

产地加工炮制一体化对川芎饮片化学成分的影响研究^Δ

吴情梅^{1*}, 刘晓芬¹, 连艳¹, 陈玲¹, 黄凤¹, 彭成¹, 杨晨¹, 黄维², 蒋桂华^{1#} (1. 成都中医药大学中药材标准化重点实验室/中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137; 2. 都江堰申都中药有限公司, 四川 都江堰 611830)

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)06-0686-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.06.10

摘要 目的:探讨产地加工与饮片炮制一体化(以下简称“一体化”)对川芎饮片化学成分的影响。方法:收集四川都江堰、彭州两地的鲜川芎,除去杂质和非药用部位后,经淋洗、阴干(至含水量约28%)、切片、干燥制得川芎一体化饮片;经阴干、加水闷润(至透心)、切片、干燥制得传统饮片。建立两种饮片各10批样品的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,色谱柱为WondaSil C₁₈,流动相为1%甲酸水溶液-乙腈(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,柱温为30℃,检测波长为285 nm,进样量为10 μL。以洋川芎内酯A为参照,绘制20批药材样品的HPLC指纹图谱;采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A版)》进行相似度评价,确定共有峰。按上述色谱条件测定两种饮片中绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯A的含量,采用单因素方差分析进行组间比较。结果:20批药材样品HPLC指纹图谱的相似度均大于0.900;共有16个共有峰,指认其中7个依次为绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯I、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯A、正丁基苯酚、藜本内酯。绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯A检测质量浓度的线性范围分别为0.008~0.200 mg/mL($r=0.999\ 9$)、0.010~0.140 mg/mL($r=0.999\ 2$)、0.100~0.600 mg/mL($r=0.999\ 3$);定量限分别为0.002 8、0.000 6、0.005 0 mg/mL,检测限分别为0.000 8、0.000 1、0.001 0 mg/mL;精密性、重复性、稳定性试验的RSD均小于3%,平均加样回收率为96.27%~102.02%(RSD<2%, $n=6$)。川芎一体化饮片和传统饮片中上述成分的含量分别为(1.677 0±0.311 0)、(1.562 7±0.124 5)、(9.494 0±1.351 3)mg/g和(1.300 2±0.469 2)、(1.388 0±0.209 9)、(9.811 7±1.098 9)mg/g,组间比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论:川芎一体化饮片和传统饮片各批样品化学成分的一致性良好,且一体化加工不影响饮片中绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯A等指标性成分的含量,该工艺具有一定的可行性。

关键词 川芎;一体化饮片;传统饮片;指纹图谱;含量测定;高效液相色谱法

甲醇和乙醇发生酯化反应,生成4-羟基-2-氧代-1-吡咯烷乙酸甲酯和4-羟基-2-氧代-1-吡咯烷乙酸乙酯,所以控制奥拉西坦酸的含量显得尤为重要。

综上所述,奥拉西坦酸为奥拉西坦胶囊中的主要杂质;制备纯化后获得的奥拉西坦酸精制品含量达到99.5%,可以满足作为对照品的要求;所建立的超高效二维液相色谱-离子阱-飞行时间质谱法能准确定位杂质奥拉西坦酸的出峰位置并对其进行结构分析,且相应的含量测定方法能较好地分离杂质与主药及其他成分,灵敏度、精密性、重复性、稳定性、准确性均良好,符合2015年版《中国药典》要求^[9]。因此,采用单一杂质外标法测定奥拉西坦酸的含量,并结合自身对照法测定其他杂质,可较好地跟踪测定生产制备过程中的中间体、控制奥拉西坦胶囊的成品质量。

参考文献

[1] 张倩倩.奥拉西坦治疗卒中后认知功能障碍的有效性及其

Δ 基金项目:国家科技部科技基础专项课题(No.2015FY111500-140)

* 硕士研究生。研究方向:中药品种、质量及资源开发。电话:028-61800237。E-mail:936745086@qq.com

通信作者:教授,博士生导师,博士。研究方向:中药品种、质量及资源开发。电话:028-61800600。E-mail:11469413@qq.com

安全性探析[J].健康之路,2016,15(5):119-120.

