

HPLC 同时测定吴茱萸中吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯的含量^{*}

★ 苏娟娟^{1,2**} 张璐^{2,3} 何明珍¹ 冯育林^{1,2***} 王跃生^{1,2} 杨世林^{1,2} (1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 南昌 330006; 2. 江西中医学院 南昌 330006; 3. 南昌市食品药品检验所 南昌 330038)

摘要:目的:建立高效液相色谱法同时测定吴茱萸中吴茱萸碱、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, Hypersil ODS2 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相:甲醇-水梯度洗脱, 0~30 min, 甲醇-水(32:68), 30 min 以后, 甲醇-水(63:37); 流速:0.8 ml/min; 检测波长:225 nm; 柱温:32℃。结果:吴茱萸碱的回归方程: $Y = 4252.1X + 16.231$, $R^2 = 1$, 线性范围 0.20~4.0 μg; 吴茱萸次碱回归方程: $Y = 988.18X - 18.269$, $R^2 = 1$, 线性范围 0.20~4.0 μg; 吴茱萸内酯回归方程: $Y = 131.09X - 9.113$, $R^2 = 0.9992$, 线性范围 0.363~7.26 μg。吴茱萸碱平均回收率为 97.8%, RSD1.11%; 吴茱萸次碱平均回收率为 97.3%, RSD1.17%; 吴茱萸内酯平均回收率为 97.8%, RSD2.10%。结论:该方法稳定, 重现性好, 操作简单。

关键词:吴茱萸; 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; 吴茱萸内酯; HPLC

中图分类号: R 284.1 文献标识码: A

Determination of evodia mine, rutaecarpine and evodin in *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth by HPLC

SU Juan-juan^{1,2}, ZHANG Lu^{2,3}, He Ming-zhen¹, FENG Yu-lin^{1,2}, YANG Shi-lin^{1,2}

1. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Materia Medica, Nanchang 330006;

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006;

3. Nanchang Institute for Drug Control, Nanchang 330029

Abstract: Objective: To establish a method for determination of evodia mine, rutaecarpine and evodin in *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth by HPLC. Methods: The separation was performed on Hypersil C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column with methanol-water gradient elution, 0~30 min, methanol-water(32:68), after 30 min, methanol-water(63:37) as mobile phase. The flow rate was 0.8 ml/min, the wavelength of UV detector was set at 225 nm and the column temperature was set at 32℃. Results: For evodia mine, the regression equation was $Y = 4245.1X + 16.231$, $R^2 = 1$, the linear range was within 0.20~4.0 μg; for rutaecarpine, the regression equation was $Y = 988.18X - 18.269$, $R^2 = 1$, the linear range was within 0.20~4.0 μg; for evodin, the regression equation was $Y = 131.09X - 9.113$, $R^2 = 0.9992$, the linear range was within 0.363~7.26 μg. The average recovery of evodia mine was 97.8% ($n = 5$), RSD1.11%; The average recovery of rutaecarpine was 97.3% ($n = 5$), RSD1.17%; The average recovery of evodin was 97.8% ($n = 5$), RSD2.10% respectively. Conclusion: The method is simple, accurate and with good reproducibility.

Key words: *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth; evodia mine; rutaecarpine; evodin; HPLC

吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) benth. 的干燥近成熟果实, 具有温胃止呕、温脾止泻、散寒止痛等功效。吴茱萸中的主要成分为吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯等。本实验通过高效液相色谱法同时测定吴茱

萸中吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯的含量, 该方法稳定, 重现性好, 操作简单, 是吴茱萸质量监控较理想的方法。

1 试药与试剂

Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪, Agilent HP1100 二

* 基金来源: 国家十一五科技支撑计划资助项目(2006BAZ06A01-01)

** 作者简介: 苏娟娟(1984-), 女, 福建厦门人, 硕士研究生, 研究方向为中药质量标准及天然产物化学。Email: xmsuj@163.com

*** 通讯作者: 冯育林 Tel: (0791) 7119632 E-mail: fengyulin2003@hotmail.com

极管阵列检测器, ChemStations 色谱工作站, Mettler AE240 型电子天平(瑞士 Mettler), RE52CS 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯对照品由中药固体制剂制造技术国家工程研究中心提供。吴茱萸为市售药材, 经江西中医学院杨世林教授鉴定为芸香科植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 的干燥近成熟果实。甲醇为色谱纯, 其它试剂均为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪, Hyper-sil ODS2 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水梯度洗脱, 0~30 min, 甲醇-水(32:68), 30 min 以后, 甲醇-水(63:37); 流速: 0.8 ml/min; 检测波长: 225 nm; 柱温: 32℃。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取吴茱萸碱 2.00 mg、吴茱萸次碱 2.00 mg 和吴茱萸内酯 3.63 mg 置 10 ml 容量瓶中, 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 称取吴茱萸药材 3.60 g 于 500 ml 容量瓶中, 加入乙醇 200 ml, 回流提取 2 h, 过滤, 减压蒸干溶剂后用甲醇溶解, 转移至 50 ml 容量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 线性关系考察 分别精密吸取吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯混合对照品溶液 1, 2, 5, 10, 15, 20 μl 注入液相色谱仪, 在上述条件下进行分析, 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:

