

HPLC 研究加工、贮藏过程对温郁金化学成分的影响

宋坤, 陈建伟*, 姜国非
(南京中医药大学, 南京 210046)

[摘要] 目的: 使用高效液相色谱法对同一产地温郁金的不同加工、贮藏品中莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 β -榄香烯的含量进行考察。方法: 用 Kromasil C18 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m), 以乙腈-水为流动相, 梯度洗脱, 流速 1 mL \cdot min⁻¹; 检测波长 214 nm, 柱温 25 $^{\circ}$ C, 进样量 10 μ L。结果: 鲜品中莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 β -榄香烯的质量分数分别为 0.001 201%, 0.039 760%, 0.061 458%, 1.313 8%; 加工品中 4 种成分的质量分数分别为 0.000 711%, 0.054 358%, 0.007 630%, 0.439 7%; 贮藏品中 4 种成分的含量分别为 0.001 168%, 0.113 253%, 0.016 493%, 0.512 7%。结论: 鲜温郁金中的 β -榄香烯、莪术二酮和吉马酮的含量明显高于加工温郁金及贮藏一年的陈品温郁金。加工、贮藏过程对温郁金中 4 种指标成分的含量有一定影响。

[关键词] 温郁金; 加工; 贮藏; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0061-04

Effect of Processing and Storage Method on Chemical Compositions in Lateral Root of *Curcuma wenyujin* By HPLC

SONG Shen, CHEN Jian-wei*, JIANG Guo-fei
(Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** Using HPLC method to investigate the four main ingredients including curdione, curcumol, germacrone and β -elemene, in different processing, storage products of *Curcuma wenyujin*. **Method:** Kromasil C₁₈ column(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m) was adopted by a gradient elution with acetonitrile-water as the mobile phase, the flow rate was 1 mL \cdot min⁻¹. The detection wavelength was at 214 nm, column temperature was at

[收稿日期] 20110513(010)

[基金项目] 江苏省普通高校研究生创新计划(CX09B_281Z)

[第一作者] 宋坤, 博士, 副教授, 从事中药材及中药饮片加工研究, Tel: 025-85811513, E-mail: songseng@yeah.net

[通讯作者] * 陈建伟, 硕士, 教授, 博士研究生导师, 从事中药资源与品质评价研究, Tel: 025-85811695, E-mail: chenjw695@126.com

【参考文献】

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 4.
- [2] 黄建梅, 杨春澍. 八角科植物化学成分和药理研究概况[J]. 中国药学杂志, 1998, 33(6): 321.
- [3] 赵俊丽, 骆志成, 武三卯, 等. 八角茴香挥发油抗念珠菌活性的体外研究[J]. 中华皮肤科杂志, 2004, 37(8): 475.
- [4] 曹雁平. 食品调味技术[M]. 北京: 轻工业出版社, 2002: 113
- [5] De M, De A K, Sen P, et al. Antimicrobial properties of star anise (*Illicium verum* Hook. f.) [J]. Hyotherapy Res, 2002, 16(1): 94.
- [6] 韦小杰, 陈小鹏, 王琳琳, 等. 八角油提取新方法的研究[J]. 食品工业科技, 2003, 24(3): 41.
- [7] 苏秀芳, 秦健梅. 超声辅助法提取剑叶龙血树根总黄酮的工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 97.
- [8] 梁颖, 陶勇, 张小红, 等. 八角茴香不同部位挥发油化学成分 GC-MS 分析[J]. 中药材, 2010, 33(7): 1102.
- [9] 梁忠云, 王国聪. 草蒿脑资源及生物活性应用研究进展[J]. 广西林业科学, 2010, 39(1): 49.

[责任编辑 蔡仲德]

25 °C. Injection volume was 10 μ L. **Result:** The content of curdione ,curcumol ,germacrone and β -elemene in fresh *C. wenyujin* were 0.001 201% ,0.039 760% ,0.061 458% ,1.313 8%; in the new processed products were 0.000 711% 0.054 358% ,0.007 630% ,0.439 7%; in the stored ones were 0.001 168% ,0.113 253% ,0.016 493% 0.512 7%. **Conclusion:** The content of β -elemene , curdione and germacrone in fresh *C. wenyujin* were obviously higher than the new processed products and the stored one. The processing and storage process have some influence on the four ingredients in *C. wenyujin*.

