

mL, 0.45 μm 滤过, 得到滤液, 备用。

2.2.4 测定结果的比较: 结果见表2。可见生地中的梓醇的量相对较高, 每克药材含有2.04 mg, 熟地每克药材含有0.322 mg。

表2 生地、熟地甲醇提取物中梓醇的比较(n=3)

Table 2 Comparison of catalpol in methanol extracts from *Rehmanniae Radix* and *Rehmanniae Radix Praeparata* (n=3)

样品	梓醇/(mg·g ⁻¹)
生地	2.04
熟地	0.32

3 讨论

生地和熟地的糖类成分色谱图中, 成分基本一致, 量有所变化, 二者都含有果糖、葡萄糖、半乳糖3种单糖, 蔗糖、棣二糖两种二糖, 棉子糖、甘露三糖两种三糖, 水苏糖一种四糖; 生地炮制成熟地后水苏糖主要失去一个酮基单糖果糖, 生成甘露三糖, 所以熟地中甘露三糖和果糖的量较生地高; 葡萄糖和半乳糖都是醛基六碳糖, 保留时间分别为4.387、4.443 min, 二者很难分开。文献报道, 地黄中的寡糖含有少量的毛蕊四糖和毛蕊糖(五糖)^[6,7], 但是在本研究检测条件下没有检测到。

生地甲醇提取物及熟地甲醇提取物的HPLC色谱图显示, 成分、量差别较大, 其中生地明梓醇的量高于熟地。梓醇是一种环烯醚萜葡萄糖苷类化合物, 加工炮制过程中, 脱去糖基而发生了一系列化学变化, 导致梓醇大幅降低的同时出现了新的化合物。

生地和熟地的糖类成分色谱图与梓醇色谱图显示, 糖类成分的量高, 生地中水苏糖量最高, 达到166.3 mg/g, 棣二糖最低达到21.0 mg/g, 熟地中甘露三糖最高达到119.7 mg/g, 棉子糖最低达到14.4

mg/g, 梓醇的量相比较较低, 生地2.04 mg/g, 熟地0.32 mg/g。

生地炮制成熟地, 无论糖类成分还是环烯醚萜苷类成分均有不同程度地变化。其对地黄的药效变化有何作用等问题, 有待进一步深入研究。

对供试品溶液的计算, 采用工作曲线回归方程法和外标一点法两种方法^[8]。工作曲线回归方程法计算供试品中水苏糖的量和加样回收率的RSD分别为1.04%、3.51%; 用外标一点法计算供试品中水苏糖的量和加样回收率的RSD分别为0.93%、2.94%。用外标一点法计算的误差比用工作曲线回归方程法的误差小, 所以建试验中地黄寡糖的测定采用外标一点法计算, 既可以减少对照品的浪费, 又可以降低计算带来的误差。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部, 2005
- [2] 张汝学, 贾正平, 李茂星, 等. 地黄寡糖改善 HepG2 细胞胰岛素抵抗的分子机制研究[J]. 中草药, 2008, 39(8): 1184-1187.
- [3] 阴健, 郭力弓. 中药现代研究与临床应用(1)[M]. 北京: 学苑出版社, 1993
- [4] 张汝学, 樊俊杰, 贾正平, 等. 地黄中寡糖的提取分离工艺研究[J]. 解放军药学学报, 2005, 21(1): 34-36
- [5] 刘有平, 张佳蕊, 邵华, 等. 柱前衍生化 RP-HPLC 法测定地黄中葡萄糖、半乳糖和蜜二糖[J]. 中草药, 2009, 40(6): 974-976
- [6] Tomoda M, Kato S, Onuma M, et al. Water soluble constituents of *Rehmanniae Radix*. I. Carbohydrates and acids of *Rehmannia glutinosa* f. *hueichingensis* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1971, 19(7): 1455-1460
- [7] Kubo M, Asano T, Matsuda H, et al. Studies on *Rehmanniae Radix*. III. The relation between changes of constituents and improvable effects on hemorheology with the processing of roots of *Rehmannia glutinosa* [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1996, 116(2): 158-168
- [8] 邱建国, 张汝学, 贾正平, 等. 地黄中寡糖含量的 HPLC 法测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8): 8-9

