

黄连吴茱萸药对化学成分薄层色谱定性研究

刘法锦^{*}, 孙冬梅, 鲁佳慧, 胥爱丽
(广东省中医研究所, 广州 510095)

[摘要] 目的: 考察黄连吴茱萸药对配伍前后化学成分的差异。方法: 采用 TLC 法对黄连单煎液、吴茱萸单煎液及黄连吴茱萸合煎液的不同溶剂萃取部分进行薄层色谱定性分析。结果: 黄连吴茱萸药对配伍前后, 主要成分未发生明显改变, 部分化学成分的含量发生了较大变化。结论: 配伍使两药中部分成分发生了显著的量的变化, 为药物配伍使用, 提供了实验依据, 但是否就此存在化学成分的消失或新化合物的产生有待进一步研究。

[关键词] 黄连; 吴茱萸; 薄层色谱法; 定性研究

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)03-0021-03

黄连为常用中药, 常与吴茱萸配伍入药。本实验采用薄层色谱法对黄连单煎液、吴茱萸单煎液、黄连吴茱萸合煎液的不同溶剂萃取部分进行了薄层色谱定性分析, 并采用两种不同极性的展开剂, 全面考察黄连吴茱萸药对配伍前后化学成分的差异, 对阐明中药配伍规律、继承和发展中医药理论具有重要意义, 同时也为更有效地指导临床用药和中药新药的研制提供科学依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器 电子分析天平 (Sartorius)、电磁炉 (Philips)、低速离心机 (北京医用离心机厂)、预制硅胶 G 薄层板 (10cm × 20cm, 浙江省台州市路桥四甲生化材料厂)、CAMAG REPROSTAR 3 薄层成像系统 (瑞士)。

1.2 试药 黄连 *Coptis chinensis* Franch、吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 均购自广州市东采林药业公司, 经广州中医药大学中药鉴定教研室丁平副教授鉴定; 盐酸小檗碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0713-200107)、盐酸巴马汀对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0732-9604)、盐酸药根碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0733-9203)、吴茱萸碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0802-200003)、吴茱萸次碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0801-9702); 石油醚、甲醇等试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品溶液的制备

2.1.1 黄连单煎液 取黄连药材 6 g, 加 6 倍量水浸泡 0.5 h, 回流提取 1.5 h, 倾出水液, 药渣再加 4 倍量水, 回流提取 1 h, 倾出水液, 合并两次水提液, 离心 ($3\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1} \times 10\ \text{min}$), 取上清液, 置 100 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀。置冰箱保存。

2.1.2 吴茱萸单煎液 取吴茱萸药材 1 g, 按照 2.1.1 项下方法, 同法制备吴茱萸单煎液。

2.1.3 合煎液 取黄连药材 6 g、吴茱萸药材 1 g, 按照 2.1.1 项下方法, 同法制备黄连吴茱萸合煎液。

2.1.4 单煎混合液 取黄连药材 6 g、吴茱萸药材 1 g, 分别加 6 倍量水浸泡 0.5 h, 回流提取 1.5 h, 倾出水液, 药渣再加 4 倍量水, 回流提取 1 h, 倾出水液, 合并两次水提液, 两种水提液在常温下混合均匀, 离心 ($3\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1} \times 10\ \text{min}$), 取上清液, 置 100 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀。置冰箱保存。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 各含 0.5 mg 的混合溶液, 为对照品溶液 A。精密称取吴茱萸碱、吴茱萸次碱对照品, 加甲醇制成每 1 mL 各含 0.5 mg 的混合溶液, 为对照品溶液 B。

2.3 TLC 定性分析

2.3.1 石油醚萃取部分 取合煎液 20 mL, 用石油醚 (60 ~ 90 °C) 萃取 3 次 (20, 20, 20 mL), 合并萃取液, 蒸干, 加三氯甲烷 1 mL 使溶解, 作为合煎液供试品溶液。同法制备黄连单煎液、吴茱萸单煎液、单煎混合液供试品溶液。照薄层色谱法 (中国药典 2005 年版一部附录 VI B) 试验^[2], 吸取上述 4 种供试品溶液各 8 μL 、对照品溶液 A 1 μL 及对照品溶液 B 5

[收稿日期] 2009-06-30

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (30873369)

