

富集。实验分别考察了预进水和乙腈对富集效果的影响。结果表明: 在实验电泳条件下, 预进水和乙腈时, 与常规电迁移进样相比, 检测灵敏度分别提高 400、250 倍。故选择水为预进溶液。

进样时间的长短主要影响进样量的大小, 从而影响富集效果。实验考察了进样时间在 20 ~ 40 s 对富集效果的影响。结果表明: 随着进样时间的增加, 峰高明显增加, 在 30 s 之前无减缓趋势, 继续增加进样时间, 峰高不再增加, 峰展宽明显, 柱效降低, 而不利于定量测定, 故选择进样时间为 30 s。

实验考察了在 60 mmol/L 磷酸二氢钠 (pH 6.0)–乙腈 (8:2) 缓冲体系下, 不同进样电压 (8、10、12、14、16 kV) 对富集效果的影响。结果表明: 峰高随进样电压的增加而增高, 但是随着进样电压的增大, 组分保留时间减小, 而乌头碱峰与样品中其他组分分离度减小, 不利于分离测定。当进样电压为 12 kV 时, 乌头碱峰峰形良好, 各组分均完全分开, 故选择最佳进样电压为 12 kV。

3.2 提取条件的选择: 乌头碱的提取常采用冷浸法^[7]和超声提取法^[5], 但提取的效果不尽相同。由于乌头碱为亲脂性生物碱, 并且对热很不稳定^[8], 因此实验利用生物碱的碱性, 加酸冰浴超声提取 40 min 使生成盐溶于水, 加乙醚萃取去除脂溶性杂质, 再碱化, 用乙醚萃取, 去除水溶性杂质。该法效果良

好, 使待测组分处无干扰。同时采用冰浴超声提取既防止成分遇热分解又大大提高了提取效率。

本实验建立了毛细管电泳场放大富集技术快速检测温胃舒颗粒中痕量有效毒性成分乌头碱的方法。该方法样品预处理简单、分离效率高、分析速度快、灵敏度高、线性范围宽、实验成本低、环境污染小。检测灵敏度与常规进样相比提高 400 倍, 达到了文献报道的高效液相色谱法^[6]的水平且有较高的分离选择性。

参考文献:

- [1] 符华林. 我国乌头属药用植物的研究概况[J]. 中药材, 2004, 27 (2): 149-152
- [2] 姚志凌, 李明辉. 分光光度法测定风湿定胶囊中乌头碱含量[J]. 中国药业, 2007, 16 (5): 22-23
- [3] 李焕荣, 张荣华, 崔健, 等. 薄层扫描法测定镇痛宁注射液中的乌头碱的含量[J]. 中草药, 1996, 27 (1): 58-59
- [4] 张晓宏, 周莉, 杨龙辉, 等. 血宝胶囊的薄层色谱鉴别及乌头碱的限量控制[J]. 华西药学杂志, 2001, 16 (6): 451-454
- [5] 刘刚, 王辉, 周本宏. 高效液相色谱法测定思康达胶囊中乌头碱的含量[J]. 医药导报, 2005, 24 (12): 1170-1171
- [6] Wang Z H, Wen J, Xing J B, et al. Quantitative determination of diterpenoid alkaloids in four species of *Aconitum* by HPLC [J]. *Pharm Biomed Anal*, 2006, 40(4): 1031-1034
- [7] 朱瑞龙, 景明, 柴国林, 等. HPLC 测定附子理中丸双酯型乌头碱含量[J]. 中成药, 1996, 18(10): 13-14
- [8] 孙毅坤, 赵惠萍, 周富荣. HPLC 测定肺康膏中次乌头碱的含量[J]. 中成药, 1999, 21(12): 626-628

HPLC 法测定小半夏汤中 6-姜酚和 6-姜醇

张科卫 吴皓*, 崔小兵

(南京中医药大学, 江苏 南京 210029)