薄层色谱法鉴定莪术油中倍半萜类成分的研究

崔友¹, 孙秀燕^{2*}, 张慧²

(1 浙江天瑞药业有限公司, 浙江 瑞安 325200; 2 烟台大学药学院, 山东 烟台 264005)

摘要: 目的 建立莪术油中= 牛儿酮、呋喃二烯、莪术二酮和莪术烯 4种倍半萜类成分的鉴别方法。方法 采用薄层色谱法, 硅胶薄层板, 正己烷-醋酸丁酯(98:2)为展开剂, 香草醛硫酸试液显色。结果 = 牛儿酮、呋喃二烯、莪术二酮和莪术烯的Rf值分别为0.11、0.31、0.50、0.60。结论 方法操作简便、准确、重现性好, 可用于同时鉴别莪术油中有效成分= 牛儿酮、呋喃二烯和莪术二酮。

* 收稿日期: 2009-06-12

基金项目: 山东省教育厅科技计划项目(J07W01)

作者简介: 崔友(1966-), 男, 黑龙江省宝清县人, 副主任药师, 主要从事新药研发及其药物制剂工艺与质量标准研究。

* 通讯作者 孙秀燕 Tel: (0535) 6706023 Fax: (0535) 6706036 E-mail: sunxy@ytu.edu.cn

关键词: 莪术油; 呋喃二烯; = 牛儿酮; 莪术烯; 薄层色谱

中图分类号: R284 2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)06 1119-03

莪术油为姜科姜黄属植物温莪术 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的有效部位, 是《中国药典》收载品种^[1]。莪术油具有显著的行气活血、消炎止痛、活血化瘀、祛腐生肌、增强机体免疫力、改善微循环之功效, 临床长期应用于抗炎抗病毒^[2]、抗癌^[3]等, 疗效确切。莪术油葡萄糖注射液、莪术油注射液收载于《中国药典》2000、2005 年版二部; 保妇康栓收载于《中国药典》2000、2005 年版一部。关于莪术油原料的定性成分, 《中国药典》规定以莪术醇和= 牛儿酮为莪术油鉴别项下的指标成分, 笔者经过对莪术油化学成分的分离分析及其质量研究发现, 呋喃二烯、= 牛儿酮和莪术二酮是莪术油中的主成分, 三者的量大于 50%。因此本实验以这 3 种化合物为指标, 建立了莪术油的薄层色谱鉴别方法。

1 材料与仪器

= 牛儿酮(批号 111665-200401)、莪术醇(批号 100185-200405)对照品由中国药品生物制品检定所提供; 莪术二酮、呋喃二烯(又名蓬莪术环二烯)自提, 质量分数 > 98%。超临界 CO₂ 法制备莪术油(SFE 油)、水蒸气蒸馏莪术油(SD 油), 莪术油(批号 070501)均由浙江天瑞药业有限公司提供。硅胶 G(烟台化工所薄层色谱用), 所用试剂均为分析纯。

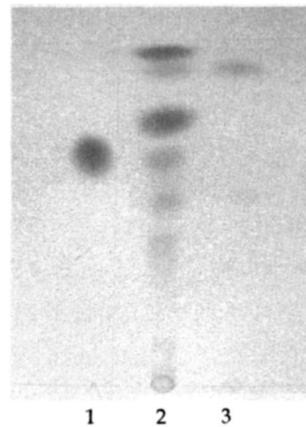
2 薄层色谱鉴别

2.1 药典方法: 按照《中国药典》2005 版收载的莪术油鉴别项下规定, 取 SD 油 4 mg, 加石油醚(30~60 °C) 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取莪术醇、= 牛儿酮对照品, 加石油醚(30~60 °C) 制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述 3 种溶液各 10 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(30~60 °C)-醋酸乙酯(9:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以香草醛硫酸试液, 在 105 °C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 分别与与提取物和对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点; 置紫外光灯(365 nm)下检视, 显相同颜色的荧光斑点, 结果见图 1。

