

· 化学与分析 ·

HPLC 同时测定川芎、当归 SFE-CO₂ 萃取物中 7 种成分含量及阿魏酸松柏酯稳定性考察

马云桐^{1*}, 徐世军¹, 廖海浪², 何芳², 钟芙蓉¹, 文雯¹, 吴督督²

(1. 成都中医药大学药学院, 成都 611137;

2. 四川同道堂药业集团股份有限公司, 成都 610021)

[摘要] 目的:建立 HPLC 法同步测定川芎、当归 SFE-CO₂ 萃取物中 7 种成分含量的方法,并考察其中阿魏酸松柏酯的稳定性。方法:以二氯甲烷为助溶剂,甲醇、乙腈和 5% 甲酸甲醇为溶剂,考察 2 种萃取物中阿魏酸松柏酯稳定性。HPLC 分析采用 Wondasil C₁₈-WR 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以乙腈-0.5% 乙酸水为流动相梯度洗脱,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 35 °C,检测波长 270 nm,测定 2 种萃取物中 7 种成分含量。结果:乙腈溶液中,2 种萃取物中阿魏酸松柏酯稳定性均最佳。经测定 2 种萃取物均含有阿魏酸,洋川芎内酯 I,洋川芎内酯 H,阿魏酸松柏酯,洋川芎内酯 A,藁本内酯和丁烯基苯酞 7 种物质,其线性关系、精密性、重复性、稳定性、加样回收率均良好。对于川芎 SFE-CO₂ 萃取物,它们的线性范围分别在 2.41 ~ 24.14, 3.83 ~ 38.26, 0.81 ~ 8.08, 47.43 ~ 474.32, 95.49 ~ 954.91, 164.91 ~ 1 649.14, 3.32 ~ 33.24 ng; 平均加样回收率分别为 95.04%, 98.24%, 99.03%, 98.46%, 98.13%, 96.97%, 95.20%, RSD 分别为 2.9%, 1.2%, 1.6%, 1.2%, 1.1%, 1.4%, 1.2%。对于当归 SFE-CO₂ 萃取物,它们的线性范围分别在 1.31 ~ 13.15, 1.70 ~ 17.01, 0.44 ~ 4.43, 27.52 ~ 275.18, 6.46 ~ 64.60, 206.19 ~ 2 061.92, 3.07 ~ 30.65 ng; 平均加样回收率分别为 99.03%, 99.00%, 103.15%, 101.78%, 102.12%, 100.01%, 102.49%, RSD 分别为 2.1%, 2.2%, 2.2%, 2.1%, 2.1%, 2.5%, 2.2%。结论:阿魏酸松柏酯易分解成阿魏酸,选乙腈溶解可保证原阿魏酸及阿魏酸松柏酯含量准确测定,该含量方法简单、快速,可为川芎、当归 SFE-CO₂ 萃取物的质量标准提供依据。

[关键词] 川芎; 当归; SFE-CO₂ 萃取; 阿魏酸松柏酯; 稳定性; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)09-0024-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2017090024

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170208.1009.004.html>

[网络出版时间] 2017-02-08 10:09

HPLC Simultaneous Determination of Seven Components in SFE-CO₂ Extract from Chuanxiong Rhizoma and Angelicae Sinensis Radix and Stability Investigation of Coniferyl Ferulate

MA Yun-tong^{1*}, XU Shi-jun¹, LIAO Hai-lang², HE Fang¹,

ZHONG Fu-rong¹, WEN Wen¹, WU Du-du²

(1. Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

2. Sichuan Tongdaotang Pharmaceutical Group Co. Ltd., Chengdu 610021, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for simultaneously determining seven components in SFE-CO₂ extract of Chuanxiong Rhizoma and Angelicae Sinensis Radix, and investigate the stability of coniferyl ferulate. **Method:** The stability of coniferyl ferulate was evaluated with CH₂Cl₂ as the cosolvent, and methanol,

[收稿日期] 20160503(010)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09103002-008); 国家基础科学人才培养基金项目(J13100340-20); 四川省科技计划(2013SZ0131)

