



HPLC 法测定姜黄中姜黄素类化合物的含量

欧海军¹, 张星海², 朱升¹, 陈爱新¹

(1. 浙江瑞康生物技术有限公司, 浙江 宁波 315800; 2. 浙江经贸职业技术学院, 浙江 杭州 310018)

摘要: 采用高效液相色谱法测定姜黄中主要姜黄素类化合物, 色谱柱为 C₁₈, 流动相为乙腈和 0.5% 冰醋酸, 采样梯度洗脱, 检测波长为 425 nm。结果表明, 姜黄样品中姜黄素类化合物的加样回收率分别为 99.87%、99.91%、99.51%, RSD 分别为 0.75%、1.217%、1.06%。本方法对测定姜黄中主要的姜黄素类化合物快速简单, 重复性好, 为植物提取行业的含量测定提供依据。

关键词: 姜黄; 姜黄素类化合物; 高效液相色谱法

中图分类号: TQ 461; R 284.1 文献标识码: A 文章编号: 1671-3206(2011)09-1664-02

Determination of curcuminoids content in *Curcuma longa* L. by HPLC

OU Hai-jun¹, ZHANG Xing-hai², ZHU Sheng¹, CHEN Ai-xin¹

(1. Zhejiang Newcovery Biotech Co., Ltd., Ningbo 315800, China;

2. Zhejiang Economic & Trade Polytechnic, Hangzhou 310018, China)

Abstract: The curcuminoids content in *Curcuma longa* L. was determined by HPLC with gradient elution with vensil XBP C₁₈ column (4.6 nm × 150 nm, 5 μm), mobile phase of acetonitrile and 0.5% acetic acid. The detection wavelength was 425 nm. Results showed curcumin turmeric sample compounds recoveries were 99.87%, 99.91%, 99.51%, RSD were 0.75%, 1.217%, 1.06%. The method of determination of the major turmeric curcuminoids compounds was fast, simple and reproducible for the determination of plant extracts and provided the basis for the industry.

Key words: *Curcuma longa* L.; curcuminoids; HPLC

姜黄为姜科姜黄属植物姜黄的干燥根茎。在国内, 已确证姜黄属植物共有 12 种。中医认为姜黄具有抗炎、抗氧化、抗癌、清除自由基、降血脂和保肝等活性^[1]。中药姜黄的主要活性成分为姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素, 统称为姜黄素类化合物^[2-3]。目前植物提取物行业姜黄提取物中姜黄素的含量一般指这 3 种姜黄素的总量, 但是缺乏相应的检测方法, 建立简便可行的检测方法更重要。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

姜黄素对照品(批号: 110823-201004), 中国药品生物制品检定所; 去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素对照品(纯度 > 99.0%), 上海同田生物技术有限公司; 姜黄, 购自亳州药材市场(四川产)及昆明

中药材市场(缅甸产); 姜黄提取物, 自制; 乙腈, 色谱纯。

LC-10AVP 高效液相色谱仪; SPD-10AVP 紫外检测器; SIL-10ADVP 自动进样器; KQ-100DE 型数控超声波清洗器; DFI-200 中药粉碎机。

1.2 色谱条件^[4-7]

色谱柱 Vensil XBP C₁₈ (4.6 nm × 150 nm, 5 μm), 流动相乙腈-0.5% 冰醋酸, 采样梯度洗脱 0~9 min, 乙腈浓度由 44% 升到 52%; 9~15 min, 乙腈浓度为 62%; 15~30 min, 乙腈浓度降到 44%; 流速 1.0 mL/min, 柱温 35 °C, 检测波长为 425 nm。

1.3 对照品溶液的制备

精密称取姜黄素类化合物对照品适量, 加甲醇制成 0.4 mg/mL 的溶液, 分别吸取上述溶液各 5 mL, 加甲醇定容至 25 mL, 作为姜黄素类化合物对

收稿日期: 2011-06-01 修改稿日期: 2011-07-13

作者简介: 欧海军(1984-)男, 湖南衡阳人, 浙江瑞康生物技术有限公司助理工程师, 从事天然产物研究与开发。电话: 0574-86868210, E-mail: ouhaijun@126.com

照品溶液。

1.4 姜黄原料的处理^[8-9]

