

4种不同药材来源郁金饮片醋炙前后的HPLC特征图谱分析及水煎出物含量比较^Δ

张 军*, 苏本正, 石典花#, 孙立立(山东省中医药研究院, 济南 250014)

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)22-3040-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.22.05

摘 要 目的:研究4种不同药材来源郁金生品及醋炙品水煎液的共有特征成分峰,并比较其水煎出物含量,为解析临床用郁金饮片的多来源性及补充和完善郁金的质量标准提供参考。方法:采用高效液相色谱法测定不同药材来源郁金(温郁金、桂郁金、黄丝郁金和绿丝郁金)生品和醋炙品的特征图谱,通过指纹图谱软件和镜像对比进行成分分析,并比较其醋炙前后水煎出物含量的变化。结果:4种不同药材来源郁金生品及醋炙品均有7个共有特征成分峰,醋炙对郁金各成分峰均有不同程度的影响,有的峰面积增加、有的峰面积减少、有新产生的成分峰、亦有消失的成分峰;但醋炙后4种不同药材来源郁金的共有成分没有发生质的变化,仅色谱峰面积有增减,温郁金、桂郁金、黄丝郁金醋炙后7个共有成分中有5个共有成分峰面积增大,而绿丝郁金醋炙后7个共有成分中仅3个共有成分峰面积增大。醋炙后4种不同药材来源郁金水煎出物含量均增加。结论:4种不同药材来源郁金含有7种共有成分;醋炙对其共有成分无质的影响,但会增加其色谱峰面积和水煎出物含量。

关键词 郁金生品;郁金醋炙品;高效液相色谱法;特征图谱;水煎出物

Analysis of HPLC Characteristic Spectrum and Comparison of Water Decoction Content of Curcumae Radix Decoction Pieces from 4 Different Sources before and after Vinegar Roasted

ZHANG Jun, SU Benzheng, SHI Dianhua, SUN Lili (Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the common characteristic component peaks in water decoction of crude curcumae radix and the vinegar roasted products from 4 different sources, compare the contents of its water decoction, and provide reference for resolving the multi-source of curcumae radix piece in clinical application, complementing and improving the quality standard of curcumae radix. METHODS: HPLC was used to determine the characteristic spectrums of crude curcumae radix and the vinegar roasted products from different sources (*Curcuma wenyujin*, *Curcuma kwangsiensis*, *Curcuma longa*, *Curcuma phaeocaulis*), and component analysis was conducted by using fingerprint software and mirror comparison. And the changes of water decoction content before and after vinegar roasted were compared. RESULTS: Both crude curcumae radix and the vinegar roasted products from 4 different sources had 7 common characteristic component peaks. Vinegar roasted had effect on peaks in different degree, some peaks areas were increased, some peaks areas were reduced, some peaks were generated, and some peaks were disappeared. However, the common components of curcumae radix from different sources showed no qualitative changes after vinegar roasted, except the increase or decrease in peak areas. Areas of 5 common component peaks were increased in the 7 common components of *C. wenyujin*, *C. kwangsiensis* and *C. longa* after vinegar roasted, and only 3 in *C. phaeocaulis* after vinegar roasted. Contents of 4 water decoctions were increased after vinegar roasted. CONCLUSIONS: There are 7 common components in curcumae radix from 4 different sources. Vinegar roasted has no qualitative effect on common components, while it can increase the chromatographic peak areas and contents of water decoction.

