第 24 卷 第 2 期　　分析测试学报　　Vol. 24 No. 2
2005 年 3 月　　FENXI CESHI XUEBAO(Journal of Instrumental Analysis)　　86～88

姜黄超临界提取物的高效液相色谱分析

杨承鸿，向智敏，姚煜东，金　波，刘汉槎

(广州美晨药业有限公司，广东 广州 510075)

摘　要：用液相色谱 - 质谱和紫外 - 可见光谱对姜黄超临界提取物中的 3 种主要成分进行了定性分析，用高效液相色谱进行了定量分析。实验条件：用 Hypersil C_{18} 为分离柱，甲醇 - 水(体积比 40 ∶60)为流动相，检测波长 428 nm，柱温 40 ℃；姜黄素进样量在 0.12～1.2 μg 范围内与峰面积线形关系良好(r = 0.999 4)，平均回收率 102 %，重现性的 RSD 为 1.74 %(n = 6)。分析结果表明超临界 CO_2 萃取的姜黄提取物中含对二脱甲氧基姜黄素、脱甲氧基姜黄素和姜黄素，姜黄提取物中的总姜黄素含量约为 90 %。

关键词：姜黄；超临界提取；高效液相色谱；高效液相色谱 - 质谱

中图分类号：O657.72；O657.63　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1004 - 4957(2005)02 - 0086 - 03

Identification of Curcuminoids in Supercritical CO_2 Extract from *Curcuma longa* L. by High Performance Liquid Chromatography

YANG Cheng-hong, XIANG Zhi-min, YAO Yu-dong, JIN Bo, LIU Han-cha

(Guangzhou Masson Pharmaceutical Co. Ltd., Guangzhou 510075, China)

Abstract: HPLC, UV - vis adsorption spectrum and HPLC - MS were employed to analyze the supercritical CO_2 extract of *Curcuma longa* L. The chromatographic separation was performed using Hypersil BDS C_{18} with an eluent consisting of 40 % methanol - 60 % water and the eluate was monitored at wavelength of 428 nm. The calibration curve was linear in the range of 0.12～1.2 μg of lomefloxacin with r = 0.999 4. The average recovery of spiked samples for lomefloxacin was 102 % while the relative standard deviation was 1.74 % (n = 6). Experimental results showed that curcumin, desmethoxycurcumin and bismethoxycurcumin were contained in the supercritical CO_2 extract of *Curcuma longa* L. More than 90 % of total curcuminoids was identified in the supercritical CO_2 extract of *Curcuma longa* L.

Key words: *Curcuma longa* L.; Supercritical CO_2 extract; High performance liquid chromatography; HPLC - MS

姜黄为姜科植物姜黄(*Curcuma longa* L.)的干燥根茎，产于亚洲。我国的主要产区为四川、福建、广东、广西和江西等地。姜黄具有破血行气、通经止痛的功能，被用于治疗胸胁刺痛、风湿疼痛等。姜黄也被大量用作天然食用色素和香料，在国外还被作为保健品使用。现代医学研究证明，姜黄提取物具有降血压、降血脂、利胆、抗菌、抗炎和抗氧化等作用[1,2]。姜黄含姜黄素和挥发油，其中具有降血脂、抗动脉粥样硬化的有效成分为总姜黄素，包括二脱甲氧基姜黄素、脱甲氧基姜黄素和姜黄素（以下分别简称为化合物 a、b 和 c)。图 1 是这 3 种姜黄素的分子结构式。

由于天然植物中的有效成分含量较低，并且含量随品种、产地、收获季节和储存时间的长短而有很大的不同；现代医药工业又要求药品中的有效成分含量高、质量稳定，因此只有采用新的提取技术才有可能实现。从姜黄中提取总姜黄素可以采用有机溶剂萃取，但得率低，并且得不到可作为食用香料和药物的姜黄精油。我们采用超临界二氧化碳提取技术，不仅得到了姜黄素含量较高的姜黄提取物，还得到了姜黄精油，现已用 200 L 的超临界装置实现了工业化生产。为此我们