[通讯作者] * 马云桐, 博士, 教授, 从事中药资源的研究, Tel: 13980598196, E-mail: mayuntong06@163.com

acetonitrile or 5% formic acid in methanol as the solvent. The HPLC method was performed on wondasil C₁₈-WR column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with acetonitrile-0.3% acetic acid solution as mobile phase for gradient elution; the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹; column temperature was 35 °C, and the detection wavelength was 270 nm. **Result:** The stability of coniferyl ferulate in the two SFE-CO₂ extracts was best with the acetonitrile as solvent. The seven components (ferulic acid, senkyunolide I, senkyunolide H, coniferyl ferulate, senkyunolide A, ligustulide and butylidenephthalide) co-existed in the two extracts, with good linear relationship, accuracy, recovery rate, repeatability and stability. As to SFE-CO₂ extract of Chuanxiong Rhizoma, their linear range was 2.41-24.14, 3.83-38.26, 0.81-8.08, 47.43-474.32, 95.49-954.91, 164.91-1649.14, and 3.32-33.24 ng respectively for the above 7 components, with an average recovery rate of 95.04%, 98.24%, 99.03%, 98.46%, 98.13%, 96.97% and 95.20% respectively, and RSD of 2.9%, 1.2%, 1.6%, 1.2%, 1.1%, 1.4% and 1.2%. As to SFE-CO₂ extract of Angelicae Sinensis Radix, their linear range was 1.31-13.15, 1.70-17.01, 0.44-4.43, 27.52-275.18, 6.46-64.60, 206.19-2061.92 and 3.07-30.65 ng respectively for the above 7 components, with an average recovery rate of 99.03%, 99.00%, 103.15%, 101.78%, 102.12%, 100.01% and 102.49% respectively, and RSD of 2.1%, 2.2%, 2.2%, 2.1%, 2.1%, 2.5% and 2.2%. **Conclusion:** Coniferyl ferulate was easily decomposed into ferulic acid. The selection of acetonitrile as solvent for the two extracts can ensure the accurate content determination of original ferulic acid and coniferyl ferulate. The method is simple and rapid, which could provide references for the quality standard for the SFE-CO₂ extract from Chuanxiong Rhizoma and Angelicae Sinensis Radix.

[**Key words**] Chuanxiong Rhizoma; Angelicae Sinensis Radix; SFE-CO₂ extract; coniferyl ferulate; stability; content determination

川芎、当归为本课题组研制的新药通络醒脑泡腾片处方中的 2 味药物,分别经超临界 CO₂ 流体萃取(SFE-CO₂)得到川芎及当归 SFE-CO₂ 萃取物。冯敬骞等^[1]报道川芎及当归 SFE-CO₂ 萃取物中化学成分极相似,主要含有内酯类成分,包括洋川芎内酯、阿魏酸松柏酯、藁本内酯、丁烯基苯酞等。药理研究认为上述成分主要具有降低血液黏度,防护脑缺血,舒张血管平滑肌,抑制平滑肌细胞增殖,镇静安神促进睡眠等功效^[2-11]。而现有对川芎、当归提取物中成分的控制较少且单一,主要是阿魏酸及藁本内酯^[12-14]。其中阿魏酸在川芎及当归中以游离和结合型共同存在^[15],即阿魏酸和阿魏酸松柏酯,但以后者为主,并以总阿魏酸发挥药效,吕光华等^[16]和王妙闻等^[17]报道采用总阿魏酸含量对川芎进行质量控制。然而结合型阿魏酸——阿魏酸松柏酯不稳定,易降解成游离阿魏酸,尤其采用不同溶剂溶解时降解程度差异大^[18-19]。本研究采用 SFE-CO₂ 萃取技术制得川芎及当归 SFE-CO₂ 萃取物,并考察 3 种溶剂对 2 种萃取物中阿魏酸松柏酯的稳定性影响,以期真实反映萃取物中原始比例的阿魏酸松柏酯和游离阿魏酸及总阿魏酸含量,并同时测定了其他 5 种内酯类成分含量,从多种药效组分入手,体现量效关系,为川芎及当归 SFE-CO₂ 萃取物的质量控

制提供参考。

1 材料

川芎、当归药材均购自成都市荷花池药材市场,经成都中医药大学马云桐教授鉴定分别为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* 的干燥根茎和当归 *Angelica sinensis* 的干燥根,标本存放于成都中医药大学人工气候室。

