

REFERENCES

- [1] *Ch.P*(2005) Vol I (中国药典 2005 年版, 一部).[S].2005:219-220.
- [2] ZHANG X Y, XIANG R D. Studies on chemical constituents of *Fructus Cnidii* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 1997, 28 (10): 588-590.
- [3] ZHAO L H, SHAN Z, LI X J. Studies on fingerprints of fructus *Cnidii* by GC and GC-MS[J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2007, 42(12):889-891.
- [4] YUAN Z T, CHEN D W, XU H, *et al.* Studies on effects of enhancers on percutaneous absorption of osthol across excised full thickness rat skin[J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2003, 38(2):101-103.
- [5] ZHANG Q Y, QIN L P, HUANG B K, *et al.* Study on effects of total coumarines from the fruits of *Cnidium monnieri* on osteoporosis in ovariectomized rats[J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2003, 38(9): 683-685.
- [6] FENG Y J, ZHAO Q L, LI Y Q, *et al.* Therapeutic efficacy of psoriasis vulgaris with medicated bath of Chinese traditional and herbal drugs[J]. *China J Lepr Skin Dis Jan*(中国麻风皮肤病杂志), 2007, 3(1):88-89.
- [7] KAMMERAU B, ZESCH A, SCHAEFER H. Absolute concentrations of dithranol and triacetyl-dithranol in the skin layers after local treatment: *in vivo* investigations with four different types of pharmaceutical vehicles [J]. *J Invest Dermatol*, 1975, (64): 145-149.
- [8] SCHAEFER H, STUTTGEN G. Absolute concentrations of an antimycotic agent econazole in the human skin after local application[J]. *Drug Res*, 1976 (26): 432-435.
- [9] WU X F, GAO P P, YUAN Z T. Determination of the distribution of osthol in stratum corneum and destratum corneum of stripped human skin[J]. *Chin Hosp Pharm J*(中国医院药学杂志), 2007, 27(1):49-51.
- [10] ZHOU P. Study on the preparation of piroxicam films [J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2001, 36(3):172-173.
- [11] LI W, YONG K L. Applied study on the fingerprinting technology of 3D Fluorescence spectrum[J]. *Petroleum Exp Dev*(石油勘探与开发), 1996, 23(4):32-34.
- [12] YONG K L, LU J C, LU W. Using three dimensional fluorescence spectra and variable-angle synchronous scanning, analyze the contents of amino acids with natural fluorescence[J]. *Chem World*(化学世界), 2000, 41 (11): 41-45.

(收稿日期: 2009-03-14)

HPLC 内标法测定姜黄中姜黄素类成分的含量

张韻慧, 张丹, 王妍, 蔡德富, 孙杰 (天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072)

摘要: 目的 建立一种测定姜黄原药材中主要成分姜黄素、去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素含量的新方法。方法 以醋酸地塞米松为内标, 采用 Welchrom-C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 乙腈-3%醋酸 (50:50) 为流动相, 检测波长 260 nm, 流速 1 mL·min⁻¹。结果 姜黄素在 12.6~201.6 mg·L⁻¹ (*r*=0.999 8), 去甲氧基姜黄素在 4.6~73.6 mg·L⁻¹ (*r*=0.999 0), 双去甲氧基姜黄素在 4.2~67.2 mg·L⁻¹ (*r*=0.999 9) 内线性关系良好; 平均回收率为 100.3% (RSD=1.2%), 101.1% (RSD=1.2%), 101.2% (RSD=0.9%)。结论 方法准确、可靠, 可作为姜黄原药材或含有姜黄的中成药的质量控制方法。

关键词: 高效液相色谱法; 内标法; 姜黄素类成分; 姜黄

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1001-2494(2009)18-1423-03

Determination of Curcuminoids in Turmeric by HPLC

ZHANG Yun-hui, ZHANG Dan, WANG Yan, CAI De-fu, SUN Jie (*School of Pharmaceutical science and technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC method for the determination of curcumin, demethoxy-curcumin, bisdemethoxycurcumin in Turmeric. **METHODS** Dexmethasone acetate was internal standard. The determination by RP-HPLC was carried out using welchroll-C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), with the mobile phase of acetonitrile-3% acetic acid (50:50) at a flow rate of 1 mL·min⁻¹ and the detection wavelength of 260 nm. **RESULTS** The calibration curves were linear in the range of 12.6-201.6 mg·L⁻¹ (*r*=0.999 8) for curcumin, 4.6-73.6 mg·L⁻¹ (*r*=0.999 0) for demethoxycurcumin and 4.2-67.2 mg·L⁻¹ (*r*=0.999 9) for bisdemethoxycurcumin. The average recoveries were 100.3% (RSD=1.2%), 101.1% (RSD=1.2%) and 101.2% (RSD=0.9%), respectively. **CONCLUSION** The method can be applied in quantitative determination of Turmeric or preparations contained Turmeric, with accuracy and reliability.

