

· 工艺与制剂 ·

## 析因设计法研究炮制对吴茱萸中 3 种主要成分的影响

张晓凤, 刘红玉, 杨蕾, 李飞\*

(北京中医药大学, 北京 100102)

**[摘要]** 目的: 探寻影响吴茱萸中主要成分的炮制因素。方法: 以吴茱萸内酯、吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量为指标, 以加热和辅料为考察因素, 选用  $2 \times 2$  析因试验设计研究炮制对吴茱萸的影响, 用 SAS 软件辅助数据分析。结果: 加热样品比不加热制品中吴茱萸碱含量显著增高 ( $P < 0.05$ ), 吴茱萸次碱极显著增高 ( $P < 0.01$ ), 吴茱萸内酯含量增高, 但无统计学差异; 不加甘草汁制品吴茱萸内酯显著高于加甘草汁制品 ( $P < 0.05$ ), 甘草汁对吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量的影响无统计学意义; 加热和辅料处理的交互作用对吴茱萸内酯含量影响极显著 ( $P < 0.01$ ), 对吴茱萸碱和吴茱萸次碱影响不显著。结论: 加热是影响吴茱萸主要成分含量的炮制因素, 甘草汁的加入对所测定的 3 种成分含量影响不大。

**[关键词]** 吴茱萸; 炮制; 加热; 辅料; 析因设计

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0001-03

## Influence of Processing on Three Main Components of Euodiae Fructus Studied by Factorial Design Method

ZHANG Xiao-feng, LIU Hong-yu, YANG Lei, LI Fei\*

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the factors played important roles in Euodiae Fructus processing. **Method:**  $2 \times 2$  factorial design was used in the processing with heating and adjuvant as independent variable. Evodin, evodiamine and rutaecarpine in Evodia were determined and analyzed by SAS. **Result:** Evodiamine and rutaecarpine in heating products were significantly higher than non-heating ones ( $P < 0.05$ ); evodin increased, but had no significant difference. Evodin in products without licorice was significantly higher than products with licorice ( $P < 0.05$ ); evodiamine and rutaecarpine showed no significant difference with or without of licorice. Heating and adjuvant had remarkable interaction to evodin ( $P < 0.01$ ), but not significant to evodiamine and rutaecarpine. **Conclusion:** The heating was the main factor in Euodiae Fructus processing, while licorice juice had little effect on the content of the three components in Euodiae Fructus measured in this study.

**[Key words]** Euodiae Fructus; processing; heating; adjuvant; factorial design

吴茱萸是常用温里药, 有小毒, 具散寒止痛, 降逆止呕, 助阳止泻的功效<sup>[1]</sup>。其主要成分是生物碱、苦味素和挥发油, 吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内

酯具有确切药理作用<sup>[2-3]</sup>。古今资料记载的吴茱萸炮制方法众多<sup>[4-9]</sup>: 有酒煮、姜汁制、甘草汁制、炒制、盐制、醋制、煨法、焙法、黑豆同炒、九蒸九曝、复制、汤煮、童便制等, 加辅料和加热处理始终是吴茱萸炮制过程中不可缺少的手段。现代对甘草制吴茱萸的研究中, 炮制工艺不一, 炮制后测定的主要成分含量变化也各有不同<sup>[10-11]</sup>, 影响它的炮制因素也不明确。本研究通过  $2 \times 2$  析因设计, 考察甘草炮制吴茱萸过程中加热和辅料对其 3 种主要成分含量的影响, 为

**[收稿日期]** 20101130(013)

**[基金项目]** 国家 973 计划中医基础理论专项 (2009CB522800), (2009CB522805)

**[通讯作者]** \* 李飞, Tel: 010-84738660, E-mail: lf668@sina.com

进一步研究炮制机理提供参考依据。

## 1 仪器与试剂

Waters 1525-2489 型高效液相色谱仪, Breeze 2 数据处理系统; Sartorius BS210S 天平。

吴茱萸, 产地江西, 批号 20100620, 购自安徽亳州药材批发公司, 经北京中医药大学药系张贵君教授鉴定为芸香科植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 的干燥近成熟果实。甘草, 产地内蒙古, 批号 20070317, 购自安国市神禾中药饮片有限责任公司。