- [2] 金磊,李博,叶雷,等.奥拉西坦的临床前药理学研究[J].中国临床药理学与治疗学,2011,16(3):354-360.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:354-356,374-378.
- [4] 国家食品药品监督管理局.WS-1005(X-750)-2002 奥拉西坦:试行[S].2003-01-28.
- [5] 国家食品药品监督管理局.YBH06612003 奥拉西坦:试行[S].2003-09-27.
- [6] 国家食品药品监督管理局.YBH06622003 奥拉西坦胶囊:试行[S].2003-09-27.
- [7] 沈保家,秦昆明,刘启迪,等.二维色谱技术及其在中药领域中的应用[J].中国科学(化学),2013,43(11):1480-1489.
- [8] 李郭帅,马阳,耿婷,等.超高效二维液相色谱法测定复方南星止痛膏中双酯型乌头生物碱的含量[J].药物分析杂志,2019,39(2):249-256.
- [9] 张毅,陈瑞,汤磊.两个奥拉西坦杂质的合成[J].化学研究与应用,2018,30(4):602-604.
- [10] 吴福鸿,李兆林,杨亚军.奥拉西坦的合成工艺改进[J].石油化工应用,2018,37(7):117-119.

(收稿日期:2019-08-01 修回日期:2019-02-12)

(编辑:段思怡)

Study on the Effects of the Integration of Field Processing and Decoction Piece Processing on Chemical Composition of *Ligusticum chuanxiong* Decoction Pieces

WU Qingmei¹, LIU Xiaofen¹, LIAN Yan¹, CHEN Ling¹, HUANG Feng¹, PENG Cheng¹, YANG Chen¹, HUANG Wei², JIANG Guihua¹ (1. Key Laboratory of Standardization of Chinese Medicinal Materials/State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research and Development of Traditional Chinese Medicine Resources, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 2. Dujiangyan Shendu Traditional Chinese Medicine Co., Ltd., Sichuan Dujiangyan 611830, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effects of the integration of field processing and decoction piece processing (hereinafter called "Integration" for short) on chemical composition of *Ligusticum chuanxiong* decoction pieces. METHODS: Fresh *L. chuanxiong* were collected from Dujiangyan and Pengzhou of Sichuan; integrated decoction pieces of *L. chuanxiong* were prepared after washing, drying in the shade (to about 28% moisture content), slicing and drying; traditional decoction pieces was prepared after drying in the shade, adding water to moisten (to the core), slicing and drying. HPLC fingerprints of two kinds of decoction pieces samples (with 10 batches in each type) were established. The determination was performed on WondaSil C₁₈ column with mobile phase consisted of 1% formic acid solution-acetonitrile (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was 30 °C. The detection wavelength was set at 285 nm, and the sample size was 10 μL. Using ligusticolide A as reference, HPLC fingerprints of 20 batches of samples were drawn. The similarity of the fingerprints was evaluated with *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of TCM* (2004A edition), and then common peaks were confirmed. The contents of chlorogenic acid, ferulic acid and ligusticolide A were determined by above chromatographic condition. Single factor variance analysis was performed for comparison of the contents. RESULTS: The similarity of HPLC fingerprints among 20 batches of samples was above 0.900. A total of 16 common peaks were determined, 7 of which were chlorogenic acid, ferulic acid, ligusticolide I, pine cypress ferulate, ligusticolide A, *n*-butylphthalide and ligustilide, respectively. The linear range of chlorogenic acid, ferulic acid and ligusticolide A were 0.008-0.200 mg/mL ($r=0.999\ 9$), 0.010-0.140 mg/mL ($r=0.999\ 2$) and 0.100-0.600 mg/mL ($r=0.999\ 3$); the limits of quantification were 0.002 8, 0.000 6 and 0.005 0 mg/mL, respectively; the limits of detection were 0.000 8, 0.000 1 and 0.001 0 mg/mL, respectively; RSDs of precision, reproducibility and stability tests were all lower than 3%, and average recoveries were 96.27% -102.02% (RSD<2%, $n=6$). The contents of above compositions in the integrated decoction pieces and traditional decoction pieces were (1.677 0±0.311 0), (1.562 7±0.124 5), (9.494 0±1.351 3) mg/g and (1.300 2±0.469 2), (1.388 0±0.209 9), (9.811 7±1.098 9)mg/g, respectively; there was no statistical significance between 2 groups ($P>0.05$). CONCLUSIONS: The chemical composition of each batch of samples of *L. chuanxiong* integrated decoction pieces and traditional decoction pieces is consistent, and the content of index components as chlorogenic acid, ferulic acid and ligusticolide A in the decoction pieces is not affected by the integration processing. This process is feasible to a certain extent.

