

不同基源郁金挥发油 GC 指纹图谱的比较

刘玉红,刘倩伶,黄志芳,刘云华,易进海*

(四川省中医药科学院,成都 610041)

[摘要] 目的:通过建立4种基源郁金挥发油的指纹图谱,对其指纹图谱进行比较研究,为制定郁金药材合理的质量控制标准提供参考。方法:采用气相色谱法,HP-5(0.32 μm × 0.32 mm × 30 m)柱;氢火焰离子化检测器(FID);进样口温度280℃,检测器温度300℃;程序升温初温125℃,保持5 min;速率3℃·min⁻¹,升至170℃,保持5 min;速率9℃·min⁻¹,升至260℃,保持0 min。结果:对4种基源20批郁金挥发油进行分析,分别建立了4种郁金挥发油的指纹图谱。黄丝郁金和温郁金样品的相似度均在0.95以上;绿丝郁金样品相似度均在0.99以上;桂郁金相似度在0.9左右。结论:不同基源郁金挥发油的化学组成差异较大,各自对照图谱能反映其特征,为科学制定郁金药材的质量标准提供了参考。

[关键词] 郁金;挥发油;牻牛儿酮;气相色谱法;指纹图谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)24-0166-05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121012.0910.009.html>

[网络出版时间] 2012-10-12 9:10

Comparison Study on GC Fingerprints of Curcumae Radix Volatile Oil

LIU Yu-hong, LIU Qian-ling, HUANG Zhi-fang, LIU Yun-hua, YI Jin-hai*

(Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China)

[Abstract] **Objective:** To provide a reference of reasonable quality control standards through a comparative study of the four fingerprints of four origin plants of Curcumae Radix. **Method:** The separation was performed on HP-5 0.32 μm × 0.32 mm × 30 m column, hydrogen flame ionization detector (FID); injector temperature was 280℃, detector temperature was 300℃; the column oven was begun at 125℃, then programmed from 125℃ to 170℃ at 3℃·min⁻¹, then programmed from 170℃ to 260℃ at 9℃·min⁻¹ and final, held 0 min. **Result:** To analyse 20 batches of volatile oil, the fingerprints of four origin plants of Curcumae

[收稿日期] 20120709(018)

[基金项目] 国家中医药行业专项中药类项目(200807020)

[第一作者] 刘玉红,副研究员,从事中药新药研发,Tel:028-85210843,E-mail:yuhongliu74@163.com

[通讯作者] *易进海,研究员,从事中药化学与质量,Tel:028-85210843,E-mail:yijinhai@yahoo.com.cn

- [20] Lorimer S D, Perry N B, Weavers R T, et al. Isolation and synthesis of beta-miroside an antifungal furanone glucoside from prumnopitys ferruginea [J]. Tetrahedron, 1995, 51(26):7287.
- [21] Lorimer S D, Perry N B, Weavers R T, et al. Isolation and synthesis of beta-miroside an antifungal furanone glucoside from prumnopitys ferruginea [J]. Tetrahedron, 1995, 51(26):7287.
- [22] 许枏,步显坤,贾天柱. 烫狗脊中的酚性化合物研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(8):71.
- [23] Masayuki, Yoshikawa, Hiromi Shimada, et al. Medicinal foodstuffs. V. moroheiya (1): absolute stereostructures of corchoionoside A,B and C, histamine release inhibitor from the leave of *Corchorus olitorius* L. [J]. Chem Pharm Bull, 1997, 45(3):464.
- [24] Nobutoshi Tanaka, Hidio Sakai, Takao Murkami. chemisch and chemotaxonomisch untersuchungen derpterophyten. LXII. Chemisch und untersuchungen der inhaltsstoffe von Arachinodes maximoviczii OHWI [J]. Chem Pharm Bull, 1986, 34(3):1015.
- [25] 刘平怀,汪春牛,陈德力,等. DPPH 法测定青皮加速溶剂萃取提取物的抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(21):69.

[责任编辑 邹晓翠]

Radix were established. The fingerprint similarity value of the *Curcuma longa* and *C. wenyujin* is above 0.95; the fingerprint similarity value of the *C. phaeocaulis* is above 0.99; the fingerprint similarity value of the *C. kwangsiensis* is about 0.90. **Conclusion:** It displayed marked differences between four origin plants of Curcumae Radix volatile oil chemical constituents and everyone's fingerprint could describe own chemical constituents. So we provide the data support for establishing scientific quality control standards of Curcumae Radix.

