

# 莪术油中吉马酮的分离、纯化及结构鉴定

吴杰, 古金华, 冯钰, 陈伟强, 叶连宝\*

广东药学院药科学院, 广州 510006

**摘要:**以石油醚-乙酸乙酯为洗脱剂,从莪术油中分离天然活性成分吉马酮,采用硅胶色谱柱进行粗分,然后以甲醇-水为流动相,通过半制备液相制备得到高纯度吉马酮,<sup>13</sup>C NMR、<sup>1</sup>H NMR 进行结构确认;可以成功制备得到吉马酮,纯度约为 99.0%。结果表明该法可从莪术油中分离得到高纯度的吉马酮,得率高,有一定的应用价值。

**关键词:**莪术油;吉马酮;分离纯化;结构鉴定

中图分类号: R28

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.11.009

## Separation, Purification and Structural Elucidation of Germacrone from Zedoary Oil

WU Jie, GU Jin-hua, FENG Yu, CHEN Wei-qiang, YE Lian-bao\*

College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangdong Guangzhou 510006, China

**Abstract:** Zedoary oil was separated by silica gel column chromatography using petroleum ether-ethyl acetate as elution agent, and then high purity germacrone was obtained through semi-liquid chromatography using methanol-water as mobile phases, its structure was elucidated by <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR. As a result, germacrone was successfully obtained with the purity of about 99.0%. The results showed that this method can get germacrone with high purity and rate.

**Key words:** zedoary oil; germacrone; separation and purification; structural elucidation

莪术(*Curcuma zedoaria*)是姜科植物蓬莪术、广西莪术和温郁金的干燥根茎,主要产于广西、云南、贵州和浙江等多个省区,具有行气破血、消积止痛之功效。药理学研究发现,莪术油还具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒等作用<sup>[1,2]</sup>。莪术挥发油化学成分复杂,多为倍半萜类化合物,目前已经确定的结构有 20 多种<sup>[3,4]</sup>,吉马酮(图 1)是莪术油中的主要成分之一<sup>[5]</sup>,其有较强抗肿瘤、抗菌、抗病毒等活性<sup>[6-10]</sup>。由于吉马酮熔点低、分离纯化不方便,目前国内尚未见文献报道其分离纯化方法,本实验以石油醚-乙酸乙酯为洗脱剂,采用硅胶色谱柱进行粗分,然后以甲醇-水为流动相,半制备液相制备,较方便的得到高纯度的吉马酮,为吉马酮的进一步研究提供参考。

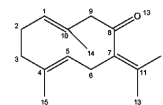


图 1 吉马酮化学结构

Fig. 1 Chemical structure of germacrone

空干燥箱(天津市华北实验仪器有限公司)、XR6A 显微熔点仪(上海精密仪器厂)、Bruker Plus 400 核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司)、日立高效液相色谱仪(日本日立公司)、岛津 LC-8A 半制备液相色谱仪(日本岛津公司)。莪术油、吉马酮标准品(批号: PS14022101)(成都普斯生物有限公司),硅胶(200~300 目)(青岛化工)、石油醚、乙酸乙酯、甲醇、无水硫酸钠(均为分析纯,广州化学试剂厂)。

## 1 材料与仪器

RV8V-C 旋转蒸发仪(德国 IKA 公司)、电热真

## 2 方法与结果

### 2.1 吉马酮的分离

取莪术油约 100 g,加少量石油醚混匀,取层析柱(内径 15 cm,长 180 cm),加入层析用硅胶(200~300 目,已干燥 6 h)4000 g,石油醚(60~90 °C)装柱,将备用莪术油样品湿法装柱。先用石油醚(60

收稿日期: 2015-07-23 接受日期: 2015-09-21

基金项目: 广东省自然科学基金(2015A030313586); 广东省科技计划(2015-110)

\* 通讯作者 Tel: 86-20-39352139; E-mail: yelb7909@163.com

~90 ℃)洗脱,再以石油醚(60~90 ℃)-乙酸乙酯(100:1)洗脱,吉马酮标准品进行薄层对照,合并洗脱液,浓缩,冷藏保存。

## 2.2 吉马酮的纯化

通过半制备液相[色谱条件:Kromasil C<sub>18</sub>色谱柱(250×30 mm,5 μm),流动相为甲醇-水(90:10);检测波长为220 nm,柱温30 ℃,流速为9.0 mL/min,进样量0.4 mL]的制备,得到纯化后的目标产物。减压浓缩后得到乳白色甲醇水溶液,石油醚(30~60 ℃)萃取,分离石油醚层,无水硫酸钠干燥,浓缩得吉马酮。

## 2.3 结构确认

### 2.3.1 熔点检查

照熔点测定法(2010年版中国药典一部附录VIlC)第一法<sup>[11]</sup>测定产物的熔点,测得熔点为53~55 ℃。与吉马酮标准品(53~55 ℃)一致。

