

• 制剂与炮制 •

吴茱萸不同炮制品化学成分的变化分析

赵平¹, 许海玉², 许浚^{3,4,5}, 张铁军^{3,4,5*}, 韩越¹, 王敏杰⁶

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;
3. 天津药物研究院, 天津 300193; 4. 释药技术与药物代谢动力学国家重点实验室, 天津 300193;
5. 天津市中药质量控制技术工程实验室, 天津 300193; 6. 成都中医药大学, 四川 成都 611137)

[摘要] 目的: 研究吴茱萸的炮制方法与化学成分的相关性。方法: 采用 HPLC 对吴茱萸炮制前后的色谱图进行比较; 对主要色谱峰进行指认, 划分化学组分群; 分析已知成分和化学组分群的含量变化。结果: 将色谱峰划分为黄酮苷类、吲哚喹啉类生物碱和苦味素类、喹诺酮类生物碱 3 类化学组分群。各炮制品中黄酮苷类成分含量均下降, 水洗下降最多; 黄连制使 3 类化学组分群的含量都有所降低; 酒制、盐制、甘草制、姜制可以增加喹诺酮类生物碱的溶出量。结论: 不同的炮制方法会造成吴茱萸化学成分的不同改变。

[关键词] 吴茱萸炮制品; 化学组分群; 黄酮苷类; 吲哚喹啉类生物碱; 苦味素类; 喹诺酮类生物碱

吴茱萸性燥烈有小毒, 入药多为炮制品。生吴茱萸多外用, 长于祛寒燥湿。甘草制和水洗能降低毒性, 黄连制能降逆止呕, 醋制疏肝镇痛, 生姜制能散寒止呕, 盐制能引药入肾, 酒制治心腹气滞作痛^[1]。吴茱萸炮制后功能主治变化的物质基础是其化学成分的变化导致的, 仅以几个化学成分为指标不足以说明中药炮制前后化学成分的整体变化, 因此, 本研究对吴茱萸的生品与吴茱萸的甘草制品、黄连制品、盐制品、醋制品、酒制品、姜制品和水洗制品进行化学成分的对比较研究, 为探讨炮制原理提供理论依据。

1 材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (Agilent Technologies, Germany), 配有可变波长检测器、四元泵、自动进样器、Agilent 化学工作站; LCQ 型液相色谱-质谱联用仪 (Finnigan MAT, San Jose, CA), 配有 ESI 源、二极管阵列检测器、自动进样器、Xcalibur 数据工作站; AB204-N, PB303-N 电子分析天平 (瑞士 MettlerToledo); HS-3120 超声清洗仪 (天津市恒奥科技发展有限公司)。

吴茱萸药材购自河北省安国中药材有限公司, 由天津药物研究院张铁军研究员鉴定为芸香科植物石虎 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang 的干燥近成熟果实。按照《现代中药炮制手册》^[2] 和《中药炮制学辞典》^[3] 的规范炮制程序, 对吴茱萸分别进行甘草制、黄连制、盐制、醋制、酒制、姜制和水洗炮制。

2 方法

2.1 色谱和质谱条件 色谱条件: Accurasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相 A 相为乙腈-水-甲酸 (80:20:0.13), B 相为水-甲酸 (100:0.2), 二元梯度洗脱程序见表 1; 流速 0.4 mL · min⁻¹; 检测波长 254 nm; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。

表 1 梯度洗脱程序

t/min	A/%	B/%
0	25	75
30	60	40
60	100	0
120	100	0

质谱条件: 电喷雾离子源 (ESI); 正离子模式时喷雾电压 4.5 kV, 毛细管温度 300 °C, 鞘气流速 10.5 L · min⁻¹, 辅助气流速 1.8 L · min⁻¹; 负离子模式时喷雾电压 4.5 kV, 毛细管温度 260 °C, 鞘气流速 10.5 L · min⁻¹, 辅助气流速 3 L · min⁻¹。

[稿件编号] 20101028007

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目 (2006BAI06A01, 2007BAI41B06)

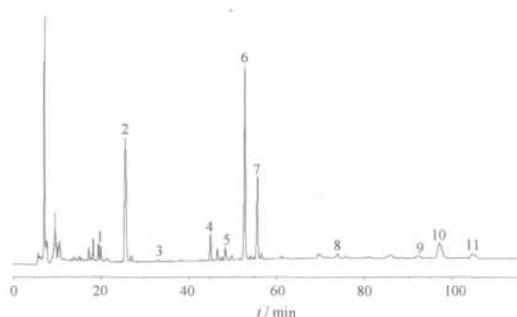
[通信作者] * 张铁军, Tel: (022) 23006848, E-mail: tiezheng4@ sina.com

