

# 反相 HPLC 法测定吴茱萸碱及吴茱萸次碱的含量

邹巧根 宋 苗 周世旺

(中国药科大学分析计算中心,南京 210038)

**摘要** 建立了反相高效液相法(RP-HPLC)测定吴茱萸碱及吴茱萸次碱的定量方法,主要色谱条件为:色谱柱 Phenomenex-ODS;流动相为:水-乙腈-冰乙酸-四氢呋喃(100:90:0.2:2)(pH=5.0);流速为1.0 ml/min;检测波长254 nm;线性范围0.04~0.2 ng,吴茱萸碱及吴茱萸次碱浓度与峰面积具有良好相关性,r值分别为0.9998,0.9995,加样回收率分别为99.25%,99.42%,RSD值分别为1.62%,1.61%。

**关键词** 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; 反相高效液相色谱

吴茱萸冲剂是根据《伤寒论》的经典方“吴茱萸汤”制成的可溶性冲剂,由吴茱萸碱、人参、大枣、干姜四味药组成,具有温中补虚,降逆止呕及镇痛之功效<sup>[1~4]</sup>,其中吴茱萸为方中君药,其成分以生物碱为主,本研究把吴茱萸碱及吴茱萸次碱作为定量对象,采用RP-HPLC 测定其含量,从而为确定吴茱萸冲剂质控指标提供参考。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试药

Micromeritics 760 HPLC 泵; micromeritics 787 紫外检测器; 日本岛津 CR6A 色谱数据处理机。吴茱萸碱 evodiamine、吴茱萸次碱 rutaecarpin(日本松浦药业株式会社,液相色谱证明含量为99%);吴茱萸冲剂(宁夏中药厂)。乙腈(色谱纯);甲醇、四氢呋喃、冰乙酸、氯仿、氨水(以上皆为A.R级)。

### 1.2 HPLC 条件

色谱柱为 Phenomenex C<sub>18</sub> 柱(150 mm×4.6 mm, 10 μm)。流动相为:水-乙腈-冰乙酸-四氢呋喃(100:90:0.2:2)(pH=5.0);流速为1.0 ml/min;检测波长254 nm;

检测器灵敏度:0.32。此条件下吴茱萸碱及吴茱萸次碱均分离完全,且峰形稳定,样品分离色谱图如下:

### 1.3 测定方法的建立

#### 1.3.1 标准曲线的绘制

精密称取吴茱萸碱及吴茱萸次碱对照品各1.00 mg,混合后置10 ml量瓶中,加入甲醇使之溶解,甲醇定容至刻度后吸取标准溶液20,40,60,80,100 μl 分别置1 ml量瓶中,甲醇稀释至刻度,依次进样,用进样浓度C(mg/ml)对峰面积A回归得各自回归方程为:吴茱萸碱  $C = 8.33 \times 10^{-7} A + 9.51 \times 10^{-5}$  ( $r = 0.9998$ );吴茱萸次碱  $C = 8.01 \times 10^{-7} A + 2.66 \times 10^{-5}$  ( $r = 0.9995$ )。



Fig. 1. HPLC chromatography  
1. evodiamine; 2. rutaecarpin

1.3.2 回收率实验 称取样品3 g共10份,精密称定,以60 ml热水溶解加入定量的标准溶液(32~50 μl),氨水调pH至9,用三

氯甲烷萃取四次,用甲醇稀释至 2 ml 量瓶中定容至刻度,依次进样,计算回收率,结果:吴茱萸碱的回收率为 99.25% ( $n=10$ ),  $RSD = 1.62\%$ ; 吴茱萸次碱的回收率为 99.42% ( $n=10$ ),  $RSD = 1.61\%$ 。

### 1.3.3 精密度实验

1.3.1 进样精密度实验 精密称取样品 3.0245 g, 用 60 ml 热水溶解, 氨水调 pH 至 9, 用三氯甲烷萃取 4 次, 重复进样 8 次, 得吴茱萸碱  $RSD$  值为 0.88%; 吴茱萸次碱  $RSD$  值为 1.59%。

1.3.2 样品提取精密度实验 取同批样品 3 g 共 9 份, 精密称定, 以 60 ml 热水溶解, 氨水调 pH 至 9, 用三氯甲烷 4 次萃取处理, 得样品液共 9 份。每份进两针, 取平均值计算得吴茱萸碱  $RSD$  值为 0.91%; 吴茱萸次碱  $RSD$  值为 2.26%。

1.3.4 样品测定 取样品 3 g, 精密称定, 以 60 ml 热水溶解, 氨水调 pH 至 9, 用三氯甲烷四次萃取得样品液进样, 进样量为 20  $\mu\text{l}$ , 按上述色谱条件, HPLC 进行测定, 计算含量, 结果见表 2:

Tab 2. The contents of evodiamine and rutaecarpin in sample

Batch	No.	Amount of sample, g	Contents of evodiamine, %	$\bar{x}$	Contents of rutaecarpin, %	$\bar{x}$
930812	1	3.0051	1.60	1.64	2.40	2.46
	2	3.0039	1.68		2.53	
931121	1	3.0045	3.09	3.12	4.34	4.48
	2	3.0237	3.16		4.63	
931129	1	3.0371	3.52	3.53	4.18	4.14
	2	3.0031	3.54		4.09	
931201	1	3.0038	1.81	1.88	2.27	2.42
	2	3.0015	1.95		2.58	
931202	1	3.0063	3.50	3.69	4.34	4.68
	2	3.0007	3.88		5.02	
931215	1	3.0033	1.91	1.89	3.32	3.34
	2	3.0026	1.88		3.36	

