

戊己丸方药配伍的对比

高源¹, 靳风云^{2*}, 杨正奕¹

(1. 贵州省食品药品检验所, 贵阳 550001; 2. 贵阳中医学院, 贵阳 550025)

[摘要] **目的:**研究戊己丸药味配伍的特征图谱及其化学成分的变化规律。**方法:**采用毛细管电泳(HPCE)与反相高效液相色谱法对不同拆方进行考察,毛细管电泳以 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硼砂缓冲液-甲醇(2:1)缓冲液为背景电解质,工作电压25 kV,压力进样 $5\text{ kPa}\times 15\text{ s}$,电解质封口 $5\text{ kPa}\times 10\text{ s}$,柱温 $15\text{ }^\circ\text{C}$ 。反相高效液相色谱法采用Agelapromosil C₁₈色谱柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μm),柱温 $25\text{ }^\circ\text{C}$,流速 $0.8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,流动相乙腈(A)- $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾(含0.1%磷酸)(B)进行梯度洗脱,检测波长230 nm,进样量5 μL 。采用撤药分析法对戊己丸进行研究,从定性定量两个角度进行评价,从整体上考察不同配伍情况方剂中化学成分的变化。**结果:**HPCE法确定了9个特征指纹峰,HPLC法确定27个特征指纹峰,其中黄连为该方君药,其生物碱类成分在不同配伍中变化较大;白芍中成分变化较小。**结论:**运用特征图谱技术结合定性、定量方法研究复方配伍,对复方新剂型的研制起到一定的指导作用。

[关键词] 戊己丸; 拆方研究; 特征图谱; 毛细管电泳

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)01-0027-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016010027

Comparison of Wuji Wan Prescriptions

GAO Yuan¹, JIN Feng-yun^{2*}, YANG Zheng-yi¹

(1. *Guizhou Institute for Food and Drug Control, Guiyang 550001, China;*

2. *Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China*)

[Abstract] **Objective:** To study the characteristic chromatogram of herbs in Wuji Wan and the change rules of the chemical components. **Method:** HPLC and HPCE method were used to study different separated prescriptions. The conditions for the capillary zone electrophoresis (CZE) method were $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Borax buffer-Methanol (2:1), constant voltage of 25 kV, pressure sampling under $5\text{ kPa}\times 15\text{ s}$, electrolyte sealing under $5\text{ kPa}\times 10\text{ s}$ and column temperature at $15\text{ }^\circ\text{C}$. Chromatographic experiments were performed on Agelapromosil C₁₈ column (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), with the mobile phase was acetomitrile (A) - $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ potassium dihydrogen phosphate (including 0.1% phosphoric acid) (B) by a gradient elution; the detection wavelength was 230 nm, column temperature was $25\text{ }^\circ\text{C}$, the flow rate was $0.8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. The withdrawal analytical method was used for a qualitative and quantitative evaluation on Wuji Wan, in order to study the changes in chemical components in different prescriptions. **Result:** HPCE and HPLC were used to confirm 9 and 27 characteristic fingerprint peaks. Coptidis Rhizoma was the main herb of the prescriptions, with great changes in alkaloids in different prescriptions and small changes in Paeoniae Alba Radix. **Conclusion:** The fingerprint technology and the qualitative and quantitative methods are combined to guide the development of new compound prescriptions.

[Key words] Wuji Wan; prescription separation study; specific chromatogram; HPCE; HPLC

[收稿日期] 20150124(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30860364)

[第一作者] 高源, 硕士, 主管药师, 从事药品质量检测工作, Tel:0851-86807163, E-mail: youaremygy@163.com

[通讯作者] *靳风云, 教授, 从事中药质量控制与新药开发工作, Tel:0851-5615344, E-mail: jinfengyun01@163.com

中药复方是中医药治疗的主要形式,是辨证论治法的具体体现,也是中医药的精髓和主流,由于现在人生活节奏加快,配方颗粒剂在临床悄然兴起,但其和传统复方汤剂之间孰优孰劣,需要进一步的研究与实验。邹丽娟等人的研究表明,黄连配伍吴茱萸可促进黄连中小檗碱和巴马汀的肠吸收,其机制可能与抑制 P-gp 的活性有关^[1],表明黄连与吴茱萸配伍使用可产生协同作用,比单味使用疗效更好。

