

吴茱萸药材薄层色谱指纹图谱研究

张丽艳^{1*}, 罗君², 李健¹, 潘雯婷¹, 杨玉琴¹, 冉懋雄³, 杨家林⁴

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 贵阳中医学院第一附属医院, 贵阳 550002;

3. 贵州省中医药研究院中药研究所, 贵阳 550002; 4. 贵州省余庆县

黔龙民族药业有限责任公司, 贵州 余庆 564407)

[摘要] 目的: 建立吴茱萸药材薄层色谱指纹图谱, 用于产地、真伪鉴别及品质控制。方法: 采用薄层色谱法对 12 批贵州余庆吴茱萸药材、9 批其他不同产地吴茱萸药材及 2 种伪品进行薄层色谱的比较分析。结果: 贵州余庆产 12 批吴茱萸药材的薄层色谱图和轮廓图十分相似, 均有 6 个斑点和对应的 6 个峰; 各峰在峰强度上有差异, 体现了不同产地吴茱萸所含化学成分在含量上有差别; 不同产地吴茱萸的主成分组成基本相同, 但各组分的含量有较大的差异; 2 种伪品没有上述特征。结论: 方法简单易于操作, 便于推广应用, 可用于采购及生产中的快速检验, 为评价吴茱萸药材品质优劣和 GAP 规范化种植、种植标准操作规程的制定以及质量监控提供科学依据。

[关键词] 吴茱萸; 薄层色谱; 指纹图谱

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0072-04

Fingerprint Analysis of *Evodia rutaecarpa* by TLC

ZHANG Li-yan^{1*}, LUO Jun², LI Jian¹, PAN Wen-ting¹, YANG Yu-qin¹, RAN Mao-xiong³, YANG Jia-lin⁴

(1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

2. The First Affiliated Hospital of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

3. Pharmaceutical Research Institute of Guizhou Academy of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

4. Qian Long Yuqing City National Pharmaceutical Co. Ltd., Yuqing 564407, China)

[Abstract] **Objective:** To establish TLC fingerprint of *Evodia rutaecarpa* for the place of production, the authenticity of identification and quality control. **Method:** TLC was used to analyze comparatively 12 groups of crude drugs *E. rutaecarpa* from Guizhou Yuqing, 9 groups of crude drugs *E. rutaecarpa* from other different places of production and 2 Counterfeits. **Result:** The TLC chromatogram and the contour chromatogram of 12 groups of crude drugs from Guizhou Yuqing were very similar, which had 6 spots and 6 corresponding peaks. The intensity of each peak was different, reflecting that the content of chemical ingredients contained in *E. rutaecarpa* from different places were different. The main kinds of ingredient in *E. rutaecarpa* from different places were nearly the same, but the content of each component was different. The two kinds of counterfeits had no such characteristics. **Conclusion:** The method was simple and easy to operate, which can be used widely, such as rapid tests in procurement and production. And it provided a scientific basis to judge the quality of *E. rutaecarpa* and standardized planting of GAP, as well as to draw up the standard operating procedures of planting and the quality control of *E. rutaecarpa*.

[Key words] *Evodia rutaecarpa*; TLC; fingerprint

[收稿日期] 20101008(003)

[基金项目] 贵州省科技厅项目[黔基合 263 字(2003)86 号]

[通讯作者] *张丽艳, 学士, 教授, 从事中药质量控制与新药研究, E-mail: zly1964@163.com

吴茱萸为贵州省著名道地药材,主产于贵州、湖南等地。薄层色谱由于方法简便、设备价廉、多路柱效应、分析速度快等优点。可以综合地、直观地反映药材的内在质量,对《中国药典》^[1]吴茱萸项下吴茱萸的质量控制是个很好的补充,能较全面地反映吴茱萸的整体情况。因此,作者首次对吴茱萸的薄层色谱指纹图谱进行了系统研究;并用吴茱萸两常见伪品花椒^[2]、马桑子^[3]进行了指纹图谱专属性检验。该方法简单易于操作,便于推广应用,可用于采购及生产中的快速检验,为吴茱萸品质优劣和 GAP 规范化种植、种植标准操作规程的制定以及吴茱萸真伪鉴别和质量监控提供了科学依据。

