

莪术不同炮制品挥发油中4种倍半萜类成分的比较

顾娟娟^{1,2}, 姜国非^{1,2}, 陆兔林^{1,2}, 毛春芹^{1,2*}, 毛靖³, 姚可娟⁴, 张盈¹

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046

2. 南京中医药大学 江苏省中药炮制重点实验室, 江苏 南京 210046

3. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210046

4. 中国人民解放军南京八一医院 药剂科, 江苏 南京 210002

摘要: 目的 比较莪术不同炮制品提取的挥发油中莪术二酮、莪术醇、吉马酮和 β -榄香烯的量。方法 采用HPLC法测定4种倍半萜类成分的量, Elite Hypersil ODS色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 乙腈-水为流动相, 梯度洗脱; 体积流量1 mL/min; 柱温30 $^{\circ}$ C; VWD检测器; 检测波长214 nm; 进样量为10 μ L。结果 在上述色谱条件下, 4种成分均得到很好的分离, 各成分的质量浓度与峰面积之间线性关系良好, 平均回收率和RSD均符合定量测定的要求。莪术药材中 β -榄香烯的量较高, 经炮制后其量显著下降, 莪术二酮、吉马酮、莪术醇在炮制过程中其量均有所下降, 其中以醋煮品各成分下降最为明显。结论 所建立的HPLC法准确、灵敏, 可作为莪术不同炮制品挥发油质量控制的方法; 不同产地莪术饮片炮制品挥发油中这4种成分的量存在明显差异, 经炮制后其量均显著下降。

关键词: 莪术; 挥发油; 莪术二酮; 莪术醇; 吉马酮; β -榄香烯

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)04-0702-04

Comparison on four sesquiterpenes in volatile oil of differently-processed *Curcuma Rhizoma*

GU Juan-juan^{1,2}, JIANG Guo-fei^{1,2}, LU Tu-lin^{1,2}, MAO Chun-qin^{1,2}, MAO Jing³, YAO Ke-juan⁴, ZHANG Ying¹

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

2. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

3. College of First Clinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

4. Department of Pharmacy, Nanjing No.81 Hospital of People's Liberation Army, Nanjing 210002, China

Key words: *Curcuma Rhizoma*; volatile oil; curdione; curcumol; germacrone; β -elemene

莪术为姜科姜黄属植物蓬莪术 *Curcuma phaeocalis* Val.、广西莪术 *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 或温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥根茎, 主产于四川、广西、浙江。临床上莪术常用的炮制品有生饮片和醋制品饮片两种, 莪术现代的醋制品主要有醋炙品或醋煮品两种^[1-2], 其主要含有挥发油和姜黄素两大类成分^[3]。挥发油中主要成分为倍半萜类成分, 如莪术二酮、莪术醇、吉马酮和 β -榄香烯等^[4], 莪术常用的定量测定方法有TLC法^[5]、分光光度法^[1]、GC法^[6]、毛

细管气相色谱法^[7]、HPLC法^[8]等。目前莪术的质量控制研究主要集中于药材、生饮片和莪术油^[9], 有关莪术主要的炮制品醋饮片研究报道较少, 《中国药典》2010年版中莪术炮制方法为醋煮至透心; 莪术药材根茎较为粗大, 长5~8 cm, 直径4~6 cm。在实际生产中煮至内无白心再切片, 需加热煮6~7 h, 辅料醋在煮制过程中损失殆尽, 同时对莪术挥发性成分影响也极大。本研究采用HPLC法同时分析检测生莪术和醋莪术饮片挥发油中莪术二酮、莪术醇、吉马酮和 β -榄香烯4种有效成分的量, 揭

收稿日期: 2011-07-27

基金项目: 国家科技部重大新药创制项目(2009ZX09308-004); 江苏省高校自然科学研究重大项目(09KJA360001)

作者简介: 顾娟娟(1988—), 女, 江苏盐城人, 硕士研究生, 主要研究方向为中药质量控制及新药研发。

Tel: 15951897015 E-mail: gujuanjuan418@163.com

*通讯作者 毛春芹 Tel: (025)85811835 E-mail: mcq63@163.com

示莪术醋煮过程对莪术挥发油成分变化的影响,对醋莪术饮片的加工炮制及其制剂的质量标准建立和临床应用均有重大的意义。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),包括:四元梯度泵、自动进样器、柱温箱、紫外检测器。