摘要: 目的 研究以 HPLC 法同时测定小半夏汤中 6-姜酚、6-姜醇的方法。方法 采用 Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (65:35); 检测波长: 280 nm; 柱温: 30 ℃; 体积流量: 0.8 mL/min。结果 6-姜酚在 1.273~11.457 μg 与峰面积呈现良好的线性关系, $r = 0.9999$; 6-姜醇在 0.444~3.996 μg 与峰面积呈现良好的线性关系, $r = 0.9998$ 。平均加样回收率 ($n = 5$): 6-姜酚为 99.82%; 6-姜醇为 100.30%。结论 本法操作简便, 结果可靠, 重现性好, 可作为小半夏汤质量控制的方法。

关键词: 小半夏汤; 6-姜酚; 6-姜醇; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)10-1579-03

小半夏汤出自张仲景的《金匱要略》, 虽然仅由半夏、生姜两味药组成, 却有着很好的止呕效果, 所

以历代医家对其倍加推崇, 称其为“呕家圣剂”。目前对其的研究主要集中在药理药效方面^[1]。本课题

* 收稿日期: 2008-12-10

基金项目: 南京中医药大学青年科技创新基金项目 (05XZR08)

作者简介: 张科卫 (1971—), 女, 博士研究生, 助理研究员, 主要从事中药复方与炮制研究。

Tel: (025) 86798269 E-mail: kewei_31@163.com

* 通讯作者 吴皓

组前期的研究发现,小半夏汤水溶性部位中含有多种具强烈生理活性的核苷类物质^[2]。该方中,生姜虽为臣药,但现代研究表明,其中所含的姜酚、姜醇类物质为其止呕主要活性物质^[3]。因此本实验对该方中 6-姜酚和 6-姜醇进行了测定,为全面研究小半夏汤作进一步的探索。

1 仪器、试剂与药品

Waters2690 型高效液相色谱仪,996PDA 检测器,Millennium 32 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);6-姜酚、6-姜醇对照品为由本实验室分离纯化制得的黄色油状物,经 UV、IR、MS、NMR 等结构测定,并经 HPLC 检测为单一成分,质量分数达到 99% 以上;小半夏汤由南京中医药大学中医药研究院提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件的确定

2.1.1 测定波长的选择:采用紫外区全波长扫描的方法,对 6-姜酚和 6-姜醇的最大吸收波长进行研究,结果见图 1。发现两者均在 280 nm 处呈现最大吸收,因此确定了在 280 nm 进行测定的方法。

2.1.2 色谱条件:Kromasil C₁₈ 柱(250 mm × 4.6

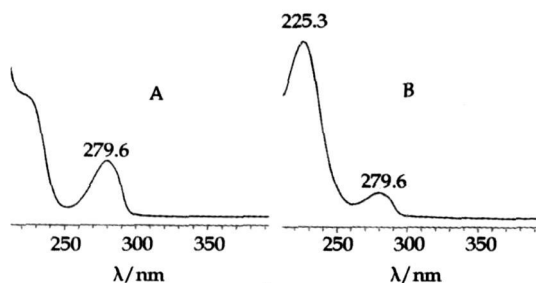


图 1 6-姜酚(A)和 6-姜醇(B)的紫外光谱图

Fig 1 UV Spectrum of 6-gingerol (A) and 6-shogaol (B)

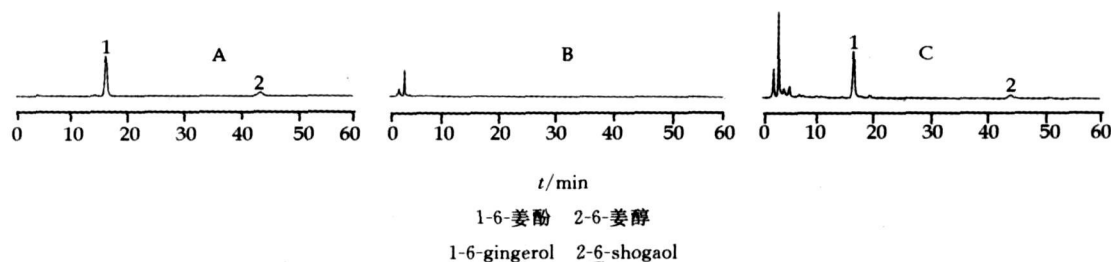


图 2 对照品(A)、阴性样品(B)和小半夏汤(C)的 HPLC 色谱图

Fig 2 HPLC Chromatograms of reference substances (A), negative sample (B), and Xiaobanxia Decoction (C)

