

不同炮制方法对吴茱萸中 3 种指标性成分含量的影响研究

赵金明, 张振秋*

(辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的: 比较吴茱萸生品及不同炮制品中吴茱萸内酯、吴茱萸碱及吴茱萸次碱的含量差异。方法: 采用 Agilent C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈-水(45:55)溶剂系统为流动相, 检测波长为 225 nm。结果: 吴茱萸生品及不同炮制品中三种成分的含量存在明显差异。结论: 不同炮制品中吴茱萸内酯、吴茱萸碱及吴茱萸次碱的含量不同, 为临床用药提供科学的依据。

[关键词] 吴茱萸; 炮制方法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0060-03

Effect of Different Processing Methods on Three Components in *Evodia rutaecarpa*

ZHAO Jin-ming, ZHANG Zhen-qiu*

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** An HPLC method was established for the determination of evodin, evodiamine and rutaecarpine in *Evodia rutaecarpa* and the processed product. **Method:** RP-HPLC method was established with an Agilent C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). The mobile phase was acetonitrile and water (45:55). The detective wavelength was at 225 nm. **Result:** There were obvious differences of the content of three components in *E. rutaecarpa* and the processed product. **Conclusion:** The different processing methods have certain effect on the content of evodin, evodiamine and rutaecarpine. It can provide evidence for the clinical use.

[Key words] *Evodia rutaecarpa*; processing methods; HPLC

吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 的干燥近成熟果实, 辛、苦、热; 归肝、脾、胃、肾经, 具有散寒止痛、降温止呕、助阳止泻的功效^[1]。吴茱萸中含有多种生物碱类成分, 吴茱萸内酯(又称柠檬苦素类)及少量的挥发油等。目前临床用最常用的是以甘草制吴茱萸(药典法), 但文献记载^[2-3], 有醋、酒、姜、盐等炮制方法, 且疗效不同, 而且收录于各省区炮制规范中, 在各地普遍应用。不同炮制品中 3 种指标性成分含量存在差异。已往的实验多以测定吴茱萸内酯含量或同时测定吴

茱萸碱和吴茱萸次碱的含量来控制吴茱萸药材的质量^[4-6], 但同时比较吴茱萸药材不同炮制品中以上 3 种成分含量的报道尚未见到。本实验同时以吴茱萸内酯、吴茱萸碱及吴茱萸次碱 3 种成分为指标, 采用 HPLC 法分别测定吴茱萸生品及不同炮制品中 3 种成分的含量, 旨在全面地评价吴茱萸生品及不同炮制品中生物碱类成分及柠檬苦素类成分的变化, 期为临床用药提供更科学全面的依据。

1 材料

1.1 仪器 美国 Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪; AS3120A 超声波清洗器; AR2140 电子分析天平(上海奥豪斯公司); 202-2 型干燥箱(上海市实验仪器总厂)。

1.2 试药 吴茱萸药材来源于 10 个不同地区, 经我校中药鉴定教研室李峰教授鉴定为芸香科植物吴

[收稿日期] 20100705(001)

[第一作者] 赵金明, 硕士研究生, 研究方向: 药物分析方向, Tel: 0411-87586110, E-mail: mili_zhao@126.com

[通讯作者] * 张振秋, 博士生导师, 教授, Tel: 0411-87586058, E-mail: zhangzhenqiu@sina.com

茱萸 *E. rutaecarpa*. 的干燥近成熟果实,吴茱萸内酯对照品(批号 110800-200404),吴茱萸碱对照品(批号 110802-200505),吴茱萸次碱对照品(批号 0801-9702),均由中国药品生物制品检定所提供;甲醇、乙腈均为色谱纯,水为纯净水,其余试剂均为分析纯。

1.3 样品制法

1.3.1 生吴茱萸 取原药材,出去杂质,洗净,干燥。

1.3.2 甘草制吴茱萸 取净吴茱萸 200 g,生甘草 12.5 g(河北安国)。甘草按常规水煎法煎煮 2 次,滤过,滤液合并,并浓缩至 200 mL,(与吴茱萸 1:1 量)。趁热倒入吴茱萸生药内,闷润,每隔数小时翻拌 1 次,待药汁全部吸尽后,个身膨起,表面潮湿而质软时,取置竹匾内摊晒至干,即得甘草制品。

