

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.03.018

市售制吴茱萸中甘草汁成分质量标准研究*

董文杰, 轩辕欢, 李伟, 陈良, 赵慧

(新疆医科大学附属中医医院, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要:目的 探讨市售制吴茱萸中甘草汁成分的质量标准。方法 用甘草药材与吴茱萸药材自行炮制吴茱萸,采用高效液相色谱梯度洗脱法检测并比较自行炮制吴茱萸与市售吴茱萸中甘草汁成分含量。结果 自行购买吴茱萸与甘草中特征性成分吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素及甘草苷、甘草酸符合2015年版《中国药典(一部)》要求,且其中甘草汁成分相近,均符合2015年版《中国药典(一部)》要求。结论 通过试验可掌握市售吴茱萸甘草汁炮制品中甘草苷、甘草酸含量情况。应以2015年版《中国药典(一部)》对制吴茱萸的各项规定为基础,明确规定制吴茱萸的制法、检查、浸出物、含量测定,为制订甘草汁制吴茱萸更完善的质量标准提供参考。

关键词:市售制吴茱萸;甘草汁;含量;质量标准

中图分类号:R932;R288

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)03-0060-04

Quality Standard of Glycyrrhiza Juice Components in Commercially Processed *Evodia rutaecarpa*

DONG Wenjie, XUANYUAN Huan, LI Wei, CHEN Liang, ZHAO Hui

(Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, China 830000)

Abstract: Objective To explore the quality standard of glycyrrhiza juice components in commercially processed *Evodia rutaecarpa*. Methods Processed *Evodia rutaecarpa* was processed by glycyrrhiza and *Evodia rutaecarpa*. The contents of glycyrrhiza juice in self-processed *Evodia rutaecarpa* and marketed *Evodia rutaecarpa* were detected by high performance liquid chromatography (HPLC) method. Results The characteristic components of rutaecarpa, evodiamine, limonin, glycyrrhizin and glycyrrhizic acid in *Evodia rutaecarpa* and licorice purchased by ourselves met the requirements of *Chinese Pharmacopoeia* (2015 edition, Volume I), and the components of licorice juice in self-processed *Evodia rutaecarpa* and marketed *Evodia rutaecarpa* were similar, which both met the requirements of *Chinese Pharmacopoeia* (2015 edition, Volume I). Conclusion The contents of glycyrrhizin and glycyrrhizic acid in processed products of *Evodia rutaecarpa* from glycyrrhiza juice in the market can be mastered through experiments. Based on the provisions in the *Chinese Pharmacopoeia* (2015 edition, Volume I) on the preparation of *Evodia rutaecarpa*, the preparation method, inspection, extract and content determination of *Evodia rutaecarpa* are clearly stipulated. It provides a basis for formulating more complete quality standards of *Evodia rutaecarpa* from glycyrrhiza juice.

Key words: commercially processed *Evodia rutaecarpa*; glycyrrhiza juice; content; quality standard

吴茱萸 *Tetradium ruticarpum* 为芸香科植物吴茱萸、石虎或疏毛吴茱萸的干燥近成熟果实,味辛、苦、热,有小毒^[1]。其具有散寒止痛、降逆止呕、助阳止泻等功效,临床多用于治疗厥阴头痛、呕吐吞酸、寒疝、脘腹、经行腹痛及五更泄泻等症^[2-3]。吴茱萸所含成分对胃肠道、心血管及免疫系统有一定疗效^[4]。吴茱萸有多种炮制方法,如醋炒、酒炒、黄连制、黑豆汁制等,但目前临床常用的有生吴茱萸与甘草汁制吴茱萸2种^[5-6]。吴茱萸生品与甘草汁制吴茱萸制品均有明显的镇痛作用^[7],且后者可明显降低生品中的挥发油含量,从而减轻毒副作用^[8]。吴茱萸质量指标的特征性成分为吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素^[9],甘草汁制吴茱萸的特征性成分为甘草苷、甘草酸^[10]。本研究采用高效液相色谱梯度洗脱法对市售甘草汁制吴茱萸中甘草汁主成分甘草苷和甘草酸进行含量检测,以2015年版《中国药典(一部)》对制吴茱萸的各项规定为基础,明确规定制吴茱萸的制法、检查、浸出物、含量测定^[11],为完善甘草汁制吴茱萸质量标准提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-20ADXR型高效液相色谱仪(日本岛津公司),包括LC-20AT型四元泵,SIL-20型进样器,SPD-20A紫外检测器,岛津色谱检测工作站;Waters2996型检测器(美国Waters公司);美国丹佛si-234型天平(0.0001,天赐百年北京科技有限公司);DL-820E型超声波清洗仪(频率50 Hz,30 min,功率250 kHz,上海之信仪器有限公司);800A型手提式磨粉机(乌鲁木齐市汇福源医疗器械有限公司)。

