

• 质量标准 •

高效液相色谱法同时测定制吴茱萸及其提取物中 吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯含量

鲍天冬, 董宇, 杨庆, 朱晓新*

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法同时测定制吴茱萸及其提取物中吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法, Kromasail C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-四氢呋喃-乙酸(51: 48: 1: 0.1), 流速: 1 mL·min⁻¹; 检测波长: 225 nm; 柱温: 32 °C。结果: 吴茱萸碱回归方程: $Y_{\text{吴茱萸碱}} = 10\,300\,000X - 14\,700$, $r = 0.999\,9$, 线性范围 0.015~ 0.3 μg; 吴茱萸次碱回归方程: $Y_{\text{吴茱萸次碱}} = 5\,380\,000X - 6\,610$, $r = 0.999\,9$, 线性范围 0.012~ 0.24 μg; 吴茱萸内酯回归方程: $Y_{\text{吴茱萸内酯}} = 227\,000X - 5\,110$, $r = 0.999\,6$, 线性范围 0.059~ 1.18 μg。吴茱萸碱平均回收率为 99.6%, RSD 0.65%; 吴茱萸次碱平均回收率为 99.1%, RSD 1.2%; 吴茱萸内酯平均回收率为 97.5%, RSD 1.4%。结论: 方法简便, 结果准确。

[关键词] 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; 吴茱萸内酯; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)06-0001-03

Simultaneous Determination of Evodiamine, Rutaecarpine and Evodin in Cut Crude Drug and Exact of Fructus Evodiae by High-performance Liquid Chromatography

BAO Tian-dong, DONG Yu, YANG Qing, ZHU Xiao-xin*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method to determine evodiamine, rutaecarpine and evodin simultaneously in cut crude drug and exact of fructus evodiae. **Methods:** The separation was performed on the Kromasail C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column with acetonitrile-water-tetrahydrofuran-acetic acid (51: 48: 1: 0.1) as mobile phase. The flow rate was 1 mL·min⁻¹, the wavelength of UV detector was set at 225 nm and the column temperature was set at 32 °C. **Results:** The linear range of evodiamine, rutaecarpine and evodin were 0.015~ 0.3 μg ($r = 0.999\,9$), 0.012~ 0.24 μg ($r = 0.999\,9$), 0.059~ 1.18 μg ($r = 0.999\,6$) respectively. The average recovery of evodiamine was 99.6% ($n = 5$), RSD 0.65%; The average recovery of rutaecarpine was 99.1% ($n = 5$), RSD 1.2%; The average recovery of evodin was 97.5% ($n = 5$), RSD 1.4% respectively. **Conclusion:** This method was simple, rapid and accurate.

[Key words] evodiamine; rutaecarpine; evodin; HPLC; determination

吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 的干燥近成熟果实, 具有散寒止痛、降

逆止呕、助阳止泻等功能^[1]。其主要成分有吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯等。其中吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯的含量测定有薄层扫描法及高效液相色谱法^[2,6], 对制吴茱萸及其提取物中吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯的含量进行同时测定尚未见报道。本试验利用高效液相色谱法对制吴茱萸及其提取物中此3种成分进行了含量测定。

[收稿日期] 2007-01-29

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30371722)

[通讯作者] * 朱晓新, Tel: (010) 64056154, E-mail: zhuxiaoxin@mail.cintcm.ac.cn

1 仪器与试剂

色谱仪 Waters 1515 泵, 717i 自动进样器, 2487 双波长检测器, Empower2 数据处理系统。Sartorius BS210S(Max 210 g, d= 0.1 mg) 天平, KQ-100 型超声波清洗器。吴茱萸碱、吴茱萸次碱对照品(批号 110802-200504、110801-200505) 购于中国药品生物制品检定所; 吴茱萸内酯对照品(批号: 127-060623) 购于江西本草天工有限责任公司。制吴茱萸(甘草制; 产地: 湖南; 购自河北安国神农饮片厂), 制吴茱萸提取物(中日友好医院制剂室提取); 甲醇(TEDIA 公司, 美国)、乙腈(Fisher 公司, 美国)均为色谱纯; 四氢呋喃、乙酸为分析纯(北京化学试剂公司); 水为高纯水(自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Kromasail C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-四氢呋喃-乙酸(51: 48: 1: 0.1), 流速: 1 mL/min; 检测波长 225 nm; 柱温: 32 °C。色谱图见图 1~ 3。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取吴茱萸碱 1.50 mg、吴茱萸次碱 1.20 mg 和吴茱萸内酯 1.18 mg 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 备用。

