薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
101 (4) 374-377 (1981)

ウコン中の Curcumin の高速液体クロマトグラフィーによる定量¹⁾

浅川直樹,* 津野昌紀, 服部禎一, 上山政昭, 篠田愛信, 三宅康夫, 影井健吾
エーザイ株式会社川島技術研究所²⁾

Determination of Curcumin Content of Turmeric by High Performance Liquid Chromatography¹⁾

NAOKI ASAKAWA,* MASANORI TSUNO, TEIICHI HATTORI, MASAOKI UHEYAMA,
AISHIN SHINODA, YASUO MIYAKE and KENGO KAGEI
Research Laboratories of Pharmaceutical Development, Eisai Co., Ltd.,²⁾
Kawashima-cho, Hashima-gun, Gifu, Japan

(Received October 16, 1980)

A method of quantitative determination of curcumin in *Curcuma longa* was established by using high performance liquid chromatography.

Curcumin contents of methanol, aqueous methanol-(4: 6) and water-extracts of turmeric (rhizomes of *Curcuma longa* L.) were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) by use of Nucleosil C₁₈ column as a stationary phase, a mixture of CH₃CN: H₂O: CH₃COOH (51: 49: 5) as a mobile phase and benzyl benzoate as an internal standard.

The present method is preferable to other analytical methods with regard to accuracy, simplicity and speed.

Keywords—HPLC; determination; curcumin; *Curcuma longa*; Nucleosil C₁₈

ウコン (*Curcuma longa* L.) はショウガ科に属し、台湾、東インド、インドネシアおよび南米などで主に栽培され、古くから健胃、利胆、利尿および軽度の鎮痛作用³⁾を有する生薬として利用されており、また天然食用色素としても広範に用いられている。その主成分は curcumin であり、薬理作用としては抗菌作用⁴⁾および利胆作用⁵⁾を有している。

ウコン中の curcumin の定量については、デンストメトリー法⁶⁾およびホウ酸による比色法⁷⁾が報告されているが、精度および簡便性の面から満足できる方法ではない。

著者らは高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて、ウコン中の curcumin の精度のよい定量法を確立するとともに、ウコンエキスの調製法とエキス中の curcumin の含量について若干の知見を得た。

実 験 の 部

1) ウコンエキスの調製 i) メタノールエキス；乾燥したウコン (インド産) の粉末を量り、その 10 倍量のメタノールを加え、時々振り混ぜながら 2 時間浸出させた後、ろ過した。この操作を 2 回くり返し、ろ液を集め水浴上で蒸発乾固し、その重量を量り、メタノールエキスの量 (%) とした。そのエキス量は 10% であった。ii) 希メタノールエキス (メタノール: 水=6: 4)；メタノールエキスと同様にエキスを調製し、エキス量を求めた。エキス量は 14% であった。iii) 水エキス；メタノールエキスと同様にエキスを調製しエキス量を求めた。エキス量は 5.7% であった。

2) 試料・試薬 i) ウコンエキス, ii) curcumin 標準品 (東京化成工業株式会社試薬特級), iii) 安息香酸ベンジル (試薬特級), iv) メタノール (試薬特級), v) アセトニトリル (試薬特級), vi) 酢酸 (試薬特級)。

3) HPLC 条件 装置；ポンプ・LC-3A (島津), 検出器・SPD-2A (島津), カラム：Nucleosil C₁₈ (5 μ) $\cdot$ ϕ 4.6 mm $\times$ 15 cm, カラム温度；室温, 移動相；アセトニトリル-水-酢酸 (51: 49: 5), 流速；1.8 ml/min., 試料注入量；4 μ l, 感度；0.08 Auf, 測定波長；254 nm, 内部標準品；安息香酸ベンジル (4 mg/ml, メタノール溶液)。

4) **定量法** 先に調製したウコンエキス約 240 mg を精密に秤り, メタノール 40 ml を正確に加え, 10 分間超音波抽出する. 次いで遠心分離 (3000 rpm, 10 分) し, その上澄液 2 ml を正確にとり, さらに内部標準溶液 2 ml を正確に加え混合し, 試料溶液とする. 一方 curcumin 標準品約 65 mg を精密に秤り, メタノールを加え溶解し, 正確に 100 ml とする. その 2 ml を正確にとり, 内部標準溶液 2 ml を正確に加え混合し標準溶液とする.

Curcumin 標準溶液および試料溶液それぞれ 4 μ l を HPLC に注入し, 得られるクロマトグラム (Fig. 1) により, それぞれの curcumin および内部標準品のピーク高より, 次式を用い curcumin の含量を算出した.

$$\text{ウコンエキス中の curcumin の含量 (\%)} = \frac{\text{curcumin 標準品秤取量 (mg)}}{\text{ウコンエキス秤取量 (mg)}} \times \frac{H_c/H_s}{H_{cs}/H_{ss}} \times 40$$

H_c : 試料溶液の curcumin のピーク高, H_s : 試料溶液の内標ピーク高, H_{cs} : 標準溶液の curcumin のピーク高, H_{ss} : 標準溶液の内標ピーク高.

Fig. 1. Chromatogram of Methanol Extract of Turmeric

1. curcumin, 2. benzyl benzoate.

結果および考察

ウコン成分として curcumin の他に ar-turmerone, turmerone, dehydro-turmerone, α -phellandrene および zingiberene 等が知られている.⁸⁾ 特に curcumin はフェノール性 OH 基を有しているため, ウコン中に多数混在していると思われるフェノール性 OH 基をもった他成分との分離に充分考慮しなければならない.

