

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

李懿恒, 黄佳楠, 刘 潇, 印 敏, 刘 飞, 冯 煦^①, 王奇志^①

(江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园)江苏省植物资源研究与利用重点实验室
江苏省农业种质资源保护与利用平台, 江苏 南京 210014)

Chemical constituents in fruits of *Evodia rutaecarpa* and *E. fargesii*, and changes in contents of main constituents at different harvesting times LI Yiheng, HUANG Jia'nan, LIU Xiao, YIN Min, LIU Fei, FENG Xu^①, WANG Qizhi^①
[Jiangsu Provincial Key Laboratory for the Research and Utilization of Plant Resources, Jiangsu Provincial Platform for Conservation and Utilization of Agricultural Germplasm, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2018, 27(1): 112-114

Abstract: Chemical constituents in fruits of *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. and *E. fargesii* Dode were identified by UPLC-Q-TOF-MS technology, and changes in contents of main constituents at different harvesting times were analyzed. The results show that common constituents in fruits of *E. rutaecarpa* and *E. fargesii* are thirteen, including indoloquinazolines, limonin and quinolones. Contents of main constituents in their fruits firstly increase and then decrease with the fruit maturing process. In fruits of *E. rutaecarpa*, contents of indoloquinazolines (including evodiamine, rutaecarpine, and dehydroevodiamine), limonin, and quinolones peak on September 5th, August 24th, and August 14th, with 1.509 7%, 0.429 2%, and 0.189 6%, respectively; in fruits of *E. fargesii*, contents of three kinds of constituents peak on August 14th, August 4th, and July 17th, with 0.215 2%, 0.521 1%, and 0.215 9%, respectively. The comprehensive analysis shows that the optimum harvesting time of *E. rutaecarpa* and *E. fargesii* is the end of August to early September and the end of July to the middle of August, respectively; total content of three kinds of constituents in fruits of *E. rutaecarpa* is higher than that of *E. fargesii*, and its medicinal quality is slightly better than the latter.

关键词: 吴茱萸; 臭辣吴茱萸; 吲哚喹唑啉类; 柠檬苦素; 喹诺酮类

Key words: *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.; *Evodia fargesii* Dode; indoloquinazolines; limonin; quinolones

中图分类号: Q946.8; R284; S567.9 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2018)01-0112-03
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2018.01.13

吴茱萸[*Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.]及其变种石虎[*E. rutaecarpa* var. *officinalis* (Dode) Huang]和疏毛吴茱萸[*E. rutaecarpa* var. *bodinieri* (Dode) Huang]的干燥近成熟果实均为中药材吴茱萸的原植物,可散寒止痛、降逆止呕、助阳止泻,其天然成分对心血管系统、胃肠道系统和免疫系统也有一定功效^{[1]171, [2-3]}。吴茱萸果实主要含生物碱、苦味素和挥发油等^[4],吴茱萸碱、吴茱萸次碱和柠檬苦素含量是吴茱萸药材质量的评价标准^{[1]172}。近年来,对吴茱萸的研究多集中于其不同产地和品种的药用成分研究^[5-6]。同属的臭辣吴茱萸(*E. fargesii* Dode)果实在湖北民间用作吴茱萸代品,具相同药效^[7]。为进一步明确吴茱萸和臭辣吴茱萸果实的化学成分,弄清药用有效成分随采收时间的变化规律,作者对吴茱萸和臭辣吴茱萸果实的化学成分进行了分离和鉴定,并分析了不同采收时间二者果实中主要成分含量的变化。

1 材料和方法

1.1 材料

吴茱萸和臭辣吴茱萸的果实均采自南京中山植物园药用植物园内,经姚淦副研究员鉴定。吴茱萸和臭辣吴茱萸果实的采集时间分别为2017年的7月初至9月底及6月中旬至9月初;均按果熟过程采集,每隔7~15 d采收1次。每次采集果实3份,每份25 g以上,于50℃烘箱中烘干至恒质量,密封保存、备用;其中,8月14日采集的果实样品用于成分鉴定。

主要仪器为1260UPLC-6530Q-TOF-MS液质联用仪,配有电喷雾离子源(ESI)(美国Agilent Technologies公司)。去氢吴茱萸碱、柠檬苦素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、1-甲基-2-十一烷基-4(1H)-喹诺酮、吴茱萸卡品碱和二氢吴茱萸卡品碱对照品均为本实验室自制(纯度高于98.0%)。

收稿日期: 2017-10-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31470425; 31570359); 江苏省科技计划项目(BM2015019)

