

吴茱萸不同炮制品中绿原酸的含量比较

温慧玲 (江西青峰药业有限公司 江西赣州 341000) 欧阳胜 谢一辉 (江西中医学院药学院)

摘要 目的: 用反相高效液相色谱法测定吴茱萸及其炮制品中绿原酸的含量,探讨不同炮制方法对于吴茱萸中绿原酸含量的影响。**方法:** 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.4% 磷酸水溶液等度洗脱;流速:1.0 ml·min⁻¹;检测波长:327 nm;柱温:25 ℃。**结果:** 吴茱萸不同炮制品绿原酸的含量较吴茱萸生品均有不同程度的降低。**结论:** 浸泡制炮制方法比浸润制炮制方法对于绿原酸含量的降低作用更大。

关键词 吴茱萸;绿原酸;含量测定;RP-HPLC

中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1008-049X(2010)07-0988-03

Comparison the Contents of Chlorogenic Acid in Different Processed Products of *Evodia rutaecarp* (Juss.) Benth

Wen Huiling (Jiangxi Qingfeng Pharmaceutical Group Co., Ltd, Jiangxi Ganzhou 341000, China) Ouyang Sheng, Xie Yihui (Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective: To explore the different processing methods on the content changes of chlorogenic acid in *Evodia* and processed products by RP-HPLC. **Method:** Dimonsil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was acetonitrile-0.4% phosphate water solution with gradient elution. The flow rate was 1 ml·min⁻¹. The detection wavelength was at 327 nm and the column temperature was 25 ℃. **Result:** The contents of chlorogenic acid in *Evodia* and processed products was different, which in the processed products were lower than *Evodia*. **Conclusion:** The contents of chlorogenic acid with immersion system is lower than infiltration system.

KEY WORDS *Evodia*; Chlorogenic acid; Determination; RP-HPLC

吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 [*Evodia rutaecarp* (Juss.) Benth.]、石虎 [*Evodia rutaecarp* (Juss.) Benth. Var. *officinalis* (Dode) Huang.] 或疏毛吴茱萸 [*Evodia rutaecarp* (Juss.) Benth. Var. *bodinieri* (Dode) Huang.] 的干燥近成熟的果实,具有温胃止呕,温胃止泻、镇痛,升高体温等作用^[1]。近年来实验证明,吴茱萸水提液中含有大量的绿原酸,而绿原酸具有抗菌、抗炎、抗病毒、增加白细胞、保肝利胆、抗肿瘤、降血压、降血脂、清除自由基和兴奋中枢神经系统等作用^[2]。绿原酸含量测定已经有大量报道,但对于吴茱萸中绿原酸的报道却较少^[3,4]。本研究在参考文献^[5,6]基础上,采用乙腈-0.4% 磷酸水作流动相,进一步简化方法,以等度洗脱,建立了吴茱萸不同炮制品中绿原酸的测定方法。该方法简便,灵敏度高,重现性好,并且其他提出的成分也达到了基本的分离,是研究吴茱萸 50% 甲醇提出物较理想的方法。

1 仪器与试剂

戴安高效液相色谱仪;四元泵;手动进样器;UV 检测器

及 Chromeleon 色谱工作站;Sartorius BS214-D(北京赛多利斯系统有限公司);CFP-110X50 型报喜龙电炒锅(报喜龙电器厂);Mettler AE240 天平(十万分之一);KQ3200 超声波清洗器(昆山超声仪器厂)。

吴茱萸药材购于江西省樟树市药材市场,产地为江西省樟树市,经鉴定为芸香科植物吴茱萸 [*Evodia rutaecarp* (Juss.) Benth.] 干燥成熟果实。乙腈为色谱纯(TEDIA);水(自制双蒸水);绿原酸对照品(批号 110753-200413)购自中国药品生物制品检验所;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 炮制品的制备

2.1.1 制备吴茱萸生品^[7] 取吴茱萸一定量,拣净后,备用。

2.1.2 樟帮泡吴茱萸(开水泡制)^[8] 取净吴茱萸一定量,用新沸的开水泡 1 h(开水与药材的量按照 4:1 进行浸泡),

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划(编号:2006BAI06A07-2)