KEYWORDS Crude curcuma radix; Vinegar roasted curcuma radix; HPLC; Characteristic spectrums; Water decoction

郁金为姜科多年生草本植物植物温郁金(*Curcuma wenyujin* Y.H.chenet C. Ling)、姜黄(*Curcuma Longa* L.)、广西莪术(*Curcuma kwangsiensis* S.G.Lee et C.F.Liang)、

蓬莪术(*Curcuma phaeocaulis* Val.)的干燥块根,前两者分别习称“温郁金”和“黄丝郁金”,其余按性状不同习称“桂郁金”或“绿丝郁金”。郁金性寒,味辛、苦,归心、肝、胆经,具有行气化瘀、清心解郁、利胆退黄之功^[1],为临床常用中药。郁金为中药分类中“同名多基源”的典型代表,4种不同药材来源的郁金饮片在外观性状、化学组成和成分含量上均有较大差异^[2-8],但在临床上却作为同一药物使用,是否有科学依据还未知。

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81503255);山东省中医药科技发展计划项目(No.2013-115,2011-170)

* 助理研究员。研究方向:中药炮制。电话:0531-82949800。E-mail:sdzyybg@sina.com

通信作者:副研究员。研究方向:中药炮制。电话:0531-82949829。E-mail:shidianhua81@163.com

目前中医临床常用的郁金饮片规格有生品和醋炙品两种^[9],虽然《中国药典》至今尚未收载醋郁金饮片,但在《全国中药饮片炮制规范》与各地中药炮制规范及炮制专著中均有收载^[10]。郁金经醋炙后可起到引药入肝、增强缓急止痛的作用^[11]。但郁金醋炙后功效发生改变的物质基础尚不明确。

鉴于此,本研究以4种不同药材来源郁金生品、醋炙品水煎液(中医临床入药方式)为研究对象,采用高效液相色谱(HPLC)法测得其水煎液的特征图谱,以期找出4种不同药材来源的郁金生品、醋炙品能作为同种药物入药的依据,并初步解析郁金醋炙前后功效发生改变的物质基础,为明确临床用郁金饮片多来源的科学性以及进一步补充和完善郁金的质量标准提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Waters 2695 型 HPLC 仪、2996 型检测器(美国 Waters 公司);XS205DU10⁻⁵型电子天平(瑞士 Mettler 公司);TDL-40B 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 药品与试剂

温郁金饮片(浙江中医药大学饮片厂)、桂郁金饮片(广西玉林药材市场)、黄丝郁金饮片(四川省中药饮片有限公司)、绿丝郁金饮片(四川荷花池药材市场),经山东省中医药研究院林慧彬研究员鉴定以上饮片符合2015年版《中国药典》(一部)郁金饮片项下标准;醋温郁金饮片、醋桂郁金饮片、醋黄丝郁金饮片、醋绿丝郁金饮片为本课题组按照前期优选的最佳醋炙工艺^[12]自制;水为超纯水;甲醇、乙腈为色谱纯;石油醚、二氯甲烷、正丁醇、丙酮、甲酸、氯仿、磷酸等均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

分别取4种不同药材来源的郁金生品、醋炙品各10 g,精密称定,置于250 mL圆底烧瓶中,加10倍量水浸泡1 h,加热回流提取1 h,趁热过滤;药渣再加10倍量水加热回流提取1 h,趁热过滤;合并2次滤液,以离心半径为10 cm、3 500 r/min离心5 min,取上清液减压浓缩至25 mL,分别得各郁金生品与醋炙品的水煎液,过0.45 μm微孔滤膜,作为供试品溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱:Lichrospher ODS C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.3%磷酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~10 min, 95% A; 10~60 min, 95% A~70% A; 60~80 min, 70% A; 80~120 min, 70% A~50% A);流速:1.0 mL/min;柱温:30 ℃;检测波长:254 nm;进样量:10 μL。

2.3 方法学考察

以2015年版《中国药典》(一部)收载的第一品种温郁金为研究对象,采用上述色谱条件进行精密度、重复性和稳定性(室温放置24 h)的方法学考察。结果,精密

度、重复性和稳定性试验图谱中特征峰峰面积、保留时间的RSD均小于3%,说明仪器精密度和重复性较好、供试品溶液在24 h内稳定。

2.4 4种不同药材来源郁金生品、醋炙品的HPLC特征图谱分析

分别精密吸取上述4种不同药材来源郁金生品、醋炙品的供试品溶液各10 μL,注入液相色谱仪,按“2.2”项下色谱条件进行测定,采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A)建立特征图谱。4种不同药材来源郁金生品、醋炙品的HPLC特征图谱见图1、图2(图中1~7号峰为4种不同药材来源生品或醋炙品的共有峰)。

