

不同等级川芎饮片中藁本内酯和阿魏酸含量对比

吕非非, 胡昌江*, 吴珊珊, 熊瑞
(成都中医药大学药学院, 成都 611137)

[摘要] 目的: 比较不同等级川芎饮片中藁本内酯和阿魏酸的含量, 为传统川芎饮片分等方法提供理论依据。方法: 采用高效液相色谱法测定藁本内酯、阿魏酸含量, 色谱条件为 Comatex C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温 30 ℃, 进样量 10 μL, 流速 1 mL·min⁻¹; 藁本内酯、阿魏酸流动相分别为甲醇-水 (70:30), 甲醇-1% 乙酸溶液 (30:70), 检测波长分别为 326, 321 nm。结果: 一等、二等、统货川芎饮片中藁本内酯含量分别为 3.14%, 2.91%, 0.30~2.84%; 阿魏酸含量分别为 0.26%, 0.23%, 0.1~0.21%。结论: 川芎饮片中藁本内酯和阿魏酸含量为一等饮片最高, 二等饮片次之, 统货最低, 证明川芎饮片的传统分级方法具有一定合理性。

[关键词] 川芎; 不同等级饮片; 阿魏酸; 藁本内酯; 高效液相色谱; 含量测定

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)20-0052-03

[doi] 10.11653/syfy2013200052

Contents Comparison of Ferulic Acid and Ligustilide in Different Grades of Decoction Pieces of Chuanxiong Rhizoma

LV Fei-fei, HU Chang-jiang*, WU Shan-shan, XIONG Rui

(Chinese Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To compare contents of ferulic acid and ligustilide in different grades of decoction pieces of Chuanxiong Rhizoma and provide a theoretical basis for its traditional grading. **Method:** HPLC was used to determined contents of ferulic acid and ligustilide with Comatex C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), column temperature at 30 ℃, injection volume of 10 μL and flow rate was 1 mL·min⁻¹; Mobile phase of ferulic acid and ligustilide were methanol-water (70:30) and methanol-acetic acid solution (30:70), detection wavelength were 326 nm and 321 nm, respectively. **Result:** The content of ligustilide in first grade products, second-class products and parcel of mixed goods were 3.14%, 2.91% and 0.30%-2.84%, respectively; The content of ferulic acid were 0.26, 0.23% and 0.1-0.21%, respectively. **Conclusion:** Contents of ferulic acid and ligustilide from different grades of decoction pieces of Chuanxiong Rhizoma were in order of first grade products, second-class products and parcel of mixed goods, this study could prove that traditional grading method of Chuanxiong Rhizomais had some rationality.

[Key words] Chuanxiong Rhizoma; different grades of pieces; ferulic acid; ligustilide; HPLC; determination

[收稿日期] 20121201(002)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药行业专项(201007012-3-3)

[第一作者] 吕非非, 在读硕士, 从事中药炮制与制剂研究, Tel:15828244657, E-mail:284699232@qq.com

[通讯作者] * 胡昌江, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制学研究, Tel:13980980796, E-mail:hhcej@hotmail.com

川芎为川产道地药材, 具有活血行气、祛风止痛之功效^[1], 是治疗头痛之要药, 素有“头痛不离川芎”之说^[2], 在市场多以统货流通销售, 传统以个头大小分等级, 但缺乏科学依据。据调查, 现在市场上销售的川芎 >90% 均来自于四川产区, 其中彭州产地占 60% ~ 80%。川芎饮片被分为一等饮片 [直径 >5 cm 道地产区 (四川彭州) 饮片, 每千克 ≤ 44 个

的川芎原药材]、二等饮片(直径3~5 cm道地产区饮片,每千克 \leq 70个的川芎原药材)及统货(大小不分)^[3]。本实验选取藁本内酯和阿魏酸含量为考察指标,采用HPLC测定不同等级川芎饮片中有有效成分含量,为川芎的传统分等方法提供理论依据。

