

RP-HPLC 测定不同基源郁金药材中牻牛儿酮的含量

刘玉红¹, 刘倩伶¹, 李晓亮^{1,2}, 陈燕¹, 李青苗¹, 易进海^{1*}

(1. 四川省中医药科学院, 成都 610041; 2. 泸州医学院, 四川 泸州 646000)

[摘要] 目的: 测定 4 种基源 40 批郁金药材中牻牛儿酮的含量。方法: 采用反相高效液相色谱法, Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-水 (60:40) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 210 nm。结果: 牻牛儿酮进样量在 0.045 8 ~ 0.687 μg 有良好的线性关系 ($r=0.9999$), 平均回收率 ($n=6$) 为 99.2%, 牻牛儿酮含量在 0.001 26% ~ 0.224%。结论: 提供了 40 批不同基源郁金药材中牻牛儿酮的含量, 为科学制定郁金药材的质量标准提供数据支持。

[关键词] 郁金; 牻牛儿酮; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0133-04

RP-HPLC Determination of Germacron in Curcumae Radix

LIU Yu-hong¹, LIU Qian-lin¹, LI Xiao-liang^{1,2}, CHEN Yan¹, LI Qing-miao¹, YI Jin-hai^{1*}

(1. Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China;

2. Luzhou Medical College, Luzhou 64600, China)

[Abstract] **Objective:** To determinate the content of germacron of 40 batches Curcumae Radix with germacron as control. **Method:** The amounts of germacron were determined by RP-HPLC method with Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column as analytical column, 210 nm as detective wavelength, acetonitrile-water (60:40) as mobile phase at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** The standard curve of germacron was linear in the range of 0.045 8-0.687 μg ($r=0.9999$), and the average recovery ($n=6$) was 99.2%, the range of germacron was 0.001 26%-0.224%. **Conclusion:** We provide the content of germacron of 40 batches of four species of Curcumae Radix is determined to provide data support for establishing scientific quality control standards.

[Key words] Curcumae Radix; germacron; RP-HPLC; content determination

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]。郁金具有活血止痛、行气解郁、清心凉血、利胆退黄之功效, 常用于胸腹刺痛、经闭痛经、黄疸尿赤等。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。郁金主要化学成分为姜黄素类、挥发油、多糖及其他无机盐等,

由于郁金药材来源复杂, 所含化学成分含量差异很大, 故 2010 年版《中国药典》仅收录了薄层鉴别指标, 尚无含量测定标准, 难以客观地评价郁金的内在质量, 从而有效保证郁金药材临床用药的安全、有效。有研究表明牻牛儿酮是 4 种基源郁金的共有成分^[2], 但含量差异大。关于郁金药材中牻牛儿酮含量测定的文献尚不多见, 牻牛儿酮性质稳定, 且具有抗肿瘤等方面的活性^[3], 可以牻牛儿酮为指标, 对郁金药材质量进行评价。本研究采用 HPLC 测定郁金中牻牛儿酮的含量, 为郁金药材质量控制

[收稿日期] 20110519(004)

[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, 从事中药新药研发工作, 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研究, Tel:028-85210843, E-mail:yijinhai@yahoo.com.cn

提供科学依据。

1 仪器与试药

Agilent 1200 型高效液相色谱仪,包括 1200 泵, DAD 检测器,自动进样器(美国),液相色谱工作站;Brasson 型超声清洗仪(上海必能信超声设备有限公司),Millipore Milli-Q 型超纯水系统(美国),Mettler Toledo XS205 型电子天平(瑞士)。

郁金药材由四川省中医药科学院中药资源与种植研究所舒光明研究员提供并鉴定。

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。乙腈为美国 Tedia 色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[4] Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),柱温 35 °C,流动相乙腈-水(60:40),流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 210 nm,见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取牻牛儿酮对照品 11.45 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密吸取该溶液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得质量浓度为 0.045 8 g·L⁻¹的对照品溶液。