### 2.3.2 薄层检查

取产物样品以石油醚溶解,得样品溶液;另取标准品以石油醚溶解,得标准品溶液,吸取相同体积的

溶液点于同一薄层板上,以石油醚-乙酸乙酯(80:1)为展开剂展开,取出,晾干,在紫外灯(254 nm)下观察所得薄层色谱图  $R_f$  值为0.4,且均只有一点显色。

### 2.3.3 高效液相检查

#### 2.3.3.1 色谱条件与系统适用性试验

Kromasil C<sub>18</sub>柱(250×4.6 mm,5 μm);以甲醇-水(80:20)为流动相;检测波长为220 nm;柱温30 ℃;流速为1.0 mL/min。

#### 2.3.3.2 供试品溶液的制备

精密称取样品1.253 mg置10mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

#### 2.3.3.3 标准品溶液的制备

精密配制相同浓度的标准品溶液,摇匀,备用。

#### 2.3.3.4 测定法

精密吸取供试品和标准品各20 μL注入液相色谱仪中,测定,按外标法计算,样品纯度为99.0%(图谱如图2)。

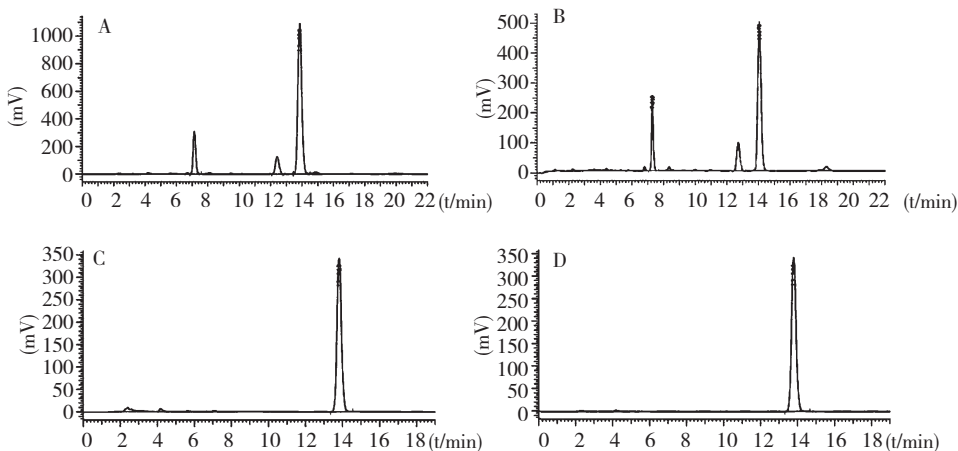


图2 纯化前样品(A)、吉马酮半制备样品(B)、纯化后吉马酮样品(C)、吉马酮标准品(D)高效液相色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of unpurified sample (A), semi-purified germacrone (B), purified germacrone (C) and germacrone standard (D)

### 2.3.4 核磁共振波谱检查

纯化的吉马酮核磁数据如下:<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 4.96(1H, br, d,  $J = 11.7$  Hz, H-1), 4.69(1H, br, d,  $J = 8.6$  Hz, H-5), 3.38(1H, br, d,  $J = 10.2$  Hz, H-9), 2.90(1H, br, d, H-9), 2.93(1H, br, d, H-6), 2.83(1H, br, d,  $J = 11.4$  Hz, H-6), 2.36~2.09(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.13~2.04(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.74(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.72(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.63(3H, br, s, CH<sub>3</sub>), 1.43(3H, br, s, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ

207.9(C-8), 137.2(C-4), 132.7(C-1), 132.7(C-11), 129.5(C-7), 126.7(C-10), 125.4(C-5), 55.9(C-9), 38.1(C-3), 29.2(C-6), 24.1(C-2), 22.3(C-12), 19.9(C-13), 16.7(C-15), 15.6(C-14)。

## 3 讨论

随着近年来癌症发病率和死亡率提高,有关中药莪术抗肿瘤的药学研究备受瞩目。莪术油是目前已经上市的一种很好的抗肿瘤药物,而莪术油中

的有效成分就成为了目前研究的热门,莪术挥发油化学成分复杂,多为倍半萜类化合物,具有沸点高、高温下易氧化等特点,加热时间过长可能引起分解与转化,影响其抗癌功效,并且同分异构体多,理化性质极为相近,因此,寻找一种高效简便的分离纯化方法成为了莪术油有效成分研究的关键。而吉马酮作为其中得一种重要成分,具有很强的研究价值。