作者简介: 李懿恒(1993—),男,辽宁沈阳人,硕士研究生,主要从事植物天然药物化学方面的研究。

^①通信作者 E-mail: fengxucnbg@cnbg.net; wangqizhi2003@126.com

1.2 方法

1.2.1 UPLC-Q-TOF-MS 分析 色谱条件:Agilent ZORBAX SB-AQ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×100 mm, 1.8 μm)。流动相 A 为甲醇、流动相 B 为体积分数 0.1% 甲酸,梯度洗脱流程为 20%~80%A(1~50 min)、80%~100%A(50~80 min)、100%A(80~100 min);流速 0.3 mL·min⁻¹,柱温 35 °C,进样量 5 μL;200~400 nm 全波长扫描,吡啶啉类、喹诺酮类和柠檬苦素的检测波长分别为 290、325 和 215 nm。

质谱条件:电喷雾离子源(ESI),正离子模式;质量扫描范围(*m/z*)100~1 000;毛细管电压 4 000 V;碎裂电压 180 V;干燥气(N₂)流速 10 L·min⁻¹,温度 350 °C;雾化气压力 344.75 kPa;碰撞诱导解离(CID)能量 35 eV;碰撞气为 N₂。

1.2.2 标准曲线绘制 精密称取上述对照品适量,用甲醇分别溶解并配制成质量浓度分别为 1.00、1.00、0.40、0.65、1.04、1.01 和 1.06 mg·mL⁻¹的对照品溶液。

分别精密吸取上述对照品溶液 0.01、0.05、0.10、0.25 和 0.50 mL,用甲醇补足至 1.00 mL,按上述色谱和质谱条件测定;并以峰面积为纵坐标(*y*)、对照品质量为横坐标(*x*)绘制各对照品的标准曲线。去氢吴茱萸碱标准曲线为 $y = (4.22 \times 10^3)x + 203.63$ ($r = 0.9994$),线性范围 0.05~5.00 μg;柠檬苦素标准曲线为 $y = (1.59 \times 10^3)x + 35.34$ ($r = 0.9997$),线性范围 0.05~5.00 μg;吴茱萸碱标准曲线为 $y = (6.30 \times 10^3)x - 138.11$ ($r = 0.9991$),线性范围 0.02~2.00 μg;吴茱萸次碱标准曲线为 $y = (1.21 \times 10^3)x + 101.77$ ($r = 0.9996$),线性范围 0.03~3.25 μg;1-甲基-2-十一烷基-4(1H)-喹诺酮标准曲线为 $y = (6.16 \times 10^3)x + 119.13$ ($r = 0.9995$),线性范围 0.05~5.02 μg;吴茱萸卡品碱标准曲线为 $y = (5.90 \times 10^3)x + 92.23$ ($r = 0.9990$),线性范围 0.05~5.01 μg;二氢吴茱萸卡品碱标准曲线为 $y = (6.45 \times 10^3)x + 8.06$ ($r = 0.9998$),线性范围 0.05~5.03 μg。

1.2.3 样品溶液制备和测定 称取样品 0.50 g,加入甲醇 20 mL,常温下浸泡 1 h,称量质量;超声(100 kHz,40 °C)提取 60 min,用甲醇补足损失的质量;取上清液,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得样品溶液。按上述色谱和质谱条件测定,每个样品 3 份,每份样品重复测定 3 次。

1.2.4 方法学考察 取吴茱萸碱对照品溶液,按上述色谱和质谱条件测定 6 次,峰面积的 RSD 值为 0.98%~3.04%,表明仪器精密度良好。取 2017 年 8 月 4 日采集的吴茱萸果实样品溶液,分别在 0、4、8、12、18 和 24 h 按上述色谱和质谱条件测定,峰面积的 RSD 值为 0.89%~3.65%,表明样品溶液在 24 h 内基本稳定。取 2017 年 8 月 4 日采集的吴茱萸果实样品 6 份并制成样品溶液,按上述色谱和质谱条件测定,峰面积的 RSD 值为 1.28%~2.57%,表明该方法重复性良好。

1.3 数据分析

使用 MassHunter 5.0 工作站和 PCDL B.03.01 数据库对各样品的总离子流图和质谱数据进行分析,对各化合物相对分子质量的实际值与理论值进行比较,结合二级质谱信息和相关文献资料^[8-10]鉴定化合物。依据各对照品的标准曲线,采用外标法确定样品溶液中各化合物的质量,并根据公式“化合物含量=[(化合物质量×提取量)/(果实质量×进样量)]×100%”计算供试果实样品中各化合物的含量(质量分数)。

