

## 基于 pH 值动态变化的川产道地药材蓬莪术醋制前后化学成分差异研究

高天慧, 廖婉\*, 傅超美\*, 杨立诚, 郑义雷, 陈诗韵, 陈雯清

成都中医药大学药学院 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137

**摘要:** 目的 测定蓬莪术炮制过程中 pH 值及 7 种成分(双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、莪术二酮、莪术醇、吉马酮、 $\beta$ -榄香烯)量的动态变化, 从而对所含的姜黄素类和挥发油类成分在醋制过程中受水、热、酸等外界因素的作用而发生的化学成分量变化进行研究。方法 分别以蒸馏水、9°米醋、9%醋酸水溶液对蓬莪术进行炮制, 并对特定时间点的水液 pH 值进行测定, 用 SPSS 软件对所得数据进行分析; 采用 HPLC 方法同时测定生品组、空白组、醋制组和参照组蓬莪术样品中 7 种成分的量, 并对其量的变化进行分析。结果 与空白组相比, 醋制组和参照组最终的 pH 值偏低且无显著差异; 与空白组和参照组相比, 醋制组中测定的 3 种姜黄素类成分量均增加 [双去甲氧基姜黄素质量分数为 (0.002 320  $\pm$  0.000 344) mg/g、去甲氧基姜黄素质量分数为 (0.059 65  $\pm$  0.015 64) mg/g、姜黄素质量分数为 (0.272 5  $\pm$  0.125 2) mg/g], 而测定的挥发油类成分有不同程度地降低。结论 在炮制过程中, 药用辅料 9°米醋中的主要有效成分可能是醋酸; 米醋中的醋酸及其他少量有机成分可能通过调节 pH 值来保护蓬莪术药材中化学成分不被水、热、酸破坏; 通过对不同成分保护程度的差异来调节蓬莪术醋制前后毒效成分的减加, 不仅体现了 9°米醋作为药用辅料的科学性, 也为进一步研究蓬莪术醋制“减毒增效”物质基础提供了新思路。

**关键词:** 蓬莪术; 醋制; pH 值; HPLC; 姜黄素类化合物; 挥发油类化合物

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)24 - 5174 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.24.018

## Research on changes of chemical components in Sichuan authentic herbs of *Curcuma Phaeocaulis* processed with rice vinegar and decocted by detecting based on dynamic variation of pH value

GAO Tian-hui, LIAO Wan, FU Chao-mei, YANG Li-cheng, ZHENG Yi-lei, CHEN Shi-yun, CHEN Wen-qing  
State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources,  
Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

**Abstract: Objective** To determine the dynamic variation of pH value and seven components including bisdemethoxycurcumin, demethoxycurcumin, curcumin, curdione, curcumol, germacrone and  $\beta$ -elemene during *Curcuma Phaeocaulis*' processing, in order to study its curcuminoids and volatile oils components in the process of rice vinegar production affected by external factors such as water, heat, and acid. **Methods** *C. phaeocaulis* were processed by using distilled water, 9° rice vinegar, and 9% acetic acid aqueous. The pH value of the decoction at a specific time point in 10 batches was detected. The data were analyzed by SPSS software. The content of seven components in the samples of the raw crude group, the blank group, the vinegar group, and the reference group were determined by HPLC method, and the change of the content was analyzed. **Results** Compared with the blank group, the vinegar group and reference group showed low pH value, and there was no significant difference; Compared with the blank group and reference group, the contents of three curcuminoids in the vinegar group increased [the mass fraction of bisdemethoxycurcumin is (0.002 320  $\pm$  0.000 344) mg/g, the mass fraction of demethoxycurcumin is (0.059 65  $\pm$  0.015 64) mg/g, the mass fraction of curcumin is (0.272 5  $\pm$  0.125 2) mg/g], and the contents of volatile oils decreased in different degrees. **Conclusion** During the processing progress, the main active constituents of pharmaceutic adjuvant 9° rice vinegar might be acetic acid; The acetic acid and other organic principles of rice vinegar might protect the chemical constituents in *C. phaeocaulis* by regulating pH value; The toxicity degree of *C. phaeocaulis* before and after processing

