

## 香附醋制前后香附烯酮、圆柚酮和 $\alpha$ -香附酮的含量比较

卢君蓉<sup>1</sup>, 李文兵<sup>2</sup>, 王世宇<sup>1\*</sup>, 傅超美<sup>1</sup>, 周莉江<sup>1</sup>, 严鑫<sup>1</sup>, 季宁平<sup>1</sup>

(1. 成都中医药大学, 成都 611137; 2. 四川新绿色药业科技发展股份有限公司, 成都 611900)

**[摘要]** 目的: 研究醋制对香附中3种特征性成分香附烯酮、圆柚酮和 $\alpha$ -香附酮含量的影响。方法: 采用HPLC测定醋制前后不同产地香附中3种成分的含量, Phenomenex C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m), 流动相甲醇-水(68:32), 检测波长242 nm, 流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温30  $^{\circ}$ C。结果: 建立的含量测定方法稳定可靠, 香附烯酮、圆柚酮及 $\alpha$ -香附酮线性范围依次为0.260~0.912, 0.028~0.098, 0.082~0.286  $\mu$ g; 平均回收率分别为98.34%, 97.87%, 99.12%, RSD依次为1.48%, 2.03%, 1.37%。11个产地香附生品中香附烯酮、圆柚酮和 $\alpha$ -香附酮的质量分数分别为1.52~4.80, 0.04~0.20, 0.70~1.99 mg·g<sup>-1</sup>; 醋制后3种成分质量分数依次为1.55~4.96, 0.04~0.19, 0.61~1.97 mg·g<sup>-1</sup>。结论: 不同产地香附中3种成分含量差异较大, 醋制后香附烯酮含量升高, 圆柚酮和 $\alpha$ -香附酮含量降低, 为香附的醋制机制研究提供参考。

**[关键词]** 香附; 醋制工艺; 香附烯酮; 圆柚酮;  $\alpha$ -香附酮

**[中图分类号]** R283.1; R284.1; R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)20-0024-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014200024

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140829.1410.007.html>

**[网络出版时间]** 2014-08-29 14:10

## Contents Comparison of Cyperotundone, Nootkatone and $\alpha$ -Cyperone in Cyperi Rhizoma Before and After Vinegar Processing

LU Jun-rong<sup>1</sup>, LI Wen-bing<sup>2</sup>, WANG Shi-yu<sup>1\*</sup>, FU Chao-mei<sup>1</sup>, ZHOU Li-jiang<sup>1</sup>, YAN Xin<sup>1</sup>, JI Ning-ping<sup>1</sup>

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

2. Neo-Green Pharmaceutical Co. Ltd, Chengdu 611900, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate influence of vinegar processing on contents of three characteristic ingredients (cyperotundone, nootkatone and  $\alpha$ -cyperone) in Cyperi Rhizoma. **Method:** HPLC was employed to determine contents of these three characteristic ingredients in Cyperi Rhizoma before and after vinegar processing. A Phenomenex C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m) was adopted with mobile phase of methanol-water (68:32), detection wavelength of 242 nm, column temperature at 30  $^{\circ}$ C and flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. **Result:** This established determination was stable and feasible, linear ranges of these three characteristic ingredients were 0.260-0.912, 0.028-0.098, 0.082-0.286  $\mu$ g, their average recoveries were 98.34%, 97.87%, 99.12% with RSD of 1.48%, 2.03%, 1.37%, respectively. Contents of cyperotundone, nootkatone and  $\alpha$ -cyperone in Cyperi Rhizoma from eleven different origins before vinegar processing were 1.52-4.80, 0.04-0.20, 0.70-1.99 mg·g<sup>-1</sup>, but after been processed, they were 1.55-4.96, 0.04-0.19, 0.61-1.97 mg·g<sup>-1</sup>, respectively. **Conclusion:** Contents of these three ingredients are very different in Cyperi Rhizoma from different origins. The content of cyperotundone increases, while contents of nootkatone and  $\alpha$ -cyperone decrease after been processed by vinegar. This study can provide a reference for mechanism study of vinegar processing research on Cyperi

