

· 中药工业 ·

不同炮制方法对吴茱萸指标成分含量的影响与评价[△]吴梅青^{1*}, 罗栩强², 唐海飞¹, 陈思¹, 颜涛¹

1. 湘潭医卫职业技术学院, 湖南 湘潭 411102; 2. 中山市仙逸堂中药饮片有限公司, 广东 中山 528436

[摘要] 目的: 研究不同炮制方法对吴茱萸药材指标成分含量的影响。方法: 采用 HPLC 测定 5 个不同产地吴茱萸药材及其炮制品中指标成分含量。结果: 比较不同炮制方法对吴茱萸指标成分含量的影响, 发现吴茱萸炮制品与吴茱萸药材相比较, 3 个指标性成分含量均下降, 其中柠檬苦素含量下降较多, 甘草制吴茱萸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱总量与吴茱萸药材相比无明显变化, 而姜制吴茱萸中 3 种指标成分含量均低于其他炮制品。结论: 不同炮制方法对吴茱萸指标成分含量均产生了一定的影响。该研究为吴茱萸炮制工艺改进及临床用药提供参考。

[关键词] 炮制方法; 吴茱萸; 指标成分; 含量测定

[中图分类号] R282.71; R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2020)07-1108-05

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20190906009

Effects of Different Processing Methods on Content of Index Components in Evodiae Fructus

WU Mei-qing^{1*}, LUO Xu-qiang², TANG Hai-fei¹, CHEN Si¹, YAN Tao¹

1. Xiangtan Medicine Health Vocational College, Xiangtan 411102, China;

2. Zhongshan Xianyitang Chinese Herbal Medicine Co. Ltd., Zhongshan 528436, China

[Abstract] **Objective:** To study the impact of index component content in Evodiae Fructus with different processing methods. **Methods:** The content of index components in *Evodia officinalis* and its processed products from five different producing areas was determined by HPLC. **Results:** It was found that the content of the three active components decreased, and the content of the limonin was much lower by comparison between processed and unprocessed Evodiae Fructus. There was no significant change in the total amount of evodiamine and rutacarpine between processed with Glycyrrhizae Radix and unprocessed Evodiae Fructus. The content of three index components in Evodiae Fructus processed with ginger was lower than that of other products. **Conclusion:** The different processing methods can effect on the content of the raw materials, such as limonin, evodiamine and rutacarpine. The study can provide the basis for the improvement of the processing technology and the clinical medication.

[Keywords] processing methods; Evodiae Fructus; index component; content determination

吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.)Bench. 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], 临床主要用于治疗寒凝疼痛、胃寒呕吐、虚寒泄泻等。吴茱萸入药均是炮制品, 有效的炮制方法是保证吴茱萸药用功效、降低毒性成分的重要措施。吴茱萸的炮制方法很多, 有汤洗、炒、酒炒、醋炒、盐水炒、童便制、黄连制、黑豆汁制等^[2]。现行的炮制方法有酒制、醋制、盐制、姜制、黄连制、甘草制等方法, 收录于各省、地区

炮制规范中, 如 2015 年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)收录了吴茱萸甘草制法, 《贵州省中药饮片炮制规范》收录了姜制、盐制的方法^[3], 《四川省中药饮片炮制规范》(2015 年版)收录了炒制、盐制、醋制、黄连制的方法。生吴茱萸有小毒, 多外用, 长于祛寒燥湿, 用于口疮、牙痛、湿疹; 甘草制后降低毒性, 缓和燥性, 可供内服, 用于寒疝腹痛、寒湿脚气、厥阴头痛、脘腹胀痛、经行腹痛、呕吐吞酸、五更泄泻等; 盐制吴茱萸能增强人肾的作用, 宜用于疝气疼痛^[4-5]; 醋吴茱

[△] [基金项目] 湖南省教育厅科学研究项目(18C1696)

* [通信作者] 吴梅青, 教授, 研究方向: 天然药物的研究与应用; Tel: (0731)58519046, E-mail: wmq0519@sina.com