由于挥发油本身易挥发性,在分离纯化的过程中存在不易得到样品的问题,在将制备液相纯化后的溶液进行减压蒸馏的过程中,55℃减压蒸馏可将大部分甲醇除去,得到不溶于水的产物溶液,呈现乳白色,继续升温75℃,减压蒸馏除去水的过程中,当溶液基本除尽后,产物样品也基本全部损失。本实验通过萃取的方法利用低沸点石油醚对其进行纯化,避免了高温旋蒸对吉马酮的破坏;也最大程度上保证了产物的收率,对所得产物进行检测,未发现其结构发生改变;同时在分离的过程中通过多次实验,考察得到较为精细的流动相系统,避免了多次分离对产物含量的损失,提高了分离纯化的效率,为吉马酮的后续研究提供参考。

#### 参考文献

- Li GD(李国栋), Xu F(许付), Shen AJ(沈爱军). Research progress of zedoary oil. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2002, 37: 806-809.
- Zhou X(周欣), Liang GY(梁光义), Shen WD(沈万度), et al. Studies on the volatile oil of Rhizoma Curcumae from different habitats. *West China J Pharm Sci* (华西药学报), 2002, 17: 201-203.

- Huang KX(黄可新), Tao ZM(陶正明), Zhang AJ(张安将), et al. Research the chemical of Curcuma wenyujin. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25: 163-164.
- Lu JJ, Dang YY, Huang M, et al. Anti-cancer properties of terpenoids isolated from Rhizoma Curcumae—a review. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143: 406-411.
- Chen XJ(成晓静), Liu HG(刘华钢), Lai MX(赖茂祥). 莪术的化学成分及药理作用研究概况. *J Guangxi Tradit Chin Med Univ* (广西中医学院学报), 2007, 10: 79-82.
- Xia Q, Wang X, Xu DJ, et al. Inhibition of platelet aggregation by curdione from Curcuma wenyujin essential Oil. *Thromb Res*, 2012, 130: 409-414.
- Park SD, Jung JH, Lee HW, et al. Zedoariae rhizoma and curcumin inhibits platelet-derived growth factor-induced proliferation of human hepatic myofibroblasts. *Int Immunopharmacol*, 2005, 5: 555-569.
- Li CZ(李成章), Shi JH(时继慧). Research the anti-inflammatory effects of zedoary turmeric oil. *Bull Chin Mater Med* (中药通报), 1985, 10(3): 38-40.
- Suphrom N, Pumthong G, Khorana N, et al. Anti-androgenic effect of sesquiterpenes isolated from the rhizomes of *Curcuma aeruginosa* Roxb. *Fitoterapia*, 2012, 83: 864-871.
- Xu JJ(许俊杰), Chen YR(陈育尧), Meng QD(孟庆棣). Effect of Zedoary on rat hemorrhology and thrombosis. *J Chin Med Mater* (中药材), 1992, 15(5): 33-35.
- Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I.

(上接第 1870 页)

- Yan H, Yu C. Repair of full-thickness cartilage defects with cells of different origin in a rabbit model. *Arthroscopy: J Arthroscopic Related Surgery*, 2007, 23: 178-187.
- Francis-West PH, Abdelfattah A, Chen P, et al. Mechanisms of GDF-5 action during skeletal development. *Development*, 1999, 126: 1305-1315.
- Jin L, Li X. Growth differentiation factor 5 regulation in bone regeneration. *Curr Pharm Design*, 2013, 19: 3364-3373.
- Pradhan D, Sharon M, Kumar M, et al. Synthesis of beaded and entwined carbon nanofibers in Ni; Al alloy catalyst. *J Nanosci Nanotechnol*, 2007, 7: 1034-1038.
- Guo B. Determination of flavonoids and quality evaluation of Sagittate Epimedium (*Epimedium sagittatum*). *Chin Tradit Herbal Drugs*, 1996, 27: 584-585.
- Zhang L, Zhang X, Li KF, et al. Icaritin promotes extracellu-

lar matrix synthesis and gene expression of chondrocytes *in vitro*. *Phytother Res*, 2012, 26: 1385-1392.

- Zhu S, Wang Z, Li Z, et al. Icaritin suppresses multiple myeloma, by inhibiting IL-6/JAK2/STAT3. *Oncotarget*, 2015, 6: 10460-10472.
- He L, Wang W. A study on the effect of icaritin on rat chondrocytes. *J Central South Univ, Med Sci*, 2015, 40: 517-521
- Venkatesan JK, Ekici M, Madry H, et al. SOX9 gene transfer via safe, stable, replication-defective recombinant adeno-associated virus vectors as a novel, powerful tool to enhance the chondrogenic potential of human mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther*, 2012, 3(3): 22-37.
- Chen SH, Lei M, Xie XH, et al. PLGA/TCP composite scaffold incorporating bioactive phytomolecule icaritin for enhancement of bone defect repair in rabbits. *Acta Biomater*, 2013, 9: 6711-6722.