莪术二酮对照品(批号 13657-68-6,上海沪云医药开发有限公司),莪术醇(批号 100185-200506)、吉马酮(牻牛儿酮,批号 111665-200902)、 β -榄香烯(批号 100268-200401)对照品购于中国药品生物制品检定所。

乙腈、甲醇为色谱纯;其他所用试剂均为分析纯;实验用水为石英双重蒸馏水。

莪术药材购自安徽丰原铜陵中药饮片有限公司,均来源于其主产地(四川、广西、浙江),经南京中医药大学药学院巢建国教授鉴定,分别为姜科植物蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis* Val.、广西莪术 *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 及温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥根茎。

取净莪术药材按莪术水处理工艺^[10],润制 20 min,蒸制 30 min,切制规格为 3 mm 的莪术生饮片;取净莪术药材按《中国药典》2010 年版醋煮法,煮至透心,取出,稍凉,切厚片,干燥制得醋煮莪术饮片。药材来源及鉴定结果见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Elite Hypersil ODS-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m, 大连依利特分析仪器有限公司),乙腈(A)-水(B)为流动相进行梯度洗脱:0~20 min, 50%~85% A; 20~30 min, 85~90% A; 下一个循环前用乙腈冲洗色谱柱 10 min,继续用 50% 乙腈平衡 10 min;体积流量 1.0 mL/min;柱温 30 $^{\circ}$ C,进样量 10 μ L,检测波长 214 nm。

2.2 溶液的配制

2.2.1 混合对照品储备液的配制 精密称取 4 种对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,即得含莪术二酮 184.8 μ g/mL、莪术醇 121.8 μ g/mL、吉马酮 127.4 μ g/mL、 β -榄香烯 303.7 μ g/mL 的混合对照品储备溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取莪术药材及不同炮制品饮片,照《中国药典》2010 年版附录 XD 挥发油

表 1 样品来源

Table 1 Sources of samples

样 品	批 号	产地	鉴定结果
药材	100520	浙江	温郁金
	100409	浙江	温郁金
	091226	浙江	温郁金
	091226	四川	蓬莪术
	091226	广西	广西莪术
生饮片	cw100520	浙江	温郁金生饮片
	cw100409	浙江	温郁金生饮片
	cw091226	浙江	温郁金生饮片
	cp091226	四川	蓬莪术生饮片
	ck091226	广西	广西莪术生饮片
醋煮饮片	zcw100520	浙江	醋温郁金饮片
	zcw100409	浙江	醋温郁金饮片
	zcw091226	浙江	醋温郁金饮片
	zcp091226	四川	醋蓬莪术饮片
	zck091226	广西	醋广西莪术饮片

测定法甲法水蒸气蒸馏法提取挥发油,无水硫酸钠脱水,5 $^{\circ}$ C 避光保存,待检测时称取莪术挥发油 0.1 g,精密称定,加甲醇定容至 100 mL,摇匀,0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得。

2.3 专属性试验

分别取空白溶剂、混合对照品储备溶液、样品(cw091226)溶液,注入液相色谱仪中,色谱条件同前,进样 10 μ L,测定,结果表明莪术二酮、莪术醇、吉马酮和 β -榄香烯分离度良好,在各出峰处均无杂质峰干扰,结果见图 1。

2.4 线性关系考察

精密吸取上述混合对照品储备液 1.6、1.2、0.8、0.6、0.4、0.2 mL,置 2 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度,摇匀,即得系列质量浓度混合对照品溶液。分别取各系列质量浓度混合对照品溶液及储备液 10 μ L,进样测定,重复 2 次,按“2.1”项下色谱条件测定峰面积值,以峰面积平均值对质量浓度进行线性回归,得回归方程分别为:莪术二酮 $Y=19\,288\,X+0.741\,9$, $r=0.999\,0$; 莪术醇 $Y=3\,271.4\,X+45.98$, $r=0.999\,3$; 吉马酮 $Y=38\,511\,X+128.51$, $r=0.999\,2$; β -榄香烯 $Y=1\,980.7\,X+33.554$, $r=0.999\,1$; 结果表明莪术二酮在 18.48~184.8 μ g/mL、莪术醇在 12.18~121.8 μ g/mL、吉马酮在 12.74~127.4 μ g/mL、 β -榄香烯在 30.37~303.7 μ g/mL 线性关系良好。

