

HPLC法测定不同贮藏条件下川芎中10种化学成分的含量^Δ

鄢玉芬^{1*},徐双美¹,梁乙川¹,陈鸿平¹,陈林^{1,2#},刘友平^{1,3}(1.成都中医药大学药学院,成都 611137;2.四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室/省部共建国家重点实验室培育基地,成都 611137;3.中药标准化教育部重点实验室,成都 611137)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)06-0807-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.06.17

摘要 目的:建立同时测定不同贮藏条件下川芎中绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酞、Z-藜本内酯、丁烯基苯酞含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Boston C₁₈,流动相为乙腈-0.5%醋酸溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为285 nm,柱温为30 ℃,进样量为5 μL。结果:绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酞、Z-藜本内酯、丁烯基苯酞检测进样量线性范围分别为0.030 53~0.519 01 μg($r=0.999 5$)、0.001 02~0.017 34 μg($r=0.999 9$)、0.012 83~0.218 11 μg($r=0.999 5$)、0.007 63~0.129 71 μg($r=0.999 7$)、0.001 76~0.029 92 μg($r=0.999 5$)、0.054 74~0.930 58 μg($r=0.999 9$)、0.215 80~3.668 60 μg($r=0.999 9$)、0.018 02~0.306 34 μg($r=0.999 7$)、0.232 50~3.952 50 μg($r=0.999 9$)、0.002 40~0.040 80 μg($r=0.999 5$);定量限分别为2.073 7、0.556 6、0.753 8、0.231 5、0.306 9、0.925 2、2.295 3、4.624 0、3.215 3、0.910 5 ng,检测限分别为0.622 1、0.167 0、0.226 1、0.069 4、0.092 1、0.277 6、0.688 6、1.387 2、0.964 6、0.273 1 ng;精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于5%($n=6$);加样回收率分别为95.90%~103.28%(RSD=2.99%, $n=6$)、88.24%~107.84%(RSD=4.89%, $n=6$)、95.06%~102.08%(RSD=3.97%, $n=6$)、93.67%~101.05%(RSD=1.02%, $n=6$)、94.81%~104.33%(RSD=2.34%, $n=6$)、94.41%~105.59%(RSD=4.32%, $n=6$)、92.76%~104.83%(RSD=1.95%, $n=6$)、87.22%~102.56%(RSD=2.89%, $n=6$)、94.04%~99.52%(RSD=0.92%, $n=6$)、88.51%~103.83%(RSD=4.89%, $n=6$)。5、15 ℃贮藏条件下,药材药品未见明显变质;室温条件下,部分样品出现虫蛀、霉变;6批药材样品各成分含量分别为0.047 7%~0.160 8%、0.006 1%~0.022 7%、0.048 2%~0.172 2%、0.023 3%~0.145 2%、0.004 6%~0.030 7%、0.085 2%~0.835 4%、0.182 6%~2.112 7%、0.009 9%~0.098 3%、0.614 9%~3.176 2%、0.005 7~0.036 9%,均呈下降趋势,且下降速率为5 ℃<15 ℃<室温;在相同贮藏温度下的下降速率为聚乙烯塑料袋<聚丙烯编织袋。结论:该方法准确、可行,可用于同时测定川芎中10种成分的含量。建议川芎药材密封包装后于干燥、阴凉处贮藏,且贮藏时间不宜过长。

关键词 川芎;不同贮藏条件;高效液相色谱法;绿原酸;川芎嗪;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;正丁基苯酞;Z-藜本内酯;丁烯基苯酞;含量测定

Content Determination of 10 Kinds of Chemical Components in *Ligusticum chuanxiong* under Different Storage Conditions by HPLC

YAN Yufeng¹, XU Shuangmei¹, LIANG Yichuan¹, CHEN Hongping¹, CHEN Lin^{1,2}, LIU Youping^{1,3}(1. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 2. Key Lab of Systematic Research Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province-Key Laboratory Breeding Base Co-founded by Sichuan Province and Ministry of Education, Chengdu 611137, China; 3. Key Lab of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of chlorogenic acid, ligustrazine, ferulic acid, senkyunolide I, senkyunolide H, coniferly ferulate, senkyunolide A, *n*-butylphthalide, Z-ligustilide and *n*-butylidenephthalide in *Ligusticum chuanxiong* under different storage conditions. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Boston C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.5% acetic acid solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 285 nm, and the column temperature was 30 ℃. The sample size was 5 μL. RESULTS: The linear range of chlorogenic acid, ligustrazine, ferulic acid, senkyunolide I, senkyunolide H, coniferly ferulate, senkyunolide A, *n*-butylphthalide, Z-ligustilide *n*-butylidenephthalide were 0.030 53-0.519 01 μg ($r=0.999 5$), 0.001 02-0.017 34 μg ($r=0.999 9$), 0.012 83-0.218 11 μg ($r=0.999 5$), 0.007 63-0.129 71 μg ($r=0.999 7$), 0.001 76-0.029 92 μg ($r=0.999 5$), 0.054 74-0.930 58 μg ($r=0.999 9$), 0.215 80-3.668 60 μg ($r=0.999 9$), 0.018 02-0.306 34 μg ($r=0.999 7$), 0.232 50-3.952 50 μg ($r=0.999 9$), 0.002 40-0.040 80 μg ($r=0.999 5$). The limits of quantitation were 2.073 7, 0.556 6, 0.753 8, 0.231 5, 0.306 9, 0.925 2, 2.295 3, 4.624 0, 3.215 3, 0.910 5