本文选取的经方戊己丸最早见于宋代刘昉《幼幼新书》卷二十六,引《养生必用》(己遗)之方,其组成为吴茱萸、黄连、炒白芍,后又被记入宋代《太平惠民和剂局方》^[2],流传至今。现代亦可作汤剂,水煎服。主要用于肝火犯胃、肝脾不和所致的腹痛、泄泻、呕吐吞酸、胃脘灼热疼痛、口苦嘈杂等,根据已有的文献和研究表明^[3-10],黄连中生物碱具有抗菌、抗幽门螺旋杆菌感染、止泻的效果,而吴茱萸中的生物碱类成分又有保护胃黏膜、抗胃黏膜损伤等作用,白芍中的没食子酸、芍药苷类成分具有抗炎保肝的功效。

本文采用撤药分析法对戊己丸进行定性、定量研究,从整体和局部上考察不同配伍情况下方剂中化学成分的整体变化与含量差异,为进一步试验研究提供依据。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(包括 G1315A 型二元泵, G1315B 型二极管阵列检测器, G1313 型自动进样器, G1316A 型柱温箱, G1322A 型真空脱气机, Agilent-A. 08. 03 [847] 化学工作站)和 HP^{3D} CE 高效毛细管电泳仪(包括 DAD 检测器, 安捷伦化学工作站)均购自美国安捷伦公司, HS10260D 型超声波提取器(天津奥泰), DZF-6020NBE 型真空干燥箱(上海博迅实业有限公司), YNG-600-S 型远红外快速干燥箱(上海贺德实验设备有限公司), AE-240 型 1/1 万和 1/10 万双量程电子分析天平(梅特勒-托利多上海有限公司)。

乙腈, 甲醇为色谱纯, 硼砂为基准试剂, 磷酸二氢钾、磷酸均为分析纯, 水为娃哈哈纯净水。

盐酸小檗碱(批号 110713-200911), 盐酸药根碱(批号 733-9203), 盐酸巴马汀(批号 110732-200506), 芍药苷(批号 110736-200320), 没食子酸(批号 110831-200302), 绿原酸(批号 110753-200413)对照品均购自中国食品药品检定研究院, 去氢吴茱萸碱(自制, 经过¹H-NMR, ¹³C-NMR, ESI-MS, UV 验证与归一化法检测, 纯度 >98%)。

药材购自贵阳圣济堂药业有限公司, 制吴茱萸

(产地贵州, 批号 20081101) 为芸香科植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa*, 白芍(炒)(产地安徽, 批号 20090301) 为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* 的干燥根。黄连(产地四川, 批号 20090301) 为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* 的干燥根茎。药材均符合 2010 年版《中国药典》的规定。

2 方法和结果

2.1 供试品溶液的制备 戊己丸处方配比见表 1。样品编号为 S1 戊己丸全方, S2~S4 不同配伍药对, S5~S7 组方中单味药材。取戊己丸全方、单味药材、缺味组方均按传统汤剂煎煮方法煎煮:精密称取黄连 60 g, 白芍(炒)60 g 和吴茱萸(制)10 g, 加 6 倍量水(约至液面 3 cm)浸泡 20 min, 煎煮 3 次, 每次煮沸 30 min, 合并煎液, 300 目尼龙纱布过滤, 定容至 1 000 mL, 精密吸取 5 mL 汤剂至 10 mL 量瓶中, 再精密加入甲醇 5 mL, 称重, 超声 20 min, 用甲醇补足损失量, 过滤, 取续滤液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

表 1 戊己丸样品配伍

Table 1 Sample compatibility

No.	黄连	吴茱萸(制)	白芍(炒)
S1	60	10	60
S2	60	10	-
S3	60	-	60
S4	-	10	60
S5	60	-	-
S6	-	10	-
S7	-	-	60

2.2 对照品溶液的制备 取没食子酸 10.05 mg, 绿原酸 9.68 mg, 芍药苷 21.05 mg, 去氢吴茱萸碱 5.71 mg, 盐酸药根碱 9.97 mg, 盐酸巴马汀 12.22 mg, 盐酸小檗碱 0.472 2 mg 分别置于 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解定容, 制得质量浓度分别为 0.402, 0.387 2, 0.842, 0.206 8, 0.398 8, 0.488 8, 0.472 2 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