KEY WORDS: HPLC; internal standard method; curcuminoids; turmeric

基金项目: 科技部创新基金项目 (06C26211200048)

作者简介: 张韻慧, 女, 教授 研究方向: 药物分析 Tel: 13920111590 Fax: (022)27401186 E-mail: yunhuiz@eyou.com

中国药学杂志 2009 年 9 月第 44 卷第 18 期

Chin Pharm J, 2009 September, Vol. 44 No. 18

• 1423 •

姜黄是姜科植物姜黄(*Curcuma longa* L.)的干燥根茎,其提取物主要成分为姜黄素类化合物,包括姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素^[1]。这3种姜黄素类成分具有多方面相似的药理作用,但是结构上的微小差异又使其在抗癌、抗氧化作用等方面的能力有较大差异,如抗诱变、抗癌方面,以姜黄素活性最强,而利胆、护肝方面,二甲氧基姜黄素活性最强^[2]。对于姜黄药材和一些制剂的质量控制测定方法亦有报道^[3-4],但大多以姜黄素为单一指标。为了提高中药质量控制的技术和水平,本实验首次以醋酸地塞米松为内标同时测定了姜黄药材中的3个姜黄素类化合物含量,该方法准确、易行,并可以广泛应用于含姜黄的制剂。

1 仪器与试剂

P-2000 高效液相色谱仪,UV-2000 紫外检测器,N2010 色谱工作站(浙江大学)。姜黄素对照品(批号 110823-200603)和醋酸地塞米松对照品(批号 100122-200304,中国药品生物制品检定所)。去甲氧基姜黄素和二去甲氧基姜黄素对照品由本研究室从姜黄药材分离制备,经质谱解析确定结构,HPLC 面积归一化法测定纯度均达到98%。姜黄药材由天津市中药饮片厂提供(天津市药品检验所高元泰主任药师鉴定),流动相所用己腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,实验用水使用二次重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:WelchromTM-C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm, Welch Material, Inc);流动相:乙腈-3%冰醋酸(50:50);检测波长:260 nm;流速:1 mL·min⁻¹;柱温:室温;进样量:10 μL。

2.2 溶液配制

2.2.1 内标溶液 精密称取醋酸地塞米松适量,加甲醇配制成质量浓度为0.216 g·L⁻¹的溶液,作为内标储备液。

2.2.2 对照品溶液 精密称取对照品适量,甲醇稀释,配制成含姜黄素质量浓度为0.252 g·L⁻¹、去甲氧基姜黄素0.092 g·L⁻¹、双去甲氧基姜黄素质量浓度为0.084 g·L⁻¹的溶液作为对照品储备液。

2.2.3 供试品溶液 取姜黄粗粉0.2 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇10 mL,密塞,摇匀,称定重量,加热回流30 min,放冷,再称定

质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过即得。

2.3 系统适用性实验

取内标、对照品和供试品溶液,照“2.1”项下的色谱条件注入高效液相色谱仪,记录色谱图,见图1。

经测定姜黄素、去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素以及内标醋酸地塞米松的理论塔板数分别是14 561, 14 038, 12 094 和 14 929,同时姜黄素与去甲氧基姜黄素的分离度是2.620,去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素的分离度是2.452,双去甲氧基姜黄素和醋酸地塞米松的分离度是5.234,均符合《中国药典》2005年版的规定。

2.4 线性实验

分别取“2.2.2”项下对照品储备液0.5, 1, 2, 4, 6, 8 mL于10 mL量瓶,各加内标溶液1 mL,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得系列质量浓度的对照品混合溶液。分别进样10 μL,以各组分的质量浓度为横坐标(ρ),以对照品与内标物峰面积比为纵坐标(A),进行线性回归,回归方程见表1。

2.5 精密度实验

取“2.2.2”项下对照品溶液2 mL于10 mL量瓶,加内标溶液1 mL,甲醇稀释至刻度,摇匀,取

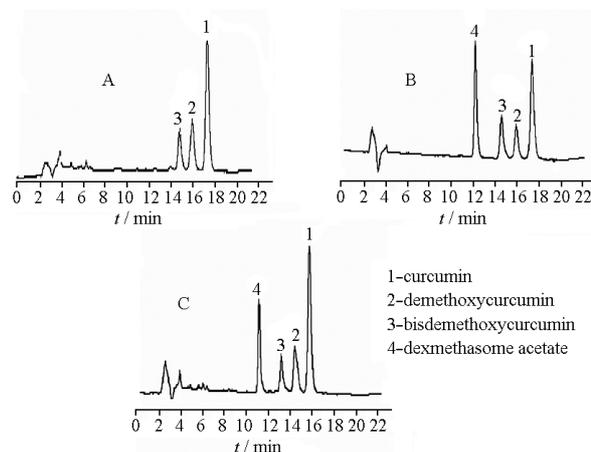


图1 姜黄(A)、对照品溶液(B)和供试品溶液(C)高效液相色谱图

Fig.1 HPLC chromatograms of turmeric(A), reference solution(B) and sample solution(C)