$$Y_{\text{吴茱萸碱}} = 4252.1X + 16.231, R^2 = 1$$

$$Y_{\text{吴茱萸次碱}} = 988.18X - 18.269, R^2 = 1$$

$$Y_{\text{吴茱萸内酯}} = 131.09X - 9.113, R^2 = 0.9992$$

结果表明, 吴茱萸碱、吴茱萸次碱、吴茱萸内酯进样量(X)分别在 0.20~4.00 μg, 0.20~4.00 μg, 0.363~7.26 μg 范围内, 与峰面积的值(Y)呈线性关系。

2.5 精密度试验 取吴茱萸供试品溶液 1 份, 在上述色谱条件下, 重复进样 5 次, 每次进样 20 μl, 记录峰面积, 计算得吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯的峰面积 RSD 分别为 2.72%、2.81% 和 1.45%。

2.6 供试品溶液稳定性试验 取吴茱萸供试品溶液分别在 0、2、4、8、12、24 h 测定, 记录峰面积。结果吴茱萸碱峰面积的 RSD 为 2.22%, 吴茱萸次碱峰面积的 RSD 为 2.53%, 吴茱萸内酯峰面积的 RSD 为 2.18%。

2.7 重现性试验 称取吴茱萸药材 5 份, 每份约 3.60 g, 按供试品溶液制备方法进行处理后, 取 20 μl 注入液相色谱仪, 在上述色谱条件下进行测定, 记录峰面积。结果吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯峰面积的 RSD 分别为 2.83%、2.08% 和 2.94%。

2.8 回收率试验 称取适量吴茱萸药材 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、2、3。

2.9 样品的测定 按供试品溶液制备法分别制备 3 份样品, 分别取 20 μl 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 1 吴茱萸碱加样回收率试验结果

样品中量 /μg	添加量 /μg	测得量 /μg	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
375.1	350	720.4	98.7	97.7	1.51
372.0	350	721.5	99.9		
372.9	350	714.6	97.6		
378.4	350	715.1	96.2		
376.7	350	712.9	96.1		

表 2 吴茱萸次碱加样回收率试验结果

样品中量 /μg	添加量 /μg	测得量 /μg	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
794.2	800	1587.7	99.2	97.8	0.81
782.4	800	1565.6	97.9		
789.1	800	1567.0	97.2		
795.7	800	1570.5	96.9		
797.8	800	1582.1	98.0		

表 3 吴茱萸内酯加样回收率试验结果

样品中量 /μg	添加量 /μg	测得量 /μg	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
7.56	7.50	14.98	98.9	97.9	1.25
7.80	7.50	15.01	96.1		
7.60	7.50	14.86	96.8		
7.52	7.50	14.96	99.2		
7.41	7.50	14.80	98.5		

表 4 样品测定结果(n=5) /mg·g⁻¹

样品	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	吴茱萸内酯
1	1.44	1.42	31.40
2	1.45	1.44	32.61
3	1.45	1.40	32.54

3 讨论

通过用 Agilent HP1100 二极管阵列检测器检测吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯对照品在 225 nm 左右有最大吸收, 因此检测波长定为 225 nm; 本实验经摸索筛选采用甲醇-水梯度洗脱, 使得吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯的峰与杂质峰分开, 分离效果较为理想。在样品制备中考察了样品提取条件, 设计以水、50% 乙醇和 95% 乙醇为提取溶剂, 结果以 50% 乙醇提取含量最高。

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] 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.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 鲍天冬, 董宇, 朱晓新, 等. 高效液相色谱法同时测定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[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(6): 1-3.
- [6] 郭兆荣, 李笑然, 杨世林, 等. HPLC 同时测定雪胆胃脘丸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱[J]. 中成药, 2009, 31(2): 326-327.
- [7] 甄攀, 白雪梅, 王治宝, 等. 四神丸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱 HPLC 分析[J]. 中草药, 2004, 35(11): 1249-1251.

(收稿日期: 2009-10-12)