

# 不同炮制方式对当归中有效成分含量的影响

王雁梅\*, 任京力, 朱吾元, 崔燕兵

(漯河医学高等专科学校药理学系, 河南 漯河 462002)

**[摘要]** 目的: 考察不同炮制方式对当归中有效成分含量的影响。方法: 采用水蒸气蒸馏法测定挥发油含量; 利用 HPLC 测定阿魏酸含量, 流动相甲醇-1% 乙酸水溶液(45:55), 检测波长 321 nm; 通过磷钼钨酸-干酪素比色法测定总鞣质含量。结果: 当归经炮制后, 挥发油和阿魏酸含量均有不同程度的降低, 顺序为生当归(0.683%, 0.075%) > 酒炙当归(0.590%, 0.068%) > 土炒当归(0.397%, 0.024%) > 当归炭(0.125%, 0.012%); 酒炙当归中总鞣质含量低于生当归, 而其他炮制品中总鞣质含量明显高于生当归, 排序为当归炭(0.702%) > 土炒当归(0.491%) > 生当归(0.352%) > 酒炙当归(0.339%)。结论: 不同炮制方式对当归中有效成分含量存在一定影响。

**[关键词]** 当归; 炮制工艺; 挥发油; 阿魏酸; 总鞣质; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R283.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0042-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014070042

## Effect of Different Processing Methods on Contents of Active Ingredients in *Angelicae Sinensis Radix*

WANG Yan-mei\*, REN Jing-li, ZHU Wu-yuan, CUI Yan-bing

**[收稿日期]** 20131021(001)

**[基金项目]** 河南省高等学校青年骨干教师项目(2011GGJS-282)

**[通讯作者]** \* 王雁梅, 硕士, 副教授, 从事中药药理研究, Tel:0395-2969417, E-mail: yanmeiwang\_student@sina.com

醇回流提取 2 次, 每次 1.5 h。

**2.5 验证试验** 称取东风桔 3 份, 每份 25.0 g, 按最佳提取工艺进行验证试验, 结果总生物碱平均提取量  $4.88 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 0.94%, 说明优选的工艺条件稳定可行。

### 3 讨论

东风桔中总生物碱大部分为吡啶酮生物碱类化合物, 目前已分离出 Buxifoliadine-B, 约占总生物碱的 3.33%, 故选择 Buxifoliadine-B 为指标成分。采用酸性染料比色法测定总生物碱含量时, 萃取后三氯甲烷层含有微量水分, 呈现浑浊, 会带入酸性染料, 导致测定结果不稳定, 本文通过滤纸滤过吸走微量水分, 消除影响, 以保证试验结果的准确性和可重复性。

在前期试验中, 比较酸水、乙醇 2 种溶媒对东风桔总生物碱提取率的影响, 结果表明乙醇的提取率高于酸水, 原因可能为东风桔中生物碱类成分大部分为吡啶酮生物碱类, 为脂溶性叔胺型生物碱, 碱性较弱, 不易成盐, 故选择乙醇为提取溶剂。

### [参考文献]

- [1] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准. 第 1 册[S]. 广州: 广东科技出版社, 2010:52.
- [2] 杨涛. 酒饼筋根的生物活性成分研究[D]. 海口: 海南大学, 2012.
- [3] 覃德康. 东风桔吡啶酮生物碱[J]. 药学学报, 1986, 21(9):683.
- [4] 顾国明. 东风桔化学成分的研究[J]. 药学学报, 1987, 22(12):886.
- [5] 孙维广. 复方救必应制剂化学体系及新剂型研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2008.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:34.
- [7] 董常青, 周莹, 易红, 等. 广西地不容总生物碱的含量测定方法[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(9):915.
- [8] 黄晓玲, 郑兆广, 封亮, 等. 正交试验优化板蓝根总生物碱的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9):66.

[责任编辑 仝燕]

(Pharmaceutical Department, Luohe Medical College, Luohe 462002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effect of processing methods on contents of active ingredients from *Angelicae Sinensis Radix*. **Method:** The content of volatile oil was determined by steam distillation; HPLC was adopted to determine the content of ferulic acid with mobile phase of methanol-1% acetic acid (45:55) and detection wavelength at 321 nm; The content of total tannins was determined by phosphotungstomolybdate acid-casein colorimetry. **Result:** Processing could decrease contents of volatile oil and ferulic acid in *Angelicae Sinensis Radix*, orders of them were crude *Angelicae Sinensis Radix* (0.683%, 0.075%) > fried *Angelicae Sinensis Radix* with wine (0.590%, 0.068%) > stir-baked *Angelicae Sinensis Radix* with soil (0.397%, 0.024%) > carbonized *Angelicae Sinensis Radix* (0.125%, 0.012%); The content of total tannins was in order of carbonized *Angelicae Sinensis Radix* (0.702%) > stir-baked *Angelicae Sinensis Radix* with soil (0.491%) > crude *Angelicae Sinensis Radix* (0.352%) > fried *Angelicae Sinensis Radix* with wine (0.339%). **Conclusion:** Different processing methods had a certain effects on contents of active ingredients from *Angelicae Sinensis Radix*.

