

# 温郁金中5种成分的含量测定及其产地加工方法优化<sup>△</sup>

周爱珍<sup>1\*</sup>, 鲍珍贝<sup>2</sup>, 程斌<sup>1#</sup>, 朱晓琪<sup>1</sup>[1. 浙江医药高等专科学校中药学院, 浙江宁波 315300; 2. 台州恩泽医疗中心(集团)路桥医院中药房, 浙江台州 318050]

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)03-0381-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.03.20

**摘要** 目的: 建立同时测定温郁金中莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯含量的方法, 并优化其产地加工方法。方法: 采用高效液相色谱(HPLC)法。色谱柱为 ODS SP C<sub>18</sub>, 流动相为乙腈-0.05% 磷酸溶液(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 214 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10  $\mu$ L。将新鲜温郁金药材经蒸/煮(10、20、30、40 min)、烘干(温度分别为 50、60、70 ℃)后制备 18 批样品药材并测定各批药材中 5 种成分的含量; 以灰色关联分析法得到的相对关联度( $r_i$ )为评价指标, 优选温郁金药材的最优产地加工方法。结果: 莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯的检测质量浓度线性范围分别为 25.56~409.0、2.05~32.8、6.36~102.0、9.14~146.0、8.62~138.0  $\mu$ g/mL( $r$ 均 $\geq$ 0.999 2), 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均 $<$ 2.0%( $n=6$ ); 定量限分别为 0.34、0.62、0.11、0.14、1.20  $\mu$ g/mL, 检测限分别为 0.10、0.19、0.03、0.04、0.42  $\mu$ g/mL; 平均加样回收率分别为 101.3%、98.7%、99.0%、99.6%、96.4%(RSD 均 $<$ 2.8%,  $n=6$ ); 灰色关联分析结果显示, 煮 10 min-50 ℃ 烘干的加工方法的  $r_i$  最大, 对温郁金药材中莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯含量影响最小。结论: HPLC 法可用于温郁金药材中 5 种成分的含量测定, 本次优化结果可为温郁金药材产地加工方法的选择提供参考。

**关键词** 温郁金; 含量测定; 产地加工; 高效液相色谱法; 灰色关联度分析法

## Content Determination of 5 Components in *Curcuma wenyujin* and Optimization of Processing Method in Production Place

ZHOU Aizhen<sup>1</sup>, BAO Zhenbei<sup>2</sup>, CHENG Bin<sup>1</sup>, ZHU Xiaoqi<sup>1</sup>[1. School of TCM, Zhejiang Pharmaceutical College, Zhejiang Ningbo 315300, China; 2. TCM Pharmacy, Luqiao Hospital of Taizhou Enze Medical Center (Group), Zhejiang Taizhou 318050, China]

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determination of curdione, curcumenol, germacrone, furanodiene and  $\beta$ -elemene in *Curcuma wenyujin*, and to optimize its processing method in production place. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on ODS SP C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 214 nm, and column temperature was 30 ℃. The sample size was 10  $\mu$ L. 18 batches of sample medicinal materials were prepared by steaming-drying (10, 20, 30, 40 min), or cooking-drying (drying temperature 50, 60, 70 ℃), and then the contents of 5 components were determined. Relative relational degree ( $r_i$ ) obtained by grey relational analysis method as indexes was used to optimize the processing methods of *C. wenyujin* in production place using. RESULTS: The linear range of curdione, curcumenol, germacrone, furanodiene and  $\beta$ -elemene were 25.56-409.0, 2.05-32.8, 6.36-102.0, 9.14-146.0, 8.62-138.0  $\mu$ g/mL ( $r \geq 0.999 2$ ), respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2.0% ( $n=6$ ). Quantitative limits were 0.34, 0.62, 0.11, 0.14 and 1.20  $\mu$ g/mL, and detection limits were 0.10, 0.19, 0.03, 0.04 and 0.42  $\mu$ g/mL, respectively. The average recoveries were 101.3%, 98.7%, 99.0%, 99.6%, 96.4%, respectively (RSD $<$ 2.8%,  $n=6$ ). The results of grey relational analysis showed that the relative relational degree ( $r_i$ ) from the processing technology of "boil for 10 min-drying at 50 ℃" was greatest, which had relatively small comprehensive effect on the contents of curdione, curcumenol, germacrone, furanodiene and  $\beta$ -elemene respectively. CONCLUSIONS: Established HPLC method can be used for content determination of 5 components in *C. wenyujin*. The results of optimization can provide reference for the selection of processing method of *C. wenyujin* in production place.