1.2 试剂

不同产地的吴茱萸甘草汁制品8批(批号分别为180906,180721,180516,180618,180809,180515,180523,180708),其中广西、浙江、江西、湖北各2批;甘草均购自内蒙古自治区(批号为171215),胀果甘草或光果甘草药材各1批(产地均为广西,批号分别为171023,171008);市售吴茱萸药材2批(批号分别为180723,181213);吴茱萸碱对照品(批号为180612)、吴

*基金项目:新疆医科大学附属中医医院院级课题[ZYY2017PZ1]。

第一作者:董文杰,男,大学本科,主管中药师,研究方向为中药炮制,(电子信箱)hfhj8695@163.com。

茱萸次碱对照品(批号为180506)、柠檬苦素甘草酸对照品(批号为180423),甘草苷对照品(批号为180603),均购自中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯,水为纯化水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 吴茱萸特征性成分

溶液制备:称取吴茱萸碱对照品 80 μg,吴茱萸次碱对照品 50 μg,柠檬苦素对照品 0.1 mg,精密称定,加入 1 mL 甲醇溶解,配置成每 1 mL 含吴茱萸碱 80 μg、吴茱萸次碱 50 μg、柠檬苦素 0.1 mg 的混合溶液,即得对照品溶液。称取已过 3 号筛的吴茱萸生粉 0.3 g,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,再精密加入 70% 乙醇 25 mL,密塞,称定质量,浸泡 1 h,超声处理(功率 300 W,频率 40 kHz)40 min,放冷至室温,再称定质量,加 70% 乙醇补足减失的质量,摇匀,过滤,取续滤液即得供试品溶液。

测定:采用液相色谱自动进样,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;流动相为[乙腈-四氢呋喃(25:15)]-0.02% 磷酸溶液(35:65, V/V),检测波长为 215 nm,流速为 1.0 mL/min,进样量为 10 μL,柱温为 30 °C,理论板数按柠檬苦素峰计算应不低于 3 000。

2.1.2 甘草成分甘草苷、甘草酸

溶液制备:称取甘草苷对照品 20 μg、甘草酸对照品 0.2 mg,精密称定,加入 70% 乙醇 1 mL,配置成每 1 mL 含甘草苷 20 μg、甘草酸 0.2 mg 的混合溶液,即得对照品溶液(甘草酸质量 = 甘草酸铵质量/1.0207)。称取已过 3 号筛的粉末 0.2 g,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇 100 mL,塞子密封,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)30 min,置冷至室温,过滤,取续滤液即得供试品溶液。

测定:利用液相色谱自动进样,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;流动相为乙腈(A)-0.05% 磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~8 min 时 19% A,8~35 min 时 19% A~50% A,35~36 min 时 50%~100% A,36~40 min 时 19% A);流速为 1.0 mL/min,进样量为 10 μL,柱温为 30 °C,检测波长为 237 nm,理论板数按甘草苷峰计算应不低于 5 000。

2.2 方法学考察

线性关系考察:分别精密吸取吴茱萸碱对照品、吴茱萸次碱对照品、柠檬苦素混合溶液,以及甘草苷、甘草酸混合对照品溶液 1,2,4,6,8,10 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积,以进样量($X, \mu\text{g}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线,结果见表 1。

精密度试验:取同批(批号为 180906)样品,按照 2.1 项下方法制备供试品溶液,连续测定 6 次,测量后

表 1 吴茱萸与甘草成分线性范围考察结果($n=6$)

成分	线性回归方程	线性范围(μg)	相关系数(r)
吴茱萸碱	$Y=157\,392X-38261$	0.063 9~0.251 5	0.999 9
吴茱萸次碱	$Y=45\,291X-11847$	0.038 9~0.132 4	0.999 6
柠檬苦素	$Y=28\,031X-5781$	0.000 1~0.198 2	0.999 8
甘草苷	$Y=31.075X+11.041$	0.016 9~0.167 1	0.999 7
甘草酸	$Y=30.871X+1.0052$	0.058 0~0.521 8	0.999 9

液相离线分析。结果吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素、甘草苷、甘草酸铵峰面积的 RSD 分别为 1.15%,1.15%,0.78%,1.37%,1.41% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取同一批(批号为 180906)样品,按 2.1 项下方法制备供试品溶液,分别于 0,4,8,1,16,24 h 时进样测定。结果吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素、甘草苷、甘草酸铵峰面积的 RSD 分别为 2.18%,2.05%,2.11%,0.53%,1.06% ($n=6$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