## 2 讨 论

1) 吴茱萸来源于芸香科植物吴茱萸的干燥未成熟果实, 经炮制后入药, 实验表明, 不同的炮制方法、不同的炮制条件<sup>[6]</sup>, 其生物碱的含量均有明显变化, 通过对多批干浸膏含量未加控制的成品进行含量测定, 结果证实吴茱萸碱及吴茱萸次碱的含量不稳定, 因此必须通过控制干浸膏粉的含量来保证成品的含量, 以确保冲剂的药效。

2) 我们选用三种提取方法进行了比较, 即氯仿萃取, 氯仿索氏提取, 甲醇索氏提取, 结果表明用氯仿萃取及甲醇索氏提取较完全, 从图谱峰形的分离效果来看, 甲醇索氏提取达不到基线分离, 而氯仿萃取则达到

基线分离, 且萃取 5 次后无吴茱萸碱及吴茱萸次碱色谱峰, 所以提取方法确定为氯仿萃取 4 次。

## 参 考 文 献

- 1 许济群. 方剂学. 上海: 上海科技出版社, 79
- 2 邱赛红, 窦昌贵. 吴茱萸汤温胃止呕作用的实验研究. 中药药理与临床. 1988, 4(3): 9
- 3 邱赛红. 吴茱萸汤对小鼠胃肠排空及毒性影响的正交设计实验. 中药药理与临床 1987, 3(1): 22
- 4 小菅卓夫. 吴茱萸的化学和药理, 国外医学·中医中药分册 1986, 8(1): 17
- 5 王易宾, 卢容伟, 李群. 吴茱萸及其炮制品中主要生物碱的高效液相色谱分析. 中药材 1993, 16(9): 28
- 6 李群, 王易宾, 王琦. 正交法探讨吴茱萸炮制工艺. 中药材 1994, 17(12): 24

# Assay for Evodiamine and Rutaecarpin by Reverse Phase HPLC

Zhou Qiaogeng, Song Zhe, Zhou Shiwang

Analysis and Computer Center, China Pharmaceutical University, Nanjing  
210038

**Abstract** The contents of evodiamine and rutaecarpin in sample were measured by reverse phase HPLC. The measurement conditions used were as follows: Phenomenex-ODS column; mobile phase  $H_2O$ -MeCN-AcOH-THF(100 : 90 : 02 : 2)(pH=5); flow rate: 1.0 ml/min; wavelength for measurement: 254 nm; the linear range was 0.04 to 0.2 ng and the correlation coefficients were 0.9998 and 0.9995. The recovery rates for Evodiamine and Rutaecarpin were 99.25% and 99.42%, respectively with 1.62% and 1.61% of RSD.

**Key words** Evodiamine; Rutaecarpin; Reverse phase HPLC

**【文摘 075】** 盐酸关附甲素注射液对实验性心律失常的作用 王秋娟,张陆勇,唐明月,后德辉,刘静涵 . 现代应用药学,1996,13(4):7

关附甲素是从关白附子块根中提取的一种新生物碱。实验表明 IGFAH(50  $\mu$ g/ml)对大鼠离体心脏结扎冠脉诱发的室性心律失常有明显的保护作用, IGFAH3、6、12 mg/kg iv 能显著地提高电刺激麻醉兔心室致颤阈值,IGFAH 13.4,16.8,21.0 mg/kg iv 能明显对抗  $CaCl_2$ -Ach 液诱发小鼠房扑(颤),其  $ED_{50}$  为  $12.4 \pm 1.5$  mg/kg。IGFAH10,25,40 mg/kg iv 对乌头碱诱发的大鼠室心律失常有明显的保护作用。IGFAH 小鼠 iv 的  $LD_{50}$  为 163.9 mg/kg,其 96% 可信限为 151.9~176.7 mg/kg。

**【文摘 076】** 以聚乳酸为聚合物材料制备微粒给药系统 郭健新,王 荣 . 药学进展,1996,20(3):135

综述以聚乳酸(PLA)为聚合物材料制备微粒给药系统的方法,包括乳化溶剂挥发法,液中干燥法、喷雾干燥法、空气混悬包衣法和熔融法等。讨论了上述诸法对所制微粒特征的影响因素。

**【文摘 078】** 拓扑异构酶与抗癌药 李玉艳,李志裕,王 华,尤启东 . 药学进展,1996,20(3):138

DNA 拓扑异构酶(topoisomerase)是一种基本核酶,在与 DNA 有关的遗传功能中显示重要作用。

该酶主要包括 Topo I、Topo II 两种类型。以 Topo I、Topo II 为靶分子设计各种酶抑制剂,使其成为抗肿瘤药物,已成为肿瘤化疗研究的新热点。本文阐述了拓扑异构酶的作用机制和特点,介绍了近几年国外对这类药的研究进展及主要化学结构、构效关系、作用方式和各类药物的优缺点。

**【文摘 079】** 钾通道开放剂的平滑肌作用 王霆,刘国卿 . 药学进展,1996,20(3):143

钾通道开放剂是近年来研究的热点课题。本文综述了钾通道开放剂的作用机制,对血管、呼吸道平滑肌作用和细胞内钙、一氧化氮之间的关系,以及与钙通道拮抗剂的差异。

**【文摘 080】** 手性药物的开发与前景 丁 慈 . 药学进展,1996,20(3):147

外消旋药物临床使用所引起的药效、药物转运、代谢、毒性等一系列问题已越来越受到关注。开发单一对映体(手性)药物,将为药物使用的有效性和安全性提供保证。发达国家正在制订和发布开发手性药物的有关法规、政策报告,其中涉及的技术问题对我国开展这方面工作将提供有益的参考。手性药物的开发具有极高的经济价值,而手性技术的发展与其它高新技术一样将会越来越受到重视。