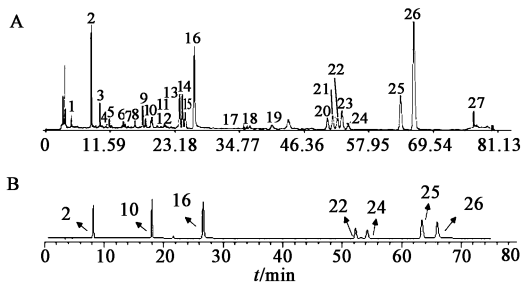
2.3 HPLC 色谱条件 Agela promosil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温 30 °C, 流速 0.8 mL·min⁻¹, 流动相乙腈(A)-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾(含 0.1% 磷酸)(B)梯度洗脱(0~15 min, 5%~15% A; 15~70 min, 15%~28% A; 70~75 min, 28%~50% A, 75~80 min, 50% A), 检测波长 230 nm, 进样量 5 μL。

2.4 HPCE 色谱条件 通过对背景电解质、检测波

长、柱温等电泳条件的优化,最终确定为空心石英毛细管柱(50 $\mu\text{m} \times 80 \text{ cm}$,有效长度 71.7 cm),DAD 检测器,50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硼砂缓冲液-甲醇(2:1)作为缓冲液,工作电压 25 kV,压力进样 5 kPa $\times 15 \text{ s}$,电解质封口 5 kPa $\times 10 \text{ s}$,柱温 15 $^{\circ}\text{C}$;每次进样前用缓冲液冲柱 10 min,分析时间 40 min。

2.5 戊己丸全方 HPLC 与 HPCE 指纹图谱的建立

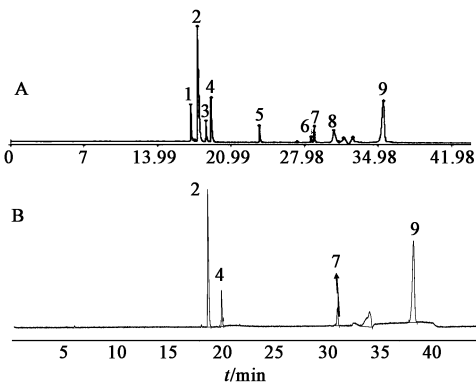
将戊己丸及其拆方供试品溶液分别进样,记录色谱图。戊己丸全方的 HPLC 指纹图谱,确定了 27 个特征指纹峰,16 号芍药苷色谱峰为参照峰。其余 2, 10, 22, 24, 25 和 26 号特征峰分别鉴定为没食子酸、绿原酸、盐酸药根碱、去氢吴茱萸碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱峰。见图 1。戊己丸全方的 HPCE 指纹图谱,确定了 9 个特征指纹峰,2 号盐酸小檗碱色谱峰为参照峰。其余 4, 7 和 9 号特征峰分别鉴定为盐酸巴马汀、盐酸药根碱、芍药苷。见图 2。