2.3 供试品溶液的制备 称取制吴茱萸、制吴茱萸提取物粉末(50 目) 约 200 mg 和 100 mg 于 50 mL 容量瓶中, 加入乙醇约 45 mL, 浸泡 1 h, 超声处理 40 min, 冷却至室温, 加乙醇至刻度, 摇匀过滤, 即得。依法制得共 3 个批次样品溶液。进样 10 μL。

2.4 线性关系考察 分别精密吸取吴茱萸碱(0.015 mg/mL)、吴茱萸次碱(0.012 mg/mL) 和吴茱萸内酯(0.059 mg/mL) 混合对照品溶液 1, 2.5, 5, 10, 15, 20 μL 注入液相色谱仪, 在上述色谱条件下进行分析, 测定对照品色谱峰面积, 以色谱峰面积对进样量进行回归分析, 得到回归方程:

$$Y_{\text{吴茱萸碱}} = 1.03e+007X - 1.47e+004, r = 0.9999。$$

$$Y_{\text{吴茱萸次碱}} = 5.38e+006X - 6.61e+003, r = 0.9999。$$

$$Y_{\text{吴茱萸内酯}} = 2.27e+005X - 5.11e+003, r = 0.9996。$$

结果表明, 吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯进样量(X) 分别在 0.015~ 0.3 μg、0.012~ 0.24 μg、0.059~ 1.18 μg 范围内, 与峰面积的值(Y) 呈线性关系。

2.5 精密度试验 取制吴茱萸供试品溶液 1 份, 在上述色谱条件下, 重复进样 5 次, 结果制吴茱萸中吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯峰面积平均为

1 360 407 533 273 .77 862, 计算 RSD 分别为 1.4%、1.1% 和 1.1%。

2.6 重复性试验 称取制吴茱萸粉末 5 份, 每份约 200 mg, 按供试品溶液制备方法进行处理后, 取 10 μL 注入液相色谱仪, 在上述色谱条件下进行分析测定, 结果吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯含量的 RSD 分别为 1.7%、1.5%、0.83%。

2.7 回收率试验 称取适量制吴茱萸粉末 5 份, 分别精密加入一定量的对照品溶液, 按样品溶液制备方法处理, 回收率结果见表 1~ 3。

表 1 吴茱萸碱加样回收率实验结果

样品中量 (μg)	添加量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
341.4	300.0	639.8	99.5		
338.3	300.0	640.2	100.6		
344.1	300.0	642.8	99.6	99.6	0.65
341.7	300.0	639.6	99.3		
342.7	300.0	639.5	98.9		

表 2 吴茱萸次碱加样回收率实验结果

样品中量 (μg)	添加量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
251.0	240.0	489.5	99.4		
248.8	240.0	487.6	99.5		
253.0	240.0	494.3	100.5	99.1	1.2
251.2	240.0	488.4	98.8		
252.0	240.0	485.5	97.3		

表 3 吴茱萸内酯加样回收率实验结果

样品中量 (mg)	添加量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.913 6	1.180	2.084	99.1		
0.905 4	1.180	2.046	96.7		
0.920 9	1.180	2.050	95.7	97.5	1.4
0.914 6	1.180	2.074	98.3		
0.917 3	1.180	2.069	97.6		

2.8 供试品溶液稳定性试验 取制吴茱萸供试品溶液分别在 0, 2, 4, 6, 8, 16, 24 h 测定。结果表明, 吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯在 24 h 内稳定性良好, RSD 分别为 1.2%、1.6% 和 2.1%。

2.9 样品的测定 按供试品溶液制备法分别制备制吴茱萸和制吴茱萸提取物各 5 份样品, 共测定 3

批, 取 10 mL 注入液相色谱仪, 上述色谱条件下外标法进行分析测定, 结果见表 4。

表 4 制吴茱萸和制吴茱萸提取物测定结果 (n=5)