2.2 炮制品供试品的制备 取各样品粉末 1.0 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加入 95% 乙醇约 90 mL,浸泡 1 h,超声处理 40 min,放冷,加乙醇至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3 甘草和黄连供试品的制备 分别取甘草和黄连药材粉末 1.0 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加入 95% 乙醇约 90 mL,浸泡 1 h,超声处理 40 min,放冷,加乙醇至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

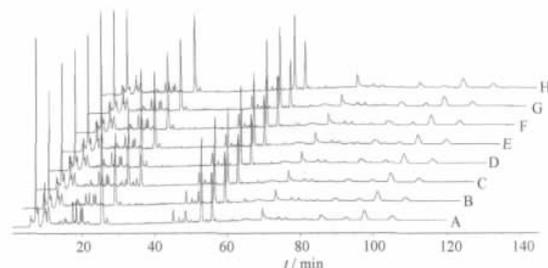
3 结果与分析

3.1 化学成分含量的变化 利用液-质联用技术对吴茱萸的 11 个色谱峰进行指认^[4],结果见图 1。吴茱萸生品及炮制品的色谱图见图 2。以吴茱萸生品色谱峰的峰面积为参照,炮制品色谱峰的峰面积与其相比,计算 11 个色谱峰的相对峰面积,见表 3。



1. 异鼠李素-3-O-β-D-吡喃半乳糖苷; 2. 去氢吴茱萸碱; 3. 吴茱萸宁碱; 4. 茵芋碱; 5. 吴茱萸内酯; 6. 吴茱萸碱; 7. 吴茱萸次碱; 8. 1-甲基-2-[(Z)-6-十一烯基]-4(1H)喹诺酮; 9. 1-甲基-2-十一烷基-4(1H)喹诺酮; 10. 吴茱萸新碱; 11. 1-甲基-2-[(6Z,9Z)-6,9十五烷二烯基]-4(1H)喹诺酮。

图 1 吴茱萸 HPLC 色谱峰的指认



A. 生品; B. 甘草制品; C. 黄连制品; D. 盐制品; E. 醋制品; F. 酒制品; G. 姜制品; H. 水洗制品。

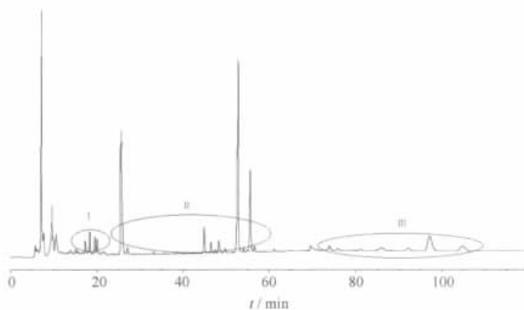
图 2 吴茱萸生品及炮制品的 HPLC 图

结果显示,经炮制后,一部分化学成分的含量有所变化。异鼠李素-3-O-β-D-吡喃半乳糖苷在炮制品中的含量明显下降,其含量顺序为生品 > 盐制品 > 甘草制品 > 酒制品 > 醋制品 > 黄连制品、姜制品 > 水洗制品。去氢吴茱萸碱在盐制品中的降幅较小,在其余炮制品中的含量仅为生品的 60%。吴茱萸宁碱除在水洗制品中的含量下降外,其余都有很大提高,含量顺序为甘草制品 > 盐制品 > 酒制品 > 姜制品 > 醋制品 > 黄连制品 > 生品 > 水洗制品。茵芋碱除在黄连制品中的含量略有下降外,在其他炮制品中的含量都有所提高。吴茱萸内酯、吴茱萸碱、吴茱萸次碱 3 者在黄连制品中的含量下降最多,其次为醋制品,在其他炮制品中的含量基本不变。1-甲基-2-[(Z)-6-十一烯基]-4(1H)喹诺酮、1-甲基-2-十一烷基-4(1H)喹诺酮在黄连制品中的含量下降最为明显,其次为醋制品和水洗制品。吴茱萸新碱和 1-甲基-2-[(6Z,9Z)-6,9十五烷二烯基]-4(1H)喹诺酮在黄连制品中的含量下降最多,在其他炮制品中的含量没有显著变化。