对照品阿魏酸(中国食品药品检定研究院,批号 110773-201313,纯度 99.6%);洋川芎内酯 I(批号 140320),洋川芎内酯 H(批号 150320),阿魏酸松柏酯(批号 150122),洋川芎内酯 A(批号 140825),藁本内酯(批号 151027)和丁烯基苯酞(批号 140825)对照品均购自成都克洛玛生物科技有限公司,纯度均为 98%。乙腈色谱纯(赛默飞世尔科技中国有限公司),冰乙酸优级纯(成都市科龙化工试剂厂),甲醇、甲酸、二氯甲烷分析纯(成都市科龙化工试剂厂),水为超纯水。

LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津科技有限公司),CPA225D 型分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],DL-360A 型超声波震荡仪(上海之信仪器有限公司),SC5 + 1 L 型超临界萃取装置(德阳四创科技有限公司),SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 采用 Wondasil C₁₈-WR 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈 (A)-0.5% 乙酸水 (B), 梯度洗脱 (0.01 ~ 15 min, 16% ~ 30% A; 15 ~ 20 min, 30% ~ 46% A; 20 ~ 40 min, 46% A; 40 ~ 45 min, 46% ~ 51% A; 45 ~ 50 min, 51% ~ 65% A; 50 ~ 60 min, 65% A; 60 ~ 70 min, 65% ~ 100% A; 70 ~ 80 min, 100% A; 80.01 ~ 90 min, 100% ~ 16% A); 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 35 °C, 检测波长 270 nm。

2.2 对照品溶液的制备

2.2.1 川芎测定组单对照品储备液 分别精密称定阿魏酸, 洋川芎内酯 I, 洋川芎内酯 H, 阿魏酸松柏酯, 洋川芎内酯 A, 藁本内酯和丁烯基苯酞对照品 6.06, 9.76, 2.06, 12.10, 24.36, 42.07, 3.48 mg 分别置于 100, 100, 100, 10, 10, 10, 100 mL 棕色量瓶中, 加适量乙腈溶解并稀释至刻度, 充分混匀, 4 °C 避光保存。

2.2.2 当归测定组单对照品储备液 分别精密称定阿魏酸, 洋川芎内酯 I, 洋川芎内酯 H, 阿魏酸松柏酯, 洋川芎内酯 A, 藁本内酯和丁烯基苯酞对照品 3.30, 2.17, 1.13, 7.02, 4.12, 52.60, 7.82 mg 分别置于 100, 50, 100, 10, 25, 10, 100 mL 棕色量瓶中, 加适量乙腈溶解并稀释至刻度, 充分混匀, 4 °C 避光保存。

2.2.3 混合对照品溶液 分别精密量取 2.2.1 和 2.2.2 项下单对照品储备液各 1 mL 置 50 mL 棕色量瓶中, 加乙腈定容至刻度, 混匀即得混合对照品溶液。

2.3 川芎、当归 SFE-CO₂ 萃取物提取 分别取川芎、当归药材 (30 目), 称量 300 g, 萃取釜压力 30 MPa, 萃取温度 40 °C, 分离釜 I 压力 5.0 MPa, 温度 40 °C, 分离釜 II 压力 5.0 MPa, 温度 40 °C, 流速 19.34 L · h⁻¹, 提取时间 3 h, 得浅墨绿色油状液体, 为川芎或当归 SFE-CO₂ 萃取物, 即川芎油或当归油。

2.4 供试品溶液溶剂选择及制备 分别精密称定川芎 SFE-CO₂ 萃取物 99.39, 104.22, 104.48 mg, 当归 SFE-CO₂ 萃取物 24.66, 24.97, 25.38 mg, 于 100 mL 棕色量瓶中, 精密加入二氯甲烷 1 mL 使其溶解, 川芎、当归 SFE-CO₂ 萃取物 3 组溶液分别采用甲醇, 乙腈, 5% 甲酸甲醇溶液稀释并定容至刻度, 混匀, 经 0.45 μm 针筒式滤膜滤过, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 结果表明, 以二氯甲烷为助溶剂, 乙腈为溶剂溶解样品, 川芎及当归 SFE-CO₂ 萃取物中

阿魏酸及阿魏酸松柏酯的稳定性均最高, 而甲醇中稳定性皆最差, 阿魏酸松柏酯的降解率与阿魏酸的增加率成明显正相关, 故选择以乙腈为溶剂制备川芎及当归 SFE-CO₂ 萃取物供试品。见图 1。