2. 没食子酸;10. 绿原酸;16. 芍药苷;22. 盐酸药根碱;24. 去氢吴茱萸碱;25. 盐酸巴马汀;26. 盐酸小檗碱

图 1 戊己丸全方 (A), 对照品 (B) HPLC

Fig. 1 HPLC Whole party and standard figure of Wuji Wan



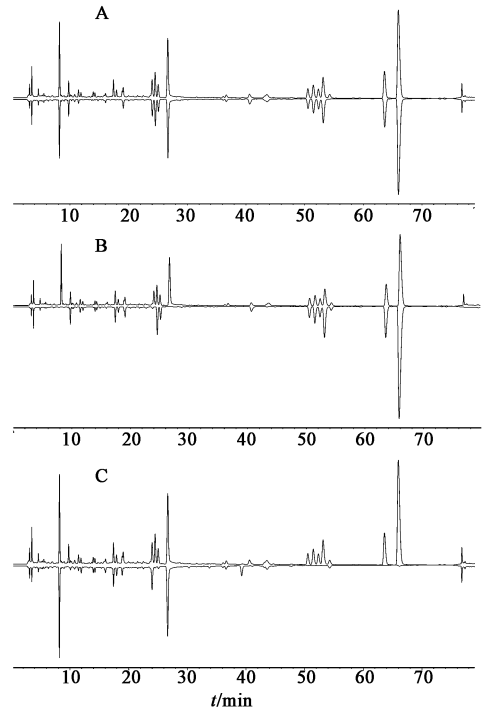
2. 盐酸小檗碱;4. 盐酸巴马汀;7. 盐酸药根碱;9. 芍药苷

图 2 戊己丸全方 (A), 对照品 (B) HPCE

Fig. 2 HPCE Whole party and standard figure of Wuji Wan

2.6 戊己丸与单味药材、拆方指纹图谱的比较 在对全方及拆方 HPLC 与 HPCE 指纹图谱进行比较时,采用镜像比对,上方为全方色谱图,下方为各拆

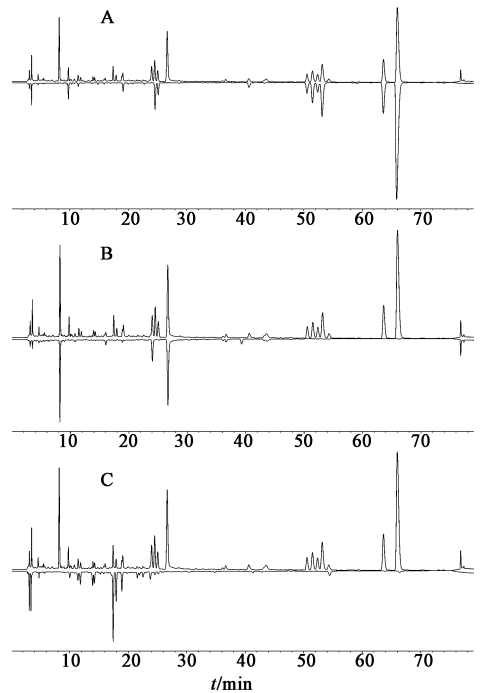
方的色谱图。见图 3 ~ 6。



A. 缺吴茱萸方;B. 缺白芍方;C. 缺黄连方

图 3 戊己丸全方与拆方 HPLC 比较

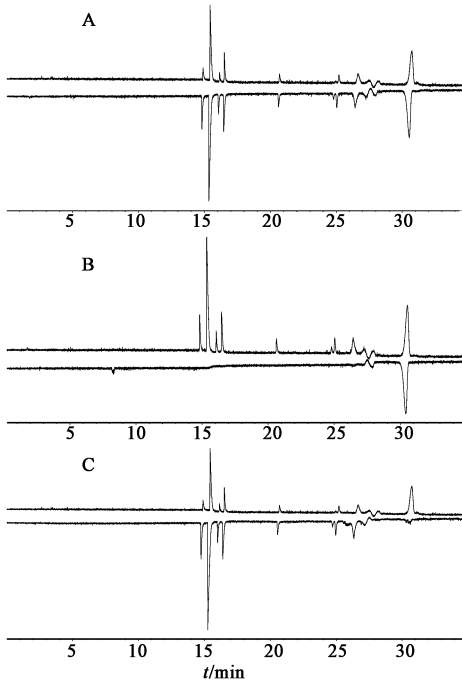
Fig. 3 Comparing of HPLC whole prescription and disassembled formulas



A. 黄连;B. 白芍;C. 吴茱萸

图 4 戊己丸全方与单味药材 HPLC 比较

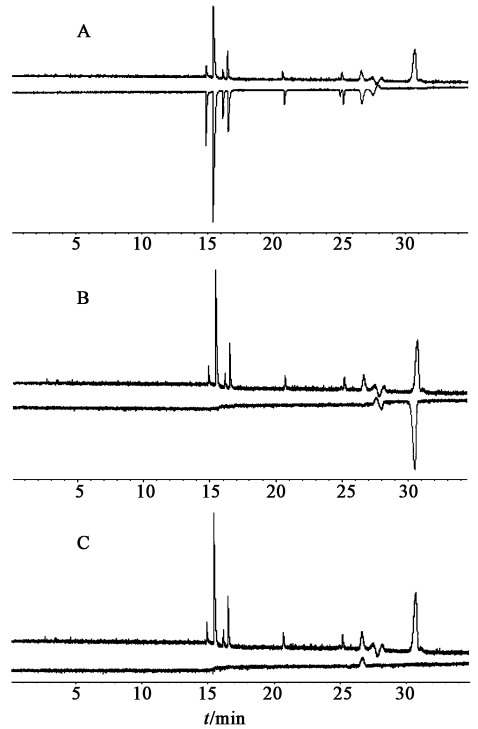
Fig. 4 Comparing of HPLC whole prescription and each herb



