

HPLC 研究川芎 - 赤芍配伍的 化学成分变化*

□李秀玲 徐青 张曦
肖红斌 梁鑫森**

(中国科学院大连化学物理研究所 大连 116011)

摘要: 中药复方配伍理论是中药方剂的精华。中药配伍后多化学成分的变化研究尚未见报道。本文首次应用 HPLC-DAD 研究川芎 - 赤芍配伍的多化学成分变化。由于中药成分复杂,需要建立稳定、重复、可靠的液相色谱分析方法;然后用液相色谱的统一方法分离样品和数据处理;通过比较合煎液和单煎液中各成分的保留时间和紫外光谱确定合煎液中各峰的归属;并可研究配伍后化学成分含量的变化。实验结果表明,川芎 - 赤芍配伍后少数化学成分含量发生变化,但没有发现新峰的产生。

关键词: 液相色谱 川芎 赤芍 配伍 中药化学成分

中药复方配伍理论是方剂的精华。配伍后中药复方的独特疗效有其相应的化学物质基础,即中药的化学成分。中药的化学成分包括无机物、小分子有机化合物(甙类、生物碱、有机酸等)及生物大分子物质(多肽、蛋白质、多

糖等)。近年来方剂配伍的化学成分研究主要集中在配伍前后个别化学成分的定量分析^[1-5]和复方配伍后质变研究^[6-7]。中药配伍后多化学成分的变化研究还未见报道。本文应用液相色谱-光电二极管阵列检测器(HPLC-DAD)研究中药川芎(*Ligusticum wallichii* LW)和赤芍(*Radices paeoniae rubra*

RPR)的配伍后的化学成分变化。所建立的分析方法稳定、重复;通过比较合煎液和单煎液中各成分的保留时间和紫外光谱确定合煎液中各峰的归属;并比较了配伍前后化学成分含量的变化。

一、实验部分

1. 材料

收稿日期: 2003-09-22

修回日期: 2003-11-10

* 国家科学技术部 973 资助项目(G19990554);方剂化学物质基础的研究,课题负责人:梁鑫森。

** 联系人:梁鑫森,研究员,博士生导师,本刊编委,中科院大连化学物理研究所所长,主要从事中药分析及开发。Tel: 0411-3701020, E-mail: liangxm@mail.dlptt.ln.cn-

{ World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica } 21

药材由北京西苑医院提供,经中国中医研究院中药研究所黄璐琦鉴定为正品。色谱分析用乙腈、乙酸(色谱纯,美国 TEDIA 公司);超纯水由 MilliQ 制得。

2. 样品的制备

川芎-赤芍合煎液: 称取川芎、赤芍各 2.50 克,混匀,用 10 倍质量的超纯水浸泡 40min 后,回流提取 1hr; 倾出提取液后,药渣用 8 倍质量的超纯水回流提取 1hr, 合并两次提取液, 浓缩后的样品用 30% 甲醇定容为 25 ml。

川芎单煎液: 称取川芎 2.50 克,处理方法同上。

赤芍单煎液: 称取赤芍 2.50 克,处理方法同上。

3. 色谱分离

Waters Alliance 2690 高效液相色谱系统(四元梯度泵、自动进样器、样品恒温系统、柱恒温系统、996 光电二极管阵列检测器), Waters Spherisorb ODS1 色谱柱(250 mm × 2.0 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈(A)-1.0% 乙酸水溶液(B); A 由 3% (V: V) 保持 3 min, 3~65 min 线性升到 40% (V: V), 55~60 min 线性升到 100% (V: V)。流速为 0.2 ml/min; 进样量为 10 μ l。

二、结果和讨论

1. 方法考察

川芎、赤芍单煎液及其合煎液 3 次连续进样的色谱图见 1, 从图 1 可知, 3 个样品 3 次连续进样的重现性好。川芎、赤芍单煎液及其合煎液重叠的色谱见图 2, 从