KEYWORDS *Ligusticum chuanxiong*; Integrated decoction piece; Traditional decoction piece; Fingerprint; Content determination; HPLC

中药饮片是中医临床用药的基本形式之一,其既是中成药的重要原料,也是关系整个中药产业发展的关键环节,因此饮片质量的优劣将直接影响临床疗效^[1]。近年来,国家加大了对中药饮片质量的管理,但有效成分含量不足等问题仍层出不穷,主要与药材浸泡时间不当等产地加工、饮片炮制不规范有关^[2]。为保障中药饮片质量,解决因交叉重复、加工操作繁琐以及无量化指标等问题,有学者提出了中药产地加工与饮片炮制一体化(以下简称“一体化”)的概念^[1-2]。目前,中药一体化的加工形式主要包含两种,一种为趁鲜将药材切片或切段,干燥后包装;另一种则是将切制前移至加工环节,即蒸煮后再切制或半干切制,干燥后包装。相关研究指出,黄柏^[3]、何首乌^[4]、知母^[5]、香薷^[6]、白芍^[7]、苦参^[8]、板蓝根^[9]等药材的一体化加工均具有可行性。

川芎为伞形科植物川芎(*Ligusticum chuanxiong* Hort.)的干燥根茎,其味辛、性温,具活血行气、祛风止痛

之效,因其善治各种原因导致的头痛,被誉为治头痛之“要药”^[10-11]。该药主产于四川都江堰、彭州等地,是川产道地药材,在临床上应用广泛^[12]。川芎传统的加工方法需将鲜川芎完全干燥,得川芎药材,然后将川芎药材浸润、切片、干燥后,制成川芎饮片。由此可见,川芎从鲜药到饮片需1次水处理和2次干燥过程^[13]。由于川芎中的有效成分多为水溶性成分,在浸润过程中易导致成分损失而影响药效,再加之整个加工过程周期长,容易造成二次污染^[14]。因此,有必要开展川芎一体化研究以减少有效成分损失、提升饮片质量。有研究指出,川芎中的有机酸类和苯酞类成分为其活性成分,其中绿原酸具有保护心血管、抗菌等作用,阿魏酸具有保护血管、抗氧化等功效,洋川芎内酯具有舒张血管、抗氧化等作用^[15-19]。本课题组在前期川芎产地加工炮制一体化研究的基础上,以上述3种成分作为指标成分,比较一体化加工和传统加工所得饮片指标成分含量的差异,旨在为川

芎饮片产地加工炮制一体化的应用提供依据。

1 材料

1.1 仪器

1200 型高效液相色谱(HPLC)仪(美国 Agilent 公司);CTD-CT 型热风循环烘箱(成都通达干燥设备有限公司);SC-10 型水分测定仪(上海良平仪器仪表有限公司);QJXC-200BT 型转盘式切药机、XS-750 型循环水洗药机(杭州海善制药设备股份有限公司);BP121S 型万分之一电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];DZG-6090 型真空干燥箱(上海森信实验仪器有限公司);KQ-50B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药材与试剂

10 批鲜川芎于 2018 年 5 月采收自四川都江堰和彭州,经成都中医药大学民族药学院蒋桂华教授鉴定为伞形科藁本属植物川芎(*L. chuanxiang* Hort.)的新鲜根茎,其样品信息来源见表 1。

表 1 鲜川芎样品信息来源

Tab 1 Information source of *L. chuanxiang* samples

批号	采收地	批号	采收地
201805001	都江堰	201805006	彭州
201805002	都江堰	201805007	彭州
201805003	都江堰	201805008	彭州
201805004	都江堰	201805009	彭州
201805005	都江堰	201805010	彭州

阿魏酸对照品(批号: MUST-17010908)购自成都曼斯特生物科技有限公司,绿原酸对照品(批号: CHB190121)、洋川芎内酯 A 对照品(批号: CHB180615)以及洋川芎内酯 I、阿魏酸松柏酯、正丁基苯酞、藁本内酯对照品(用于指纹图谱共有峰指认)均购自成都克洛玛生物科技有限公司,上述对照品的纯度均大于 98%。甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 饮片的制备

2.1.1 一体化饮片 取鲜川芎,除去杂质和非药用部位,快速淋洗后,置于阴凉通风处,阴干至含水量约 28%,切片(厚度约为 2 mm),50 °C 鼓风干燥 6~8 h,筛去碎屑,即得。共制备川芎一体化饮片 10 批,依次编号为 Y1~Y10。