**KEYWORDS** *Curcuma wenyujin*; Content determination; Processing in production place; HPLC; Grey relational analysis method

<sup>△</sup> 基金项目: 浙江省公益技术应用研究计划项目(No.2016C32003); 浙江省大学生科技创新计划项目(No.2018R458004)

\* 副教授, 博士。研究方向: 中药炮制及分析。电话: 0574-88222758。E-mail: aizhen\_zhou@sina.com

# 通信作者: 副教授, 博士。研究方向: 中药质量标准及药效物质。电话: 0574-88222783。E-mail: 44418972@qq.com

温郁金为姜科植物温郁金(*Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling)的干燥块根, 其性寒, 味辛、苦, 归肝、心、肺经, 是一味具有活血止痛、行气解郁、清心凉血、利胆退黄功效的临床常用中药, 主治胸腹刺痛、胸痹心痛、经闭痛经、乳房胀痛、黄疸尿赤等<sup>[1]</sup>。现代研究表明, 温

郁金药材所含的主要活性成分以倍半萜类化合物为主<sup>[2]</sup>,具有抗肿瘤、抗血栓、抗炎等多种药理活性,如莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮(吉马酮)、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯等均具有较强的抑制肿瘤细胞生长和诱导肿瘤细胞凋亡的作用<sup>[3-5]</sup>;莪术二酮、莪术醇、 $\beta$ -榄香烯等具有抗血栓、改善血液循环等作用<sup>[6-8]</sup>;莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮等具有显著的抗炎镇痛作用<sup>[9-11]</sup>。鉴于温郁金显著的药理活性,其开发和应用愈来愈受到广泛关注<sup>[2]</sup>。

道地药材的加工方法是形成中药材道地性的关键因素之一,直接关系到道地药材的质量,尤其是现阶段道地药材规模化、产业化的迅速发展,落后的加工水平已经成为制约其发展的瓶颈<sup>[12]</sup>。温郁金作为传统的“浙八味”药材,主产地在浙江温州,已有近900年的栽培历史<sup>[13]</sup>。关于郁金药材的加工和质量标准,2015年版《中国药典》(一部)(以下简称“药典”)规定的加工方法为冬季茎叶枯萎后采挖,除去泥沙和细根,蒸或煮至透心,然后干燥即得;质量标准中仅规定了性状鉴别、显微和色谱鉴别、水分和总灰分测定检查项<sup>[1]</sup>,缺乏含量测定等关键性的质控项目。本课题组通过对瑞安、乐清等温郁金药材产地的调研发现,各地的加工方法主要是采用清水煮后晒干法(清水煮后,挑选较大者折断,用指甲掐其内心,如无响声或粉质稍微熟透,捞出、晒干即得)。无论是药典收载的加工方法,还是传统的产地加工方法都缺乏具体、可控的技术参数,农户操作随意性大,操作过程和成品质量仅凭农户主观经验判断,其产地加工工艺亟待规范化和产业化。

由于温郁金的采收季节在冬季,气温相对较低,对于富含淀粉(30%~40%)的新鲜温郁金药材而言,若不经蒸或煮的加工处理,则很难晒干,极易出现腐烂变质的现象,传统方法加热处理后易于干燥和保存,适合产地实际情况。本文在前期调研和预试验的基础上,参考相关研究<sup>[2-11]</sup>中药理作用显著且含量相对较高的莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯5种成分为评价指标,采用高效液相色谱(HPLC)法建立温郁金药材中5种活性成分的含量测定方法,并结合灰色关联分析法对温郁金药材的产地加工方法进行综合评价,为规范道地药材温郁金的产地加工和品质评价提供试验依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

DGU-20A系列HPLC系统(日本岛津有限公司);XS105电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司);BS124S电子天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司);SB-5200D超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);YF-150B粉碎机(浙江瑞安市永历制药机械有限

公司);CT-C热风循环烘箱(江苏江阴江拓机械设备有限公司);ZGY-500可倾式蒸煮锅(台州春江制药机械有限公司);DSH-50快速水分测定仪(上海越平科学仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

莪术二酮(批号:111800-201302,纯度:99.8%)、莪术醇(批号:100185-201007,纯度:99.9%)、牻牛儿酮(批号:111665-201605,纯度:99.8%)、呋喃二烯(批号:111824-201102,纯度:99.4%)、 $\beta$ -榄香烯(批号:100268-201402,纯度:99.4%)对照品均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯;温郁金新鲜药材于2018年1月采集,产地为浙江省温州市陶山镇,经浙江医药高等专科学校杨雄志教授鉴定为姜科植物温郁金的块根。

## 2 方法与结果

### 2.1 温郁金药材的不同加工方法

本课题组结合前期预试验,分别称取新鲜温郁金药材500g,于蒸煮锅内加入10倍量冷水,以沸腾时开始计时,按表1中的不同加工方法对温郁金样品进行处理,采用热风循环加热烘干至含水量为12%左右(药典规定不超过15%<sup>[1]</sup>)取出,放冷,密封包装,置于阴凉干燥处保存,备用。

