中图分类号：R917；R927　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2023)12－0076－04
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2023.12.018

高效液相色谱法同时测定干姜配方颗粒中5种成分含量

蒋俊春[1]，孟建升[1]，陈　星[2]，韩知利[1]，肖红伟[3]

（1. 河南省商丘市食品药品检验检测中心，河南 商丘　476001；2. 河南省商丘市食品药品审评查验中心，河南 商丘　476000；3. 中国农业大学工学院，北京　100083）

摘要：目的　建立同时测定干姜配方颗粒中5种成分含量的高效液相色谱法。**方法**　色谱柱为Thermo Syncronis C_{18}柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈－水（梯度洗脱），流速为1.0 mL/min，检测波长为280 nm，柱温为30 ℃，进样量为20 μL。**结果**　姜酮、6－姜酚、8－姜酚、6－姜烯酚、10－姜酚的质量浓度分别在0.508 0～50.80 μg/mL（r=0.999 1）、2.015 0～201.50 μg/mL（r=0.999 9）、0.516 0～51.60 μg/mL（r=0.999 8）、0.603 0～60.30 μg/mL（r=0.999 7）、0.521 0～52.10 μg/mL（r=0.999 3）范围内与峰面积线性关系良好；精密度、稳定性、重复性试验结果的*RSD*均小于2.0%；平均加样回收率分别为96.21%，99.64%，98.85%，98.15%，98.08%，*RSD*分别为1.61%，1.15%，1.34%，1.18%，1.28%（n=6）。**结论**　所建立的方法操作简便，结果准确，重复性好，可用于同时测定干姜配方颗粒中5种成分的含量。

关键词：高效液相色谱法；干姜配方颗粒；姜酮；6－姜酚；8－姜酚；6－姜烯酚；10－姜酚；含量测定

Simultaneous Determination of Five Components in Ganjiang Formula Granules by HPLC

JIANG Junchun[1], MENG Jiansheng[1], CHEN Xing[2], HAN Zhili[1], XIAO Hongwei[3]

(1. Shangqiu Center for Food and Drug Control, Shangqiu, Henan, China 476001; 2. Shangqiu Food and Drug Evalution and Inspection Center, Shangqiu, Henan, China 476000; 3. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing, China 100083)

Abstract: Objective　To establish a high－performance liquid chromatography (HPLC) method for the simultaneous determination of five components in Ganjiang Formula Granules. **Methods**　The chromatographic column was Thermo Synronis C_{18} column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile－water (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 280 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 20 μL. **Results**　The linear ranges of zingerone, 6－gingerol, 8－gingerol, 6－shogaol, 10－gingerol were 0.508 0－50.80 μg/mL (r=0.999 1), 2.015 0－201.50 μg/mL (r=0.999 9), 0.516 0－51.60 μg/mL (r=0.999 8), 0.603 0－60.30 μg/mL (r=0.999 7) and 0.521 0－52.10 μg/mL (r=0.999 3) respectively. The *RSD*s of precision, stability and repeatability tests were all lower than 2.0%. The average recovery rates of the above five components were 96.21%, 99.64%, 98.85%, 98.15% and 98.08% respectively, with *RSD*s of 1.61%, 1.15%, 1.34%, 1.18% and 1.28% respectively (n=6). **Conclusion**　The established method is sample, accurate and repeatable, which can be used for the simultaneous determination of five components in Ganjiang Formula Granules.

Key words: HPLC; Ganjiang Formula Granules; zingerone; 6－gingerol; 8－gingerol; 6－shogaol; 10－gingerol; content determination

中药配方颗粒为传统中药的新剂型，其性味、归经、功效与原中药饮片一致，方便临床随证加减、配方使用，具有无需煎煮、可直接冲服、服用量少、起效迅速、携带方便等优点，相关产业已初具规模。干姜配方颗粒临床应用广泛，但现有质量标准不能满足其发展需求。2020年版《中国药典（一部）》规定了干姜中6－姜辣素的含量测定方法[1]，文献[2]亦有报道。另有文献报道了干姜中6－姜酚、8－姜酚、10－姜酚及6－姜烯酚的含量测定方法[3]。本研究中建立了同时测定干姜配方颗粒中5种成分含量的高效液相色谱法[4－9]。现报道如下。

