

# 不同种类炮制用醋中川芎嗪含量与存放期的关系分析

宋志前<sup>1</sup>, 曹玉娜<sup>2</sup>, 杜智勇<sup>1</sup>, 王淳<sup>1</sup>, 李淑莉<sup>1</sup>, 董运茁<sup>1</sup>, 张琳琳<sup>1</sup>, 刘振丽<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700;

2. 河北省高邑县食品药品监督管理局, 石家庄 051330)

**[摘要]** **目的:**分析不同种类炮制用醋中川芎嗪含量与存放期的相关性。**方法:**采用 HPLC 测定盐酸川芎嗪含量, 色谱条件为流动相甲醇-0.2 mmol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢铵(46:54), 检测波长 270 nm。收集 15 个批次不同种类和存放期的醋, 采用 Spearman 统计方法分析川芎嗪含量与存放期的关系。**结果:**3 个批次白醋和白米醋中未检测到川芎嗪, 另 12 个批次醋中川芎嗪质量浓度 10.1~109.5 mg·L<sup>-1</sup>, 川芎嗪含量与存放期的相关系数 0.926。**结论:**不同种类醋中川芎嗪含量相差较大, 且与存放期呈较好正相关性。

**[关键词]** 醋; 川芎嗪; 存放期; 高效液相色谱; 方法学考察; 炮制用辅料

**[中图分类号]** R283.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)04-0029-03

**[doi]** 10.11653/syfy2014040029

## Correlation Analysis Between the Content of Ligustrazine and Storage Period of Different Kinds of Vinegar for Processing

SONG Zhi-qian<sup>1</sup>, CAO Yu-na<sup>2</sup>, DU Zhi-yong<sup>1</sup>, WANG Chun<sup>1</sup>, LI Shu-li<sup>1</sup>,

DONG Yun-zhuo<sup>1</sup>, ZHANG Lin-lin<sup>1</sup>, LIU Zhen-li<sup>1\*</sup>

(1. Institution of Basic Theory, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Gaoyi Food and Drug Administration, Shijiazhuang 051330, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze correlation between the content of ligustrazine and storage period of different kinds of vinegar for processing. **Method:** HPLC was adopted to determine the content of ligustrazine with mobile phase of methanol-0.2 mmol·L<sup>-1</sup> ammonium dihydrogen phosphate (46:54) and detection wavelength at 270 nm. Fifteen batches of vinegar with different kinds and storage periods were collected, correlation between the content of ligustrazine and storage period was analyzed by Spearman statistical method. **Result:** Among these fifteen batches of vinegar, the content of ligustrazine was undetectable in three batches of white vinegar or white rice vinegar, the content of ligustrazine in other batches of vinegar were in the range of 10.1-109.5 mg·L<sup>-1</sup>, correlation coefficient between the content of ligustrazine and storage period was 0.926. **Conclusion:** The content of ligustrazine had a large difference in different kinds of vinegar, and it showed a significantly positive correlation with storage period.

**[Key words]** vinegar; ligustrazine; storage period; HPLC; methodological study; accessories for processing

**[收稿日期]** 20131106(019)

**[第一作者]** 宋志前, 主管技师, 从事中药分析研究, Tel: 010-64014411-2503, E-mail: szy0801\_2001@126.com

**[通讯作者]** \* 刘振丽, 博士, 研究员, 从事中药分析研究, Tel: 010-64014411-2503, E-mail: zhenli\_liu@sina.com.cn

醋是最早出现在古典医籍中的中药炮制用辅料, 汉《五十二病方》记载有“取商牢(陆)渍醢中”, 明代《本草蒙筌》云“用醋注肝, 且资住痛”。现代药理研究表明醋具有清除自由基<sup>[1]</sup>、降血脂<sup>[2]</sup>、辅助降压<sup>[3]</sup>和抑制急性炎症<sup>[4]</sup>等作用。中药如延胡索<sup>[5]</sup>、乳香<sup>[6]</sup>和三棱<sup>[7]</sup>等醋炙后活血止痛作用较清

炒更强;延胡索醋炙时由于醋中酸类成分的作用,其活血止痛有效成分——生物碱类<sup>[8]</sup>中水溶性较差的游离生物碱会与酸形成盐,从而增加生物碱的水溶性,提高了溶出率,故活性增强<sup>[9]</sup>;而醋炙与清炒对乳香中有效成分挥发油和乳香酸的影响却无显著性差异<sup>[10]</sup>,但醋炙较清炒活血止痛作用增强的原因尚不明确。

