was Agilent

[收稿日期] 20110121(006)

[基金项目] 贵州省中药现代化专项研究课题(黔科合社字[2008]5025号)

[第一作者] 冯果, 药学工程师, 执业中药师, 研究方向: 中药新制剂、新剂型研究, Tel: 13985498136, E-mail: 453989352@qq.com

[通讯作者] * 刘文, 教授, 研究方向: 中药新制剂研究, E-mail: Liuwen16258@sina.com

本实验建立了 2 年, 3 年, 5 年, 7 年生各 9 批的巴戟天 HPLC 指纹图谱, 相似度在 0.95 以上, 说明该指纹图谱可以代表各年生巴戟天的鉴别特征。通过不同年份的 HPLC 指纹图谱比较, 可以直观的对其进行区分。因此, 该方法可以从整体性、特征性等科学地判断药材或药物的真假伪劣。该方法稳定, 可靠, 重现性好, 对保证巴戟天的质量提供了参考依据。根据实验结果显示, 5 年生长的巴戟天的质量优于 2 年、3 年以及 7 年生的巴戟天, 因此, 最适宜采收巴戟天的时间为第 5 年。

研究过程中我们发现巴戟天质量受其原料、炮制时间、炮制工艺、含水量等因素的影响很大, 因此

需要建各个因素的分析方案, 以实现准确的定性分析和判别。

[参考文献]

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 573.
- [2] 徐超斗, 张永祥, 杨明, 等. 巴戟天寡糖的促免疫活性作用[J]. 解放军药学学报, 2003, 19(6): 466.
- [3] 王卫平. 不同生长年限巴戟天中巴戟多糖含量比较[J]. 广东药学, 1996(4): 31.
- [4] 洪祖灿, 胡军, 伊勇涛, 等. 不同生长年份巴戟天挥发性成分的比较[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(9): 4115.

[责任编辑 蔡仲德]

TC C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with methanol-water (65:35) as mobile phase. The flow rate was 0.8 mL · min⁻¹, and the column temperature was at 30 °C. The detection wavelength was set at 280 nm; injection volume was 10 μL.

Result: 6-gingerol was linear in the range of 0.113 5-2.270 μg and the regression equation was $Y = 540\ 646X - 1\ 188$ ($r = 0.999\ 9, n = 6$). The average recovery was 99.90%, RSD 1.14%. **Conclusion:** The method is simple and reproducible for the determination of 6-gingerol in decoction of Antiemetic compound particles by HPLC.

[**Key words**] HPLC; Antiemetic compound particles; 6-gingerol; determination

复方止呕颗粒剂全方由半夏、生姜和茯苓3味药组成,具有散饮降逆、和胃止呕的功效。其处方来源于东汉名医张仲景《金匱要略》中的小半夏加茯苓汤,是临床上治疗呕吐的经典方^[1]。方中臣药生姜是发挥止呕作用的有效物质^[2],6-姜酚是生姜止呕的主要有效成分之一,本实验建立了高效液相色谱法测定复方止呕颗粒剂中6-姜酚的含量,为复方止呕颗粒剂的质量控制提供参考。

1 仪器与试剂

岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪,SPD-20A 型紫外可见检测器;HT-20 型柱温箱,Agilenttc-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);JA2003 型电子天平(上海良平仪器仪表有限公司);Auy220 型电子天平(日本岛津);科导 SK8210HP 型台式超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);DZ-2BC 型真空干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司);LRH-150S 恒温恒湿培养箱(广东省医疗器械厂)。

6-姜酚对照品(购于天津马克生物技术有限公司,批号 20081015,纯度为 98.75%);复方止呕颗粒剂(自制,贵阳中医学院中药新制剂开发中心提供,批号 20091211,20091217,20091224);甲醇(色谱纯,天津市科密欧化学试剂开发中心,批号 20060614);水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 复方止呕颗粒剂的制备 称取处方中药材姜半夏 500 g、生姜 417 g、茯苓 250 g,加 9 倍量的水,提取 3 次,每次 1 h,滤过,合并滤液,将滤液平均分成 2 份,1 份浓缩并干燥制备成干浸膏粉,另 1 份滤液减压浓缩(60 °C)至清膏(相对密度为 1.08 ~ 1.10),将上述清膏与干浸膏粉混合,加适量可溶性淀粉、糊精和甜蜜素,混合均匀,制粒,干燥,整粒,制成 1 000 g 复方止呕颗粒。

2.2 色谱条件^[3] 色谱柱 Agilenttc-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(65:35),柱温 30 °C,流速 0.8 mL · min⁻¹,进样量 10 μL,检测波长 280 nm。

2.3 溶液的准备

2.3.1 对照品溶液 精密称取 6-姜酚对照品 2.270 mg 置于 10 mL 的量瓶中,加入甲醇溶解,并定容至刻度,摇匀,得到浓度为 0.227 0 g · L⁻¹ 的对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液 精密称取复方止呕颗粒剂 1.0 g,加入 25 mL 蒸馏水,称重,加热回流提取 0.5 h,放冷,补足失重,过滤,取续滤液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。

2.3.3 阴性样品溶液 按处方比例制备不含生姜的阴性供试样品,按 2.3.2 项下制备方法同法操作,即得阴性样品溶液。

2.4 系统适应性试验 分别精密吸取上述对照品溶液、供试品溶液以及阴性样品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,按照上述色谱条件进行检测,记录色谱图,结果供试品溶液色谱在与对照品溶液色谱相应的出峰时间有吸收峰;而阴性样品溶液相应位置处无吸收峰,表明阴性样品对测定无干扰,分离度大于 1.5,分离效果好,理论塔板数不低于 4 000。见图 1。