结果显示, 莪术油中的莪术醇的量相对较少, 且 = 牛儿酮在该薄层色谱条件下 R_f 值偏大, 约为 0.9; 莪术油色谱还显示有 2 个主斑点, R_f 值分别为 0.77、0.94, 经硅胶柱色谱分离, 有机波谱鉴定分别为呋喃二烯和莪术二酮^[4]。

研究中采用高效液相色谱法分离分析 SD 油中

的化学成分。色谱条件: Kromasil KR100-5 C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 柱温为 25 °C, 流动相为甲醇-水(90:10), 进样体积为 20 μL, 检测波长为 215 nm, 结果见表 1、图 2。结果显示 SD 油中除含有莪术醇和 = 牛儿酮外, 呋喃二烯和莪术二酮也是莪术油中的主要成分。



1 莪术醇 2 SD 油 3 = 牛儿酮
1 curcumenol 2 SD oil 3 germacrone
图 1 莪术油的 TLC 图(药典方法)

Fig 1 TLC Chromatogram of *Curcuma wenyujin* essential (Ch P method)

表 1 SD 油的 HPLC 法测定结果

Table 1 Results of HPLC method of SD oil

成分	保留时间/min	质量分数/%
莪术二酮	4.277	12.96
莪术醇	6.216	3.25
= 牛儿酮	6.975	7.80
莪术烯	13.899	10.93
呋喃二烯	16.725	23.47

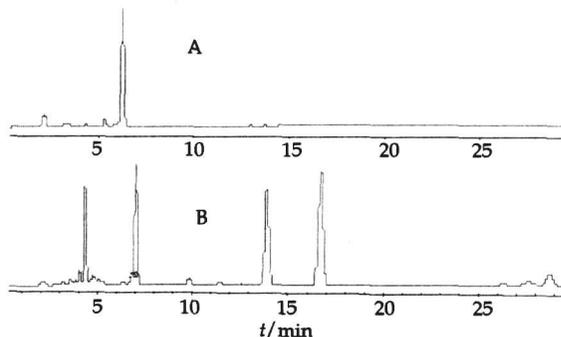
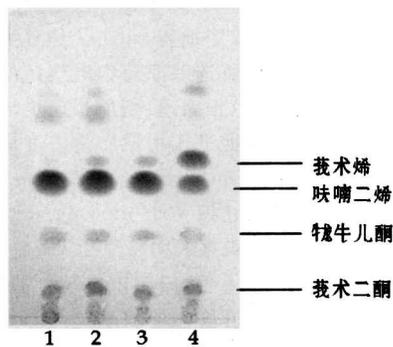


图 2 莪术醇(A)和莪术油(B)的 HPLC 图
Fig 2 HPLC Chromatograms of essential oil and curcumenol (A) in *C. wenyujin* (B)

2.2 薄层鉴别法的改进: 取样品 20 mg, 加醋酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取 = 牛儿酮、

呋喃二烯、莪术二酮对照品,加醋酸乙酯制成含呋喃二烯、莪术二酮、= 牛儿酮 4、4、8 mg/mL 的溶液,作为混合对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述 3 种溶液各 2 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-醋酸丁酯(98:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以香草醛硫酸试液,在 105 °C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,分别在对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,结果见图 3。



1-SFE 油 2-精制 SFE 油 3-混合对照品 4-SD 油

1-SFE oil 2 refined SFE oil 3 reference substances 4 SD oil

图 3 莪术油的薄层色谱图(改进方法)

Fig 3 TLC Chromatogram of essential oil in *Curcuma wenyujin* in (modified method)

