

川芎挥发油中内酯类成分的稳定性考察

朱林, 彭国平*, 李存玉, 郑云枫, 李红阳, 陈农, 王艺
(南京中医药大学药学院, 南京 210023)

[摘要] 目的:考察川芎挥发油中内酯类成分的稳定性。方法:采用 HPLC 分别于不同时间测定避光冷藏(4℃),室温避光(18~25℃),室温不避光条件下川芎挥发油中藁本内酯的含量,计算藁本内酯的降解速率常数,色谱条件为 Heder ODS-2 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-水(65:35),检测波长 273 nm,柱温 30℃,进样量 10 μL,流速 1 mL·min⁻¹。分析相同质量浓度下川芎内酯 A、丁基苯酞和丁烯基苯酞的峰面积变化。结果:在避光冷藏、室温避光、室温不避光 3 种条件下挥发油中藁本内酯的降解速率常数分别为 2.0×10⁻⁴,6.4×10⁻³,8.4×10⁻³;随贮存时间的延长,丁基苯酞和丁烯基苯酞含量逐渐升高,藁本内酯和川芎内酯 A 含量逐渐降低,且丁烯基苯酞含量升高幅度与藁本内酯含量降低幅度接近。结论:川芎挥发油宜避光<4℃贮存,主要成分在贮存过程中可相互转化。

[关键词] 川芎;挥发油;内酯类成分;藁本内酯;稳定性;转化

[中图分类号] R283.6;R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)20-0014-04

[doi] 10.11653/syjf2013200014

Investigation of Stability of Lactones in
Volatile Oil from Chuanxiong Rhizoma

ZHU Lin, PENG Guo-ping*, LI Cun-yu, ZHENG Yun-feng, LI Hong-yang, CHEN Nong, WANG Yi
(School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** To invesitgate stability of lactones in volatile oil from Chuanxiong Rhizoma. **Method:** The content of ligustilide at different times was determined by HPLC when volatile oil was put in refrigeration (4℃) avoiding light, room temperature (18-25℃) avoiding light and room temperature under light, respectively. degradation rate constant of ligustilide was calculated, chromatographic conditions were as follows: Heder ODS-2 column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), mobile phase of methanol-water (65:35), detection wavelength 273 nm, column temperature 30℃, injection volume 10 μL, flow rate 1 mL·min⁻¹. And analyzed peak area change of butylphthalide, 3-butyldenephthalide and senkyunolide A at the same concentration. **Result:** Under these three conditions, degradation rate constants of ligustilide in volatile oil were 2.0×10⁻⁴, 6.4×10⁻³, 8.4×10⁻³, respectively; With extension of storage time, contents of butylphthalide and 3-butyldenephthalide increased while ligustilide and senkyunolide A decreased, and increasing amplitude of 3-butyldenephthalide was close to reduction amplitude of ligustilide. **Conclusion:** Volatile oil from Chuanxiong Rhizoma should be stored below 4℃ avoiding light, and its components could transform into each other during storage.

[Key words] Chuanxiong Rhizoma; volatile oil; lactones; ligustilide; stability; conversion

川芎始载于《神农本草经》,性温味甘辛,具有活血化淤、行气止痛之功效,活性成分主要包括生物

[收稿日期] 20130319(019)
[基金项目] 康缘中医药科技创新基金项目(HZ1006KY);南京中医药大学中药学一级学科开放课题(2011ZYX3-008)
[第一作者] 朱林,硕士,从事川芎挥发油成分及质量标准研究,Tel:15951967314,E-mail:woshizhulin892008@163.com
[通讯作者] *彭国平,研究员,从事中药化学成分分离与分析研究,Tel:025-86798186,E-mail:guopingpeng@sohu.com

碱、挥发油和酚酸类等^[1-2]。挥发油是川芎活血化瘀、行气止痛的主要有效成分,药效物质主要为川芎内酯 A、丁基苯酞、藁本内酯、丁烯基苯酞等^[3-4]内酯类成分,其中藁本内酯含量(58.00%)最高^[5],但这些成分性质多不稳定,在室温条件下变化较大,温度和光是主要影响因素^[6]。本实验选择避光冷藏(4℃)、室温避光(18~25℃)和室温不避光 3 种贮存条件,计算藁本内酯在不同条件下降解速率常数,并分析相同质量浓度下川芎挥发油中川芎内酯 A、丁基苯酞和丁烯基苯酞色谱峰面积变化,综合评价川芎挥发油的稳定性,为确定合理的川芎挥发油贮存条件提供依据。