1　仪器与试药

1.1　仪器

U3000型高效液相色谱仪（美国Dionex公司），AUW220D型电子分析天平（日本Shimadzu公司，精度为0.01 mg）；F－120ST型超声波清洗机（深圳福洋科技集团有限公司）。

1.2　试药

干姜配方颗粒（神威药业有限公司、北京康仁堂药业有限公司、江阴天江药业有限公司，批号分别为19110422，18024491，19072641）；姜酮对照品（批号为Z09A10C94881）、10－姜酚对照品（批号为P20N6F6295）、8－姜酚对照品（批号为P24A10F96114），均购自上海源叶生物科技有限公司，含量均大于98%；6－姜酚对照品（上海麦克林生化科技有限公司，批号为M00118003，含量大于98%）；6－姜烯酚对照品（阿拉丁试剂＜上海＞有限公司，批号为G1915196，含量大于98%）；乙腈为色

第一作者：蒋俊春，女，大学本科，副主任药师，研究方向为中药材干燥技术、中药材与中成药质量控制及食品和药品检验技术，（电子信箱）42540620@qq.com。

谱纯，其余试剂均为分析纯，水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱：Thermo Syncronis C_{18}柱（250 mm × 4.6 mm，5 μm）；流动相：乙腈（A）－水（B），梯度洗脱（0～45 min时18%A→88%A，45～50 min时88%A→100%A，50～60 min时100%A→18%A）；流速：1.0 mL/min；检测波长：280 nm；柱温：30 ℃；进样量：20 μL[10－13]。

2.2 溶液制备

混合对照品溶液：分别取姜酮对照品、8－姜酚对照品、6－姜烯酚对照品和10－姜酚对照品各约10 mg，精密称定，以80%甲醇溶解并准确稀释50倍，得溶液Ⅰ；另称取6－姜酚对照品约20 mg，精密称定，置25 mL容量瓶中，同法制备溶液Ⅱ；将上述2种溶液按1∶1（V/V）混合，制成含此5种成分的混合对照品贮备液，稀释10倍，即得。

供试品溶液[14－15]：取样品细粉0.5 g，精密称定，置锥形瓶中，精密加入80%甲醇50 mL，称定质量，超声（功率300 W，频率40 kHz）提取35 min后，用80%甲醇补足减失的质量，滤过，取续滤液，即得。

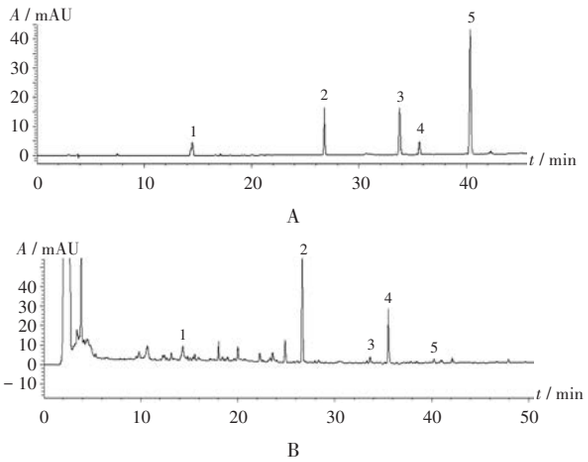
2.3 方法学考察

系统适用性试验：取2.2项下2种溶液各20 μL，按2.1项下色谱条件进样测定，记录色谱图。结果供试品溶液色谱中，在与混合对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰，理论板数按各成分峰计均大于3 000，分离度均大于1.5，基线分离良好。详见图1。

线性关系考察：精密量取2.2项下混合对照品贮备液0.5，2，5，10，15，30，50 mL，分别置100 mL容量瓶中，用80%甲醇定容，摇匀，制成系列混合对照品溶液。各取适量，按2.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积。以待测成分质量浓度为横坐标（X，μg/mL）、峰面积（Y）为纵坐标进行线性回归，结果见表1。

精密度试验：取样品细粉（批号为19072641）适量，按2.2项下方法制备供试品溶液，按2.1项下色谱条件连续进样测定5次，记录峰面积。结果姜酮、6－姜酚、8－姜酚、6－姜烯酚、10－姜酚峰面积的*RSD*分别为1.63%，1.09%，1.37%，1.83%，1.69%（n = 5），表明方法精密度良好。