[通讯作者] * 刘法锦, Tel: (020) 83501292, E-mail: gzLiufj@yahoo.com.cn

μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-浓氨试液(6 3 1.5 1.5 0.5)^[3] 为展开剂 A, 另槽加入等体积的浓氨试液, 预平衡 15 min, 上行展开至 8 cm, 取出, 晾干; 以三氯甲烷-石油醚(30 ~60)-甲醇-环己烷(5 3 0.4 0.4) 为展开剂 B, 饱和 15 min, 展开至 8 cm, 取出, 晾干。分别置紫外光灯(365 nm) 下检视。结果见图 1、2。

2.3.2 三氯甲烷萃取部分 取 2.3.1 项下石油醚萃取后的合煎液, 用三氯甲烷萃取 3 次(20, 20, 20 mL), 合并萃取液, 蒸干, 加三氯甲烷 1 mL 使溶解, 作为合煎液供试品溶液。同法制备黄连单煎液、吴茱萸单煎液、单煎混合液供试品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述 4 种供试品溶液各 5 μL 、对照品溶液 A 1 μL 及对照品溶液 B 5 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 同 2.3.1 项下的薄层色谱条件, 用展开剂 A 和展开剂 B 展开, 取出, 晾干。分别置紫外光灯(365 nm) 下检视。结果见图 3、4。

2.3.3 乙酸乙酯萃取部分 取 2.3.2 项下三氯甲烷萃取后的合煎液, 用乙酸乙酯萃取 3 次(20, 20, 20 mL), 合并萃取液, 蒸干, 加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为合煎液供试品溶液。同法制备黄连单煎液、吴茱萸单煎液、单煎混合液供试品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 B) 试验, 吸取上述 4 种供试品溶液各 10 μL 、对照品溶液 A 1 μL 及对照品溶液 B 5 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 同 2.3.1 项下的薄层色谱条件, 用展开剂 A 和展开剂 B 展开, 取出, 晾干。分别置紫外光灯(365 nm) 下检视。结果见图 5、6。

2.3.4 正丁醇萃取部分 取 2.3.3 项下乙酸乙酯萃取后的合煎液, 用水饱和正丁醇萃取 3 次(20, 20, 20 mL), 合并萃取液, 蒸干, 加甲醇 1 mL 使溶解, 作为合煎液供试品溶液。同法制备黄连单煎液、吴茱萸单煎液、单煎混合液供试品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 B) 试验, 吸取上述 4 种供试品溶液各 1 μL 、对照品溶液 A 1 μL 及对照品溶液 B 5 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 同 2.3.1 项下的薄层色谱条件, 用展开剂 A 和展开剂 B 展开, 取出, 晾干。分别置紫外光灯(365 nm) 下检视。结果见图 7、8。

3 讨论

3.1 本文对黄连吴茱萸药对配伍前后水提液的不

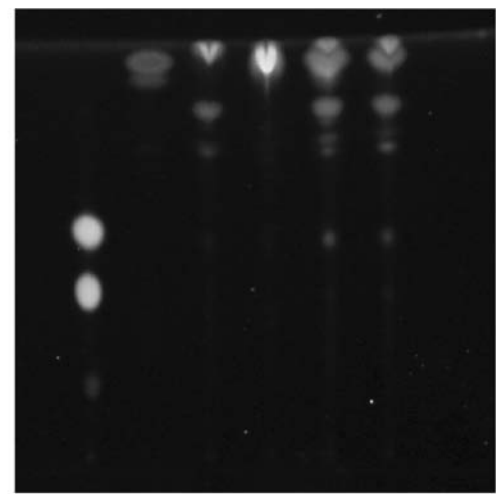


图 1 石油醚萃取部分薄层色谱图
(展开剂 A)

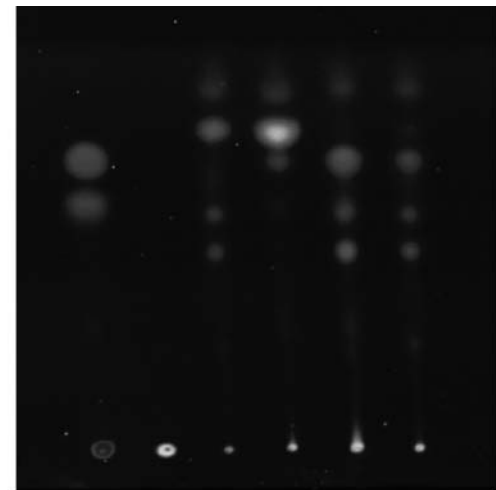


图 2 石油醚萃取部分薄层色谱图
(展开剂 B)