Δ 基金项目:四川省重点研发项目(No.2017SZ0073)

* 硕士研究生。研究方向:中药化学成分与质量标准化研究。电话:028-61800237。E-mail:956754125@qq.com

通信作者:副教授,博士。研究方向:中药质量标准化及药效物质基础研究。电话:028-61800075。E-mail:834890827@qq.com

ng, respectively. The detection limits were 0.622 1, 0.167 0, 0.226 1, 0.069 4, 0.092 1, 0.277 6, 0.688 6, 1.387 2, 0.964 6, 0.273 1 ng, respectively. RSD of precision, stability and repeatability tests were all less than 5% ($n=6$). The recovery rates were 95.90%-103.28% (RSD=2.99%, $n=6$), 88.24%-107.84% (RSD=4.89%, $n=6$), 95.06%-102.08% (RSD=3.97%, $n=6$), 93.67%-101.05% (RSD=1.02%, $n=6$), 94.81%-104.33% (RSD=2.34%, $n=6$), 94.41%-105.59% (RSD=4.32%, $n=6$), 92.76%-104.83% (RSD=1.95%, $n=6$), 87.22%-102.56% (RSD=2.89%, $n=6$), 94.04%-99.52% (RSD=0.92%, $n=6$), 88.51%-103.83% (RSD=4.89%, $n=6$), respectively. At 5 °C and 15 °C, no obvious deterioration was observed in medicinal materials. At room temperature, some samples were moth-eaten and mildewed. The content ranges of 6 batches of samples were 0.047 7%-0.160 8%, 0.006 1%-0.022 7%, 0.048 2%-0.172 2%, 0.023 3%-0.145 2%, 0.004 6%-0.030 7%, 0.085 2%-0.835 4%, 0.182 6%-2.112 7%, 0.009 9%-0.098 3%, 0.614 9%-3.176 2% and 0.005 7%-0.036 9%, showing decreasing trend; the decrease rate was in descending order 5 °C < 15 °C < room temperature; at the same storage temperature, the decrease rate of polyethylene plastic bag was lower than that of polypropylene woven bag. CONCLUSIONS: This method is accurate and feasible, and can be used for simultaneous determination of 10 kinds of components in *L. chuanxiong*. It is suggested that *L. chuanxiong* medicinal materials should be sealed and packed in dry and cool places and should not be stored for a long time.

KEYWORDS *Ligusticum chuanxiong*; Different storage conditions; HPLC; Chlorogenic acid; Ligustrazine; Ferulic acid; Senkyunolide I; Senkyunolide H; Coniferly ferulate; Senkyunolide A; *n*-butylphthalide; *Z*-ligustilide; *n*-butylidene-phthalide; Content determination

川芎为伞形科植物川芎(*Ligusticum chuanxiong* Hort.)的干燥根茎^[1],始载于《神农本草经》,被列为上品,具有活血祛瘀、祛风止痛的功效,临床常用于治疗闭经、痛经、月经不调、风湿痹痛、胁肋刺痛等症,是中医处方的常用药。现代药理研究表明,川芎中主要含有生物碱类、酚酸类及苯酞类有效成分^[2-4]。川芎作为四川道地药材,据不完全统计目前川芎全省总种植面积约10万亩,年产量约2万吨,因此难免会造成库存量较大^[4]。有研究发现,川芎在贮藏中极易出现霉变、虫蛀现象^[5]。本课题组前期调查发现,川芎的贮藏均以编织袋包装后堆放于室内干燥通风处,并定期采用熏蒸剂磷化铝进行杀虫处理,并未通过控制贮藏条件进行科学养护。中药的贮藏与养护需要良好的环境温度与湿度条件,环境温度与湿度过高或过低均会影响中药的品质,如环境温度较高易使中药化学成分发生反应而降低药效;环境湿度过高则可能导致中药霉变,甚至产生有毒物质;湿度过低则易造成药物水分流失,使得药物被逐渐风化而降低疗效。为此,本研究建立了采用高效液相色谱法(HPLC)测定不同贮藏条件下川芎中绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酞、*Z*-藁本内酯、丁烯基苯酞含量的方法,旨在为其质量控制及确定贮藏条件提供依据。

1 材料

1.1 仪器

1260型HPLC仪,包括G1311C型四元泵、G1329B型进样器、G1316A型柱温箱、G1362A型检测器(美国Agilent公司);FA2000型万分之一电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司);BP211D型十万分子一电子天平(德国Sartorius公司);SB-5200DT型超声波清洗机(宁波新艺超声设备有限公司);UPT-I-10T型优普系列

超纯水机(成都超纯科技有限公司)。

1.2 试剂

绿原酸对照品(批号:CHB160418)、川芎嗪对照品(批号:CHB160427)、阿魏酸对照品(批号:CHB160913)、洋川芎内酯I对照品(批号:CHB160325)、洋川芎内酯H对照品(批号:CHB161228)、阿魏酸松柏酯对照品(批号:CHB151011)、洋川芎内酯A对照品(批号:CHB160917)、正丁基苯酞对照品(批号:CHB160404)、*Z*-藁本内酯对照品(批号:CHB160428)、丁烯基苯酞对照品(批号:CHB170428)均购自成都克洛玛生物科技有限公司,纯度均大于98%;乙腈为色谱纯,冰醋酸、无水乙醇均为分析纯,水为超纯水。

