

不同用量的吴茱萸炮制黄连后成分的比较

修彦凤,徐德生,冯 怡,林 晓*

(上海中医药大学,上海 200032)

摘要:目的 考察不同用量的吴茱萸炮制黄连对小檗碱的影响以及萸黄连中吸收吴茱萸成分的情况。方法 以小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱为指标,采用高效液相色谱法测定黄连、吴茱萸、10%、20%、30%、40%、50%萸黄连中的成分含量。结果 黄连用吴茱萸炮制后小檗碱的含量减少,20%、30%萸黄连中小檗碱的含量较高;萸黄连中确实吸收了吴茱萸中的成分。结论 吴茱萸炮制黄连的用量以 20% 为宜。

关键词: 黄连;吴茱萸;炮制;萸黄连;小檗碱;吴茱萸碱;吴茱萸次碱;高效液相色谱

中图分类号: R283. 1; R286. 02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2003)04-0320-03

Comparison of components in *Coptis chinensis* processed with various quantity of *Evodia rutaecarpa*

XIU Yan-feng, XU De-sheng, FENG Yi, LIN Xiao

(Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China)

Abstract **Object** To investigate the berberine in *Coptis chinensis* Franch. processed with various quantity of *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. and the components absorbed from *E. rutaecarpa*. **Methods** Taking berberine, evodiamine and rutaecarpine as targets, HPLC method was used to determine the components of *C. chinensis*, *E. rutaecarpa*, *C. chinensis* processed with 10%, 20%, 30%, 40%, 50% *E. rutaecarpa*. **Results** The content of berberine in *C. chinensis* processed with *E. rutaecarpa* decreased, and that of *C. chinensis* processed with 20% and 30% *E. rutaecarpa* was higher than the rest. *C. chinensis* processed with *E. rutaecarpa* absorbed the components of *E. rutaecarpa* really. **Conclusion** The suitable quantity of *E. rutaecarpa* is 20% when processing for *C. chinensis*.

Key words *Coptis chinensis* Franch.; *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.; process; *C. chinensis* processed with *E. rutaecarpa*; berberine; evodiamine; rutaecarpine; HPLC

中医理论认为黄连苦寒,吴茱萸辛热。吴茱萸炮制黄连,是以吴茱萸辛热之气抑制黄连苦寒之性,属于“反制”炮制机理。目前全国各地吴茱萸炮制黄连用量不统一,《中华人民共和国药典》2000 年版规定为 10%,即每 100 kg 黄连用吴茱萸 10 kg。不同辅料用量对成分是否有影响? 辅料最佳用量为多少? 本实验以小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱为指标,采用 HPLC 法测定不同用量吴茱萸炮制黄连前后小檗碱含量以及吸收吴茱萸中成分的情况,探讨辅料最佳用量。

1 材料和仪器

药材经上海中医药大学中药鉴定教研室可燕副教授鉴定,黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎,吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 的干燥近成熟果实,均购自上海市华宇公司医药站。

盐酸小檗碱(批号: 0713-9906)、吴茱萸碱(批

号: 802-9401)、吴茱萸次碱(批号: 0801-9702)对照品均购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。HP1100 型高效液相色谱仪(美国惠普公司)。

2 方法和结果

2.1 萸黄连的制备^[1]: 取吴茱萸 80 g,加 8 倍量水浸润 30 min 后,煎煮 45 min,滤过,药渣再加 6 倍的水煎煮 30 min,滤过,合并滤液,浓缩至 100 mL(每毫升煎液含有吴茱萸药材 0.8 g)。

10%、20%、30%、40%、50%萸黄连: 称取黄连 5 份,均为 20 g,分别加入吴茱萸煎液 2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 mL 拌匀,闷润,待药液吸尽后用文火炒干,晾干后称重,5 种萸黄连的得率分别为 102%、104%、106%、108%、110%。

2.2 小檗碱的含量测定

2.2.1 供试品溶液的制备^[2]: 黄连、萸黄连药材分

* 收稿日期: 2002-06-27

作者简介: 修彦凤(1974-),女,助教,在读博士研究生,山东栖霞人,2000 年毕业于山东中医药大学,研究方向为中药新药开发及中药饮片的质量控制。Tel (021) 54231526 E-mail xiuyf@sohu.com

别粉碎成粗粉(过 40目筛)。精密称取黄连, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% 莨黄连各约 0.1 g, 置 100 mL 量瓶中, 加盐酸-甲醇 (1: 100) 95 mL, 60℃水浴中加热 15 min 取出, 超声 30 min 后, 室温放置过夜, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 滤液作为供试品溶液。各样品平行制备 3 份。

2.2.2 色谱条件: 色谱柱: Kromasil C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5μm); 检测波长: 349 nm; 流动相: 乙腈-水-磷酸 (300: 700: 4); 流速: 1 mL/min; 柱温: 25℃。