取姜黄样粉碎,过 60 目筛。称取 2.0 g 样品,置于三角瓶中,加入 75% 乙醇 80 mL,超声波提取 0.5 h。过滤,定容至 100 mL,准确吸取 10 mL 样液稀释到 100 mL,作为待测液。

2 结果与讨论

2.1 线性关系考察

精密吸取姜黄素类化合物对照品溶液(0.08 mg/mL) 1, 3, 5, 7, 10 mL,分别加甲醇,定容至 10 mL。在上述色谱条件下重复进样 2 次,每次 10 μL。根据峰面积积分值,以峰面积积分值的平均值和浓度进行回归处理,得到双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素的回归方程,分别为 $Y = 2305.1x - 480.51, R^2 = 0.9999$; $Y = 2455.1x - 554.88, R^2 = 0.9999$; $Y = 2391.7x - 534.26, R^2 = 0.9999$ 。姜黄素类化合物浓度在 0.008 ~ 0.08 mg/mL 范围内与吸收度呈良好的线性关系。

2.2 精密度实验

精密吸取姜黄素类化合物对照品溶液,测定其峰面积积分值,重复 5 次, RSD 分别为 0.93%, 1.15%, 0.87%。

2.3 稳定性实验

精密吸取姜黄素类化合物对照品溶液 10 μL,按色谱条件,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 测定峰面积,

结果 RSD 分别为 1.06%, 0.89%, 1.24% (n = 5), 表明 10 h 内稳定。

2.4 重复性实验

取缅甸产姜黄原料各 5 份,分别按供试品方法处理后,进行含量测定,并对所得数据进行处理,结果姜黄素类物质平均含量分别为 1.63%, 1.02%, 1.72%, RSD 分别为 1.68%, 1.96%, 1.23%, 样品色谱图见图 1。

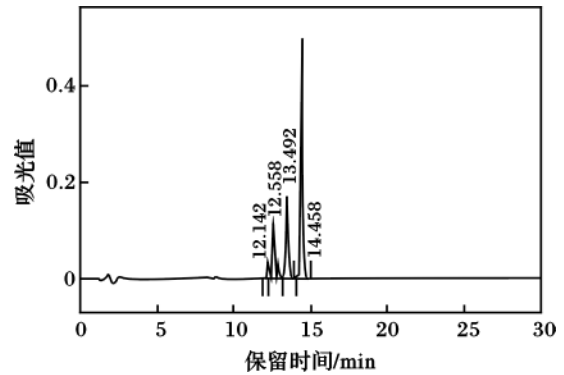


图 1 样品色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of sample

2.5 加样回收率实验

取已知含量姜黄提取物样品 10.0 mg,加甲醇,定容至 100 mL。按照姜黄原料处理方法制备供试品 2 个,分别加入姜黄素混合对照品液(0.08 mg/mL) 10 mL,进行测定,计算加样回收率,结果见表 1。

表 1 回收率实验(n=3)

Table 1 Experiments of recoveries

有效成分	样品名称	含量/mg	测得含量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
	姜黄提取物	3.347 2	4.141 2	99.82		
双去甲氧基姜黄素	姜黄原料(四川)	1.112 8	1.903 6	99.17	99.87	0.75
	姜黄原料(缅甸)	3.487 4	4.310 7	100.67		
	姜黄提取物	2.126 1	2.895 5	98.56		
去甲氧基姜黄素	姜黄原料(四川)	1.173 3	1.982 2	100.76	99.91	1.21
	姜黄原料(缅甸)	2.182 1	2.991 3	100.42		
	姜黄提取物	5.581 7	6.374 8	99.77		
姜黄素	姜黄原料(四川)	2.891 5	3.703 5	100.41	99.51	1.06
	姜黄原料(缅甸)	3.667 1	4.406 9	98.35		

3 结论

本实验通过测定姜黄中姜黄素类化合物的含量,通过 HPLC 法测定其中的单体成分,为姜黄原料及姜黄提取物质量标准提供参考依据。

参考文献:

[1] 王平,章银军,陈小龙. 反相高效液相色谱法测定醇提

姜黄素含量[J]. 浙江工业大学学报, 2004, 32(1): 38-40.

[2] 刘硕谦,刘仲华,黄建安,等. 反向液相色谱法同时测定姜黄药材中 3 个组分的含量[J]. 分析化学研究报告, 2005, 33(3): 309-312.