表1 温郁金不同产地加工方法制备的样品( $n=3$ )

Tab 1 Samples of *C. wenyujin* processed by different methods in production place( $n=3$ )

编号	煮的时间, min	烘干温度, °C	含水量, %	编号	蒸的时间, min	烘干温度, °C	含水量, %
S1	10	50	12.20±0.21	S10	20	50	12.29±0.05
S2	10	60	12.24±0.15	S11	20	60	12.31±0.10
S3	10	70	12.18±0.23	S12	20	70	12.42±0.18
S4	20	50	12.52±0.20	S13	30	50	12.23±0.22
S5	20	60	12.41±0.07	S14	30	60	12.10±0.42
S6	20	70	12.03±0.10	S15	30	70	12.27±0.21
S7	30	50	12.32±0.14	S16	40	50	12.43±0.13
S8	30	60	12.30±0.25	S17	40	60	12.39±0.12
S9	30	70	12.17±0.25	S18	40	70	12.19±0.16

### 2.2 莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为ODS SP C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相为乙腈(A)-0.05%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~20 min, 50%→60% A; 20~25 min, 60%→65% A; 25~30 min, 65%→80% A; 30~38 min, 80% A; 38~40 min, 80%→90% A; 40~50 min, 90% A);流速为1.0 mL/min;检测波长为214 nm;柱温为30 °C;进样量为10  $\mu$ L。

2.2.2 溶液的制备 (1)混合对照品溶液的制备。分别取莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯对

照品适量,置于棕色量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,得莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯质量浓度分别为0.852、1.025、0.848、0.914、1.724 mg/mL的单一对照品贮备液。分别精密吸取上述贮备液适量置于5 mL棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,得莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯的质量浓度分别为0.102、0.041、0.025、0.036、0.344 mg/mL的混合对照品溶液。(2)供试品溶液的制备。取S7温郁金药材粉末1.0 g,精密加入甲醇20 mL,密塞,称质量,超声(功率:200 W,频率:50 kHz)处理40 min,放冷;擦干外壁,密塞,再称质量,用甲醇补足缺失的质量,摇匀,过0.45  $\mu$ m滤膜,取续滤液即得。

2.2.3 系统适用性考察 精密吸取“2.2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液各10  $\mu$ L,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果表明,各检测成分之间分离度均大于1.5,理论板数以莪术二酮峰计不小于20 000。2种溶液的高效液相色谱图见图1。

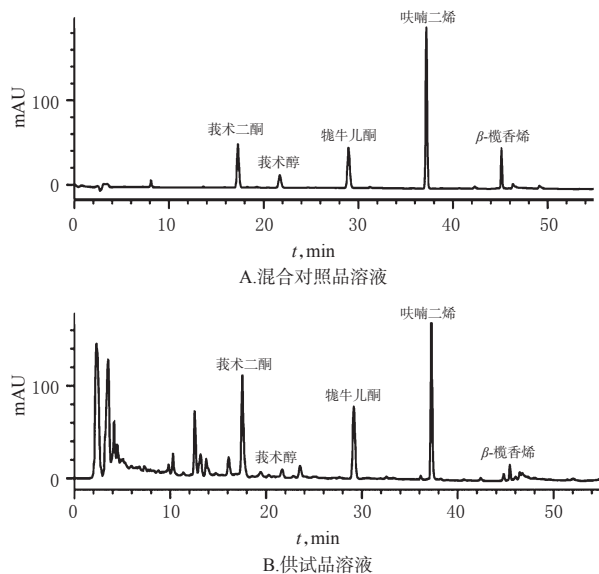


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.2.4 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯单一对照品贮备液各2.4、0.16、0.6、0.8、0.4 mL,置于5 mL棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀;采用2倍稀释法稀释获得5个质量浓度的系列对照品溶液后,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,以对照品的质量浓度为横坐标( $x$ )、峰面积为纵坐标( $y$ )进行线性回归。结果,莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯的检测质量浓度线性范围分别为25.56~409.0、2.050~32.80、6.360~102.0、9.145~146.0、8.620~138.0  $\mu$ g/mL( $r$ 均 $\geq$ 0.999 2,  $n=5$ ),5种成分线性关系考察结果见表2。

2.2.5 检测限及定量限考察 精密吸取“2.2.2”项下的

单一对照品贮备液适量,逐级稀释后,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,在信噪比( $S/N$ )为3时计算检测限, $S/N$ 为10时计算定量限,结果见表2。