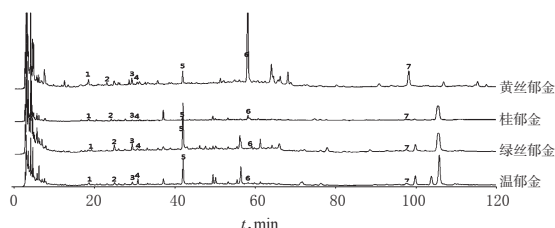


图1 4种不同药材来源郁金生品的HPLC特征图谱

Fig 1 HPLC characteristics spectrums of crude curcuma radix from 4 different sources

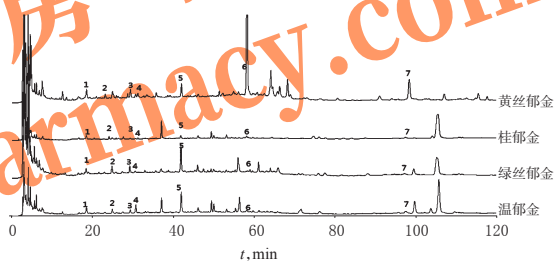


图2 4种不同药材来源郁金醋炙品的HPLC特征图谱

Fig 2 HPLC characteristics spectrums of vinegar roasted products of curcuma radix from 4 different sources

由图1可见,4种不同药材来源郁金生品水煎液的HPLC特征图谱中存在共同或相似的色谱峰,且这些色谱峰至少有7个共有峰,说明4种不同药材来源郁金生品确存在共有的化学成分;此外,黄丝郁金生品的色谱峰最多,桂郁金生品的色谱峰最少,黄丝郁金与其余3种郁金生品的特征图谱差异较大。由图2可见,4种不同药材来源郁金醋炙品水煎液的HPLC特征图谱中同样存在至少7个共同或相似的色谱峰,说明4种不同药材来源郁金醋炙品亦存在共有的化学成分;此外,黄丝郁金醋炙品的色谱峰亦最多,桂郁金醋炙品的色谱峰亦最少,黄丝郁金醋炙品亦与其他3种郁金醋炙品的特征图谱差异较大。对4种不同药材来源郁金生品及醋炙品的色谱峰进行统计,结果见表1。

由表1可知,4种不同药材来源郁金生品中温郁金、桂郁金和绿丝郁金的共有成分较多。其中,温郁金与绿丝郁金的色谱图相似度最高,两者共有成分也最多,共

表1 4种不同药材来源郁金生品及醋炙品的色谱峰统计结果

Tab 1 Statistic results of chromatographic peaks of crude curcumae radix and the vinegar roasted products from 4 different sources

共有峰	生品饮片	色谱峰数	醋炙品饮片	色谱峰数
4种共有	温郁金、桂郁金、绿丝郁金、黄丝郁金	7	温郁金、桂郁金、绿丝郁金、黄丝郁金	7
3种共有	温郁金、桂郁金、绿丝郁金	7	温郁金、桂郁金、绿丝郁金	7
	温郁金、绿丝郁金、黄丝郁金	1	温郁金、绿丝郁金、黄丝郁金	5
	桂郁金、绿丝郁金、黄丝郁金	1	温郁金、桂郁金、黄丝郁金	1
2种共有	温郁金、桂郁金	1	温郁金、桂郁金	1
	温郁金、绿丝郁金	4	温郁金、绿丝郁金	0
	温郁金、黄丝郁金	2	温郁金、黄丝郁金	1
	桂郁金、绿丝郁金	1	桂郁金、黄丝郁金	1
	绿丝郁金、黄丝郁金	1	绿丝郁金、黄丝郁金	3
单独特有	温郁金	2	温郁金	2
	桂郁金	1	桂郁金	1
	绿丝郁金	4	绿丝郁金	3
	黄丝郁金	14	黄丝郁金	11

