

高良姜配方颗粒质量控制研究

涂瑶生¹, 李智勇^{1,2*}

(1. 广东省中医研究所, 广州 510095; 2. 广州中医药大学, 广州 510405)

[摘要] 目的: 探讨高良姜配方颗粒质量控制方法并为其质量控制提供参考。方法: 采用薄层色谱法对不同批次高良姜配方颗粒进行定性鉴别; 采用 HPLC 法测定其中高良姜素和山奈素的含量。phenomenex Gemini C₁₈ (4.6 mm ×250 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相甲醇-0.4% 磷酸 (58:42); 检测波长 360 nm; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温 30℃。结果: 薄层色谱斑点分离较好, 斑点清晰; 高良姜素在 0.104 ~1.044 μg 呈线性关系, $r=0.9993$, 平均回收率 98.05%, RSD 1.96% ($n=6$); 山奈素在 (2.2 ~21.6) ng 内呈线性关系, $r=0.9992$, 平均回收率 99.71%, RSD 1.86% ($n=6$)。结论: 该方法简便快速, 准确可靠, 专属性强, 可作为高良姜配方颗粒的质量控制方法。

[关键词] 高良姜配方颗粒; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 高良姜素; 山奈素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)04-0021-03

Study on quality control of *Alpinia officinarum* formula granules

TU Yao-sheng¹, LI Zhi-yong^{1,2*}

(1. Guangdong province Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China;

2. Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the quality control standard of *Alpinia officinarum* Formula Granules and to provide reference for it. **Method:** TLC was used to identify *Alpinia officinarum* Formula Granules in different batches. HPLC was used for the determination of galangin and kaempferol. The chromatographic column was phenomenex Gemini C₁₈ (4.6 mm ×250 mm, 5 μm); the mobile phases were methanol-0.4% phosphoric acid (58:42); the detection wavelength was set at 360 nm; the flow rate was at 1.0 mL·min⁻¹ and the column temperature was at 30℃ respectively. **Result:** The TLC spots were clear and well divided. Galangin was linear in the range of (0.104 ~1.044) μg, $r=0.9993$, and the average recovery was 98.05% with RSD = 1.96% ($n=6$); Kaempferol was also linear in the range of (2.2 ~21.6) ng, $r=0.9992$, and the average recovery was 99.71% with RSD 1.86% ($n=6$). **Conclusion:** This method can be used as a quality control standards for *Alpinia officinarum* Formula Granules.

[Key words] *Alpinia officinarum* Formula Granules; TLC; HPLC; Galangin; Kaempferol

中药高良姜为姜科植物高良姜 *Alpinia officinarum* Hance 的干燥根茎, 具有温胃散寒, 消食止痛等功效, 临床常用于胃寒呕吐、脘腹冷痛、气吞酸等病证的治疗^[1]。高良姜根茎含有黄酮类、挥发油、二芳基庚烷(烯)类、甾醇类化合物, 以及鞣质、淀粉、脂肪及微量元素等^[2]。高良姜配方颗粒由高良姜饮

片经提取、浓缩、干燥、制粒等工序制成, 易储存, 服用方便。叶娟等^[3]曾以 1,8-桉油素为标准利用气相色谱法对高良姜配方颗粒进行质量控制研究, 此外并未查见其他相关研究。本文采用薄层色谱法对不同批次高良姜配方颗粒进行定性鉴别; 并以 HPLC 法测定其中高良姜素、山奈素的含量, 以控制高良姜配方颗粒的质量。

1 仪器与试药

瑞士 CAMAG ATS4 (薄层自动点样仪); 瑞士 CAMAG Reprostar 3 (薄层成像系统); 高效硅胶 G 薄层板 (10 cm ×20 cm, 浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂); Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国); phe-

[收稿日期] 2009-08-13

[基金项目] 国家科技部“十一五”科技支撑项目 (2006BAI06A14-06)

[通讯作者] * 李智勇, Tel: (020) 83501292; E-mail: aaalzy@163.com

phenomenex Gemini C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 键合硅胶柱色谱柱(美国), DAD 检测器, 四元梯度泵, G2170AA 数据处理软件系统; BP 211DE Sartorius 电子分析天平(德国); KQ5200DE 型数控超声波清洗器(昆山)。

甲醇为进口色谱纯, 水为双蒸水, 其余试剂均为分析纯。高良姜素对照品(111699-200501)、山奈素对照品(110861-200606)、高良姜对照药材(1263-0301)均购自中国药品生物制品检定所。样品来源: 10 个高良姜配方颗粒(批号分别为 040919, 0412096, 0506043, 0510126, 0603007, 0608206, 0612207, 0710015, 0801057, 0810070)样品均由广东一方制药有限公司提供。

2 薄层色谱鉴别

2.1 溶液的制备 供试品溶液的制备: 取各批次配方颗粒各 0.5 g, 分别加乙醚 30 mL, 加热回流提取 30 min, 滤过, 滤液置水浴蒸干, 残渣加 1 mL 乙酸乙酯溶解, 作为供试品溶液。