1.3 药材

川芎药材(购自眉山彭山县,批号:20170401、20170402、20170403;购自彭州敖平,批号:20170404、20170405、20170406),经成都中医药大学药学院卢先明教授鉴定为伞形科植物川芎(*Ligusticum chuanxiong* Hort.)的干燥根茎。将6批样品分别采用聚丙烯编织袋(编号:A、B、C)、聚乙烯塑料袋(编号:D、E、F)包装,分别贮藏于室温(编号:A1~A6、D1~D6)、15 °C(编号:B1~B6、E1~E6)、5 °C(编号:C1~C6、F1~F6)条件下,共贮藏6个月,逐月取样。

2 方法与结果

2.1 性状观察

在5、15 °C贮藏条件下,样品均未发生明显变质现象,其外观性状基本无变化。在室温贮藏条件下,聚丙烯编织袋包装样品(A1~A6)于贮藏3个月后均发生虫蛀,产生虫孔和蛀虫排泄物,样品质地变脆,香气浓郁程度显著降低;聚乙烯塑料袋包装的部分样品(D1~D6)于贮藏3个月后发生霉变,霉变样品(D1、D2)质地变

软,表面颜色变深,特异香气消失,有异味产生,样品断面颜色显著加深。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Boston C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.5% 醋酸溶液(B), 梯度洗脱(洗脱程序见表1); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 285 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 5 μL。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution procedure

t, min	A, %	B, %
0	10	90
15	16	84
30	30	70
35	40	60
70	55	45

2.2.2 混合对照品溶液的制备 取绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酞、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞对照品各适量, 分别置于10 mL量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 制成绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酞、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞质量浓度分别为0.277 5、0.638 0、0.583 0、1.09 0、1.100 0、0.912 0、2.158 0、0.910 0、2.528 0、0.300 0 mg/mL的单一对照品贮备液。分别精密吸取上述单一对照品贮备液 550、8、110、35、8、300、500、100、460、40 μL, 置于同一5 mL量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 即得混合对照品溶液。

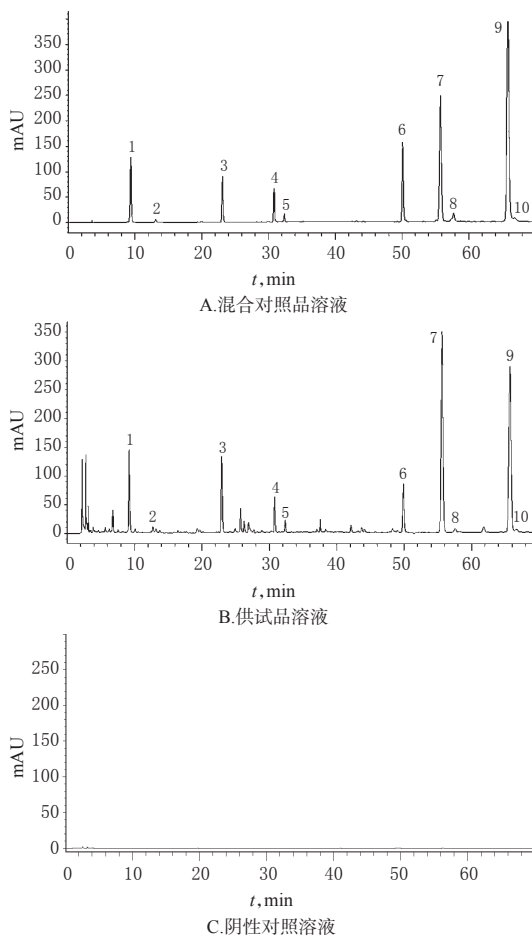
2.2.3 供试品溶液的制备 取药材样品(过4号筛)粉末约1.0 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加75%乙醇50 mL, 称定质量, 超声(功率: 500 W, 频率: 50 kHz)处理30 min, 放冷, 再次称定质量, 用75%乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 阴性对照溶液 以甲醇为阴性对照溶液。

2.2.5 专属性试验 取上述混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各适量, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 详见图1。由图1可知, 在该色谱条件下, 绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酞、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞分离良好, 理论板数均超过5 500。

2.2.6 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下混合对照品溶液 1、3、7、10、15、17 μL, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以进样量(x, μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归, 回归方程与线性范围见表2。

2.2.7 定量限与检测限考察 取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量, 倍比稀释, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 以信噪比 10:1、3:1 分别计算定量限、检测限。结果, 绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酞、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞的定量限分别为2.073 7、0.556 6、0.753 8、



注: 1. 绿原酸; 2. 川芎嗪; 3. 阿魏酸; 4. 洋川芎内酯I; 5. 洋川芎内酯H; 6. 阿魏酸松柏酯; 7. 洋川芎内酯A; 8. 正丁基苯酞; 9. Z-藁本内酯; 10. 丁烯基苯酞

Note: 1. chlorogenic acid; 2. Ligustrazine; 3. ferulic acid; 4. senkyunolide I; 5. senkyunolide H; 6. coniferly ferulate; 7. Senkyunolide A; 8. n-butylphtalide; 9. Z-ligustilide 10. n-butylideneppthalide