1 材料

1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),LIBROR AEL-40SM 型电子分析天平(日本 SHIMADZU 公司)。川芎(购于安徽亳州药材市场,经南京中医药大学吴启南教授鉴定为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎),藁本内酯对照品(自制,HPLC 测定纯度>98%),甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 川芎挥发油的制备 称取川芎适量,加 6 倍量水蒸馏提取 12 h,于改良油水分离器中加 1.5% 药材量的乙酸乙酯,以及时萃取出蒸馏液中挥发油^[7]。

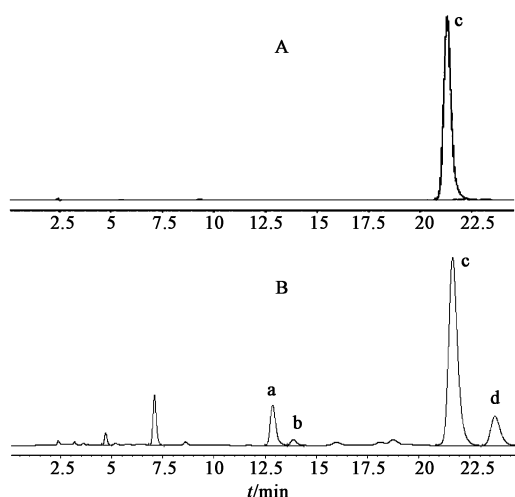
2.2 川芎挥发油的含量测定

2.2.1 色谱条件 Heder ODS-2 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-水(65:35),检测波长 273 nm,柱温 30℃,进样量 10 μL,流速 1 mL·min⁻¹,见图 1。

2.2.2 对照品溶液的制备 取藁本内酯对照品约 50 mg,精密称定,置 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 2.5 mL 置 25 mL 棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液(0.487 6 g·L⁻¹)。精密量取储备液 1 mL,置 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取川芎挥发油约 0.25 g,精密称定,置 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 1 mL,置 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。精密量取 1 mL,置 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 标准曲线考察 精密量取藁本内酯对照品贮备液,采用逐级稀释法配制系列对照品溶液,质量



A. 对照品;B. 供试品;a. 川芎内酯 A;
b. 丁基苯酞;c. 藁本内酯;d. 丁烯基苯酞

图 1 川芎挥发油 HPLC

浓度分别为 0.487 6, 0.243 8, 0.060 95, 0.030 48, 0.015 24 g·L⁻¹,按 2.2.1 项下色谱方法测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 17.693X + 6.134$ ($r = 0.999\ 9$),表明藁本内酯在 15.24~487.6 mg·L⁻¹与峰面积呈良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 取同一对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,结果峰面积的 RSD 0.59%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 分别取 2.2.2 项下对照品溶液和 2.2.3 项下供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 时测定,结果峰面积的 RSD 分别为 1.09%, 0.30%,表明藁本内酯在 2 种溶液中 10 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 取同一批号川芎挥发油,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液 6 份,按 2.2.1 项下色谱条件测定,结果挥发油中藁本内酯平均质量分数 59.39%,RSD 1.29%,表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取已知藁本内酯含量的川芎挥发油共 9 份,每份 125 mg,分为 3 组,精密称定,置 10 mL 棕色量瓶中,分别加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 1 mL,置 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。精密量取 1 mL,置 10 mL 棕色量瓶中,各组分别加入藁本内酯对照品贮备液 1.2, 1.5, 1.8 mL,用甲醇稀释至刻度,摇匀,按 2.2.1 项下色谱条件测定藁本内酯含量,结果平均回收率 101.68%,RSD 0.93%,见表 1。

