

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)23-0080-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.23.017



不同贮藏条件下吴茱萸饮片稳定性考察*

罗干明, 朱小凤, 江 珊

(广东省佛山市食品药品检验检测中心, 广东 佛山 528000)

摘要:目的 考察吴茱萸饮片的贮藏稳定性及指标性成分吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素含量在不同干燥、光照、避光条件下的稳定性。方法 分别采用牛皮纸袋、真空和非真空聚乙烯塑料袋包装12批吴茱萸饮片,分别在温度为16~17℃、相对湿度为50%~60%的药品阴凉柜中贮藏0~3年,按2020年版《中国药典(一部)》标准方法测定性状、水分、浸出物,并采用高效液相色谱法测定饮片中吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素分别在0,60,80,105℃干燥,159 lx照射0,4,8,16,32 h,室温避光放置0,1,3,5 d条件下的含量。结果 随着贮藏时间的延长,吴茱萸饮片的性状均无显著变化,水分为9.34%~14.13%,浸出物为42.75%~51.15%;吴茱萸碱和吴茱萸次碱的总含量为0.35%~5.02%,整体呈升高趋势;柠檬苦素含量为0.08%~1.81%,整体呈降低趋势,其中2批含量不符合标准规定(不得少于0.20%)。含量稳定性试验结果显示,吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素在不同干燥及避光条件下的含量分别为0.94%~0.96%、0.56%~0.57%、0.52%~0.54%和0.96%~0.97%、0.57%~0.58%、0.52%~0.53%;吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素在不同光照条件下的降解残存率分别为83.02%~100.00%、98.36%~100.00%、36.67%~100.00%。结论 吴茱萸饮片在阴凉、避光条件下可贮藏较长时间,分析和开发含吴茱萸的制剂时应尽量避免光操作。

关键词: 吴茱萸饮片; 高效液相色谱法; 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; 柠檬苦素; 贮藏条件; 稳定性

Stability of Evodiae Fructus Decoction Pieces Under Different Storage Conditions

LUO Ganming, ZHU Xiaofeng, JIANG Shan

(Foshan Food and Drug Inspection and Testing Center, Foshan, Guangdong, China 528000)

Abstract: Objective To investigate the storage stability of Evodiae Fructus decoction pieces and the stability of the index components of evodiamine, rutaecarpine, and limonin content under different dry, light, and dark conditions. **Methods** Twelve batches of Evodiae Fructus decoction pieces were packaged in kraft paper bags, vacuum and non-vacuum polyethylene plastic bags, and stored in a cool cabinet with temperature of 16-17℃ and relative humidity of 50%-60% for 0-3 years. The properties, moisture, and extracts of the decoction pieces were determined according to the standard methods in the *Chinese Pharmacopoeia* (2020 Edition, Volume I). High-performance liquid chromatography (HPLC) method was used to determine the content of evodiamine, rutaecarpine, and limonin in the decoction pieces dried at 0, 60, 80, and 105℃, irradiated with 159 lx for 0, 4, 8, 16, and 32 h, and stored in dark at room temperature for 0, 1, 3, and 5 d. **Results** With the prolongation of storage time, there was no significant change in the properties of Evodiae Fructus decoction pieces, with moisture content of 9.34%-14.13% and extract content of 42.75%-51.15%. The total content of evodiamine and rutaecarpine was in the range of 0.35%-5.02%, showing an overall upward trend. The content of limonin is in the range of 0.08%-1.81%, showing a decreasing trend overall. Among them, the content of two batches did not meet the standard requirements (not lower than 0.20%). The results of the content stability test