萸能疏肝镇痛, 姜吴茱萸能散寒止呕, 酒吴茱萸治心腹气滞作痛等^[6]。吴茱萸所含化学成分复杂, 主要包括生物碱类、黄酮类、萜类、酚类以及挥发油等^[7]。吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素是吴茱萸主要药效成分, 具有抗炎镇痛、抗血栓形成、调节体温、保护心脏、抗阿尔茨海默病、抗肿瘤等药理作用, 可以作为吴茱萸药材质量控制的主要指标成分^[8]。有文献报道^[9], 吴茱萸及其炮制品中吴茱萸碱、吴茱萸次碱和柠檬苦素成分含量有变化, 会对临床用药效果产生影响。本研究选取了5个产地不同吴茱萸药材, 并按法定标准方法炮制同一产地吴茱萸药材, 得到甘草制、姜制、盐制、醋制吴茱萸, 并采用HPLC同时测定不同炮制品中指标成分含量的变化, 为优化吴茱萸炮制工艺及不同炮制品在临床的应用提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

高效液相色谱仪(岛津 LC-16L)及工作站, 岛津 SPD-16 紫外可见检测器, 岛津 C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 十万分之一分析天平(赛多利斯 BP211D); KQ3200DB 数控超声波清洗仪(昆山超声仪器有限公司); XL-600B 多功能粉碎机(永康市小宝电器有限公司)。

1.2 试药

吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素对照品(批号分别为: 110802-201409、110801-201608、110800-201406)均购于中国食品药品检定研究院; 甲醇、乙醇、乙腈为色谱纯; 自制超纯水; 四氢呋喃、磷酸均为分析纯。

吴茱萸药材分别购自于湖南邵东廉桥药材市场, 产地分别为湖南岳阳、浏阳、湘乡, 贵州铜仁, 湖南新晃等地。经中山市仙逸堂中药饮片有限公司罗栩强药师鉴定为吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Bench. 的干燥近成熟果实; 吴茱萸炮制品均由对应产地同一批吴茱萸药材按法定标准方法炮制而得; 甘草购自于湖南邵东廉桥药材市场, 经中山市仙逸堂中药饮片有限公司罗栩强药师鉴定为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎。

2 方法和结果

2.1 吴茱萸炮制品的制备

2.1.1 吴茱萸 取原药材, 除去杂质, 洗净, 干燥。

2.1.2 甘草制吴茱萸 参照《中国药典》(2015年版)甘草制吴茱萸的方法^[1]: 取3 g 甘草捣碎, 加适量水, 煎汤, 去渣, 加入50 g 净吴茱萸, 闷润吸尽后, 炒制微干, 取出, 干燥, 即得甘草制品。3份平行样。

2.1.3 姜制吴茱萸 参考相关文献^[9]: 取50 g 生药(3份平行样), 药材与干姜用量比100:7.5, 闷润2 h, 炒制温度150 ℃下炒制8 min, 即得姜制品。3份平行样。

2.1.4 盐制吴茱萸 按照2015年版《四川省中药饮片炮制规范》中盐吴茱萸制法和《中国药典》2015年版四部盐炙法(炮制通则0213): 取50 g 生药(3份平行样), 加适量盐水(1 g 食盐, 用适量水溶解, 滤过, 即得)拌匀, 闷透, 置炒制器内, 以文火加热, 炒至规定的程度时取出, 放凉, 即得盐制品。3份平行样。

2.1.5 醋制吴茱萸 按照2015年版《四川省中药饮片炮制规范》中醋吴茱萸制法和按照2015年版《中国药典》四部醋炙法(炮制通则0213): 取50 g 生药(3份平行样), 用10 g 米醋拌匀, 闷透, 用文火炒至规定的程度时取出, 放凉, 即得醋制品。3份平行样。

2.2 对照品溶液的制备

取吴茱萸碱对照品约2.0 mg、吴茱萸次碱对照品约1.2 mg 和柠檬苦素对照品2.5 mg, 精密称定, 置25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得到含吴茱萸碱0.081 2 mg·mL⁻¹、吴茱萸次碱0.050 4 mg·mL⁻¹、柠檬苦素0.101 8 mg·mL⁻¹的混合溶液, 即为对照品溶液。