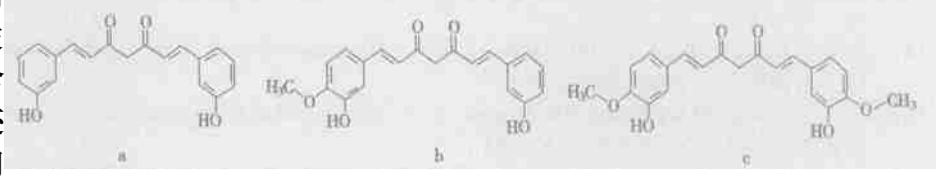


图 1　二脱甲氧基姜黄素(a)、脱甲氧基姜黄素(b)及姜黄素(c)的化学结构

Fig. 1　Chemical structure of bismethoxycurcumin(a), desmethoxycurcumin(b) and curcumin(c)

收稿日期：2004 - 03 - 22；**修回日期**：2004 - 11 - 28

作者简介：杨承鸿(1973 -)，女，广东广州人，工程师，Tel：020 - 37606722，E - mail：chenghong - y@163.com

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

建立了姜黄超临界提取物中姜黄素的高效液相色谱分析方法, 目前尚无这方面的报道[3~7]。

1　实验部分

1.1　试剂与原料

姜黄素标准物(河北神威药业有限公司提供); 甲醇(广州化学试剂厂), 分析纯; 姜黄原料(本地药材市场所购)。

样品提取: 0.5、1、20 和 200 L 超临界提取装置(广州美晨高新分离技术有限公司)。姜黄原料经粉碎机粉碎至粒度小于 1 mm, 以超临界 CO_2 - 夹带剂处理得姜黄精油和姜黄提取物(姜黄素粉末)。

1.2　色谱分析

HP1100 液相色谱仪(美国惠普公司), 二极管阵列检测器, 检测波长 428 nm, 狭缝宽度 16 nm; LCQ DECA(美国 Finnigan 公司)质谱仪, APCI(正离子); 色谱柱: Hypersil C_{18}(大连依利特科学仪器有限公司), 5 μm ×4.6 mm ×250 mm; 柱温: 40 ℃; 流动相: 甲醇 - 水(体积比 40 ∶60); 流速: 1 mL/ min。

标准溶液: 称取姜黄素标准物约 10 mg, 加入至 100 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解定容至刻度。样品溶液: 分别称取姜黄约 50 mg、姜黄提取物和姜黄精油各约 10 mg, 加入 100 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 溶解摇匀, 其中姜黄溶液经超声波处理 30 min 后过滤, 各进样 10 μL。

2　结果与讨论

2.1　色谱条件的确定

在姜黄和姜黄提取物的分析实验中, 文献[8,9]采用的流动相含醋酸、异丙醇、四氢呋喃等, 本实验采用了甲醇和水为流动相, 用 Hypersil C_{18} 柱, 恒定流速, 分离度较好(图 2)。姜黄精油的分析采用了梯度洗脱, 条件为甲醇 - 水(体积比 40 ∶60) 5 min, 然后在 20 min 内线性增至甲醇 - 水(体积比 80 ∶20), 其余条件不变。

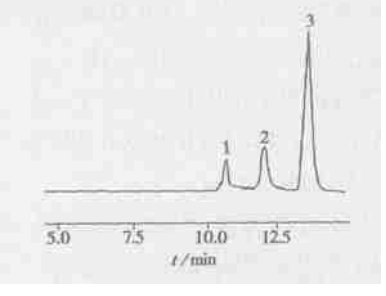


图 2　姜黄提取物的色谱图

Fig. 2　Chromatogram of *Curcuma longa* L. extract

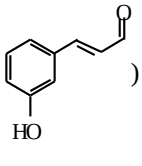
1. bismethoxycurcumin, 2. desmethoxycurcumin, 3. curcumin