食品研究人员从恒顺香醋<sup>[11-12]</sup>、山西老陈醋<sup>[13]</sup>中均检测到丰富的川芎嗪,并且该成分含量会随着醋陈放期的延长而持续增加,原因可能是醋中川芎嗪会在酿造和陈放过程中由 Maillard 反应直接或间接产生<sup>[14-15]</sup>。川芎嗪具有扩张血管<sup>[16]</sup>、改善微循环及血液流变学<sup>[17]</sup>、抑制血小板聚集<sup>[18]</sup>和镇痛<sup>[19]</sup>等作用,与中药醋炙后活血止痛功效增强相一致。目前炮制用醋尚无统一的药用标准,各饮片生产企业的炮制用醋主要是参照食品标准,醋的种类亦各有不同<sup>[20]</sup>。本实验通过测定 15 个批次不同种类和存放期的醋中川芎嗪含量,分析其含量与存放期的相互关系,为醋炙增效原理和醋质量标准制订提供实验依据。

## 1 材料

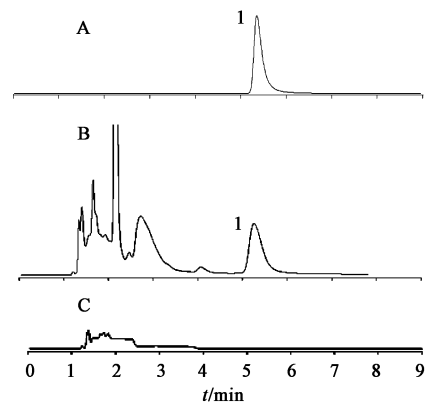
1200 系列高效液相色谱仪(G1322A 型脱气机, G1312B 型二元泵, G1367C 型自动进样器, G1315C 型 DAD 检测器, G1316B 型恒温箱, 美国安捷伦公司), CP 225D 型电子天平(德国赛多利斯公司)。盐酸川芎嗪对照品(批号 110817-200305, 中国食品药品检定研究院), 醋购自全国不同地区, 甲醇为色谱纯, 水为娃哈哈纯净水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.2 mmol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢铵(46:54), 柱温 25 °C, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 270 nm, 见图 1。

**2.2 对照品溶液制备和线性关系考察** 精密称取盐酸川芎嗪对照品适量, 加水溶解并制成 0.068 6 g·L<sup>-1</sup>的对照品溶液。精密吸取对照品溶液 1, 3, 5, 7, 9 (L, 按 2.1 项下色谱条件测定, 以峰面积积分为纵坐标, 进样量为横坐标, 得回归方程  $Y = 1\ 822.9X + 6.5$  ( $r = 0.999\ 9$ ), 线性范围 0.068 6 ~ 0.617 μg。

**2.3 供试品溶液的制备**<sup>[10]</sup> 精密吸取各供试品 50 mL, 分别置于分液漏斗中, 加 2% 氢氧化钠溶液调至 pH 9, 各加三氯甲烷 25, 15, 10 mL 提取 3 次, 静置分层, 必要时于 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 合并三氯甲



A. 对照品; B. 龙门米醋; C. 龙门 8 度白米醋; 1. 盐酸川芎嗪

图 1 醋中川芎嗪含量测定 HPLC

烷层, 各加 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸水溶液 20, 15, 10 mL 提取 3 次, 合并酸水层, 加水定容于 50 mL 量瓶中, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 弃去初滤液, 取续滤液, 即得。

**2.4 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 结果盐酸川芎嗪峰面积积分值的 RSD 2.32%。表明仪器精密度良好。

**2.5 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 2.1 项下色谱条件, 结果盐酸川芎嗪峰面积积分值的 RSD 0.78%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.6 重复性试验** 取同一供试品溶液共 6 份, 按 2.1 项下色谱条件测定, 结果盐酸川芎嗪含量的 RSD 1.61%, 表明该方法重复性良好。

**2.7 加样回收率试验** 精密吸取同一供试品 25 mL(盐酸川芎嗪质量均为 1.683 mg), 共 6 份, 各精密加入盐酸川芎嗪对照品溶液(1.58 g·L<sup>-1</sup>) 1.0 mL, 各精密加入水 24 mL, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定, 计算平均回收率 98.5%, RSD 2.85%。

**2.8 样品测定** 分别精密吸取各供试品溶液和对照品溶液 5(10 (L, 按 2.1 项下色谱条件测定, 计算盐酸川芎嗪含量(折算成川芎嗪含量), 结果见表 1, 表明 15 批次醋中川芎嗪含量相差很大, 其中 12 批次香醋和米醋中均检测到川芎嗪, 另 3 批次白醋和白米醋中则未检测到川芎嗪, 各批次醋的主要原料均为米, 符合 2010 年版《中国药典》对炮制用醋的规定, 即“米醋或其他发酵醋”。恒顺镇江香醋随着陈放时间延长, 川芎嗪含量逐渐增加, 与文献报道一致<sup>[11]</sup>; 北京龙门米醋亦显示随着陈放时间延长川芎嗪含量增加; 存放期相同但品牌不同的醋中川芎嗪

含量存在一定差异。对检测到川芎嗪的1~12号醋中川芎嗪含量与存放期的相关性进行分析,数据显示非正态分布,采用Spearman统计方法计算相关系数为0.926,表明具有较好的正相关性。