收稿日期: 2017-08-19

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (81403103); 中药资源四川省青年科技创新研究团队项目 (2015TD0028); 成都中医药大学校基金项目 (CGPY1605, ZRYY1721)

作者简介: 高天慧 (1994—), 女, 药剂学在读硕士。Tel: 18728401049 E-mail: gaotianhui1349@163.com

\*通信作者 廖婉, 女, 博士, 副教授, 主要从事新制剂、新剂型和中药炮制工艺与机制研究。E-mail: liaowan2011@126.com  
傅超美, 男, 博士, 教授, 主要从事新制剂、新剂型和中药炮制工艺与机制研究。E-mail: chaomeifu@126.com

with vinegar was regulated by different protecting degrees of different component. It not only reflects the scientificity of 9° rice vinegar as a pharmaceutic adjuvant, but also offers a new method to study the material basis of *C. phaeocaulis* processing with rice vinegar.

**Key words:** *Curcuma phaeocaulis* Val.; processing with vinegar; pH; HPLC; curcuminooids; volatile oils

川产道地药材蓬莪术为姜科植物蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis* Val. 的干燥根茎<sup>[1]</sup>。主要功效为行气破血、消积止痛，主治癥瘕痞块、瘀血经闭、胸痹心痛、食积胀痛等症，为中医临床常用的破血消癥要药。蓬莪术的炮制首见于《雷公炮炙论》：“凡使，于砂盆中用醋磨，令尽，然后于火畔吸令干，重筛过用”。《本草便读》也提到“每每与三棱并用，或嫌其峻厉，当以醋炒用之”。目前，有研究表明蓬莪术生品行气作用略强，醋制品破血之效更胜一筹，且更适宜于“气滞血瘀”<sup>[2]</sup>。还有研究显示醋制蓬莪术能起到一定的减毒增效作用<sup>[3]</sup>。药理研究表明，醋莪术具有抗氧化<sup>[4]</sup>、抗肿瘤<sup>[5-6]</sup>、抗炎<sup>[7]</sup>、抗肝纤维化等作用<sup>[8]</sup>。

蓬莪术的有效成分主要是姜黄素类和挥发油类成分。其中姜黄素类成分主要包括姜黄素、去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素等；挥发油类成分主要为莪术二酮、β-榄香烯、吉马酮、莪术醇等倍半萜类成分<sup>[9-10]</sup>。因为2类化合物性质差异较大，目前国内研究通常是仅选择其一作为标准进行分析评价<sup>[11-13]</sup>，故蓬莪术醋制前后2类成分的整体变化尚未明确。本实验将测定蓬莪术药材不同的炮制过程中pH值的动态变化，并建立在同一色谱条件下同时测定两类化合物的方法，将pH值及化学成分量的变化相关联，探寻水、热、酸等因素对蓬莪术炮制前后所含成分的影响，为明确醋制前后蓬莪术“醋入肝经血分”中医理论及其“减毒增效”的作用机制奠定基础。

## 1 仪器及材料

Fe20K pH计（瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司）；Agilent 1200液相色谱仪（美国安捷伦公司）、Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub>（150 mm×4.6 mm, 5 μm）色谱柱（美国安捷伦公司）；乙腈（色谱纯，美国Sigma-Aldrich公司）、甲酸（成都市科龙化工试剂厂，色谱纯）；双去甲氧基姜黄素（CAS: 33171-05-0，批号140613）、去甲氧基姜黄素（CAS: 24939-17-1，批号140815）、姜黄素（CAS: 458-37-7，批号140612）、莪术二酮（CAS: 13657-68-6，批号141212）、莪术醇（CAS: 4871-97-0，批号140816）、吉马酮（CAS: 6902-91-6，批号140521）购于四川省维克奇生物科技有限公司，质量分数均≥98%；β-榄香烯（CAS:

515-13-9，批号100268-200401）购于中国食品药品检定研究院（HPLC级，质量分数99.4%）；9°米醋（佛山市海天调味食品股份有限公司，批号20150210）、冰醋酸（成都市联合化工试剂研究所，批号201411041）。蓬莪术药材采集于其道地产区四川省，经成都中医药大学中药标本中心鉴定为蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis* Val.，具体信息见表1。