**[收稿日期]** 20140227(017)

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金项目(81303227); 成都中医药大学青年教师科研基金项目(2014)

**[第一作者]** 卢君蓉, 硕士, 助教, 从事中药新制剂、新剂型与中药质量标准研究, Tel: 028-61800125, E-mail: 634589580@qq.com

**[通讯作者]** \*王世宇, 博士, 副教授, 从事中药新制剂、新剂型与中药质量标准研究, Tel: 028-61800033, E-mail: 497217505@qq.com

Rhizoma.

[Key words] Cyperi Rhizoma; vinegar processing; cyperotundone; nootkatone;  $\alpha$ -cyperone

香附性平,味辛、微苦、微甘,具有疏肝解郁、理气宽中、调经止痛之功效<sup>[1]</sup>。香附生品多入解表剂,以理气解郁为主,如治胸膈痞闷、胁肋疼痛的越鞠丸;醋制后,专入肝经,疏肝止痛作用增强,并能消食化滞,如治疗伤食腹痛的香砂平胃散,故《本草蒙筌》载其:“若理气疼,醋炒尤妙<sup>[2]</sup>。乃血中气药,凡诸血气方中所必用者也。快气开郁,逐瘀调经。”香附醋制后归经和功效发生变化,揭示其内在成分可能发生了改变。李英霞等<sup>[3]</sup>以总黄酮含量为评价指标,考察香附醋制前后成分的含量变化,但由于黄酮类成分在自然界中存在广泛,并非香附的特征性成分,难以准确揭示醋制对香附内在成分的影响。而香附烯酮、圆柚酮、 $\alpha$ -香附酮作为香附所含的3种特征性成分<sup>[4-6]</sup>,可用于表征香附疏肝理气之功效,且含量相对较高,目前尚未见同时测定这3种成分含量以比较香附醋制前后质量差异的报道。本实验采用HPLC同时测定11个不同产地香附生品、醋制品中香附烯酮、圆柚酮及 $\alpha$ -香附酮的含量,比较醋制对这3种成分含量的影响,为深入阐明香附醋制前后归经和功效的变化提供实验依据。

## 1 材料

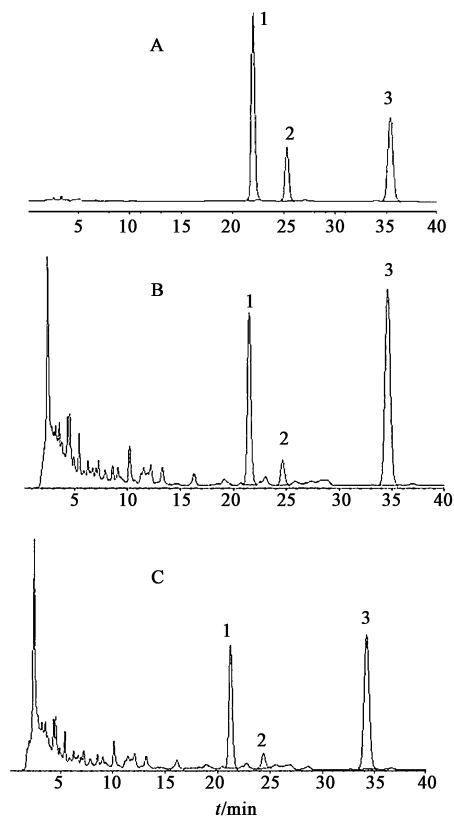
1200系列高效液相色谱仪(G1312B型四元梯度泵,G1322A型脱气机,G1316B型柱温箱,G1329B型自动进样器,G1315C型二极管阵列紫外检测器,美国安捷伦公司),BP211DAG型电子天平(德国Sartorius公司)。