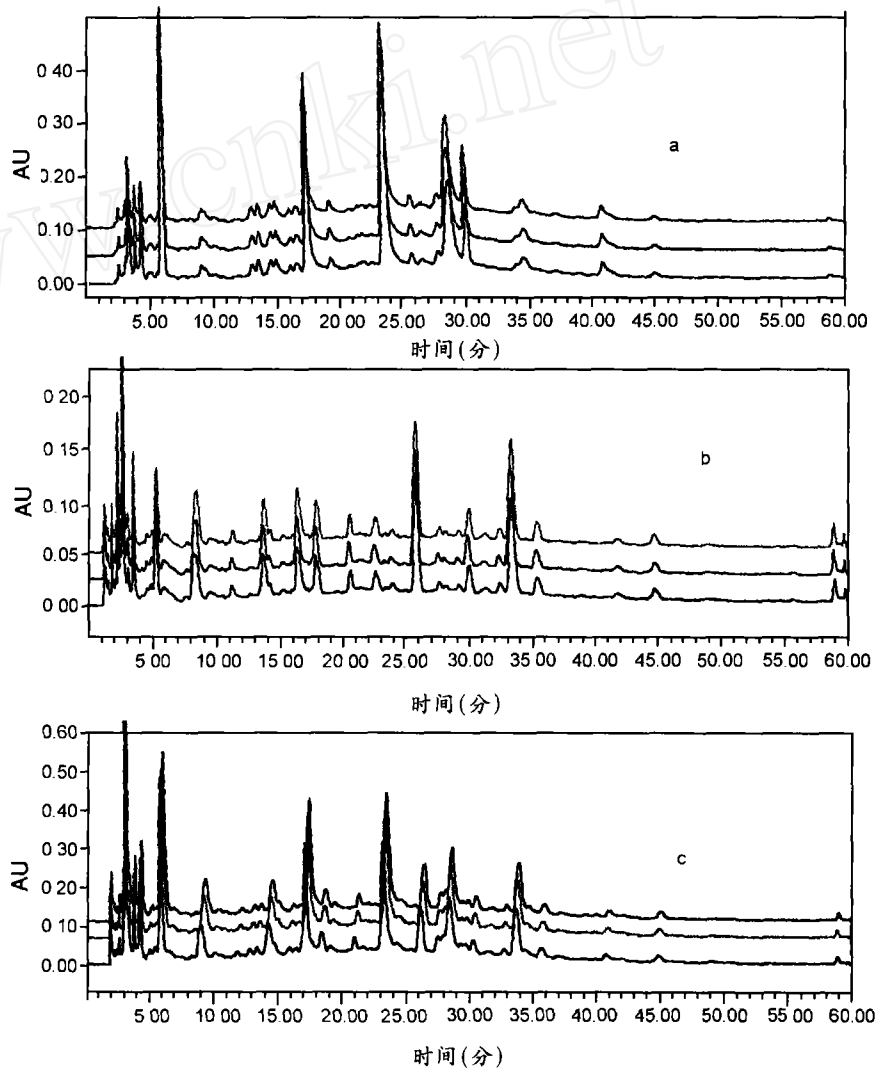


图 1 川芎、赤芍单煎液及其合煎液水提后连续 3 次进样的色谱图

a - 川芎 b - 川芎 c - 合煎液

图 2 可知: 即使不同的样品, 其相应成分的保留时间是重复的, 说明建立的方法稳定、可靠。

2. 峰归属的确定

川芎、赤芍及其合煎液比较的色谱图见图 2, 由图中可以清晰的分辨出合煎液中各峰的由来。如合煎液中的峰 4 是由赤芍中的两个峰和川芎中的一个峰共流出

产生。利用保留时间初步确定合煎液中峰 1~4、7、8、11、16、20、21、22、24、28 为共流出峰; 峰 12、14、18、23、26 来源于川芎的贡献; 峰 5、6、9、10、13、15、17、19、25、27 来源于赤芍的贡献。由于中药的色谱峰有共流出现象, 所以配伍后单一地用保留时间进行峰归属是不可靠的。