*基金项目: 广东省药品监督管理局药品抽检计划[粤药监办执法[2019]51号]。

第一作者: 罗干明, 男, 大学本科, 副主任中药师, 研究方向为药品质量评价与中药质量标准, (电子邮箱)2449280994@qq.com。

- [14] 侯文川, 杨林林, 邢 冰, 等. 基于 ISSR 的半夏离体培养材料遗传稳定性研究[J]. 中药材, 2022, 45(1): 7-12.
- [15] 苗徐静, 文 壮, 文晓鹏. 草莓组织培养苗遗传稳定性的 ISSR 检测及 DNA 甲基化变异[J]. 分子植物育种, 2019, 17(2): 531-538.
- [16] 李 琪, 吴 栋, 吴延妮, 等. LED 光质对两种金线莲组织培养苗生理特征和代谢物质的影响[J]. 南昌大学学报(理科版), 2021, 45(1): 56-62.
- [17] 杨晓琼, 何 璐, 廖承飞, 等. 香叶天竺葵组织培养苗与扦插苗有效活性成分测定及其抗氧化活性研究[J]. 江西农业学报, 2022, 34(6): 7-13.
- [18] 范小华, 郭清坤, 吴锦文, 等. 酸性乙醇提取芦笋下脚料黄酮的工艺研究[J]. 福建轻纺, 2010(6): 32-35.
- [19] 张 锋. 大鼠血浆中牡荆素鼠李糖苷的质量浓度测定[J]. 中国药业, 2010, 19(12): 33-34.
- [20] 盛亚男, 王长远. 牡荆素预防和治疗疾病作用机制研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(17): 2156-2161.
- [21] 石嘉峰, 张 冉, 梁富强, 等. 谷物植物化学物中 α -葡萄糖苷酶抑制剂的筛选及其分子机制[J]. 食品科学, 2021, 42(5): 9-16.
- [22] 王丽萍, 高彩雯, 冯海月, 等. 基于分子对接及酶抑制动力学探究红景天提取物体外 α -葡萄糖苷酶抑制活性[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(12): 2018-2025.

(收稿日期: 2023-03-02; 修回日期: 2023-06-21)

showed that the contents of evodiamine, rutaecarpine, and limonin under different dry conditions were in the ranges of 0.94% – 0.96%, 0.56% – 0.57%, and 0.52% – 0.54%, respectively, and those under different dark conditions were in the ranges of 0.96% – 0.97%, 0.57% – 0.58%, and 0.52% – 0.53%, respectively. The residual degradation rates of evodiamine, rutaecarpine, and limonin under different lighting conditions were in the ranges of 83.02% – 100.00%, 98.36% – 100.00%, and 36.67% – 100.00%, respectively. **Conclusion** Evodiae Fructus decoction pieces can be stored for a long time under cool and dark conditions. During the development and analysis of Evodiae Fructus – containing preparation, all procedures should be performed under minimal light exposure.

Key words: Evodiae Fructus decoction pieces; HPLC; evodiamine; rutaecarpine; limonin; storage conditions; stability

吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.、石虎 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang 或疏毛吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *bodinieri* (Dode) Huang 的干燥近成熟果实, 功效为散寒止痛、降逆止呕、助阳止泻^[1]。吴茱萸的主要药效成分有吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素等^[2-6], 同时也是 2020 年版《中国药典(一部)》中吴茱萸药材及饮片质量控制的指标。吴茱萸为“陈久者良”的 6 种药材之一, 有研究认为, 随着贮藏时间的延长, 吴茱萸药材中挥发油总量和柠檬苦素含量均有下降趋势, 吴茱萸碱和吴茱萸次碱的总含量均有增加趋势^[7-10]。目前, 市场销售的吴茱萸药材大多未经陈化即制成饮片。为更好地控制吴茱萸饮片的质量, 本研究中以目前常用的牛皮纸袋、聚乙烯塑料袋(真空、非真空)包装吴茱萸饮片, 进行吴茱萸饮片长期留样稳定性试验, 以性状、水分、浸出物及多指标成分含量的变化考察贮藏条件对吴茱萸饮片质量的影响, 以及指标性成分含量在不同干燥、光照、避光条件下的稳定性, 探讨了影响吴茱萸药材及饮片质量的主要因素, 为吴茱萸饮片的贮藏及含吴茱萸制剂的开发提供了参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters E2695e 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); AE100 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司, 精度为 0.1 mg); KQ-500DA 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司, 功率为 300 W, 频率为 40 kHz)。