通讯作者:谢一辉 Tel: (0791)7118916 E-mail: xieyh6152003@yahoo.com.cn

(MECC)等^[3],其中以高效液相色谱法的应用最为广泛^[4,5]。本文采用高效液相色谱法测定乳病消片中淫羊藿苷的含量,准确、简便、快速,可以用于本品质量控制。

参 考 文 献

1 李红卫,李平,焦海胜,等. 乳病消片质量标准的研究[J]. 中成药,2006,28(9):1300-1301

2 李红卫,荆晓红,张晓琴. 高效液相色谱法测定乳病消片中丹参酮 II_A 含量[J]. 兰州大学学报,2008,34(2):47-49

3 马顺英. 淫羊藿苷及其制剂含量测定研究概况[J]. 首都医药,2006,11:48.

4 果茵茵,李平. 不同沉淀方法对醒脑益智颗粒中淫羊藿苷、阿魏酸与丹参酮 II_A 含量的影响[J]. 中国生化药物杂志,2007,28(2):101-104

5 张国霞,李平,韩彪. 3 种不同沉淀剂对养血扶正颗粒中阿魏酸与淫羊藿苷含量的影响[J]. 中国生化药物杂志,2007,28(1):46-48

(2009-12-21 收稿 2010-03-22 修回)

然后取出放入温度为 250 ~ 260 ℃ (用红外测温仪测定)的炒锅中加盐水(浓度为 15%)一定量,炒 18 min,炒干后捞出,放冷,筛去灰屑。每 100 kg 吴茱萸,加盐 3 kg。

2.1.3 樟帮泡吴茱萸(甘草水溶液泡制)^[8] 取净吴茱萸一定量,加入一定量的甘草水溶液,搅拌均匀后放置在 25 ℃ 的水浴中浸泡 2 h(甘草水与药材的量按照 4:1 进行浸泡)。然后,取出,放置在 60 ℃ 的烘箱中烘干。每 100 kg 吴茱萸,加甘草 3 kg。

2.1.4 制吴茱萸^[7] 取甘草捣碎,加适量水,煎汤,去渣,加入净吴茱萸,闷润吸尽(甘草水与药材的量按照 1:1 进行浸润),炒至微干,取出,晒干。每 100 kg 吴茱萸,用甘草 6 kg。

2.1.5 盐制吴茱萸^[9] 取净吴茱萸,照盐水炙法(制剂通则)炒至裂开为度。每 100 kg 吴茱萸,用食盐 1.8 kg。

2.1.6 醋制吴茱萸^[9] 取净吴茱萸,照醋炙法(制剂通则)炒至裂开为度。每 100 kg 吴茱萸,用醋 18 kg。

2.1.7 酒制吴茱萸^[9] 取净吴茱萸,照酒炙法(制剂通则)炒至裂开为度。每 100 kg 吴茱萸,用酒 12 kg。

2.2 供试品溶液的制备

取吴茱萸药材及炮制品粉末(过 60 目筛)约 0.5 g,精密称定,置于 100 ml 具塞的锥形瓶中,加入 50% 甲醇 50 ml,称重,超声(150 W,40 kHz)30 min 后,取出,放冷,用 50% 甲醇补足重量,滤过,取续滤液 5 ml 置于 25 ml 量瓶中,加 50% 甲醇至刻度。摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取干燥至恒重的绿原酸对照品一定量,加 50% 甲醇定容至刻度,配成 0.06 mg·ml⁻¹ 的溶液,备用。

2.4 方法学考察

2.4.1 色谱条件 色谱柱:Diamonsil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.4% 磷酸水(9.3:90.7);流速:1 ml·min⁻¹。检测波长 327 nm。理论塔板数按绿原酸峰计算不低于 2 000。