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram

表2 回归方程与线性范围

Tab 2 Regression equation and linear range

待测成分	回归方程	r	线性范围, μg
绿原酸	y=69.065x+105.1	0.999 5	0.030 53~0.519 01
川芎嗪	y=16.246x+0.658 8	0.999 9	0.001 02~0.017 34
阿魏酸	y=118.48x+33.968	0.999 5	0.012 83~0.218 11
洋川芎内酯I	y=225.09x-5.039 5	0.999 7	0.007 63~0.129 71
洋川芎内酯H	y=42.246x-11.341	0.999 5	0.001 76~0.029 92
阿魏酸松柏酯	y=576.71x-15.747	0.999 9	0.054 74~0.930 58
洋川芎内酯A	y=1 201.7x+115.82	0.999 9	0.215 80~3.668 60
正丁基苯酞	y=46.762x+35.612	0.999 7	0.018 02~0.306 34
Z-藁本内酯	y=1 113.8x+53.336	0.999 9	0.232 50~3.952 50
丁烯基苯酞	y=30.385x+109.35	0.999 5	0.002 40~0.040 80

0.231 5、0.306 9、0.925 2、2.295 3、4.624 0、3.215 3、0.910 5 ng, 检测限分别为 0.622 1、0.167 0、0.226 1、0.069 4、0.092 1、0.277 6、0.688 6、1.387 2、0.964 6、0.273 1 ng。

2.2.8 精密度试验 取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量, 按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积。结果, 绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酞、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞峰面积的RSD分别为1.850%、1.785%、1.231%、1.807%、2.570%、0.366%、1.328%、1.263%、1.485%、2.421% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.9 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液(批号:20170401)适量,分别于室温下放置0、2、4、8、12、24、36 h时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酞、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞峰面积的RSD分别为0.968%、2.275%、4.240%、1.503%、2.979%、4.386%、0.299%、1.757%、0.267%、4.085% ($n=7$),表明供试品溶液于室温下放置36 h内基本稳定。

2.2.10 重复性试验 取药材样品(批号:20170401)粉末适量,共6份,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酞、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞的平均含量分别为0.104%、0.017%、0.124%、0.091%、0.017%、0.466%、1.301%、0.067%、2.135%、0.021%,RSD分别为2.918%、4.364%、4.194%、0.268%、0.551%、4.937%、2.238%、3.962%、1.926%、4.664% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.2.11 加样回收率试验 精密称取已知含量的药材样品(批号:20170401)粉末约0.5 g,共6份,分别加入一定

量的各单一对照品贮备液适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果,绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酞、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞的加样回收率分别为95.90%~103.28% (RSD=2.99%, $n=6$)、88.24%~107.84% (RSD=4.89%, $n=6$)、95.06%~102.08% (RSD=3.97%, $n=6$)、93.67%~101.05% (RSD=1.02%, $n=6$)、94.81%~104.33% (RSD=2.34%, $n=6$)、94.41%~105.59% (RSD=4.32%, $n=6$)、92.76%~104.83% (RSD=1.95%, $n=6$)、87.22%~102.56% (RSD=2.89%, $n=6$)、94.04%~99.52% (RSD=0.92%, $n=6$)、88.51%~103.83% (RSD=4.89%, $n=6$)。

2.2.12 样品含量测定 逐月取各批药材样品适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,每月定时取样后平行测定3次,记录峰面积并计算样品含量,结果绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酞、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞的样品含量分别为0.047 7%~0.160 8%、0.006 1%~0.022 7%、0.048 2%~0.172 2%、0.023 3%~0.145 2%、0.004 6%~0.030 7%、0.085 2%~0.835 4%、0.182 6%~2.112 7%、0.009 9%~0.098 3%、0.614 9%~3.176 2%、0.005 7~0.036 9%,各待测成分含量均呈下降趋势,且下降速率为5℃<15℃<室温,详见表3~表12。

表3 绿原酸含量测定结果($n=3, \%$)

Tab 3 Results of content determination of chlorogenic acid ($n=3, \%$)

包装材料	贮藏温度	编号	0个月	1个月	2个月	3个月	4个月	5个月	6个月
聚丙烯编织袋	室温	A1~A6	0.102 5~0.151 2	0.091 6~0.160 8	0.087 0~0.133 8	0.070 2~0.138 8	0.077 5~0.117 5	0.066 1~0.099 6	0.056 0~0.084 4
	15℃	B1~B6	0.102 5~0.151 2	0.100 4~0.151 0	0.098 4~0.149 2	0.093 5~0.146 8	0.092 2~0.138 1	0.089 7~0.132 9	0.087 7~0.122 6
	5℃	C1~C6	0.102 5~0.151 2	0.100 2~0.148 0	0.099 0~0.148 6	0.098 6~0.148 8	0.097 8~0.147 0	0.096 7~0.144 2	0.096 4~0.138 5
聚乙烯塑料袋	室温	D1~D6	0.102 5~0.151 2	0.100 7~0.145 4	0.099 1~0.145 3	0.086 6~0.142 2	0.074 8~0.129 1	0.049 3~0.120 5	0.047 7~0.102 1
	15℃	E1~E6	0.102 5~0.151 2	0.100 9~0.146 7	0.100 7~0.140 5	0.098 2~0.139 9	0.091 8~0.139 4	0.089 7~0.132 4	0.089 1~0.118 9
	5℃	F1~F6	0.102 5~0.151 2	0.102 3~0.142 9	0.098 3~0.141 6	0.100 3~0.140 0	0.097 7~0.138 4	0.096 3~0.136 8	0.091 5~0.126 8

