

## 小半夏汤中 5-羟甲基糠醛的含量测定

张科卫, 吴皓\*

(南京中医药大学, 南京 210029)

[摘要] 目的: 研究以 HPLC 法测定小半夏汤中 5-羟甲基糠醛含量的方法。方法: 采用 Lichrospher C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 以甲醇-水(5:95)为流动相, 体积流量 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 波长 283 nm, 柱温 30℃。结果: 5-羟甲基糠醛在 0.304 ~ 2.736 μg 与峰面积呈现良好的线性关系,  $r=0.9999$ ; 平均加样回收率( $n=5$ )为 96.18%, RSD 为 1.67%。结论: 该法操作简便, 结果可靠, 重复性好, 可作为研究小半夏汤中 5-羟甲基糠醛含量的方法。

[关键词] 高效液相色谱法; 小半夏汤; 5-羟甲基糠醛; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0051-03

### Determination of 5-hydroxymethylfurfural in Xiaobanxia Tang

ZHANG Ke-wei, WU Hao\*

(Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for determination of 5-hydroxymethylfurfural in Xiaobanxia Tang. **Method:** A Lichrospher C<sub>18</sub> column(4.6 mm ×150 mm, 5 μm) was used with methanol-water (5:95) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, wavelength 283 nm, and the column temperature was at 30℃. **Result:** The linear range of 5-hydroxymethylfurfural was within 0.304-2.736 μg,  $r=0.9999$ , the average recovery was 96.18% ( $n=5$ ). **Conclusion:** This method has good reproducibility. It can be used for quality control in production of Xiaobanxia Tang.

[Key words] HPLC; Xiaobanxia Tang; 5-Hydroxymethylfurfural; content determination

小半夏汤出自《金匱要略》,始用于治疗“心下有饮”,是止呕之圣方(“诸呕吐,谷不得下者,小半夏汤主之”),目前临床上常用其治疗各种原因引起的呕吐<sup>[1-2]</sup>。现代药理研究表明,小半夏汤对胃黏膜有明显的保护作用,能通过调节小鼠胃排空,降低血浆胃动素水平等作用而起到抗呕吐效果<sup>[3-4]</sup>。本课题组近年来的研究发现,小半夏汤中含有多种具有生理活性的物质,如核苷、姜酚、姜醇等<sup>[5-6]</sup>。5-羟甲基糠醛是本课题组在小半夏汤中提取分离得到的成分,由于该成分既具有一定的药理活性<sup>[7]</sup>,同时还具有一定的神经毒性<sup>[8-10]</sup>。为了对小半夏汤的质量进行综合评价,本文对其中的 5-羟甲基糠醛的含量进行了测定研究。

### 1 仪器与试剂

Waters515 型高效液相色谱仪,2487 双波长紫外检测器,Millennium32 色谱管理系统; Sartorius BP211D 型电子天平。

甲醇为色谱纯,水为亚沸蒸馏水(自制);5-羟甲基糠醛对照品,由本实验室分离纯化制得,并经 HPLC 检测为单一成分,纯度达到 99% 以上。

小半夏汤(批号 Lot 1, Lot 2, Lot 3),由本实验室自制;半夏药材、生姜药材经南京中医药大学中药鉴定教研室王春根教授鉴定分别是天南星科植物半夏 *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎及姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎。半夏产地为江苏泰州(泰半夏),生姜产地为山东莱芜。

### 2 方法

**2.1 色谱条件** 色谱柱 Lichrospher C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相甲醇-水(5:95);检测波长 283 nm,柱温 30℃;体积流量 1.0 mL·min<sup>-1</sup>;理论塔板数以 5-羟甲基糠醛计不低于 5 000,并且 5-羟甲基糠醛与其他未知色谱峰的分度大于 1.5,色谱图见图 1。

[收稿日期] 20100530(002)  
[基金项目] 江苏省中医药管理局科技项目(LZ09027)  
[第一作者] 张科卫,助理研究员,博士研究生,主要从事中药炮制与复方研究;Tel:025-86798269;E-mail:kewei\_31@163.com  
[通讯作者] \* 吴皓,博导,教授,主要从事中药炮制研究,E-mail:whao5795@vip.sina.com