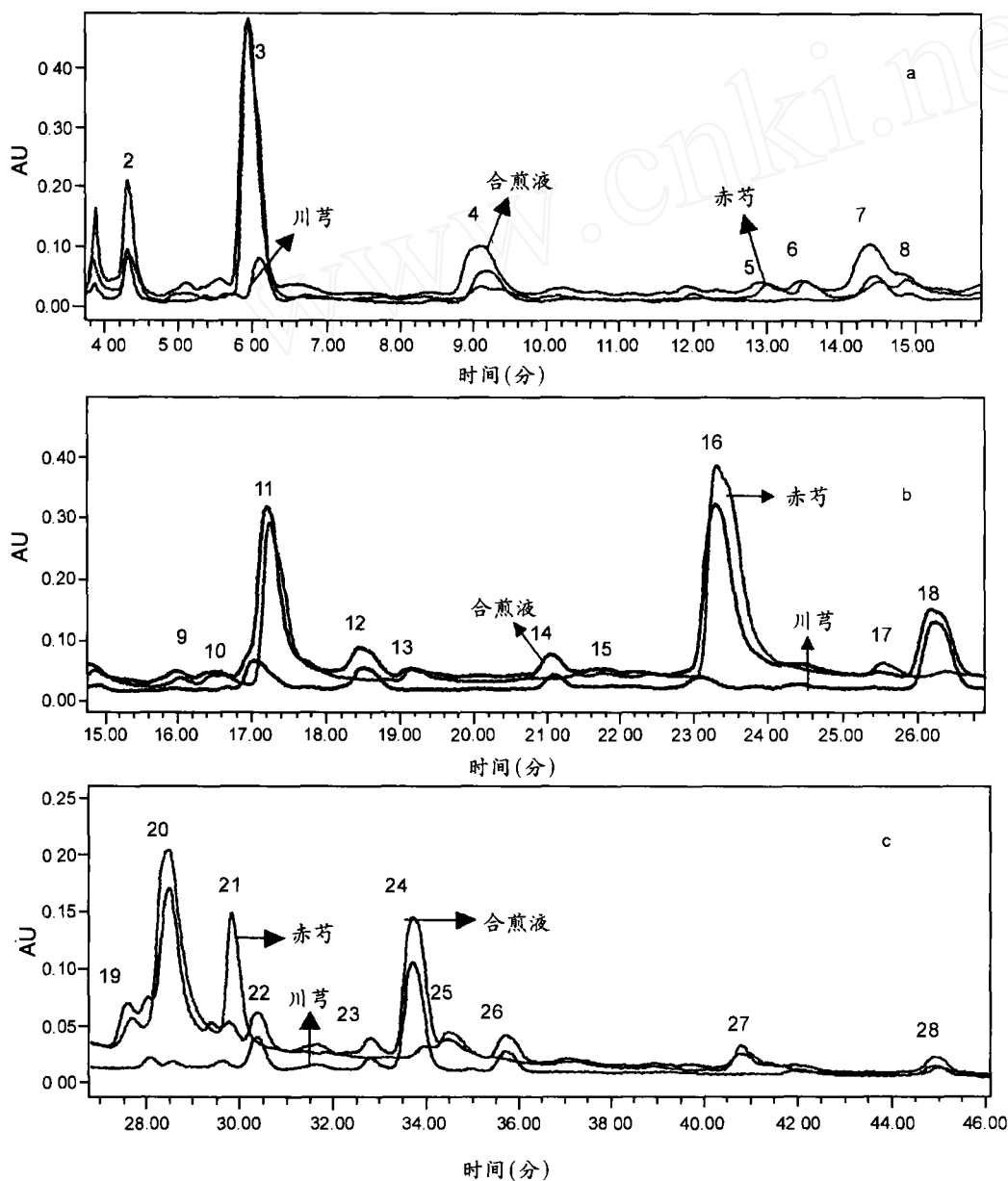


图2 川芎、赤芍单煎液及其合煎液水比较的色谱图
a-段1 b-段2 c-段3

应用色谱流出物的紫外图，比较配伍前后每个相应色谱峰的紫外光谱是否相同，从而验证用保留时间进行的峰归属。

提取合煎液中28个峰的紫外

光谱图，用来建立标准的紫外光谱库。利用 Millennium 色谱工作站的紫外谱图匹配功能确定合煎液中各峰的归属。但是对于共流出峰，难于实现紫外匹配，必须辅

以人工比较。如峰1，合煎液中该峰的紫外最大吸收是237, 259 nm，赤芍中峰1的紫外最大吸收是235 nm，而川芎中此峰的紫外最大吸收是257 nm，由紫外光谱确定峰1是川芎和赤芍的共流出峰。川芎、赤芍及其合煎液中其他峰的紫外光谱比较见表1。