[**Key words**] Curcumae Radix; volatile oil; germacron; GC; fingerprint

郁金是姜科植物温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling、姜黄 *C. longa* L.、广西莪术 *C. kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 或蓬莪术 *C. phaeocaulis* Val. 的干燥块根,前两者分别习称为“温郁金”、“黄丝郁金”,其余按性状不同习称为“桂郁金”和“绿丝郁金”^[1]。现代研究表明郁金在保肝利胆、抗肿瘤及降血脂等方面作用突出。郁金中主要含挥发油、姜黄素等成分,其中挥发油为郁金抗肿瘤的有效成分,姜黄素为降血脂、抗氧化、抗炎的主要有效成分^[2-3],但除黄丝郁金外,其他3种郁金很少或不含姜黄素类成分,而不同基源郁金均含挥发油,故挥发油是需要重点研究的对象。已有研究表明郁金挥发油主要成分有姜黄烯、姜黄酮、芳姜黄酮、姜烯、莪二酮、牻牛儿酮、芳姜黄烯、莪术醇及呋喃二烯^[3-4],另有文献报道 HPLC 对单一基源郁金挥发油进行指纹图谱研究^[5-6],但目前尚未见有文献对4种

郁金挥发油指纹图谱进行系统的比较研究。由于挥发油中成分多为末端吸收,采用液相色谱法干扰较大,且由于在不同基源药材中含量差异极大,有些样品难以检出,故本实验以水蒸气蒸馏得到的挥发油为研究对象,采用气相色谱法,以牻牛儿酮为参照组分,对郁金挥发油指纹图谱进行比较研究,为郁金药材质量控制提供参考。

1 仪器、试剂与药品

气相色谱仪,Agilent7890A 气相色谱仪(FID 检测器),Agilent 气相色谱工作站;郁金药材由四川省中医药科学院中药资源与种植研究所提供,并由舒光明研究员鉴定。药材基源、产地及采收时间见表1。牻牛儿酮对照品(含量测定用,批号 111665-200902)购于中国药品生物制品检定所。试剂均为分析纯。

2 方法与结果

表1 郁金药材产地、采收时间及挥发油含量测定

样品	样品号	产地	采样日期	挥发油含量/%
黄丝郁金 <i>Curcumalonga</i>	H1	双流金桥镇舟渡村	2010-02	0.36
	H2	崇州三江镇宋桥村	2010-04	1.21
	H3	崇州三江镇听江村	2010-03	1.34
	H4	崇州三江镇宋桥村	2010-03	0.82
	H5	双流金桥镇永和村	2010-03	1.27
绿丝郁金 <i>C. phaeocaulis</i>	L1	崇州三江镇宋桥村	2010-04	0.20
	L2	崇州三江镇宋桥村	2010-02	0.24
	L3	双流金桥镇舟渡村	2010-04	0.25
	L4	崇州三江镇听江村	2010-03	0.26
	L5	崇州三江镇听江村	2010-03	0.28
桂郁金 <i>C. kwangsiensis</i>	G1	广西(购于荷花池药材市场)	2010-04	-
	G2	广西(购于荷花池药材市场)	2010-04	-
	G3	广西灵山县陆屋镇	2010-01	-
	G4	广西灵山县烟墩镇	2010-07	-
	G5	广西灵山县烟墩镇	2010-07	-
温郁金 <i>C. wenyujin</i>	W1	瑞安市陶山镇沙三村	2010-03	0.51
	W2	瑞安市陶山镇沙三村	2010-03	0.19
	W3	瑞安市陶山镇沙二村	2010-03	0.39
	W4	瑞安市陶山镇沙一村	2010-04	0.34
	W5	瑞安市陶山镇沙一村	2010-03	0.49

注:“-”为挥发油量极少,难以读数。

2.1 供试品的制备 参照《中国药典》2010 年版一部附录 X D 挥发油测定方法甲法的方法,采用水蒸气蒸馏法测定郁金挥发油的含量,所得挥发油加无水硫酸钠脱水,称取挥发油 2 滴(约 45 ~ 50 mg),精密称定,置 5 mL 量瓶中,加乙酸乙酯至刻度,摇匀,即得。桂郁金称取 100 g 药材粗粉提取挥发油,结果桂郁金挥发油含量极低,遂取挥发油测定器中水层,精密加乙酸乙酯 1 mL,振摇提取,静置,分取乙酸乙酯溶液,作为桂郁金挥发油样品。