样品	批号	吴茱萸碱 含量(mg·g ⁻¹)	吴茱萸次碱 含量(mg·g ⁻¹)	吴茱萸内酯 含量(mg·g ⁻¹)
制吴茱萸	1	3.38	2.50	9.08
	2	3.32	2.49	9.11
	3	3.44	2.57	9.05
制吴茱萸 提取物	1	8.45	7.87	37.3
	2	8.31	7.81	36.9
	3	8.29	7.78	38.0

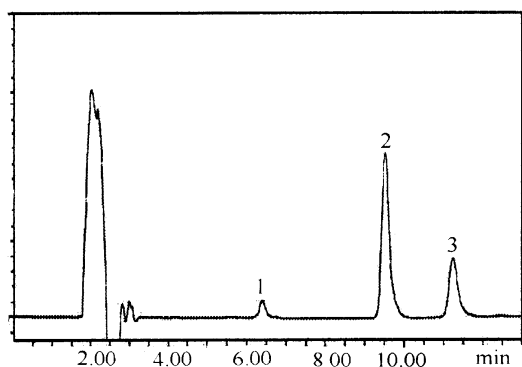


图 1 对照品色谱图

1. 吴茱萸内酯; 2. 吴茱萸碱; 3. 吴茱萸次碱(下同)

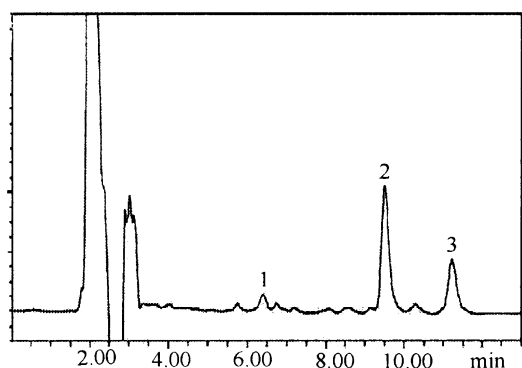


图 2 制吴茱萸色谱图

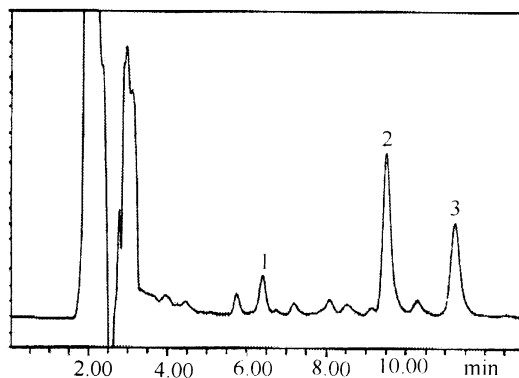


图 3 制吴茱萸提取物色谱图

3 讨论

本试验所测制吴茱萸中吴茱萸碱、吴茱萸次碱的含量分别为 0.34% 和 0.28%, 符合药典对吴茱萸药材含量测定要求, 为后续实验用药提供了合法依据, 并对制吴茱萸及其提取物中的吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯进行了同时测定。

采用 225 nm 检测波长进行检测, 制吴茱萸及其提取物中的检测成分具有较好的分离度, 操作简单, 方法可靠。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005. 118.
- [2] 侯晓虹, 于治国, 徐赞美, 等. 34 种吴茱萸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的含量测定[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(5): 334.
- [3] 朱坤福. 薄层扫描法测定吴茱萸颗粒剂中吴茱萸次碱的含量[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(6): 337.
- [4] 甄攀, 王治宝, 白雪梅, 等. 吴茱萸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱 HPLC 分析[J]. 中成药, 2004, 26(3): 57.
- [5] 洪玉梅, 蔡嵩, 王维皓, 等. HPLC 测定吴茱萸及其炮制品中吴茱萸内酯的含量[J]. 中国中药杂志, 2005, 31(7): 78.
- [6] 洪玉梅, 范强, 王智民. 吴茱萸及其炮制品中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的含量比较[J]. 中国中药杂志, 2006, 32(20): 70.