2.2.9 样品测定 分别称取 3 批川芎挥发油各 0.25 g,精密称定,按 2.2.3 项下方法配制供试品溶液,测得藁本内酯质量分数分别为 59.40%,

表 1 川芎挥发油的藁本内酯加样回收率试验						
取样量 /mg	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
123.5	0.733 5	0.586 8	1.322 2	100.62	101.68	0.93
133.1	0.790 5	0.632 4	1.385 5	101.69		
128.6	0.763 8	0.611 0	1.353 7	100.82		
111.4	0.661 6	0.661 6	1.395 3	100.31		
112.5	0.668 1	0.668 1	1.413 3	101.89		
112.3	0.666 9	0.666 9	1.410 6	101.68		
134.2	0.797 0	0.956 4	1.696 9	102.53		
134.0	0.795 8	0.955 0	1.694 3	102.37		
134.6	0.799 4	0.959 3	1.704 9	103.17		

59.21% ,59.89%。

2.3 稳定性考察 取同一批号川芎挥发油,分成 3 份,分别置于避光冷藏(4℃),室温(18~25℃)避光,室温不避光条件下,于不同贮存时间点取样,按**2.2.3**项下方法配制供试品溶液,按**2.2.1**项下色谱条件测定藁本内酯含量,见表 2,根据一级动力学

表 3 不同条件下川芎挥发油中藁本内酯降解动力学参数			
贮存条件	降解速率方程	相关系数(R^2)	降解速率常数(k)
避光冷藏(4℃)	$Y = -0.000\ 2X - 0.001\ 6$	0.990 8	2.0×10^{-4}
室温避光(18~25℃)	$Y = -0.006\ 4X + 0.057\ 8$	0.967 0	6.4×10^{-3}
室温不避光	$Y = -0.008\ 4X - 0.004\ 2$	0.981 9	8.4×10^{-3}

注: $Y = \ln(C_X/C_0)$, X 为贮存天数, C_0 为川芎挥发油中藁本内酯的初始含量, C_X 为某一时间点川芎挥发油中藁本内酯含量。

由表 2 可知,在避光冷藏条件下贮存 12 m,川芎挥发油中藁本内酯质量分数仅降低约 7.5%。在室温避光和室温不避光条件下,分别不到 1 m 和 2 w 的时间,挥发油中藁本内酯质量分数即降低了约 10%。根据表 3 中参数,推算出在室温避光和室温不避光条件下,分别贮存约 25,12 d 后,挥发油中藁本内酯质量分数降低了约 10%,与实测值一致。

3 讨论

在避光冷藏条件下贮存,川芎挥发油中内酯类成分含量变化较小;在室温避光、室温不避光 2 种条件下贮存,各成分含量变化显著。表明温度对藁本内酯的降解起主要催化作用,光照可进一步加速其降解过程,因此川芎挥发油需<4℃避光保存。

表 4 数据显示,随贮存时间的延长,川芎内酯 A 和藁本内酯含量均逐渐降低,而丁基苯酞和丁烯基苯酞含量则均逐渐升高。结合成分的结构可知,川芎内酯 A 与藁本内酯都含有不饱和环结构,易于通过脱氢反应形成更加稳定的苯环结构,分别转化成

反应方程计算降解速率常数(贮存时间按天数计算),降解动力学参数见表 3。计算川芎内酯 A、丁基苯酞、藁本内酯和丁烯基苯酞的单位峰面积(川芎挥发油每 1 μg 进样量时成分色谱峰的峰面积),结果见表 4。

表 2 川芎挥发油中藁本内酯在不同贮存条件下、不同时间段的含量测定 %			
贮存时间	避光冷藏 (4℃)	室温避光 (18~25℃)	室温不避光
0 d	59.89	59.89	59.89
1 w	59.62	58.76	57.63
2 w	59.48	55.55	51.53
1 m	59.32	53.14	44.77
2 m	59.06	45.90	38.55
3 m	58.73	40.86	27.29
4 m	58.46	30.12	
6 m	57.87	18.10	
12 m	55.41		