2 结果和分析

2.1 吴茱萸和臭辣吴茱萸果实的共有成分分析

从吴茱萸和臭辣吴茱萸果实中鉴定出 13 种共有成分(表 1),包括去氢吴茱萸碱、柠檬苦素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、1-甲基-2-壬基-4(1H)-喹诺酮、1-甲基-2-[(Z)-5-十一烯]-4(1H)-喹诺酮、1-甲基-2-十一烷基-4(1H)-喹诺酮、吴茱萸卡品碱、1-甲基-2-十二烷基-4(1H)-喹诺酮、1-甲基-2-

表 1 吴茱萸和臭辣吴茱萸果实的共有成分

Table 1 Common constituents in fruits of *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. and *E. fargesii* Dode

保留时间/min Retention time	正离子 Positive ion (<i>m/z</i>)	相对分子质量 Relative molecular mass	特征碎片离子 Characteristic fragment ion (<i>m/z</i>)	化合物 Compound
22.61	302.1471	301	258,272,286	dehydroevodiamine
37.01	471.2003	470	161,425,443	limonin
49.68	304.1414	303	134,161,230	evodiamine
54.01	288.1213	287	169,273	rutaecarpine
59.27	286.2497	285	173,186,230	1-methyl-2-nonyl-4(1H)-quinolone
61.75	312.2298	311	173,186	1-methyl-2-[(Z)-5-undecenyl]-4(1H)-quinolone
66.35	314.2999	313	173	1-methyl-2-undecyl-4(1H)-quinolone
68.52	340.2835	339	186	evocarpine
69.84	328.2609	328	173,186	1-methyl-2-dodecyl-4(1H)-quinolone
70.96	366.3174	365	186	1-methyl-2-[(6Z,9Z)-6,9-pentadecadienyl]-4(1H)-quinolone
73.11	342.3197	342	173	dihydroevocarpine
74.78	368.3102	367	186	1-methyl-2-[(Z)-9-pentadecenyl]-4(1H)-quinolone
78.90	370.3204	369	173,186	1-methyl-2-pentadecyl-4(1H)-quinolone

[(6Z,9Z)-6,9-十五碳二烯]-4(1H)-喹诺酮、二氢吴茱萸卡品碱、1-甲基-2-[(Z)-9-十五烯]-4(1H)-喹诺酮和1-甲基-2-十五烷基-4(1H)-喹诺酮,这13种共有成分主要为吲哚喹啉类、柠檬苦素和喹诺酮类等。

2.2 不同采收时间果实中主要成分含量的动态变化

实验结果(表2)表明:在吴茱萸果实中,吲哚喹啉类(吴茱萸碱、吴茱萸次碱和去氢吴茱萸碱)含量在9月5日达到峰值(1.509 7%),柠檬苦素含量在8月24日达到峰值(0.429 2%),喹诺酮类[1-甲基-2-十一烷基-4(1H)-喹诺酮、吴茱萸卡品碱和二氢吴茱萸卡品碱]含量在8月14日达到峰值(0.189 6%)。在臭辣吴茱萸果实中,吲哚喹啉类含量

在8月14日达到峰值(0.215 2%),柠檬苦素含量在8月4日达到峰值(0.521 1%),喹诺酮类含量在7月17日达到峰值(0.215 9%)。

果初期吴茱萸果实中吴茱萸碱、吴茱萸次碱和二氢吴茱萸卡品碱的含量均低于臭辣吴茱萸,但随果实成熟,3种成分的含量明显上升,峰值均高于臭辣吴茱萸。果初期吴茱萸果实中柠檬苦素含量虽高于臭辣吴茱萸,但随果实成熟,后者果实中柠檬苦素含量增幅明显,导致中后期采收的吴茱萸果实中柠檬苦素含量低于后者。在整个果期,吴茱萸果实中去氢吴茱萸碱和吴茱萸卡品碱的含量均高于臭辣吴茱萸,而1-甲基-2-十一烷基-4(1H)-喹诺酮的含量则低于臭辣吴茱萸。

表2 不同采收时间吴茱萸和臭辣吴茱萸果实中主要成分的含量

Table 2 Contents of main constituents in fruits of *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. and *E. fargesii* Dode at different harvesting times