2.4.2 线性关系的考察 精密量取对照品溶液 1 ml,分别置于 2,5,25,50 ml 棕色量瓶中,加 50% 甲醇至刻度。取对照品溶液及其上述四个溶液分别进样 20 μl,以绿原酸峰面积对进样量进行回归分析,线性回归方程为:Y = 8.51 × 10⁴ X + 0.598,r = 0.999 9(n = 5),结果表明,绿原酸进样量(X)在 0.02 ~ 1.20 μg 与峰面积(Y)呈良好的线性关系。

2.4.3 精密度试验 对照品及其样品溶液连续进样 6 次,结果绿原酸对照品的峰面积 RSD 为 1.0%,吴茱萸药材中绿原酸的峰面积 RSD 为 1.7%。

2.4.4 重复性试验 对吴茱萸药材供试品进行 6 次测定,结果绿原酸的峰面积 RSD 为 1.7%。

2.4.5 稳定性试验 取吴茱萸药材供试品溶液分别在 0,2,4,6,12,24 h 测定。结果表明,吴茱萸中绿原酸在 24 h 内稳定性良好,RSD 为 1.7%。

2.4.6 加样回收试验 取已知含量的样品,加入一定量的绿原酸对照品,按照“2.2”项下样品溶液制备法制备,测得绿原酸的平均回收率为 99.59%,RSD 为 1.8%。

2.5 不同吴茱萸炮制品和吴茱萸药材的测定

对不同吴茱萸炮制品和吴茱萸药材按照“2.1”项方法处理并测定,结果可见与吴茱萸生品相比,各炮制品溶液中的绿原酸含量与吴茱萸生品相比,差异有统计学意义(P <

0.01)。各样品中绿原酸的含量与酒制吴茱萸相比,除醋制吴茱萸外(P < 0.01),差异均有统计学意义。结果见表 1。

表 1 不同炮制品中吴茱萸绿原酸的含量(n = 3, $\bar{x} \pm s$)

样品	绿原酸含量(mg·g ⁻¹)	RSD(%)
吴茱萸生品	5.4376 ± 0.007 ^Δ	0.1
樟帮泡吴茱萸(甘草水泡)	2.8450 ± 0.038 * ^Δ	1.3
樟帮泡吴茱萸(开水泡)	4.8574 ± 0.030 * ^Δ	0.6
制吴茱萸	3.5991 ± 0.011 * ^Δ	0.3
醋制吴茱萸	5.0303 ± 0.015 *	0.3
酒制吴茱萸	5.0741 ± 0.059 *	1.2
盐制吴茱萸	4.7503 ± 0.077 * ^Δ	1.6

注:与吴茱萸生品比,*P < 0.01;与酒制吴茱萸比,ΔP < 0.01。

3 讨论

3.1 本研究在参考了《中国药典》2005 年版金银花中测定绿原酸的色谱条件及其文献^[3,6],以乙腈和 0.4% 磷酸水作为流动相,采用更为简便的等度洗脱的方法,经调整比例得到较为满意的结果。该方法所得色谱图显示,绿原酸与其邻近组分得到了很好的分离,分离度大于 1.5,符合定量分析的要求。同时吴茱萸 50% 甲醇所提取出的许多成分,在本文色谱条件下,都基本上达到了分离。因此,本文建立的方法是分析吴茱萸成分较好的方法。

3.2 样品处理的方法学考察中,对 25% 甲醇,50% 甲醇,甲醇及乙醇进行了比较试验,结果表明提取溶媒为 50% 甲醇时绿原酸含量最高。故选择 50% 甲醇作为提取溶媒。对超声处理,回流处理及冷浸处理进行了比较,结果表明回流和超声提取在 30 min 中提取出来的绿原酸含量没有显著性差异,故选择超声提取方式提取绿原酸。对于超声 10,15,30,45 min 及 60 min 进行比较,结果表明超声 30 min 以上提取出来的绿原酸含量没有显著性差异,故选择超声 30 min。并对 10,30,50,70,90 ml 及 100 ml 的不同溶剂用量进行了比较,结果表明用 50 ml 的 50% 甲醇提取能够达到提取完全。故选择 50 ml 的 50% 甲醇作为提取溶媒用量。