稳定性试验：精密量取同一供试品溶液（批号为19072641）适量，分别于0，1，2，3，5，10，12 h时按2.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果姜酮、6－姜酚、8－姜酚、6－姜烯酚、10－姜酚峰面积的*RSD*分别为1.85%，1.46%，1.72%，1.36%，1.48%（n = 7），表明供试品溶液在12 h内基本稳定。



1. 姜酮　2. 6－姜酚　3. 8－姜酚　4. 6－姜烯酚　5. 10－姜酚
A. 混合对照品溶液　B. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Zingerone　2. 6－Gingerol　3. 8－Gingerol　4. 6－Shogaol　5. 10－Gingerol
A. Mixed reference solution　B. Test solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

表1 线性关系考察结果（n = 7）

Tab. 1 Results of the linear relation test (n = 7)

待测成分	回归方程	r	线性范围（μg/mL）
姜酮	$Y_1 = 3.421X_1 + 17.340\,0$	0.999 1	0.508 0～50.80
6－姜酚	$Y_2 = 2.042X_2 - 0.964\,2$	0.999 9	2.015 0～201.50
8－姜酚	$Y_3 = 1.908X_3 + 1.088\,0$	0.999 8	0.516 0～51.60
6－姜烯酚	$Y_4 = 3.095X_4 - 1.006\,0$	0.999 7	0.603 0～60.30
10－姜酚	$Y_5 = 5.127X_5 - 4.924\,0$	0.999 3	0.521 0～52.10

重复性试验：取样品细粉（批号为19072641）6份，每份0.5 g，精密称定，按2.2项下方法制备供试品溶液，再按2.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算含量。结果姜酮、6－姜酚、8－姜酚、6－姜烯酚、10－姜酚平均含量的*RSD*分别为1.68%，1.52%，1.71%，1.60%，1.81%（n = 6），表明方法重复性良好。

加样回收试验：取样品细粉（批号为19072641）约0.25 g，精密称定，共6份，分别精密加入2.2项下混合对照品贮备液0.5 mL，按2.2项下方法制备供试品溶液，按2.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算加样回收率，结果见表2。

2.4 样品含量测定

取3批样品各适量，各3份，按2.2项下方法制备供试品溶液，再按2.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算样品含量。结果见表3（－表示未测出）。

3 讨论

供试品溶液制备方法选择：由于该制剂是将处方中的药材加工成流浸膏后再制粒，参考2020年版《中国药典（一部）》干姜含量测定项下方法同时提取5种成

表2 加样回收试验结果（$n=6$）

Tab. 2 Results of the recovery test ($n=6$)

待测成分	取样量（g）	样品含量（mg）	加入量（mg）	测得量（mg）	回收率（%）	$\bar{X}$（%）	*RSD*（%）
姜酮	0.256 3	0.016 23	0.050 80	0.066 34	98.64		
	0.254 2	0.017 13	0.050 80	0.065 94	96.08		
	0.251 6	0.015 94	0.050 80	0.065 28	97.13	96.21	1.61
	0.249 6	0.015 81	0.050 80	0.064 62	96.08		
	0.256 2	0.016 23	0.050 80	0.064 57	95.16		
	0.251 8	0.015 95	0.050 80	0.063 79	94.17		
6-姜酚	0.257 1	0.265 8	0.201 5	0.467 5	100.10		
	0.256 3	0.265 0	0.201 5	0.463 8	98.66		
	0.247 9	0.256 3	0.201 5	0.454 6	98.41	99.64	1.15
	0.260 1	0.268 9	0.201 5	0.468 7	99.16		
	0.251 8	0.260 4	0.201 5	0.461 8	99.95		
	0.255 7	0.264 4	0.201 5	0.469 0	101.54		
8-姜酚	0.250 9	0.018 26	0.051 60	0.068 27	96.92		
	0.247 1	0.017 98	0.051 60	0.068 60	98.10		
	0.253 3	0.018 43	0.051 60	0.069 49	98.95	98.85	1.34
	0.250 7	0.018 24	0.051 60	0.069 42	99.19		
	0.251 8	0.018 32	0.051 60	0.070 40	100.93		
	0.250 1	0.018 20	0.051 60	0.069 28	98.99		
6-姜烯酚	0.246 9	0.128 6	0.060 30	0.186 6	96.19		
	0.254 3	0.132 5	0.060 30	0.192 3	99.17		
	0.252 0	0.131 3	0.060 30	0.190 0	97.35	98.15	1.18
	0.246 7	0.128 5	0.060 30	0.188 1	98.84		
	0.250 8	0.130 7	0.060 30	0.190 4	99.00		
	0.250 3	0.130 4	0.060 30	0.189 7	98.34		
10-姜酚	0.250 9	0.123 8	0.052 10	0.173 8	95.97		
	0.251 3	0.124 0	0.052 10	0.175 6	99.04		
	0.250 8	0.123 7	0.052 10	0.175 2	98.85	98.08	1.28
	0.247 6	0.122 1	0.052 10	0.172 8	97.31		
	0.248 2	0.122 4	0.052 10	0.173 5	98.08		
	0.251 7	0.124 2	0.052 10	0.175 9	99.23		