表2 5种成分的回归方程、线性范围、检测限及定量限( $n=5$ )

Tab 2 Regression equation, linear range, detection limit and quantitative limits( $n=5$ )

成分	回归方程	线性范围, $\mu$ g/mL	$r$	检测限, $\mu$ g/mL	定量限, $\mu$ g/mL
莪术二酮	$y=844.003x+464.33$	25.56~409.0	0.999 9	0.10	0.34
莪术醇	$y=496.073x+201.29$	2.050~32.80	0.999 7	0.19	0.62
牻牛儿酮	$y=3 \times 10^3x-261.32$	6.360~102.0	0.999 9	0.03	0.10
呋喃二烯	$y=3 \times 10^3x+58.695$	9.145~146.0	0.999 2	0.04	0.14
$\beta$ -榄香烯	$y=171.267x-420.75$	8.620~138.0	0.999 9	0.42	1.20

2.2.6 精密度试验 精密吸取“2.2.2”项下的混合对照品溶液10  $\mu$ L,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样6次,记录色谱图。结果,莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯峰面积的RSD分别为0.12%、0.18%、0.12%、0.09%、0.69%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 精密吸取“2.2.2”项下的供试品溶液10  $\mu$ L,按“2.2.1”项下色谱条件,分别于0、2、4、8、12、24 h进样测定,记录色谱图。结果,莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯峰面积的RSD分别为0.88%、1.70%、0.49%、0.54%、1.90%( $n=6$ ),表明样品在24 h内具有较好的稳定性。

2.2.8 重复性试验 取S7样品,按照“2.2.2”项下供试品溶液的制备方法,平行制备6份供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,计算含量。结果,莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯含量的RSD分别为1.6%、1.9%、1.5%、1.1%、1.4%( $n=6$ ),表明方法的重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 取已知含量的S7样品0.5 g,分别加入等量的对照品,按照“2.2.2”项下供试品溶液的制备方法平行制备6份,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算各成分的加样回收率及其RSD。结果显示,莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯平均加样回收率分别为101.3%、98.7%、99.0%、99.6%、96.4%,RSD分别为2.6%、1.7%、2.7%、2.3%、1.3%( $n=6$ ),详见表3。

## 2.3 样品测定结果及分析

分别取温郁金不同方法加工的药材(S1~S18)粉末1.0 g,按“2.2.2”项下供试品溶液制备方法平行制备3份,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算温郁金不同方法加工药材中5种成分的含量,结果见表4。

根据表4中的结果,以各样品所含莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯和 $\beta$ -榄香烯的含量为纵坐标,温郁金不同加工方法(煮-烘干、蒸-烘干)为横坐标绘制关联图,结果见图2。

表3 5种成分回收率结果(n=6)

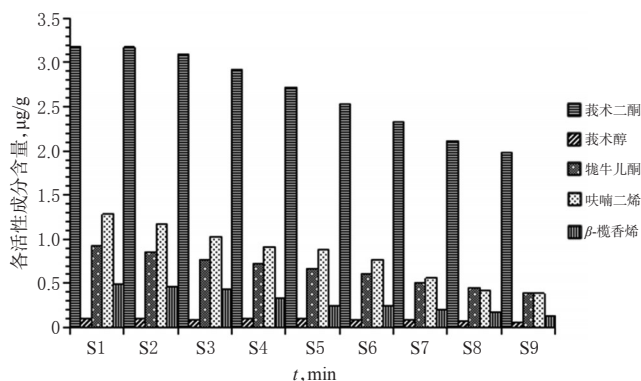
Tab 3 Results of recovery rate of 5 components (n=6)

成分	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
莪术二酮	0.994 2	0.937 2	1.909	97.6	101.3	2.6
	0.993 2		1.968	104.0		
	0.995 0		1.945	101.4		
	0.990 8		1.919	99.1		
	0.991 8		1.940	101.1		
	0.993 0		1.971	104.4		
莪术醇	0.042 35	0.0410 0	0.082 2	97.1	98.7	1.7
	0.042 31		0.083 4	100.2		
	0.042 39		0.082 3	97.4		
	0.042 21		0.082 6	98.6		
	0.042 25		0.082 3	97.7		
	0.042 30		0.083 9	101.4		
牻牛儿酮	0.274 4	0.271 4	0.543 7	99.2	99.0	2.7
	0.274 2		0.534 7	96.0		
	0.274 7		0.540 1	97.8		
	0.273 5		0.545 3	100.1		
	0.273 8		0.537 2	97.1		
	0.274 1		0.555 0	103.5		
呋喃二烯	0.331 8	0.352 6	0.682 5	99.5	99.6	2.3
	0.331 5		0.693 3	102.6		
	0.332 1		0.677 4	97.9		
	0.330 7		0.672 8	97.0		
	0.331 0		0.674 8	97.5		
	0.331 4		0.694 3	102.9		
β-榄香烯	0.318 9	0.310 3	0.623 3	98.1	96.4	1.3
	0.318 7		0.615 5	95.7		
	0.319 2		0.617 4	96.1		
	0.317 9		0.621 1	97.7		
	0.318 2		0.616 1	96.0		
	0.318 6		0.613 4	95.0		