表 3 吴茱萸炮制品化学成分的含量变化

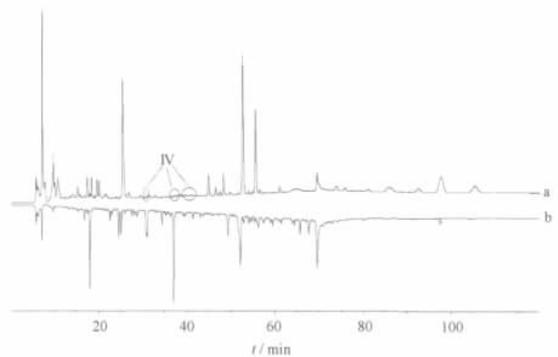
No.	t_R /min	化合物	相对峰面积							
			生品	甘草制品	黄连制品	盐制品	醋制品	酒制品	姜制品	水洗制品
1	19.50	异鼠李素-3-O-β-D-吡喃半乳糖苷	1.00	0.71	0.58	0.74	0.61	0.66	0.58	0.42
2	25.31	去氢吴茱萸碱	1.00	0.62	0.60	0.89	0.65	0.64	0.58	0.61
3	32.85	吴茱萸宁碱	1.00	2.52	1.26	2.14	1.30	2.06	1.71	0.54
4	44.99	茵芋碱	1.00	1.44	0.94	1.34	1.11	1.25	1.31	1.00
5	48.38	吴茱萸内酯	1.00	1.08	0.78	1.04	0.88	1.06	1.01	0.83
6	52.78	吴茱萸碱	1.00	1.06	0.69	0.97	0.88	1.06	0.99	0.91
7	55.66	吴茱萸次碱	1.00	1.10	0.75	0.99	0.92	1.12	1.01	1.00
8	74.06	1-甲基-2-[(Z)-6-十一烯基]-4(1H)喹诺酮	1.00	1.30	0.64	1.17	0.68	1.18	1.17	0.63
9	92.54	1-甲基-2-十一烷基-4(1H)喹诺酮	1.00	0.80	0.56	0.86	0.85	0.90	0.92	0.85
10	97.51	吴茱萸新碱	1.00	1.04	0.79	0.98	0.95	1.06	1.03	1.01
11	105.14	1-甲基-2-[(6Z,9Z)-6,9十五烷二烯基]-4(1H)喹诺酮	1.00	1.07	0.80	1.02	1.11	1.10	1.09	0.99

3.2 化学组分群的变化 根据质谱鉴定结果^[5], 将吴茱萸生品的色谱峰划分为3个化学组分群: I 黄酮苷类; II 吲哚喹啉类生物碱和苦味素类(其中吴茱萸内酯为苦味素类,其余为吲哚喹啉类生物碱); III 喹诺酮类生物碱,见图3。炮制品的化学组分群同生品,此外,甘草制吴茱萸和黄连制吴茱萸由于有了甘草和黄连的一些成分,出现了特有的化学组分群,见图4,5。将化学组分群I~III所包含的色谱峰分别相加,以生品各化学组分群的总峰面积为参照,将炮制品各化学组分群的总峰面积与之相比,计算炮制品各化学组分群的相对峰面积,结果见表4。



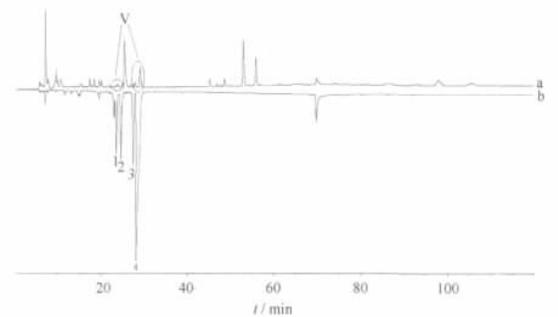
I. 黄酮苷类; II. 吲哚喹啉类生物碱和苦味素类;
III. 喹诺酮类生物碱。

图3 吴茱萸生品的化学组分群 I ~ III



a. 甘草制吴茱萸 HPLC 图; b. 甘草 HPLC 图。

图4 甘草制吴茱萸的特殊化学组分群IV



a. 黄连制吴茱萸 HPLC 图; b. 黄连 HPLC 图; 1. 表小檗碱; 2. 黄连碱; 3. 巴马汀; 4. 小檗碱。

图5 黄连制吴茱萸的特殊化学组分群

表4 炮制品化学组分群的相对总峰面积

化学组分群	生品	甘草制品	黄连制品	盐制品	醋制品	酒制品	姜制品	水洗制品
I	1.00	0.68	0.60	0.81	0.59	0.63	0.55	0.40
II	1.00	0.97	0.70	1.02	0.82	0.96	0.88	0.79
III	1.00	1.05	0.76	1.12	0.92	1.19	1.05	0.90

甘草制品在 30.90, 37.14, 37.87, 39.79, 41.05 min 出现了特有的化学组分峰, 比较其与甘草药材的色谱峰, 发现 30.90 min 出现的色谱峰为甘草中的化学成分。

黄连制吴茱萸在 23.34, 23.91, 24.84, 27.87, 29.38 min 出现了5个特有的化学组分峰, 根据黄连药材的色谱峰, 推测 23.91, 24.84, 27.87, 29.38 min 出现的色谱峰分别为黄连中表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱的色谱峰。