2.1.2 传统饮片 取鲜川芎,除去杂质和非药用部位,置于阴凉通风处阴干,得川芎药材。将上述川芎药材快速淋洗,洗去泥沙等杂质,加水闷润至透心,切片(厚度约为 2~4 mm),干燥,筛去碎屑,即得^[1]。共制备川芎传统饮片 10 批,依次编号为 S1~S10。

2.2 色谱条件

色谱柱: WondaSil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~10 min, 15% B; 10~13 min, 15% B→30% B; 13~20 min,

30% B→45% B; 20~45 min, 45% B; 45~48 min, 45% B→55% B; 48~57 min, 55% B); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30 °C; 检测波长: 285 nm; 进样量: 10 μL。

2.3 混合对照品溶液的制备

取各对照品适量,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,制成绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯 A 质量浓度分别为 1.092、1.064、10.335 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 690、1 240、415 μL,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制得上述待测成分质量浓度分别为 0.075、0.132、0.429 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

取“2.1”项下各饮片适量,粉碎,过四号筛。取上述粉末约 1 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,加热回流 30 min,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.5 阴性对照溶液的制备

以甲醇为阴性对照溶液。

2.6 HPLC 指纹图谱的建立

2.6.1 精密度试验 取“2.4”项下供试品溶液(编号: S1)适量,按“2.2”项下色谱条件连续进样测定 6 次,以洋川芎内酯 A 为参照(S),记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果,16 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3% (n=6),表明本方法精密度良好。

2.6.2 稳定性试验 取“2.4”项下供试品溶液(编号: S1)适量,分别于室温下放置 0、2、4、8、12、24 h 时,按“2.2”项下色谱条件进样测定,以洋川芎内酯 A 为参照(S),记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果,16 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3% (n=6),表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定性良好。

2.6.3 重复性试验 取川芎饮片粉末(编号: S1)适量,共 6 份,按“2.4”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,以洋川芎内酯 A 为参照(S),记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果,16 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3% (n=6),表明本方法重复性良好。

2.6.4 指纹图谱的生成及共有峰的定位 分别取 10 批川芎一体化加工饮片和 10 批川芎传统加工饮片适量,按“2.4”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A 版)》对川芎一体化饮片和川芎传统饮片 HPLC 指纹图谱进行拟合,得对照图谱(R)。川芎一体化饮片和传统饮片指纹图谱对比见图 1,10 批川芎一体化饮片和 10 批川芎传统饮片 HPLC 叠加指纹图谱及对照图谱见图 2、图 3。

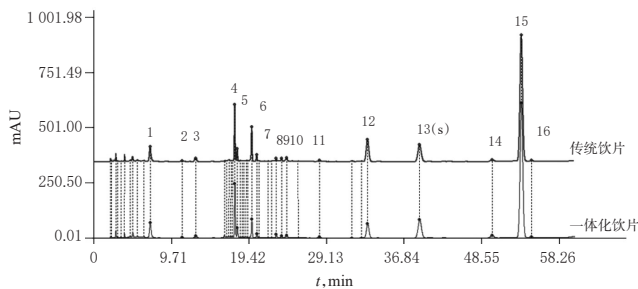


图1 川芎一体化饮片与传统饮片指纹图谱对比

Fig 1 Comparison of fingerprint between integrated and traditional decoction pieces of *L. chuanxiong*

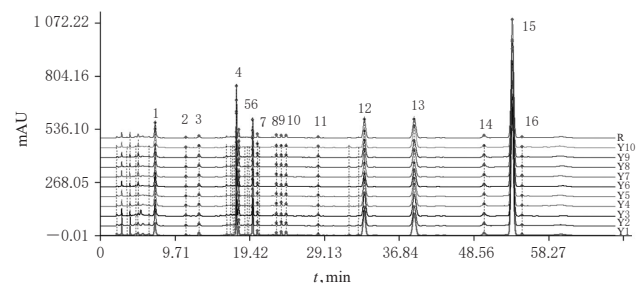


图2 10批川芎一体化饮片的HPLC叠加指纹图谱及对照图谱

Fig 2 HPLC superposition fingerprint and control chromatogram (R) of 10 batches of integrated decoction pieces of *L. chuanxiong*