[Key words] *Curcuma wenyujin*; processing; storage; HPLC

温郁金主产于浙江省瑞安市 ,商品称为“温莪术” ,来源于姜科植物温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Liang^[1] 的侧根 2010 年版《中国药典》规定温郁金为中药提取物——莪术油的唯一来源。^[1] 目前已从温郁金中分离出莪术二酮、莪术醇、吉马酮、异莪术醇、 β -榄香烯、莪术烯醇等 20 多种成分。研究表明 ,温郁金中的莪术醇、莪术二酮、吉马酮具有一定的抗肿瘤作用^[2-3] ;莪术二酮对 ADP 诱导的兔血小板聚集具有体外抑制作用^[4] ; β -榄香烯对肿瘤细胞生长有直接抑制作用 ,可阻滞肿瘤细胞从 S 期进入 G2M 期 ,抑制其增殖并迅速导致其凋亡^[5] 。温郁金每年冬至前后采收 ,为了防止药材在贮藏中出现发霉、腐烂的现象 ,温郁金都要在产地经过蒸或煮至透心再干燥的过程^[6] ,贮藏方法是在常温下用塑料编织袋包装堆放。根据挥发油的性质 ,在这样的加工、贮藏过程中的温郁金的挥发油类成分定会受到影 响 ,为此本文用 HPLC 法测定不经加热加工的药材、热加工药材、贮藏一年的温郁金药材中莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 β -榄香烯的含量 ,为进一步研究温郁金的加工、贮藏方法 ,合理开发、利用药材资源 ,确保莪术油的质量提供依据。

1 材料

Waters 515 高效液相色谱仪; Millennium32 色谱工作站 ,FA1104N 电子天平 (d = 0.1 mg ,上海精密科学仪器有限公司) ,Kromasil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm \times 250 mm ,5 μ m) ,KQ-500B 型超声波提取器 ,TGL-162C 型离心机。莪术二酮对照品 (上海沪云医药开发有限公司 ,批号 13657-68-6) ,莪术醇对照品 (中国药品生物制品检定所 ,批号 100185-200506) ,吉马酮 (牻牛儿酮) 对照品 (中国药品生物制品检定所 ,批号 111665-200902) β -榄香烯 (中国药品生物制品检定所 ,批号 111665-200902) 。

源于瑞安市陶山镇沙洲乡 2009 2010 年采收的药材 ,经我校中药鉴定教研室陈建伟教授鉴定为姜

科植物温郁金 *C. wenyujin* Y. H. Chen et C. Liang 的侧根。

乙腈、甲醇为色谱纯 ,其他所用试剂均为分析纯。

2 药材的预处理

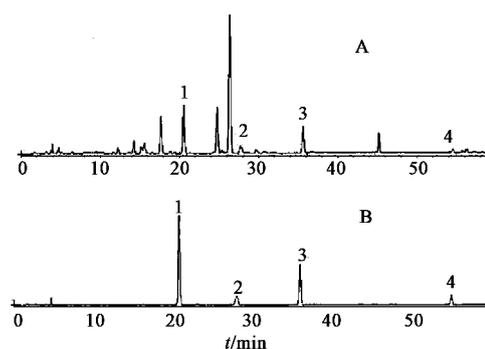
2.1 鲜温莪术 2010 年于浙江省瑞安市陶山镇沙洲乡采收的鲜品温郁金侧根 ,洗净 ,置通风处吹干 ,除去霉烂品、须根及杂质 ,蒸软趁热切片 ,置 50 °C 烘箱内 2 h 干燥 ,打粉 ,过 40 目筛。

2.2 加工温莪术 2010 年同产地的鲜品温郁金侧根 ,洗净 ,除去须根 ,煮至透心 ,置通风处吹干 ,蒸软趁热切片 ,置烘箱 50 °C 内 2 h 干燥 ,打粉 ,过 40 目筛。

2.3 陈温莪术 2009 年同一产地采收并加工的温莪术用塑料纺织袋包装 ,常温下贮存 1 年 ,置锅中蒸软 ,趁热切片 ,置烘箱 50 °C 内 2 h 干燥 ,打粉 ,过 40 目筛。

3 方法

3.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 柱 (4.6 mm \times 250 mm ,5 μ m) ,乙腈-水为流动相进行梯度洗脱 ,(乙腈初始比例为 40% ,30 min 时升至 60% ,40 min 时升至 80% ,60 min 达到 90%) ,柱温 25.0 °C ,流速 1.0 mL \cdot min⁻¹ ,检测波长为 214 nm ,见图 1。