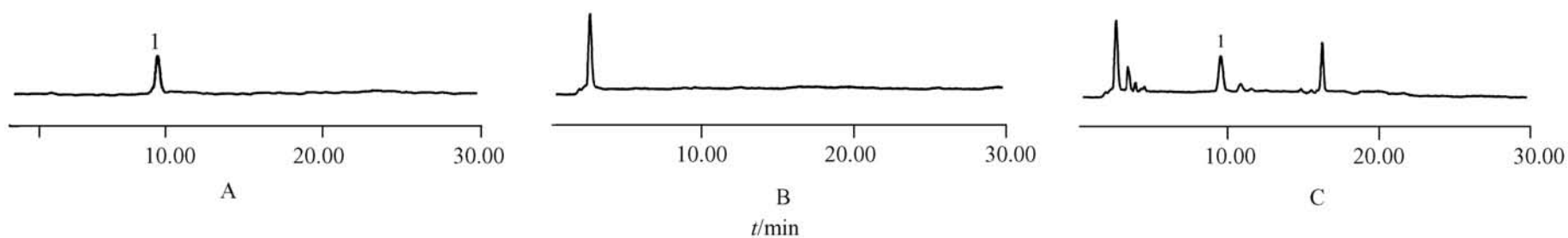


图 1 小半夏汤 HPLC 图

A. 对照品; B. 阴性样品; C. 小半夏汤供试品; 1. 5-羟甲基糠醛

## 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 取减压干燥至恒重的 5-羟甲基糠醛对照品适量, 精密称定, 加水溶解, 配成含 5-羟甲基糠醛  $1.52 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的对照品贮备液。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 精密吸取小半夏汤约 50 mL, 加入乙醇至含醇量达 60%, 静置离心 ( $3\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 15 min), 取上清液, 回收乙醇, 浓缩液置水浴上蒸干, 残渣以甲醇溶解, 定量转移至 25 mL 量瓶中, 定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.2.3 阴性样品溶液的制备** 按处方制备缺半夏的小半夏汤阴性制剂, 精密吸取该制剂约 50 mL, 其余同 2.2.2 项下处理, 即得。

**2.3 线性关系的考察** 精密吸取对照品贮备液 0.2, 0.6, 1.0, 1.4, 1.8 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制得对照品溶液系列, 即 5-羟甲基糠醛系列对照品溶液 ( $0.030\,4, 0.091\,2, 0.152, 0.212\,8, 0.273\,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )。取  $10 \mu\text{L}$  进样, 测定。以对照品含量对峰面积平均值作图, 结果经回归分析, 5-羟甲基糠醛在  $0.304 \sim 2.736 \mu\text{g}$  有良好的线性关系, 回归方程为  $Y = 4.61 \times 10^5 X + 2.37 \times 10^2$ ,  $r = 0.999\,9$ 。

**2.4 精密度试验** 取供试品溶液 1 份重复进样 6 次, 进样量  $10 \mu\text{L}$ , 记录所测组分积分面积。结果 5-羟甲基糠醛峰面积积分值的 RSD 为 1.56%。

**2.5 重复性试验** 取同一批样品, 按供试品溶液的制备方法平行制备 6 份, 依法测定, 计算, 结果 5-羟甲基糠醛质量分数的 RSD 为 1.86%。

**2.6 稳定性试验** 吸取新配制的供试品溶液, 按样品含量测定法每隔 2 h 取  $10 \mu\text{L}$  进样, 测定 5-羟甲基糠醛的峰面积, 结果其 RSD 为 1.97%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

**2.7 回收率试验** 配制含 5-羟甲基糠醛  $356 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的加样对照品储备液。分别精密吸取已知 5-羟甲基糠醛含量的小半夏汤约 25 mL, 平行 5 份, 精密加入上述加样对照品储备液 5.0 mL, 依供试品溶液制备方法处理, 按上述色谱条件进行 HPLC 分析, 测定,

计算回收率。结果 5-羟甲基糠醛的平均回收率为 96.18%, RSD 为 1.67%。见表 1。

**2.8 样品测定** 取小半夏汤供试品溶液, 分别取供试品溶液和对照品溶液各  $10 \mu\text{L}$  进样测定, 每个批号平行 3 份, 每份进样 2 次。结果 3 批小半夏汤中 5-羟甲基糠醛的含量分别为  $0.066\,9, 0.067\,3, 0.065\,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表 1 5-羟甲基糠醛加样回收率试验 ( $n=5$ )

取样量 /mL	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
25.0	1.673	1.780	3.369	95.28		
25.0	1.673	1.780	3.372	95.45		
25.0	1.673	1.780	3.436	99.04	96.18	1.67
25.0	1.673	1.780	3.377	95.73		
25.0	1.673	1.780	3.371	95.39		