不同产地香附经成都中医药大学卢先明教授鉴定为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎;醋制香附按课题组筛选的工艺平行制备<sup>[7]</sup>,称取香附100 g,量取醋25 mL加水15 mL稀释后与药材拌匀,闷润6 h,于150℃炒制8 min,即得。圆柚酮对照品(美国Sigma公司,批号10112423,纯度>98%), $\alpha$ -香附酮(江西本草天工科技有限责任公司,批号1443-080529,纯度 $\geq$ 98%),香附烯酮(自制,纯度>98%),甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Phenomenex  $C_{18}$  色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m),流动相甲醇-水(68:32),检测波长242 nm,流速1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,柱温30℃。该条件下,各色谱峰与样品中其他组分色谱峰达基线分离,

理论塔板数均>4 000,见图1。



A. 对照品; B. 生品; C. 醋制品;

1. 香附烯酮; 2. 圆柚酮; 3.  $\alpha$ -香附酮

图1 香附 HPLC

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取香附烯酮、圆柚酮及 $\alpha$ -香附酮对照品适量,置于50 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,得混合对照品储备液。精密量取该储备液1 mL,置10 mL量瓶内,加甲醇溶解并稀释至刻度,得质量浓度分别为65.12, 7.02, 20.04 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>的混合对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取不同产地香附生品、醋制品粉末约0.5 g,精密称定,分别置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 mL,称定质量,超声处理(250 W, 40 kHz)30 min,放冷,称定质量,用甲醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,经0.45  $\mu$ m微孔滤膜滤过,即得。

**2.4 线性关系考察** 精密吸取混合对照品溶液4, 6, 8, 10, 12, 14  $\mu$ L,按2.1项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得香附烯酮、圆柚酮及 $\alpha$ -香附酮回归方程分别为 $Y = 1\,282.68X + 5.65$  ( $r = 0.999\,9$ ),  $Y = 4\,122.10X - 1.77$  ( $r = 0.999\,9$ ),

$Y = 3107.71X - 0.69$  ( $r = 0.9999$ ), 线性范围依次为 0.260 ~ 0.912, 0.028 ~ 0.098, 0.082 ~ 0.286  $\mu\text{g}$ 。

**2.5 精密度试验** 精密吸取混合对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 重复进样 6 次, 按 2.1 项下色谱条件测定, 计算香附烯酮、圆柚酮及  $\alpha$ -香附酮峰面积的 RSD 分别为 0.86%, 0.73%, 1.02%, 表明仪器精密度良好。

**2.6 重复性试验** 取同一批样品 6 份, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 精密量取 10  $\mu\text{L}$  进样, 按 2.1 项下色谱条件测定, 计算香附烯酮、圆柚酮及  $\alpha$ -香附酮峰面积的 RSD 分别为 1.25%, 0.96%, 1.53%, 表明该方法重复性良好。

**2.7 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 分别于 0, 1, 2, 4, 8, 16, 24 h 进样 10  $\mu\text{L}$ , 按 2.1 项下色谱条件测定, 计算香附烯酮、圆柚酮及  $\alpha$ -香附酮峰面积的 RSD 分别为 1.37%, 1.26%, 1.58%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.8 加样回收率试验** 精密称取 6 份已知含量的样品约 0.25 g, 各加入混合对照品储备液 1 mL, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 进样 10  $\mu\text{L}$ , 按 2.1 项下色谱条件测定峰面积, 计算香附烯酮、圆柚酮及  $\alpha$ -香附酮的平均回收率分别为 98.34%, 97.87%, 99.12%, RSD 依次为 1.48%, 2.03%, 1.37%, 表明该含量测定方法准确性较好。

**2.9 样品测定** 取不同产地的香附生品及醋制品, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 精密量取 10  $\mu\text{L}$ , 按 2.1 项下色谱条件测定峰面积, 计算各指标成分含量, 结果见表 1。