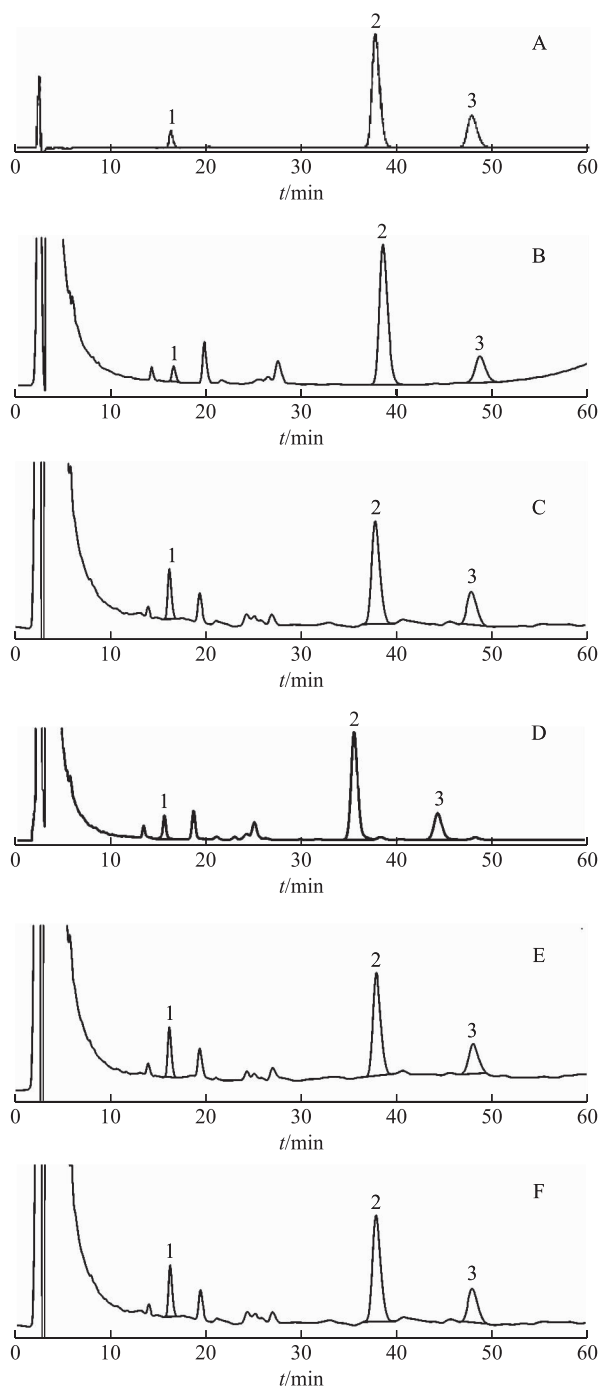
2.3 供试品溶液的制备

取2.1项下的5种吴茱萸样品适量, 打粉, 过三号筛。取粉末约0.3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入70%乙醇25 mL, 称定质量, 浸泡1 h, 超声处理(功率300 W, 频率40 kHz)40 min, 放冷, 再称定质量, 用70%乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液^[1]。

2.4 色谱条件

色谱柱: 岛津 C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温: 25 ℃; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为215 nm; 流动相: [乙腈-四氢呋喃(25:15)] - 0.02% 磷酸溶液(35:65); 进样量: 10 μL。对照品

及供试品色谱图见图1。



注: A. 对照品; B. 吴茱萸药材; C. 甘草制吴茱萸; D. 姜制吴茱萸; E. 盐制吴茱萸; F. 醋制吴茱萸; 1. 柠檬苦素; 2. 吴茱萸碱; 3. 吴茱萸次碱。

图1 吴茱萸药材及炮制品 HPLC 图

2.5 线性关系考察

取2.2项下对照品溶液,分别进样2.0、4.0、6.0、8.0、10 μL,按2.4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。结果表明3种成分在进样量范围内线性关系良好。

表1 吴茱萸碱、吴茱萸次碱和柠檬苦素的回归方程、相关系数和线性范围

成分	回归方程	r	线性范围/μg
吴茱萸碱	$Y = 0.0802X - 0.0088$	0.9995	0.1584 ~ 0.7972
吴茱萸次碱	$Y = 0.0504X - 0.0066$	0.9987	0.09265 ~ 0.4892
柠檬苦素	$Y = 0.1034X - 0.0269$	0.9973	0.1856 ~ 0.9932

2.6 精密度试验

精密吸取2.3项下方法制备的湖南岳阳产吴茱萸药材供试品溶液10 μL,连续进样6次,并记录色谱峰的峰面积,结果表明,柠檬苦素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的峰面积的RSD分别为2.1%、2.5%、3.0%。说明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

精密吸取2.3项下方法制备的湖南岳阳产吴茱萸药材供试品液10 μL,分别于0、2、3、8、12、24 h测定柠檬苦素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的峰面积。在24 h内其RSD分别为1.8%、2.7%、3.1%,说明样品在24 h内稳定。