由表3可知, 化学组分群I含量顺序为生品 > 盐制品 > 甘草制品 > 酒制品、黄连制品、醋制品 > 姜制品 > 水洗制品; 化学组分群II的含量顺序为盐制

品、生品 > 甘草制品 > 酒制品 > 姜制品 > 醋制品 > 水洗制品 > 黄连制品; 化学组分群III的含量顺序为酒制品 > 盐制品 > 甘草制品、姜制品 > 生品 > 醋制品 > 水洗制品 > 黄连制品。

炮制对化学组分群I的影响最大, 尤其是水洗制品中的含量仅为生品的0.4倍。酒制、盐制、甘草制、姜制可以增加化学组分群III的溶出量。黄连制品中化学组分群I, II, III的含量均有明显下降。盐制品中化学组分群II, III的含量略有增加, 化学组分群I的损失量最小。

4 讨论

黄酮苷类成分经炮制后含量均显著下降, 尤其

是水洗制品,可能是黄酮苷类成分有一定亲水性,溶于热水而造成了损失^[6]。

吴茱萸的黄连制品中各类化学组分群的含量均有明显下降,此结果与文献[7]报道相一致;此外,还增加了黄连中的有效成分,如小檗碱、黄连碱等,这可能是黄连制吴茱萸能降低吴茱萸燥热之性,增强降逆止呕、疏肝和胃功效的原因。

中药作为复杂化学体系,其临床疗效是通过化学组分群发挥作用的,相似的化学成分具有相似的药效或药性^[8],不同类型的化学组分群共同构成中药药效和药性的物质基础。吴茱萸炮制后可以减小毒性,还可以改变部分药效和药性,这是通过炮制对化学成分的影响实现的。本研究通过对吴茱萸色谱峰的指认和化学组分群的划分,对吴茱萸炮制品化学成分和化学组分群的含量变化进行了研究,初步探讨了吴茱萸的炮制方法与化学成分的相关性,为建立“方-证-效-有效化学物质群”之间的关系提供依据。

[参考文献]

- [1] 秦猛,周长征,吕培轩,等. 吴茱萸饮片炮制研究进展[J]. 齐鲁药事,2007,26(9): 550.
- [2] 冉懋雄,郭建民. 现代中药炮制手册[M]. 北京:中国中医药出版社,2002: 516.
- [3] 叶定江,原思通. 中药炮制学辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2005: 347.
- [4] 赵平,许海玉,许浚,等. 吴茱萸药材的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志,2010, 35(23): 45.
- [5] Xu H Y, Zhang T J, Xiao X F, et al. Simultaneous determination of 13 major bioactive components in euodiae rutaecarpa by HPLC-DAD-MS[J]. Chin Herb Med, 2010, 2(2): 112.
- [6] 甄攀,梁惠花,王治宝,等. 吴茱萸炮制品中总黄酮的含量及其清除羟自由基的作用研究[J]. 中成药,2005, 27(9): 1041.
- [7] 徐艳春,魏璐雪,周玉新,等. 高效液相法测定黄连与吴茱萸配伍前后吴茱萸碱及吴茱萸次碱的含量[J]. 中国中药杂志,2001, 26(12): 846.
- [8] 陈素红,吕圭源. “性、味结合归经”层面研究中药药性[J]. 中药药理与临床,2008, 24(4): 58.
- [9] 孙琴,肖小河,金城,等. 中药质量控制和评价模式应多元化[J]. 中药材,2008, 31(1): 1.

Analysis on changes of chemical compounds in different processed products of Euodiae Fructus

ZHAO Ping¹, XU Haiyu², XU Jun^{3,4,5}, ZHANG Tiejun^{3,4,5*}, HAN Yue¹, WANG Minjie⁶

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China;

4. State Key Laboratory of Release Technique and Pharmacokinetics, Tianjin 300193, China;

5. Tianjin Engineering Laboratory of Quality Control Techniques for Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

6. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To study the relationship among processing methods and chemical compounds. **Method:** HPLC was used to compare the difference between pre and post processing. The main peaks in chromatogram were identified and divided into groups of chemical compounds. The contents of identified compounds and groups of chemical compounds were also analyzed. **Result:** The chromatographic peaks were divided into three groups of chemical compounds that were flavonoid glycosides, uinazoline alkaloids and bitter principle, indoloquinazoline alkaloids. The contents of flavonoid glycosides were reduced in each processed product, and that in hot-water processing product were the least. The contents of all three groups of chemical compounds were decreased in Coptidis Rhizoma processing products. The dissolving release of quinolones alkaloids were increased in wine, salt, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and ginger processing products. **Conclusion:** Different processing methods caused different changes of chemical compounds.

[Key words] processed products of Euodiae Fructus; groups of chemical compounds; flavonoid glycosides; quinazoline alkaloids; bitter principle; indoloquinazoline alkaloids

doi: 10.4268/cjcm20110509

[责任编辑 马超一]