1 仪器与试剂

CS-9301PC 双波长飞点薄层色谱扫描仪(日本岛津公司)、LINOMAT V 半自动点样仪(瑞士卡玛公司)、CAMAG Reprostar3 薄层色谱成像系统(瑞士卡

玛公司),双槽展开箱,Chromafinger2005 色谱指纹图谱系统解决方案软件(珠海科曼中药研究有限公司)。

甲醇、乙醇、氯仿、石油醚、乙酸乙酯、丙酮、三乙胺均为分析纯;吴茱萸碱(批号 11802-200504)、吴茱萸次碱(批号 110801-200505)均由中国药品生物制品检定所提供,供含量测定用。

12 批吴茱萸药材采自贵州余庆吴茱萸规范化种植研究与 GAP 试验示范基地,其他吴茱萸药材为各地零星栽培,经贵阳中医学院何顺志研究员鉴定为芸香科植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 的干燥近成熟果实;2 种伪品为芸香科植物花椒 *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. 的干燥成熟果皮、马桑科植物马桑 *Coriaria sinica* Maxim. 的近成熟果实。样品来源详见表 1。

表 1 吴茱萸及其伪品样品表

No.	采集地	采集时间	No.	采集地	采集时间
1	贵州余庆芝州村	2006-9-15	13	贵州石阡	2006-8-30
2	贵州余庆红军村	2006-8-27	14	贵州松桃	2006-8-27
3	贵州余庆割麻坪	2006-9-8	15	贵州清镇	2006-8-15
4	贵州余庆杨家老	2005-8-20	16	贵州湄潭	2006-9-14
5	贵州余庆项目碑	2006-9-10	17	湖南湘乡	2005-8-15
6	贵州余庆杨家老	2006-8-20	18	湖南岳阳	2006-8-15
7	贵州余庆龙江	2006-9-15	19	江西贵溪	2006-8-27
8	贵州余庆龙江	2006-9-10	20	重庆酉阳	2006-7-12
9	贵州余庆龙江	2006-9-2	21	浙江临安	2003-9-12
10	贵州余庆苏羊村	2006-4-10	22	贵州修文(花椒)	2006-8-29
11	贵州余庆割麻坪	2005-8-20	23	贵州修文(马桑子)	2006-8-14
12	贵州余庆杨家老	2005-8-30			

2 薄层色谱条件

2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取干燥至恒重的吴茱萸碱和吴茱萸次碱对照品适量,用乙醇制成浓度分别为 0.135,0.090 g·L⁻¹ 的对照品储备液。分别精密吸取以上对照品储备液各 1 mL,至 5 mL 量瓶中,用乙醇定容至刻度制成浓度分别为 0.027,0.018 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备 取干燥至恒重的样品粉末(过 60 目筛)约 0.4 g,精密称定,置 10 mL 量瓶中,加入乙醇约 9 mL,静置 30 min,超声处理(250 W,33 kHz)30 min,放冷,加乙醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 薄层色谱条件 薄层板:硅胶 G 预制板(青岛海洋化工厂)。点样:取上述供试品溶液、对照品溶液各 1 μL,用半自动点样仪点于距薄层板底边 10 mm 处。展开系统:环己烷-乙酸乙酯-甲醇-三乙胺(19:5:1:1)。展开方式:于双槽展开箱的一侧加入上述展开溶剂预平衡 15 min,上行展开;展距 8 cm;温度 10~35℃,控制相对湿度至 32%~72%。检测条件:挥尽薄层板上的残留溶剂后置紫外光灯(366 nm)下检视荧光薄层色谱。

3 条件的考察

3.1 不同提取溶剂、不同展开系统对吴茱萸薄层色谱的影响 以薄层色谱图谱直观的清晰度和有效信

息量为考察指标,对不同提取溶剂、不同展开系统进行比较^[1,4,9],结果表明不同提取溶剂对吴茱萸薄层色谱影响较大,其中以甲醇和乙醇提取效果最好,斑点容量大,由于甲醇有毒,故采用乙醇作为提取溶剂;不同展开溶剂系统对吴茱萸薄层色谱影响较大,《中国药典》推荐的溶剂系统得到的吴茱萸薄层色谱分离度较好、斑点容量大,故选择环己烷-乙酸乙酯-甲醇-三乙胺(19:5:1:1)作为展开溶剂系统。