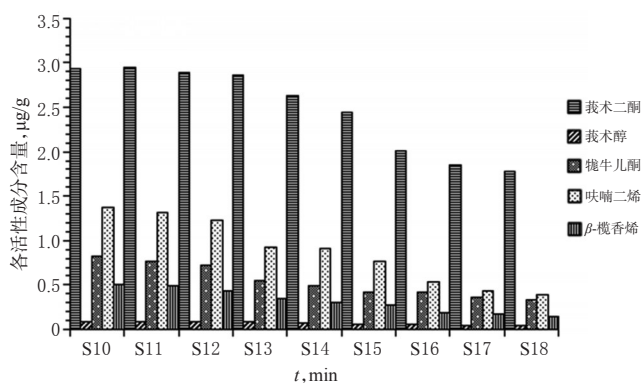
表4 温郁金不同方法加工的药材中5个成分的含量测定结果(μg/g, n=3)

Tab 4 Results of content determination of 5 components in *C. wenyujin* prepared by different processing methods(μg/g, n=3)

样品	莪术二酮	莪术醇	牻牛儿酮	呋喃二烯	β-榄香烯
S1	3.179 0	0.104 0	0.918 7	1.280 0	0.485 0
S2	3.174 0	0.097 3	0.852 2	1.170 0	0.467 1
S3	3.096 0	0.091 6	0.769 6	1.026 0	0.426 0
S4	2.920 0	0.104 3	0.719 3	0.917 0	0.330 9
S5	2.720 0	0.096 5	0.669 6	0.882 9	0.251 7
S6	2.534 0	0.087 0	0.600 9	0.764 2	0.250 4
S7	2.333 0	0.080 4	0.505 5	0.558 0	0.196 6
S8	2.108 0	0.071 5	0.452 1	0.411 7	0.177 1
S9	1.978 0	0.060 4	0.392 6	0.382 3	0.129 8
S10	2.939 0	0.090 6	0.819 3	1.378 0	0.502 2
S11	2.945 0	0.086 7	0.769 6	1.314 0	0.486 2
S12	2.894 0	0.085 9	0.725 5	1.233 0	0.431 3
S13	2.858 0	0.078 4	0.553 7	0.929 1	0.348 6
S14	2.628 0	0.070 3	0.492 6	0.915 1	0.303 6
S15	2.437 0	0.063 3	0.417 5	0.770 9	0.268 0
S16	2.012 0	0.051 8	0.420 2	0.536 7	0.191 0
S17	1.848 0	0.047 4	0.361 1	0.427 1	0.170 8
S18	1.779 0	0.041 7	0.325 4	0.392 2	0.145 7



A.煮-烘干法与各成分含量关联图



B.蒸-烘干法与各成分含量关联图

图2 温郁金不同加工方法与各成分含量关联图

Fig 2 Relation map of different processing methods of *C. wenyujin* and each component

由表4及图2可知,采用煮-烘干工艺加工温郁金药材时,煮10 min-50℃烘干工艺制得的样品(S1)中莪术二酮、牻牛儿酮、呋喃二烯和β-榄香烯的含量最高,煮20 min-50℃烘干工艺制得的样品(S4)中莪术醇含量最高;采用蒸-烘干工艺加工温郁金药材时,蒸20 min-50℃烘干工艺制得样品(S10)中莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯和β-榄香烯的含量最高,蒸20 min-60℃烘干工艺制得的样品(S11)中莪术二酮的含量最高。煮-烘干、蒸-烘干工艺的比较结果可知,煮10 min-50℃烘干工艺制得的样品(S1)中莪术二酮、牻牛儿酮的含量最高,煮20 min-50℃烘干工艺制得的样品(S4)中莪术醇含量最高,而蒸20 min-50℃烘干工艺制得样品(S10)中呋喃二烯、β-榄香烯的含量最高。

#### 2.4 温郁金药材不同加工方法与活性成分含量灰色关联分析

基于“2.3”项下结果可知,仅凭1~2个指标成分含量高低难以客观地优选出温郁金药材的最佳加工方法,因此,笔者采用灰色关联分析法<sup>[14]</sup>,应用DPS 7.5统计软件对温郁金药材不同加工方法与莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯和β-榄香烯等活性成分的含量等进行灰色关联分析,以综合评价不同加工方法对上述成分含