2.2 参照物的制备

2.2.1 参照物的选择 牻牛儿酮是各种基源郁金的共有成分^[7-8],含量相对较高,且本品性质稳定,较易分离纯化,对照品易得到,同时牻牛儿酮具有抗肿瘤等方面的生理活性^[9],故以牻牛儿酮为参照物,对郁金挥发油成分进行指纹图谱研究。

2.2.2 参照物溶液的配制 精密称取牻牛儿酮对照品 4.79 mg,置 10 mL 量瓶中,加乙酸乙酯溶解并稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为 0.479 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 色谱条件 HP-5 0.32 μm × 0.32 mm × 30 mm 色谱柱;进样口温度 280 °C,检测器温度 300 °C,燃气流量 35 mL·min⁻¹,实用气流量 400 mL·min⁻¹,尾吹流量 10 mL·min⁻¹,色谱柱流量 1 mL·min⁻¹。升温程序初温 125 °C,保持 5 min;速率 3 °C·min⁻¹,升至 170 °C,保持 5 min;速率 9 °C·min⁻¹,升至 260 °C,保持 0 min。采样时间 35 min,进样量 1 μL。

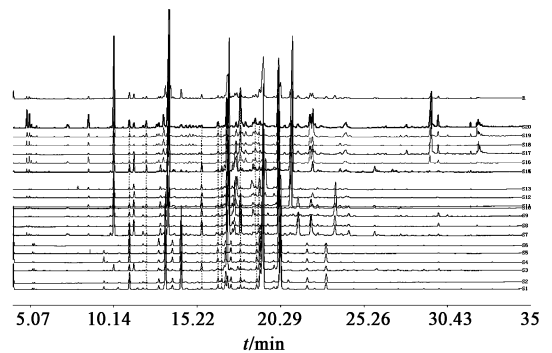
2.4 指纹峰的标定和相对保留时间的计算 采用相对保留时间标定指纹峰。以牻牛儿酮作为参照物,把各色谱峰保留时间与同一色谱图中牻牛儿酮保留时间的比值作为各色谱峰的相对保留时间;把各色谱峰峰面积与对照牻牛儿酮峰面积的比值作为相对峰面积。

2.5 精密度试验 取郁金同一供试品溶液(H2),连续进样 5 次,测定,记录其色谱图,计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果各峰相对保留时间 RSD < 1%,各峰相对峰面积 RSD < 3%。

2.6 稳定性试验 取郁金同一供试品溶液(H2),分别于 0, 2, 6, 12, 24 h 进样,测定,记录其色谱图,计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果各峰相对保留时间 RSD < 1%,各峰相对峰面积 RSD < 3%。

2.7 郁金挥发油指纹图谱的技术参数及共有峰确定 按测定条件记录各批郁金药材挥发油的色谱图,采用国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似

度评价系统(2004A)”进行数据分析处理,设定 S1 为参照图谱,将其他样品的色谱峰与参照图谱进行自动匹配,生成其对照图谱,并建立郁金药材指纹图谱色谱叠加图,见图 1。



S1 ~ S5(黄丝郁金);S6 ~ S10(绿丝郁金);
S11 ~ S15(温郁金);S16 ~ S20(桂郁金)

图 1 20 批郁金挥发油 GC 色谱指纹图谱叠加

2.8 相似度分析

2.8.1 20 批药材的相似度分析 将实验数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2004A 版软件,设定参照图谱,将色谱峰自动匹配,然后生成郁金药材对照图谱,进行相似度评价,结果各种基源郁金的相似度均很低,差异极大,表明不同基源郁金用同一对照图谱进行评价不可行;同时可见同一基源郁金相似度具有聚集性,黄丝郁金相似度在 0.025 ~ 0.041,绿丝郁金相似度在 0.295 ~ 0.469,温郁金在 0.554 ~ 0.731,桂郁金在 0.727 ~ 0.952,表明同一基源相似度较好,不同基源郁金采用各自的对照图谱单独进行评价更为合理。20 批郁金药材的相似度结果见表 2。