表1 不同种类醋中川芎嗪含量

No.	品牌品名	存放期 /月	川芎嗪 /mg·L <sup>-1</sup>
1	恒顺镇江香醋	2	18.9
2	恒顺镇江香醋	4	43.9
3	恒顺镇江香醋	18	109.5
4	沈阳红梅米醋	10	36.5
5	北京龙门米醋	4	22.4
6	北京龙门米醋	12	48.0
7	北京龙门米醋	20	101.9
8	龙门精品米醋	1	10.1
9	才臣米醋	14	45.6
10	海天米醋	5	32.0
11	山西益源庆米醋	7	33.9
12	鲁花糯米香醋	18	53.0
13	北京龙门8°白醋	18	-
14	龙门白醋	11	-
15	海天白米醋	8	-

注:“-”表示未检测到。从醋生产出来至使用时均属于陈放期<sup>[11]</sup>,本文中存放期为醋瓶身说明书中注明的生产日期至试验日期的间隔,月份采用取整数的方法,超过半个月即算1个月,不足半个月则不计入。

### 3 讨论

供试品溶液制备时,预试验对三氯甲烷、盐酸水溶液提取次数进行考察,确定提取数均为3次。传统理论认为“炮制用醋,陈久者良”。明·李时珍《本草纲目》记载“惟米醋二、三年者入药,余止可啖,不可入药也”。本文研究证实醋中川芎嗪含量随陈放时间延长逐渐升高,虽然目前炮制用醋尚无药用标准,对醋的陈放时间亦无规定,但不含川芎嗪的醋如白米醋、或川芎嗪含量不同的醋均可作为炮制用辅料。

#### [参考文献]

[1] Shimoji Y, Tamura Y, Nakamura Y, et al. Isolation and identification of DPPH radical scavenging compounds in Kurosu (Japanese unpolished rice vinegar) [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(22): 6501.

[2] 徐清萍, 陶文沂, 敖宗华. 恒顺香醋对人低密度脂蛋白(LDL)氧化修饰的影响[J]. 食品科学, 2005, 26(10): 216.

[3] 冯斌. 富含川芎嗪复合型高活性保健醋研制[D]. 太

原: 山西大学, 2012.

[4] Nishidai S, Nakamura Y, Torikai K, et al. Kurosu, a traditional vinegar produced from unpolished rice, suppresses lipid peroxidation *in vitro* and in mouse skin [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2000, 64(9): 1909.

[5] 丘志春, 陈玉兴, 周瑞玲. 醋制延胡索与净制延胡索抗炎、镇痛作用的对比研究[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(23): 4518.

[6] 胡素连. 乳香炮制工艺的研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2006.

[7] 毛淑杰, 王素芬, 李文, 等. 三棱不同炮制品抗血小板聚集及对凝血时间的影响[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(10): 604.

[8] 鲁春梅, 张春森, 姜立勇. 延胡索化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国现代药物应用, 2011, 5(15): 126.

[9] 马志静, 李先端, 顾雪竹, 等. 不同品种醋对延胡索内在成分的影响[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(6): 465.

[10] 夏磊. 乳香质量标准研究[D]. 天津: 天津中医药大学, 2012.

[11] 余鸣春. 镇江恒顺香醋风味物质及川芎嗪的分析研究[D]. 无锡: 江南大学, 2006.

[12] Xu W, Xu Q P, Chen J H, et al. Ligustrazine formation in Zhenjiang aromatic vinegar: changes during fermentation and storing process [J]. J Sci Food Agr, 2011, 91(9): 1612.

[13] 贺鹏飞, 李婷, 彭晓光, 等. 山西老陈醋生产过程中川芎嗪含量变化规律的研究[J]. 食品工程, 2011(2): 54.

[14] 贺铮怡. 镇江香醋中川芎嗪的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2004.

[15] 陈继承. 醋粉中降血脂成分筛选及其对脂质代谢的调控[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.

[16] Sun Y W, Yu P, Zhang G X, et al. Therapeutic effects of tetramethylpyrazine nitron in rat ischemic stroke models [J]. J Neurosci Res, 2012, 90(8): 1662.

[17] Zou Y H, Jiang W, Chiou G C Y. Effect of tetramethylpyrazine on rat experimental choroidal neovascularization *in vivo* and endothelial cell cultures *in vitro* [J]. Curr Eye Res, 2007, 32(1): 71.

[18] 马强, 陈刚, 张继芬, 等. 川芎嗪调控血管内皮生长因子与抗大鼠佐剂性关节炎的相关性研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(21): 2799.

[19] Liang S D, Xu C S, Zhou T, et al. Tetramethylpyrazine inhibits ATP-activated currents in rat dorsal root ganglion neurons [J]. Brain Res, 2005, 1040(1/2): 92.

[20] 毛淑杰, 戴明辉. 中药炮制辅料醋应用情况调查[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(17): 1385.

[责任编辑 仝燕]