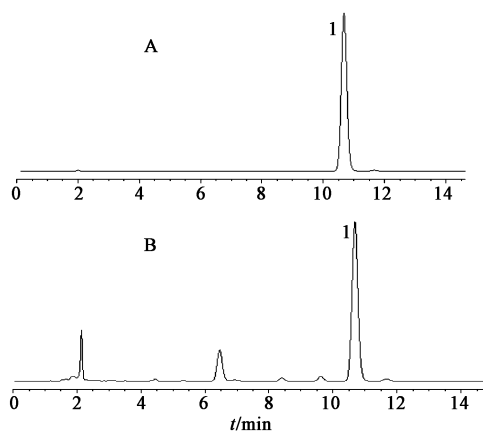
1 材料

1200系列高效液相色谱仪(G1322A型二元泵,G1315D型DAD检测器,美国Agilent公司),BP211D型1/10万和BP-61型1/万电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),LT502型电子天平(常熟市天量仪器有限公司)。川芎样品分别收集于四川省彭州市、都江堰市和江苏、云南、湖北(四川产区为产地购买,其他产区均由委托购买),由成都中医药大学卢先明教授鉴定为伞形科植物川芎*Ligusticum chuanxiong* Hort.的干燥根茎,按《中国药典》2010年版相关项下要求切片,晒干,粉碎,过4号筛,备用。阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号110773-201012),藁本内酯对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号MUST-11072416),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 藁本内酯的含量测定

2.1.1 色谱条件 Comatex C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(70:30),柱温30℃,进样量10 μL,检测波长326 nm,流速1 mL·min⁻¹。藁本内酯峰理论塔板数不低于3 000,见图1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 藁本内酯

图1 川芎中藁本内酯HPLC

2.1.2 对照品溶液的配制 精密称取藁本内酯对照品27.62 mg,置10 mL棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液,精密量取1 mL,置10 mL棕色量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,

即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取川芎饮片粉末0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 mL,摇匀,称重,超声处理30 min,用甲醇补足减失的质量,滤过,精密量取续滤液2 mL,置5 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,过0.45 μm微孔滤膜,即得。

2.1.4 线性关系考察 精密量取2.1.2项下对照品溶液0.5, 2, 4, 8, 12, 16 μL,分别按2.1.1项下方法测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 1\,299.7X + 1.3481$ ($r = 0.9999$),表明藁本内酯在0.1~4.4 μg呈良好线性关系。

2.1.5 精密度试验 取藁本内酯对照品溶液,按2.1.1项下色谱条件连续进样6次,结果藁本内酯峰面积的RSD 0.10%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性试验 分别精密称取同一批川芎饮片粉末0.5 g(四号筛)6份,按2.1.3项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下方法测定,结果藁本内酯含量的RSD 1.44%,表明该方法重复性良好。

2.1.7 稳定性试验 取同一批川芎饮片粉末,按2.1.3项下方法制备供试品溶液,分别于0, 2, 4, 8, 12, 24 h按2.1.1项下方法测定,计算藁本内酯面积的RSD 0.42%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取已知含量(3.10%)川芎饮片粉末0.25 g(四号筛)6份,置锥形瓶中,分别精密加入藁本内酯对照品储备液(2.5 g·L⁻¹)4 mL,按2.1.3项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下方法测定,计算平均加样回收率97.91%,RSD 1.20%,表明该方法回收率良好。

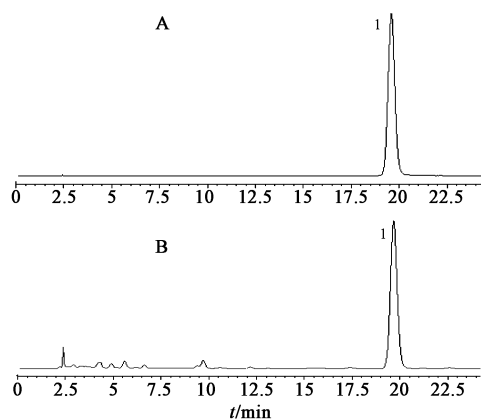
2.2 阿魏酸的含量测定

2.2.1 色谱条件 Comatex C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-1%乙酸溶液(30:70),柱温30℃,进样量10 μL,检测波长321 nm,流速1 mL·min⁻¹。理论塔板数按阿魏酸计算不低于5 000,见图2。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品5.18 mg,置于100 mL棕色量瓶中,加70%甲醇溶解并稀释至刻度,精密吸取10 mL至25 mL棕色量瓶中,加70%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取川芎饮片粉末0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇50 mL,密塞并称定质量,水浴加热回流30 min,放冷,用70%甲醇补足减失的质量,摇匀,静置,取上清液,滤过,取续滤液,过0.45 μm微孔滤膜,即得。