对照品溶液的制备: 取高良姜素适量, 加甲醇溶解, 制成每 1 mL 含高良姜素对照品 0.502 mg 的溶液。

对照药材溶液的制备: 取高良姜对照药材 0.25 g, 加乙醚 30 mL, 按“供试品溶液的制备”项下操作, 制成对照药材溶液。

2.2 照薄层色谱法^[1]试验, 吸取上述供试品溶液、对照品溶液各 10 μL、对照药材溶液 5 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯(5:2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 在 105℃ 下加热至斑点显色清晰。供试品色谱与对照药材和对照品色谱在相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

2.3 照薄层色谱法试验, 吸取上述供试品溶液、对照品溶液各 10 μL、对照药材溶液 5 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯(5:2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 醋酸镁乙醇溶液, 在紫外灯(365 nm)下检视。供试品色谱与对照色谱在相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

3 高良姜素、山奈素的含量测定

3.1 色谱条件 phenomenex Gemini C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 键合硅胶柱色谱柱; 流动相甲醇-0.4% 磷酸(58:42); 检测波长 360 nm; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温 30℃。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取高良姜素、山奈素对照品一定量, 加甲醇制成每 1 mL 含高良姜素 52.2 ng、山奈素 1.08 ng 的溶液。

3.3 供试品溶液的制备 取高良姜配方颗粒各 0.5 g, 精密称定, 加甲醇约 60 mL, 索氏提取 4 h, 收集甲醇液, 容器用甲醇洗涤 2 次, 洗脱液并入甲醇液中, 蒸干, 残渣用甲醇溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

3.4 线性范围的考察 精密吸取对照品溶液(每 1 mL 含高良姜素 52.2 ng、山奈素 1.08 ng) 2, 5, 10, 15, 20 μL 进行色谱测定, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积(Y)对进样量(X)进行回归, 得标准曲线: 高良姜素: $Y = 2770.2X + 53.771$, $r = 0.9993$, 表明高良姜素在 0.104 ~ 1.044 μg 范围内呈现良好的线性关系; 山奈素: $Y = 3641.3X + 0.6663$, $r = 0.9992$, 表明山奈素在(2.2 ~ 21.6) ng 范围内呈现良好的线性关系。

3.5 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液 10 μL, 重复进样 5 次, 测得高良姜素峰面积积分值 RSD 1.71% ($n = 5$), 山奈素峰面积积分值 RSD 1.40% ($n = 5$), 说明本方法精密度较好。

3.6 重复性试验 取同一批号样品(0801057), 平行取样 5 份, 精密称定, 按供试品溶液制备方法处理, 进样 10 μL, 在上述色谱条件下进行测定, 结果高良姜素质量分数 RSD 1.80% ($n = 5$), 山奈素质量分数 RSD 1.68% ($n = 5$), 可见本方法重复性较好。

3.7 稳定性试验 精密吸取供试液 10 μL, 分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 测定, 结果高良姜素峰面积积分值 RSD 1.97% ($n = 5$), 山奈素峰面积积分值 RSD 1.35% ($n = 5$), 表明高良姜素和山奈素在 8 h 内稳定。

3.8 回收率试验 取已知质量分数(0801057)样品, 分别精密加入一定量的高良姜素、山奈素对照品, 按供试品制备与测定方法, 平行做 6 组试验, 见表 1 ~ 2。

3.9 样品的测定 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 10 μL, 按上述色谱条件测定, 对照品和供试品的色谱图如图 1 ~ 2, 见表 3。

4 讨论

4.1 薄层色谱条件的选择 在高良姜配方颗粒薄层鉴别中, 先后对乙醚回流、超声提取, 以及乙醇提取液过聚酰胺柱进行比较, 对不同展开剂系统和显色剂进行比较, 结果表明: 以乙醚回流, 以环己烷-乙

表 1 高良姜素回收率测定

取样量 /g	样品中含量 /mg	加入的量 /mg	测得的量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.250 5	0.25	0.21	0.45	97.19	98.05	1.96
0.250 0	0.25	0.21	0.46	101.34		
0.250 3	0.25	0.26	0.50	98.27		
0.24 99	0.25	0.25	0.48	95.88		
0.250 1	0.25	0.28	0.52	96.82		
0.249 7	0.25	0.31	0.55	98.83		

表 2 山奈素回收率测定

取样量 /g	样品中含量 /mg	加入的量 /mg	测得的量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.250 5	3.76	2.16	5.97	102.22	99.17	1.86
0.250 0	3.76	2.16	5.85	96.92		
0.250 3	3.77	2.70	6.46	99.34		
0.24 99	3.74	2.70	6.47	101.29		
0.250 1	3.75	3.24	6.95	99.01		
0.249 7	3.75	3.24	6.97	99.48		