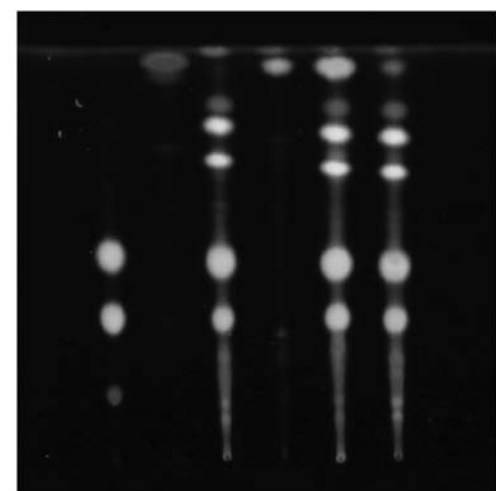


图 3 三氯甲烷萃取部分薄层色谱图
(展开剂 A)

同溶剂萃取部分进行了定性分析, 由于在单一的薄层层析展开条件下, 较难使黄连与吴茱萸所含化学成分在一张色谱图中同时得到较好的分离, 故采用两种不同极性的展开剂分别展开, 全面考察黄连吴茱萸药对配伍前后化学成分的差异。

3.2 将黄连单煎液、吴茱萸单煎液、合煎液各萃取部分的薄层色谱图进行比较, 发现多数主斑点无明显差异, 即多数主要成分在配伍前后未发生明显改

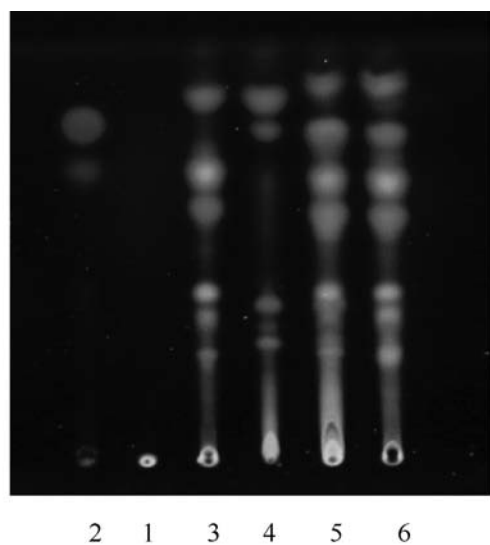


图 4 三氯甲烷萃取部分薄层色谱图
(展开剂 B)

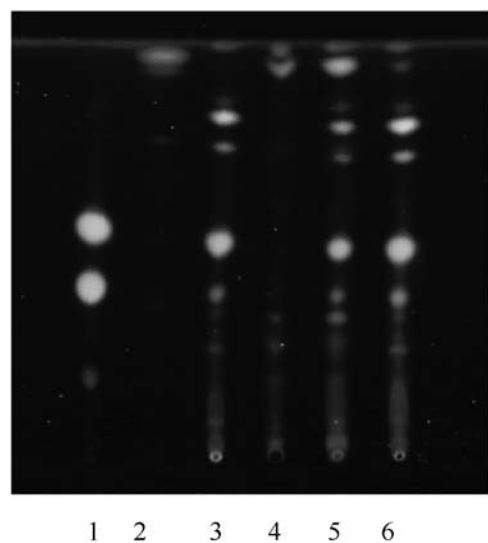


图 5 乙酸乙酯萃取部分薄层色谱图
(展开剂 A)

