

高效液相色谱法测定生姜中 6-姜酚的含量*

李立,朱晓薇,李爽

摘要 [目的] 建立测定生姜中 6-姜酚的高效液相色谱(HPLC)法。[方法] 以 100 倍 80%的甲醇热回流提取生姜 2 h 后用 HPLC 法测定,采用依利特 C₁₈ 反相色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);以异丙醇-甲醇-冰乙酸-水(12:38:4:36, V/V/V/V)为流动相,流速 0.8 mL/min,紫外检测波长 280 nm,柱温 34 ℃。[结果] 6-姜酚在 0.021 6~0.432 0 μg 的质量范围内与峰面积线性关系良好($r^2=0.999 2$, $n=6$),回收率为(100.79±2.84)%,RSD 为 2.84%。[结论] 本法操作简便,灵敏度高,快速可靠,可用于生姜中 6-姜酚含量的测定。

关键词 生姜 6-姜酚 高效液相色谱(HPLC)

中图分类号 R284.1

文献标识码 A

文章编号:1673-9043(2012)01-0036-03

生姜是一味常用中药,药食两用,来源于姜属植物姜(*Zingiber officinale* Rosc.)的新鲜根茎,味辛,性温,入肺、脾、胃三经,功效为解表散寒、温中止呕和化痰止咳等^[1],用于风寒感冒,胃寒呕吐,寒痰咳嗽。现代药理研究表明生姜能抗晕吐,对运动病、怀孕反应、化疗药治疗的反胃、恶心、呕吐等有很好的疗效^[2-6]。

姜酚是生姜中的主要生物活性物质,姜酚包括 6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚、12-姜酚等 10 余种,其中 6-姜酚含量最高,约占总姜酚的 75%^[7-8]。因此对生姜中 6-姜酚的准确测定对深入研究生姜有重要意义。

目前文献报道的测定方法主要有滴定法、光度法、溶出伏安法和高效液相色谱(HPLC)法^[1]。HPLC 法是目前药物测定研究中应用最多的测定方法,本实验用 HPLC 法,在一定的色谱条件下,定量测定生姜中的 6-姜酚,为生姜的进一步的深入研究提供可靠的分析方法。

1 实验仪器与材料

Softa-6000 高液相色谱仪及其工作站,6000 pvw 紫外/可见检测器,电子天平 BT1250(德国 Sartorius),KQ-500E 型医用超声波清洗仪(昆山超声仪器有限公司)。

* 基金项目 天津市发展计划项目(033180611)。

作者单位 300193 天津中医药大学。

作者简介 李立(1986-)女,硕士研究生,研究方向为中药分析、制剂及质量控制。

通讯作者 朱晓薇。

生姜(购自天津市蔬菜市场)经天津中医药大学马琳教授鉴定为姜属植物姜的新鲜根茎,6-姜酚(天津中新药业集团),甲醇(分析纯、色谱纯,天津化学试剂批发公司),异丙醇(天津市博迪化工有限公司),冰乙酸(分析纯,天津凯通化学试剂有限公司),娃哈哈纯净水。

2 实验方法

2.1 检测波长的选择 6-姜酚甲醇溶液在波长 200~400 nm 内进行紫外扫描,显示 6-姜酚在 280 nm 处有较强吸收,因此选用 280 nm 为检测波长。

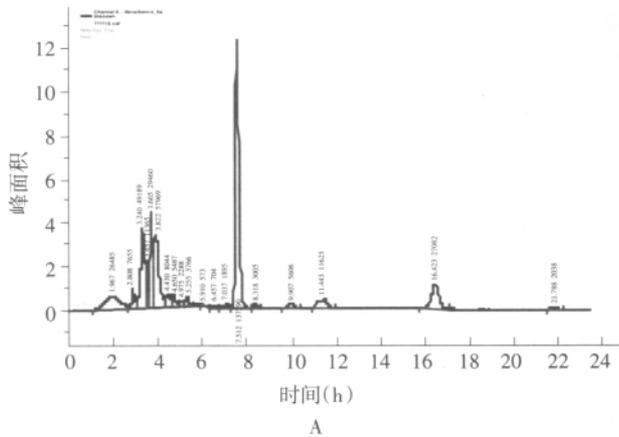
2.2 色谱条件 Hypersil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),以异丙醇-甲醇-冰乙酸-水(12:38:4:36, V/V/V/V)为流动相,流速 0.8 mL/min,柱温 34 ℃。在此条件下 6-姜酚对照品与供试品中的其他物质可以达到良好的分离,色谱图见图 1。

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取 6-姜酚对照品 2.16 mg,加甲醇配成浓度为 0.216 0 mg/mL 溶液,冰箱储存,备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 生姜切末,取 0.5 g,精密称量,加入 80%甲醇溶液 50 mL,在 66 ℃下回流 2 h,冷却后补质量,过滤,弃去初滤液,取续滤液。进样前用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,进样 20 μL。

