

• 资源与鉴定 •

姜黄药材 HPLC 指纹图谱初步研究

田 蜜, 李 敏*

(成都中医药大学, 四川 成都 610075)

摘要: 目的 采用 HPLC 法建立姜黄药材的指纹图谱。方法 用 HPLC 法, 色谱柱: Welch-C₁₈, (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈和水 (梯度洗脱), 流速: 0.8 mL/min, 柱温 25℃; 检测波长: 270 nm。结果 建立了姜黄 HPLC 指纹图谱共有模式, 并对不同产地、不同采收期的姜黄药材进行了相似度比较。结论 姜黄药材中各成分均得到了较好的分离, 可作为姜黄药材专属性的指纹图谱。

关键词: 姜黄; HPLC; 指纹图谱

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1673-6427(2009)04-0022-03

Study on HPLC Fingerprint of Rhizoma Curcumae Longae

TIAN Mi, LI Min

(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

Abstract: Objective To establish the finger print of Rhizoma Curcumae Longae by HPLC. **Methods** The chromatographic conditions were as follows: Chromatographic column: Welch-C₁₈, (250 mm×4.6 mm, 5 μm), mobile phase: acetonitrile and water (gradient elution), flow rate: 0.8 mL/min, column temperature: 25 °C, detection wavelength: 270 nm. **Results** It was established the HPLC fingerprint common mode, and compared similiarity of Rhizoma Curcumae Longae from produce in different habitat and harvest time. **Conclusion** Each component was well separated, and can be used as a specificity fingerprint of Rhizoma Curcumae Longae.

Key words: Rhizoma Curcumae Longae; HPLC; fingerprint

姜黄为常用传统中药, 四川自古为其道地产区。《中国药典》2005 年版一部姜黄的来源为姜科植物姜黄 *Curcuma longa* L. 的干燥根茎。具有破血行气, 通经止痛之功效, 用于胸胁刺痛, 闭经, 风湿肩臂疼痛, 跌扑肿痛^[1]。其主要生物活性成分为姜黄素类和挥发油, 其中, 姜黄素 (Curcumin) 有重要的经济价值和广泛的药理作用, 如抗氧化、抗炎、抗动脉粥样硬化、降血脂等。并且姜黄素是公认的七大天然色素之一, 染色力强且无任何毒副作用, 广泛用于食品、化妆品行业^[2]。本文根据指纹图谱技术要求, 首次采用 HPLC 法建立姜黄药材的指纹图谱, 可作为其内在质量控制的评价方法。

1 材料和仪器

1.1 样品来源 见表 1。

1.2 仪器与试剂 仪器: VARIAN 高效液相色谱仪。对照品: 去甲氧基姜黄素对照品 (由成都思科华生物技术有限公司提供)、双去甲氧基姜黄素对照

品 (由成都思科华生物技术有限公司提供)、姜黄素对照品 (由中国药品生物制品检定所提供, 批号: 110823-200603)、吉马酮对照品 (由中国药品生物制品检定所提供, 批号 111665-200401)。试剂: 乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯。

表1 姜黄样品来源

Tab.1 The origin samples of Rhizoma Curcumae Longae

编号	产地、来源	采收、购买时间
1	四川省崇州市三江镇宋桥村	2007. 12. 23
2	四川省崇州市三江镇三桥村	2007. 12. 23
3	四川省双流县金桥镇舟渡村	2008. 1. 23
4	四川省乐山市沐川县大楠片区	2007. 12. 28
5	四川省乐山市犍为县榨鼓乡观塘村四组	2007. 12. 28
6	四川省乐山市犍为县铁炉乡兴隆村五组	2007. 12. 28
7	四川省新津县花桥镇焦严村三组	2008. 1. 2
8	四川省双流县金桥镇金河村	2008. 1. 2
9	四川省乐山市犍为县榨鼓乡观塘村四组 (当地称为日本姜黄)	2007. 12. 28
10	四川省双流县金桥镇舟渡村 (多年生)	2008. 1. 23
11	缅甸	2008. 6
12	四川省双流县	2008. 6
13	四川省乐山市	2008. 6

注: 以上样品经笔者鉴定均为姜科植物姜黄 *C. longa* L. 的干燥根茎。

收稿日期: 2008-12-04

*通讯作者: 李 敏, 教授、硕士生导师, 从事中药材品种质量评价和GAP研究。Tel: 13980038316, E-mail: 028limin@163.com。

2 实验部分^[3-4]