计19个;黄丝郁金的特有色谱峰数目最多,共计14个。4种不同药材来源郁金醋炙品中醋温郁金、醋桂郁金和醋绿丝郁金的共有成分较多。其中,醋温郁金与醋绿丝郁金的色谱图相似度最高,两者共有成分也最多,共计19个;醋黄丝郁金的特有色谱峰数目最多,共计11个。郁金醋炙品水煎液的HPLC特征图谱与生品基本一致,未发生较为明显的变化。醋炙后温郁金、绿丝郁金和黄丝郁金三者之间共有特征成分峰较生品增加了4个,且均是原温郁金与绿丝郁金生品的共有成分峰;绿丝郁金和黄丝郁金醋炙后的共有峰较生品增加了2个;温郁金和黄丝郁金醋炙后无共有峰;绿丝郁金和黄丝郁金醋炙后单独特有的色谱峰较生品分别减少了1、3个。

2.5 4种不同药材来源郁金生品-醋炙品的镜像分析

采用画图软件将4种不同药材来源郁金生品、醋炙品水煎液的HPLC特征图谱进行镜像对比,结果见图3。

由图3可知,4种不同药材来源郁金醋炙前后HPLC特征图谱相似,但有的色谱峰的峰面积增加了,有的色谱峰的峰面积减小甚至有的色谱峰消失了,亦有新的色谱峰产生。4种不同药材来源郁金生品-醋炙品HPLC特征图谱中7个共有特征成分色谱峰的峰面积变化情况见表2,4种不同药材来源郁金醋炙前后HPLC特征图谱所有特征成分色谱峰的变化情况见表3。

由表2可见,4种不同药材来源郁金醋炙后其共有成分没有发生质的变化,仅色谱峰的峰面积有所增减。其中,除绿丝郁金外,其他3种郁金经醋炙后,7个共有成分特征峰中有5个特征峰的峰面积增大了。由表3可见,4种不同药材来源郁金经醋炙后,所有色谱峰的峰面积均发生了不同程度的变化,总色谱峰峰面积的变化规律与共有特征峰变化规律一致。除绿丝郁金外,其他3种郁金饮片醋炙后,70%以上的色谱峰的峰面积均增加了。此外,4种不同药材来源郁金经醋炙后均产生了新