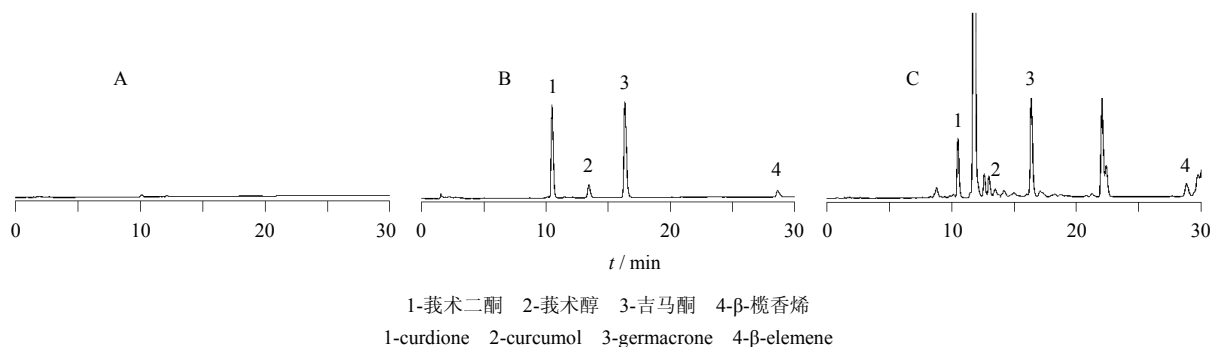


图1 空白溶剂 (A)、混合对照品 (B) 和样品 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank solution (A), mixed reference substances (B), and sample (C)

2.5 精密度试验

取混合对照品溶液 (莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 β -榄香烯质量浓度分别为 73.92、48.72、50.96、121.48 $\mu\text{g/mL}$), 连续进样 6 次, 每次进样 10 μL , 测定莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 β -榄香烯的峰面积值, 计算得其 RSD 分别为 2.75%、2.67%、2.84%、2.67%。

2.6 稳定性试验

取批号为 cw091226 的莪术挥发油样品 0.1 g, 制备供试品溶液, 每隔 2 h 进样 10 μL , 进行测定, 计算 12 h 内峰面积的 RSD 值, 结果莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 β -榄香烯的 RSD 分别为 0.39%、1.24%、0.46%、0.51%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取批号为 cw091226 的挥发油样品 0.1 g, 精密称定, 按供试品溶液制备项下方法平行制备样品 6 份, 在上述色谱条件下, 进样 10 μL , 进行测定, 计算得莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 β -榄香烯峰面积的 RSD 分别为 0.13%、0.79%、0.17%、0.31%。

2.8 加样回收率试验

取 9 份批号为 cw091226 的莪术挥发油 0.05 g, 精密称定, 分别置于具塞锥形瓶中, 再精密加入含莪术二酮 2.606 3 mg/mL、莪术醇 3.490 4 mg/mL、吉马酮 1.001 7 mg/mL、 β -榄香烯 5.062 1 mg/mL 对照品储备溶液 1.2、1.0、0.8 mL (每个质量浓度取 3 份), 照供试品溶液制备项下制备样品, 注入液相色谱仪中, 色谱条件同前, 进样 10 μL , 计算加样回收率。结果莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 β -榄香烯的平均回收率分别为 101.14%、100.87%、99.88%、100.15%, RSD 分别为 2.9%、3.8%、2.6%、3.4%。

2.9 样品测定

取各批次莪术药材、生饮片和醋饮片挥发油样品 0.1 g, 精密称定, 按供试品溶液制备项下方法制备, 得供试品溶液, 每份样品平行两份, 并按上述色谱条件测定, 计算 4 种成分的平均质量分数, 结果见表 2。与相应药材比较, 生饮片挥发油中 β -榄香烯的量下降 10%~20%, 吉马酮下降 20%, 莪术醇下降 20%, 莪术二酮下降 10%~20%, 醋煮后 β -榄香烯的量下降 70%~80%, 吉马酮下降 45%~70%, 莪术醇下降 50%~70%, 莪术二酮下降 60%~70%。

表2 莪术中倍半萜类成分测定 ($n=2$)Table 2 Determination of sesquiterpenes in *Curcuma Rhizoma* ($n=2$)