3.2 相对湿度对吴茱萸薄层色谱行为的影响 相对湿度在 32%~72% 时,对吴茱萸薄层色谱行为影响不明显,当相对湿度 88% 时,对吴茱萸薄层色谱行为有显著影响,分离度降低,同时吴茱萸碱斑点与第 2 个斑点重叠,色谱无法辨认,故相对湿度小于 72% 为宜。

3.3 温度对吴茱萸薄层色谱行为的影响 温度对吴茱萸薄层色谱行为影响不明显,当温度为 10~30℃ 时,吴茱萸薄层色谱分离度较好、斑点清晰可见,故环境温度在 10~30℃ 时均可。

3.4 预饱和时间对吴茱萸薄层色谱行为的影响 饱和 15,30,45 min 薄层色谱效果基本相同,饱和时间增加,分离度并未明显提高,因此饱和时间确定为 15 min 即可。

3.5 显色对吴茱萸薄层色谱的影响 2010 年版《中国药典》推荐用 10% 硫酸-乙醇溶液显色,用此法喷雾显色后,除斑点颜色改变外,斑点数目未改变,因此,为简化操作,建议不用显色,即可进行判断。

4 吴茱萸薄层色谱分析

4.1 吴茱萸薄层色谱扫描轮廓图 挥尽薄层板上的残留溶剂后置紫外光灯(366 nm)下检视荧光薄层色谱。将荧光薄层色谱图导入 Chromafinger 2005 色谱指纹图谱系统解决方案软件生成灰度扫描图并积分,得吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸样品扫描轮廓图(图 1),其余样品依照上述实验条件获得的薄层扫描图与其在峰位上很接近、在峰强上有差别。

吴茱萸的薄层色谱图像,以 366 nm 下的荧光色谱信息最丰富,可以明显观察到 6 个荧光斑点。扫描轮廓图中的 6 个特征峰与 6 个斑点相对应。

12 批贵州余庆吴茱萸药材薄层色谱图及轮廓扫描叠加图见图 1。

9 批不同产地吴茱萸药材及 2 种吴茱萸伪品薄层色谱图及轮廓扫描叠加图见图 2。

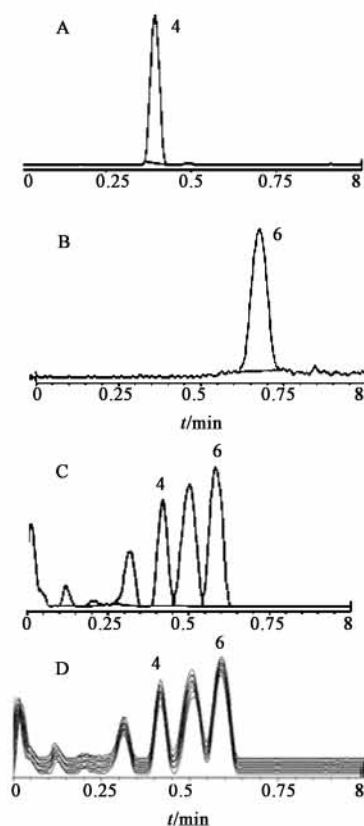


图 1 吴茱萸碱(A)、吴茱萸次碱(B)、吴茱萸样品(C)薄层色谱图及 12 批贵州余庆样品叠加图(366 nm)
4. 吴茱萸碱; 6. 吴茱萸次碱

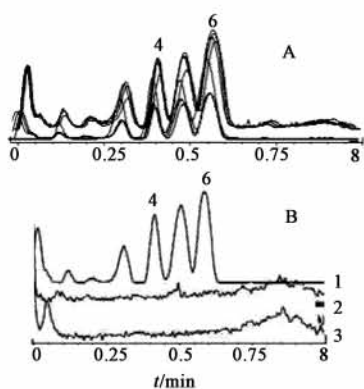


图 2 9 批不同产地吴茱萸药材(A)及 2 种伪品(B)薄层色谱图及轮廓扫描叠加图(366 nm)