1.2 试药

吴茱萸饮片(市售, 12 批样品信息见表 1); 吴茱萸碱对照品(批号为 110802-202111, 含量为 99.8%), 吴茱萸次碱对照品(批号为 110801-202109, 含量为 99.3%), 柠檬苦素对照品(批号为 110800-201707, 含量为 97.9%), 均购自中国食品药品检定研究院; 乙腈为色谱纯, 水为自制超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 贮藏稳定性

2.1.1 贮藏条件

将吴茱萸饮片样品分别采用牛皮纸袋、聚乙烯塑

表 1 12 批吴茱萸饮片样品信息

Tab. 1 Information of 12 batches of Evodiae Fructus decoction pieces

序号	批号	产地	规格	陈放时间(年)
1	190301		大花	3
2	190601	广西	中花	3
3	190701	湖南	中花	3
4	190701	湖南	小花	3
5	200301	湖南	小花	2
6	20191101	江西	中花	2
7	200824	广西	小花	2
8	170701		大花	2
9	201201	江西	中花	2
10	210102004		中花	1
11	2012002	江西	中花	1
12	200301	湖南	中花	1

料袋(真空和非真空)进行包装, 放在药品阴凉柜(温度为 16~17℃, 相对湿度为 50%~60%)中贮藏, 分别在 0~3 年内取样。

2.1.2 性状

按表 2 中的条件分别贮藏吴茱萸饮片, 结果 12 批样品的表面呈暗黄绿色至褐色, 气味芳香浓郁, 放置后颜色逐渐加深; 其中, 牛皮纸袋包装的样品气味稍变淡, 性状无显著变化, 符合标准规定。详见表 2。

2.1.3 鉴别

水分: 按 2020 年版《中国药典(四部)》通则 0832 水分测定法测定, 结果水分为 9.34%~14.13%。除真空聚乙烯塑料袋包装样品外, 其余样品放置后水分均逐渐减少, 差异不大, 较稳定, 均符合标准规定(不得超过 15.0%)。详见表 2。

浸出物: 按 2020 年版《中国药典(四部)》通则 2201 浸出物测定法项下醇溶性浸出物浸定法测定, 以稀乙醇为溶剂, 结果浸出物为 42.75%~51.15%, 放置后浸出物变化不大, 较稳定, 均符合标准规定(不得少于 30.0%)。详见表 2。

2.1.4 含量测定

1) 色谱条件

色谱柱: Waters Kromasil C₁₈ 柱(200 mm×4.6 mm,

表 2 不同贮藏年限吴茱萸饮片贮藏稳定性试验结果
Tab.2 Results of the stability test of Evodiae Fructus decoction
pieces with different storage years