表 3 样品质量分数测定 /mg·g⁻¹

批号	高良姜素	山奈素
040919	1.12	0.029
0412096	1.05	0.027
0506043	1.26	0.033
0510126	1.18	0.023
0603007	1.04	0.017
0608206	0.98	0.017
0612207	0.95	0.015
0710015	1.02	0.014
0801057	1.01	0.015
0810070	0.95	0.014

4.2 高效液相色谱 《中国药典》2005 年版一部高良姜项下记载了采用气相色谱法测定其中桉油精的含量测定方法。药理研究表明,高良姜素和山奈素是高良姜镇痛止吐的主要有效成分^[4]。经过对不同提取溶剂和提取方法对比,结果显示采用甲醇索氏回流提取 4 h 后,提取液中高良姜素和山奈素的含量不再增加。根据文献相关报道和条件摸索,调整流动相为甲醇-0.4% 磷酸(58:42),柱温 30℃,结果出峰时间缩短,特征峰均能达到基线分离。同时检测波长 360 nm 可以兼顾高良姜素和山奈素,二者的色谱吸收峰形均良好。

含量测定结果显示,高良姜配方颗粒中高良姜素质量分数在 0.94 ~1.26 mg·g⁻¹,山奈素质量分数在 0.013 ~0.033 mg·g⁻¹,不同批次高良姜配方颗粒高良姜素和山奈素含量存有一定的差异。可能与不同批次高良姜原药材的产地、采收期有关,是否与贮存时间有关有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 202, 附录 31.
- [2] 王涛, 何瑞. 高良姜药材研究进展[J]. 中药市场与信息, 1998, 42(4): 29.
- [3] 叶娟, 高文远, 孙立亚, 等. 高良姜配方颗粒的制备工艺与质量控制[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(5): 1076.
- [4] SHIN D, KINOSHITA K, KOYAMA K, et al. Antiemetic principles of *Alpinia officinarum*[J]. J Nat Prod, 2002, 65(9): 1315.

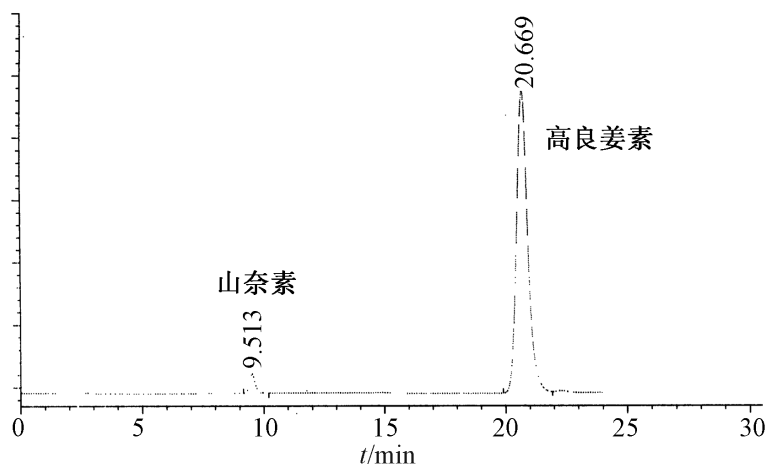


图 1 高良姜素对照品、山奈素对照品 HPLC 色谱图

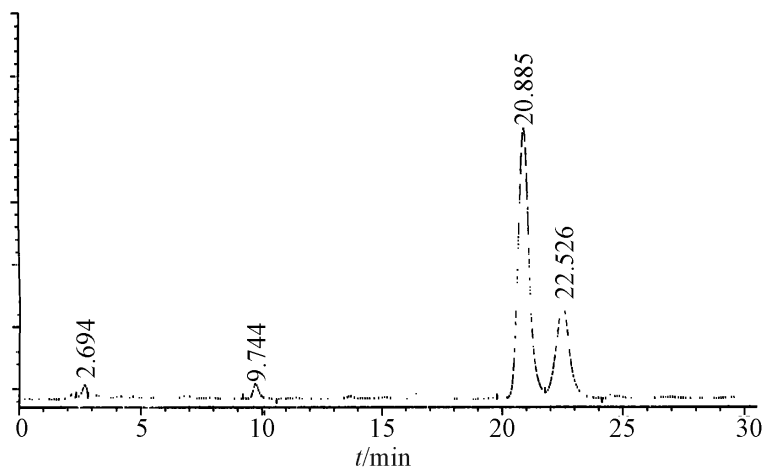


图 2 高良姜配方颗粒中高良姜素、山奈素 HPLC 色谱图

酸乙酯(5:2)为展开剂,所显的斑点清晰、分离度好、无拖尾现象。显色剂以 5% 香草醛硫酸,105℃ 下加热显色,日光下检视,所显斑点多而且清晰;以 10% 醋酸镁乙醇试液显色后紫外灯(365 nm)下检视,荧光斑点清晰。