表1 10批蓬莪术药材采集情况

Table 1 Purchase 10 batches of *C. phaeocaulis* in real estate areas

编号	产地
1	四川省双流县胜利镇
2	四川省双流县胜利镇
3	四川省双流县黄水镇
4	四川省新津县兴义镇
5	四川省彭山县黄丰镇
6	四川省双流县黄水镇
7	四川省青神县黑龙镇
8	四川省彭山县谢家镇
9	四川省青神县瑞峰镇
10	四川省双流县兴隆镇

## 2 方法与结果

### 2.1 蓬莪术样品的炮制

实验分别设生品组、空白组、醋制组、参照组。生品组为蓬莪术饮片，不经任何处理。醋制组用前期蓬莪术醋制专利方法（专利号ZL 2013 1 0400255.2），即取蓬莪术生品适量，加入30%量的9°米醋，拌匀闷润2 h，煮至醋液收干，置于120 °C中干燥30 min，取出稍冷，干燥即得<sup>[14-15]</sup>。空白组由蒸馏水替代9°米醋，其余方法同醋制组。参照组由9%醋酸水溶液替代9°米醋，其余方法同醋制组。

### 2.2 蓬莪术样品炮制过程中pH值的测定

除生品组外，各组样品炮制过程中以pH计检测煎液中的pH值。分别在加入9°米醋、蒸馏水、9%醋酸水溶液混匀后，闷润2 h点火加热至刚沸腾时开始计时，分别在0、5、10、15、20 min时，从煎液中均匀取少量冷却至室温，以pH计测定。测定结果用SPSS软件进行方差分析，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。由表2可知，空白组样品pH值在炮制过程中

表 2 3 组蓬莪术药材炮制过程中 pH 值的变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )Table 2 pH change of three groups in processing ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	pH 值					
	混匀后	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min
空白	7.16±0.29	6.94±0.28	6.73±0.21	6.53±0.19	6.36±0.15	6.33±0.15
醋制	3.83±0.08	3.97±0.09	4.22±0.08	4.41±0.10	4.60±0.13	4.75±0.07
参照	3.86±0.10	3.97±0.09	4.21±0.11	4.39±0.10	4.58±0.10	4.77±0.09

逐渐降低, 而醋制组与参照组样品的 pH 值在炮制过程中从混匀后逐渐升高, 但醋制组样品 pH 值始终略大于参照组。但与空白组相比, 醋制组和参照组最终的 pH 值偏低且无显著差异。此外还测定了等量的混合液(即 40 mL 9° 米醋和 600 mL 蒸馏水)在相同条件下(即除了未加入饮片, 其余条件均同醋制组)煎煮过程中 pH 值的变化, 从混匀后、开始沸腾、每 5 分钟测定所得 pH 值分别为 2.88、2.93、2.90、2.89、2.89、2.90, 可见其一直稳定在 2.90 左右, pH 值并不会随加热时间延长及水液蒸发减少而变动, 故可排除炮制过程中水液蒸发对 pH 值的影响。

### 2.3 蓬莪术炮制过程中化学成分量的测定

**2.3.1 色谱条件** 流动相为 1% 醋酸水溶液(A)-乙腈(B)-水(C), 梯度洗脱条件见表 3; 体积流量 1 mL/min, 420、214 mm 双波长检测, 柱温 25 °C, 进样量 5 μL。

**2.3.2 混合对照品溶液的制备** 分别精密称定双去甲氧基姜黄素 4.01 mg、去甲氧基姜黄素 10.01 mg、

表 3 梯度洗脱程序

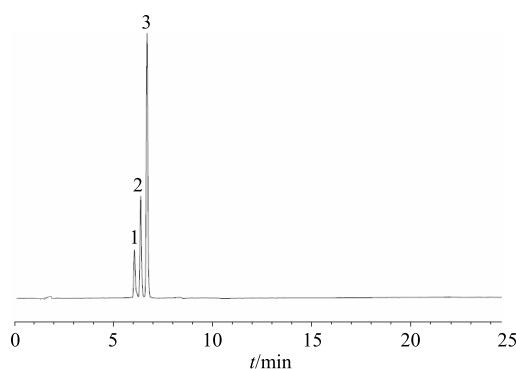
Table 3 Program of gradient elution

t/min	流动相组成		
	A/%	B/%	C/%
0~5	60~40	40~60	0
5~8	40~0	60~20	0~80
8~10	0	20~60	80~40
10~15	0	60~80	40~20
15~25	0	80~95	20~5
25~28	0	95~40	5~60