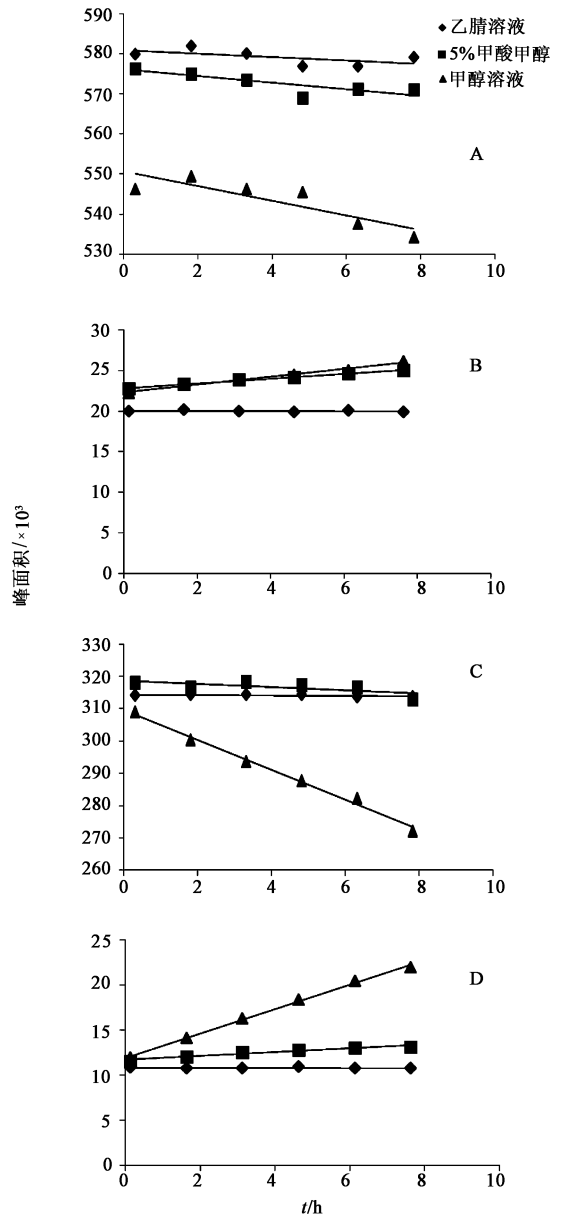


图 1 川芎 SFE-CO₂ 萃取物中阿魏酸 (A) 及阿魏酸松柏酯 (B), 当归 SFE-CO₂ 萃取物中阿魏酸 (C) 及阿魏酸松柏酯 (D) 在 3 种溶剂中的稳定性

Fig. 1 Stability of ferulic acid (A), coniferyl ferulate (B) in SFE-CO₂ extract from Chuanxiong Rhizoma, and ferulic acid (C), coniferyl ferulate (D) in SFE-CO₂ extract from Angelicae Sinensis Radix in three solvents

2.5 方法学考察

2.5.1 系统适应性试验 分别取空白溶剂, 各对照品溶液, 混合对照品溶液, 供试品溶液各 10 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图。结果表明供试品溶液各峰