结合紫外光谱和保留时间，确定了川芎和赤芍合煎液中的各峰的归属。合煎液中峰1~4、7、8、11、16、20、21、22、24、28为共流出峰；峰12、14、18、23、26来源于川芎的贡献；峰5、6、9、10、13、15、17、19、25、27来源于赤芍的贡献。在川芎和赤芍的合煎液中没有发现新成分的产生。

3. 化学成分含量的变化

配伍后，合煎液中大部分峰的峰高变化不显著，峰高发

生显著变化的峰有峰17、19、21和峰24。实验说明：川芎-赤芍配伍后，既有成分的含量增加（如峰19和峰24），又有成分的含量降低（如峰17、21），但是没有发现新

表1 川芎、赤芍及其合煎液中的各峰的紫外光谱

合煎液 中峰号	保留时间 (min)	λ_{\max} (nm)		
		合煎液	川芎	赤芍
1	3.9	237, 259	235	257
2	4.9	216, 260	260	215, 257
3	6.0	221, 271	221, 271	253
4	9.1	216, 257	217, 259	257
5	12.9	217, 264	220, 270	
6	13.5	264	258	
7	14.4	214, 295	216, 259	214, 297
8	14.8	217, 279	218, 278	
9	16.0	208, 271	209, 273	
10	16.5	217, 279	219, 279	
11	17.2	257	258	219, 324
12	18.5	219, 288, 323		219, 287, 323
13	19.2	217, 265	219, 266	
14	21.0	211, 288		247, 319
15	21.8	211, 278	225, 277	
16	23.3	234, 274	235, 273	
17	25.5	277	220, 277	
18	26.2	218, 322	219, 278	218, 322
19	28.5	253, 366	253, 365	
20	29.4	206	207	259
21	29.8	217, 280	220, 279	
22	30.4	208, 328		218, 328
23	32.8	325		324
24	33.7	277	221, 278	277
25	34.5	203	251, 368	
26	35.7	277		277
27	40.8	251, 368	251, 368	
28	45.0	236, 322	243, 321	237

峰的产生。

三、讨论

单味中药是一个复杂体系, 难于分离和分析, 配伍后化学成分的分析就更困难了。因而建立一种重现性好的分析方法是研究中药配伍的必要手段。我们首先建立了一套重现性好、稳

定性高的液相色谱分析方法研究川芎-赤芍配伍后化学成分的变化情况。其次, 根据单煎液和合煎液的相应的保留时间和紫外光谱图匹配, 确定了合煎液中各峰的归属; 最后发现川芎和赤芍配伍后4个色谱峰发生含量上的变化。由此可以说明中药配伍后的化学成分并非是单味药化学成分的简单加和, 煎煮过程中复方有化学成分含量的变化。

参考文献

- 王静蓉, 马脉瑜, 严永清等. 芍药甘草配伍化学变化研究. 时珍国医国药, 2000, 11(2): 102~104.
- 汪显阳. 大黄牡丹汤不同配伍对有效成分煎出的影响. 中国中医药科技, 2002, 9(3): 161~162.
- 何伟, 秦林, 司淑媛. 附子与白芍配伍前后乌头碱煎出量的测定. 中草药, 2002, 33(7): 600~602.
- 陈建萍, 谭炳炎, 吴伟康等. 四逆汤中附子甘草配伍规律研究. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(3): 16~17.
- 朱丹妮, 严永清, 李志明. 生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究—生脉散复

方化学的研究(III). 中国中药杂志, 1998, 23(8): 483~485.

- 夏云, 李志明, 朱丹妮. 生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究—生脉散复方化学的研究(I). 中国中药杂志, 1998, 23(4): 230~232.
- 朱丹妮, 李志明, 严永清等. 生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究—生脉散复方化学的研究(II). 中国中药杂志, 1998, 23(5): 291~293.

(责任编辑: 刘维杰 侯西娟)

TNA 是 RNA 的祖先?