吴茱萸碱、吴茱萸内酯(系供含量测定用, 中国药品生物制品检定所, 批号分别为 110802-200606, 110800-200404), 吴茱萸次碱(质量分数 > 98%, 北京亚希尔试剂公司, 批号 A-0267)。乙腈(色谱纯, MREDA 公司), 娃哈哈纯净水, 四氢呋喃(色谱纯), 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 试验设计及检测指标** 采用 2 × 2 析因试验设计, A 因素(加热)和 B 因素(辅料), 各有 2 个水平: A<sub>1</sub>(加热)、A<sub>2</sub>(不加热), B<sub>1</sub>(加甘草汁)、B<sub>2</sub>(不加甘草汁), 共 4 个处理组, 每组重复 3 次。采用 HPLC 测定吴茱萸内酯、吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量。

**2.2 炮制品的制备** 净吴茱萸: 吴茱萸药材除去枝梗等杂质。

制吴茱萸: 参照 2010 年版《中国药典》法, 取甘草片, 加适量水, 煎煮 2 次, 去渣, 浓缩, 得甘草汁, 加入净吴茱萸, 闷润吸尽后, 炒至微干, 取出, 晒干。每 100 kg 吴茱萸, 用甘草 6 kg。

不加热加甘草汁制品: 省略“炒至微干”, 改为“晾干”, 其他炮制工艺同“制吴茱萸”。

加热不加甘草汁制品: 将甘草汁改为等量的清水, 其他炮制工艺同“制吴茱萸”。

**2.3 色谱条件** Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 色谱条件参照 2010 年版《中国药典》中吴茱萸含量测定项<sup>[1]</sup>。

**2.4 对照品溶液的制备** 分别精密称取吴茱萸内酯 7.10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 吴茱萸碱 2.22 mg 和吴茱萸次碱 2.42 mg, 置 50 mL 量瓶中, 均用甲醇溶解并定容至刻度, 备用。

**2.5 标准曲线的制备** 分别精密吸取吴茱萸内酯(0.71 g·L<sup>-1</sup>)、吴茱萸碱(44.4 mg·L<sup>-1</sup>)和吴茱萸次碱(48.4 mg·L<sup>-1</sup>)对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12 μL,

注入高效液相色谱仪, 在上述色谱条件下测定峰面积。峰面积(Y)对进样量(μg)的回归方程分别是: Y<sub>吴茱萸内酯</sub> = 199.13X - 7.388 9, r = 0.999 9; Y<sub>吴茱萸碱</sub> = 10 965X - 38.393, r = 0.999 9; Y<sub>吴茱萸次碱</sub> = 5 486.7X + 20.828, r = 0.999 7。结果表明, 吴茱萸内酯、吴茱萸碱和吴茱萸次碱的线性范围分别在 1.42 ~ 8.52, 0.088 8 ~ 0.532 8, 0.096 8 ~ 0.580 8 μg。

**2.6 样品测定** 按照 2010 年版《中国药典》吴茱萸项下含量测定方法, 制备供试品溶液并检测, 吴茱萸内酯、吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量测定结果见表 1。

表 1 不同炮制方法对吴茱萸样品中各成分质量分数的影响 %

加热方式	加甘草汁			不加甘草汁			
	吴茱萸内酯	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	吴茱萸内酯	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	
加热	1	1.628	0.113	0.137	1.601	0.114	0.138
	2	1.675	0.112	0.135	1.644	0.102	0.128
	3	1.625	0.112	0.131	1.610	0.111	0.136
不加热	1	1.577	0.097	0.120	1.640	0.104	0.124
	2	1.572	0.105	0.125	1.674	0.104	0.124
	3	1.575	0.107	0.127	1.677	0.103	0.127

**2.7 试验数据的统计学分析** 采用 SAS 统计软件分别对吴茱萸内酯、吴茱萸碱和吴茱萸次碱测定结果进行统计学分析, 直观分析结果见表 2, 方差分析结果见表 3 ~ 5。

表 2 吴茱萸内酯、吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量的直观分析 %

加热方式	吴茱萸内酯		吴茱萸碱		吴茱萸次碱	
	(加热)	(辅料)	(加热)	(辅料)	(加热)	(辅料)
加热	1.630	1.609	0.111	0.107	0.134	0.129
不加热	1.619	1.641	0.103	0.106	0.124	0.130

表 3 吴茱萸内酯含量的方差分析

变异来源	DF	SS	MS	F	P
A(加热)	1	0.000 385 33	0.000 385 33	0.89	0.372 8
B(辅料)	1	0.003 136 33	0.003 136 33	7.25	0.027 4
A × B	1	0.009 633 33	0.009 633 33	22.28	0.001 5
误差	8	0.003 458 67	0.000 432 33		
总变异	11	0.016 613 67			