表 1 香附醋制前后 3 种挥发性成分的含量比较 ( $n = 3$ )  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

No.	产地	香附烯酮		圆柚酮		$\alpha$ -香附酮	
		生品	醋制品	生品	醋制品	生品	醋制品
1	海南海口	2.86	3.04	0.12	0.11	1.19	1.12
2	海南东方	1.52	1.55	0.19	0.18	1.41	1.39
3	海南儋州	4.80	4.96	0.04	0.04	0.70	0.61
4	海南和乐	2.83	2.91	0.14	0.12	1.99	1.97
5	海南兴隆	2.95	2.98	0.10	0.10	1.95	1.91
6	广东湛江	3.57	3.63	0.06	0.04	0.83	0.65
7	广西钦州	1.58	1.66	0.20	0.19	1.63	1.49
8	广西来宾	4.46	4.55	0.07	0.07	0.86	0.83
9	广西北海	3.35	3.46	0.09	0.09	0.86	0.84
10	广东珠海	3.30	3.42	0.15	0.14	0.98	0.94
11	四川广元	3.22	3.27	0.17	0.12	1.43	1.35

由表 1 可知, 不同产地香附药材中香附烯酮、圆柚酮及  $\alpha$ -香附酮的含量差异较大, 醋制对这 3 种特征性成分的含量有一定影响。香附醋制后, 香附烯酮含量升高, 平均升高率 2.97%; 而圆柚酮和  $\alpha$ -香附酮的含量降低, 平均降低率分别为 9.30%, 6.27%。

### 3 讨论

“醋制入肝”为传统中药炮制理论之一, 香附醋制后专入肝经, 疏肝止痛作用增强, 为“醋制入肝”的典型代表中药<sup>[8]</sup>。目前, 香附醋制机制研究相对薄弱, 常以  $\alpha$ -香附酮、木犀草素或总黄酮、阿魏酸等为单一或复合指标<sup>[3,9-11]</sup> 研究香附醋制前后的化学成分变化, 难以全面揭示其醋制原理。本文建立了同时测定香附中 3 种特征性成分香附烯酮、圆柚酮及  $\alpha$ -香附酮含量的 HPLC, 对于表征其内在质量和完善香附的质量控制具有重要意义。

通过比较 11 个不同产地香附醋制前后 3 种特征性成分的含量变化发现, 醋制后香附烯酮含量有所升高, 而圆柚酮和  $\alpha$ -香附酮含量降低, 与文献报道醋制对  $\alpha$ -香附酮的影响结果一致<sup>[9,12]</sup>。香附烯酮、圆柚酮及  $\alpha$ -香附酮均为香附中倍半萜类成分, 为同分异构体, 三者的结构与理化性质存在差异, 且香附质地坚硬, 故推测导致这 3 种成分的量变的原因可能为①醋制过程加热导致某些挥发性成分损失而含量降低; ②醋制可使香附表皮破碎, 质地变得松脆, 更加易于粉碎, 便于成分的溶出, 增加某些成分的含量。但限于本文中选择的香附样本和深度有限, 揭示醋制对 3 种指标成分变化的真正原因还有待更多样本的测定。

### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 241.

[2] 陈嘉谟. 本草蒙筌[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 92.

[3] 李英霞, 韩莉, 藏晔, 等. 香附醋炙前后总黄酮含量研究[J]. 中成药, 2011, 33(2): 361.

[4] 盛菲亚, 卢君蓉, 彭伟, 等. 香附炮制前后挥发油的 GC-MS 指纹图谱对比研究[J]. 中草药, 2013, 44(23): 3321.

[5] Chan E C, Yap S L, Lau A J, et al. Ultra-performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry based metabolomics of raw and steamed *Panax notoginseng* [J]. Rapid Commun Mass Sp, 2007, 21(4): 519.