2.2.3 标准曲线的制备: 精密称取盐酸小檗碱对照品 4.30 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 定容。精密移取对照品溶液 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.60, 1.00 mL, 用甲醇定容于 1 mL 量瓶中, 进样 20μL, 以进样量为横坐标, 以峰面积为纵坐标作标准曲线, 得回归方程为 $Y = 3639.26X - 11.42$, $r = 0.99997$ 盐酸小檗碱在 0.172~3.44μg 时进样量与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.4 精密度试验: 同一对照品溶液连续进样 5 次, 测定小檗碱的峰面积, RSD 为 1.90%。

2.2.5 稳定性试验: 取黄连供试品溶液, 测定 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 小檗碱的峰面积, RSD 为 1.38%。

2.2.6 加样回收率试验: 精密称取 6 份已知小檗碱含量的黄连药材, 分别加入盐酸小檗碱对照品, 按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液, 测得小檗碱的平均回收率为 102.86%, RSD 为 1.76%。

2.2.7 样品测定: 各供试品溶液经 0.45μm 微孔滤膜, 进样 20μL 分析, 结果见图 1 和表 1

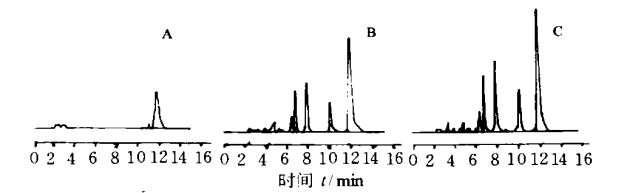


图 1 小檗碱对照品 (A)、黄连药材 (B) 和莨黄连 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of berberine(A), C. chinensis (B) and C. chinensis processed with E. rutaecarpa (C)

2.3 吴茱萸碱 吴茱萸次碱的含量测定

2.3.1 供试品溶液的制备^[2]: 吴茱萸、莨黄连药材分别粉碎成粗粉(过 40目筛)。精密称取吴茱萸, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% 莨黄连各约 0.1 g, 加入甲醇 80 mL, 加热回流 50 min, 放冷, 滤过, 滤液回收甲醇至适量, 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。各样品平行制备 3 份。

2.3.2 色谱条件: 色谱柱: Kromasil C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5μm); 检测波长: 225 nm; 流动相: 乙腈-水-四氢呋喃-冰醋酸 (51: 48: 1: 0.1); 流速: 1 mL/min; 柱温: 25℃。

2.3.3 标准曲线的制备: 分别精密称取吴茱萸碱对照品 4.70 mg、吴茱萸次碱对照品 3.08 mg, 分别置 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解, 定容 (浓度分别为 0.188, 0.123 mg/mL)。精密移取吴茱萸碱对照品溶液 2.0 mL 和吴茱萸次碱对照品溶液 3.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇定容。精密称取上述对照品溶液 0.01, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.60, 1.00 mL, 用甲醇定容于 1 mL 量瓶中, 进样 20μL。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标作标准曲线, 得回归方程, 吴茱萸碱: $Y = 10791.82X - 6.45$, $r = 0.99997$; 吴茱萸次碱: $Y = 6952.12X - 13.75$, $r = 0.99993$ 吴茱萸碱在 0.00752~0.752μg, 吴茱萸次碱在 0.00739~0.739μg 进样量与峰面积呈良好的线性关系。

2.3.4 精密度试验: 同一对照品溶液 (吴茱萸碱 吴茱萸次碱浓度分别为 0.00752, 0.00739 mg/mL) 连续进样 5 次, 测定吴茱萸碱及吴茱萸次碱的峰面积, RSD 分别为 1.69%, 1.43%。

2.3.5 稳定性试验: 取吴茱萸药材供试品溶液, 测定 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 吴茱萸碱、吴茱萸次碱的峰面积, RSD 分别为 1.68%, 2.06%。

2.3.6 加样回收率试验: 精密称取 5 份已知吴茱萸碱 吴茱萸次碱含量的吴茱萸药材, 分别加入吴茱萸碱 吴茱萸次碱对照品, 按 2.3.1 项下方法制备供试品溶液, 进样, 测得吴茱萸碱 吴茱萸次碱平均回收率为 99.86%, 97.63%, RSD 分别为 1.02%, 1.67%。

2.3.7 样品测定: 各供试品溶液经 0.45μm 微孔滤膜滤过, 进样 20μL 分析, 结果见表 1 和图 2

表 1 小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的含量测定结果 (n= 3, $\bar{x} \pm s$) mg·g⁻¹