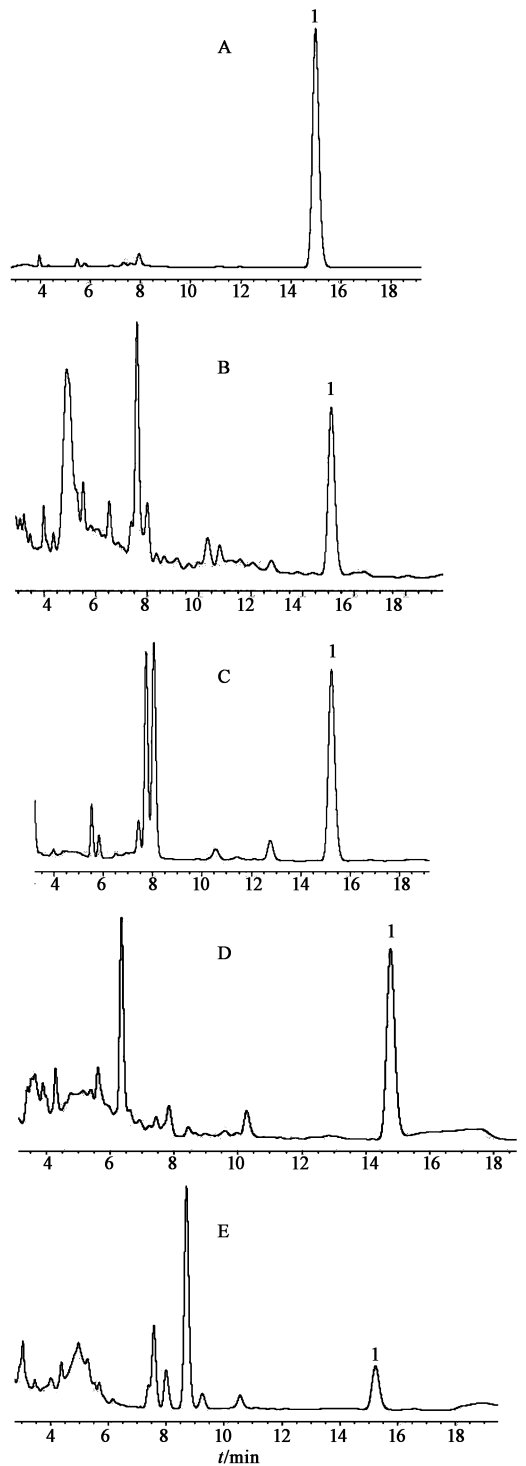
2.3 供试品溶液的制备 取郁金药材,粉碎,过 4 号筛,取粉末约 2.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,浸泡过夜,超声处理 40 min,放冷再称定质量,用甲醇补足减失的质量,滤过,作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15 μL 注入色谱仪中,以进样量 $X(\mu\text{g})$ 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,进行线性回归,其线性范围为 0.045 8 ~ 0.687 μg,回归方程为 $Y = 3.294\ 366 \times 10^3 X - 7.270\ 5 (r = 0.999\ 9)$ 。

2.5 精密度试验 取温郁金 1 号供试品溶液 5 μL,重复进样 5 次,由峰面积计算 RSD 1.03%。

2.6 重复性试验 称取同一批样品,平行测定 5 份,测得牻牛儿酮平均含量为 0.033 3%, RSD 1.4%。

2.7 加样回收率试验 精密称取已知含量(0.033 3%)的温郁金 1 号样品 6 份各约 1.3 g,置 50 mL 具塞锥形瓶中,分别加入质量浓度为 0.458 g·L⁻¹的牻牛儿酮对照品溶液 0.8, 0.8, 1.0, 1.0, 1.2, 1.2 mL,精密加入甲醇使总体积为 25 mL,余下操作同 2.3 项,按上述色谱条件测定,计算回收率,



A. 对照品; B. 桂郁金; C. 黄丝郁金; D. 绿丝郁金; E. 温郁金
1. 牻牛儿酮

图 1 郁金药材 HPLC

结果低、中、高 3 个加入量的回收率($n = 2$)分别为 98.6%, 99.4%, 99.7%, 平均回收率($n = 6$)为 99.2%, RSD 0.91%。结果见表 1。

2.8 样品的测定 共取了 4 种基源 40 批郁金药材,按 2.3 项操作,测定样品中牻牛儿酮的含量。同

表1 郁金药材中加样回收率

No.	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.438 2	0.366 4	0.801 3	99.10	99.2	0.91
2	0.426 8	0.366 4	0.785 9	98.01		
3	0.431 9	0.458 0	0.890 5	100.13		
4	0.440 5	0.458 0	0.892 7	98.73		
5	0.439 3	0.549 6	0.991 2	100.41		
6	0.441 0	0.549 6	0.984 8	98.94		

时参照2010年版《中国药典》一部姜黄药材项下的含量测定方法,测定郁金样品中挥发油和姜黄素的含量,结果见表2。

3 讨论

本实验室研究结果表明不同基源、不同产地的郁金药材中姜黄素和挥发油含量差别很大。黄丝郁金中姜黄素含量最高,在0.008 49%~0.075 4%,其他3种不同基源的郁金含量极低或不含姜黄素类成分。挥发油含量也以黄丝郁金为高,在0.4%~1.3%,温郁金次之,在0.2%~0.5%,绿丝郁金挥发油含量较低,桂郁金挥发油含量很低。根据4种不同基源郁金中挥发油的含量,参考文献报道^[2],笔者认为桂郁金所含化学成分较少,挥发油含量最低,品质次于其他3种基源的郁金,建议进一步完善和修订郁金药材的质量标准以规范市场,扩大黄丝郁金、温郁金和绿丝郁金的种植规模,保证商品郁金的品质。