2.8 重复性试验

取同一批湖南岳阳产吴茱萸药材样品5份,按2.3项下方法制备供试品液,按2.4项下色谱条件测定其柠檬苦素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱含量,结果柠檬苦素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱含量(n=5)的RSD分别为1.5%、2.3%、2.9%。表明该方法重复性较好。

2.9 加样回收率试验

称取已测含量的湖南岳阳产吴茱萸药材样品6份(柠檬苦素质量分数为1.583%、吴茱萸碱质量分数为0.452%、吴茱萸次碱质量分数为0.248%)约0.1 g,精密称定,共6份,分别精密加入已知含量的对照品混合溶液5 mL,按2.3项下方法进行处理,按2.4项下色谱条件进行分析,计算回收率。结果见表2。结果表明样品回收率符合要求。

2.10 样品指标成分测定结果

分别取2.1项下方法制的吴茱萸药材、甘草制、姜制、盐制和醋制吴茱萸样品,按2.3项下方法制备样品溶液。精密吸取10 μL进样测定,按外标法计算样品中柠檬苦素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的含量。平行测定3次,结果取平均值,测定结果见表3。

表 2 柠檬苦素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱加样回收率试验结果($n=6$)

成分	称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
柠檬苦素	0.101 0	1.599	0.509	2.096	97.6	96.93	2.93
	0.099 3	1.573	0.509	2.064	96.5		
	0.100 7	1.594	0.509	2.072	93.9		
	0.101 1	1.601	0.509	2.12	102.0		
	0.096 6	1.529	0.509	2.011	94.7		
	0.099 8	1.581	0.509	2.074	96.9		
吴茱萸碱	0.101 0	0.457	0.406	0.851	97.0	97.53	1.94
	0.099 3	0.449	0.406	0.842	96.8		
	0.100 7	0.455	0.406	0.844	95.8		
	0.101 1	0.458	0.406	0.849	96.3		
	0.096 6	0.437	0.406	0.847	101.0		
	0.099 8	0.452	0.406	0.851	98.3		
吴茱萸次碱	0.101 0	0.251	0.252	0.494	96.4	97.48	2.56
	0.099 3	0.247	0.252	0.488	95.6		
	0.100 7	0.249	0.252	0.491	96.0		
	0.101 1	0.251	0.252	0.496	97.2		
	0.096 6	0.239	0.252	0.497	102.4		
	0.099 8	0.248	0.252	0.493	97.2		

表 3 吴茱萸及不同炮制品中 3 种指标成分含量的测定结果($n=3$)

产地	样品名称	柠檬苦素	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	吴茱萸总碱
湖南岳阳	药材	1.583	0.452	0.248	0.700
	甘草制品	1.165	0.443	0.231	0.674
	姜制品	1.424	0.367	0.185	0.552
	盐制品	1.208	0.415	0.198	0.613
	醋制品	1.341	0.427	0.226	0.653
湖南浏阳	药材	1.763	0.312	0.196	0.508
	甘草制品	1.478	0.297	0.185	0.482
	姜制品	1.532	0.281	0.158	0.439
	盐制品	1.356	0.308	0.169	0.477
	醋制品	1.472	0.334	0.176	0.510
湖南湘乡	药材	1.077	0.522	0.264	0.786
	甘草制品	0.742	0.511	0.247	0.758
	姜制品	0.821	0.444	0.204	0.648
	盐制品	0.776	0.451	0.221	0.672
	醋制品	0.784	0.496	0.239	0.735
贵州铜仁	药材	1.070	0.295	0.428	0.723
	甘草制品	0.724	0.282	0.415	0.697
	姜制品	0.846	0.233	0.347	0.580
	盐制品	0.778	0.268	0.354	0.622
	醋制品	0.803	0.271	0.404	0.675
湖南新晃	药材	1.224	0.389	0.204	0.593
	甘草制品	0.778	0.364	0.196	0.560
	姜制品	0.836	0.245	0.175	0.420
	盐制品	0.753	0.306	0.183	0.489
	醋制品	0.875	0.341	0.187	0.528