方差分析和直观分析的结果表明, 加热制品比不加热制品中吴茱萸碱含量显著增高(P < 0.05), 吴茱萸次碱含量极显著增高(P < 0.01), 吴茱萸内酯含量增高, 但无统计学差异; 是否加入辅料甘草汁

表4 吴茱萸碱含量的方差分析

变异来源	DF	SS	MS	F	P
A(加热)	1	0.000 161 33	0.000 161 33	9.54	0.014 9
B(辅料)	1	0.000 005 33	0.000 005 33	0.32	0.589 8
A×B	1	0.000 012 00	0.000 012 00	0.71	0.424 1
误差	8	0.000 135 33	0.000 016 92		
总变异	11	0.000 314 00			

表5 吴茱萸次碱含量的方差分析

变异来源	DF	SS	MS	F	P
A(加热)	1	0.000 280 33	0.000 280 33	21.02	0.001 8
B(辅料)	1	0.000 000 33	0.000 000 33	0.02	0.878 3
A×B	1	0.000 001 33	0.000 001 33	0.10	0.759 9
误差	8	0.000 106 67	0.000 013 33		
总变异	11	0.000 388 67			

对吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量的影响无统计学意义,不加甘草汁制品中吴茱萸内酯含量显著高于加甘草汁制品( $P < 0.05$ );加热和辅料处理的交互作用对吴茱萸内酯含量影响极显著( $P < 0.01$ ),对吴茱萸碱和吴茱萸次碱影响不显著。

### 3 讨论

加热炮制可缓和吴茱萸的辛散之力,减小刺激性,但一些生物碱在加热条件下会分解,炮制热处理时应根据生物碱的耐热程度不同,把握适中火候<sup>[12]</sup>。本研究依照2010年版《中国药典》中规定的方法制备各组炮制品,文火加热,在吴茱萸呈五角状裂开,辛香味溢出,表面呈棕褐色时取出、晾干,适中的加热程度或许是吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量升高的原因之一。另外,吴茱萸中含有多种吲哚喹啉类生物碱,在一定加热条件下,有些生物碱或许能转化成吴茱萸碱和吴茱萸次碱,使之含量增高。

炮制中辅料甘草汁对吴茱萸碱和吴茱萸次碱的影响不明显,但会显著降低吴茱萸内酯的含量。任世禾等<sup>[11]</sup>制备甘草制吴茱萸时未经加热,是“摊晒至干”,甘草汁是主要的炮制因素,后测得制品中吴

茱萸内酯的含量降低,与本实验结果相符。吴茱萸内酯是具有双酯结构的环三萜类化合物,作者推测该变化可能是甘草汁中某些成分在常温下使吴茱萸内酯的酯键水解,导致其含量降低。

甘草制吴茱萸非古法,是近代以来才开始使用的炮制方法,吴茱萸经甘草炮制后可降低毒性,缓和燥性,增强温中散寒,疏肝止痛的作用。炮制中加热和辅料甘草对吴茱萸其他成分和药效的影响还表现在哪些方面仍有待进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:160.
- [2] 鲁燕侠,蔺兴遥,逯振宇.吴茱萸的化学成分及临床应用[J].解放军药学学报,2002,18(4):218.
- [3] 戴媛媛,刘保林,窦昌贵.吴茱萸及其有效成分的药理研究进展[J].中药材,2003,26(4):295.
- [4] 李冀,李笑然.普济方注录.第20卷[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1996:卷20:25.
- [5] 王怀隐.太平圣惠方.卷五[M].北京:人民卫生出版社,1982:33.
- [6] 雷敦.雷公炮制论.中卷[M].上海:上海中医学院出版社,1992:118.
- [7] 河南省卫生厅.河南省中药材炮制规范(修订本)[S].1983:225.
- [8] 四川省卫生局.四川中药饮片炮制规范[S].1977:94.
- [9] 方贤.良效奇方.卷4[M].北京:商务印书馆,1959:59.
- [10] 彭永红,罗习珍,伍泽红,等.数种吴茱萸炮制品中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的含量比较[J].江西中医药,2009(7):70.
- [11] 任世禾,汪国权.不同炮制方法对吴茱萸中吴茱萸内酯的影响[J].首都医药,2000,7(9):46.
- [12] 曹月梅.加热炮制法对中药有效成分的影响[J].时珍国医国药,2006,17(12):2539.

[责任编辑 仝燕]