表 2 20 批郁金样品指纹图谱的相似度

编号	品种	样品号	相似度	编号	品种	样品号	相似度
S1	黄丝郁金	H1	0.041	S11	温郁金	W1	0.729
S2		H2	0.033	S12		W2	0.624
S3		H3	0.032	S13		W3	0.731
S4		H4	0.025	S14		W4	0.653
S5		H5	0.027	S15		W5	0.554
S6	绿丝郁金	L1	0.326	S16	桂郁金	G1	0.890
S7		L2	0.305	S17		G2	0.727
S8		L3	0.351	S18		G3	0.952
S9		L4	0.469	S19		G4	0.778
S10		L5	0.295	S20		G5	0.814

2.8.2 同一基源郁金的相似度分析 将同一基源郁金药材实验数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2004A 版软件,设定参照图谱,将色谱峰自动匹配,然后生成每种基源郁金药材对照图谱,进

行相似度评价,结果黄丝郁金样品的相似度 > 0.950;绿丝郁金样品的各指纹图谱相似度均 > 0.99;温郁金相似度在 0.95 以上,指纹图谱相似度高;桂郁金相似度稍差,在 0.9 左右。结果见表 3。表明不同基源郁金挥发油的化学组成差异较大,各自对照图谱能反映其特点。

表 3 不同基源郁金样品指纹图谱的相似度

编号	品种	样品号	相似度	编号	品种	样品号	相似度
S1	黄丝郁金	H1	0.953	S11	温郁金	W1	0.976
S2		H2	0.998	S12		W2	0.988
S3		H3	0.995	S13		W3	0.987
S4		H4	0.999	S14		W4	0.997
S5		H5	0.998	S15		W5	0.957
S6		L1	0.992	S16		G1	0.890
S7		L2	0.995	S17		G2	0.958
S8	绿丝郁金	L3	0.991	S18	桂郁金	G3	0.884
S9		L4	0.990	S19		G4	0.943
S10		L5	0.993	S20		G5	0.932

2.8.3 同一基源郁金药材指纹图谱共有模式的建立 根据以上分析确定 4 种基源郁金药材均采用各

自对照图谱进行评价。根据各样品图谱中色谱峰相对保留时间,标定共有峰,生成对照指纹图谱,各自对照图谱见图 2。共有峰的相对保留时间见表 4。经对照品确认 29 号峰为牻牛儿酮峰。

3 讨论

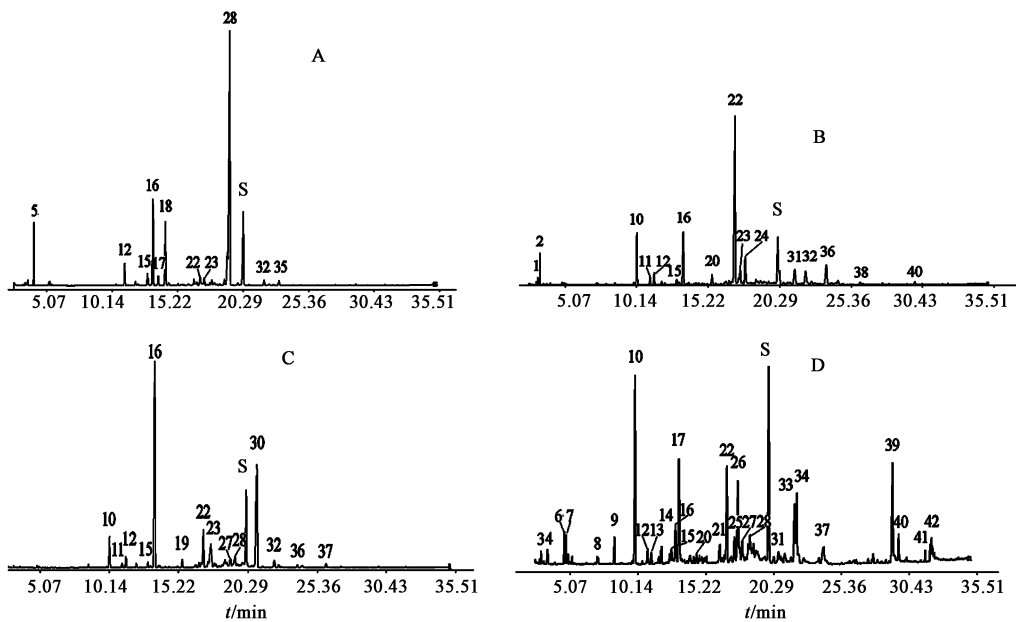
解析四者的对照指纹图谱可以发现,黄丝郁金有 11 个共有峰,绿丝郁金有 17 个共有峰、温郁金有 15 个共有峰、桂郁金有 29 个共有峰(相对峰面积 ≤ 0.2 的峰未计入),各种郁金挥发油成分基本一致,但各种组分相对含量差异较大。每种基源郁金药材对照指纹图谱能代表各自不同的化学组成,可以作为郁金种属鉴别和质量控制的依据。