2.2.4 线性关系考察 精密量取2.2.2项下对照



A. 对照品; B. 供试品; 1. 阿魏酸

图 2 川芎中阿魏酸 HPLC

品溶液 2, 4, 10, 12, 16 μL , 按 2.2.1 项下方法测定, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程 $Y = 4\,246.6X - 2.58$ ($r = 0.999\,9$), 表明阿魏酸在 0.04 ~ 0.3 μg 具有良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 取同一阿魏酸对照品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 结果阿魏酸峰面积的 RSD 0.22%, 表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 分别精密称取同一批川芎饮片粉末 0.5 g (四号筛) 6 份, 按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下方法测定, 计算阿魏酸含量的 RSD 0.83%, 表明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 取同一批川芎饮片粉末, 按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液, 分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 2.2.1 项下方法测定, 记录峰面积, 计算藁本内酯面积的 RSD 0.14%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量 (0.26%) 川芎饮片粉末 0.25 g (四号筛) 6 份, 置锥形瓶中, 分别精密加入阿魏酸对照品储备液 ($0.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 2 mL, 按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下方法测定, 计算平均加样回收率 99.3%, RSD 1.25%, 表明该方法回收率良好。

2.3 样品测定 取不同等级的川芎药材粉末适量, 按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液, 每个样品平行 3 份, 按 2.2.1 项下方法测定, 计算藁本内酯和阿魏酸含量, 见表 1。结果表明川芎一等饮片中藁本内酯和阿魏酸含量均为最高, 二等饮片次之, 统货最低, 证明川芎饮片传统分等方法具有可行性。

3 讨论

阿魏酸为川芎的主要有效成分之一, 被《中国

表 1 不同等级川芎样品中藁本内酯和阿魏酸的含量测定

样品	产地	藁本内酯 质量分数/%	阿魏酸 质量分数/%
一等饮片	四川省彭州	3.14	0.26
二等饮片	四川省彭州	2.91	0.23
统货 1	四川省彭州	2.43	0.20
统货 2	四川省都江堰	2.84	0.21
统货 3	江苏省如皋	1.88	0.11
统货 4	云南省大理	1.94	0.20
统货 5	湖北省恩施	0.30	0.10

药典》2010 年版 (一部) 收录为川芎含量测定的评价指标。藁本内酯也是川芎的主要有效成分, 具有抑制血小板聚集、血管平滑肌收缩、活血、通络、止痉、止痛等作用^[4-5]。因此, 本文选取阿魏酸和藁本内酯含量作为川芎饮片质量评价指标, 为传统川芎分等提供理论依据。

川芎嗪是川芎的有效成分之一, 具有扩张血管、抗血小板凝聚、抗血栓形成、减轻血管痉挛和改善微循环等作用^[6-9]。通过对川芎嗪的含量测定研究发现, 其含量过低, 且化学成分不稳定, 易升华, 故未测出其准确含量, 不能为川芎的传统评价方法提供依据。

[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: 286.
- [2] 黄兆胜. 中药学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 303.
- [3] 曾俊超, 卢先明. 中药商品学[M]. 成都: 四川人民出版社, 2002: 106.
- [4] 左爱华, 王莉, 肖红斌. 藁本内酯药理学和药代动力学研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(22): 3350.
- [5] 王永忠, 童树洪. 川芎的传统用法与现代药理研究[J]. 中国药业, 2012, 21(7): 95.
- [6] 刘丽娟. 川芎嗪临床研究概况[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(2): 204.
- [7] 朱长福, 严玉平. 不同川芎药材中川芎嗪及阿魏酸含量及指纹图谱研究[J]. 中药材, 2008, 31(8): 1113.
- [8] 杨雪梅. 川芎嗪药理作用研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2010, 31(3): 215.
- [9] 纳鑫, 汪雪兰, 皮荣标. 川芎嗪对中枢神经系统的药理作用及其机制的研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2008, 19(1): 77.

[责任编辑 仝燕]