注:当川芎挥发油中藁本内酯质量分数降至<30%时不再取样。

表 4 不同贮存条件下各主要成分色谱峰的单位峰面积					
贮存条件	t	川芎 内酯 A	丁基苯酞	藁本内酯	丁烯 基苯酞
避光冷藏 (4℃)	0 d	153.44	5.16	1 175.32	30.98
	1 w	153.26	5.19	1 170.05	31.12
	2 w	153.06	5.25	1 167.36	31.19
	1 m	152.84	5.34	1 164.03	31.28
	2 m	152.50	5.47	1 158.90	31.42
	3 m	151.86	5.53	1 152.54	31.58
	4 m	151.13	5.61	1 147.28	31.72
室温避光 (18~25℃)	6 m	150.47	5.76	1 135.63	32.03
	12 m	149.12	6.01	1 087.87	33.29
	0 d	153.44	5.54	1 175.32	30.98
	1 w	148.98	5.61	1 153.24	31.57
	2 w	146.22	5.91	1 089.96	33.23
	1 m	144.83	6.46	1 043.39	34.46
	2 m	142.38	7.20	903.81	38.18
	3 m	137.51	8.39	801.28	40.92

续表 4

贮存条件	<i>t</i>	川芎 内酯 A	丁基苯酞	藁本内酯	丁烯 基苯酞
室温不避光	4 m	134. 24	9. 78	591. 23	46. 84
	0 d	153. 44	4. 86	1 175. 32	30. 98
	1 w	147. 95	6. 25	1 064. 98	34. 01
	2 w	144. 10	4. 71	1 011. 23	35. 40
	1 m	140. 76	5. 18	878. 68	38. 85
	2 m	139. 65	7. 54	756. 82	41. 93
	3 m	133. 41	11. 18	536. 37	48. 04

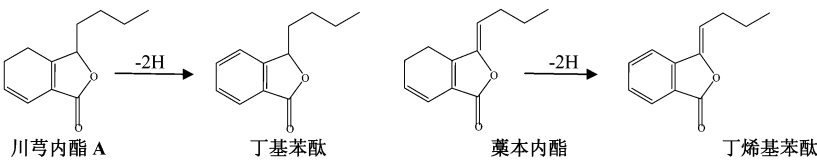


图 2 川芎内酯 A 与藁本内酯的降解途径

其含量变化。结合相同质量浓度时川芎内酯 A、丁基苯酞和丁烯基苯酞的峰面积变化,可综合评价川芎挥发油在不同条件下的稳定性,且结果准确、方法可行。

[参考文献]

[1] 原永芳,周践,郑晓梅,等. 超临界流体 CO₂ 萃取川芎挥发油化学成分的研究[J]. 中国药学杂志,2000,35(2):84.

[2] 刘纪云,王文彬. 川芎的研究进展[J]. 天津药学,1991,3(2):29.

[3] TANG Y P, ZHU M, YU S, et al. Identification and comparative quantification of bio-active phthalides in essential oils from Si-Wu-Tang, Fo-Shou-San, Radix Angelica and Rhizoma Chuanxiong [J]. Molecules,

丁基苯酞和丁烯基苯酞,与文献报道的川芎内酯 A 与藁本内酯的降解途径一致^[8-9],见图 2。通过分析各成分变化幅度还发现,丁烯基苯酞含量升高幅度与藁本内酯含量降低幅度接近,表明升高部分主要来自藁本内酯的转化,而丁基苯酞含量升高幅度远大于川芎内酯 A 含量降低幅度,表明川芎挥发油中某些其他成分在贮存过程中转化为丁基苯酞。

由表 3 可推算出在室温避光和室温不避光条件下,藁本内酯降解速率与试验测定的数据一致,表明建立的藁本内酯降解速率常数方程能真实地反应

2010,15(1):341.

[4] 王雪艳,郑晓晖,赵新锋,等. 川芎水提物中内酯类成分固相萃取工艺的优化[J]. 中成药,2010,32(4):589.

[5] 李其生,姚松林. 苯酞类成分的研究进展[J]. 江西中医学院学报,1996,8(1):46.

[6] 李松林,林鸽,钟凯声,等. 应用 HPLC-DAD-MS 联用技术研究中药川芎指纹图谱[J]. 药科学报,2004,39(8):621.

[7] 金灯萍,彭国平,陆晓峰. 川芎中藁本内酯对照品的制备[J]. 中草药,2006,37(1):64.

[8] 左爱华,王莉,肖红斌. 洋川芎内酯 A 和洋川芎内酯 I 的降解产物研究[J]. 中草药,2012,43(11):2127.

[9] 周长新,李新华. 藁本内酯的稳定性与溶剂化效应的关系[J]. 药科学报,2001,36(10):793.

[责任编辑 全燕]