[Key words] *Angelicae Sinensis Radix*; processing technology; volatile oil; ferulic acid; total tannins; HPLC

当归性温味甘辛,归肝、心、脾经,具有补血活血、调经止痛、润肠通便的功效,临床用于治疗血虚萎黄、眩晕心悸、月经不调等症<sup>[1]</sup>。当归传统用药及2010年版《中国药典》规定中均采用炮制品,目前不同当归炮制品中主要有效成分的研究已有报道,但主要偏重于挥发油、阿魏酸、当归多糖含量的测定<sup>[2-3]</sup>。本实验拟比较不同当归炮制中挥发油、阿魏酸、总鞣质等有效成分含量,为当归传统炮制理论提供实验依据。

## 1 材料

1100系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),AB-204E型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),DU-640型紫外分光光度仪(美国Beckman公司),MO-2型调温型电热套(河北省黄骅市新电电器厂),XK-96型快速混匀器(江苏姜堰市新康仪器厂),DZKW-4型电热恒温水浴锅(黄骅市渤海电器厂),Milli-Q型超纯水系统(美国Millipore公司)。

当归购于漯河市大参林药店,经漯河医学高等专科学校第二附属医院药剂科刘秋鹤教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根;阿魏酸、没食子酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为0773-9910,110831-200802),水为超纯水,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 当归炮制品的制备

**2.1.1 生当归** 称取当归药材2.5 kg,除去杂质,洗净,润透,切薄片,50℃恒温干燥,即得。

**2.1.2 酒炙当归** 称取生当归片500 g,加黄酒50 g拌匀,闷透,待酒被吸收后,置炒制容器内,用文火炒至深黄色,取出,放凉,备用。

**2.1.3 土炒当归** 将土粉150 g置于炒至容器内,用中火炒至灵活状态,倒入生当归片500 g,微炒至当归片黏满细土时(称为挂土)取出,筛去土粉,放凉,备用。

**2.1.4 当归炭** 称取生当归片500 g,置于炒至容器内,用中火炒至外表微黑色,喷淋清水少许,取出,晾干,备用。

生当归依次按上述方法进行炮制后,放凉称重,计算各炮制品的质量变化率。水分测定按2010年版《中国药典》一部附录IX H项下第二法(甲苯法)测定,即精密称取各炮制品40 g置于A瓶中,加甲苯约200 mL,将仪器各部分连接,自冷凝管顶端加入甲苯,至充满B管的狭细部分;将A瓶置电热套中缓缓加热,待甲苯开始沸腾时,调节温度,使每秒馏出2滴;待水分完全馏出,即测定管刻度部分的水量不再增加时,将冷凝管内部先用甲苯冲洗,再用饱蘸甲苯的长刷将管壁上附着的甲苯推下,继续蒸馏5 min,放冷至室温,拆卸装置,放置,使水分与甲苯完全分离,检读水量并计算各炮制品中含水量,结果见表1,表明不同当归炮制品中含水量均<10%,达到2010年版《中国药典》要求<sup>[1]</sup>。

**2.2 挥发油含量测定** 按2010年版《中国药典》一部附录XD项下乙法测定。精密称取各炮制品200 g置于烧瓶中,加水500 mL与玻璃珠数粒,连接

表 1 各当归炮制品质量变化率及含水量测定

样品	炮制前质量	炮制后质量	质量变化率	含水量
	/g	/g	/%	/%
生当归	-	-	-	8.24
酒炙当归	500	512	2.4	6.79
土炒当归	500	489	2.2	7.03
当归炭	500	468	6.4	5.43

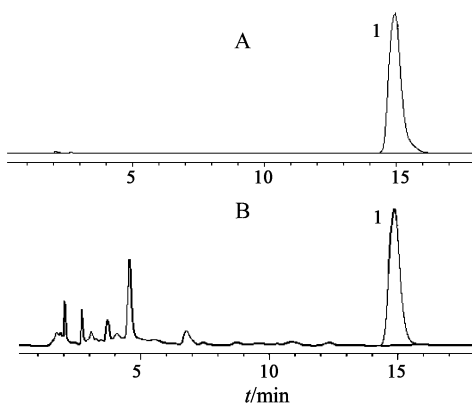
挥发油测定器与回流冷凝管, 缓缓加热至沸并保持微沸约 5 h, 停止加热, 放置 1.5 h, 读取挥发油体积, 计算各炮制品中挥发油含量, 结果见表 2。