2.3 线性范围的考察 分别精密吸取 6-姜酚对照品溶液(0.216 mg/mL) 0.1、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得 0.002 16、0.008 64、0.017 28、0.025 92、0.034 56、0.043 20 mg/mL 的系列对照品溶液。每个浓度分别进样 10 μL,记录峰面积,以峰面积(Y)为纵坐标,以进样量(X)为横坐标

进行线性回归,得回归方程 $\hat{Y}=431\ 636X-980.82(r^2=0.999\ 2\ n=6)$,表明6-姜酚的进样量在0.021 6~0.432 0 μg 范围内与峰面积线性关系良好,见图2。



3.3 柱温的选择 调节柱温为25、30、34、35℃,其他条件保持不变,进行HPLC测定。结果发现34℃时分离效果最好。

3.4 提取条件的选择

3.4.1 溶剂 取一定量生姜分别采用纯甲醇、80%甲醇、95%乙醇50倍量作溶剂,回流提取1.5h, HPLC测定。结果6-姜酚提取率大小为80%甲醇>纯甲醇>95%乙醇。故选择80%甲醇作提取溶剂。

3.4.2 提取方法 取一定量生姜以50倍量80%甲醇为溶剂,分别采用超声45min、热回流1.5h的方法提取生姜,提取液HPLC测定,结果回流提取法6-姜酚含量约为超声法的3倍,因此选择回流提取法。

3.4.3 提取时间 取一定量生姜,以50倍量80%甲醇为溶剂,分别采用热回流1、1.5、2h,提取液HPLC测定。结果生姜回流提取2h,6-姜酚的提取量最高。

3.4.4 提取溶媒量 取一定量生姜,分别加50、100、150倍量80%甲醇为溶媒,热回流法提取2h,提取液HPLC测定。结果表明生姜以加溶媒100倍,6-姜酚的提取量最高。

测定中应注意:生姜的不同部位6-姜酚含量有差别,取样时应多准备些样品,混匀后取样,保证试验结果的重现性,实验中应注意提取温度,在能保证溶液回流状态下采用较低温度,避免姜酚类物质

受热破坏。本实验建立了HPLC测定生姜中6-姜酚单一物质的方法,操作简单、准确,重复性好,可以更好的对生姜药材进行质量评价,也为进一步研究生姜的提取及制剂等提供了分析方法。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].一部.北京:中国医药科技出版社,2010:13-14.
- [2] 黄雪松,宴日安,吴建中.生姜的生物活性述评[J].暨南大学学报(自然科学版),2005,26(3):434-439.
- [3] 康熙昌,李玉荣,敖明章.生姜透皮贴对运动病大鼠脑组织中三种酶活性的影响[J].中国老年学杂志,2010,30(15):2181-2183.
- [4] 宣伟东,卞俊,刘娟,等.生姜抗晕动病有效部位化学成分分析[J].中国药房,2009,20(3):362-364.
- [5] 翁媛英,胡明华,林巧,等.生姜辅助上吐对缓解顺铂化疗患者胃肠道反应的效果观察[J].江西中医药,2010,41(2):42-43.
- [6] 孙永全.生姜药理作用研究进展[J].现代中西医结合杂志,2007,16(4):561-564.
- [7] Chen Chuchu, Rosen RT, Ho Chitang. Chromatographic analyses of gingerol compounds in ginger (*Zingiber officinale* roscoe) extracted by liquid carbon dioxide[J]. Journal of Chromatography A, 1986, (3): 163-173.
- [8] 王啸.生姜活性部位与成分研究进展[J].中医研究,2009,22(2):53-55.

(收稿日期:2011-08-29)

Determination of 6-gingerol in ginger by high performance liquid chromatography

LI Li, ZHU Xiao-wei, LI Shuang

(Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

Abstract: [Objective] To establish a HPLC method for the determination of 6-gingerol in ginger. [Methods] Ginger was extracted by heat reflux with 80% methanol for 2 hours, the drug ratio was 1:100, and the Hypersil C₁₈ ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was used to determine. The mobile phase consisted of methanol-water-isopropyl-alcohol-glacial acetic acid (38:36:12:4); The flow rate was 0.8 mL/min. The detection wavelength was 280 nm. The column temperature was kept at 34 °C. [Results] The linear range was between 0.021 6~0.432 0 μg. And the average recovery of the method was (100.79±2.84) % and the RSD was 2.84%. [Conclusion] The results show that this assay method is simple and accurate. And the method can be used to determine the contents of 6-JF in *Zingiber officinale* Rose.

Key words: ginger; 6-gingerol; HPLC