表4 川芎嗪含量测定结果($n=3, \%$)

Tab 4 Results of content determination of ligustrazine ($n=3, \%$)

包装材料	贮藏温度	编号	0个月	1个月	2个月	3个月	4个月	5个月	6个月
聚丙烯编织袋	室温	A1~A6	0.017 0~0.022 0	0.010 6~0.021 5	0.015 5~0.020 0	0.012 9~0.014 2	0.009 2~0.014 2	0.006 1~0.011 8	0.006 1~0.011 2
	15℃	B1~B6	0.017 0~0.022 0	0.016 6~0.022 1	0.015 8~0.022 7	0.014 8~0.020 3	0.013 5~0.018 4	0.012 3~0.017 8	0.012 2~0.015 9
	5℃	C1~C6	0.017 0~0.022 0	0.016 9~0.021 9	0.016 2~0.021 4	0.015 9~0.020 8	0.015 0~0.019 8	0.014 4~0.019 0	0.014 0~0.018 1
聚乙烯塑料袋	室温	D1~D6	0.017 0~0.022 0	0.021 6~0.016 6	0.020 2~0.014 8	0.019 6~0.012 5	0.017 9~0.009 7	0.017 0~0.007 3	0.016 4~0.006 9
	15℃	E1~E6	0.017 0~0.022 0	0.016 5~0.022 0	0.015 9~0.021 3	0.014 9~0.020 9	0.013 2~0.019 2	0.012 9~0.019 0	0.012 4~0.017 7
	5℃	F1~F6	0.017 0~0.022 0	0.016 9~0.022 1	0.015 4~0.021 9	0.015 3~0.021 1	0.014 9~0.020 5	0.014 0~0.019 5	0.013 9~0.018 8

表5 阿魏酸含量测定结果($n=3, \%$)

Tab 5 Results of content determination of ferulic acid ($n=3, \%$)

包装材料	贮藏温度	编号	0个月	1个月	2个月	3个月	4个月	5个月	6个月
聚丙烯编织袋	室温	A1~A6	0.106 6~0.157 2	0.120 7~0.161 2	0.130 8~0.172 2	0.114 3~0.145 2	0.100 9~0.122 5	0.068 7~0.104 4	0.058 2~0.088 6
	15℃	B1~B6	0.106 6~0.157 2	0.105 2~0.157 9	0.104 5~0.150 6	0.103 8~0.162 5	0.101 2~0.145 7	0.095 2~0.137 4	0.089 5~0.134 8
	5℃	C1~C6	0.106 6~0.157 2	0.103 7~0.154 8	0.102 1~0.157 9	0.104 9~0.159 9	0.112 3~0.158 6	0.107 7~0.154 3	0.108 0~0.150 8
聚乙烯塑料袋	室温	D1~D6	0.106 6~0.157 2	0.103 8~0.154 4	0.099 8~0.154 8	0.087 4~0.151 5	0.079 7~0.146 2	0.059 1~0.142 2	0.048 2~0.131 8
	15℃	E1~E6	0.106 6~0.157 2	0.102 5~0.155 7	0.112 7~0.154 6	0.103 4~0.154 0	0.104 8~0.152 8	0.094 2~0.141 5	0.091 0~0.138 7
	5℃	F1~F6	0.106 6~0.157 2	0.106 5~0.153 8	0.104 9~0.152 9	0.105 4~0.150 4	0.101 0~0.149 2	0.106 0~0.147 8	0.098 3~0.127 7

表6 洋川芎内酯I含量测定结果(n=3, %)

Tab 6 Results of content determination of senkyunolide I(n=3, %)

包装材料	贮藏温度	编号	0个月	1个月	2个月	3个月	4个月	5个月	6个月
聚丙烯编织袋	室温	A1~A6	0.082 4~0.145 2	0.076 8~0.138 9	0.070 4~0.133 4	0.055 5~0.118 1	0.043 8~0.101 1	0.028 6~0.089 4	0.023 3~0.081 1
	15 ℃	B1~B6	0.082 4~0.145 2	0.079 5~0.141 2	0.077 2~0.138 4	0.074 4~0.135 1	0.070 1~0.133 1	0.068 8~0.131 0	0.065 2~0.128 6
	5 ℃	C1~C6	0.082 4~0.145 2	0.080 1~0.143 7	0.078 5~0.141 5	0.077 1~0.139 9	0.074 8~0.137 5	0.072 2~0.135 3	0.070 8~0.133 3
聚乙烯塑料袋	室温	D1~D6	0.082 4~0.145 2	0.077 8~0.140 2	0.071 9~0.136 6	0.062 5~0.122 1	0.052 2~0.117 8	0.043 8~0.099 8	0.037 6~0.093 5
	15 ℃	E1~E6	0.082 4~0.145 2	0.081 3~0.143 7	0.079 0~0.140 8	0.076 7~0.138 2	0.074 3~0.135 1	0.072 2~0.132 2	0.070 0~0.130 5
	5 ℃	F1~F6	0.082 4~0.145 2	0.082 0~0.144 8	0.081 1~0.142 5	0.079 8~0.140 9	0.077 6~0.139 1	0.074 8~0.137 6	0.072 2~0.135 5

表7 洋川芎内酯H含量测定结果(n=3, %)

Tab 7 Results of content determination of senkyunolide H(n=3, %)

