

薄层扫描法测定干姜中 6-姜醇

袁干军¹, 董伍爱¹, 文昌湖²

(1. 海南医学院 药学系, 海南 海口 571101; 2. 海南绿色中药科技有限公司, 海南 海口 571102)

干姜是姜科姜属多年生草本植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎, 其性热, 味辛; 归肺、脾、胃等经, 具有温中散寒、回阳通脉、燥湿消痰之功效^[1]。文献报道^[2]其主要有效成分为姜辣素类 (gingerols), 具有抗氧化、抑制胃黏膜损伤、保肝利胆、解热镇痛、抗衰老、抗肿瘤等重要作用。而干姜的姜辣素类成分中, 6-姜醇 (6-gingerol) 占 50% 以上^[3], 同时关于干姜在质量控制方面的文献报道很少。因此, 本研究利用薄层扫描法建立了干姜中 6-姜醇的含量测定方法。方法学考察结果表明: 该法简便、准确, 具有良好的重现性。同时对同一产地不同批号干姜中 6-姜醇的含量进行了测定, 表明此法可作为干姜质量控制中定量的依据。

1 仪器与试剂

瑞士 CAMAG TLC SCANNER III (包括 winCATS 薄层扫描软件); Linomat 5 自动点样仪 (CAMAG, 瑞士); Automated Multiple Development Chamber (CAMAG, 瑞士); AG258 电子天平 (METTLER TOLEDO, 瑞士)。

薄层板为 Merck HPTLC plates silica gel 60F₂₅₄, 规格 20 cm × 10 cm, 105 °C 下活化 30 min, 置干燥器内冷却、备用。

6-姜醇对照品 (10.17 mg/mL, 溶剂为丙酮) 由日本松蒲药业株式会社提供; 干姜 (湖南怀化产, 批号: 20021221, 20021223, 20021229) 由海南医学院附属医院提供, 经湖南中医学院生药教研室周天达教授鉴定为姜科姜属植物姜 *Z. officinale* Rosco. 的干燥根茎, 其含水量分别为 9.2%、8.9%、9.0% (甲苯法测定); 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备: 精密量取 6-姜醇对照品 1.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用丙酮稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备: 取干姜粉末 (过 100 目), 适量, 混匀, 精密称定 1.0 g, 加入 15 mL 丙酮, 室温

浸泡 2 h, 超声 15 min, 滤纸滤过, 少量丙酮洗涤残渣, 滤液和洗涤液置 25 mL 量瓶中, 用丙酮稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.3 薄层色谱: 取批号为 20021221 的干姜粉末适量, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液。取供试品溶液和对照品溶液适量, 分别自动带状点样于高效薄层板上, 点样量均为 10 μ L, 以正己烷-丙酮-醋酸乙酯 (100:70:10) 为展开剂, 展开, 展距 8.0 cm, 取出晾干, 于 254 nm 下可见对照品展开轨迹上有一带状斑点, 其 $R_f=0.67$ 。置薄层扫描仪内对此点在 200~500 nm 内进行光谱扫描, 其最大吸收波长为 280 nm。然后选定 280 nm 对样品展开后的轨迹进行色谱扫描, 发现在与对照品同一 R_f 值处, 有一吸收峰, 峰形较为对称, 且与前后峰的分离度分别为 1.5 和 1.9, 于是对此色谱峰在 200~500 nm 内进行光谱扫描, 结果表明: 对照品与样品中此斑点的光谱图一致, 为 6-姜醇的吸收。由此表明: 在上述色谱条件下, 6-姜醇与其他成分的分离效果好, 干扰少, 可用于含量测定。

2.4 扫描条件的选择: 在上述展开后的高效薄层板上, 对 6-姜醇对照品斑点和供试品中对应斑点在 200~500 nm 波长进行光谱扫描, 结果表明: 两者的吸收光谱完全一致, 且均在 280 nm 波长处有最大吸收, 在 370 nm 波长处几无吸收, 故选定测定波长为 $\lambda_s=280$ nm, 参比波长为 $\lambda_R=370$ nm。采用双波长反射法线性扫描, 并使用线性参数自动校正和自动空白校正。

2.5 标准曲线的制备: 吸取对照品溶液适量, 在高效薄层板上进行带状点样, 点样量分别为 2、4、6、8、10 μ L, 每个点样量分别点样两次, 依法展开, 扫描测定。以峰面积积分值 (Y) 为纵坐标, 6-姜醇为横坐标 (X), 得回归方程为 $Y=1\,682.654 X+1\,631.812$, $r=0.999\,4$, 结果表明: 6-姜醇在 2.0~10.2 μ g 与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.6 稳定性试验: 吸取 6-姜醇对照品溶液和样品