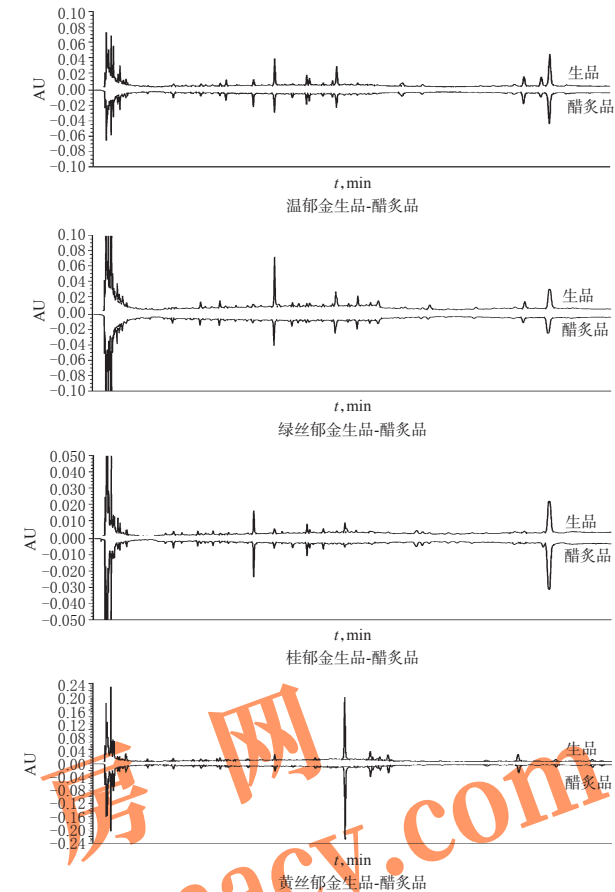


图3 4种不同药材来源郁金生品-醋炙品 HPLC 特征图谱镜像图

Fig 3 Mirror images of HPLC characteristics spectrums of crude curcumae radix-the vinegar roasted products from 4 different sources

表2 4种不同药材来源郁金生品-醋炙品 HPLC 特征图谱中7个共有特征成分色谱峰的峰面积变化

Tab 2 Changes of 7 common characteristic chromatographic peak areas in HPLC characteristics spectrums of crude curcumae radix-the vinegar roasted products from 4 different sources

品种	饮片类型及变化	共有色谱峰						
		1	2	3	4	5	6	7
温郁金	生品	6 709.3	5 464.5	5 237.4	12 132.9	57 971.4	3 294.6	10 102.7
	醋炙品	13 383.6	7 959.3	5 714.6	14 355.3	42 637.3	3 801.7	7 338.6
	变化,%	99.48↑	45.65↑	9.11↑	18.31↑	26.45↓	15.39↑	27.36↓
桂郁金	生品	3 136.3	1556.0	1 307.2	678.0	6 208.4	10 131.8	4 628.2
	醋炙品	6 935.9	2 933.7	1 716.7	1 004.4	6 366.5	5 314.2	3 939.3
	变化,%	121.15↑	88.54↑	31.33↑	48.14↑	2.54↑	47.55↓	14.88↓
绿丝郁金	生品	3991.3	13 773.5	12 635.6	4 364.7	109 868.4	730.7	8 983.0
	醋炙品	11 341.2	13 802.5	12 593.1	3 184.4	57 008.3	4 865.7	6 098.7
	变化,%	184.15↑	0.21↑	0.34↓	27.04↓	48.11↓	565.9↑	32.11↓
黄丝郁金	生品	17 753.6	14 287.3	16 040.1	6 480.9	27 116.6	318 647.3	60 817.8
	醋炙品	26 859.7	18 808.4	15 647.1	7 096.9	24 629.5	369 257.3	67 010.8
	变化,%	51.29↑	31.64↑	2.45↓	9.5↑	9.17↓	15.88↑	10.18↑

注: ↑表示增加, ↓表示减少

Note: ↑ means increase; ↓ means decrease

表3 4种不同药材来源郁金醋炙前后HPLC特征图谱所有特征成分色谱峰变化

Tab 3 Changes of all characteristic chromatographic peak in HPLC characteristics spectrums of curcuma radix from 4 different sources before and after vinegar roasted

品种	生品特征成分 色谱峰数	醋炙后特征成分色谱峰变化			
		峰面积增加个数	峰面积减少个数	新产生个数	消失个数
温郁金	21	15	6	1	0
绿丝郁金	25	9	13	1	3
桂郁金	17	13	3	1	1
黄丝郁金	28	21	5	4	2

的色谱峰,经与其他3种郁金色谱图比较发现,新增的色谱峰在其他郁金中均存在。除温郁金外,其他3种郁金饮片醋炙后均有色谱峰消失,经与其他郁金色谱峰比较发现,绿丝郁金醋炙后消失的3个色谱峰中有2个为其独有成分,黄丝郁金醋炙后消失的2个色谱峰均为其独有成分。

2.6 4种不同药材来源郁金生品、醋炙品水煎出物含量的测定

参照2015年版《中国药典》(四部)通则2202水溶性浸出物测定法项下热浸法^[13]进行测定。结果,温郁金、桂郁金、绿丝郁金、黄丝郁金生品的水煎出物含量分别为5.56%、9.69%、9.79%、11.7%,醋炙后分别为9.07%、12.48%、11.85%、12.51%,均较生品有所增加。