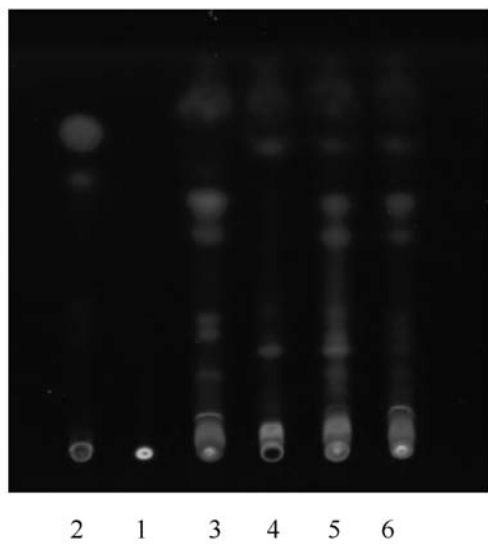


图 6 乙酸乙酯萃取部分薄层色谱图
(展开剂 A)

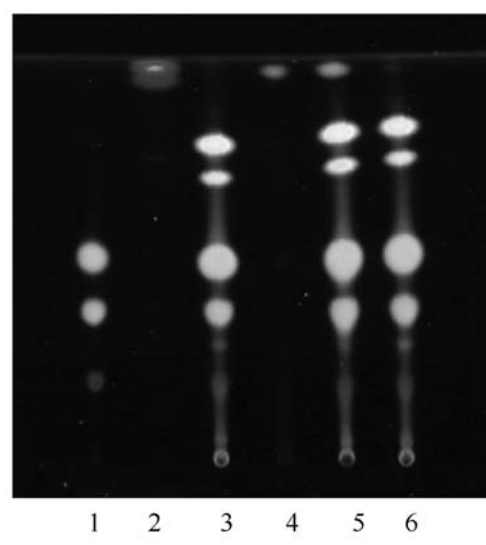


图 7 正丁醇萃取部分薄层色谱图
(展开剂 A)

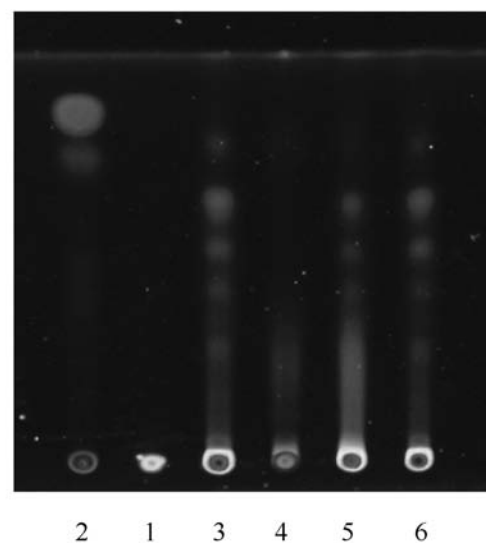


图 8 正丁醇萃取部分薄层色谱图
(展开剂 B)

1. 对照品 A; 2. 对照品 B; 3. 黄连单煎液; 4. 吴茱萸单煎液; 5. 合煎液; 6. 单煎混合液

谱图的下方和正丁醇萃取部分色谱图的上方均有一红色斑点, 该斑点的荧光强度在合煎液色谱图中减弱明显。研究结果表明配伍后这些未知成分的含量发生了较大改变。黄连单煎液与吴茱萸单煎液的石油醚和三氯甲烷萃取部分色谱图的上方均有一明显的紫色斑点, 而在合煎液三氯甲烷萃取部分色谱图的相应位置该斑点几乎无法显示。在三氯甲烷萃取部分色谱图的上方, 两药配伍后可检测到一明显的绿色斑点, 但在黄连单煎液与吴茱萸单煎液色谱图的相应位置上几乎无此斑点。

3.4 研究结果提示配伍使两药中部分成分发生了显著的量的变化, 但是否就此存在化学成分消失或新化合物的产生有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005, 附录 31.
- [2] 赵沈娟, 黄新兰, 李雪兰, 等. 萆薢胃痛颗粒的质量标准研究[J]. 中成药, 2008, 30(6): 868.

变。部分斑点荧光强度呈现显著的增强或减弱, 表明部分化学成分的含量在配伍后发生了较大变化。

3.3 石油醚和三氯甲烷萃取部分的薄层色谱图(图 1~4)显示, 黄连吴茱萸配伍后吴茱萸次碱的含量有较大增高, 尤以合煎液为明显。吴茱萸单煎液三氯甲烷萃取部分色谱图的下方有一紫红色斑点, 该斑点的荧光强度在相应的合煎液与单煎混合液色谱图中发生明显减弱。黄连单煎液乙酸乙酯萃取部分色