量的影响,从而优选出最佳的温郁金药材加工方法。

2.4.1 参考序列的选择 根据灰色关联理论<sup>[14]</sup>,笔者将温郁金药材的活性成分作为一个灰色系统,不同的活性成分为子系统,每个活性成分的含量为一个灰元(元素),进行关联分析计算。设有样品数 $n$ 个,每个样品的评价指标有 $m$ 项,即组成评价单元序列 $\{X_{ik}\}$ , ( $i=1, 2, 3, \dots, n; k=1, 2, 3, \dots, m$ );本研究中温郁金药材样品数 $n=18$ ,活性成分数 $m=5$ )。设最优参考序列为 $\{X_{sk}\}$ ,由 $n$ 个样品对应指标的最大值组成;最差参考序列为 $\{X_{tk}\}$ ,由 $n$ 个样品对应指标的最小值组成( $k=1, 2, 3, \dots, m$ )。

2.4.2 原始数据的格式化处理 由于各含量指标间独立性的问题<sup>[15]</sup>,本文采用均值化变换,将原始数据按公式① $Y_{ik}=X_{ik}/X_k$ ( $Y_{ik}$ 为规格化处理后的数据, $X_{ik}$ 为原始数据, $X_k$ 为 $n$ 个样品第 $k$ 个指标的均值)进行格式化处理,结果见表5。

表5 温郁金不同加工药材样品中5种成分含量数据格式化处理结果

Tab 5 Results of data format processing of 5 components in different prepared *C. wenyujin*

项目	样品	莪术二酮	莪术醇	牻牛儿酮	呋喃二烯	$\beta$ -榄香烯
评价单元序列	S1	1.233 7	1.327 8	1.536 1	1.507 0	1.569 6
	S2	1.231 8	1.243 0	1.424 9	1.377 5	1.511 7
	S3	1.201 5	1.170 0	1.286 8	1.208 0	1.378 6
	S4	1.133 2	1.331 6	1.202 7	1.079 7	1.070 9
	S5	1.055 6	1.232 0	1.119 6	1.039 5	0.814 6
	S6	0.983 4	1.111 3	1.004 7	0.899 8	0.810 4
	S7	0.905 4	1.027 0	0.845 2	0.657 0	0.636 2
	S8	0.818 1	0.913 4	0.755 9	0.484 7	0.573 1
	S9	0.767 6	0.772 2	0.656 4	0.450 1	0.420 1
	S10	1.140 6	1.157 0	1.369 9	1.622 4	1.625 2
	S11	1.142 9	1.107 9	1.286 8	1.547 1	1.573 5
	S12	1.123 1	1.096 8	1.213 1	1.451 7	1.395 8
	S13	1.109 1	1.002 0	0.925 8	1.093 9	1.128 2
	S14	1.019 9	0.898 4	0.823 6	1.077 4	0.982 5
	S15	0.945 8	0.808 3	0.698 1	0.907 6	0.867 3
	S16	0.780 8	0.662 2	0.702 6	0.631 9	0.618 1
	S17	0.717 2	0.605 5	0.603 8	0.502 9	0.552 8
	S18	0.690 4	0.533 5	0.544 1	0.461 8	0.471 5
参考序列	最优	1.233 7	1.331 6	1.536 1	1.622 4	1.625 2
	最差	0.690 4	0.533 5	0.544 1	0.450 1	0.420 1

2.4.3 关联系数计算 分别按照公式② $\zeta_{k(s)}^i = (\Delta_{\min} + \rho\Delta_{\max}) / (|Y_{ik} - Y_{sk}| + \rho\Delta_{\max})$  [ $\Delta_{\min} = \min |Y_{ik} - Y_{sk}|$ ,  $\Delta_{\max} = \max |Y_{ik} - Y_{sk}|$ ;  $i=1, 2, \dots, n; k=1, 2, \dots, m$ ;  $\rho$ 为分辨系数,一般取值为0.5<sup>[15]</sup>,下同]和公式③ $\zeta_{k(t)}^i = (\Delta'_{\min} + \rho\Delta'_{\max}) / (|Y_{ik} - Y_{tk}| + \rho\Delta'_{\max})$  [ $\Delta'_{\min} = \min |Y_{ik} - Y_{tk}|$ ,  $\Delta'_{\max} = \max |Y_{ik} - Y_{tk}|$ ],计算温郁金药材不同加工方法相对于最优、最差参考序列的关联系数。

2.4.4 关联度的计算及结果分析 在“2.4.3”项计算的基础上,计算关联度。先按公式④ $r_{i(s)} = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m \zeta_{k(s)}^i$ 和

$$\textcircled{5} r_{i(t)} = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m \zeta_{k(t)}^i$$