3 讨论

本课题组在试验过程中分别对甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.3%磷酸水溶液以及乙腈-0.3%磷酸水溶液为流动相进行了优选,结果以乙腈-0.3%磷酸水溶液为流动相时分离情况为佳;通过多次摸索流动相的组成比例和洗脱时间后确定最佳梯度洗脱条件及分析测定时间;采用二极管阵列检测器检视,发现检测波长为254 nm时色谱峰较多且峰形较好。在优选的色谱条件下测得的HPLC特征图谱中各色谱峰的分离效果相对较好,且保留时间适中,能较为全面地反映4种不同药材来源郁金饮片的成分特征。

4种不同药材来源郁金生品、醋炙品分别存在7种共有成分,亦有交互存在的成分,其中4种不同药材来源郁金生品中有2种以上交互存在的成分达25种,醋炙品中有2种以上交互存在的成分达26种。笔者认为这些共有成分和交互存在的成分就是其在临床上可以作为同一种药物使用的物质基础。

4种不同药材来源郁金生品饮片经醋炙后,其水煎出物含量均增加了,这应是郁金醋炙后功效改变的根本所在。采用HPLC法测定特征图谱后发现各色谱峰均发

生了不同程度的变化,有的色谱峰的峰面积增加了,有的峰面积减小了,还有产生新的色谱峰,亦有消失的色谱峰,且消失的成分有的是其独有成分,说明醋炙可使郁金的色谱轨迹趋于一致。笔者认为4种不同药材来源郁金饮片醋炙前后各成分的变化应为其功效改变的物质基础之一。

由于目前郁金中的已知成分较少,在前期试验中笔者采用本研究中优选的色谱条件分别以吉马酮、姜黄素、莪术醇、莪术二酮、去甲氧基姜黄素等为对照品进行测定,结果均未检测到,因此本研究未设标准品图谱。而4种不同药材来源郁金生品、醋炙品水煎液的特征图谱表明,其存在共有成分,亦存在交互存在的成分。因此,笔者在下一步工作中将对这些成分进行重点研究,以期分离得到其共有成分,并建立其含量测定方法,以填补目前药典收载郁金项下无含量测定项的空白。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:208.

[2] 吕文英,吕品.中药郁金、川芎中8种无机元素含量的测定[J].微量元素和健康研究,2002,19(3):30-31.

[3] 李琤.郁金的现代研究及临床应用[J].医药卫生,2007,36(1):210.

[4] 兰凤英.郁金的药理作用及临床应用[J].长春中医药大学学报,2009,25(1):27-28.

[5] 王见宾,张毅.中药郁金的临床应用概况[J].江苏中医药,2005,26(6):59-61.

[6] 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(5):411-414.

[7] 葛跃伟,高慧敏,王维皓,等.桂郁金化学成分研究: I [J].中国药学杂志,2007,42(11):822-824.

[8] 张娜,李敏,俸世洪.绿丝郁金 HPLC 指纹图谱初步研究[J].成都中医药大学学报,2009,32(4):66-68.

[9] 李敏,张娜,林琪宇,等.黄丝郁金的质量标准研究[J].成都中医药大学学报,2008,31(1):55-59.

[10] 山东省食品药品监督管理局.山东省中药饮片炮制规范:下册[S]. 2012年版.济南:山东科学技术出版社,2013:393.

[11] 卫生部药政管理局.全国中药炮制规范[S].北京:人民卫生出版社,1988:67.

[12] 石典花,苏本正,孙立立,等.正交试验法优选郁金醋炙工艺的研究[J].中国中药杂志,2011,36(9):5-8.

[13] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:202.

(收稿日期:2016-12-07 修回日期:2017-03-29)

(编辑:林 静)