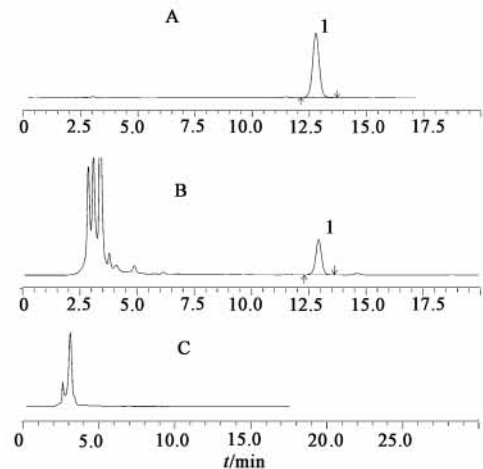


图1 复方止呕颗粒色谱

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 6-姜酚

2.5 线性关系的考察 取浓度为 $0.227\ 0\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 6-姜酚对照品溶液,精密吸取 $0.5\ \text{mL}$ 定容至 $10\ \text{mL}$,精密吸取 $0.2, 0.4, 0.6, 0.8\ \text{mL}$ 定容至 $1\ \text{mL}$,配成浓度分别为 $0.011\ 35, 0.045\ 4, 0.090\ 8, 0.136\ 2, 0.181\ 6\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液,分别吸取上述溶液各 $10\ \mu\text{L}$ 注入高效液相色谱仪测定峰面积,以对照品进样量为横坐标,峰面积值为纵坐标,绘制标准曲线,得到回归方程为 $Y = 540\ 646X - 1\ 188 (r = 0.999\ 9)$ 。结果表明 6-姜酚在 $0.113\ 5 \sim 2.270\ 0\ \mu\text{g}$ 线性关系良好。

2.6 精密度试验 精密吸取浓度为 $0.090\ 8\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液 $10\ \mu\text{L}$,重复进样 6 次,测得峰面积,计算 RSD 0.80% ,表明精密度良好。

2.7 重复性试验 精密称取同一批复方止呕颗粒

剂样品 6 份,按 **2.3.2** 项下制备方法分别制备样品溶液,按 **2.2** 项色谱条件测定,计算其含量, RSD 1.57% ,重复性良好。

2.8 稳定性试验 取复方止呕颗粒剂 $1\ \text{g}$,精密称定,按供试品溶液的制备方法制备样品溶液,分别于 $0, 2, 4, 8, 12, 24\ \text{h}$ 测定,计算峰面积,其峰面积的 RSD 1.32% 。结果表明样品在 $24\ \text{h}$ 内稳定性良好。

2.9 加样回收率试验 精密称取已知含量 ($0.539\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 的样品共 9 份,分别加入 6-姜酚含量为 $80\%, 100\%, 120\%$ 的对照品溶液,每个浓度做 3 个平行样,按供试品的制备方法制备供试品溶液。分别进行测定,计算含量,其 6-姜酚平均回收率为 99.90% , RSD 1.14% 。结果见表 1。

表 1 6-姜酚加样回收率试验

称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
0.529 1	0.285 2	0.227 0	0.511 4	99.64		
0.532 4	0.286 9	0.227 0	0.511 5	98.94		
0.548 0	0.295 3	0.227 0	0.520 4	99.16		
0.503 6	0.271 5	0.272 4	0.541 4	99.08		
0.523 1	0.282 0	0.272 4	0.558 3	101.43	99.90	1.14
0.519 1	0.281 2	0.272 4	0.557 8	101.54		
0.503 0	0.271 4	0.335 9	0.609 2	100.57		
0.508 2	0.274 3	0.335 9	0.611 6	100.40		
0.509 9	0.275 2	0.335 9	0.605 6	98.36		

2.10 样品测定 取 10 批不同的复方止呕颗粒剂 $1.0\ \text{g}$ 各 2 份,精密称定,按照供试品溶液的制备方法处理样品,测定含量。结果见表 2。

表 2 复方止呕颗粒测定

批号	峰面积	6-姜本分 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	平均值 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
20091211	132 755	0.591 1	
20091217	129 706	0.578 9	
20091224	133 908	0.594 1	
20091228	131 040	0.580 2	
20091229	128 924	0.575 4	
20100103	128 017	0.569 7	0.593 1
20100104	131 547	0.584 5	
20100105	132 080	0.592 5	
20100106	143 071	0.643 1	
20100107	138 975	0.621 5	

3 讨论

预试验中曾采用多种流动相,并对其流速、柱温等进行了考察,最后确定流动相甲醇-水 ($65:35$),柱温 $30\ \text{C}$,流速 $0.8\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时分度很好,基线平稳,试验的重复性很好。

在供试品溶液的制备过程中,对不同的提取方法、提取溶剂和提取时间进行了考察和优选,最后确定用回流提取法,提取溶剂为水,提取时间为 $0.5\ \text{h}$,含量测定的结果准确,方法简便可行。

对方剂中含生姜的中药复方进行生姜有效成分 6-姜酚的含量测定报道甚少,本试验建立的用高效液相色谱法测定 6-姜酚含量的方法灵敏、准确,操作简便,可为生姜药材以及含生姜的中药复方的质量控制提供参考。

[参考文献]

[1] 冯泳,何前松,时京珍,等.小半夏加茯苓汤的研究概况[J].江苏中医药,2008,40(2):84.

[2] 冯泳,刘文,李江,等.小半夏加茯苓汤及其拆方止吐药效的对比性研究[J].贵阳中医学院学报,2001,23(1):53.

[3] 冯堃,阎东海.生姜超临界提取物中 6-姜酚含量测定方法研究[J].中成药,2007,29(7):1041.

[责任编辑 蔡仲德]