以湖南岳阳产吴茱萸炮制前后 3 种指标成分比较, 结果见图 2。

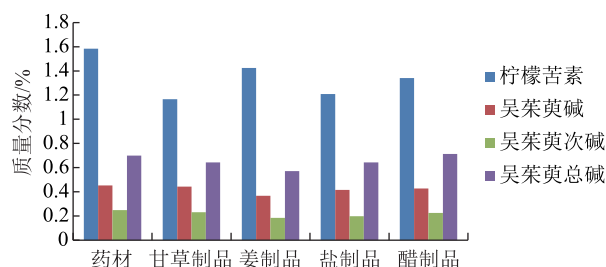


图 2 湖南岳阳产吴茱萸炮制前后指标成分含量比较

由表 3 和图 2 可知, 5 个不同产地的吴茱萸药材, 含有的柠檬苦素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的含量也有差异; 同一产地不同炮制品中柠檬苦素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的含量变化明显; 柠檬苦素含量变化趋势: 药材 > 姜制品 > 醋制品 > 盐制品 > 甘草制品; 吴茱萸碱含量变化趋势: 药材 > 甘草制品 > 醋制品 > 盐制品 > 姜制品; 吴茱萸次碱含量变化趋势: 药材 > 甘草制品 > 醋制品 > 盐制品 > 姜制品。

3 讨论

《中国药典》(2015 年版) 收载吴茱萸炮制项目有吴茱萸和制吴茱萸, 其中制吴茱萸为甘草汁制, 其方法为: 取甘草捣碎, 加适量水, 煎汤, 去渣, 加入净吴茱萸, 闷润吸尽后, 炒制微干, 取出, 干

燥,每100 kg 吴茱萸用甘草6 kg^[1]。现今对于吴茱萸的炮制研究中均以制吴茱萸饮片品种为主,因为吴茱萸经甘草炮制后能降低毒性、缓和燥性^[8],达到增效解毒目的。本实验按照法定标准中规定的方法炮制了5个产地共25个吴茱萸样品,所测吴茱萸药材和不同炮制品中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的总量为0.420%~0.786%、柠檬苦素的质量分数为0.724%~1.763%,均高于《中国药典》(2015年版)规定的炮制品下限(吴茱萸碱和吴茱萸次碱总量 $\geq 0.15\%$,柠檬苦素 $\geq 0.2\%$)。

实验数据显示,甘草制吴茱萸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱总量与吴茱萸药材相比无明显变化,而醋制中3种指标成分都高于盐制和姜制,吴茱萸的醋制品有引药入肝、理气止血、散癖止痛等^[10]的作用,与吴茱萸醋制后3种指标成分的变化是否有关联性还需进一步研究。姜制吴茱萸中3种指标成分的含量最低。炮制品中柠檬苦素与吴茱萸药材相比含量明显降低,可能与柠檬苦素中的内酯容易水解有关。该研究为吴茱萸不同炮制品在临床的应用提供了有利依据,但临床作用机制还有待进一步研究。

产地不同的吴茱萸药材,柠檬苦素和吴茱萸碱、吴茱萸次碱的含量也有差异,可能与产地环境、采收时间、吴茱萸品种、树龄等有关系。分析实验数据还发现,吴茱萸总碱含量偏高的药材,柠檬苦素

的含量偏低,说明吴茱萸柠檬苦素的量和总生物碱的量有某种相关关系,具体原因需要进一步实验研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:171-172.
- [2] 杨立平. 吴茱萸炮制研究进展[J]. 湘南学院学报(自然科学版),2005,7(7):68-70.
- [3] 马青青,许文清,张利锋. 不同炮制方法对吴茱萸水溶性成分的影响[J]. 化工管理,2016,35(12):103-105.
- [4] 刘铎,鲁建美,吕露阳. 吴茱萸炮制品的质量标准研究[J]. 中药与临床,2016,7(2):32-35.
- [5] 张中社,龙全江. 中药炮制技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2018:199.
- [6] 肖洋,段金芳,刘影,等. 吴茱萸炮制方法和功能主治历史沿革[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(3):223-228.
- [7] 尹元元. 吴茱萸化学成分及质量控制研究[D]. 郑州:河南中医学院,2014.
- [8] 刘湘丹,蔡嘉洛,邹君华. 吴茱萸及其炮制品中吴茱萸碱、吴茱萸次碱和柠檬苦素成分含量对比分析[J]. 中医药导报,2016,22(3):39-41.
- [9] 张晓凤,刘红玉,谭鹏. 炮制对吴茱萸主要成分溶出的影响[J]. 解放军药学报,2012,28(2):133-135.
- [10] 陈华国,马青青,周欣,等. 指纹图谱技术优选姜制吴茱萸的炮制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(1):32-36.

(收稿日期:2019-09-06 编辑:王笑辉)