3.3 比较用同一药材制得的各炮制品及生品中绿原酸的含量,结果表明生品中绿原酸含量最高,其次是酒制,醋制,樟帮泡吴茱萸(开水泡制),盐制,制吴茱萸,樟帮泡吴茱萸(甘草水泡制)。可以看出吴茱萸经过炮制后,绿原酸含量显著降低,而采用不同的炮制方法,吴茱萸中绿原酸含量的降低的程度也不一样。大致呈现出浸泡工艺所得的炮制品比浸润工艺所得的炮制品中绿原酸含量降低更大。而炮制中所加的辅料对于吴茱萸药材中绿原酸的含量也似有影响。樟帮泡吴茱萸(甘草水泡制)在浸泡工艺所得的炮制品中绿原酸含量最低,制吴茱萸在浸润工艺所得的炮制品中含量最低。甘草和吴茱萸之间如何作用使得绿原酸含量降低还需要进一步研究。

3.4 吴茱萸在《神农本草经》中列为中品,有小毒。服用吴茱萸过量,主要临床不良反应为出现猩红热样药疹,表现为四肢皮肤灼热、瘙痒不适,出现针尖大小鲜红色丘疹,压之褪色,颈前及上胸融合成片,界限不清,皮温升高。中毒后主要表现为:强烈的腹痛、腹泻、视力模糊、错觉、脱发、胸闷、头疼、眩晕或皮疹。现阶段研究表明,目前没有确切的证据说明或排除绿原酸是变应原(即具有致敏性)^[10]。但是在本题的进一步指纹图谱研究中,发现吴茱萸经过炮制之后,绿原酸等大部分水溶性成分相对于吴茱萸生药材有显著的降低,而吴茱萸碱等脂溶性成分没有显著性的变化抑或变化不

HPLC 法测“派莎”防晒霜中三种化学吸收剂的含量

叶立红¹ 吴金花² 陈芳¹ 段德鉴¹ (1. 鄱阳医学院附属太和医院药学部 湖北十堰 442000; 2. 鄱阳医学院药检学院)

摘要 目的: 建立高效液相色谱法测定“派莎”防晒霜中三种化学吸收剂 Parsol 1789(丁基甲氧基二苯甲酰甲烷)、Parsol MCX(甲氧基肉桂酸辛酯)、Parsol 5000(3,4-甲基亚苄基-樟脑)的含量。方法: 色谱柱: Diamonsil C₁₈(200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇: 四氢呋喃: 水: 高氯酸(60: 100: 80: 0.05); 流速: 1 ml·min⁻¹; 检测波长: 310, 357 nm; 柱温: 25 ℃。结果: 三种化学吸收剂分离度好, 不受基质干扰, Parsol 1789 在 0.0016~0.0201 mg·ml⁻¹, Parsol MCX 在 0.754 0~0.769 0 mg·ml⁻¹, Parsol 5000 在 0.179 0~0.188 9 mg·ml⁻¹ 范围内线性关系良好(*r* 值分别为 0.999 8, 0.999 7, 0.999 6), 平均回收率分别为 99.73%, 99.81%, 99.41%, *RSD* 分别为 1.68%, 0.17%, 0.22%。结论: 该测定方法操作简便, 快捷, 可靠性高, 重复性好, 可作为“派莎”防晒霜的质量控制方法。

关键词 “派莎”防晒霜; 化学吸收剂; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2010)07-0990-02

Determination of Three Chemical Absorption Agents in “Paisha” Sun-screening by HPLC

Ye Lihong¹, Wu Jinhua², Chen Fang¹, Duan Dejian¹ (1. Department of Pharmacy, Affiliated Taihe Hospital, Yunchang Medical College, Hubei Shiyang 442000, China; 2. School of Drug Testing, Yunchang Medical College)