你了解 DNA 和 RNA, 但是你听说过 TNA 吗? TNA 与 DNA 和 RNA 的不同在于构成其核苷酸的糖链为四碳糖苏糖, 而 DNA 和 RNA 分别由脱氧核糖和核糖构成糖链。由于苏糖是一种比核糖更为简单的单糖, 研究人员怀疑 TNA 很可能是 RNA 的祖先。

美国马萨诸塞州 General 医院的分子生物学家 Jack Szostak 发现可以在天然酶的作用下以 DNA 为模板制备 TNA。他与同事在单链 DNA 模板中加入含苏糖碱基的核苷酸, 结果在 DNA 聚合酶的作用下形成了一种 DNA-TNA 杂交分子。他们正在试图改造现有的 DNA 聚合酶, 使之不仅能更好地识别 TNA 模板, 也能够更好地催化 TNA 合成, 从而成为真正的 TNA 聚合酶。

科学家为此感到振奋; 目前在天然环境中并不存在 TNA, 但是既然能够在实验室中合成这种物质, 那就不能断定在史前一定不存在 TNA 了, 因为地球现在的环境(无论是气压还是温度等因素)和史前相比早已面目全非了。科学家认为, 如果 TNA 能够执行合成蛋白质等功能, 将为 TNA 是 RNA 前身的观点提供新的支持。 (文摘)

study and application as well as in the modernization and internationalization of Chinese herbal medicines, their concept and content should be open, compatible and characteristic of times. To innovate and grasp the concept and content of TCM has great importance either in the greater, faster, better and more economic research and development of modern Chinese herbal medicines or in the prevention of the shock of "foreign Chinese medicines", "plant medicines", "natural medicines" and "chemo-synthetic medicaments" to the market of Chinese herbal medicines in China, thus protecting and developing the industry of ethnic medicines of the country.

Key Words: theories of TCM, Chinese herbal medicine, modernization and internationalization of Chinese herbal medicines

Appraisal of Studies on Rules for Compatibility of Compound Prescriptions of Chinese Medicines from Point of Pair - medicinal - herb

Sun Yang, Chen Ting and Xu Qiang

(*Key National Laboratory of Medical Bio-technology, School of Life Science, Nanjing University, Nanjing 210093*)

The rules for the compatibility of compound prescriptions is the essence of the theory of prescriptions in traditional Chinese medicine and also one of the priority areas that have been financed by the National Natural Science Foundation of China in recent years. Starting from the compatibility of two specific medicinal herbs—pair-herb in compound prescriptions of Chinese medicine' this article expounds the conceptions and characteristics of pair-medicinal-herb as well as the functions, advantages and significance of it in the study on the rules for the compatibility of compound prescriptions of Chinese medicines. The authors of the article hold that the study of the compatibility of pair-herbs constitutes the foundation and a cut-in point in the study of the compatibility of compound prescriptions.

Key Words: a pair of medicinal herbs, compound prescription, rules for compatibility

A Study on Change of Chemical Components in Compatibility of Radices Paeoniae Rubra and Ligusticum Wallichii by HPLC

Li Xiuling, Xu Qing, Zhang Xi, Xiao Hongbin and Liang Xinmiao

(*Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116011*)

The theory of compound compatibility is the essence in the prescriptions of traditional Chinese medicine (TCM). No research work has been reported on the change of multi-components in TCM compatibility up to now. In this article the study on the change of multi-components in the compatibility of Radices paeoniae rubra and Ligusticum wallichii by means of HPLC-DAD is first dealt with. Owing to the complex components of Chinese medicines, it is necessary to have a stable duplicated and reliable analysis of high-performance liquid chromatography-photodiode array detector (HPLC-DAD) to separate samples and process data in the study. By comparing retention time and UV spectra of all the components in the liquid of co-decoction and individual decoction of Radices paeoniae rubra and Ligusticum wallichii, the peak of each component in the liquid of the co-decoction can be identified and the change of chemical components in the compatibility of Radices paeoniae rubra and Ligusticum wallichii can also be clarified. The research result indicates that the content of a few chemical components has changed, but no new component has emerged after compatibility.

Key Words: HPLC, Radices paeoniae rubra, Ligusticum wallichii, compatibility, chemical components of Chinese medicine

Application of Techniques for Cladding Surface of Small Drugs to Preparation of Medicines

[*World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica*] 79