批号	质量分数 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	莪术二酮	莪术醇	吉马酮	β -榄香烯
100520	104.32	48.43	70.98	138.56
100409	99.28	44.73	71.32	188.35
091226	55.51	59.46	62.99	180.24
091226	141.72	65.01	56.18	121.83
091226	151.22	62.52	66.61	160.21
cw100520	86.38	42.69	59.67	117.48
cw100409	86.25	39.29	60.79	158.56
cw091226	47.22	48.60	52.22	166.90
cp091226	118.10	57.89	49.01	109.86
ck091226	121.03	52.10	55.51	149.99
zcw100520	42.43	23.46	33.01	48.63
zcw100409	26.65	21.98	32.52	66.38
zcw091226	26.23	23.84	29.08	51.64
zcp091226	56.39	27.18	23.22	40.45
zck091226	47.17	19.85	21.45	38.99

3 讨论

3.1 色谱柱的选择

在色谱柱的选择上, 本实验比较了 Akzonobel Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Elite Hypersil ODS 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 和 Hanbon C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 分别进等量体积的同一样品并采用相同的色谱条件进行分离。结果表明, 采用 Elite Hypersil ODS 柱, 4 种指标性成分均能出峰, 保留时间较短, 各峰间分离度和对称性较好, 分离效果最佳。

3.2 供试品溶液的制备

在供试品溶液的制备方面, 本实验比较了不同的取样量对测定结果的影响, 结果表明影响甚微。样品取样量约 1 g 时, 准确度实验中需加入的对照品量均在 10 mg 以上, 取样量约 0.5 g 时, 准确度实验中需加入的对照品量均在 5 mg 以上, 不宜采用。经比较发现, 在保证样品测定结果准确的情况下, 精密称定 0.1 g 挥发油样品溶于 100 mL 甲醇为宜。

3.3 醋煮对 4 种倍半萜类成分量的影响

实验结果表明, 生饮片中莪术二酮、莪术醇和吉马酮的量与已有文献基本一致^[11], 证明本实验方法准确可靠; 莪术经醋煮至透心后, 挥发油中 4 种倍半萜类成分较之生饮片损失 50% 左右, β-榄香烯损失甚至超过 60%, 莪术挥发油中莪术二酮等 4 种活性成分均为熔、沸点较低的倍半萜类成分, 加热过程中较易挥发, β-榄香烯沸点最低, 故损失极为严重。

王普霞等^[12]研究表明莪术醋炙品较醋煮品更能发挥活血化瘀的功效, 莪术醋炙过程中需将莪术切厚片后加醋润制 20 min, 加热炒制 5 min, 对成

分影响较小, 较能发挥醋制增效的作用。

本实验方法简便、快速、准确, 为制定醋莪术饮片的质量标准和质量控制提供了依据, 同时对于《中国药典》2015 年版莪术饮片炮制项的起草修订具有参考价值。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 陆兔林, 毛春芹, 宋 珅, 等. 正交法优选莪术醋处理工艺 [J]. 中成药, 2006, 28(9): 1306-1308.
- [3] 黄臣虎, 陆 茵, 孙志广, 等. 莪术抗癌作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2010, 41(10): 1745-1747.
- [4] 中华本草编委会. 中华本草 (第 8 卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [5] 崔 友, 孙秀燕, 张 慧. 薄层色谱法鉴定莪术油中倍半萜类成分的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(7): 1119-1121.
- [6] 姜国非, 毛春芹, 陆兔林, 等. 不同产地醋莪术饮片中 β-榄香烯的含量比较 [J]. 中国药房, 2010, 21(39): 3697-3699.
- [7] 袁慧慧, 何正有, 戚冯展, 等. 毛细管气相色谱法测定莪术油微纳囊中莪术醇 [J]. 中草药, 2007, 38(1): 55-57.
- [8] 姜国非, 陆兔林, 毛春芹, 等. 不同产地醋莪术饮片中莪术二酮、莪术醇、吉马酮和 β-榄香烯含量的比较 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(21): 2834-2837.
- [9] 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): 163-165.
- [10] 宋 珅, 陆兔林, 陈海龙. 正交法优选莪术水处理工艺 [J]. 中成药, 2004, 26(4): 297-300.
- [11] 袁文娟, 田颂九, 张启明, 等. HPLC 同时测定莪术油及其注射液中 3 种成分的含量 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(3): 168-170.
- [12] 王普霞, 周春祥, 陆兔林. 莪术不同炮制品活血化瘀作用研究 [J]. 中成药, 2004, 26(11): 905-906.