本研究同时表明 4 种基源郁金挥发油含量也很悬殊,且组分含量差异也大,建议按品种分别制定郁金药材的质量标准。根据 4 个不同品种挥发油含量,结合大量的文献报道^[10-11],发现桂郁金所含化学成分少,挥发油含量最低,作者认为桂郁金品质上要差于其余 3 个品种。针对此现象,一方面有必要进一步完善和修订桂郁金质量标准以规范市场;另

表 4 不同基源郁金样品指纹图谱的相对保留时间

峰号	黄丝郁金	温郁金	绿丝郁金	桂郁金	峰号	黄丝郁金	温郁金	绿丝郁金	桂郁金
1	-	-	0.155	-	22	0.836	0.846	0.850	0.844
2	-	-	0.164	-	23	0.859	0.861	0.862	-
3	-	-	-	0.155	24	-	-	0.870	-
4	-	-	-	0.179	25	-	-	-	0.881
5	0.200	-	-	-	26	-	-	-	0.888
6	-	-	-	0.245	27	-	0.891	-	0.891
7	-	-	-	0.252	28	0.949	0.959	-	0.953
8	-	-	-	0.367	29	1.000	1.000	1.000	1.000
9	-	-	-	0.427	30	-	1.038	-	-
10	-	0.503	0.505	0.202	31	-	-	1.059	1.059
11	-	0.551	0.550	-	32	-	1.102	1.098	-
12	0.565	0.564	0.564	0.564	33	-	-	-	1.196
13	-	-	-	0.602	34	-	-	-	1.203
14	-	-	-	0.610	35	1.237	-	-	-
15	0.645	0.647	0.648	0.643	36	-	-	1.170	1.172
16	0.665	0.669	0.667	0.664	37	-	-	-	1.203
17	-	-	-	0.667	38	-	1.289	1.290	-
18	0.703	-	-	-	39	-	-	-	1.457
19	-	0.768	-	0.769	40	-	-	1.483	1.482
20	-	-	0.775	0.776	41	-	-	-	1.581
21	-	-	-	0.818	42	-	-	-	1.607

注:“-”未检出或相对峰面积 ≤ 0.2。



A. 黄丝郁金;B. 绿丝郁金;C. 温郁金;D. 桂郁金;S. 牻牛儿酮

图 2 郁金挥发油 GC 色谱共有模式

一方面,鼓励种植其余高品质的郁金品种,保证其余品种的市场流通量。

[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,2010:193.
[2] 陈福北,黄初升,刘红星. 姜黄属植物中姜黄素类化合物的研究概况[J]. 广西师范学院学报:自然科学版,2007,24(2):95.
[3] 李艳萍. 中药郁金的化学成分研究[J]. 西北大学学报:自然科学版,2000,30(10):411.
[4] 潘小娇,陈勇,韦玉燕,等. 桂郁金茎叶、生品与炮制品挥发油的比较分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(21):107.
[5] 李敏,张娜. 黄丝郁金 HPLC 指纹图谱初步研究[C]. 建德:中华中医药学会第九届中药鉴定学术会议,2008:443.

[6] 刘敏,楚生辉,崔友,等. 浙江产温郁金挥发油的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中草药,2009,40(6):883.
[7] 刘玉红,刘倩伶,李晓亮,等. RP-HPLC 法测定不同基源郁金药材中牻牛儿酮的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(10):133.
[8] 潘小娇,杨秀芬,陈勇,等. RP HPLC 测定桂郁金中吉玛酮的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(12):81.
[9] 王琰,王慕邹. 莪术的质量研究[J]. 药学学报,2001,36(11):849.
[10] 朱晶晶,张清哲,王智民,等. 郁金质量标准研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(16):2107.
[11] 李敏,张娜,林琪宇. HPLC 测定郁金类药材中的吉马酮和莪术二酮[J]. 华西药学杂志,2008,23(1):105.

[责任编辑 邹晓翠]