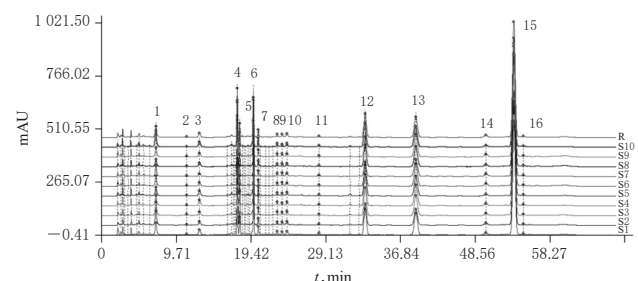


图3 10批川芎传统饮片的HPLC叠加指纹图谱及对照图谱

Fig 3 HPLC superposition fingerprint and control chromatogram (R) of 10 batches of traditional decoction pieces of *L. chuanxiong*

由图1~图3可见,10批一体化饮片和传统饮片均有16个共有峰,指认了其中7个共有峰,即1号峰为绿原酸,4号峰为阿魏酸,6号峰为洋川芎内酯I,12号峰为阿魏酸松柏酯,13号峰为洋川芎内酯A,14号峰为正丁基苯酚,15号峰为藁本内酯。其中,13号峰的峰面积相对较大,且峰形和分离度良好、出峰时间适宜,故选择13号峰为参照。

2.6.5 相似度评价 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A版)》对10批川芎一体化饮片和传统饮片的指纹图谱进行相似度评价。分别以Y1和S1为参照图谱,采用中位数法生成对照图谱后进行自动匹配,计算相似度。结果,10批川芎一体化饮片、10批川芎传统饮

片与其对照图谱的相似度均大于0.900,表明各批药材饮片的化学成分具有较好的一致性,详见表2。

表2 10批川芎一体化饮片和10批川芎传统饮片指纹图谱相似度评价结果

Tab 2 Evaluation results of fingerprint similarity of 10 batches of *L. chuanxiong* integrated decoction pieces and traditional decoction pieces

饮片	批号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	R
一体化饮片	Y1	1.000	0.999	0.999	0.998	0.998	0.996	0.997	0.998	0.998	0.995	0.999
	Y2	0.999	1.000	0.998	0.998	0.999	0.998	0.999	0.999	0.999	0.996	1.000
	Y3	0.999	0.998	1.000	0.999	0.999	0.995	0.996	0.997	0.997	0.997	0.998
	Y4	0.998	0.998	0.999	1.000	0.998	0.993	0.995	0.996	0.997	0.998	0.998
	Y5	0.998	0.999	0.999	0.998	1.000	0.997	0.998	0.998	0.998	0.997	0.999
	Y6	0.996	0.998	0.995	0.993	0.997	1.000	1.000	0.999	0.998	0.992	0.999
	Y7	0.997	0.999	0.996	0.995	0.998	1.000	1.000	1.000	0.999	0.993	0.999
	Y8	0.998	0.999	0.997	0.996	0.998	0.999	1.000	1.000	0.999	0.993	0.999
	Y9	0.998	0.999	0.997	0.997	0.998	0.998	0.999	0.999	1.000	0.995	0.999
	Y10	0.995	0.996	0.997	0.998	0.997	0.992	0.993	0.993	0.995	1.000	0.996
传统饮片	R	0.999	1.000	0.998	0.998	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.996	1.000
	S1	1.000	0.996	0.999	0.997	0.996	0.997	0.991	0.999	0.998	0.999	0.999
	S2	0.996	1.000	0.998	0.990	0.988	0.998	0.997	0.997	0.997	0.993	0.998
	S3	0.999	0.998	1.000	0.995	0.994	0.997	0.992	0.998	0.996	0.997	0.998
	S4	0.997	0.990	0.995	1.000	1.000	0.991	0.981	0.994	0.991	0.998	0.994
	S5	0.996	0.988	0.994	1.000	1.000	0.990	0.979	0.993	0.990	0.997	0.992
	S6	0.997	0.998	0.997	0.991	0.990	1.000	0.997	0.999	1.000	0.994	0.999
	S7	0.991	0.997	0.992	0.981	0.979	0.997	1.000	0.995	0.996	0.987	0.996
	S8	0.999	0.997	0.998	0.994	0.993	0.999	0.995	1.000	0.999	0.996	1.000
	S9	0.998	0.997	0.996	0.991	0.990	1.000	0.996	0.999	1.000	0.995	0.999
S10	0.999	0.993	0.997	0.998	0.997	0.994	0.987	0.996	0.995	1.000	0.996	
R	0.999	0.998	0.998	0.994	0.992	0.999	0.996	1.000	0.999	0.996	1.000	