表 4 7 种成分的线性回归方程

Table 4 Linear regression equation of seven components

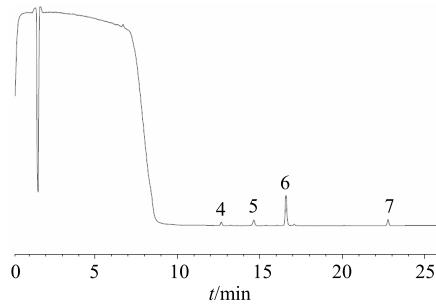
化学成分	回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围/(μg·mL <sup>-1</sup> )
双去甲氧基姜黄素	$Y=42.772X-1.7024$	0.9997	0.0004010~0.0080200
去甲氧基姜黄素	$Y=34.851X-1.2536$	0.9995	0.0010010~0.0200200
姜黄素	$Y=36.149X-12.634$	0.9994	0.0025425~0.0508500
莪术二酮	$Y=3.993.9X+3.7901$	0.9993	0.0050300~0.1006000
莪术醇	$Y=2.565.7X+2.4125$	0.9996	0.0166075~0.3321500
吉马酮	$Y=13.048X+305.94$	0.9995	0.0129875~0.2597500
β-榄香烯	$Y=1.059.8X+9.1035$	0.9993	0.0331400~0.6628000



1-双去甲氧基姜黄素 2-去甲氧基姜黄素 3-姜黄素  
1-bisdemethoxycurcumin 2-demethoxycurcumin 3-curcumin

图1 DAD 420 nm 下测得姜黄素类对照品色谱图

Fig. 1 HPLC of curcumin mixed reference substance by DAD 420 nm



4-莪术二酮 5-莪术醇 6-吉马酮 7-β-榄香烯  
4-curdione 5-curcumol 6-germacrone 7-β-elemene

图2 DAD 214 nm 下测得挥发油类对照品色谱图

Fig. 2 HPLC of volatile oil mixed reference substance by DAD 214 nm

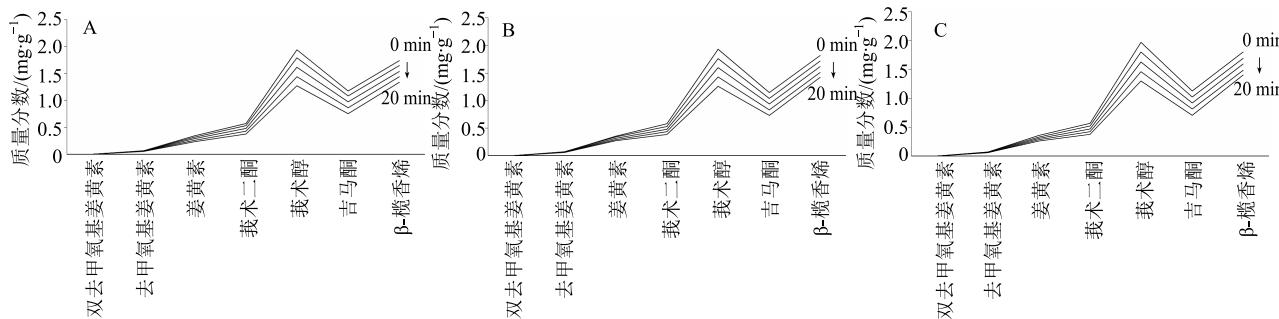


图3 空白组 (A)、醋制组 (B)、参照组 (C) 样品在炮制过程中 7 种成分的质量分数随时间动态变化

Fig. 3 Change of seven components of blank group (A), vinegar group (B), and reference group (C) in processing