表2 郁金药材产地、采收时间及牻牛儿酮含量测定

样品	产地	采样日期	牻牛儿酮含量/%	挥发油含量/%	姜黄素含量/%
黄丝郁金 <i>Curcuma. longa</i> L.	双流金桥镇舟渡村	2010-02	0.081 4	0.36	0.008 49
	崇州三江镇听江村	2008-03	0.224	1.03	0.028 4
	双流金桥镇舟渡村	2010-03	0.047 6	0.68	0.031 5
	崇州三江镇三桥村	2009-03	0.012 6	0.89	0.060 2
	崇州三江镇宋桥村	2010-04	0.056 0	1.21	0.075 4
	崇州三江镇宋桥村	2010-04	0.010 8	1.13	0.013 9
	崇州三江镇宋桥村	2010-04	0.037 5	0.73	0.041 6
	崇州三江镇听江村	2010-03	0.097 9	1.34	0.050 5
	崇州三江镇宋桥村	2010-03	0.011 0	0.82	0.017 8
	双流金桥镇永和村	2010-03	0.023 7	1.27	0.033 9
绿丝郁金 <i>C. phaeoaulis</i> Val.	崇州三江镇宋桥村	2010-04	0.015 2	0.20	trace
	崇州三江镇宋桥村	2010-04	0.016 9	0.18	trace
	崇州三江镇宋桥村	2010-04	0.084 3	-	trace
	崇州三江镇宋桥村	2010-02	0.015 6	0.24	trace
	双流金桥镇舟渡村	2010-02	0.013 2	0.21	nd
	双流金桥镇舟渡村	2010-04	0.093 7	0.25	nd
	双流金桥镇永和村	2010-04	0.014 4	-	trace
	崇州三江镇听江村	2010-03	0.010 7	0.15	nd
	崇州三江镇听江村	2010-03	0.012 5	0.26	trace
	崇州三江镇听江村	2010-03	0.011 0	0.28	nd
桂郁金 <i>C. kwangsiensis</i> S. G. Lee et C. F. Liang	广西(购于荷花池药材市场)	2010-04	0.034 5	-	nd
	广西(购于荷花池药材市场)	2010-04	0.033 3	-	nd
	广西灵山县陆屋镇	2010-01	0.095 3	-	nd
	广西灵山县陆屋镇	2010-01	0.010 6	-	nd
	广西灵山县陆屋镇	2010-01	0.015 7	-	nd
	广西灵山县陆屋镇	2010-01	0.014 3	-	nd
	广西灵山县烟墩镇	2010-01	0.044 8	-	nd
	广西灵山县烟墩镇	2010-01	0.041 2	-	nd
广西灵山县烟墩镇	2010-07	1.006 2	-	trace	
广西灵山县烟墩镇	2010-07	0.087 1	-	nd	

续表 2

样品	产地	采样日期	牻牛儿酮含量/%	挥发油含量/%	姜黄素含量/%
温郁金	瑞安市陶山镇沙三村	2010-03	0.033 3	0.51	trace
C. wenyujin Y. H. Chen et C. Ling	瑞安市陶山镇沙三村	2010-03	0.028 3	0.36	nd
	瑞安市陶山镇沙三村	2010-04	0.035 9	0.25	nd
	瑞安市陶山镇沙三村	2010-03	0.012 0	0.19	trace
	瑞安市陶山镇沙二村	2010-03	0.029 7	0.41	nd
	瑞安市陶山镇沙二村	2010-04	0.045 1	0.32	nd
	瑞安市陶山镇沙二村	2010-03	0.030 9	0.39	trace
	瑞安市陶山镇沙一村	2010-04	0.024 8	0.34	trace
	瑞安市陶山镇沙一村	2010-03	0.046 4	0.49	trace
	瑞安市陶山镇沙一村	2010-04	0.037 2	0.42	nd

注:trace 微量;nd 未检出;-挥发油量极少,难以读数。

牻牛儿酮在不同基源、产地的郁金中以温郁金含量较高,含量分布相对较为均匀,绿丝郁金中牻牛儿酮的含量分布也较相近,黄丝郁金、桂郁金含量差异较大,最高和最低的相差分别达到 180,75 倍。同一产地黄丝郁金、桂郁金中牻牛儿酮含量差异亦较大,而温郁金、绿丝郁金差异较小。

本文研究结果为郁金中牻牛儿酮的含量提供了科学数据。李敏等曾报道 29 批郁金药材中牻牛儿酮含量为 0.036% ~ 0.614%^[5],与本文 40 批郁金药材的测定结果相差约 10 倍,是因为不同采集时间、产地造成郁金中牻牛儿酮含量差异巨大,或是其他因素引起的,尚待进一步研究。

牻牛儿酮紫外吸收为末端吸收,经 DAD 扫描,采用 210 nm 为检测波长,结果表明灵敏度高,试验

重复性好。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:193.
- [2] 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.
- [3] 王琰,王慕邹.莪术的质量研究[J].药学学报,2001,36(11):849.
- [4] 韦相忠,蔡卓,李耀华,等.广西莪术微波炮制品中牻牛儿酮含量的研究[J].时珍国医国药,2010,21(5):1073.
- [5] 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 蔡仲德]