序号	包装材料	贮藏年 限(年)	性状	水分 (%)	浸出物 (%)	含量(%)	
						吴茱萸碱和吴茱萸 次碱的总量	柠檬 苦素
1	非真空塑料袋	0	表面褐色,顶端开裂,气芳香	14.13	42.83	4.42	0.11
	非真空塑料袋	3	表面暗褐色,顶端开裂,气芳香	10.68	47.52	5.02	0.09
2	非真空塑料袋	0	表面黄绿色,气芳香浓郁	10.61	45.14	2.34	0.21
	非真空塑料袋	1	表面暗黄绿色,气芳香浓郁	10.64	46.51	2.89	0.19
	非真空塑料袋	2	表面暗黄绿色,气芳香浓郁	10.08	46.94	2.76	0.19
	非真空塑料袋	3	表面暗黄绿色,气芳香浓郁	9.66	47.60	2.64	0.20
3	非真空塑料袋	0	表面褐色,气芳香浓郁	13.62	44.58	2.28	0.30
	非真空塑料袋	3	表面暗褐色,气芳香浓郁	9.76	48.84	2.49	0.24
4	非真空塑料袋	0	表面黄绿色,气芳香浓郁	9.74	48.13	0.35	1.81
	非真空塑料袋	1	表面暗黄绿色,气不变	9.72	48.70	0.43	1.58
	非真空塑料袋	3	表面暗黄绿色,气不变	9.47	49.94	0.41	1.67
5	真空塑料袋	0	表面黄绿色,气芳香浓郁	9.56	50.17	0.48	1.37
	非真空塑料袋	2	表面暗黄绿色,气不变	9.58	48.32	0.40	1.20
	真空塑料袋	2	表面暗黄绿色,气不变	9.62	49.34	0.45	1.41
6	非真空塑料袋	0	表面褐色,气芳香浓郁	10.87	49.86	3.39	0.27
	非真空塑料袋	2	表面暗褐色,气芳香浓郁	9.43	49.07	3.75	0.15
7	非真空塑料袋	0	表面黄绿色,气芳香浓郁	11.08	49.27	1.38	0.65
	非真空塑料袋	2	表面暗黄绿色,气不变	10.18	45.40	1.60	0.52
8	非真空塑料袋	0	表面褐色,顶端开裂,气芳香	12.55	48.46	4.34	0.11
	非真空塑料袋	2	表面暗褐色,顶端开裂,气芳香	9.86	47.54	4.63	0.08
9	非真空塑料袋	0	表面黄绿色,气芳香浓郁	13.57	45.48	1.32	0.78
	非真空塑料袋	1	表面暗黄绿色,气不变	10.47	42.75	1.50	0.65
10	牛皮纸袋	0	表面黄绿色,气芳香浓郁	11.03	48.49	1.87	0.89
	牛皮纸袋	1	表面暗黄绿色,气稍淡	9.34	46.46	1.69	0.76
	非真空塑料袋	1	表面暗黄绿色,气芳香浓郁	9.54	47.18	1.87	0.73
11	非真空塑料袋	0	表面褐色,气芳香浓郁	12.03	51.15	3.62	0.33
	非真空塑料袋	1	表面暗褐色,气芳香浓郁	9.94	48.12	4.28	0.20
12	真空塑料袋	0	表面褐色,气芳香浓郁	11.09	48.02	1.76	0.63
	真空塑料袋	1	表面暗褐色,气芳香浓郁	9.78	49.10	2.17	0.61

5 μm);流动相:[乙腈-四氢呋喃(25:15,V/V)]-0.02%磷酸溶液(35:65,V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:215 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μL。

2)溶液制备

取吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素对照品各适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含吴茱萸碱80 μg和吴茱萸次碱50 μg、柠檬苦素0.1 mg的混合对照品溶液。取样品粉末(过3号筛)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(功率为300 W,频率为40 kHz)40 min,放冷,再次称定质量,用70%乙醇补足缺失的质量,摇匀,滤

过,取续滤液,即得供试品溶液。

3)含量测定

12批样品的含量测定结果见表2。结果显示,所有样品中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的总含量均符合标准规定(不得少于0.15%),其中2批样品中柠檬苦素含量不符合标准规定(不得少于0.20%);在贮藏期内,吴茱萸碱和吴茱萸次碱的总含量随着贮藏年限的延长有一定增加趋势,柠檬苦素含量随着贮藏年限的延长有一定下降趋势。

2.2 指标性成分含量的稳定性考察

干燥条件稳定性试验:取7号样品粉末(过3号筛)2 g,平铺于干燥的扁形称量瓶中,精密称定,开启瓶盖,在0,60,80,105 ℃温度条件下分别干燥0,4,6,8 h,将瓶盖盖好,移至干燥器中,放冷30 min,精密称定,分别取样,按2.1.4项下色谱条件测定样品含量。结果显示,吴茱萸碱、吴茱萸次碱和柠檬苦素的含量基本稳定。详见表3。