1. 吴茱萸样品; 2. 马桑子; 3. 花椒; 4. 吴茱萸碱; 6. 吴茱萸次碱

4.2 指纹图谱的建立 将所有样本的荧光薄层色谱图导入 Chromafinger2005 色谱指纹图谱系统解决方案软件生成灰度扫描图并积分,得到 6 个共有峰构成了吴茱萸薄层色谱指纹图谱的基本骨架,通过对照品试验,确定 4 号峰为吴茱萸碱,6 号峰为吴茱萸次碱;由于以上 6 个共有峰各批药材都含有,因此上述 6 个峰应作为吴茱萸鉴定的特征性成分,构成

了吴茱萸药材薄层色谱指纹图谱共有模式。同一产地不同批次和不同产地吴茱萸样品的药材质量的差异,可以从这几个峰的斑点颜色深度得到反映。贵州余庆产 12 批吴茱萸药材样品中这几个斑点深度相似,说明这 12 批样品相似性较大,品质差异小;不同产地样品相似性较大,但斑点深度略浅,表明品质差异较大;吴茱萸的两伪品花椒,马桑子没有上述 6 个共有峰,表明该色谱条件可以将两伪品区别。

5 讨论

吴茱萸薄层色谱指纹图谱条件确定为以乙醇为提取溶剂,超声处理,以环己烷-乙酸乙酯-甲醇-三乙胺(19:5:1:1)为展开剂,预平衡 15 min,上行展开;展距:8 cm;温度 10~35℃,控制相对湿度至 32%~72%。挥尽溶剂后置紫外光灯(366 nm)下检视荧光薄层色谱。该方法简化了《中国药典》2005 年版吴茱萸薄层色谱用 10% 硫酸-乙醇溶液喷雾显色的操作。

贵州余庆产 12 批吴茱萸药材的薄层色谱图和轮廓图十分相似,均有 6 个斑点和对应的 6 个峰;各峰在峰强度上有差异,体现了不同产地吴茱萸所含化学成分在量上有差别。

吴茱萸的两伪品花椒、马桑子没有上述特征,初步说明所建立的薄层色谱条件可以很好的区分吴茱萸两伪品,可以为其真伪鉴别提供一定科学依据。

该薄层色谱不仅能反映吴茱萸的特征性成分,也能反映不同来源药材之间的差异;同时该方法简

单易于操作,便于推广应用。可用于采购及生产中的快速检验。为吴茱萸品质优劣和 GAP 规范化种植、种植标准操作规程的制定以及吴茱萸真伪鉴别和质量监控提供科学依据。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:160.
- [2] 莫善列,张建新,欧莹,等.吴茱萸和其伪品花椒及蚕砂的核磁共振氢谱指纹图谱鉴别[J].时珍国医国药,2007,18(11):2806.
- [3] 黄畅富.吴茱萸伪品-马桑子[J].中药材,1991,14(11):23.
- [4] 张丽丽,张丽艳,杨玉琴,等.不同产地吴茱萸中吴茱萸碱及吴茱萸次碱的含量对比分析[J].贵州医药,2004,28(8):755.
- [5] 朱坤福.薄层扫描法测定吴茱萸颗粒剂中吴茱萸次碱的含量[J].时珍国医国药,2003,14(6):337.
- [6] 张进治,汪瑗,陈惠,等.吴茱萸生物总碱的 TLC-SERS 研究[J].光谱学与光谱分析,2007,27(5):943.
- [7] 段朝辉,张红梅,朱恩圆.吴茱萸质量标准研究-TLC 指纹图谱鉴别及 HPLC 测定吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量[J].上海中医药杂志,2008,42(5):86.
- [8] 刘焱文,陈树和,卢喜珍,等.薄层扫描法测定吴茱萸次碱含量[J].中国医院药学杂志,1996,16(8):361.
- [9] 林玲.薄层扫描法测定吴茱萸中三种生物碱的含量[J].中国药科大学学报,1994,25(4):255.

[责任编辑 蔡仲德]

《中国中药杂志》2011 年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于 1955 年 7 月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128 页,2011 年定价每期 30 元,全年 24 期定价为 720 元。国内刊号 11-2272/R,国际刊号 1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 www.cjmm.com.cn 或 www.中国中药杂志.com。

联系电话:稿件查询 010-64045830 转 602;主任电话 010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。