分离度良好,且色谱峰附近不存在干扰物质。见图 2。

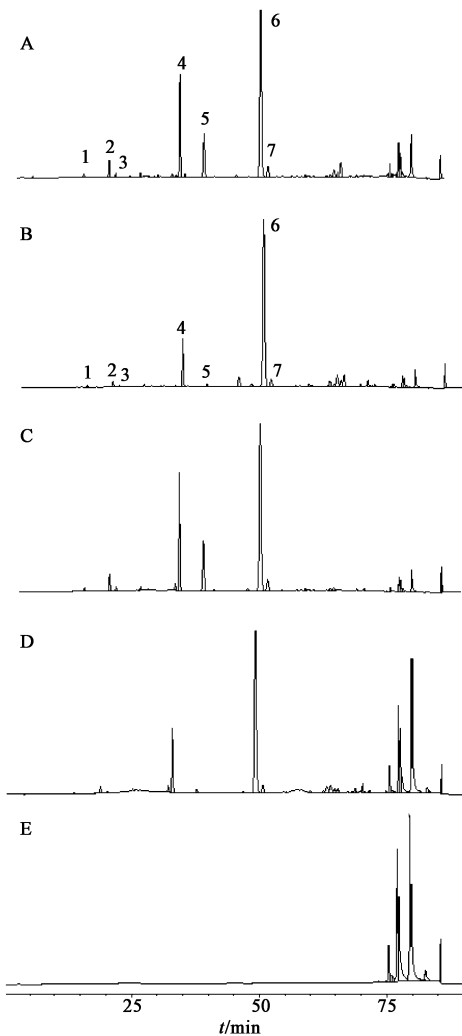


图 2 川芎及当归 SFE-CO₂ 萃取物 HPLC
A. 川芎 SFE-CO₂ 萃取物; B. 当归 SFE-CO₂ 萃取物; C. 川芎测定组混合对照品; D. 当归测定组混合对照品; E. 空白溶剂; 1. 阿魏酸; 2. 洋川芎内酯 I; 3. 洋川芎内酯 H; 4. 阿魏酸松柏酯; 5. 洋川芎内酯 A; 6. 藁本内酯; 7. 丁烯基苯酞

图 2 川芎及当归 SFE-CO₂ 萃取物 HPLC

Fig. 2 HPLC chromatograms of SFE-CO₂ extract from Chuanxiong Rhizoma and Angelicae Sinensis Radix

表 1 川芎、当归 SFE-CO₂ 萃取物中 7 种化学成分线性关系

Table 1 Linear equations of seven components in SFE-CO₂ extract from Chuanxiong Rhizoma and Angelicae Sinensis Radix

成分	川芎 SFE-CO ₂			当归 SFE-CO ₂		
	线性回归方程	相关系数	线性范围/ng	线性回归方程	相关系数	线性范围/ng
阿魏酸	$Y = 1\ 676.8X + 132.1$	0.999 8	2.41 ~ 24.14	$Y = 1\ 649.1X + 395.1$	0.997 3	1.31 ~ 13.15
洋川芎内酯 I	$Y = 4\ 355.8X + 1\ 005.2$	0.999 9	3.83 ~ 38.26	$Y = 4\ 526.2X + 1\ 190.1$	0.999 6	1.70 ~ 17.01
洋川芎内酯 H	$Y = 4\ 851.7X + 154.3$	0.999 7	0.81 ~ 8.08	$Y = 5\ 646.7X + 55.5$	0.999 6	0.44 ~ 4.43
阿魏酸松柏酯	$Y = 2\ 703.9X - 1\ 618.5$	1.000 0	47.43 ~ 474.32	$Y = 3\ 191.2X - 1\ 130.4$	1.000 0	27.52 ~ 275.18
洋川芎内酯 A	$Y = 815.0X - 4\ 465.9$	1.000 0	95.49 ~ 954.91	$Y = 1\ 011.3X - 2\ 399$	0.999 2	6.46 ~ 64.60
藁本内酯	$Y = 1\ 986.6X - 7\ 256.0$	1.000 0	164.91 ~ 1\ 649.14	$Y = 1\ 991.5X - 12\ 746$	1.000 0	206.19 ~ 2\ 061.92
丁烯基苯酞	$Y = 5\ 785.3X + 1\ 207.6$	1.000 0	3.32 ~ 33.24	$Y = 5\ 798.7X - 456.13$	0.999 9	3.07 ~ 30.65

2.5.2 线性关系考察 取 2.2.3 项下混合对照品溶液,分别进样 2,4,6,8,10,12,14,16,18,20 μL ,按 2.1 项下色谱条件测定,以进样量 X 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,分别得川芎、当归 SFE-CO₂ 萃取物中阿魏酸,洋川芎内酯 I,洋川芎内酯 H,阿魏酸松柏酯,洋川芎内酯 A,藁本内酯和丁烯基苯酞线性回归方程、线性范围。结果表明,各化学成分在相应范围内线性关系良好。见表 1。

2.5.3 精密度试验 精密吸取 2.2.3 项下混合对照品溶液 10 μL ,按 2.1 项下色谱条件测定,连续进样 6 次,以相应色谱峰的峰面积计算 RSD,结果川芎 SFE-CO₂ 萃取物中阿魏酸,洋川芎内酯 I,洋川芎内酯 H,阿魏酸松柏酯,洋川芎内酯 A,藁本内酯和丁烯基苯酞的 RSD ($n = 6$) 分别为 0.6%,0.2%,0.4%,0.7%,0.1%,0.1%,0.6%,当归 SFE-CO₂ 萃取物中阿魏酸,洋川芎内酯 I,洋川芎内酯 H,阿魏酸松柏酯,洋川芎内酯 A,藁本内酯和丁烯基苯酞的 RSD ($n = 6$) 分别为 0.8%,0.4%,1.0%,0.4%,1.0%,0.3%,1.2%,结果表明仪器精密度良好。