## 3 讨论

5-羟甲基糠醛含量很低, 从实验结果看, 比前期实验中所测得的 6-姜酚含量还低<sup>[6]</sup>, 只有后者的二分之一左右。

在食品及药品的储藏过程中, 常常会产生微量的 5-羟甲基糠醛, 研究表明, 该物质能降低心肌缺血小鼠血清中 LDH 含量, 降低心肌缺血小鼠心肌组织中 MDA 含量, 有利于抗心肌缺血作用<sup>[7]</sup>; 同时该物质具有一定的神经毒性, 能引起动物横纹肌麻痹及内脏损害, 能与人体蛋白质结合产生积蓄中毒<sup>[8-10]</sup>。本实验对小半夏汤中的 5-HMF 的含量进行的测定研究, 旨在为小半夏汤的质量及安全性控制做一些有益的尝试。

### [参考文献]

- [1] 刘宝瑛. 小半夏汤治疗呕吐 38 例临床观察 [J]. 山西中医学院学报, 2007, 8(5): 40.
- [2] 崔文堂. 小半夏汤治疗胃失和降证 42 例临床观察 [J]. 中国社区医师, 2007, 23(2): 38.
- [3] 王枫, 罗文纪, 连建伟. 小半夏汤对小鼠胃排空、小肠推进的影响 [J]. 浙江中医学院学报, 2001, 25(2): 48.

(下转第 55 页)

表 1 黄芪甲苷加样回收率试验测定结果

No.	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD/%
1	0.017 55	0.022 08	0.039 41	99.01		
2	0.017 55	0.022 08	0.039 25	98.30		
3	0.021 70	0.022 08	0.043 90	100.55	99.70	1.50
4	0.021 70	0.022 08	0.043 63	99.33		
5	0.022 67	0.022 08	0.045 26	102.32		
6	0.022 67	0.022 08	0.044 46	98.68		

表 2 黄瓜子生品及炮制品多糖含量 (n=3) %

药材	多糖含量	平均含量	RSD
生品	5.105 8		
	5.113 9	5.056 4	1.83
清炒品	4.949 6		
	5.194 6		
	5.136 8	5.203 2	1.37
	5.278 2		

### 3 讨论与结论

多糖作为黄瓜子的有效成分之一,生物活性多种,能提高机体的免疫力以及具有抗氧化活性的作用,从实验结果中可以得出,黄瓜子制品中多糖含量比黄瓜子生品中多糖含量有所增加,可见黄瓜子炮制的意义所在。但究竟是炮制过程中由其他成分转

化而来,还是因为炮制后使药材的质地疏松而有利于多糖成分的煎出仍有待进一步研究。

在多糖的含量测定中,多糖组成复杂而难以得到相应的多糖对照品,所以多采用葡萄糖代替对照品,但这只能测得样品中多糖的相对含量,样品中多糖的准确含量必须通过单糖和多糖之间的换算因子计算来获得。本实验对苯酚-硫酸法测定条件进行优化,得出 2 mL 黄瓜子多糖溶液,加 5% 苯酚溶液 1 mL,硫酸 6 mL,70 ℃ 水浴 5 min 显色效果最好。

### [参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 第 5 卷. 上海: 上海科学技术出版社, 1999, 522.

[2] 许平. 黄瓜多糖抗氧化活性研究 [J]. 重庆工商大学学报: 自然科学版, 2009, 26(1): 54.

[3] 屠婕红, 黄佳. 瓜蒌皮中水溶性多糖的提取及含量测定 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(2): 281.

[4] 王德才, 李同德, 高丽君. 杭白芷多糖的提取分离及其含量测定 [J]. 中国中医药科技, 2008, 15(4): 283.

[5] 张作法, 金洁, 时连根. 桑枝多糖的含量测定方法 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 462.

[6] 孟江, 周毅生, 廖华卫. 不同产地鱼腥草多糖含量测定 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(4): 822.

[责任编辑 顾雪竹]

(上接第 52 页)

[4] 徐小玉, 连建伟. 小半夏汤对小鼠胃动素的影响 [J]. 国医论坛, 2002, 17(4): 45.

[5] 张科卫, 梅阳, 吕爱娟, 等. 小半夏汤指纹图谱的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(10): 1493.

[6] 张科卫, 吴皓, 崔小兵. HPLC 法测定小半夏汤中 6-姜酚和 6-姜醇 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 1579.

[7] 夏云, 李志明, 朱丹妮, 等. 生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究——生脉散复方化学的研究 ( )

[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(4): 230.

[8] 冉懋雄. 注射用葡萄糖杂质紫外吸收度与质量关系 [J]. 中国医院药学杂志, 1986, 6(1): 21.

[9] 楚文, 张昌斌, 曹永红, 等. 限制 5-羟甲基糠醛生成条件和探讨 [J]. 人民军医药学专刊, 1998, 14(2): 101.

[10] 饶品昌, 黄道明. 薄层扫描法测定熟地黄中 5-羟甲基糠醛的含量 [J]. 中成药, 1998, 20(8): 20.

[责任编辑 顾雪竹]