采收时间 Harvesting time (MM-DD)	吴茱萸果实中主要成分的含量/% ¹⁾ Content of main constituents in <i>E. rutaecarpa</i> fruit ¹⁾							采收时间 Harvesting time (MM-DD)	臭辣吴茱萸果实中主要成分的含量/% ¹⁾ Content of main constituents in <i>E. fargesii</i> fruit ¹⁾						
	1	2	3	4	5	6	7		1	2	3	4	5	6	7
07-10	0.042 0	0.070 2	0.009 8	0.032 2	0.004 0	0.030 2	0.012 7	06-15	0.007 2	0.054 1	0.013 2	0.032 9	0.112 6	0.005 4	0.020 7
07-17	0.084 7	0.121 5	0.019 3	0.039 7	0.010 5	0.047 2	0.018 0	06-30	0.008 1	0.068 1	0.016 6	0.036 3	0.125 6	0.007 5	0.022 1
07-24	0.123 3	0.235 7	0.028 8	0.072 9	0.016 2	0.066 0	0.028 1	07-10	0.022 3	0.108 2	0.025 7	0.044 4	0.129 7	0.009 9	0.028 7
08-04	0.146 9	0.322 8	0.061 6	0.123 9	0.020 7	0.078 0	0.041 4	07-17	0.034 6	0.324 3	0.047 9	0.087 2	0.166 6	0.013 8	0.035 5
08-14	0.210 5	0.346 8	0.233 4	0.290 9	0.024 0	0.088 7	0.076 9	07-24	0.041 2	0.475 4	0.045 1	0.084 1	0.126 2	0.011 0	0.041 4
08-24	0.243 0	0.429 2	0.339 0	0.368 8	0.013 5	0.064 5	0.043 0	08-04	0.056 5	0.521 1	0.053 5	0.091 4	0.105 5	0.008 9	0.031 1
09-05	0.180 9	0.346 8	0.604 2	0.724 6	0.011 7	0.052 3	0.061 8	08-14	0.073 1	0.504 7	0.066 3	0.075 8	0.066 2	0.011 8	0.022 4
09-15	0.155 0	0.303 9	0.554 3	0.731 3	0.010 4	0.044 3	0.049 1	08-24	0.061 8	0.466 4	0.048 2	0.074 4	0.059 1	0.010 1	0.016 4
09-25	0.157 2	0.278 1	0.583 1	0.701 7	0.010 2	0.052 0	0.052 6	09-05	0.047 3	0.398 3	0.032 1	0.065 3	0.050 0	0.007 6	0.012 2

¹⁾ 1: 去氢吴茱萸碱 Dehydroevodiamine; 2: 柠檬苦素 Limonin; 3: 吴茱萸碱 Evodiamine; 4: 吴茱萸次碱 Rutaecarpine; 5: 1-甲基-2-十一烷基-4(1H)-喹诺酮 1-methyl-2-undecyl-4(1H)-quinolone; 6: 吴茱萸卡品碱 Evocarpine; 7: 二氢吴茱萸卡品碱 Dihydroevocarpine.

3 讨论和结论

从吴茱萸和臭辣吴茱萸果实共鉴定出13种共有成分,主要为吲哚喹啉类、柠檬苦素和喹诺酮类3类成分。根据果期吴茱萸和臭辣吴茱萸果实中7种主要成分含量的动态变化趋势,确定吴茱萸果实的适宜采收期为8月底至9月初,臭辣吴茱萸果实的适宜采收期为7月底至8月中。吴茱萸和臭辣吴茱萸果实中3类成分动态变化趋势基本一致,均随果熟过程先升高后降低,但柠檬苦素和喹诺酮类含量达到峰值的时间均早于吲哚喹啉类;臭辣吴茱萸果实中柠檬苦素和喹诺酮类含量的峰值均略高于吴茱萸,而其吲哚喹啉类含量的峰值远低于吴茱萸。从整体上看,在适宜的采收期内臭辣吴茱萸果实中3类成分的总含量低于吴茱萸,其药材品质略低于后者,因此,将臭辣吴茱萸作为吴茱萸替代品入药有一定的合理性,但需进一步研究其药材品质、用量及质量控制标准。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015版(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

- [2] 龚慕辛, 王智民, 张启伟, 等. 吴茱萸有效成分的药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(2): 183-187.
- [3] 左 风. 吴茱萸中的喹诺酮生物碱的抗幽门螺杆菌活性[J]. 国际中医中药杂志, 2001, 23(1): 27-28.
- [4] 文丽梅, 马超英, 余德林, 等. 吴茱萸的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(9): 1976-1977.
- [5] 尹元元, 闫利华, 张启伟, 等. 吴茱萸及其习用品药材中7个成分的HPLC含量测定[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(14): 2693-2698.
- [6] 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.
- [7] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第四十三卷第二分册[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 72.
- [8] 邱时祎. 吴茱萸中生物碱的分离纯化和质谱表征[D]. 上海: 华东理工大学药学院, 2013: 48-58.
- [9] 李文兰, 孙向明, 陈 晨, 等. 基于UPLC-Q-TOF MS的吴茱萸致肝毒性部位及入血成分分析[J]. 质谱学报, 2017, 38(3): 282-293.
- [10] 苏秀丽, 印 敏, 徐 曙, 等. UPLC-Q-TOF-MS法分析吴茱萸化学成分[J]. 中成药, 2017, 39(6): 1223-1227.

(责任编辑: 郭严冬)