[3] 白云飞,李海霞,王彩芳,等. 姜黄黄色素的化学成分研究[J]. 药品鉴定, 2010, 7(4): 46-48.

(下转第 1668 页)

表 3 回收率实验结果

Table 3 Results of the recovery experiment

元素	加入的标 物质质量 /%	标准值 /%	测定值 /%	回收率 /%
镉	0.005		0.065	97
	0.010		0.073	101
	0.015	0.062	0.079	102
	0.020		0.081	99
	0.025		0.090	103

由表 3 可知,回收率为 97% ~ 103%。

3 结论

建立了火焰原子吸收法测定油田污水中总镉的测定方法。本方法用硝酸和高氯酸消化处理油田污水样品后,加入硝酸镉和硝酸钾消除磷酸盐、铝盐、铁离子干扰,抑制镉的电离干扰,水溶液直接用火焰原子吸收测定镉的含量。本实验条件易控制,具有简单、快速等优点,测定的线性范围为 0 ~ 10.0 mg/L,加标回收率为 97% ~ 103%,相对标准

偏差为 1.3%,是微量镉测定的良好方法。

参考文献:

- [1] 陈武,尹先清. 涸 12-1 油田钡镉垢防治技术研究[J]. 油田化学, 2006, 23(4): 317-320.
- [2] 杨宗慧. 空气-乙炔火焰原子吸收法测定水中镉[J]. 环境科学导刊, 2007, 26(2): 94-96.
- [3] 中国石油地质勘探专业标准化技术委员会. SY/T5523—2006 油田水分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [4] 中国石油地质勘探专业标准化技术委员会. SY/T5982—2006 原子吸收光谱法测定油气田水中金属元素[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [5] Elwell W J, Gidley J A F. 原子吸收分光光度法[M]. 北京: 科学出版社, 1972: 65-122.
- [6] 武内次夫, 铃木正己. 原子吸收分光光度分析[M]. 中译本. 北京: 科学出版社, 1975.
- [7] 中国国家标准化管理委员会. GB8538—2008 饮用天然矿泉水检验方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

(上接第 1663 页)

- [15] Bulic B, Pickhardt M, Khlistunova I, et al. Rhodanine-based Tau aggregation inhibitors in cell models of tauopathy[J]. Angew Chem, 2007, 46: 9215-9219.
- [16] Zheng J, Liu C, Sawaya M R, et al. Macrocyclic beta-sheet peptides that inhibit the aggregation of a Tau-protein-derived hexapeptide[J]. J Am Chem Soc, 2011, 133: 3144-3157.
- [17] Gamblin T C, Berry R W, Binder L I. Modeling Tau polymerization in vitro: A review and synthesis[J]. Biochemistry, 2003, 42: 15009-15017.
- [18] Congdon E E, Kim S, Bonchak J, et al. Nucleation-dependent Tau filament formation: The importance of dimerization and an estimation of elementary rate constants[J]. J Biol Chem, 2008, 283: 13806-13816.
- [19] Brunden K, Trojanowski J Q, Lee V M Y. Evidence that non-fibrillar Tau causes pathology linked to neurodegeneration and behavioral impairments[J]. J Alzheimer's Dis, 2008, 14: 393-399.

(上接第 1665 页)

- [4] 国家药典委员会. 中国药典[M]. I 部, 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [5] 卞正, 陆兔林, 毛春芹, 等. 莪术中不同饮片中姜黄素含量的测定[J]. 南京中医药大学学报, 2009, 24(4): 283-285.
- [6] 徐帅, 胡德禹. HPLC 法测定通络胶囊中姜黄素、脱甲氧基姜黄素、双脱甲氧基姜黄素的含量[J]. 河南化工, 2010, 27(5下): 3-4.
- [7] 杨企铮, 刘桂敏. 反相高效液相色谱法测定姜黄素含量[J]. 中草药, 1995(2): 76.
- [8] 李明, 周欣, 赵超, 等. HPLC 同时测定姜黄中 3 种姜黄素的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(11): 1810-1814.
- [9] 邵红, 刘宁, 程慧, 等. 咖喱粉中姜黄素检测样品的预处理方法研究[J]. 中国调味品, 2010(2): 49-51.