2.2　姜黄素的定性

2.2.1　**液相色谱定性**　图 3 为姜黄超临界提取物的色谱图, 在检测波长为 428 nm 时出现 3 个大峰。经与姜黄素标准溶液对照, 确定 3 号峰是姜黄素。由通常的反相色谱出峰规律可知, 姜黄素上的甲氧基数越多出峰越迟, 因此色谱峰 1、2、3 可能是化合物 a、b 和 c。

2.2.2　**紫外光谱定性**　这 3 个化合物在 200~700 nm 范围的吸收光谱几乎相同, 只是吸收峰波长略有不同。色谱峰 1~3 均各有 1 个弱的吸收峰, 波长分别为 247、251 和 264 nm; 还各有 1 个强的吸收峰, 依次是 419、423 和 429 nm。因此可能是取代基不同但共轭结构基本相同的化合物, 这与甲氧基数目不同的 3 种姜黄素类化合物是符合的。

2.2.3　**液相色谱 - 质谱定性**　此 3 种物质的相对分子质量分别是 309.4、339.3 和 369.2, 都相差 30, 相当于各差 1 个甲氧基, 与化合物 a、b 和 c 的理论相对分子质量 308.3、338.3 和 368.4 相吻合; 色谱峰 1、2 的质谱图中出现 m/z = 148.7 和 149.4 的峰, 这可能分别是化合物 a、b 的无甲氧基碎片峰([M + H]$^+$ = 149,



)。色谱峰 2、3 的质谱图中出现了 m/z = 178.8 和

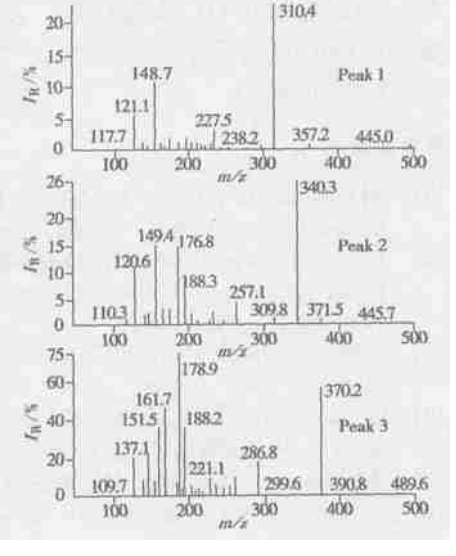
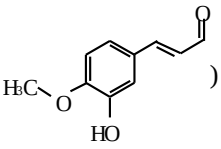


图 3　图 2 中色谱峰 1、2、3 的正离子质谱图

Fig. 3　Positive ion mass spectra for peak No. 1, 2 and 3 in Fig. 2

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

178.9 的峰，这可能分别是化合物 b、c 的含甲氧基碎片峰（[M+H]$^+$ = 179，  ）。这表明色谱峰 1 仅含无甲氧基的苯环结构；色谱峰 2 既有甲氧基、也有无甲氧基的苯环结构；色谱峰 3 仅含有甲氧基的苯环结构，这些与化合物 a、b 和 c 的结构相符合。因此确定色谱峰 1、2、3 分别是二脱甲氧基姜黄素、脱甲氧基姜黄素和姜黄素。

在超临界 CO_2 萃取的精油中仍存在一些姜黄素（t = 8～10 min），在可见光范围内不存在其他色素。在紫外区还有一些大峰（t = 14～23 min），可能与精油的主要成分姜黄酮、姜烯等成分有关。经对姜黄原料、精油和提取物进行色谱分析，发现 3 种姜黄素的相对峰面积有明显的不同（表 1）。在姜黄提取粉末中姜黄素相对含量得到提高，而在精油中则二脱甲氧基姜黄素得到提高，因此超临界提取技术对不同姜黄素的提取能力有差别。