重复性试验:取同一批(批号为 180906)样品,按 2.1 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,自动进样分析,液相离线工作站分析供试品溶液的峰面积。结果吴茱萸碱、吴茱萸次碱及柠檬苦素、甘草苷、甘草酸铵峰面积的 RSD 分别为 1.63%,1.92%,0.74%,1.22%,1.17% ($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:称取 6 份已知含量的样品粉末,精密称定,精密加入相应量的混合对照品溶液,按 2.1 项下方法制备溶液,平行测定 6 次,计算回收率。结果吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素、甘草苷、甘草酸铵的平均回收率分别为 97.83%,104.05%,100.83%,98.94%,99.52%,RSD 分别为 1.94%,0.59%,1.54%,1.02%,1.41% ($n=6$)。

2.3 市售甘草及吴茱萸含量测定

按 2.1 项下样品处理方式对甘草及吴茱萸(各 2 批)进行处理,采用高效液相色谱梯度洗脱法检测。结果见表 2。可见,各市售吴茱萸中甘草含量无显著差异($P>0.05$),均符合 2015 年版《中国药典(一部)》要求^[11]。

表 2 市售吴茱萸及甘草中主要成分含量检测结果(%)

成分	市售吴茱萸				甘草			
	1	2	t 值	P 值	胀果甘草	光果甘草	t 值	P 值
吴茱萸碱	0.26±0.02	0.32±0.05	-1.930	0.126				
吴茱萸次碱	0.32±0.08	0.43±0.04	-2.130	0.100				
柠檬苦素	0.41±0.01	0.39±0.03	1.095	-0.335				
甘草苷					0.73±0.06	0.69±0.02	1.095	0.335
甘草酸					2.61±0.31	2.73±0.37	-0.431	0.689

2.4 制吴茱萸内各成分测定

甘草制吴茱萸制备:将甘草、胀果甘草或光果甘草生药材各 1 批,市售吴茱萸生药材 2 批,按 2.1 项下方

法进行检测,按2015年版《中国药典(一部)》规定炮制方法,即取甘草捣碎,加适量水,煎汤,去渣,加入净吴茱萸,闷润吸尽后,炒至微干,取出,干燥至甘草苷、甘草酸的普遍水平(100 g 吴茱萸使用 6 g 甘草),作为 3 种自行炮制品。

测定:测定全国范围内收集的 8 批市售吴茱萸甘草汁制品及 3 种甘草自行炮制品中甘草酸、甘草苷含量,吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素峰、甘草酸,甘草苷的平均值。结果见表 3。可见,市售制吴茱萸中甘草汁成分各个地区稍有差异,但均符合 2015 年版《中国药典(一部)》标准;不同产地吴茱萸甘草汁制品中甘草苷与甘草酸含量与 3 批自行炮制品含量相近,各个产地制吴茱萸各成分间无显著差异。

表 3 制吴茱萸各成分含量测定结果(%)

产地	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	柠檬苦素	甘草苷	甘草酸
湖北	0.11±0.01	0.26±0.02	0.33±0.01	1.14±0.05	3.02±0.10
湖北	0.15±0.03	0.21±0.02	0.28±0.03	1.21±0.07	2.98±0.09
浙江	0.22±0.01	0.31±0.01	0.28±0.03	1.11±0.03	2.94±0.07
浙江	0.18±0.01	0.22±0.01	0.25±0.04	0.96±0.03	3.08±0.08
江西	0.11±0.02	0.27±0.03	0.26±0.03	1.19±0.04	3.11±0.08
江西	0.23±0.01	0.25±0.02	0.22±0.02	0.91±0.03	2.93±0.04
广西	0.19±0.03	0.25±0.04	0.24±0.02	1.03±0.03	2.86±0.05
广西	0.18±0.01	0.27±0.01	0.19±0.03	0.92±0.03	2.94±0.07
自行炮制 1	0.13±0.02	0.21±0.02	0.27±0.03	0.94±0.03	2.60±0.06
自行炮制 2	0.11±0.02	0.23±0.02	0.25±0.01	0.99±0.02	2.77±0.04
自行炮制 3	0.15±0.01	0.27±0.02	0.19±0.01	0.97±0.03	2.87±0.06
Z 值	1.023	0.985	0.759	2.052	0.451
P 值	0.341	0.316	0.153	0.113	0.712