表 3 吴茱萸饮片中 3 种指标性成分含量在不同干燥条件下的
稳定性试验结果(%)

干燥温度	干燥时间	含量		
		吴茱萸碱	吴茱萸次碱	柠檬苦素
0 ℃	0 h	0.95	0.56	0.53
60 ℃	4 h	0.96	0.56	0.53
80 ℃	6 h	0.94	0.57	0.54
105 ℃	8 h	0.96	0.56	0.52

光照条件稳定性试验:取7号样品的供试品溶液,分别置日光灯下(光照强度159 lx)照射0,4,8,16,32 h后,按2.1.4项下色谱条件测定样品含量。结果显示,吴茱萸次碱的光稳定性较好;吴茱萸碱和柠檬苦素对光照较敏感,随着光照时间的延长而逐渐降解。详见表4。

表 4 吴茱萸饮片中 3 种指标性成分含量在不同光照时间下的
稳定性试验结果(%)

光照时间	降解残存率		
	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	柠檬苦素
0 h	100.00	100.00	100.00
4 h	99.18	99.80	89.74
8 h	94.38	99.79	71.98
16 h	89.46	99.10	54.73
32 h	83.02	98.36	36.67

避光条件稳定性试验:取7号样品供试品溶液,分别

于室温条件下避光放置 0, 1, 3, 5 d 后, 按 2. 1. 4 项下色谱条件测定样品含量。结果显示, 在避光条件下, 吴茱萸碱、吴茱萸次碱和柠檬苦素含量基本稳定。详见表 5。

表 5 吴茱萸饮片中 3 种指标性成分含量在不同避光时间下的稳定性试验结果 (%)

Tab. 5 Results of the stability test of three index components in Evodiae Fructus decoction pieces under different light exposure conditions (%)

避光时间	含量		
	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	柠檬苦素
0 d	0. 97	0. 57	0. 53
1 d	0. 96	0. 58	0. 53
3 d	0. 96	0. 57	0. 53
5 d	0. 96	0. 58	0. 52

3 讨论

历代文献记载吴茱萸“陈久者良”, 是由于放置一段时间后, 其中的化学成分含量有所下降, 药性缓和^[7]。本研究中以性状、水分、浸出物和含量为评价指标, 考察评价指标在 3 年贮存过程中的变化。结果显示, 在 3 年贮藏期内, 吴茱萸饮片中的吴茱萸碱和吴茱萸次碱总含量有升高趋势, 表明吴茱萸饮片贮藏有利于生物碱类含量的转化与积累, 从而提高药效; 但柠檬苦素含量有下降趋势, 饮片颜色逐渐变深, 气味变淡, 影响疗效。可见, 即使在阴凉条件下, 吴茱萸饮片的贮藏时间也不是越久越好。挥发油是吴茱萸的有效成分之一, 密封不利于其有毒性挥发油的挥发^[7], 故建议吴茱萸药材陈化后再制成饮片。

市场销售的吴茱萸药材按成熟程度不同分为大花、中花、小花 3 种规格^[11-12], 其中中花占主流。规格对吴茱萸药材质量的影响显著^[9], 柠檬苦素含量不合格的 2 批吴茱萸饮片均为大花。《中药材商品规格等级: 吴茱萸》中记载, “当前市场上仍存在吴茱萸大花规格, 顶端多开裂, 不符合药典性状描述”, 故将大花规格排除在外, 建议加强对大花规格吴茱萸饮片的监管。