表1 姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素回归方程
Tab.1 The calibration data of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin

Compound	Regression equation	r	Linear range /mg·L ⁻¹
Curcumin	$A=0.0533\rho-0.1110$	0.9998	12.6~201.6
Demethoxycurcumin	$A=0.0445\rho+0.0010$	0.9990	4.6~73.6
Bisdemethoxycurcumin	$A=0.0636\rho-0.0471$	0.9999	4.2~67.2

10 μL 注入高效液相色谱仪,连续测定 6 次,结果 3 种组分与内标物峰面积比值的 RSD 分别为 1.0%, 1.7%和 1.0%,表明本法精密度较好。

2.6 重复性实验

照“2.2.3”项下方法制备同批姜黄供试品溶液 5 份,分别精密量取 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加内标溶液 1 mL,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。各取 10 μL 注入高效液相色谱仪,计算含量分别为姜黄素 2.41% (RSD=1.6%)、去甲氧基姜黄素 1.01% (RSD=2.2%) 和双去甲氧基姜黄素 0.48% (RSD=2.5%),表明本法重复性较好。

2.7 稳定性实验

精密量取“2.2.3”项下姜黄供试品溶液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加内标溶液 1 mL,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。在 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 进样,计算 RSD 分别为 1.1%, 2.0%, 1.6%,表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 回收率实验

照“2.2.3”项下方法制备同批姜黄供试品溶液 3 份,分别取 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加内标溶液 1 mL,加入对照品适量,用甲醇稀释至刻度,得高、中、低浓度溶液各 3 组,取 10 μL 注入高效液相色谱

仪,测定结果见表 2。

2.9 样品测定

取 3 批姜黄药材按“2.2.3”项下操作,精密量取 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加内标溶液 1 mL,加甲醇稀释至刻度,摇匀,在“2.1”条件下,各取 10 μL 注入高效液相色谱仪,结果见表 3。

3 讨论

3.1 《中国药典》2005 年版中姜黄素的检测波长为 420 nm^[1],但在该波长下选择不到合适的内标物。经姜黄素对照品溶液的紫外分光光度法表明,其最大吸收波长为 252 和 422 nm,而醋酸地塞米松的紫外最大吸收为 240 nm,经过反复实验,最后确定以 260 nm 作为本法的检测波长。

3.2 《中国药典》2005 年版中姜黄药材的含量测定采用 C₈ 柱^[1],对姜黄素单成分检测。本实验采用 C₁₈ 柱对 3 种姜黄素类成分同时检测,结果表明,姜黄素和双去甲氧基姜黄素峰形较好,去甲氧基姜黄素的色谱峰轻微拖尾,其对称因子为 1.25。

3.3 HPLC 内标法测定姜黄中姜黄素类成分可应用于准确测定药材及相关制剂中姜黄素类成分的含量。

表 2 姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素回收率实验结果. n=3

Tab.2 The recovery determination results of curcumin,demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. n=3

Compound	Sample/ μg	Added/ μg	Found/ μg	Recovery/%	RSD/%
Curcumin	483.9	588	1 063.8	99.0	1.2
	499.6	490	994.3	100.9	
	498.1	392	899.4	102.3	
Demethoxycurcumin	198.2	240	438.2	100.0	1.2
	203.2	200	407.1	101.9	
	209.7	160	373.8	102.5	
Bisdemethoxycurcumin	96.4	120	220.2	103.2	0.9
	103.8	100	203.8	100.0	
	99.8	80	180.7	101.1	

表 3 姜黄样品测定结果. n=3

Tab.3 Result of turmeric samples. n=3

Lot.	Source	Curcumin	Demethoxycurcumin	Bisdemethoxycurcumin
		%	%	%
061109	Guangxi	2.41	1.01	0.48
070302	Yunnan	1.55	0.92	0.53
070411	Guangxi	2.21	1.10	0.32

REFERENCES

[1] Ch.P(2005) Vol I (中国药典 2005 年版一部) [S].2005:186.

[2] RASMUSSEN C, KVIST K. A simple and efficient separation of the curcumins and the antiprotozoal constituents of *Curcuma longa*[J]. *Planta Med*, 2000, 66(4): 396-398.

[3] ZHAO X, YUAN D, WANG Q L. Study on quantitative determination of curcuminoids in extracts of *Curcuma longa* L[J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2005, 25(6): 643-646.

[4] SHI X Y, TAN R. Determination of the contents of curcuminoids in Turmeric by HPLC[J]. *J Chin Med Mater*(中药材), 2004, 12(27): 916-917.

(收稿日期: 2008-11-20)