包装材料	贮藏温度	编号	0个月	1个月	2个月	3个月	4个月	5个月	6个月
聚丙烯编织袋	室温	A1~A6	0.016 2~0.030 7	0.015 1~0.029 4	0.013 8~0.028 2	0.010 9~0.025 0	0.008 6~0.021 4	0.005 6~0.018 2	0.004 6~0.017 2
	15 ℃	B1~B6	0.016 2~0.030 7	0.015 7~0.030 2	0.015 0~0.028 7	0.014 4~0.028 3	0.013 9~0.027 7	0.013 2~0.026 7	0.012 9~0.024 8
	5 ℃	C1~C6	0.016 2~0.030 7	0.015 9~0.030 5	0.015 7~0.030 2	0.015 4~0.029 3	0.015 0~0.028 8	0.014 5~0.028 1	0.014 3~0.027 7
聚乙烯塑料袋	室温	D1~D6	0.016 2~0.030 7	0.015 5~0.029 9	0.015 0~0.029 4	0.014 4~0.028 8	0.014 1~0.028 2	0.013 7~0.027 7	0.013 4~0.026 9
	15 ℃	E1~E6	0.016 2~0.030 7	0.015 8~0.030 3	0.015 3~0.029 8	0.014 8~0.029 3	0.014 4~0.028 9	0.014 1~0.028 6	0.013 5~0.028 0
	5 ℃	F1~F6	0.016 2~0.030 7	0.016 0~0.030 5	0.015 7~0.030 2	0.015 4~0.029 9	0.014 9~0.029 4	0.014 5~0.029 0	0.013 9~0.028 5

表8 阿魏酸松柏酯含量测定结果(n=3, %)

Tab 8 Results of content determination of coniferly ferulate(n=3, %)

包装材料	贮藏温度	编号	0个月	1个月	2个月	3个月	4个月	5个月	6个月
聚丙烯编织袋	室温	A1~A6	0.301 2~0.835 4	0.280 5~0.807 0	0.257 0~0.773 8	0.202 9~0.718 0	0.159 9~0.655 1	0.104 6~0.585 2	0.085 2~0.569 6
	15 ℃	B1~B6	0.301 2~0.835 4	0.284 3~0.817 1	0.275 5~0.801 9	0.253 2~0.783 7	0.231 1~0.758 7	0.210 2~0.717 2	0.187 2~0.688 8
	5 ℃	C1~C6	0.301 2~0.835 4	0.297 7~0.831 2	0.286 9~0.820 1	0.269 8~0.803 4	0.254 3~0.784 9	0.244 0~0.774 8	0.231 3~0.763 1
聚乙烯塑料袋	室温	D1~D6	0.301 2~0.835 4	0.285 1~0.820 3	0.268 5~0.802 7	0.224 9~0.759 3	0.184 3~0.708 7	0.156 6~0.681 5	0.136 3~0.661 2
	15 ℃	E1~E6	0.301 2~0.835 4	0.286 6~0.819 1	0.268 3~0.800 8	0.256 2~0.788 7	0.213 8~0.746 3	0.194 9~0.727 4	0.185 3~0.717 8
	5 ℃	F1~F6	0.301 2~0.835 4	0.298 9~0.833 1	0.283 8~0.818 0	0.273 9~0.808 1	0.258 3~0.792 5	0.238 8~0.773 0	0.203 7~0.737 9

表9 洋川芎内酯A含量测定结果(n=3, %)

Tab 9 Results of content determination of senkyunolide A(n=3, %)

包装材料	贮藏温度	编号	0个月	1个月	2个月	3个月	4个月	5个月	6个月
聚丙烯编织袋	室温	A1~A6	0.645 1~2.112 7	0.600 9~2.007 2	0.550 4~1.883 3	0.434 6~1.675 4	0.342 5~1.440 9	0.224 2~1.197 7	0.182 6~1.133 3
	15 ℃	B1~B6	0.645 1~2.112 7	0.618 8~2.093 9	0.576 5~1.997 6	0.543 6~1.964 7	0.498 7~1.919 8	0.459 8~1.880 9	0.408 4~1.829 5
	5 ℃	C1~C6	0.645 1~2.112 7	0.626 3~2.084 9	0.598 6~2.057 2	0.554 8~2.013 4	0.512 4~1.971 0	0.483 2~1.941 8	0.464 8~1.923 4
聚乙烯塑料袋	室温	D1~D6	0.645 1~2.112 7	0.608 3~2.075 9	0.582 9~2.050 5	0.537 1~2.004 7	0.488 2~1.955 8	0.456 7~1.924 3	0.436 5~1.904 1
	15 ℃	E1~E6	0.645 1~2.112 7	0.619 2~2.086 8	0.586 8~2.054 4	0.557 8~2.025 4	0.526 6~1.994 2	0.487 4~1.955 0	0.457 3~1.924 9
	5 ℃	F1~F6	0.645 1~2.112 7	0.623 3~2.090 9	0.602 2~2.069 8	0.579 2~2.046 8	0.538 4~2.00 6	0.502 3~1.969 9	0.478 3~1.945 9

表10 正丁基苯酞含量测定结果(n=3, %)

Tab 10 Results of content determination of n-butylphthalide(n=3, %)