表3 样品含量测定结果（mg/g，$n=3$）

Tab. 3 Results of content determination of five components in samples (mg/g, $n=3$)

批号	姜酮	6-姜酚	8-姜酚	6-姜烯酚	10-姜酚
19110422	1.214	2.907	-	2.161	1.027
18024491	1.025	10.540	0.649	4.698	0.295
19072641	0.063	1.034	0.073	0.521	0.493

分，预试验中对提取溶剂、方法、时间进行了考察，分别用50%甲醇、80%甲醇、甲醇回流提取和超声提取，经比较，采用80%甲醇超声提取35 min，操作简便，有效成分含量最高。故选择80%甲醇超声35 min作为供试品溶液的提取方法。

色谱条件选择：同时测定5种成分色谱条件的关键为流动相。预试验中流动相考察了乙腈-水（62∶38，55∶45，*V*/*V*），乙腈-甲醇-水（40∶5∶55，*V*/*V*/*V*）、乙腈-甲醇-磷酸水溶液（45∶5∶50，*V*/*V*/*V*），发现以乙腈-水为流动相时分离效果相对较好，但仍有欠缺，后续考察发现以本研究中流动相条件梯度洗脱时，基线平稳，各指标成分峰形良好。

样品测定结果比较：本研究中采用了3个厂家的干姜配方颗粒样品，结果显示，样品中各成分的含量差异较大，6-姜酚含量均较高，可能原因为不同企业使用的干姜产地不同和不同厂家提取工艺有差异；有1个厂家1批样品中未检出8-姜酚，可能原因是该企业提取工艺与另外2家存在差异。鉴于中药是通过多指标成分发挥疗效，在生产中应尽可能关注所有成分的变化趋势。故建议在干姜配方颗粒的质量标准中增加姜酮含量测定检验项目，以进一步完善其质量标准，保证用药安全有效。

综上所述，本研究中所建立的方法操作简便，结果准确，重复性好，可用于同时测定干姜配方颗粒中5种成分的含量。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：15.

[2] 潘海霞，王晓琦，武红娜. 高效液相色谱法测定附子理中丸中6-姜辣素的含量[J]. 食品与药品，2020，22(3)：219-222.

[3] 高伟城，王小平，沈晓华，等. 不同干姜炮制品姜酚类成分含量的研究[J]. 中医临床研究，2020，34(12)：22-25.

[4] 宁二娟，李 建，王 韬，等. HPLC法测定不同产地生姜中姜酚类成分的含量[J]. 河南科学，2018，36(4)：519-523.

[5] CHA J, KIM CT, CHO YJ. Optimizing extraction conditions for functional compounds from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) using response surface methodology[J]. Food Sci Biotechnol, 2020, 29(3): 379-385.

[6] 王红芯，应光耀，孔维军，等. 生姜及其炮制品中姜辣素的研究进展[J]. 中南药学，2017，15(3)：324-328.

[7] YOU H, IRELANDA B, MOESZINGERA M. Determination of bioactive nonvolatile ginger constituents in dietary supplements by a rapid and economic HPLC method: Analytical method development and single-laboratory validation[J]. Talanta, 2019, 194(3): 795-802.

[8] 高伟城，王小平，沈晓华，等. 基于化学模式识别技术的不同干姜炮制品质量比较[J]. 中国现代中药，2021，23(5)：861-867.

[9] 王志荣，黎志立，李明艳，等. 福建鲜姜、干姜中主要成分比较[J]. 中成药，2020，42(8)：2230-2236.

[10] 张文焕，刘平香，邱 静，等. 超高效液相色谱-串联质谱法