3 讨论

吴茱萸生、熟入药,功效有差异,作用不同^[12]。甘草汁制吴茱萸又称为制吴茱萸,由《景岳全书》中内容发展而来的炮制方法,且沿用至今。甘草为豆科植物甘草、胀果甘草或光果甘草的干燥根及根茎,具有补脾益气、缓急止痛、调和诸药、祛痰止咳的功效^[13]。药理、毒理试验研究表明,吴茱萸生品与甘草制品均有明显镇痛作用^[14],且甘草制品可明显降低吴茱萸生品中挥发油含量,从而降低其毒副作用,起到减毒增效作用^[15]。吴茱萸含有的吴茱萸碱具有镇痛、健胃、止噯酸、止干呕等功效,吴茱萸次碱具有抗心律失常、抗高血压等作用。甘草汁炮制吴茱萸后经检测均含有甘草苷、甘草酸,具有类似肾上腺皮质激素样作用^[16]。若不考虑加热因素,加入甘草汁可促进吴茱萸碱性成分溶出^[7]。随着炮制过程中煎煮时间的延长,吴茱萸饮片中甘草苷及甘草酸总含量会升高,而吴茱萸碱 3 种成分含量均降低^[17]。2015 年版《中国药典(一部)》中吴茱萸炮制方法为炒制,其中甘草汁的制备及其含量标准已有详细报道^[11],但关于其中甘

草化学成分含量的质量标准鲜有报道。

本研究结果显示,3 批自行炮制甘草制吴茱萸制品与各地购买制品甘草苷与甘草酸含量均达到 2015 年版《中国药典(一部)》质量要求,质量均达标。多批市售甘草制吴茱萸质量优于自行炮制品,表明甘草制吴茱萸制品市场炮制技术基本成熟,产品达标率高。肖碧英等^[10]研究表明,吴茱萸经甘草炮制时间越长,其含有的甘草苷与甘草酸的含量越高,吴茱萸碱、吴茱萸次碱及柠檬苦素含量逐渐降低,表明吴茱萸经甘草炮制后其中含有的成分发生了变化,甘草制吴茱萸能起到吴茱萸熟用作用,该研究中探究了甘草制吴茱萸的最佳提取方法与检测条件,其对制吴茱萸的检测结果与本研究结果相似。故以上研究检测甘草制吴茱萸中甘草苷及甘草酸方法简单、操作便捷、结果准确、重复率高,可为制吴茱萸质量标准建立提供参考。

综上所述,本研究基于 2015 年版《中国药典(一部)》吴茱萸炮制品标准,调查市售制吴茱萸产品的炮制情况,为今后制订更加完善的炮制品辅料的质量标准提供参考,为医院临床使用吴茱萸药材甘草汁制品的质量控制提供参考。

参考文献:

- [1] 楼璐璐,徐姗姗,方淡思. 吴茱萸化学成分与质量控制研究进展[J]. 中华中医药学刊,2017,35(8):2154-2157.
- [2] 李懿恒,黄佳楠,刘 潇,等. 吴茱萸和臭辣吴茱萸果实化学成分及不同采收时间主要成分含量的变化[J]. 植物资源与环境学报,2018,27(1):112-114.
- [3] 杨春花. 吴茱萸汤加减治疗寒凝血瘀型原发性痛经疗效观察[J]. 国际中医中药杂志,2015,37(9):845-847.
- [4] 任海霞,罗和生,唐勤彩,等. 吴茱萸碱在胃肠疾病中的研究进展[J]. 医学综述,2018,24(16):3253-3258.
- [5] 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.
- [6] 刘舒凌,张晟瑞,韦 慧,等. 炮制降低吴茱萸肝毒性作用的初步研究[J]. 中药材,2018,41(3):73-78.
- [7] 何新荣,古 今,朱 旻,等. 基于物质基础研究甘草用量对吴茱萸和制吴茱萸煎出率的影响[J]. 中药材,2017,40(11):86-89.
- [8] 张晟瑞,刘舒凌,钟振国,等. 吴茱萸不同炮制品对人正常肝细胞 L02 的体外肝毒性研究[J]. 中华中医药学刊,2017,35(10):202-205.
- [9] 林伟雄,乐智勇,车海燕,等. 吴茱萸汤颗粒剂、配方颗粒剂及传统汤剂中指标成分的含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(13):30-34.
- [10] 肖碧英,毛淑杰,钮正睿,等. 甘草汁不同方法炮制吴茱萸其成分含量的变化的规律[C]//全国中药学术研讨会. 武汉:中国中西医结合学会,2010:137-142.
- [11] 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.