

吴茱萸当归不同比例配伍对阿魏酸含量的影响

訾 慧, 朱 会, 张振秋*

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 沈阳 110032)

[摘要] 目的: 考察吴茱萸当归药对中主要成分随吴茱萸当归配比变化的溶出规律。方法: 本研究采用高效液相色谱法测定吴茱萸当归药对不同配伍比例对当归中活性成分阿魏酸含量的影响。色谱柱: Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.085% 磷酸水溶液 (16: 84); 检测波长: 316 nm; 柱温: 35 °C; 流速: 1.0 mL·min⁻¹。结果: 在所观察的吴茱萸与当归的 9 个配伍比例中, 随着吴茱萸比例的增加, 阿魏酸溶出率逐渐增高, 以 6: 4 配伍组含量较高, 且其后含量增加趋于平稳, 与《金匱要略》温经汤配伍比例相符合。结论: 以现代研究方法证实吴茱萸当归药对的最佳配伍比例与《金匱要略》温经汤中的两药配伍比例相符合。

[关键词] 吴茱萸; 当归; 药对; 阿魏酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)05-0009-02

吴茱萸、当归配伍, 出自《金匱要略》温经汤, 其配伍比例为 6: 4。本研究采用高效液相色谱法测定了吴茱萸与当归不同配伍比例对当归中的活性成分阿魏酸含量的影响, 探讨其配伍的科学性。

1 仪器和试剂

AR2140 型电子分析天平 (奥豪斯公司); METTLER AB135-S 十万分之一电子天平 (瑞士); Agilent 1100 高效色谱仪; VWD 型紫外检测器; AS3120A 超声波清洗器。

水为去离子双蒸水, 乙腈 (色谱纯), 磷酸 (分析纯); 阿魏酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0773-9607); 吴茱萸、当归药材均购于河北安国。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 以乙腈-0.085% 磷酸水溶液 (16: 84) 为流动相; 检测波长为 316 nm; 柱温: 35 °C; 流速为 1.0 mL·min⁻¹。理论塔板数按阿魏酸计算不少于 5 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸 13.82 mg, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加 70% 甲醇使溶解, 并定容至刻度, 摇匀; 精密量取 3 mL, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加 70% 甲醇至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 含阿魏酸

[收稿日期] 2008-11-18

[通讯作者] * 张振秋, Tel: (0411) 87586058; E-mail: zhangzheqia@sina.com

0.016 584 mg 的溶液的溶液, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 吴茱萸当归药材(1:9) 配伍, 以 70% 乙醇合并提取, 滤液浓缩至干膏, 取干膏适量(约相当于当归生药 0.2 g), 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 20 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 30 min(频率 20 kHz, 功率 250 W), 放冷, 再称定重量, 用 70% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 静置, 取上清液, 滤过, 取续滤液, 即得(1:9) 供试品溶液。

其他 8 个比例(2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1) 及当归药材操作同上, 制得余下 8 个配比及当归药材供试品溶液。

2.4 标准曲线考察 精密吸取阿魏酸对照品溶液(0.016 584 mg·mL⁻¹) 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.5 μL 注入液相色谱仪中, 测定。结果以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 经回归处理, 得到回归方程为: $Y = 4\ 638.5X - 4.075\ 9$, $r = 0.999\ 6$, 进样量在 0.016 584~ 0.207 3 μg 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 取阿魏酸对照品溶液(0.016 584 mg·mL⁻¹), 进样 10 μL, 连续进样 5 次, 记录色谱图, 计算得峰面积的 RSD 为 1.8%。

2.6 重复性试验 选择吴茱萸当归配伍为 1:9 的供试品溶液 6 份, 分别进样 10 μL, 记录峰面积。测得阿魏酸的平均含量为 0.510 1 mg·g⁻¹ 当归药材(或 0.768 6 mg·g⁻¹ 干膏)。计算得其 RSD 为 1.9%。

2.7 稳定性试验 选择吴茱萸当归配伍 1:9 的供试品溶液 1 份, 于室温(20~ 25 °C) 下放置, 在不同时间 0, 1, 3, 6, 12, 24 h 进样, 每次进样 10 μL, 测定阿魏酸的峰面积, 记录色谱图。计算得峰面积的 RSD 为 2.2%。

