

莪术与三棱配伍前后姜黄素煎出率变化

李林^{*}, 殷放宙, 陆兔林, 邵怡, 徐凯慧
(南京中医药大学药学院, 南京 210046)

[摘要] 目的: 建立莪术中姜黄素含量测定的方法, 并考察莪术与三棱配伍前后姜黄素煎出率的变化。方法: 采用 HPLC 法测定莪术药材、莪术单煎液、莪术三棱共煎液中姜黄素的含量, 以 Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱为分析柱, 以水和乙腈为流动相进行梯度洗脱, 检测波长 425 nm, 柱温 25℃, 流速 1 mL·min⁻¹。结果: 姜黄素在进样量 0.67~13.40 ng 有良好线性关系 ($r=0.9997$), 平均回收率 99.76%, RSD 1.49%, 莪术和三棱配伍煎煮后, 其姜黄素的煎出率比莪术单煎显著提高。结论: 所建立的姜黄素含量测定方法操作简便快速, 结果准确可靠。两味中药在配伍煎煮后可有效改善姜黄素的煎出效果, 推测在煎煮时三棱对姜黄素起到了保护作用。

[关键词] 莪术; 三棱; 姜黄素; 配伍

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0028-03

Study on Curcumin in Decoction of Rhizoma Curcumae alone and that of Rhizoma Curcumae together with Rhizoma Sparganii

LI Lin^{*}, YIN Fang-zhou, LU Tu-lin, SHAO Yi, XU Kai-hui

(College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] Objective: To establish a method for the content determination of curcumin in rhizoma curcumae, and compare the outcome between decoction of curcumin in rhizoma curcumae alone and that of rhizoma curcumae together with rhizoma sparganii. **Method:** HPLC was performed on a eclipse plus C18 column, water- acetonitrile served as mobile phase and the detection wavelength was at 425 nm, the column temperature at 25℃ and the flow rate being 1.0 mL·min⁻¹, to determine the content of curcumin in different decoction. **Result:** Curcumin showed good linearity in the range of 0.67-13.40 ng with correlation coefficient of 0.9997. The average recovery ($n=9$) was 99.76%, with RSD of 1.49%. The content of curcumin in the co-decoction of the two drugs was significantly higher than that in the decoction of rhizoma curcumae alone. **Conclusion:** The method used was handy, sensitive and accurate, and proves to be suitable for the content determination of Curcumin. and it is suggest that rhizoma sparganii play a protective effect on the curcumin when the two drugs being decocted.

[Key words] rhizoma curcumae; rhizoma sparganii; compatibility; curcumin

药对是中药方剂的最小配伍单位, 而三棱、莪术就是应用频率位居前茅的一个药对。当代的名老中医干祖望^[1]、任达然^[2]等都十分推崇这组药对。三棱、莪术伍用出自《经验良方》三棱丸, 用于治疗血

滞经闭腹痛。近代名医张锡纯^[3]谓“若治陡然腹胁疼痛, 由于气血凝滞者, 可用三棱、莪术, 不必以补药佐之”。目前从相关文献及已有的研究基础, 已确定莪术中主要有效活性成分为姜黄素类、挥发油以及多糖类成分。^[4]因此, 本试验中, 笔者通过研究莪术与三棱配伍前后姜黄素的煎出率变化来研究莪术与三棱的配伍机制。

1 仪器与试药

Agilent1100 系列高效液相色谱仪, DAD 检测

[收稿日期] 20100608(006)

[基金项目] 江苏省中医药局中医药科学技术研究专项(HZ07049)

[通讯作者] * 李林, 讲师, 主要从事中药学方面研究, E-mail:

lilin_med@163.com

器, Chemstation system 工作站。姜黄素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110823-200603)。莪术药材购自浙江省瑞安市陶山镇,三棱药材购自河南,经南京中医药大学陈建伟教授鉴定,分别为姜科温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥根茎和黑三棱科植物黑三棱 *Sparganium stoloniferum* Buch. -Ham. 的干燥块茎。

2 方法与结果

2.1 莪术药材中姜黄素含量测定

2.1.1 色谱条件 Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm), 以乙腈为流动相 A, 水为流动相 B, 0 ~5 min 48% A, 5 ~20 min 48% ~55% A 进行梯度洗脱, 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 25 , 检测波长 425 nm。