### 3 讨论

由表2可见，空白组pH值由 $7.16 \pm 0.29$  经过炮制后平缓降至 $6.33 \pm 0.15$ ，可能是由于蓬莪术中姜黄素类成分为酸性多酚，随着其溶出，使pH值逐渐降低。而由于姜黄素类成分为弱酸，且量较低，

酮、莪术醇、吉马酮和 $\beta$ -榄香烯的峰面积RSD值分别为1.37%、1.62%、1.03%、1.98%、1.35%、2.19%、2.86%。

**(3) 稳定性试验** 取供试品(醋制组)溶液，按“2.3.1”项下色谱条件，分别在0、2、4、8、12、24 h进样分析，计算各成分峰面积的RSD值均 $<2.0\%$ 。

**(4) 重复性试验** 取蓬莪术饮片(醋制组)，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液6份，按“2.3.1”项下色谱条件进样，测定并计算，得各成分峰面积的RSD值均 $<5.0\%$ 。

**2.3.5 样品测定** 按上述方法分别测定10批蓬莪术的生品组及其通过炮制所得的空白组、醋制组、参照组中双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、莪术二酮、莪术醇、吉马酮和 $\beta$ -榄香烯的量。分别在0、5、10、15、20 min时，从煎液中均匀取少量冷却至室温，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.3.1”项下色谱条件进样，平行测定3次，由各组在炮制过程中不同时间点得到的峰面积换算成质量分数，结果见图3。再取炮制后的3组样品及生品组样品，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.3.1”项下色谱条件进样，平行测定3次，再计算10批药材各组成分的平均质量分数，根据峰面积换算成质量分数，结果见表5。由图3可知，空白组、醋制组和参照组样品在炮制过程中7种成分的质量分数随时间增加而逐渐降低；由表5可知，与生品组相比，空白组、醋制组、参照组在炮制后7种成分的量均有所降低，但降低的程度并不相同。

在其他更多成分溶出的背景下，对水煎液的pH值影响有限。醋制组与参照组pH值分别由混匀时的 $3.83 \pm 0.08$  和 $3.86 \pm 0.10$ ，经过炮制后逐渐增长至 $4.75 \pm 0.07$  和 $4.77 \pm 0.09$ ，推测是蓬莪术中有成分溶出，与氢离子结合后降低了水液的酸性。同时，2

表 5 药材各组莪术炮制前后有效成分量的对比 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )Table 5 Comparison on content of seven components in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )						
	双去甲氧基姜黄素	去甲氧基姜黄素	姜黄素	莪术二酮	莪术醇	吉马酮	β-榄香烯
生品	0.002 348 ± 0.000 550	0.060 18 ± 0.015 64	0.330 3 ± 0.148 2	0.454 4 ± 0.106 4	1.641 8 ± 0.323 7	0.845 2 ± 0.239 8	1.875 5 ± 0.471 2
空白	0.002 140 ± 0.000 457	0.054 43 ± 0.009 63	0.231 9 ± 0.088 3	0.376 1 ± 0.088 2	1.272 3 ± 0.399 2	0.750 8 ± 0.278 3	1.337 4 ± 0.400 3
醋制	0.002 320 ± 0.000 344	0.059 65 ± 0.015 64	0.272 5 ± 0.125 2	0.387 0 ± 0.062 3	1.261 2 ± 0.405 9	0.729 5 ± 0.142 5	1.421 3 ± 0.396 6
参照	0.002 210 ± 0.000 454	0.058 29 ± 0.015 82	0.264 2 ± 0.109 4	0.374 9 ± 0.086 4	1.301 8 ± 0.287 0	0.709 4 ± 0.215 4	1.403 6 ± 0.369 3

组 pH 值变化差异较小且增长幅度近似, pH 值变化曲线几乎重合, 无明显差异, 说明炮制辅料米醋中, 发挥主要作用的成分可能为醋酸。

由表 5 和图 3 可知, 在炮制过程中, 7 种成分的量均随着炮制时间的增加而不断减少。参照组 pH 值虽略低于醋制组, 但醋制组中姜黄素量变化更均匀稳定, 最终炮制得醋制组 pH 值低于参照组 pH 值, 且醋制组样品中姜黄素量均大于空白组和参照组。再者, 醋制组的双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、莪术二酮、吉马酮和 β-榄香烯的量均大于参照组。提示醋酸虽为调节 pH 值的主要成分, 但醋制组的药用辅料 9° 米醋中, 含有的少量的其他有机成分也对两大类成分起到了一定的保护作用, 体现了米醋作为药用辅料的科学性。