2.8 加样回收率试验 精密量取吴茱萸当归配伍 1:9 以 70% 乙醇提取后浓缩的干膏(含阿魏酸 0.768 6 mg·g⁻¹ 干膏) 约 0.07 g, 精密称定。根据 2005 年版《中国药典》规定, 分别精密加入样品浓度的 75% (阿魏酸对照品溶液 0.016 584 mg·mL⁻¹ 2.5 mL), 100% (阿魏酸对照品溶液 0.016 584 mg·mL⁻¹ 3.2 mL), 125% (阿魏酸对照品溶液 0.016 584 mg·mL⁻¹ 4 mL) 3 个含量的阿魏酸对照品, 每个含量平行做 3 份, 按供试品溶液制备方法制备样品溶液, 进样测定, 计算各自的回收率和 RSD。结果阿魏酸平均回收率为 98.9%, RSD 为 2.0%。说明本法回收率好, 方法可行。结果见表 1。

表 1 加样回收率试验

样品	称样量 (g)	样品中含量 mg	对照品加入量 mg	测得总量 mg	回收率 %	平均回收率 %	RSD%
1	0.071 31	0.054 81	0.041 46	0.096 64	100.9		
2	0.071 22	0.054 74	0.041 46	0.096 02	99.7		
3	0.070 98	0.054 56	0.041 46	0.094 90	97.3		
4	0.069 92	0.053 74	0.053 07	0.105 80	98.1		
5	0.070 02	0.053 82	0.053 07	0.107 21	100.6	98.9	2.0
6	0.069 95	0.053 46	0.053 07	0.107 70	102.2		
7	0.069 59	0.053 49	0.066 34	0.117 64	96.7		
8	0.069 74	0.053 60	0.066 34	0.117 95	97.0		
9	0.069 89	0.053 72	0.066 34	0.118 67	97.9		

2.9 样品的测定 分别精密吸取上述两种对照品溶液与供试品溶液各 10 μL。注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算, 即得各个样品的质量浓度。结果见表 2。

表 2 吴茱萸当归药材不同配比醇提取物对阿魏酸含量的影响

比例 (吴:当)	吴茱萸药材(g)	当归药材(g)	出膏量 (g)	称样量 (膏)(g)	阿魏酸 (色谱峰面积)	阿魏酸 (mg·g ⁻¹ 当归药材)
1:9	1.004 1	9.009	5.978 8	0.133 7	234.4	0.510 1
2:8	2.000 3	7.999 6	5.718 9	0.141 5	228.8	0.506 7
3:7	2.999	6.999 4	5.390 1	0.153 7	232.4	0.510 6
4:6	3.995 2	5.999 8	5.357 4	0.178 4	237.4	0.520 7
5:5	5.003	5.004 4	5.054 7	0.202 6	246.3	0.538 4
6:4	6.007 9	3.997 8	4.828 8	0.241 8	261.1	0.571 8
7:3	7.005	2.997 7	4.452 2	0.287 2	254.6	0.577 2
8:2	8.004 4	2.002 2	4.111 7	0.410 4	286.3	0.628 1
9:1	9.000 7	1.001 4	3.958 8	0.790 2	265.3	0.581 9
当归(0.200 5 g)					233.2	0.511 2
阿魏酸对照品					756.5	

3 讨论

吴茱萸、当归配伍采用高效液相色谱法重点观察了吴茱萸与当归的不同配伍比例对当归活性成分阿魏酸含量的影响。实验结果表明: 在所观察的吴茱萸与当归的 9 个配伍比例中, 随着吴茱萸比例的增加, 阿魏酸含量逐渐增高, 以 6:4 配伍组含量较高, 且其后含量增加趋于平稳。表明吴茱萸与当归配伍有利于当归中阿魏酸的溶出, 其机理可能是由于在煎煮过程中吴茱萸的生物碱性成分使得溶液 pH 值升高, 对当归中的阿魏酸有促溶作用。同时, 与当归单煎液比较, 吴茱萸与当归以 6:4 配伍组中的阿魏酸的含量明显增高, 显示了两药配伍使用的优势与合理性, 与《金匱要略》温经汤配伍比例相符合。此外, 吴茱萸与当归的不同配伍比例对吴茱萸中活性成分吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量的影响, 将另文发表。

[参考文献]

[1] 袁丽霞, 王 红. HPLC 法测定当归苦参丸中阿魏酸的含量[J]. 中国药事, 2008, 22(1): 61-62.
[2] 叶资萍, 苑洪忠, 赵 凯. HPLC 测定养血当归胶胶囊中阿魏酸的含量[J]. 中国现代中药, 2007, 9(1): 18-20.