

References:

[1] Wei G, Li W, Xu H H. Study on GC-MS fingerprint analysis of volatile oil of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth cultivated in GAP polts [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2003, 25

(2): 91.

[2] Wei G, Fang Y Q, Liu D H, et al. Study on GC-MS fingerprint analysis of volatile oil of *Acorus tatarinowii* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29 (8): 764.

总姜黄素在不同介质中的稳定性考察

陈 婧, 刘彩霞, 朱晓薇*

(天津中医药大学, 天津 300193)

姜黄素(curcumin)及姜黄素类化合物是从姜科植物姜黄 *Curcuma longa* L. 的地下根茎中分离得到的一类天然线性二芳基庚酮类化合物,常用作色素和多种食物的调味添加剂,具有广泛的生物活性,如抗炎、抗氧化、抗肿瘤,降血脂及抗动脉粥样硬化等,引起人们的广泛关注。姜黄的醇提物和总姜黄素均主要含有 3 种活性成分:姜黄素(Cur I)、脱甲氧基姜黄素(Cur II)和双脱甲氧基姜黄素(Cur III)。这 3 种酚类色素的结构相近,药理作用相似,但是结构上的微小差别(主要是苯环上的烷氧基)使 3 种姜黄素类化合物在抗癌、抗氧化等作用方面有较大差异^[1]。3 种姜黄色素单体对内皮细胞生长的抑制作用、抗血管生成作用均以 Cur III 的生物活性最强^[2,3]。

姜黄素水溶性差,其水溶液在中性及碱性条件下不稳定^[4];姜黄素生物利用度低,在体内易被代谢,血药浓度低^[5]。鉴于目前临床上所用的或中药复方制剂中所含的多为总姜黄素,本实验对总姜黄素在不同介质中的稳定性进行考察,为进一步研究总姜黄素及其制剂的有效性提供依据。

1 仪器和试剂

Waters 600E 高效液相色谱仪及其工作站; AX205 电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); BP121S 电子天平(德国 Sartorius 公司);电子恒温水浴(天津泰斯特仪器有限公司);总姜黄素由神威药业集团提供,质量分数在 60%以上;乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 色谱条件:色谱柱 Thermol Hypersil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-2%醋酸

水溶液(43:57);体积流量:1 mL/min;柱温:35 °C;检测波长:420 nm。

2.2 总姜黄素在油溶液中稳定性考察:精密称取总姜黄素 6.0 mg,加中链脂肪油 25 mL,超声 30 min,溶解,作为样品液。精密吸取 1 mL,加无水乙醇至 25 mL,过 0.45 μm 滤膜,精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪测定。同时把样品液置 37 °C 恒温水浴中,按 2、4、6、8 h 定时精密取样 1 mL,用无水乙醇稀释至 25 mL,过 0.45 μm 滤膜,精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪测定,得 Cur I、Cur II、Cur III 的峰面积。分别以 0 h 测得的峰面积为药物 100% 标示量,以不同时间测得的峰面积除以 0 h 的峰面积得药物在不同时间的质量分数。以药物质量分数为纵坐标,时间为横坐标作图,见图 1。

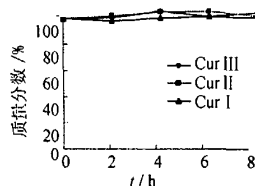


图 1 总姜黄素在链脂肪油中降解趋势

Fig. 1 Degradation tendency of curcuminoids in medium chain oil

2.3 总姜黄素在水溶液中稳定性考察:精密称取总姜黄素 3.7 mg,加 5 mL DMSO 溶解,用水稀释至 50 mL,作为样品液。精密吸取 2 mL 用流动相稀释至 10 mL,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪测定。同时把样品液置 37 °C 恒温水浴,按 2、4、6、8 h 定时精密取样 2 mL,用流动相稀释至 10 mL,过 0.45 μm 滤膜,精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪测定。以药物质量分数对时间作图,见图 2。

收稿日期:2005-12-12

作者简介:陈 婧(1980—),女,在读研究生,主要研究方向为中药制剂及其质量控制。 E-mail:cj-9925@163.com

* 通讯作者 朱晓薇 Tel:(022) 23051086 E-mail:xwzhu3@sohu.com

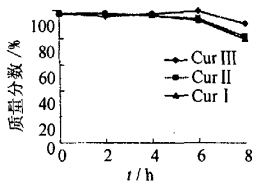


图 2 总姜黄素在水中降解趋势

Fig. 2 Degradation tendency of curcuminoids in water

2.4 总姜黄素在缓冲盐溶液中稳定性考察:精密称取总姜黄素 3.5、3.8、3.6、4.6 mg 分别加 5 mL DMSO 溶解,再分别加 pH 3.0、6.8、7.2、8.0 的磷酸盐缓冲液至 50 mL,作为样品液。分别精密吸取 2 mL,用流动相稀释至 10 mL,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,精密吸取 10 μL ,注入液相色谱仪测定。同时分别把各样品液置 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴。以药物质量分数对时间作图,见图 3。