包装材料	贮藏温度	编号	0个月	1个月	2个月	3个月	4个月	5个月	6个月
聚丙烯编织袋	室温	A1~A6	0.034 9~0.098 3	0.032 5~0.094 1	0.029 8~0.091 0	0.023 5~0.079 8	0.018 5~0.068 1	0.012 1~0.058 2	0.009 9~0.055 0
	15 ℃	B1~B6	0.034 9~0.098 3	0.033 7~0.097 1	0.030 2~0.093 6	0.026 7~0.090 1	0.022 7~0.086 1	0.018 3~0.081 7	0.013 9~0.082 7
	5 ℃	C1~C6	0.034 9~0.098 3	0.034 0~0.097 4	0.032 8~0.096 2	0.030 9~0.943 0	0.028 7~0.092 1	0.026 3~0.089 7	0.023 5~0.086 7
聚乙烯塑料袋	室温	D1~D6	0.034 9~0.098 3	0.033 2~0.096 6	0.030 8~0.094 2	0.023 9~0.087 3	0.019 5~0.082 9	0.015 0~0.078 9	0.010 1~0.074 0
	15 ℃	E1~E6	0.034 9~0.098 3	0.032 7~0.096 1	0.031 8~0.095 2	0.029 3~0.092 7	0.027 4~0.090 8	0.025 3~0.088 7	0.022 9~0.086 3
	5 ℃	F1~F6	0.034 9~0.098 3	0.034 1~0.097 5	0.032 9~0.096 3	0.030 8~0.094 2	0.029 1~0.092 5	0.027 9~0.091 3	0.026 0~0.089 7

表11 Z-藁本内酯含量测定结果(n=3, %)

Tab 11 Results of content determination of Z-ligustilide(n=3, %)

包装材料	贮藏温度	编号	0个月	1个月	2个月	3个月	4个月	5个月	6个月
聚丙烯编织袋	室温	A1~A6	1.991 2~3.176 2	1.844 2~3.068 6	1.712 2~2.942 2	1.456 1~2.730 0	1.138 1~2.490 8	0.754 9~2.224 9	0.614 9~2.165 7
	15 ℃	B1~B6	1.991 2~3.176 2	1.963 1~3.148 1	1.931 4~3.116 4	1.876 5~3.061 5	1.789 3~2.974 3	1.674 3~2.859 3	1.583 9~2.768 9
	5 ℃	C1~C6	1.991 2~3.176 2	1.987 3~3.172 3	1.963 8~3.148 8	1.938 3~3.123 3	1.921 0~3.106 0	1.898 8~3.083 8	1.892 3~3.077 3
聚乙烯塑料袋	室温	D1~D6	1.991 2~3.176 2	1.897 3~3.082 3	1.782 0~2.967 0	1.462 9~2.647 9	1.238 2~2.423 2	1.109 3~2.294 3	1.084 3~2.269 0
	15 ℃	E1~E6	1.991 2~3.176 2	1.978 2~3.163 2	1.932 8~3.117 8	1.892 7~3.076 1	1.840 3~3.023 7	1.794 8~2.978 2	1.763 8~2.947 2
	5 ℃	F1~F6	1.991 2~3.176 2	1.976 3~3.161 3	1.968 2~3.153 2	1.951 8~3.136 8	1.938 3~3.123 3	1.926 4~3.111 4	1.918 4~3.103 4

表12 丁烯基苯酐含量测定结果($n=3, \%$)Tab 12 Results of content determination of *n*-butylidenephthalid ($n=3, \%$)

包装材料	贮藏温度	编号	0个月	1个月	2个月	3个月	4个月	5个月	6个月
聚丙烯编织袋	室温	A1~A6	0.020 3~0.036 9	0.018 9~0.035 6	0.017 3~0.034 2	0.013 7~0.031 7	0.010 8~0.028 9	0.007 1~0.025 8	0.005 7~0.025 2
	15℃	B1~B6	0.020 3~0.036 9	0.019 1~0.035 7	0.017 6~0.034 2	0.015 3~0.031 9	0.014 2~0.030 8	0.012 5~0.029 1	0.009 5~0.026 1
	5℃	C1~C6	0.020 3~0.036 9	0.019 6~0.036 2	0.018 0~0.034 6	0.016 8~0.033 4	0.015 7~0.032 3	0.014 5~0.031 1	0.013 6~0.029 2
聚乙烯塑料袋	室温	D1~D6	0.020 3~0.036 9	0.019 0~0.035 7	0.018 2~0.034 9	0.015 8~0.032 5	0.013 3~0.030 2	0.010 9~0.027 8	0.008 9~0.025 8
	15℃	E1~E6	0.020 3~0.036 9	0.019 5~0.036 2	0.018 6~0.035 3	0.016 5~0.033 2	0.014 0~0.030 9	0.012 2~0.028 1	0.010 9~0.027 8
	5℃	F1~F6	0.020 3~0.036 9	0.019 8~0.036 4	0.018 9~0.035 6	0.017 7~0.034 4	0.016 8~0.033 5	0.015 5~0.031 6	0.014 7~0.030 8