3 讨论

本实验选择莪术油中量较高的倍半萜类成分呋喃二烯、= 牛儿酮和莪术二酮同时作为莪术油的指标成分,建立了薄层色谱法,该方法更能体现莪术油的质量。已有多篇文献和本研究的药理试验表明呋喃二烯、莪术二酮为抗病毒、抗癌活性成分^[5-8]。另一方面从莪术油组成成分性质差异大的角度考虑,也适宜采用呋喃二烯、= 牛儿酮和莪术二酮作为薄层鉴别法的指标成分,因为莪术二酮的极性较大,呋喃二烯极性较小,= 牛儿酮的极性居中,根据 3 个不同性质的化学指标展示莪术油薄层色谱图的特征并标示主要成分的位置,综合评价莪术油整体的稳定性情况,以使鉴定的可靠性更有保证,使评价结果更客观真实。

莪术油薄层鉴别原标准是以 30~ 60 °C 沸程的石油醚为展开剂,由于其沸程偏低,层析缸不易密封,斑点很难圆而集中,且重现性差。依据莪术油的

溶解度和主要成分的性质,实验中筛选了多种有机溶剂的不同配比,其中正己烷-醋酸丁酯(98:2)能将莪术油中的成分在 Rf 值 0.1~ 0.8 全部展开,其中莪术二酮、= 牛儿酮和呋喃二烯 Rf 值分别约在 0.11、0.31、0.52; 莪术二酮呈紫色斑点,= 牛儿酮呈蓝紫色斑点,呋喃二烯呈红色斑点。按上述改良的方法对 6 批 SFE 油进行鉴别测定,供试品色谱中,分别在对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

图 3 中除了呋喃二烯为红色斑点外,在 Rf 0.60 外还显示有一个红色斑点,经分离分析、有机波谱鉴定为莪术烯。莪术烯是呋喃二烯的热转化产物,是一对热敏物质^[9]。由于 SD 法提取温度高,提取时间长,使呋喃二烯大量转化为莪术烯,所以 TLC 图上 SD 油中莪术烯斑点比 SFE 油大的多。大量药理实验结果已证实莪术烯具有显著刺激性^[10],是莪术油中的有关物质,改良后的方法也可以作为莪术烯的限度控制检查方法。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [2] 夏泉,黄赵刚,李绍平等. 莪术油抗流感病毒和呼吸道合胞病毒作用的实验研究[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(3): 357-358
- [3] 黄可新,陶正明,张安将,等. 温莪术化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(3): 163-164
- [4] 孙秀燕,郑艳萍,刘志峰,等. 温莪术环状含氧倍半萜类化学成分的研究[J]. 分析测试学报, 2006, 25(6): 27-30
- [5] Sun X Y, Lin D H. Potential anti-cancer activities of furanodiene, a sesquiterpene from *Curcuma wenyujin* [J]. *Am J Chin Med*, 2009, 37(3): 589-596
- [6] Ba Z Z, Zheng Y P, Zhang H, Hui, et al. Potential anti-cancer activity of furanodiene [J]. *Chin J Cancer Res*, 2009, 21(2): 154-158
- [7] Ma E L, Wang X L, Li Y C, et al. Induction of apoptosis by furanodiene in HL60 leukemia cells through activation of TNF- α signaling pathway [J]. *Cancer Lett*, 2008, 271: 158-166
- [8] 郑艳萍,孙秀燕,巴真真,等. 呋喃二烯的体内外抗肿瘤作用研究[J]. 烟台大学学报: 自然科学与工程版, 2008, 21(2): 115-118
- [9] 张慧,孙秀燕,郑艳萍. RP-HPLC 法分离分析温莪术油中 6 种倍半萜类成分[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(12): 1993-1996
- [10] 李绍平. 一种莪术油提取物及其制备方法与含有它的药物组合物[P]. 中国专利: CN1557387, 2004-12-29