2.1 色谱条件

Welchrom-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 检测波长: 270 nm; 流速: 0.8 mL/min; 柱温: 25℃; 流动相: 乙腈: 水, 梯度洗脱(0~15 min 乙腈比例为 48%~51%; 15~27 min 乙腈比例为 51%~52%; 27~30 min 乙腈比例为 52%~72%; 30~60 min 乙腈比例为 72%~76%; 60~62 min 乙腈比例为 76%~78%; 62~65 min 乙腈比例为 78%~100%; 65~85 min 乙腈比例为 100%~100%)。

2.2 对照品溶液的制备

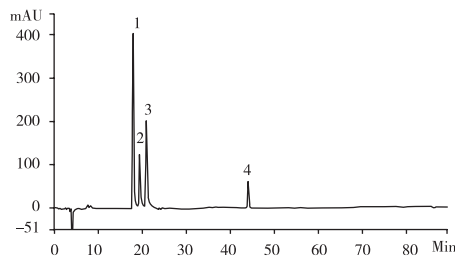
精密称取姜黄素对照品、吉马酮对照品适量, 加甲醇制成混合对照品溶液, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

取姜黄细粉 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 10 mL, 称定重量, 超声提取 1 h, 静置放冷, 再称定重量, 加甲醇补足减失的重量, 摇匀, 静置, 取上清液用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 测定方法

分别吸取对照品溶液和供试品溶液各 15 μL, 注入液相色谱仪, 结果见图 1、2。另吸取溶剂 15 μL 作为空白溶液注入高效液相色谱仪, 结果表明, 溶剂对姜黄指纹图谱的检出无干扰。



1. 双去甲氧基姜黄素; 2. 去甲氧基姜黄素;
3. 姜黄素; 4. 吉马酮

1. bisdemethoxycurcumin 2. demethoxycurcumin 3. curcumin 4. germacrone

图1 对照品图

Fig.1 HPLC chromatogram of reference substance

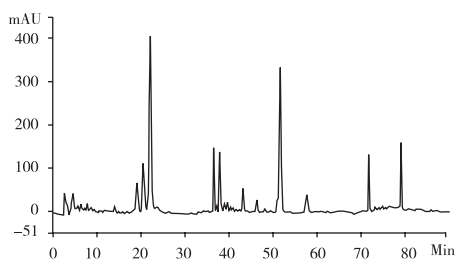


图2 供试品图

Fig.2 HPLC chromatogram from samples of Rhizoma Curcumae Longae

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 取供试品溶液(批号 1), 连续进样 6 次, 考察色谱峰保留时间的一致性, 各主要色谱峰保留时间的 RSD 值均小于 2%, 同时考察各色谱峰的相似度, 用相似度评价软件计算, 测得的色谱指纹图谱与其所得的共有模式图的相似度分别为: 0.996、0.995、0.997、0.996、0.997、0.998, 均大于 0.99, 表明仪器稳定, 精密度良好。

2.5.2 稳定性试验 取供试品溶液(批号 1), 分别在 0、4、8、12、24 h 5 个不同的时间点进行检测, 考察各色谱峰保留时间的一致性, 各主要色谱峰保留时间的 RSD 值均小于 2%, 同时考察各色谱峰的相似度, 用相似度评价软件计算, 测得的色谱指纹图谱与其所得的共有模式图的相似度分别为: 0.997、0.995、0.996、0.997、0.994, 均大于 0.99, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

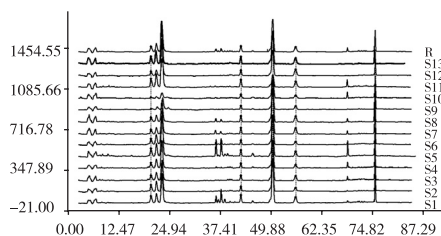
2.5.3 重复性试验 取姜黄药材(批号 1) 5 份, 照“2.3”项下方法制备供试品溶液 5 份, 依法检测, 考察各色谱峰保留时间的一致性, 各主要色谱峰保留时间的 RSD 值均小于 2%, 同时考察各色谱峰的相似度, 用相似度评价软件计算, 测得的色谱指纹图谱与其所得的共有模式图的相似度分别为: 0.996、0.994、0.995、0.994、0.995, 均大于 0.99, 表明提取和检测方法重现性好。

2.6 指纹图谱的建立

取姜黄药材 13 批, 照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 依法检测, 得到 270 nm 的 HPLC 指纹图谱。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版进行全谱的相似度评价及共有图谱拟合, 参照《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》, 确定了 11 个特征峰构成姜黄的指纹图谱, 其中 1 号峰为双去甲氧基姜黄素, 2 号峰为去甲氧基姜黄素, 3 号峰为姜黄素, 7 号峰为吉马酮。药材 1~13 号中位数相关系数依次为 0.976、0.924、0.970、0.976、0.941、0.971、0.957、0.957、0.715、0.874、0.809、0.959、0.953。姜黄 9、10、11 号由于其 1、4、5 号特征峰丰度太低导致其相似度小于 0.9, 其余 10 批样品相关系数均大于 0.90, 相关性良好。色谱图见图 3、图 4。