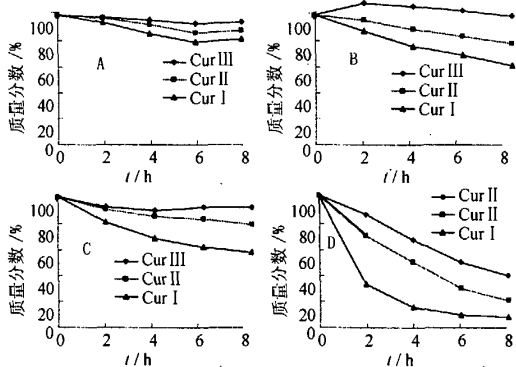


图 3 总姜黄素在 pH 3.0 (A)、pH 6.8 (B)、pH 7.2 (C) 和 pH 8.0 (D) 磷酸盐缓冲液中降解趋势

Fig. 3 Degradation tendency of curcuminoids in phosphate buffer pH 3.0 (A), pH 6.8 (B), pH 7.2 (C), and pH 8.0 (D)

2.5 37 $^{\circ}\text{C}$ 下姜黄素混合物各化合物在不同介质中的稳定性考察:处理方法按以上试验,结果见图 4。

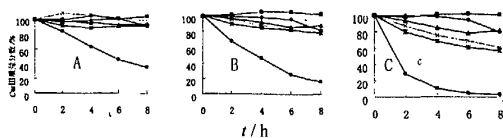


图 4 Cur III (A)、Cur II (B) 和 Cur I (C) 在不同介质中的降解趋势

Fig. 4 Degradation tendency of Cur III (A), Cur II (B), and Cur I (C) in various media

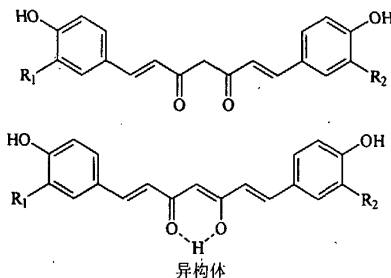
3 讨论

从结构上分析,姜黄素类物苯环上的-OH 和-OCH₃ 都是给电子能力较强的基团,在-OH 和-OCH₃ 同时存在时,苯环电子密度增加,并传递给碳

链,使碳链上发生亲电反应的反应活性增加。当苯环上失去-OCH₃ 后,给电子能力减弱,碳链的亲电反应活性减弱。因此,姜黄素分子的化学活性最强,最不稳定,相对而言 Cur III 分子的化学活性最低,故最稳定。认为 Cur III 结构上的相对稳定性可能正是其对内皮细胞生长的抑制作用、抗血管生成作用在三者中最强的原因之一。

在实验测定的 8 h 内,姜黄素类化合物在不同介质中呈现以下稳定性趋势:油溶液 > 水溶液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液、pH 3.0 磷酸盐缓冲液 > pH 7.2 磷酸盐缓冲液 > pH 8.0 磷酸盐缓冲液。姜黄素类化合物在考察的 4 种磷酸盐缓冲液中的降解符合一级动力学。

分析认为,在碱性条件下,姜黄素类化合物苯环上的-OH 以-O⁻ 的形式存在,其给电子能力进一步加强,致使碳链的亲电反应活性大大增强,故姜黄素类化合物在碱性条件下不稳定。随着 pH 值降低,姜黄素类化合物产生异构体(图 5)的趋势增强,在羟基碳上发生亲核攻击的可能性增大,因亲核攻击引起分解的可能性增大。在油中,姜黄素类物不能发生亲电、亲核反应,故最稳定,姜黄素在油中 96 h 后仍不见降解。



姜黄素 R₁=R₂=-OCH₃ 脱甲氧基姜黄素 R₁=H, R₂=-OCH₃ 二脱甲氧基姜黄素 R₁=R₂=H

图 5 姜黄素化合物的结构

Fig. 5 Structures of curcuminoids

同时,也做了姜黄素单体在不同介质中的稳定性,结果与上述相同。且姜黄素在不同 pH 值磷酸盐缓冲液中的稳定性趋势与文献报道相同^[4],但在 pH 7.2 及 pH 8.0 的缓冲液中,姜黄素并非如文献报道的那样不稳定(如 pH 7.2, 30 min 降解 90%)。在实验中姜黄素在 pH 7.1 时 8 h 降解了 43%。

对姜黄素在室温和 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下的降解趋势做了考察,未见有明显区别。

在采用 HPLC 法测定姜黄中姜黄素的研究中做了完整的方法学考察,建立的分析方法能满足测

定的要求,采用此色谱条件能达到 Cur I、Cur II、Cur III 的良好分离。

References:

[1] Rasmussen C A simple and efficient separation of the curcumin, the antiprotozoal constituents of *Curcuma longa* [J]. *Planta Med*, 2000, 66:3:96.
 [2] Li J M, Yang H P, Liu S Q, et al. Inhibition of human endothelial cell line by curcumin and its derivatives [J]. *Chongqing Med J* (重庆医学), 2002, 31 (9): 804-805.