1.3.3 盐制吴茱萸 取净吴茱萸用热甘草水泡至发胀时取出,加盐水拌匀,闷润透后微火炒至吴茱萸发泡时取出放凉,即得样品。

1.3.4 米醋制吴茱萸 取米醋 30 mL,稀释至 200 mL,取净吴茱萸倒入容器内(1:1),浸透,不时翻动,待吸尽后,闷润 2 h,用文火炒至半干,取出,晾晒至干即得醋制品。

1.3.5 黄酒制吴茱萸 取黄酒 30 mL,稀释至 200 mL,方法与醋制相同。

1.3.6 生姜制吴茱萸 鲜生姜 5 g,捣烂取汁,加水至 200 mL,方法与米醋制相同。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取吴茱萸内酯、吴茱萸碱及吴茱萸次碱对照品适量,用甲醇配制成浓度分别为 0.403 2, 0.009 8, 0.007 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液,备用。

2.2 供试品溶液的制备 取供试样品中粉约 1.0 g,精密称定,加 70% 乙醇 20 mL,加热回流 3 h,放冷,滤过,滤液置 100 mL 量瓶中,用少量 70% 乙醇分次洗涤容器和残渣,洗液滤于同一量瓶中,加 70% 乙醇至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得。

2.3 色谱条件 Agilent C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(45:55),检测波长 225 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样体积 10 μL。

2.4 线性关系考察 取 2.1 项下 3 种对照品溶液,

分别进样 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10 μL,按 2.3 项下色谱条件测定峰面积值。以进样量为横坐标(X),峰面积值为纵坐标(Y),结果见表 1。

表 1 回归方程、相关系数及线性范围

成分	方程	r	范围/μg
吴茱萸内酯	$Y = 144.46X + 63.89$	0.999 6	0.806 4 ~ 4.032
吴茱萸碱	$Y = 9186.72X + 66.58$	0.999 6	0.019 61 ~ 0.098 2
吴茱萸次碱	$Y = 9285.20X - 21.35$	0.999 3	0.014 0 ~ 0.070 12

2.5 精密度试验 精密吸取 2.2 项下方法制备的供试品溶液 10 μL,连续进样 6 次,记录色谱峰的峰面积,结果吴茱萸内酯,吴茱萸碱,吴茱萸次碱峰面积的 RSD 分别为 1.9%, 1.5%, 2.7%。

2.6 稳定性考察 精密吸取 2.2 项下方法制备的供试品溶液 10 μL,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 测定吴茱萸内酯、吴茱萸碱及吴茱萸次碱的峰面积。在 12 h 内其 RSD 分别为 1.65%, 1.62%, 2.48%,说明样品在 12 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批吴茱萸样品 5 份,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.3 项下色谱条件测定含量,结果吴茱萸内酯、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的含量(n=5)的 RSD 分别为 2.0%, 1.6%, 1.1%,表明样品重复性很好。

2.8 加样回收率试验 采用标准加入法,精密称取已测知含量的样品 6 份,分别加入一定量的对照品溶液,按样品测定方法操作,计算回收率。吴茱萸内酯的回收率 100.63%, RSD 1.5%;吴茱萸碱的回收率为 98.56%, RSD 0.8%;吴茱萸次碱的回收率为 98.72%, RSD 1.4%,表明样品回收率符合要求。

2.9 样品含量测定 将吴茱萸生品及其不同炮制品按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.3 项下色谱条件测定吴茱萸内酯、吴茱萸碱及吴茱萸次碱 3 种成分的含量,色谱图见图 1,结果见表 2,3。

表 2 吴茱萸生品及不同炮制品中 3 种成分的含量 %

样品名称	吴茱萸内酯	吴茱萸碱	吴茱萸次碱
吴茱萸生药	1.376	0.031 93	0.070 72
醋制品	1.201	0.025 44	0.064 26
姜制品	1.286	0.044 04	0.064 62
酒制品	1.004	0.049 41	0.072 7
甘草制品	1.126 4	0.030 26	0.044 73
盐制品	0.803 4	0.044 82	0.080 45