2.7 川芎中3种成分的含量测定

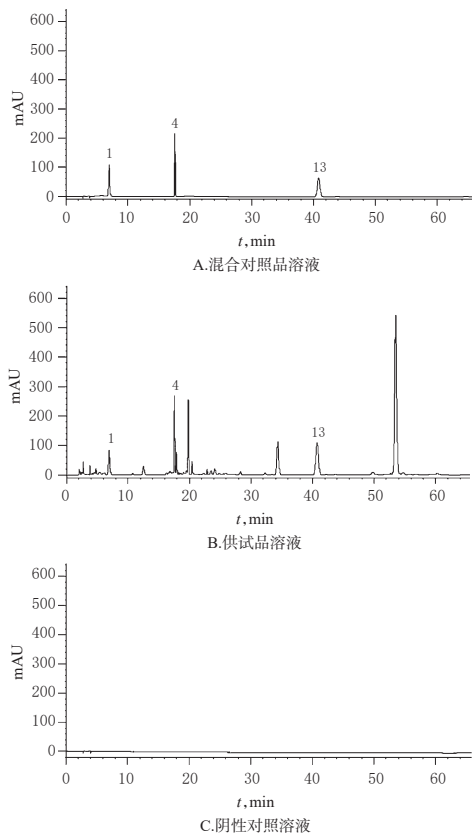
2.7.1 色谱条件 同“2.2”项。

2.7.2 溶液的制备 同“2.3”“2.4”“2.5”项。

2.7.3 专属性试验 取“2.7.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液(编号:S1)和阴性对照溶液各适量,按“2.7.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图4。由图4可见,各相邻色谱峰分离度良好,理论板数均大于6000,阴性对照无干扰,表明本法专属性良好。

2.7.4 线性关系考察 精密吸取“2.3”项下各单一对照品贮备液适量,置于同一量瓶中,用甲醇稀释,制得绿原酸质量浓度分别为0.008、0.060、0.080、0.120、0.200 mg/mL,阿魏酸质量浓度分别为0.010、0.040、0.080、0.120、0.140 mg/mL,洋川芎内酯A质量浓度分别为0.100、0.200、0.300、0.500、0.600 mg/mL的系列混合对照品溶液,按“2.7.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以各待测成分的质量浓度(x , mg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,结果见表3。

2.7.5 定量限与检测限考察 取“2.3”项下各单一对照品贮备液适量,用甲醇倍比稀释,按“2.7.1”项下色谱条件进样测定,以信噪比10:1、3:1分别计算定量限和检测限。结果,绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯A的定量限分别为0.0028、0.0006、0.0050 mg/mL,检测限分别为0.0008、0.0001、0.0010 mg/mL。



注:1.绿原酸;4.阿魏酸;13.洋川芎内酯A
Note: 1. chlorogenic acid; 4. ferulaic acid; 13. ligusticolide A

图4 高效液相色谱图

Fig 4 HPLC chromatograms

表3 回归方程与线性范围

Tab 3 Regression equation and linear range

待测成分	回归方程	r	线性范围,mg/mL
绿原酸	$y=17.287x-9.4244$	0.999 9	0.008~0.200
阿魏酸	$y=32.828x-12.477$	0.999 2	0.010~0.140
洋川芎内酯A	$y=8.120.5x-163.71$	0.999 3	0.100~0.600

2.7.6 精密度试验 取同一批供试品溶液(编号:S1),按“2.7.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯A峰面积的RSD分别为2.358%、1.068%、0.859%($n=6$),表明本方法精密度良好。

2.7.7 稳定性试验 取“2.7.2”项下供试品溶液(编号:S1)适量,分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时,按“2.7.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯A峰面积的RSD分别为2.618%、2.005%、0.735%($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.7.8 重复性试验 取川芎饮片粉末(编号:S1),共6份,按“2.7.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.7.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按标准曲线法计算样品中3种成分的含量。结果,绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯A的平均含量分别为1.071 2、1.581 4、10.531 3 mg/g, RSD分别为2.947%、2.865%、1.011%($n=6$),表明本方

法重复性良好。

2.7.9 加样回收率试验 取6份川芎饮片(编号:S1),粉碎,过四号筛。取上述粉末约0.5 g,精密称定,置于锥形瓶中,精密加入“2.3”项下各单一对照品贮备液适量,按“2.7.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.7.1”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、阿魏酸、洋川芎内酯A的平均加样回收率分别为96.27%、97.26%、102.02%,RSD分别为1.81%、1.77%、1.57%($n=6$)。