3 讨论

苯酐类、生物碱类和酚酸类化合物是川芎的主要活性成分,其中苯酐类化合物主要包括 Z -藁本内酯、 E -藁本内酯,洋川芎内酯A~N、Q~S,正丁基苯酐,6-羟基洋川芎内酯B,芎苷A、B,藁本内酯苷,藁本内酯苷B等;酚酸类化合物主要包括阿魏酸、没食子酸、3-甲氧基-4-羟基苯乙烯、绿原酸、阿魏酸松柏酯、叶酸等;生物碱类化合物主要包括川芎嗪、 L -异丁基- L -缬氨酸酐、 L -缬氨酸- L -缬氨酸酐等^[3,6-7]。苯酐类化合物具有平喘^[8]、抗血小板聚集^[9]、镇痛^[10]、抗血栓形成和抗细胞肿瘤增殖作用^[11]。阿魏酸可显著改善血液流动性、抑制血小板聚集和预防血栓形成^[12];绿原酸能降低心血管疾病的发生风险^[13]。川芎嗪具有抗血小板聚集、扩张血管、抗门静脉高血压等作用,但因其药材中含量甚微,故有研究认为川芎嗪不能作为川芎质量控制的指标性成分^[14-15],但本研究将其作为指标性成分进行检测,以为该成分是否能作为川芎质量控制的指标提供依据。

本研究结果发现,贮藏温度对川芎化学成分有重要影响,是影响川芎质量变化的主要因素之一。当药材样品于5℃和15℃条件下贮藏时,无明显变质现象,但在室温条件下贮藏时,药材样品发生虫蛀或霉变。室温条件下聚丙烯编织袋包装样品于贮藏3个月后开始发生虫蛀,聚乙烯塑料袋包装的部分样品于贮藏3个月后开始发生霉变(D2、D3)。在贮藏过程中,绿原酸、川芎嗪、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、正丁基苯酐、 Z -藁本内酯、丁烯基苯酐的含量均呈下降趋势,且贮藏温度越高,下降越快;不同贮藏温度下降速率为5℃<15℃<室温,样品虫蛀及霉变后,各成分含量下降速率明显加快。不同包装材料下降速率为聚乙烯塑料袋<聚丙烯编织袋。因此,建议药材样品密封包装后于干燥、阴凉处贮藏,且贮藏时间不宜过长。

本研究结果还显示,霉变使样品中各成分含量显著下降,严重影响川芎的质量。贮藏0~1个月后,部分样品中阿魏酸和绿原酸总量略微上升,其原因可能为阿魏酸含量增加所致。有研究报道,阿魏酸松柏酯在一定条件下能水解产生阿魏酸^[16-17]。推测这可能是阿魏酸含量上升的重要原因,但具体机制有待进一步研究。本研究仅对不同温度及包装材料进行了考察,后续还需结合不同的环境因素来确定贮藏条件与品质动态变化的规律,以建立川芎贮藏预警模型,为减少川芎资源浪费以及保障安全用药提供依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:38.
- [2] 蒲忠慧,蒙春旺,周彦希,等.川芎化学成分研究[J].中药材,2016,39(11):2529-2531.
- [3] 韩炜.川芎的化学成分与药理作用研究进展[J].中国现代中药,2017,19(9):1341-1349.
- [4] 金玉青,洪远林,李建蕊,等.川芎的化学成分及药理作用研究进展[J].中药与临床,2013,4(3):44-48.
- [5] 郑潇潇,李泞汐,余梅,等.虫蛀川芎挥发油成分GC-MS研究[J].中药与临床,2017,8(3):7-10.
- [6] LI LJ, SU YF, YAN SL. Three new phthalide glycosides from the rhizomes of *Ligusticum chuanxiong*[J]. *Phytochemistry Letters*, 2016. DOI:org/10.1016/j.phytol.2016.05.013.
- [7] 张玲,刘友平,李旻,等.川芎化学成分分离鉴定与藁本内酯的含量测定[J].中国药房,2010,21(15):1381-1383.
- [8] 李玲.藁本内酯对猪冠状动脉舒张作用机理探讨及药理学研究[D].兰州:兰州大学,2014.
- [9] LIAN Z, DU JR, JIN W, et al. Z -ligustilide extracted from *Radix Angelica sinensis* decreased platelet aggregation induced by ADP ex vivo and arterio-venous shunt thrombosis in vivo in rats[J]. *Yakugaku Zasshi*, 2014, 134(3):855-859.
- [10] DU J, YU Y, KE Y, et al. Ligustilide attenuates pain behavior induced by acetic acid or formalin[J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 112(1):211-214.
- [11] LU Q, QIU TQ, YANG H. Ligustilide inhibits vascular smooth muscle cells proliferation[J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 542(1/3):136-140.
- [12] 赵润英,郝伟,孟祥军,等.阿魏酸川芎嗪抗血栓形成作用及其对血小板中性粒细胞黏附的影响[J].中国医科大学学报,2012,41(10):900-903.
- [13] 张晓琳,徐金娣,朱玲英,等.中药川芎研究新进展[J].中药材,2012,35(10):1706-1711.
- [14] 蒋跃绒,陈可冀.川芎嗪的心脑血管药理作用及临床应用研究进展[J].中国中西医结合杂志,2013,33(5):707-711.
- [15] 姜宇懋,王丹巧.川芎嗪药理作用研究进展[J].中国现代中药,2016,18(10):1364-1370.
- [16] 王涛,林良斌,张巧玲,等.川芎晒干过程中阿魏酸和阿魏酸松柏酯含量的变化[J].植物科学学报,2015,33(2):259-263.
- [17] 李韶菁,张迎春,苏培瑜,等.阿魏酸松柏酯的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(3):229-231.

(收稿日期:2018-08-03 修回日期:2018-12-24)

(编辑:陈宏)