ABSTRACT Objective: To establish a method for detecting three chemical absorption agents Parsol 1789, Parsol MCX and Parsol 5000 in “paisha” sun-screening by HPLC. **Method:** The Diamonsil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was used. The mobile phase was methanol-tetrahydrofuran-water-perchloric acid (60: 100: 80: 0.05), the flow rate was 1.0 ml·min⁻¹, the detective wavelength was 310 and 357 nm, and the column temperature was 25 ℃. **Result:** The calibration curves of Parsol 1789, Parsol MCX and Parsol 5000 were linear within the range of 0.001 6-0.020 1, 0.754 0-0.769 0 and 0.179 0-0.188 9 mg·ml⁻¹ with good linearity (*r* = 0.999 8, 0.999 7, 0.999 6), and the average recoveries were 99.73%, 99.81%, 99.41% (*RSD* = 1.68%, 0.17%, 0.22%), respectively. **Conclusion:** The method is convenient, accurate and reproducible, which can be used in quality control of “paisha” sun-screening.

KEY WORDS “Paisha” sun-screening; Chemical absorption agent; HPLC

“派莎”防晒霜处方采用 Parsol 1789(丁基甲氧基二苯甲酰甲烷)、Parsol MCX(甲氧基肉桂酸辛酯)、Parsol 5000(3,4-甲基亚苄基-樟脑)三种成分作为化学吸收剂, 以纳米二氧化钛作为物理防晒剂, 复配而成, 可获得稳定的 UVA/UVB 保护, 弥补了以传统二氧化钛为主的物理防晒剂对皮肤防护效果的局限性^[1]。为了有效的控制其质量, 本文建立 HPLC 法对“派莎”防晒霜中的三种化学吸收剂进行含量测定, 为质量标准的研究提供试验依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

戴安 UltiMate 3000 型高效液相色谱仪(包括四元梯度泵、自动进样器、柱温箱、紫外检测器), 变色龙(chromeleon)

软件数据处理系统; 岛津 AUW120D 分析天平(*d* = 0.1 mg/0.01 mg); UP5200H 超声波清洗器(熊猫集团南京电子计量有限公司); TU-1901 紫外-可见分光光度计(北京普析通用公司)。

1.2 试剂

对照品: Parsol 1789(批号 C1064800); Parsol MCX(批号 C1066312); Parsol 5000(批号 C1058159)由上海楚定分析仪器有限公司提供。

甲醇: 色谱纯; 四氢呋喃: 分析纯; 水: 纯化水; 高氯酸: 优级纯(70%)。混合溶液的配制: 将甲醇、四氢呋喃、水和高氯酸按 60: 100: 80: 0.05 的体积比混合后脱气, 作为溶剂和色谱流动相备用。“派莎”防晒霜样品为自制, 批号为:

通讯作者: 段德鉴 Tel: 13886823809 E-mail: duandejian2000@com.cn

明显。在只确认了绿原酸的情况下, 对于吴茱萸炮制品严格控制绿原酸的质量具有重要的意义。

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977. 1119
- 2 刘军海, 裴爱泳. 绿原酸及其提取纯化和应用前景[J]. 粮食与油脂, 2003, 9: 44-46
- 3 康琛, 李曼玲, 殷文光. 吴茱萸药材中绿原酸的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(17): 2195-2196
- 4 张万明, 甄攀, 白雪梅, 等. RP-HPLC 测定吴茱萸中绿原酸的含量[J]. 中成

药, 2006, 28(1): 130

- 5 谭贤英, 曾卫阳, 黄剑荣. HPLC 法测定解毒清咽茶剂中绿原酸的含量[J]. 中国药师, 2006, 9(6): 542-543
- 6 林素梅, 农英高, 莫海玲, 等. 高效液相色谱法测定排石 1 号颗粒剂中绿原酸的含量[J]. 中国药师, 2008, 11(2): 207-208
- 7 中国药典[S]. 2005 版. 一部. 118-119, 附录 II D
- 8 江西省卫生厅药政局. 江西省中药炮制规范[S]. 1991. 256-257
- 9 河南省卫生厅药政局. 河南省中药炮制规范[S]. 2003. 189-190
- 10 黄芳华. 绿原酸及其中药注射剂的安全性问题状况分析[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(22): 2716-2719

(2009-12-31 收稿 2010-04-29 修回)