2.5 精密度试验:取供试品溶液(批号 20071016)1 份,重复进样 6 次,进样量 10 μL,记录所测各组分峰面积积分值,计算,结果 6-姜酚、6-姜醇峰面积积分值的 RSD 分别为 1.54%、1.43%。

mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(65:35);检测波长:280 nm;柱温:30 °C;体积流量:0.8 mL/min。理论塔板数以 6-姜酚计不低于 4000,并且 6-姜酚、6-姜醇与其他组分的分离度均大于 1.5。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:分别取减压干燥至恒重的 6-姜酚、6-姜醇对照品适量,精密称定,加甲醇溶解,分别配成含 6-姜酚 6.365 mg/mL、6-姜醇 2.22 mg/mL 的对照品贮备液。

2.2.2 供试品溶液的制备:精密吸取装量差异项下的本品约 40 mL,置 150 mL 分液漏斗中,加入等量无水乙醚,萃取两次,取乙醚层,蒸干,残渣用甲醇溶解,定量转移至 25 mL 量瓶中,定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 线性关系的考察:分别精密吸取含 6-姜酚 6.365 mg/mL、6-姜醇 2.22 mg/mL 的对照品贮备液各 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,制得系列混合对照品溶液。取 10 μL 进样,测定峰面积。以进样质量对峰面积值作图,回归分析,结果 6-姜酚在 1.273 ~ 11.457 μg 有良好的线性关系,回归方程为 $Y = 6.207 \times 10^5 X - 1.998 \times 10^4$, $r = 0.9999$; 6-姜醇在 0.444 ~ 3.996 μg 有良好的线性关系,回归方程为 $Y = 3.273 \times 10^5 X - 2.278 \times 10^4$, $r = 0.9998$ 。

2.4 阴性对照试验:按处方比例制得缺生姜的阴性样品,按供试品溶液的制备项下方法制备阴性样品溶液。按上述色谱条件分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液进样,记录色谱图,见图 2。结果在与对照品色谱相对应处未出现色谱峰。表明按本实验条件,处方中的其他成分不干扰 6-姜酚、6-姜醇的测定。

2.6 重现性试验:取同一批样品(批号 20071016)6 份,制备供试品溶液,依法测定,计算各组分的质量浓度,结果 6-姜酚、6-姜醇质量浓度的 RSD 分别为 0.43%、1.48%。

2.7 稳定性试验: 吸取新配制的供试品溶液(批号 20071016)1 份, 分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 进样, 测定 6-姜酚、6-姜醇的峰面积, 结果其 RSD 分别为 1.56%、1.41%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 回收率试验: 分别精密吸取装量差异项下的批号 20071016 本品约 20 mL, 平行 5 份, 精密加入含 6-姜酚 1.498 mg/mL, 6-姜醇 498 μ g/mL 的混合对照品储备液 5.0 mL, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件进行 HPLC 测定, 计算回收率, 结果 6-姜酚的平均回收率为 99.82%, RSD 为 1.40%; 6-姜醇的平均回收率为 100.30%, RSD 为 1.44%。

2.9 样品测定: 取不同批号的小半夏汤制备供试品溶液。分别取供试品溶液和对照品溶液各 10 μ L 进样测定, 以外标一点法计算质量浓度, 结果见表 1。

3 讨论

由于 6-姜酚、6-姜醇在水中的溶解度很小, 而在醚中和醇中的溶解度较大。因此在制备供试品溶液时, 试验采用乙醚作为萃取溶剂。萃取过程中发现, 用等量乙醚萃取两次即能将该两种成分提取完全。