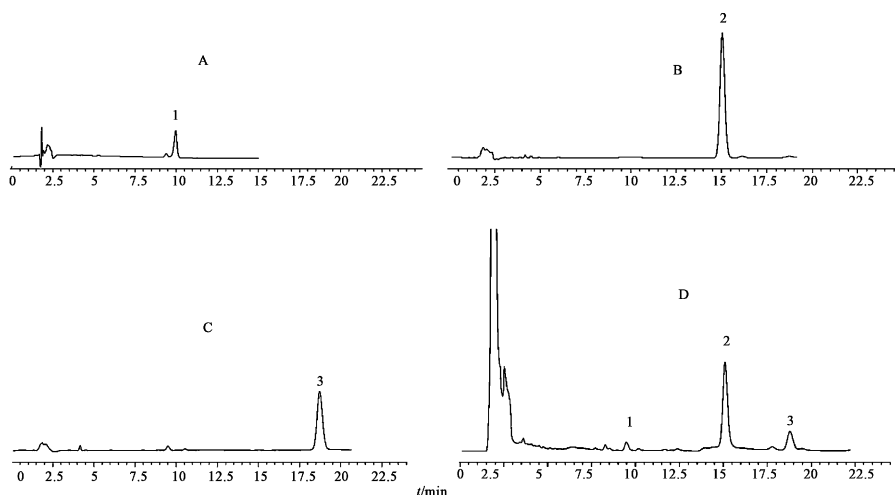


图 1 吴茱萸药材中 3 种成分高效液相色谱

A ~ C. 对照品; D. 吴茱萸药材; 1. 吴茱萸内酯; 2. 吴茱萸碱; 3. 吴茱萸次碱

表 3 不同来源吴茱萸药材甘草制品中吴茱萸内酯、吴茱萸碱和吴茱萸次碱的含量 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

No.	购买地	吴茱萸内酯	吴茱萸碱	吴茱萸次碱
1	河北 安国	8.06	0.202 4	0.226 2
2	贵州 铜仁	35.09	4.958	1.019
3	江苏 南京	5.876	0.175 2	0.129 8
4	上海	25.50	4.522	1.225
5	广东 广州	20.83	1.966	0.594 2
6	江西 江口	15.11	2.029	1.133
7	山东 济南	12.67	0.508 0	0.221 4
8	辽宁 沈阳	8.41	2.563	1.095
9	黑龙江 大庆	8.13	1.781	1.281
10	北京	9.54	0.853 1	0.553 5

3 讨论

分别加水、甲醇、50% 乙醇、70% 乙醇为提取溶剂,加热回流 1 h 或超声提取 30 min。通过比较不同溶剂及其不同浓度提取液 HPLC 图,可以看出醇类溶剂可以将其中的生物碱及吴茱萸内酯提出来,而水则提取的量较少,故选用醇类溶剂。考察 50% 乙醇、甲醇和 70% 乙醇 3 种溶剂,发现后两种溶剂的单位取样量峰面积较大,但考虑到甲醇毒性较大,故选用 70% 乙醇作为提取溶剂。

相同溶剂不同的提取方法所得 HPLC 图中主要峰的单位取样量 (g) 的峰面积相比,以加热回流提取法的峰面积较大,故选择加热回流提取法。

由表 2 可以看出,不同炮制方法对吴茱萸内酯、吴茱萸碱和吴茱萸次碱 3 种成分的影响不一致。

由表 3 可以看出,对不同地区 10 个样品采用 05

版药典法进行炮制均能检出吴茱萸内酯、吴茱萸碱和吴茱萸次碱,但含量有差异,这说明炮制品质量与原药材质量有很大关系,临床用药时应考虑药材的地区,以保证疗效。

吴茱萸碱含量最高的是酒制品,最低为醋制品;吴茱萸次碱含量最高的是盐制品,最低为甘草制品。此结果与文献[3]比较,含量高低次序相同含量范围有所不同,这可能与药材的质量以及提取方法不同有关。

吴茱萸内酯的含量依次按生品、姜制、醋制、甘草制、酒制、盐制下降,此实验结果与文献[6]的结果相似。与吴茱萸含量测定相关文献报道比较,本实验建立的吴茱萸生品及不同炮制品含量比较测定方法更为全面和具有实用性,为吴茱萸药材的质量控制提供了一个科学的方法和依据。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2005:1138.
- [2] 叶定江,张世臣.中药炮制学[M].北京:人民卫生出版社,1993:565.
- [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,2005:6.
- [4] 洪玉梅,范强,王智民.吴茱萸及其炮制品中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的含量比较[J].中国中药杂志,2005,30(7):5591.
- [5] 甄攀,王治宝,白雪梅,等.吴茱萸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱 HPLC 分析[J].中成药,2004,26(3):57.
- [6] 任世禾,汪国权.不同炮制方法对吴茱萸中吴茱萸内酯含量的影响[J].首都医药,2000,7(9):461.

[责任编辑 蔡仲德]