表 2 各当归炮制品中有效成分含量测定 (n=3) %

样品	挥发油		阿魏酸		总鞣质	
	质量分数	RSD	质量分数	RSD	质量分数	RSD
生当归	0.683	0.87	0.075	1.02	0.352	0.89
酒炙当归	0.590	0.94	0.068	0.98	0.339	0.97
土炒当归	0.397	0.80	0.024	1.05	0.491	1.41
当归炭	0.125	0.98	0.012	1.14	0.702	2.12

## 2.3 阿魏酸的含量测定

**2.3.1 色谱条件**<sup>[4]</sup> Inertsil ODS-3 C<sub>18</sub> 反相色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 日本 GL Sciences 公司), 流动相甲醇-1% 乙酸水溶液 (45:55), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 35 °C, 检测波长 321 nm, 进样量 20 μL。理论塔板数按阿魏酸峰计算不低于 5 000, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 阿魏酸

图 1 当归炮制品 HPLC

**2.3.2 对照品溶液的制备** 精密称定阿魏酸对照品适量, 置于 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶解后, 用流动相定容至刻度, 摇匀, 得 0.018 g·L<sup>-1</sup> 对照品贮备液。

**2.3.3 供试品溶液的制备**<sup>[1]</sup> 精密称取生当归、酒炙当归、土炒当归、当归炭粉末 (过三号筛) 各约 0.2 g, 分别置于具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇

20 mL, 密塞, 称定质量, 加热回流 30 min, 放冷, 称定质量, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 静置, 取上清液用 0.25 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

**2.3.4 标准曲线的制备** 精密量取对照品贮备液适量, 用流动相配成质量浓度依次为 0.000 6, 0.001 2, 0.002 4, 0.004 5, 0.009, 0.018 g·L<sup>-1</sup> 的系列对照品工作液, 分别按 2.3.1 项下色谱条件测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程  $Y = 84\ 840.72X - 6\ 658.3$  ( $r = 0.999\ 2$ ), 线性范围 0.000 6 ~ 0.018 g·L<sup>-1</sup>。

**2.3.5 精密度试验** 精密吸取低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件于 1 d 内重复测定 6 次, 在 6 d 内测定日间精密度, 结果平均日内精密度 RSD 2.02%, 平均日间精密度 RSD 1.46%。

**2.3.6 稳定性试验** 精密吸取生当归供试品溶液, 分别于配制后 0, 6, 12, 24, 36, 48 h 进样, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算阿魏酸峰面积的 RSD 1.05%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

**2.3.7 重复性试验** 取同一生当归样品, 按 2.3.3 项下方法制备 6 份供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算阿魏酸峰面积的 RSD 1.53%。

**2.3.8 加样回收率试验** 精密吸取已知含量的生当归供试品溶液 6 份, 每份 500 μL, 各加入阿魏酸对照品溶液 150 μL, 电动混匀 1 min, 于 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min, 取上清液过 0.25 μm 微孔滤膜, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算平均回收率 98.32%, RSD 2.45%。

**2.3.9 样品测定** 精密吸取阿魏酸对照品溶液与 4 种供试品溶液各 20 μL, 分别进样 3 次, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算阿魏酸含量, 结果见表 2。

**2.4 总鞣质的含量测定** 采用 2010 年版《中国药典》一部附录 X B 项下鞣质含量测定法。

**2.4.1 对照品溶液的制备** 精密称取没食子酸对照品 50 mg, 置 100 mL 棕色量瓶中, 加水稀释至刻度, 精密量取该溶液 10 mL 置于 50 mL 棕色量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**2.4.2 标准曲线的制备** 精密量取对照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 分别置于 25 mL 棕色量瓶中, 各加入磷钼钨酸试液 1 mL, 依次加水 11.5, 11, 10, 9, 8, 7 mL, 用 29% 碳酸钠溶液稀释至刻度, 摇匀, 放置 30 min, 以相应试剂为空白, 于 760 nm 处测定吸光度 (A), 以 A 为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 得回归方程  $Y = 136.41X + 0.076\ 5$  ( $r =$

0.999 4),线性范围 0.002 ~ 0.10 g·L<sup>-1</sup>。

**2.4.3 供试品溶液的制备** 精密称取生当归、酒炙当归、土炒当归、当归炭粉末(过四号筛)各 0.5 g,分别置于 250 mL 棕色量瓶中,加水 150 mL,放置过夜,超声处理 10 min,放冷,用水稀释至刻度,摇匀,静置(使固体物沉淀),滤过,弃去初滤液 50 mL,精密量取续滤液 20 mL 置于 100 mL 棕色量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即得。