1. 莪术二酮; 2. 莪术醇; 3. 吉马酮; 4. β -榄香烯

图 1 温郁金样品(A)和对照品(B)的 HPLC

3.2 对照品溶液的制备 精密称取各对照品适量,加入色谱甲醇制成每 1 mL 含莪术二酮 $0.067\ 08\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 莪术醇 $0.204\ 2\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 吉马酮 $0.052\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, β -榄香烯 $0.259\ 9\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混标溶液 10 mL, 作为对照品储备液。

3.3 供试品溶液的制备 称取温郁金粉末 0.5 g, 精密称定, 加乙醚超声提取 3 次, 每次用量为 10 mL, 时间为 10 min, 合并滤液, 用少量乙醚洗涤残渣及滤器, 合并乙醚液, 挥干乙醚, 残渣加甲醇溶解并定容至 10 mL, 摇匀, 滤过, 即得。

3.4 混标溶液的配制 精密吸取上述对照品储备液 5 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 重复此操作再连续稀释 4 次。最终使莪术二酮分别为 $0.067\ 0$, $0.033\ 5$, $0.016\ 8$, $0.008\ 39$, $0.004\ 2\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 莪术醇为 $0.204\ 2$, $0.102\ 1$, $0.051\ 0$, $0.025\ 5$, $0.012\ 8$, $0.013\ 3$, $0.006\ 7\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 吉马酮为: 0.052 , 0.026 , $0.013\ 0$, $0.006\ 5$, $0.003\ 25\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; β -榄香烯

为 $0.259\ 9$, $0.130\ 0$, $0.065\ 0$, $0.032\ 5$, $0.016\ 3\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

3.5 线性关系的确定 精密吸取上述对照品溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 各进 2 针, 按 3.1 色谱条件下条件测定峰面积值, 以对照品质量浓度对平均峰面积进行回归处理, 计算线性回归方程、线性范围和相关系数, 结果见表 1。

表 1 标准曲线及线性范围

对照品	标准曲线	线性范围	相关系数
		$/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	r
莪术二酮	$Y = 66\ 910X + 227.81$	$0.004\ 2 - 0.067$	0.999 1
莪术醇	$Y = 3\ 563.9X + 47.073$	$0.006\ 7 - 0.204\ 2$	0.999 4
吉马酮	$Y = 3\ 563.9X + 47.073$	$0.003\ 25 - 0.052\ 0$	0.999 3
β -榄香烯	$Y = 2\ 013.5X + 34.216$	$0.016\ 3 - 0.259\ 9$	0.999 5

3.6 精密度试验 取同一混合对照品溶液(莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 β -榄香烯质量浓度分别为 $0.016\ 8$, $0.051\ 0$, $0.013\ 0$, $0.065\ 0\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), 连续进

表 2 温郁金中 4 种成分加样回收率试验

成分	样品中量 $/\text{mg}$	加入量 $/\text{mg}$	测得量 $/\text{mg}$	回收率 $/\%$	均值 $/\%$	RSD $/\%$
莪术二酮	0.002 956	0.003 48	0.006 150	97.54	96.07	1.35
		0.002 90	0.005 930			
		0.002 32	0.005 270			
		0.003 48	0.006 487			
		0.002 90	0.005 564			
		0.002 32	0.005 164			
	0.002 918	0.003 48	0.006 356	95.08	95.57	
		0.002 90	0.005 581			
		0.002 32	0.005 129			
		0.342	0.635 6			
		0.285	0.557 6			
		0.228	0.512 3			
莪术醇	0.286 6	0.342	0.624 4	98.92	97.84	2.10
		0.285	0.553 1			
		0.228	0.506 4			
		0.342	0.632 5			
		0.285	0.565 8			
		0.228	0.510 6			
	0.289 4	0.050 16	0.090 9	99.12	99.30	1.49
		0.041 80	0.080 21			
		0.033 44	0.077 62			
		0.041 80	0.091 57			
		0.033 44	0.081 42			
		0.041 80	0.076 48			
吉马酮	0.041 74	0.050 16	0.090 02	98.41	98.41	101.01
		0.041 80	0.088 53			
		0.033 44	0.072 81			
		0.050 16	0.090 02			
		0.041 80	0.088 53			
		0.033 44	0.072 81			
	0.041 2	1.557 2	2.767 7	99.30	98.12	1.21
		1.297 7	2.733 6			
		1.038 1	2.257 1			
		1.557 2	2.846 8			
		1.297 7	2.595 9			
		1.038 1	2.308 7			
1.310 5	1.557 2	2.846 8	98.14	98.14		
	1.297 7	2.595 9				
	1.038 1	2.308 7				
	1.557 2	2.787 1				
	1.297 7	2.338 7				
	1.038 1	2.491 2				
1.280 7	1.557 2	2.787 1	96.93	96.93		
	1.297 7	2.338 7				
	1.038 1	2.491 2				
	1.557 2	2.787 1				
	1.297 7	2.338 7				
	1.038 1	2.491 2				