计算温郁金药材不同加工方法相对于最优参考序列关联度 $r_{i(s)}$ 、最差参考序列关联度 $r_{i(t)}$ ,再按公式⑥ $r_i = r_{i(s)} / [r_{i(s)} + r_{i(t)}]$ 计算相对关联度( $r_i$ ),并以 $r_i$ 的大小进行排序, $r_i$ 值越大,说明样品与活性成分含量的关联度高,对其综合影响较小,结果见表6。

表6 温郁金不同加工药材样品的相对关联度及优劣排序

Tab 6 Relative relational degree of different prepared *C. wenyujin* and ranking of advantages and disadvantages

样品	$r_{i(s)}$	$r_{i(t)}$	$r_i$	排序	样品	$r_{i(s)}$	$r_{i(t)}$	$r_i$	排序
S1	0.948 3	0.380 0	0.713 9	1	S10	0.837 9	0.402 1	0.675 7	3
S2	0.835 0	0.399 2	0.676 6	2	S11	0.772 5	0.415 7	0.650 1	4
S3	0.713 3	0.431 0	0.623 4	5	S12	0.688 9	0.435 8	0.612 5	6
S4	0.673 6	0.461 6	0.593 4	7	S13	0.551 1	0.511 4	0.518 7	9
S5	0.575 1	0.511 5	0.529 3	8	S14	0.490 3	0.562 8	0.465 6	11
S6	0.504 1	0.555 6	0.475 7	10	S15	0.436 7	0.639 6	0.405 7	12
S7	0.438 8	0.657 2	0.400 4	13	S16	0.373 5	0.780 4	0.323 7	15
S8	0.395 3	0.756 7	0.343 1	14	S17	0.350 0	0.887 0	0.282 9	17
S9	0.362 4	0.866 0	0.295 0	16	S18	0.335 7	0.980 4	0.255 1	18

从表6中可知,S1样品与莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯和 $\beta$ -榄香烯含量的 $r_i$ 值最大,表明煮10 min-50 °C烘干工艺能较大幅度地保留各成分,可作为温郁金药材最佳加工方法。

## 2.5 验证试验

分别称取新鲜温郁金500 g,根据“2.4”项下的分析结果,采用“煮10min-50 °C烘干工艺”平行加工药材样品3份,分别按“2.2.2”项下供试品溶液制备方法平行制备3份,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算温郁金药材样品中5种成分的平均含量,结果见表7。

表7 验证试验结果( $\mu\text{g/g}$ )

Tab 7 Results of verification tests( $\mu\text{g/g}$ )

样品	莪术二酮	莪术醇	牻牛儿酮	呋喃二烯	$\beta$ -榄香烯
1	3.182 0	0.104 6	0.919 5	1.266 0	0.478 3
2	3.185 0	0.102 8	0.918 4	1.273 0	0.479 2
3	3.176 0	0.103 5	0.920 7	1.277 0	0.481 6
平均值	3.181 0	0.103 6	0.919 5	1.272 0	0.479 7

结果显示,采用“煮10min-50 °C烘干工艺”加工的温郁金药材样品所含莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯和 $\beta$ -榄香烯的平均含量分别为3.181 0、0.103 6、0.919 5、1.272 0、0.479 7  $\mu\text{g/g}$ ( $n=3$ )。

## 3 讨论

### 3.1 测定方法的确定

莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯等倍半萜类化合物主要存在于温郁金的挥发油中,气相色谱法(GC)或气相色谱-质谱联用法(GC-MS)是分析该类成分的常规技术手段,但结合该类成分的结构特征

发现,牻牛儿酮、呋喃二烯等倍半萜类化合物具有1,5-二烯结构,采用GC或GC-MS分析时,进样室和色谱柱的高温使该类活性成分发生重排和转化,从而影响测定结果的准确性和真实性<sup>[16]</sup>。因此,笔者考虑采用HPLC法,并在前期试验中优化了检测波长、流动相系统以及提取方法等,建立了定量分析上述活性成分的HPLC方法,可较为客观地反映温郁金药材的质量。

### 3.2 灰色关联分析法优选加工工艺

在前期预试验中发现,煮10 min和蒸20 min对新鲜温郁金药材质地的影响相当,因此本文结合产地实际情况,分别考察了温郁金药材不同蒸(20、30、40 min)、煮(10、20、30 min)时间,不同烘干温度(50、60、70 ℃)相结合的工艺条件。鉴于中药所含化学成分的多样性和复杂性,从单一指标上对样品进行评价难以客观地反映其内在特征,因此,本文在建立温郁金5个活性成分含量测定方法的基础上,结合灰色关联分析法优选出最佳的温郁金药材加工方法。