Table 1 Determination results of berberine, evodiamine and rutaecarpine (n= 3, $\bar{x} \pm s$) mg·g ⁻¹			
样品	小檗碱	吴茱萸碱	吴茱萸次碱
黄连药材	59.592±0.382	1.413±0.079	
吴茱萸药材		2.282±0.058	
10% 莨黄连	58.769±0.803		
20% 莨黄连	59.313±0.401		
30% 莨黄连	59.174±0.906	0.08±0.001	0.114±0.022
40% 莨黄连	57.314±0.977	0.08±0.002	0.107±0.026
50% 莨黄连	52.302±0.972	0.112±0.005	0.163±0.011

3 小结

3.1 表 1 中的数据可知, 经不同量吴茱萸炮制后,

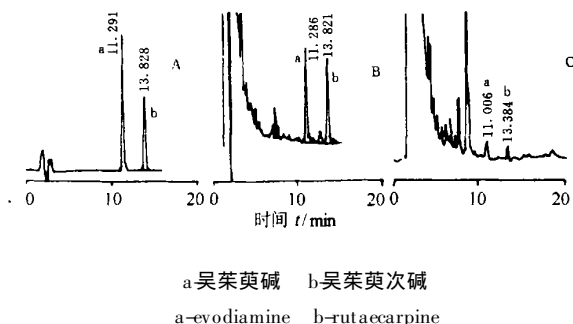


图 2 对照品 (A)、吴茱萸药材 (B) 和莨菪连 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of reference substances (A), *E. rutaecarpa* (B) and *C. chinensis* processed with *E. rutaecarpa* (C)

莨菪连中小檗碱的含量较黄连低,其中 20%, 30% 莨菪连中小檗碱的含量较高,本结论与文献^[3]一致,辅料量增大则小檗碱的含量减少。

3.2 由表 1 图 1 可知,莨菪连中确实吸收了吴茱萸中的成分,莨菪连中吴茱萸用量越大,吴茱萸碱及吴茱萸次碱的含量越大。另外,因为 10%、20% 莨菪连的 HPLC 图谱中,吴茱萸碱的峰面积很小,与其他成分没有完全分离,故数据不做统计。

4 讨论

4.1 本实验建立了小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的含量测定方法,简便、可靠,可以作为黄连和吴茱萸药材、莨菪连饮片以及由二者配伍而成的中成药(如左金丸、变通丸、甘露散等)的质量控制方法。

4.2 莨菪连中吸收了吴茱萸的主要成分吴茱萸碱、吴茱萸次碱。薄层色谱也观察到莨菪连中吴茱萸的成分,以硅胶 G 为薄层板,正丁醇-冰醋酸-水 (7:1:2) 为展开剂,于紫外光 (365 nm) 下检视,与黄连、吴茱萸药材对应位置,莨菪连显相同颜色的斑点。

4.3 从实验结果可以看出,在炮制过程中不同用量的吴茱萸对黄连中的成分是有影响的,故确定最佳辅料用量非常重要。以主要成分小檗碱为考察指标,吴茱萸用量以 20% 为宜。

4.4 本实验仅以黄连中的主要成分为指标,若能结合药理或临床进行研究,则结果更有说服力。中药炮制中有许多药物是采用药汁进行炮制,可以达到增效、减毒的目的,这与方剂配伍理论相似。方剂中可以根据具体病情对方中药物进行加减,那么中药炮制中药汁(如生姜汁、甘草汁、吴茱萸汁、黑豆汁等)炮制药物的用量根据什么进行判定? 如果可能结合药理与临床进行研究,那么指标如何选择? 这些问题都有待于进一步探讨。

References

- [1] Ye D J, Zhang S C, Chen Q. *Processes of Chinese Materia Medica* (中药炮制学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publisher, 1996.
- [2] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol II.
- [3] Zhang R X. Influence of various excipient and its density on berberine content in processed *Coptis chinensis* Franch. products [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1990, 15 (9): 24-25.

Determination of scutellarin in Breviscarpin Tablet by HPLC

QI Ai-di*

(Department of Chinese Materia Medica, Tianjin College of TCM, Tianjin 300193, China)

Abstract **Object** To establish an HPLC method for the determination of scutellarin in Breviscarpin Tablet. **Methods** Column: Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); mobile phase: acetonitrile-0.5% acetate solution (22:78); detection wavelength was at 335 nm; temperature was at 30 °C; flow velocity was 1.2 mL/min. **Results** The calibration curve showed a good linearity within the range of 0-6.0 μg. The average recovery was 100.43% and RSD was 0.58%. **Conclusion** The method is convenient, fast and reliable to operate and suitable for the quality control of Breviscarpin Tablet.

Key words Breviscarpin Tablet; scutellarin; HPLC

高效液相色谱法测定灯盏花素片中灯盏花乙素的含量

戚爱棣

(天津中医学院 中药系, 天津 300193)