2.7.10 川芎饮片中3种成分定量测定 分别取川芎一体化饮片和传统饮片(编号:Y1~Y10、S1~S10),粉碎,过四号筛。取上述粉末约1.0 g,精密称定,按“2.7.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.7.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按标准曲线法计算其中绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯A的含量。各样品平行测定3次,结果见表4。采用SPSS 16.0软件对数据进行统计分析。各组数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表4 10批川芎一体化饮片和10批川芎传统饮片中3种成分的含量测定结果($n=3$,mg/g)

Tab 4 Determination results of the contents of 3 components in 10 batches of integrated and traditional decoction pieces of *L. chuanxiong* ($n=3$, mg/g)

川芎	编号	绿原酸	阿魏酸	洋川芎内酯A
一体化饮片	Y1	1.277 5	1.580 0	10.375 0
	Y2	1.567 5	1.587 5	9.180 0
	Y3	1.585 0	1.575 0	10.420 0
	Y4	2.107 5	1.712 5	10.577 5
	Y5	1.952 5	1.620 0	10.690 0
	Y6	1.407 5	1.422 5	8.370 0
	Y7	1.765 0	1.522 5	6.787 5
	Y8	1.720 0	1.545 0	8.555 0
	Y9	1.277 5	1.742 5	8.960 0
	Y10	2.110 0	1.320 0	11.025 0
	$\bar{x} \pm s$	$1.677 0 \pm 0.311 0$	$1.562 7 \pm 0.124 5$	$9.494 0 \pm 1.351 3$
传统饮片	S1	1.082 5	1.592 5	10.530 0
	S2	1.095 0	1.660 0	8.895 0
	S3	0.805 0	1.292 5	9.790 0
	S4	0.987 5	1.557 5	10.787 5
	S5	2.472 5	1.500 0	11.705 0
	S6	1.297 5	1.287 5	10.135 0
	S7	1.552 5	1.477 5	7.687 5
	S8	1.472 5	1.387 5	9.302 5
	S9	1.207 5	1.077 5	9.787 5
	S10	1.030 0	1.047 5	9.497 5
	$\bar{x} \pm s$	$1.300 2 \pm 0.469 2$	$1.388 0 \pm 0.209 9$	$9.811 7 \pm 1.098 9$

由表4可见,川芎一体化饮片中绿原酸、阿魏酸的平均含量略高于传统饮片,而洋川芎内酯A的平均含量略低于传统饮片,但组间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

川芎作为临床常用中药,其药材饮片质量的优劣将

直接影响临床疗效^[2]。本课题组前期进行了川芎一体化工艺研究,所得工艺只需将鲜川芎除去泥沙和非药用部位后阴干至半干(含水量约28%),切制、烘干即可获得饮片,整个加工过程仅需15 d;而传统加工方式则需将鲜川芎阴干至全干得川芎药材,将上述药材浸润至透心,再经切制、干燥得饮片,整个加工过程需1个月左右。从加工过程来看,传统加工过程更加复杂且耗时更长,主要是因为晾晒过程中,随着鲜川芎表面干燥程度的不断增加,其内部水分的流失速率则逐渐减缓,使得干燥过程更加耗时^[20]。与此同时,由于加工周期较长,川芎长时间暴露在空气中,受到二次污染的风险更高^[14]。因此,开展川芎一体化研究具有一定的现实意义。

本研究首次建立了川芎一体化饮片的HPLC指纹图谱,并采用HPLC法测定了饮片中绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯A的含量,同时将指纹图谱及指标成分含量与川芎传统饮片进行了比较。在定性、定量HPLC法建立的过程中,本课题组对不同色谱仪器(Agilent 1200型、Thermo Ultimate 3000型HPLC仪)、流动相体系(1%甲酸水溶液-甲醇、0.5%甲酸水溶液-乙腈、1%甲酸水溶液-乙腈、1%乙酸水溶液-乙腈、0.5%磷酸水溶液-乙腈)、检测波长(230、280、320 nm)等色谱条件的分离效果进行了比较,最终确定了“2.2”项的色谱条件。此外,本课题组还对供试品溶液制备过程中的提取方法(超声、回流)、提取溶剂(甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙腈)、提取时间(30、45、60 min)等进行了筛选。结果显示,乙腈回流提取所得供试品溶液中各成分的分离度较差且对应色谱峰数量较少;超声提取所得供试品溶液不稳定,其中阿魏酸和阿魏酸松柏酯之间易于转化;与75%甲醇浸提比较,甲醇回流提取所得供试品溶液的基线更为平稳,分离度更好且色谱峰信息更多。故最终选择以甲醇作为溶剂、回流提取30 min以制备供试品溶液。