2.5.4 重复性试验 分别取川芎、当归供试品,精密称定,按 2.3.2.4 项下方法制备 6 份供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,川芎 SFE-CO₂ 萃取物中阿魏酸,洋川芎内酯 I,洋川芎内酯 H,阿魏酸松柏酯,洋川芎内酯 A,藁本内酯和丁烯基苯酞的质量分数分别是 0.11%,0.19%,0.05%,2.05%,4.10%,7.95%,0.16%,RSD 分别为 0.4%,0.3%,0.8%,0.3%,0.3%,0.2%,0.9%。当归 SFE-CO₂ 萃取物中阿魏酸,洋川芎内酯 I,洋川芎内酯 H,阿魏酸松柏酯,洋川芎内酯 A,藁本内酯和丁烯基苯酞的质量分数分别是 0.25%,0.33%,0.08%,3.98%,1.21%,40.85%,0.57%,RSD 分别为 0.7%,0.3%,0.4%,0.1%,2.6%,0.1%,0.8%。表明重复性良好。

2.5.5 稳定性试验 分别取 2.4 项下供试品溶液,

于制备后 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 h 进样, 按 2.1 项下色谱条件测定, 川芎 SFE-CO₂ 萃取物中阿魏酸, 洋川芎内酯 I, 洋川芎内酯 H, 阿魏酸松柏酯, 洋川芎内酯 A, 藁本内酯和丁烯基苯酞的 RSD 分别为 1.0%, 0.8%, 0.8%, 0.8%, 0.8%, 0.9%, 1.6%, 当归 SFE-CO₂ 萃取物中阿魏酸, 洋川芎内酯 I, 洋川芎内酯 H, 阿魏酸松柏酯, 洋川芎内酯 A, 藁本内酯和丁烯基苯酞的 RSD 分别为 2.2%, 1.3%, 1.9%, 1.0%, 1.8%, 1.2%, 1.4%。表明川芎、当归 SFE-CO₂ 萃取物在 72 h 内稳定性良好。

2.5.6 加样回收率试验 分别精密称取 2.4 项下 6 份川芎 SFE-CO₂ 萃取物, 每份约 50 mg, 再分别精密称取 2.4 项下 6 份当归 SFE-CO₂ 萃取物, 每份约 13 mg, 置 100 mL 棕色量瓶中, 精密加入二氯甲烷 1 mL 使溶解, 再分别精密加入 2.2.1, 2.2.2 项下制备的各单对照品储备液 1 mL, 加乙腈稀释并定容至刻度, 混匀, 按 2.1 项下色谱条件测定, 结果见表 2, 3。

2.6 含量测定 按 2.3, 2.4 项下方法制备供试品溶液, 2.1 项下色谱条件进行含量测定, 结果见表 4。

3 讨论

据文献报道, 阿魏酸松柏酯在甲醇、强酸、弱碱、甲醇-水及高温等情况下易分解成阿魏酸和松柏醇^[18-19], 在这些溶剂中甲醇是提取和溶解川芎与当归的常用溶剂^[19-21], 5% 甲酸甲醇被认为是提取

表 4 川芎、当归 SFE-CO₂ 萃取物中 7 种成分的测定

组别	阿魏酸	洋川芎内酯 I	洋川芎内酯 H	阿魏酸松柏酯	洋川芎内酯 A	藁本内酯	丁烯基苯酞
川芎	0.11	0.19	0.05	2.05	4.10	7.95	0.16
当归	0.25	0.33	0.08	3.98	1.21	40.85	0.57