2.1.2 供试品溶液的制备 取莪术药材, 过 20 目筛, 取粉末约 1 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理 40 min, 冷却后以甲醇补足质量, 摇匀, 过微孔滤膜(0.45 μm), 取续滤液作为供试品溶液。

2.1.3 线性范围考察 精密称取姜黄素对照品 13.4 mg, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶液定容至 10 mL, 配成 1.34 g·L⁻¹ 的溶液, 从中取出 0.1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇溶液定容至 100 mL, 配成 1.34 μg·mL⁻¹ 的贮备液。分别取贮备液 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 于 5 mL 量瓶, 加入甲醇溶液至刻度, 分别吸取不同浓度的对照品溶液进样 10 μL, 以浓度为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程 $Y=112.70X+1.82$, $r=0.9997$ 。可见姜黄素在 0.00067 ~0.01340 μg 呈良好的线性关系。

2.1.4 精密度实验 取 0.804 mg·L⁻¹ 对照品溶液, 重复进样 6 次, 每次进样 6 μL 测得峰面积, RSD 0.90%。

2.1.5 稳定性实验 取同一供试品溶液, 分别于 0, 4, 12, 24, 36, 48 h 进样, 测得峰面积, RSD 0.83%, 表明供试品溶液在 48 h 内基本稳定。

2.1.6 重复性实验 称取药材粗粉 6 份, 按上述方法制备样品并测定含量, 测得姜黄素为 22.3 μg·g⁻¹, RSD 2.36%。

2.1.7 回收率实验 精密称取药材粗粉 9 份, 每份 0.5 g, 每 3 份 1 组, 按样品中姜黄素含量的 80%, 100%, 120% 3 个水平分别精密加入姜黄素对照品

溶液, 然后按供试品溶液制备方法制备, 测定结果, 平均加样回收率 99.76%, RSD 1.49%。见表 1。

表 1 姜黄素加样回收率

| No. | 加入量 / μg | 样品含量 / μg | 测得量 / μg | 回收率 / % | 平均值 / % | RSD / % |
|-----|----------|-----------|----------|---------|---------|---------|
| 1 | 8.71 | 11.25 | 19.97 | 100.11 | | |
| 2 | 8.71 | 11.21 | 20.09 | 101.99 | | |
| 3 | 8.71 | 11.18 | 19.84 | 99.45 | | |
| 4 | 11.39 | 10.96 | 22.31 | 99.66 | | |
| 5 | 11.39 | 11.20 | 22.77 | 101.58 | 99.76 | 1.49 |
| 6 | 11.39 | 11.01 | 22.20 | 98.22 | | |
| 7 | 13.40 | 10.96 | 24.28 | 99.37 | | |
| 8 | 13.40 | 11.20 | 24.63 | 100.25 | | |
| 9 | 13.40 | 11.01 | 24.04 | 97.23 | | |

2.2 煎液的制备

2.2.1 莪术单煎液 称取莪术药材 5 g, 剪碎置 250 mL 圆底烧瓶中, 加水 100 mL 浸泡 30 min, 加热回流提取 1 h, 过滤, 药渣继续加水 100 mL 加热回流提取 1 h, 过滤, 合并滤液, 得莪术单煎液。

2.2.2 三棱单煎液 称取三棱药材 5 g, 剪碎置 250 mL 圆底烧瓶中, 煎煮方法同 2.2.1 项, 得三棱单煎液。

2.2.3 莪术、三棱合煎液 称取 3 份莪术样品, 每份 5 g, 分别与 2.5, 5, 10 g 三棱配伍, 置 250 mL 圆底烧瓶中, 煎煮方法同 2.2.1 项, 得莪术、三棱合煎液。

2.3 样品的测定 分别将上述 3 种滤液在水浴锅上浓缩, 再用 60% 的甲醇定容至 25 mL, 放置, 取溶液经微孔滤膜滤过, 分别按姜黄素含量测定方法进样 10 μL, 计算煎出率。见表 2。

表 2 莪术与三棱配伍后姜黄素煎出率测定 (n=3) %

| 组别 | 姜黄素煎出率 / % | RSD / % |
|------------|------------|---------|
| 莪术单煎液 | 1.21 | 0.94 |
| 莪术-三棱(2:1) | 2.69 | 1.63 |
| 莪术-三棱(1:1) | 4.03 | 2.93 |
| 莪术-三棱(1:2) | 3.51 | 0.75 |