本研究对川芎一体化饮片和川芎传统饮片的指纹图谱进行了比较分析。从对比结果可知,两种饮片各批样品的相似度均大于0.900,表明各批样品化学成分的一致性较好。川芎一体化饮片和川芎传统饮片中绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯A等3种成分的含量测定结果显示,川芎一体化饮片中绿原酸和阿魏酸平均含量略高于传统饮片,分析原因可能是由于传统川芎饮片需要经过浸润,在此环节易造成绿原酸、阿魏酸等水溶性成分的损失;而洋川芎内酯A成分含量略低于传统饮片,其具体原因有待进一步研究。但统计学结果显示,两种饮片中上述3种成分的含量比较差异均无统计学意义,表明两种饮片中有效成分含量较为接近。

综上所述,与传统工艺相比,一体化工艺操作简便、周期更短、成本更低,且绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯A等指标成分的含量不受影响,提示该一体化工艺可行。但本研究仅从化学成分含量的角度初步评价了川芎一体化工艺的可行性,后期仍有待开展两种工艺所得饮片

的药效学比较来进一步验证。

参考文献

- [1] 杨俊杰,李平,郝敏,等.中药材产地加工与炮制一体化的现代研究进展[J].中草药,2018,49(20):4726-4730.
- [2] 杨俊杰,李林,季德,等.中药材产地加工与炮制一体化的历史沿革与现代研究探讨[J].中草药,2016,47(15):2751-2757.
- [3] 张凡,吴琦,鞠成国,等.产地加工炮制一体化与传统黄柏饮片的化学成分比较研究[J].中草药,2018,49(20):4748-4752.
- [4] 李帅锋,丁安伟,张丽,等.何首乌产地加工与饮片炮制一体化工艺研究[J].中草药,2016,47(17):3003-3008.
- [5] 黄琪,贾鹏晖,吴德玲,等.知母产地加工与饮片炮制一体化工艺研究[J].中草药,2018,49(20):4760-4766.
- [6] 孙冬月,王馨雅,王晓婷,等.香薷产地加工炮制一体化与传统切制对肺阳虚大鼠作用比较[J].中国中药杂志,2018,43(12):2537-2542.
- [7] 徐建中,孙乙铭,俞旭平,等.杭白芍产地加工炮制一体化技术研究[J].中国中药杂志,2014,39(13):2504-2508.
- [8] 岳琳,王岚,刘颖,等.产地加工与饮片炮制一体化对苦参饮片主要功效的影响[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(12):23-27.
- [9] 王亚琦,葛秀允.板蓝根饮片产地加工炮制技术研究[J].中国药房,2018,29(5):656-658.
- [10] 郑琴,魏韶锋,熊文海,等.川芎在治疗头痛中成药中的组方应用分析[J].中草药,2013,44(19):2777-2781.
- [11] 黄检平,赵淑珍.川芎在治疗头痛中成药中的组方应用分析[J].当代医学,2018,24(7):93-95.
- [12] 周蔚昕,刘涛,刘钱,等.川芎饮片标准汤剂的HPLC及物理指纹图谱研究[J].中草药,2018,49(21):5107-5115.
- [13] 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,2015:40-41.
- [14] 李丽,张村,肖永庆,等.川芎饮片产地加工可行性探索[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(3):24-26.
- [15] CHEN Z, ZHANG C, GAO F, et al. A systematic review on the rhizome of *Ligusticum chuanxiong* Hort. (*Chuanxiong*) [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018. DOI: 10.1016/j.fct.2018.02.050.
- [16] 严永旺,肖兰,周旭,等.绿原酸的药理作用及药用研发对策[J].中国药房,2017,28(19):2729-2732.
- [17] 王立霞,王枫,陈欣,等.阿魏酸钠的心脑血管药理作用研究进展[J].中草药,2019,50(3):727-777.
- [18] 李静静,杨会鸽,范菲,等.川芎血清药物化学成分研究[J].化学与粘合,2017,39(4):307-309.
- [19] 张丽娟,刘继勇,姚翀,等.洋川芎内酯类化合物药理作用研究进展[J].中国药学杂志,2015,50(13):1081-1084.
- [20] 罗云云,康显杰,杨莹,等.产地鲜切加工与传统加工乌药饮片抗痛经药效比较研究[J].中草药,2018,49(20):4731-4736.

(收稿日期:2019-07-11 修回日期:2019-12-13)

(编辑:张元媛)