阿魏酸松柏酯较好的溶剂^[22]。故本实验采用无水甲醇, 5% 甲酸甲醇, 乙腈溶解川芎及当归 SFE-CO₂ 萃取物, 但效果均不理想, 而加入了二氯甲烷作为助溶剂后, 通过降低溶剂极性, 很好地解决了样品溶解问题。此外, 本实验考察了川芎或当归 SFE-CO₂ 萃取物在以上 3 种溶液中阿魏酸松柏酯的稳定性, 结果显示甲醇组, 5% 甲酸甲醇组均不如乙腈组, 这与 YU 等^[23]选择乙腈作为提取川芎及当归药材中阿魏酸松柏酯的最优溶剂的结果相似, 出现这种现象可能与阿魏酸松柏酯水解平衡有关, 甲醇属于质子性溶剂, 能加速阿魏酸松柏酯分解成阿魏酸和松柏醇, 在甲醇溶液中加入一定量的甲酸减缓了阿魏酸松柏酯的分解, 而乙腈作为非质子溶剂不会促使反应向任何一个方向发生, 这是准确测量川芎和当归 SFE-

表 2 川芎 SFE-CO₂ 萃取物中 7 种成分的加样回收率试验 (n = 6)
Table 2 Results of recovery test of seven components in SFE-CO₂ extract from Chuanxiong Rhizoma (n = 6)

成分	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	平均回收率 /%	RSD /%
阿魏酸	0.055 7	0.060 4	0.113 0	95.04	2.9
洋川芎内酯 I	0.095 0	0.095 6	0.188 9	98.24	1.2
洋川芎内酯 H	0.023 6	0.020 2	0.043 6	99.03	1.6
阿魏酸松柏酯	1.019 3	1.185 8	2.186 8	98.46	1.2
洋川芎内酯 A	2.042 3	2.387 3	4.384 9	98.13	1.1
藁本内酯	3.959 9	4.122 9	7.957 9	96.97	1.4
丁烯基苯酞	0.080 6	0.083 1	0.159 8	95.20	1.2

注: 称样量均为 49.82 mg。

表 3 当归 SFE-CO₂ 萃取物中 7 种成分的加样回收率试验 (n = 6)
Table 3 Results of recovery test of seven components in SFE-CO₂ extract from Angelicae Sinensis Radix (n = 6)

成分	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	平均回收率 /%	RSD /%
阿魏酸	0.031 8	0.032 9	0.064 4	99.03	2.1
洋川芎内酯 I	0.042 2	0.042 5	0.084 3	99.00	2.2
洋川芎内酯 H	0.010 9	0.011 1	0.022 3	103.15	2.2
阿魏酸松柏酯	0.511 3	0.688 0	1.211 5	101.78	2.1
洋川芎内酯 A	0.154 9	0.161 5	0.319 9	102.12	2.1
藁本内酯	5.243 9	5.154 8	10.399 0	100.01	2.5
丁烯基苯酞	0.072 7	0.076 6	0.151 3	102.49	2.2

注: 称样量均为 12.84 mg。

CO₂ 萃取物中游离和结合阿魏酸的前提。

本实验结合川芎和当归 SFE-CO₂ 萃取物中的化学组成, 将川芎和当归 SFE-CO₂ 萃取物中指标性成分定为 7 个, 分别为阿魏酸, 洋川芎内酯 I, 洋川芎内酯 H, 阿魏酸松柏酯, 洋川芎内酯 A, 藁本内酯和丁烯基苯酞, 几乎涵盖了提取物 HPLC 色谱图中所有的主要色谱峰, 而且准确的测量了川芎及当归 SFE-CO₂ 萃取物中游离及结合阿魏酸的含量, 从而能全面对川芎和当归 SFE-CO₂ 萃取物的质量进行分析评价。该测定方法快速、准确、重复性高, 可作为川芎及当归的 SFE-CO₂ 萃取物的质量评价与控制标准。

[参考文献]