3 结论与讨论

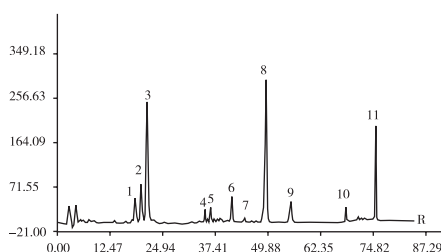
3.1 本研究首次建立了姜黄药材的 HPLC 指纹图谱, 并采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版对不同产地、不同采收期的姜黄药材的 HPLC 指纹图谱进行相似度评价, 结果表明其指纹图谱相互间



(S1~S13. 1~13批姜黄药材; R. 共有模式图)
(S1~S13. 1~13 patch sample; R. Common peaks)

图3 13批次姜黄药材HPLC指纹图谱

Fig.3 HPLC fingerprint of Rhizoma Curcumae Longae from 13 batches of sample



(1. 双去甲氧基姜黄素;
2. 去甲氧基姜黄素; 3. 姜黄素; 7. 吉马酮)

图4 姜黄药材HPLC共有模式图

1. bisdemethoxycurcumin 2. demethoxycurcumin 3. curcumin 7. Germacrone
Fig. 4 Common peaks in samples' Rhizoma Curcumae Longae fingerprint

较为吻合,同时从药材整体色谱图入手,选取了11个特征峰构成了姜黄的指纹图谱,以共有模式作为姜黄的鉴别标准,能提供更全面的质量控制信息。实验证明该方法操作性强,重现性好,可作为姜黄内在质量控制的评价方法。

3.2 实验中对提取溶剂(甲醇、乙醇及不同比例的醇和水)、提取方法(超声、回流)、检测波长等进行考查,确定了以上供试品溶液的制备方法和色谱条件。

3.3 9、10、11号样品的姜黄药材其性状特征与其它10批药材差异较大,主要表现在大小及断面颜色上,这与它们的相关系数与其他药材相比均小于0.90,结果相一致。

3.4 不同采收期、不同产地的姜黄样品虽然各峰面积大小不同,存在成分含量的差异,但其色谱概貌基本一致,符合姜黄药材的指纹特征。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 186
- [2] 韩婷, 宓鹤鸣. 姜黄的化学成分及药理活性研究进展[J]. 解放军药学学报, 2001, 17(2): 95-97.
- [3] 谢培山. 中药色谱指纹图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004.
- [4] 宿树兰, 欧阳琰, 金晓勇. 姜黄属几种药材的红外指纹图谱鉴别研究[J]. 中成药. 2006, 28(10): 1408-1410.

云南玉溪芫荽挥发油成分的GC-MS分析

张京娜¹, 陈霞¹, 杨冬¹, 张颖君², 杨崇仁^{1,2*}

(1. 维和生物技术研究开发中心, 云南 玉溪, 6531002 ; 2. 中科院昆明植物研究所, 云南 昆明, 650204)

摘要: 目的 分析云南玉溪产芫荽的挥发油成分, 比较不同产地芫荽挥发油组成, 讨论其差异。方法 采用水蒸气蒸馏法从云南玉溪产芫荽中提取挥发油, 通过气相色谱-质谱联用系统对挥发性成分进行分析。结果 检出41个色谱峰, 用峰面积归一化法得出色谱峰的相对含量; 与数据库对照, 鉴定了其中的35个化合物。结论 云南玉溪产芫荽的挥发油成分与文献报道其它产地的有显著差异。

关键词: GC-MS; 芫荽; 挥发油

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1673-6427(2009)04-0024-03

GC-MS Analysis of Coriander Volatile Oils from Yuxi County in Yunnan Province

ZHANG Jing-Na¹, CHEN Xia¹, YANG Dong¹, ZHANG Ying-Jun², YANG Chong-Ren^{1,2}

(1. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Yuxi 6531002, China;

2. Weihe Biotech Research and Development Center, Kunming 650201, China;)

Abstract: Objective To discuss the chemical differences of Coriander volatile oils from different producing areas. **Methods** Coriander volatile oils from Yuxi county of Yunnan was obtained by steam distillation

收稿日期: 2008-12-18

*通讯作者: 杨崇仁, Tel: (0877) 2666798, E-mail: cryang@mail.kib.ac.cn