A. 缺吴茱萸方; B. 缺黄连方; C. 缺白芍方

图 5 戊己丸全方与拆方 HPCE 比较

Fig. 5 Comparing of HPCE whole prescription and disassembled formulas



A. 黄连; B. 白芍; C. 吴茱萸

图 6 戊己丸全方与单味药材 HPCE 比较

Fig. 6 Comparing of HPCE whole prescription and each herb

2.7 戊己丸全方、不同拆方汤剂与单味药材中 7 种成分的含量测定 戊己丸全方、不同拆方汤剂与

表 2 戊己丸及配伍中 7 种成分含量测定

Table 2 HPLC content determination result of Wuji Wan and compatibility

配方	绿原酸	芍药苷	盐酸药根碱	盐酸巴马汀	去氢吴茱萸碱	没食子酸	盐酸小檗碱
戊己丸全方	0.455	8.854	0.480	2.104	0.364	2.210	6.485
黄连 + 吴茱萸	0.428	-	0.624	2.725	0.416	-	9.573
黄连 + 白芍	-	8.709	0.510	2.082	-	1.669	6.610
吴茱萸 + 白芍	0.476	8.346	-	-	0.202	2.194	-
黄连	-	-	0.579	2.751	-	-	10.375
吴茱萸	0.405	-	0	0	0.296	-	-
白芍	-	8.523	0	0	-	2.019	-

表 3 戊己丸及配伍中 4 种成分 HPCE 含量测定

Table 3 HPLE content determination result of Wuji Wan and compatibility

配伍	盐酸小檗碱	盐酸巴马汀	盐酸药根碱	芍药苷
黄连单味	9.526	2.661	0.522	
白芍单味				10.292
黄连 + 吴茱萸	9.979	2.948	0.623	
白芍 + 吴茱萸				10.977
黄连 + 白芍	6.180	2.070	0.483	9.971
全方	6.032	2.004	0.420	9.974

单味药材经 HPLC 与 HPCE 测定, 4 种成分含量测定结果, 见表 2, 3。

3 讨论

根据已有的文献和研究表明, 黄连中生物碱具有抗菌、止泻的效果, 而吴茱萸中的生物碱类成分又有保护胃黏膜、抗胃黏膜损伤等作用, 白芍中的没食子酸、芍药苷类成分具有抗炎保肝的功效^[3-10], 文中所研究的 7 种成分在不同拆方中均有变化, 黄连中生物碱类成分下降, 而没食子酸、去氢吴茱萸碱, 芍药苷成分略有上升, 体现出戊己丸肝火犯胃、肝脾不和的中医基础理论机制, 及其治疗泄泻、呕吐吞酸、

胃脘灼热疼痛等病症的药效物质基础。研究中同样发现,在缺黄连方图中,3,14,15,19,20,21,22,23,25,26 号峰消失,40 min 左右缺黄连方新出现一个小峰,而全方没有,由白芍药材图谱可知,此峰来源于白芍,可能是在与黄连共煎后消失的,可见不同药味在共煎过程中可以改变原有的化学成分构成,其对功效的影响,将在下一步结合药理深入研究。

[参考文献]

[1] 邹丽娟,陈颖,杨庆,等. 吴茱萸对黄连生物碱在大鼠肠道吸收中的影响研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,8(18):147-151.

[2] 宋·太平惠民和剂局. 刘景源点校. 太平惠民和剂局方[M]. 北京:人民卫生出版社, 1985.

[3] 张璐,冯育林,王跃生,等. 吴茱萸现代研究概况[J]. 江西中医学院学报,2010,22(2):78-82.

[4] 余园媛,王伯初,彭亮,等. 黄连的药理研究进展[J].

重庆大学学报:自然科学版,2006,29(2):107-111.

[5] 门薇,陈颖,杨主在,等. 不同配伍戊己丸的黄连生物碱在人源肠道菌群中的代谢研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(3):417-421.

[6] 李艺,游雪甫,蒋建东. 小檗碱的药动学研究进展[J]. 中国新药杂志,2008,17(9):733-738.

[7] 李肖玲,崔岚,祝德秋. 没食子酸生物学作用的研究进展[J]. 中国药师,2004,7(10):767-769.

[8] 宋江林,程督剑,罗敏. 黄连为主治疗慢性胃炎 59 例[J]. 湖南中医杂志, 2003(4):32.

[9] 彭求贤,蔡红兵,史珏,等. 黄连配伍吴茱萸后生物碱类成分的含量变化[J]. 中药材, 2012, 35(5): 742-744.

[10] 涂瑶生,刘法锦,孙冬梅,等. 黄连、吴茱萸配伍药对的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中成药, 2011,33(1): 5-8.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国实验方剂学杂志》声明

本刊近期发现有某些网站使用类似本刊网站的域名,冒用本刊名义,骗取审稿费及版面费。

现本刊郑重声明:①<http://www.syfjxzz.com> 为本刊唯一域名,其他域名均非本刊。

②本刊不会以任何名义收取任何审稿费。

③投稿成功后,为确保稿件安全请与责任编辑电话联系。

对于假冒本刊名义、侵犯本刊权利的不正当行为,本刊将通过法律程序进行维权。