3 讨论

莪术、三棱这组对药, 是治疗瘀血疼痛、癥瘕积聚的要药, 临床上广泛应用于肿瘤痞块、瘀血闭经、行经腹痛、积滞腹痛^[5-6] 等疾病。而莪术中所含的姜黄素亦具有抗肿瘤、抗动脉粥样硬化、抗凝、降血脂^[7-8] 等作用, 与莪术、三棱药对的传统疗效密切相关, 故本文选择姜黄素为指标, 对其在莪术、三棱配

伍过程中含量的变化进行研究。

现有报道中,姜黄素的 HPLC 含量测定多以乙腈和醋酸溶液^[9]或乙腈和磷酸盐缓冲液^[10]作为流动相,进行等度洗脱。笔者在实验中发现,采用此类方法的莪术样品色谱图中姜黄素峰被严重干扰,且峰形不对称。故对 HPLC 方法进行优化,采用乙腈水系统进行梯度洗脱,可有效的避免其他成分的干扰,且峰形对称性较好,适合本实验中姜黄素的含量测定。

从实验结果可以发现,莪术、三棱配伍后,姜黄素的煎出率大幅度提高,其中莪术、三棱 1:1 配伍的姜黄素煎出率提高最多,为莪术单煎液的 3.3 倍。针对这种情况,推测可能是三棱对莪术中的姜黄素有助溶或保护作用,故又对莪术提取 2 次后的残渣进行第 3 次提取,发现其中已无姜黄素,因此三棱对莪术中的姜黄素有助溶作用的推测不成立。通过对文献的查阅发现,姜黄素在强酸、强碱环境中稳定性较差,但当 pH=5 时较为稳定^[11],因此又对不同煎液的 pH 进行了测定,发现莪术单煎液 pH 为 6.01,三棱单煎液 pH 为 3.96,莪术、三棱 2:1 配伍煎液 pH 为 5.86,莪术、三棱 1:1 配伍煎液 pH 为 5.02,莪术、三棱 1:2 配伍煎液 pH 为 4.37。故推测可能是三棱中含有的琥珀酸、三棱酸等有机酸类成分,在煎煮过程中使溶液保持弱酸性,从而起到了保护姜黄素的作用,使得莪术、三棱配伍后,姜黄素的煎出率大幅度提高,这可能是莪术、三棱配伍增效的一方面原因。其配伍增效的机制和最佳配伍比例仍需进一步研究,以期充实三棱莪术药对的理论及实验研究,并

为其临床应用提供科学依据。

[参考文献]

- [1] 干祖望. 我最喜欢的四味药——三棱与莪术[J]. 中医药通报, 2002, 1(5): 7.
- [2] 张恩树. 任达然应用三棱及莪术经验[J]. 实用中医药杂志, 2000, 16(8): 35.
- [3] 张锡纯. 医学衷中参西录[M]. 石家庄: 河北人民出版社, 1977: 371.
- [4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 23, 537, 626.
- [5] 冯海红, 唐德才. 三棱莪术在妇产科疾病治疗中的应用近况[J]. 实用中医药杂志, 2007, 23(2): 132.
- [6] 郭云协. 对药三棱莪术治疗胆胃病举隅[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(12): 1643.
- [7] Odot J, Albert P, Carlier A, et al. *In vitro* and *in vivo* anti-tumoral effect of curcumin against melanoma cells [J]. *Inter J Cancer*, 2004, 111(3): 381.
- [8] 沃兴德, 丁志山, 袁巍, 等. 姜黄素及其衍生物抑制肿瘤作用的实验研究[J]. 浙江中医学院学报, 2005, 29(2): 53.
- [9] 卞正, 陆兔林, 毛春芹, 等. 莪术不同饮片中姜黄素含量的测定[J]. 南京中医药大学学报, 2009, 25(4): 283.
- [10] 甘宾宾, 蔡卓. HPLC 法测定保健食品中姜黄素含量的研究[J]. 化工技术与开发, 2007, 36(8): 38.
- [11] 齐莉莉, 王进波. 单体姜黄素稳定性的研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(1): 181.

[责任编辑 邹晓翠]