1) HPLC 条件の検討

i) **カラム** 順相の充填剤はカラムへの吸着汚染およびカラム効率の低下が心配されたので, 逆相の充填剤 μ -Bondapak C₁₈ (ウォーターズ社), Nucleosil CN (ナーゲル, 10 μ , 4.6 mm $\times$ 25 cm), Nucleosil C₁₈ (ナーゲル, 10 μ , 4.6 mm $\times$ 25 cm), Nucleosil C₁₈ (ナーゲル, 5 μ , 4.6 mm $\times$ 15 cm) について検討した結果, 分離が良好で, かつ理論段数の最も高かった Nucleosil C₁₈ (5 μ , 4.6 mm $\times$ 15 cm) を使用した.

ii) **移動相** 水-メタノール系および水-アセトニトリル系について検討し, 分離良好な水-アセトニトリル系を選んだ. 溶媒の組成はアセトニトリル 40—60% まで検討し, 他成分との分離が良好であり, かつ分析時間が短い 51% 濃度を使用した. またピークのテーリングについて酢酸添加量を 1—5% まで検討した. 5% 添加することにより, 顕著な改善が見られた.

iii) **検量線** 前述の定量法に従い, curcumin 標準品を用い HPLC に注入するとき, 0.2—4.0 μ g の範囲において, 内標とのピーク高比の間に直線関係が成立し, その相関関係は 0.9995 であった.

TABLE I. Reproducibility of Relative Peak Height of Curcumin

No	Relative peak height	No	Relative peak height
1	0.8453	$\bar{X}$	0.85062
2	0.8436	σ	0.00749
3	0.8502	$c.v$	0.88
4	0.8648		
5	0.8492		

TABLE II. Curcumin Content of Turmeric Extract

Extract	Sample weight of Turmeric extract (mg)	Recovery (mg)	Curcumin content (%)
Methanol	245.2	19.97	8.14
	252.5	20.59	8.15
	227.5	18.74	8.24
	254.5	18.55	8.07
	$X = 8.150$ $\sigma = 0.060$ $c.v = 0.74$		
Methanol-Water (6:4)	267.3	15.62	5.84
	230.0	13.57	5.90
	278.9	16.05	5.75
	269.4	15.59	5.79
	$X = 5.820$ $\sigma = 0.056$ $c.v = 0.96$		

TABLE III. Curcumin Content of Turmeric (*Curcuma longa* Rhizome)

Solvent	Extract (%) from Turmeric	Curcumin content in extract (%)	Curcumin content in Rhizome (%)
Methanol	10	8.14	0.814
		8.15	0.815
		8.24	0.824
		8.07	0.807
Methanol-Water (6:4)	14	5.84	0.818
		5.90	0.826
		5.75	0.805
		5.79	0.811

Fig. 2. Chromatogram of Methanol-Water (6:4) Extract of Turmeric

1. curcumin, 2. benzyl benzoate.

Fig. 3. Chromatogram of Water Extract of Turmeric

1. curcumin, 2. benzyl benzoate.

iv) 内部標準法による定量法 定量精度を上げるため内部標準法を検討し、ウコンエキス成分とピークが重ならないものとして、安息香酸ベンジルを選んだ。試料溶液の一定量に内部標準品溶液（安息香酸ベンジル, 4 mg/ml, メタノール溶液）を添加した。そのくり返し精度は Table I に示した通り、きわめて良好であった。

2) ウコンエキス調製法と Curcumin の含量

前述の定量法に準じ、メタノールエキス、希メタノールエキス（メタノール：水=6:4）および水エキス中の curcumin の定量を行った。それぞれ得られたクロマトグラムを Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3 に示した。その結果を Table II に示したが、エキス調製法により、エキス中の curcumin の含量に差が見られ、メタノールエキスが最も含量が高く、水エキス中には curcumin は検出できなかった。

3) ウコン中の Curcumin 含量

メタノールエキスおよび希メタノールのエキス量（%）と各々のエキス中の curcumin 含量を乗ずることにより算出した。その結果は Table III に示した通り、メタノール、希メタノールエキスともウコン中の curcumin の含量は 0.8% 程度であった。

謝辞 本実験のためにウコンエキスを提供くださいました株式会社小城忠治商店・林 輝明博士に感謝いたします。

引用文献および注

- 1) 浅川直樹, 津野昌紀, 服部禎一, 上山政悟, 篠田愛信, 三宅康夫, 影井健吾, 日本薬学会東海支部大会発表 (1980年9月).
- 2) Location: *Kawashima-cho, Hashima-gun, Gifu, Japan*.
- 3) 中山医学院(編), 神戸中山医学研究会(訳・編), “漢薬の臨床応用,” 医歯薬出版株式会社, 東京, 1979, p. 263.
- 4) E. Schraufstatter, H. Bernt, *Nature*, **164**, 456 (1949).
- 5) K. Jentzsch, Th. Gonda, H. Höller, *Pharm. Acta Helv.*, **34**, 181 (1959).
- 6) 沢田徳之助, 山原條二, 島津早苗, 太田利夫, 生薬誌, **25**(1), 11 (1971).
- 7) 木村雄四郎, 日本生薬学会, 1965, 講演要旨集.
- 8) a) Alexander St. Pfau, *Helv. Chem. Acta*, **15**, 1481 (1932); b) Alexander St. Pfau, Pl. Plattner, *Helv. Chim. Acta*, **17**, 129 (1934); c) H. Rupe, Georges Clar, Alexander St Pfau, Pl. Plattner, *Helv. Chim. Acta*, **17**, 372 (1934).