# 正交试验法优选温阳活血颗粒的提取工艺

马明悦<sup>1</sup>, 张明雪<sup>2</sup>, 田原<sup>2</sup>, 于艳<sup>2</sup>, 周旭<sup>1</sup>, 翟延君<sup>1\*</sup>

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600; 2. 辽宁中医药大学附属医院, 沈阳 110032)

**[摘要]** 目的: 优选温阳活血颗粒的提取工艺。方法: 采用 HPLC 测定芍药苷含量, 流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (14:86), 检测波长 230 nm; 利用 HPLC-ELSD 测定人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 含量, 流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱 (0~35 min, 19% A; 35~55 min, 19%~29% A; 55~70 min, 29% A; 70~100 min, 29%~40% A)。以干膏率和有效成分(人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 和芍药苷)总含量的综合评分为评价指标, 通过正交试验考察加水量、提取时间和提取次数对温阳活血颗粒提取工艺的影响。结果: 最佳提取工艺为加 8 倍量水回流提取 3 次, 每次 1.5 h; 干膏率依次为 39.65%, 人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 和芍药苷提取量分别为 3.49, 2.79, 6.64, 218.60 mg。结论: 优选的提取工艺科学合理、简便可行, 适用于温阳活血颗粒的工业化生产。

**[关键词]** 温阳活血颗粒; 人参皂苷 R<sub>g1</sub>; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>; 芍药苷

**[中图分类号]** R283.6; R289.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)20-0027-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014200027

## Optimization of Extraction Technology for Wenyang Huoxue Granules by Orthogonal Test

MA Ming-yue<sup>1</sup>, ZHANG Ming-xue<sup>2</sup>, TIAN Yuan<sup>2</sup>, YU Yan<sup>2</sup>, ZHOU Xu<sup>1</sup>, ZHAI Yan-jun<sup>1\*</sup>

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Dalian 116600, China;

2. Affiliated Hospital of Liaoning University of TCM, Shenyang 110032, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology of Wenyang Huoxue granules. **Method:** HPLC was adopted to determine the content of paeoniflorin with mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (14:86) and detection wavelength at 230 nm; HPLC-ELSD was employed to determine the content of ginsenoside R<sub>g1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> with mobile phase of acetonitrile (A) -water (B) for gradient elution (0-35 min,

**[收稿日期]** 20140304(018)

**[基金项目]** 沈阳市科技计划项目(F12-155-9-00)

**[第一作者]** 马明悦, 在读硕士, 从事中药质量评价研究, Tel:13704025341, E-mail:mmy0623@126.com

**[通讯作者]** \* 翟延君, 博士, 教授, 从事中药质量评价研究, Tel:13019499386, E-mail:lnzyzyj@sohu.com

[6] Yan G L, Sun H, Sun W J, et al. Rapid and global detection and characterization of aconitum alkaloids in Yin Chen Si Ni Tang, a traditional Chinese medical formula, by ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry and automated data analysis [J]. J Pharm Biomed Anal, 2010, 53(3):421.

[7] 卢君蓉, 王世宇, 傅超美, 等. 香附醋制工艺的优化研究[J]. 成都中医药大学学报, 2012, 35(1):70.

[8] 王世宇, 卢君蓉, 陈秋薇, 等. 香附炮制的历史沿革及现代研究进展[J]. 中药与临床, 2012, 2(6):62.

[9] 侯立静, 吴丽丽, 李英霞. 不同产地香附和醋炙香附中 α-香附酮含量测定 [J]. 陕西中医, 2011, 32(4):480.

[10] 李英霞, 陆永辉, 冯文, 等. HPLC 测定不同产地香附和醋炙香附中木犀草素的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1):56.

[11] 李英霞, 侯立静. HPLC 测定不同产地香附中阿魏酸 [J]. 中成药, 2013, 35(11):2548.

[12] 陈胜璜, 蒋孟良, 袁干军, 等. 香附不同炮制品中 α-香附酮的含量测定 [J]. 中成药, 1999, 21(7):349.

[责任编辑 刘德文]