**2.4.4 精密度试验** 精密吸取对照品溶液 1.0 mL,按 2.4.2 项下方法连续测定 6 次 A,结果 RSD 0.67%,表明仪器精密度良好。

**2.4.5 稳定性试验** 精密吸取生当归供试品溶液 1 mL,按 2.4.2 项下方法显色,于 760 nm 处测定 A,每隔 10 min 测定 1 次,连续测定 6 次,结果 RSD 2.67%,表明供试品溶液显色后在 1 h 内稳定。

**2.4.6 重复性试验** 精密称取生当归粉末 6 份,分别按 2.4.3 项下平行制备供试品溶液,按 2.4.2 项下方法测定总多酚含量,结果 RSD 2.59%,表明该方法重复性良好。

**2.4.7 加样回收率试验** 精密称取已知总多酚含量的生当归粉末 6 份,每份 0.5 g,分别加入适量没食子酸对照品,按 2.4.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.4.2 项下方法测定总多酚含量,计算平均回收率 98.72%,RSD 2.87%。

**2.4.8 样品测定** 精密量取各供试品溶液 2 mL 置于 25 mL 棕色量瓶中,照 2.4.2 项下方法自“加入磷钼钨酸试液 1 mL”起,加水 10 mL,同法测定 A,计算总多酚含量。精密量取各供试品溶液 25 mL,加至已盛有干酪素 0.6 g 的 100 mL 具塞锥形瓶中,密塞,置 30 ℃ 水浴中保温 1 h,时时振摇,取出,放冷,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 2 mL 置于 25 mL 棕色量瓶中,照 2.4.2 项下方法测定 A,计算供试品溶液中不被吸收的总多酚含量。按  $m_{\text{总鞣质}} = m_{\text{总多酚}} - m_{\text{不被吸附的总多酚}}$  计算,结果见表 2。

### 3 讨论

当归主要有效成分为挥发油、阿魏酸、鞣质及多糖等。研究表明当归挥发油部分可抑制血小板花生四烯酸代谢,减少 TXA<sub>2</sub> 生成,同时可抑制 TXA<sub>2</sub> 样物质的释放<sup>[5]</sup>;阿魏酸能对抗 TXA<sub>2</sub> 的生物活性,增加 PGI<sub>2</sub> 活性;总鞣质具有收敛止血、抗氧化、改善肾功能、调节血糖等作用<sup>[6]</sup>。

由表 2 可知,生当归中挥发油及阿魏酸质量分数分别为 0.683%,0.075%,均达到 2010 年版《中国药典》规定的限度。但当归经炮制后,挥发油和

阿魏酸含量均有不同程度的降低,顺序均为生当归 > 酒炙当归 > 土炒当归 > 当归炭。原因可能是在炮制过程中,药材组织结构破坏,使挥发油挥发而散失,致使含量降低;阿魏酸稳定性较差,经加热处理后会因分解而降低,与孟同凤等<sup>[2]</sup>研究结果一致。当归经炮制后,总鞣质含量发生变化,顺序为当归炭 > 土炒当归 > 生当归 > 酒炙当归,炭炒、土炒后总鞣质含量明显升高,而酒炙后总鞣质含量下降。中医认为当归炭具有止血作用,这与制炭后收敛成分总鞣质的浸出增多相符。

当归在《神农本草经》中被列位中品,但无炮制之法,当归炮制始见于南齐《刘涓子鬼遗方》,此后历代不断发展。其中酒制始于南北朝刘宋时代,制炭入药始于明代,土炒入药始于明代<sup>[7]</sup>。当归炮制的传统理论认为生当归甘温,取其润性,补血又润肠;酒当归辛温,取其散性,以增强活血散瘀之功;土炒当归苦温,取其涩性,补血而不滑肠;当归炭则缓其辛烈之性而专于止血。炮制的目的在于改变药性,扩大药用范围。本文结果表明不同炮制方式对当归中有效成分含量存在一定影响,这可能是导致当归各炮制品产生药效差异的原因,说明当归的传统炮制理论具有一定的合理性、科学性,临证组方选药时,应选择适当的炮制方式,使药物能更好地发挥药效。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:124,附录 20.
- [2] 孟同凤,何莉. 当归炮制研究初探[J]. 陕西中医学院学报,2001,24(5):52.
- [3] 罗燕,彭鹏,谷新利,等. 不同炮制方法对黄芪、当归、党参中多糖含量的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医:科技版,2009(3):105.
- [4] 王雁梅,康红钰,刘春杰,等. 高效液相色谱法测定当归-川芎药对配伍复方中阿魏酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(7):61.
- [5] 黄伟晖,宋纯清. 当归的化学和药理学研究进展[J]. 中国中药杂志,2001,26(3):147.
- [6] 花雷,张晓娜,雷帆,等. 石榴叶鞣质对高血脂小鼠糖代谢影响及其机制[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2009,11(4):545.
- [7] 肖占宜,许华宁. 当归炮制的历史探讨[J]. 中医临床研究,2012,4(6):31.

[责任编辑 全燕]