2.3 姜黄素的定量分析

由于无两种脱甲氧基姜黄素标准物，因此以姜黄素标准物的峰面积定量测定样品中的姜黄素。二脱甲氧基姜黄素、脱甲氧基姜黄素参照姜黄素进行定量。

2.3.1 **标准曲线及精密度** 移取姜黄素标准溶液，用甲醇分别稀释到所需浓度。在选定的实验条件下，每个浓度溶液进样 3 次，计算其峰面积的平均值。以进样浓度为横坐标，用 X 表示，单位是 μg/mL；以峰面积为纵坐标，用 Y 表示，单位 mAU×s，姜黄素的线性回归方程为 Y = 3 003 X - 28.19，r = 0.999 4，线性范围 0.12～1.2 μg。

按实验方法连续测定姜黄超临界提取物甲醇溶液 6 次，计算其 RSD 为 1.74%。

2.3.2 **姜黄素的含量测定** 用实验方法进样，分别测得姜黄原料中的总姜黄素含量为 1%～5%，而以超临界 CO_2 萃取的姜黄提取物中的总姜黄素含量为 90%左右（见表 2）。

表 1 姜黄精油和提取产物中姜黄素的相对百分含量（I_R/%）

Table 1 Relative peak areas of supercritical CO_2 extract and essential oil（I_R/%）

	Bismethoxycurcumin 二脱甲氧基姜黄素	Desmethoxycurcumin 脱甲氧基姜黄素	Curcumin 姜黄素
Curcuma longa L.（姜黄原料）	25.1	21.2	53.7
Essential oil（姜黄精油）	32.0	24.7	43.3
Supercritical CO_2 extract（姜黄提取物）	7.1	16.6	76.3

表 2 姜黄原料和提取产物中姜黄素的百分含量（w/%）

Table 2 Percent of *Curcuma Longa* L., its supercritical CO_2 extract and essential oil（w/%）

	Bismethoxycurcumin 二脱甲氧基姜黄素	Desmethoxycurcumin 脱甲氧基姜黄素	Curcumin 姜黄素
Curcuma longa L.（姜黄原料）	1.3	1.1	2.7
Essential oil（姜黄精油）	3.3	2.5	4.4
Supercritical CO_2 extract（姜黄提取物）	2.7	10.1	84.2

参考文献：

[1] MEI Quanxi, BI Huanxin. Handbook of Pharmacological of Modern Chinese Medicine[M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine（梅全喜，毕唤新. 现代中药药理手册[M]. 北京：中国中医药出版社），1998. 490 - 491.

[2] HUANG Taikang. Handbook of Composition and Pharmacological Action of Commoly-used Traditional Chinese Medicine[M]. Beijing: China Press of Medicine Technology（黄泰康. 常用中药成分与药理手册[M]. 北京：中国医药科技出版社），1994. 1467 - 1472.

[3] LI Wenjie, ZHENG Yanyu. [J]. Journal of Quanzhou Normal University（李文洁，郑燕玉. [J]. 泉州师范学院学报），2003，21(6)：36 - 38.

[4] LIU Baoqi, HU Xiaozhong, WANG Chunyu, *et al*. [J]. Chinese International Journal of Medicine（刘保启，胡孝忠，王春玉，等. [J]. 中华国际医学杂志），2003，3(2)：183 - 184.

[5] SUN Naiyou, ZHANG Wei. [J]. Jianxi Food Industry（孙乃有，张 卫. [J]. 江西食品工业），2003，(1)：22 - 24.

[6] SU Shulan, WANG Yongzhen. [J]. Chinese Traditional Patent Medicine（宿树兰，王永珍. [J]. 中成药），2002，24(1)：67 - 68.

[7] DONG Haili, ZONG Wei. [J]. Soda Industry（董海丽，纵 伟. [J]. 纯碱工业），2000，(6)：55 - 56，60.

[8] DONG Rongsheng, XI Qing, SUN Shiming, *et al*. [J]. Medicine Science and Technology（董荣生，席 庆，孙世明，等. [J]. 医学科技），2003，(2)：85 - 87.

[9] ZHAO Xiaoxia, TIAN Feng, XU Yun. [J]. China Journal of Chinese Materia Medica（赵晓霞，田 丰，胥 云. [J]. 中国中药杂志），2003，28(8)：782 - 783.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net