在以指标性成分含量探讨吴茱萸“陈久者良”和制剂稳定性方面, 其含量变化主要由降解和成分之间的相互转化导致, 影响因素主要有温度、湿度、光照等^[13-16]。张慧芳等^[8]认为, 临床应用时应将吴茱萸密封并置遮光处保存, 且贮藏年限不能太久。温英丽等^[9]认为, 柠檬苦素含量随陈放时间的延长而降低显著, 推测与内酯类成分不稳定、易水解有关。本研究结果显示, 在干燥条件下, 吴茱萸指标性成分的含量基本稳定, 表明短时间的高温处理不会导致吴茱萸指标性成分损失, 但同时测定高温处理前后样品中挥发油的含量, 发现挥发性成分损失明显, 挥发油成分的大量减少必然

影响其药理学活性, 故低温环境有利于其长期稳定贮存; 在避光条件下, 吴茱萸指标性成分的含量基本稳定, 表明柠檬苦素在提取时不易水解; 在光照作用下, 除吴茱萸次碱外, 吴茱萸碱和柠檬苦素含量均不稳定, 表明光是影响吴茱萸质量的主要因素。因此, 在阴凉、遮光条件下, 吴茱萸饮片可贮藏较长时间; 在分析和开发含吴茱萸药材成分的制剂时, 应尽量避光操作; 在应用吴茱萸饮片时, 不能只注重其是否陈久, 也应关注其贮藏时间及条件^[8]。

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: 中国中医药科技出版社, 2020: 178.

[2] 黄惠莲, 刘贤旺, 罗光明, 等. 吴茱萸研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(3): 62-64.

[3] 魏娟, 曾金祥, 张寿文, 等. 吴茱萸质量控制与品质评价方法研究进展[J]. 中国现代中药, 2013, 15(1): 25-28.

[4] 梅林, 袁英. 吴茱萸及其复方制剂中生物碱的含量测定方法进展[J]. 中国药业, 2006, 15(18): 63-64.

[5] 张小梅, 梁旭明, 杨荣平, 等. 反相高效液相色谱法测定吴茱萸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量[J]. 中国药业, 2011, 20(9): 29-30.

[6] 中丽莎, 陈国庆, 杨帆, 等. 高效液相色谱法波长切换法同时测定吴茱萸中 3 组分含量[J]. 中国药业, 2015, 24(21): 115-117.

[7] 徐国钧, 徐珞珊. 常用中药材品种整理和质量研究(第一册)[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1994: 713.

[8] 张慧芳, 张志杰, 武露凌, 等. GC-MS 分析不同贮藏条件对吴茱萸挥发油成分的影响[J]. 中国新药与临床药理, 2006, 17(3): 205-209.

[9] 温英丽, 李捷, 范天池, 等. 基于指纹图谱及含量测定的吴茱萸“陈久者良”实验研究[J]. 中药材, 2021, 44(4): 842-847.

[10] 魏飞亭, 董嘉皓, 乔日发, 等. 中药“陈久者良”的研究概述与思考[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(8): 3048-3055.

[11] 郭月秋, 陈代贤, 于黎明. 商品吴茱萸的真伪质量检定考察报告(Ⅱ)[J]. 中药材, 2009, 32(9): 1376-1378.

[12] 熊红红. 江西吴茱萸类药材资源分布研究[J]. 江西化工, 2013, 29(4): 277-280.

[13] 史万忠, 李世芳, 刘瑾, 等. 复方灵通胶囊稳定性试验中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的含量变化[J]. 中成药, 2011, 33(8): 1356-1360.

[14] 曹小飞, 杨家林. 吴茱萸中药材主要有效成分含量的对比研究[J]. 内蒙古林业调查设计, 2013, 36(5): 129-130.

[15] 吴方评, 蒲艳春, 杨勇, 等. 吴茱萸生物总碱提取条件的优化设计[J]. 中国药业, 2014, 23(20): 69-71.

[16] 陈路, 冯世鑫, 蒋妮, 等. 不同炮制方法对吴茱萸生物碱类有效成分含量的影响[J]. 中国药业, 2021, 30(17): 57-60.

(收稿日期: 2023-02-23; 修回日期: 2023-06-24)