### 3.3 蒸、煮等加工方法对温郁金药材中活性成分的影响

由于这5个活性成分属于倍半萜类化合物,具有热不稳定的特点,随着加热时间的延长和烘干温度的升高,基本呈现含量下降的趋势。但相对而言,煮法对莪术二酮、莪术醇和牻牛儿酮等活性成分的影响较蒸法要小,其中以对莪术二酮的影响为最小,推测该类成分在缺氧条件下加热(煮法)较有氧条件(蒸法)要稳定,相关文献<sup>[17]</sup>比较分析了有氧和充氮加热条件下牻牛儿酮、莪术二酮的化学变化,也发现缺氧条件有助于两者的保存,且莪术二酮的化学性质较牻牛儿酮稳定。此外,煮20 min-50 ℃烘干样品中莪术醇的含量略高于煮10 min-50 ℃烘干样品,推测是否有其他成分在该条件下转化为莪术醇,如有文献<sup>[18]</sup>报道莪术二酮可转化为莪术醇;因此,温郁金药材加工过程中是否有这一变化尚需进一步研究。

综上所述,本研究建立的方法可同时测定温郁金中莪术二酮、莪术醇、牻牛儿酮、呋喃二烯、 $\beta$ -榄香烯的含量;采用煮10 min-50 ℃烘干的加工方法对温郁金药材中5种活性成分的综合影响相对较小,样品的综合质量较好,且加工时间较短,可为优化温郁金药材产地加工方法提供借鉴,具有一定的推广价值。

### 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] 尹国平,张清哲,安月伟,等.温郁金化学成分及药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2012,37(22):3354-3360.

[3] LU JJ, DANG YY, HUANG M, et al. Anti-cancer properties of terpenoids isolated from rhizoma curcumae-a review[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143(2):406-411.  
[4] WANG D, HUANG W, SHI Q, et al. Isolation and cytotoxic activity of compounds from the root tuber of curcuma wenyujin[J]. *Nat Prod Commun*, 2008, 3(6):861-864.  
[5] 麻杰,陈娟,赵冰洁,等.抗癌药物 $\beta$ -榄香烯及其衍生物的研究进展[J].中草药,2018,49(5):1184-1191.  
[6] 唐泽耀,黄靓,林原,等.阿司匹林与 $\beta$ -榄香烯对正常小鼠的凝血时间及缺血心肌模型小鼠的ATP酶活性影响的比较[J].中医药学报,2009,37(5):12-15.  
[7] 唐泽耀,宗成国,林原.莪术醇的活血化瘀活性实验研究[J].中药药理与临床,2003,19(5):15.  
[8] 王秀.莪术二酮抗血栓和抗血小板聚集作用研究[D].合肥:安徽医科大学,2012.  
[9] AN FJ, SUN Y, ZHANG QL, et al. The effects of germacrone on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in neonatal rats[J]. *Cell Mol Biol*, 2014, 60(4):8-12.  
[10] 谈超,金涌,夏泉.莪术二酮抗炎镇痛作用的实验研究[J].中国骨与关节杂志,2009,8(3):168-170.  
[11] CHEN X, ZONG C, GAO Y, et al. Curcumol exhibits anti-inflammatory properties by interfering with the JNK-mediated AP-1 pathway in lipopolysaccharide activated RAW264.7 cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 723(1):339-345.  
[12] 杨俊杰,张振凌.中药材产地加工与道地药材相关性研究[J].时珍国医国药,2006,17(5):676-677.  
[13] 周爱珍,程斌,陈玉婷.温郁金加工前后莪术二酮、莪术醇和吉马酮的含量差异研究[J].中华中医药杂志,2016,31(6):129-131.  
[14] 王胜男,华愉教,邹立思,等.不同加工玄参药材中多元功效成分的含量测定及灰色关联度分析[J].质谱学报,2017,38(3):328-341.  
[15] 曾颂.基于灰色关联分析法的半夏质效评价研究[D].广州:广东药学院,2013.  
[16] 张慧,孙秀燕,郑艳萍. RP-HPLC法分离分析温莪术油中6种倍半萜类成分[J].药物分析杂志,2008,28(12):1993-1996.  
[17] 宋坤,崔小兵,陈建伟,等. GC-MS法分析有氧和充氮加热条件下吉马酮和莪术二酮的化学变化[J].中成药,2014,36(4):808-812.  
[18] 周阳,陈平,雷敏,等.莪术二酮转化为莪术醇的方法优化[J].武汉轻工大学学报,2017,36(1):30-33.

(收稿日期:2018-09-10 修回日期:2018-11-23)

(编辑:唐晓莲)