[3] Yang H P, Li J M, Tang C L, et al. Role of active components of curcumin in anti-angiogenesis *in vitro* [J]. *Acta Acad Med Mil Tert* (第三军医大学学报), 2005, 27 (11): 1068-1070.
 [4] Wang Y J, Pan M H, Cheng A L, et al. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 1997; 15 (12): 1867-1876.
 [5] Wang Q, Metabolism of curcumin [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2003, 19 (10): 1097-1100.

微波辅助萃取槐米中芦丁工艺条件的探讨

董庆洁, 邵仕香, 葛 卿, 缴佩佩

(天津理工大学生物与化学学院, 天津 300191)

芦丁是豆科植物槐树 *Sophora japonica* L. 的花蕾即槐米中提取的植物原料药。槐米含芦丁约 10%~28%。芦丁具有维生素 P 样作用, 可防治毛细血管发脆而引起的出血症, 用于高血压的辅助治疗; 具有抗毛细血管脆性和异常的透过性作用。

微波辅助提取(microwave-assisted extraction)具有快速、高效、安全、节能等优点, 提取时间极短, 设备简单, 投资较少, 无污染, 具有绿色化学概念。因此本试验利用微波萃取技术辅助提取槐米中的芦丁, 提取效果增大, 用时缩短。

1 仪器与试剂

格兰仕家用微波炉 PW700 型(改装, 顶部开口加回流冷凝装置), 普通家用粉碎机, Agilent1100 型液相色谱仪(美国)。槐米(天津中药批发有限公司), 95%乙醇(天津大学科威公司)。

2 方法与结果

2.1 萃取工艺: 将槐米用家用粉碎机打碎, 用天平称量每 50 g 一组, 加入 1 000 mL 95%乙醇浸泡后进行微波辐射。然后抽取滤液进行蒸馏, 蒸出乙醇。当蒸馏液剩余约 250 mL 时, 停止蒸馏。采用 HPLC 法分析产品中芦丁的量。

2.2 HPLC 法分析芦丁^[1]

2.2.1 色谱条件: Zebra C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(40:60); 体积流量: 0.4 mL/min; 柱温: (32±1) °C; 检测波长: 254 nm; 进样量: 10 μL。

2.2.2 标准曲线的制备: 精密称取在 105 °C 下干燥

至恒重的芦丁 24.5 mg, 置 2.5 mL 量瓶中, 用无水乙醇溶解, 并加至刻度, 得 0.980 mg/mL 的芦丁对照溶液。稀释成质量浓度分别为 0.490、0.245、0.123、0.061 mg/mL, 进样测定。以峰面积对质量浓度进行线性回归, 得到标准曲线工作方程: $Y = 8\,123.3 X + 18\,425, r = 0.987$ 。

2.2.3 芦丁的测定: 将样品溶液进行 HPLC 分析, HPLC 图上的芦丁峰面积值代入标准曲线方程, 计算产品中芦丁的量。

2.3 槐米中芦丁的测定: 采用 HPLC 法测定槐米中的芦丁, 结果芦丁的质量分数为 21.97%

2.4 提取率的计算: 采用提取率 = 产品中芦丁的量/原料中芦丁的量 × 100% 表示。

2.5 正交设计试验结果与分析: 根据前期试验及关于微波辅助提取的研究经验, 选用 L₁₆(4⁴) 正交试验表, 讨论提取液 95%乙醇用量(A)、辐射时间(B)、微波功率(C)及浸泡时间(D)对萃取结果的影响。因素水平见表 1, 实验结果及极差分析见表 2。

表 1 因素和水平

Table 1 Factors and levels

水 平	因 素			
	A/mL	B/min	C/W	D/h
1	600	7	280	6
2	800	9	330	12
3	1 000	11	380	18
4	1 200	13	430	24

极差值顺序为: 微波功率 > 辐射时间 > 浸泡时间 > 溶剂用量; 最佳工艺条件为 A₃B₂C₄D₃。

收稿日期: 2005-11-21

作者简介: 董庆洁(1952—), 女, 副教授, 长期从事化学及化学工程教学、科研工作, 主持或参与省部级课题 5 项, 在国内期刊发表学术论文十余篇。 Tel: (022) 23679645 E-mail: dongqj52@sina.com