收稿日期: 2004-01-14

作者简介: 袁干军 (1974—), 男, 湖南株洲人, 药学硕士, 质量专业技术人员职业资格 (中级), 研究方向为天然药物的研发及新药质量标准的研究与制定。Tel: (0898) 31350784 E-mail: yuanganjun@163.net

溶液适量,分别自动点样于高效薄层板上,点样量分别为 5、8 μL ,依法展开,分别在 0、1、2、3、4、5 h 处扫描测定,峰面积积分值的 RSD 分别为 1.0%、1.4%,表明测定结果在 5 h 内稳定。

2.7 精密度试验:吸取适量 6-姜醇对照品溶液,在同一块薄层板上,分别自动带状点样于高效薄层板上,共 6 点,点样量均为 5 μL ,依法展开,扫描测定,峰面积积分值的 RSD 为 1.1%;对同一斑点连续 6 次扫描,结果显示峰面积积分值的 RSD 为 0.9%;另取 5 块板如上法试验,得异板间峰面积积分值的 RSD 为 2.6%。

2.8 重现性试验:取批号为 20021221 的干姜末样品 6 份,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱及扫描条件,采用外标两点法测定,结果表明其平均质量分数为 14.36 mg/g, RSD 为 1.5%。

2.9 回收率试验:精密称定已知含量(批号 20021221)的干姜末样品 6 份,分别精密加入定量 6-姜醇对照品,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,并与对照品溶液一同点样于高效薄层板上,供试品溶液点样量为 5 μL ,对照品溶液为 5、7 μL ,依法展开,扫描测定,结果平均回收率为 99.6%, RSD=1.9% ($n=6$)

2.10 样品含量测定:取干姜末 3 批(批号分别为 20021221、20021223、20021229),按 2.2 项下方法制备供试品溶液,在同一块高效薄层板上分别与对照品溶液自动交叉带状点样,供试品溶液的点样量为 8 μL ,每个样品分别点样 4 次,对照品溶液的点样量为 4、8 μL ,分别点样 3 次,共 18 个点。按 2.3 项下展开,扫描测定供试品和对照品溶液的峰面积积分值,用外标两点法计算,结果见表 1。

3 讨论

3.1 薄层扫描法中,线性扫描较锯齿扫描重现性差,常适用于规则的圆形斑点或带状斑点的扫描。本

表 1 6-姜醇的含量测定结果 ($n=4$)

Table 1 Determination of 6-gingerol ($n=4$)

样品批号	6-姜醇/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
20021221	14.37	1.5
20021223	14.55	1.3
20021229	15.89	1.8

研究通过使用高效薄层板和带状点样,使得展开后的斑点均呈狭窄的带状,并且通过仪器的自动化(点样、展开、扫描、空白校正、线性参数校正),尽量使操作过程标准化,减少了板间差异及人、环境因素对测定结果的影响,结果表明重现性较好。

3.2 干姜姜辣素类成分中,各成分的差异较小,运用普通的薄层板和点样方式难以有效的消除其他成分的干扰,Connell 等^[4]和 Sane 等^[5]报道过其薄层情况,后者运用的是高效薄层板,分离效果比前者用的普通薄层板好,本研究在后者的基础上,通过对展开系统的优化及各种展开系统展开后分离效果的比较,选择了以正己烷-丙酮-醋酸乙酯(100:70:10)为展开剂,通过全自动带状点样,展开后进行色谱扫描,结果表明 6-姜醇与其他成分的分离效果好,峰形较对称,可用于含量测定。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [2] Huang X S, Wang J H, Zhang X F. Determination of the pungent principles in ginger powder, ginger skin and baked ginger [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30 (6): 423-425.
- [3] Jiang Z T, Li R. Chemical content and advanced research of gingerols [J]. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 1998, 19 (1): 7-10.
- [4] Connell D W, McLachlan R. Natural pungent compounds. IV. Examination of the gingerols, shogaols, paradols, and related compounds by thin-layer and gas chromatography [J]. *J Chromatog*, 1972, 67(1): 29-35.
- [5] Sane R T, Phadke Madhura, Hiji P S, et al. Geographical variation study on gingerol (a pungent principle from *Zingiber officinal*) and ginger oil, using HPTLC technique and accelerated stability study on gingerol from *Zingiber officinale* using HPTLC method [J]. *Indian Drugs*, 1998, 35(1): 37-44.

《中草药》杂志被确认为允许刊载处方药广告的第一批医药专业媒体

据国家药品监督管理局、国家工商行政管理局和国家新闻出版总署发布的通知,《中草药》杂志作为第一批医药专业媒体,允许发布“粉针剂、大输液类和已经正式发文明确必须凭医生处方才能销售、购买和使用的品种以及抗生素类的处方药”广告。

电话:(022)27474913 23006821 传真:23006821 联系人:陈常青