炮制前后, 空白组与生品组相比, 2 类成分的量均降低, 说明水热因素会破坏姜黄素类和挥发油类成分的稳定性, 易造成这 2 类物质的挥发和降解; 与空白组相比, 加入酸性辅料炮制后的醋制组和参照组中, 虽然挥发油类成分损失较大, 但姜黄素类成分损失较少, 推测可能是炮制过程中, 加入的酸性辅料使得水液环境 pH 值降低, 从而能够保护姜黄素类成分在酸性环境下不被高温过多地破坏; 另外, 醋制组与空白组相比, 双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、莪术二酮和 β-榄香烯的量均有不同程度地增加, 而莪术醇和吉马酮的量有所降低, 推测可能是 9° 米醋通过调节 pH 值, 针对不同的成分, 使其在酸性环境下发生了不同的化学反应, 进而影响了其量的变化<sup>[13]</sup>, 为进一步研究蓬莪术醋制“减毒增效” 物质基础提供了新思路。

## 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 甘彦雄, 赵思蕾, 罗妮妮, 等. 蓬莪术醋制前后“行气破血” 功效变化对比研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2015, 29(2): 29-32.
- [3] 甘彦雄, 郑勇凤, 汪 蕾, 等. 基于 ICP-MS 分析蓬莪术醋制前后煎液及沉淀物重金属转移率变化 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(1): 65-69.
- [4] 覃 欢. 醋温莪术的化学成分及抗氧化活性研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2010.
- [5] 覃 蔚, 谢金鲜, 杨海玲, 等. 广西莪术不同炮制品姜黄素含量比较及体内抗肿瘤作用研究 [J]. 中药材, 2010, 33(9): 1379-1382.
- [6] Chen X, Pei L, Zhong Z, et al. Anti-tumor potential of ethanol extract of *Curcuma phaeocaulis* Val. eton against breast cancer cells [J]. *Phytomed Inter J Phytother Phytopharmacol*, 2011, 18(14): 1238-1243.
- [7] 宋 珪, 陆兔林, 李 林, 等. 莪术不同炮制品镇痛抗炎作用研究 [J]. 中医药学刊, 2005, 23(3): 443-444.
- [8] 平 键, 成 扬, 徐列明. 姜黄素通过激活过氧化物酶体增殖子活化受体 γ 诱导肝星状细胞凋亡 [J]. 中国药理学通报, 2007, 23(10): 1295-1299.
- [9] 孙 静, 孙艳涛, 张振秋. 中药莪术中姜黄素、去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素的含量测定 [J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(8): 714-716.
- [10] 顾娟娟, 姜国非, 陆兔林, 等. 莪术不同炮制品挥发油中 4 种倍半萜类成分的比较 [J]. 中草药, 2012, 43(4): 702-705.
- [11] 刘会珍, 陆兔林, 毛春芹, 等. 不同炮制方法对莪术挥发油及其 4 种主要活性成分的影响 [J]. 中成药, 2012, 34(6): 1132-1135.
- [12] 罗妮妮, 傅超美, 甘彦雄, 等. 川产道地药材蓬莪术醋制前后 GC-MS 指纹图谱对比研究 [J]. 药物分析杂志, 2014, 34(11): 1995-2000.
- [13] 廖 婉, 傅 舒, 刘 芳, 等. 星点设计-效应面法优选蓬莪术醋制工艺 [J]. 中药与临床, 2011, 2(6): 22-24.
- [14] 罗妮妮, 程 玲, 傅超美, 等. 正交试验结合人工神经网络模型优化蓬莪术炮制工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(24): 10-13.
- [15] 韩 刚, 霍 文, 李秋影, 等. 姜黄素的稳定性研究 [J]. 中成药, 2007, 29(2): 291-293.