样 6 次,进样量 10 μL ,测定莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 β -榄香烯的峰面积值,计算 RSD 分别为 0.87% , 1.69% ,1.81% ,2.45%。均 < 3% ,表明仪器的精密度良好。

3.7 稳定性试验 取供试品溶液,分别放置 0, 2, 4, 6, 8, 12 h,各精密进样 10 μL ,进行测定,计算峰面积在 12 h 内的 RSD,得莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 β -榄香烯的 RSD 分别为 1.09% ,2.42% ,0.53% ,2.14% ,供试品溶液在 12 h 内稳定性符合要求。

3.8 重复性试验 精密称取样品 6 份,按供试品溶液制备项下方法平行制备,按上述色谱条件测定,计算莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 β -榄香烯的峰面积的 RSD,结果为 0.16% ,1.30% ,0.34% ,1.74%。

3.9 加样回收率试验 精密称取已知含量的已加工并贮藏一年的温郁金粉末 0.25 g ($n=9$),精密添加质量浓度为 0.002 9 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 莪术二酮、0.285 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 莪术醇、0.041 8 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 吉马酮、1.297 7 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ β -榄香烯的标准溶液 1.2, 1.0, 0.8 mL(每个浓度取 3 份),按样品制备操作,计算加样回收率,结果见表 2。

3.10 样品的测定 分别吸取供试品溶液,在上述色谱条件下,各进样 10 μL ,进行 HPLC 分析,测得结果见表 3。

表 3 加工、贮藏的不同样品的含量测定 ($n=3$) %

药材	莪术二酮	莪术醇	吉马酮	β -榄香烯
鲜温郁金(干)	0.001 201	0.039 760	0.061 458	1.313 8
加工温郁金	0.000 711	0.054 358	0.007 630	0.439 7
陈温郁金	0.001 168	0.113 253	0.016 493	0.512 7

4 讨论

温郁金中所含的主要成分是挥发油类,传统加工方法中温郁金需要煮至透心,这会导致挥发性成分的损失,同时,贮藏过程也会导致挥发性成分损失。本次实验中的数据也表明:鲜温郁金中的 β -榄香烯、莪术二酮和吉马酮的含量明显高于加工温郁金及贮藏一年的陈品温郁金,这与一般原理相符。但是鲜品中莪术醇含量却低于加工温郁金和陈品温郁金,这有可能是温郁金药材中的某些其他成分在加工、贮藏中转化为莪术醇,这一化学成分的变化过程有待进一步的探讨。

陈温莪术 3 种有效成分含量均高于加工温莪术,这种化学成分的变化对于药物药理作用的影响也有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:257.
- [2] 许洪霞,郑淑忱,左士贤,等.温莪术抗肿瘤有效成分的研究-莪术醇和莪术二酮的分离和鉴定[J].中草药通讯,1979,10(10):11.
- [3] 王琰,王慕邹.莪术的质量研究[J].药学学报,2001,36(11):849.
- [4] 夏泉,董婷霞,詹华强,等.莪术二酮对 ADP 诱导的兔血小板聚集的抑制作用[J].中国药理学通报,2006,22(9):1152.
- [5] 杨弊,王仙平,郁琳琳,等.榄香烯抗癌作用与诱发肿瘤细胞凋亡[J].中华肿瘤杂志,1995,18(3):169.
- [6] 张小平,乐军.片姜黄与姜黄、温莪术的区别[J].实用中医药杂志,2006,22(1):57.

[责任编辑 蔡仲德]

《中国中药杂志》2012 年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于 1955 年 7 月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128 页,2012 年定价每期 30 元,全年 24 期定价为 720 元。国内刊号 11-2272/R,国际刊号 1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 www.cjmm.com.cn 或 www.中国中药杂志.com。

联系电话:稿件查询 010-64045830 转 602;主任电话 010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。