[1] 冯敬骞, 杨义芳. 当归、川芎及其药对的超临界提取

- 物的 GC-MS 成分分析[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(10):754-757.
- [2] Naito T, Kubota K, Shimoda Y, et al. Effects of constituents in a Chinese crude drug, *Ligustici Chuanxiong Rhizoma* on vasoconstriction and blood viscosity[J]. *Nat Med*, 1995, 49:288-292.
- [3] 董高翔, 冯亦璞. 丁基苯酞对大鼠局部脑缺血再灌注损伤皮层钙调磷酸酶和钙蛋白酶活性的影响[J]. 药理学学报, 2000, 35(10):790-792.
- [4] Or T C, YANG C L, Law A H, et al. Isolation and identification of anti-inflammatory constituents from *Ligusticum chuanxiong* and their underlying mechanisms of action on microglia[J]. *Neuropharmacology*, 2011, 60(6):823-831.
- [5] Nakazawa K, Fujimori K, Inoue K, et al. Effects of extract from a herbal drug, *cnidium rhizome* (senkyu), on contraction, heart rates and membrane potentials of isolated guinea pig atria[J]. *Yakuqaku Zassh*, 1989, 109(9):662-671.
- [6] Kobayashi S, Mimura Y, Naitoh T, et al. Chemical structure-activity of *cnidium rhizome*-derived phthalides for the competence inhibition of proliferation in primary cultures of mouse aorta smooth muscle cells [J]. *Jpn J Pharmacol*, 1993, 63(3):353-359.
- [7] Matsumoto K, Kohno S I, Qjima K, et al. Effects of methylenechloride-soluble fraction of *Japanese angelica* root extract, ligustilide and butylidenephthalide, on pentobarbital sleep in group-housed and socially isolated mice [J]. *Life Sci*, 1998, 62(23):2073-2082.
- [8] Bjeldanes L F, Kim I S. Sedative activity of celery oil constituents [J]. *J Food Sci*, 1978, 43(1):143-144.
- [9] Tsi D, Tan B K H. Cardiovascular pharmacology of 3-*n*-butylphthalide in spontaneously hypertensive rats [J]. *Phytother Res*, 1997, 11(8):576-582.
- [10] Chan S S, CHENG T Y, LIN G. Relaxation effects of ligustilide and senkyunolide A, two main constituents of *Ligusticum chuanxiong*, in rat isolated aorta [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 111(3):677-680.
- [11] Chan S S, Choi A O, Jones R L, et al. Mechanisms underlying the vasorelaxing effects of butylidenephthalide, an active constituent of *Ligusticum chuanxiong*, in rat isolated aorta [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 537(1/3):111-117.
- [12] 项好, 张贵君, 甘德全. HPLC 测定 CO₂ 超临界萃取的当归油药效组分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8):64-67.
- [13] 李中文, 孙兆华, 张慧. 超临界 CO₂ 萃取当归挥发油的研究及藁本内酯的 HPLC 法测定[J]. 齐鲁药事, 2007, 26(6):361-363.
- [14] 刘芳, 吴萍, 王宇红, 等. HPLC-DAD 同时测定川芎 CO₂ 超临界流体萃取物中阿魏酸、洋川芎内酯 A 和藁本内酯含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(10):48-51.
- [15] YU Y, ZHANG Q Y, WANG Y T, et al. A rapid HPLC method for determination of coniferyl ferulate in *Angelica sinensis* and *Ligusticum chuanxiong* [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2007, 16(3):197-201.
- [16] 吕光华, 程世琼, 陈金泉, 等. HPLC 测定川芎药材和饮片中游离阿魏酸和总阿魏酸的含量及其质量评价指标[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(2):194-198.
- [17] 王妙闻, 张艺, 张静, 等. HPLC 测定川芎中的总阿魏酸[J]. 华西药理学杂志, 2008, 23(1):100-102.
- [18] Kobayashi M, Fujita M, Mitsuhashi H. Studies on the constituents of Umbelliferae plants XV. Constituents of *Cnidium officinale*: occurrence of pregnenolone, coniferyl ferulate and hydroxyphthalide [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(4):1427-1433.
- [19] LU G H, CHAN K, Leung K, et al. Assay of free ferulic acid and total ferulic acid for quality assessment of *Angelica sinensis* [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1068(2):209-219.
- [20] LU G H, CHAN K, LIANG Y Z, et al. Development of high-performance liquid chromatographic fingerprints for distinguishing Chinese *Angelica* from related umbelliferae herbs [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1073(1/2):383-392.
- [21] LI P, LI S P, LAO S C, et al. Optimization of pressurized liquid extraction for *Z*-ligustilide, *Z*-butylidenephthalide and ferulic acid in *Angelica sinensis* [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2006, 40(5):1073-1079.
- [22] 李韶菁, 张迎春, 苏培瑜, 等. 阿魏酸松柏脂酯的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3):229-231.
- [23] YU Y, ZHANG Q W, WANG Y T. A rapid HPLC method for determination of coniferyl ferulate in *Angelica sinensis* and *Ligusticum chuanxiong* [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2007, 16(3):197-201.

[责任编辑 顾雪竹]