表 1 小半夏汤中 6-姜酚、6-姜醇的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of 6-gingerol and 6-shogaol in Xiaobanxia Decoction ($n=3$)

批号	6-姜酚/(mg·mL ⁻¹)	6-姜醇/(mg·mL ⁻¹)
20071016	0.372 1	0.122 5
20071018	0.403 2	0.119 3
20071022	0.356 8	0.126 5

目前对于小半夏汤中有效成分的研究不多。本实验采用 HPLC 法对其中的主要活性物质 6-姜酚、6-姜醇进行测定, 为全面研究小半夏汤提供参考, 也为中药复方研究做了一些初步的探索。

参考文献:

- [1] 陈多, 吴春福, 宁卓, 等. 小半夏汤对小鼠小肠推进运动的影响[J]. 中药药理与临床, 2003, 19(2): 6-8
- [2] 张科卫, 梅阳, 吕爱娟, 等. 小半夏汤 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中草药, 2007, 38(10): 1493-1495
- [3] Abdel-Aziz H, Windeck T, Ploch M, *et al*. Mode of action of gingerols and shogaols on 5-HT₃ receptors: Binding studies, cation uptake by the receptor channel and contraction of isolated guinea pig ileum [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 530: 136-145

HPLC法测定厚朴温中汤中山姜素、和厚朴酚、小豆蔻明和厚朴酚

唐倩, 石珊, 赵云丽, 高晓霞, 王新桃, 于治国*

(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 建立同时测定厚朴温中汤中山姜素、和厚朴酚、小豆蔻明及厚朴酚的反相高效液相色谱法。方法 Scienc home C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.5% 醋酸水溶液(75:25); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 检测波长: 294 nm; 进样量: 10 μ L, 按外标法计算。结果 在上述条件下, 山姜素、和厚朴酚、小豆蔻明、厚朴酚分别在 1.14~22.8、0.9~18.0、1.6~3.2、1.9~38 μ g/mL 呈良好的线性关系, 加样回收率分别为 97.7%~100.3%、97.3%~98.7%、90.0%~100.0%、98.6%~99.3%。结论 该方法简便、快速、准确, 可作为厚朴温中汤质量控制的有效方法。

关键词: 厚朴温中汤; 山姜素; 和厚朴酚; 小豆蔻明; 厚朴酚; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)10-1581-03

厚朴温中汤源于《内外伤辨惑论》, 由厚朴、陈皮、甘草、茯苓、草豆蔻、木香、干姜组成, 温中行气, 燥湿除满, 主治脾胃伤于寒湿, 脘腹胀满或疼痛, 不思饮食, 四肢倦怠等症。方中君药厚朴具有下气除满、燥湿消痰功效, 主要成分和厚朴酚与厚朴酚具有镇痛抑菌、抗炎、抗肿瘤等广泛的药理作用^[1,2]。草豆蔻燥湿健脾、温胃止呕^[5], 主要成分小豆蔻明、山姜素能够抗菌、止呕、健脾^[3,4]。现代药理学研究表

明厚朴温中汤用于治疗胃肠痉挛, 十二指肠溃疡, 病毒性肝炎等症具有明显疗效^[5,6]。目前有关其质量控制方面研究报道较少, 且定量指标仅限于厚朴^[7]。本实验以和厚朴酚、厚朴酚、小豆蔻明和山姜素为指标性成分进行了同时测定, 可以更全面、有效地控制厚朴温中汤质量。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(日本岛津公司), 包括 LC-1

* 收稿日期: 2008-12-19

作者简介: 唐倩(1981—), 女, 辽宁沈阳人, 沈阳药科大学药物分析专业硕士研究生, 主要从事中药复方的质量控制研究及药动学研究。Tel: (024) 23986295 E-mail: tangqian8111@163.com

* 通讯作者: 于治国 Tel: (024) 23986295 E-mail: zhiguo-yu@163.com