

## · 药物分析 ·

## HPLC 测定左金丸中吴茱萸次碱含量

潘敏翔, 刘昌叶, 常 华, 赵 森, 姜 韧(解放军 306 医院药剂科, 北京 100101)

**摘要 目的:**建立高效液相色谱法测定左金丸中吴茱萸次碱含量的方法。**方法:**采用高效液相色谱法。Intersil C<sub>18</sub> 分析色谱柱(4.6mm ID × 250mm, 粒径 5μm), 流动相为乙腈 - 10% 乙腈(50: 50), 流速 1ml · min<sup>-1</sup>, 检测波长 345nm。**结果:**吴茱萸次碱的理论板数为 2100。回归方程  $Y = -0.2197 + 0.0000003484X$  ( $r = 0.9999$ ), 线性范围 12 ~ 60μg · ml<sup>-1</sup>。平均回收率为 96.9% ( $n = 5$ ),  $RSD$  3.7%, 最低检出浓度为 0.1μg · ml<sup>-1</sup>。**结论:**方法简便, 结果准确。

**关键词** 高效液相色谱法; 左金丸; 吴茱萸次碱

**中图分类号:** R917 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006 - 0111(2002)04 - 0236 - 02

## Determination of rutaecarpine In Zuojin Wan by HPLC

PAN Min-xiang, LIU Chang-ye, CHANG Hua, ZHAO Miao( Department of pharmacy, Hospital 306, PLA, P. O. Box 9720, Beijing 100101, China)

**ABSTRACT OBJECTIVE:** A quantitative method was developed for the determination of rutaecarpine in Zuojin Wan by HPLC. **METHOD:** The chromatographic conditions include column Intersil C<sub>18</sub>, mobile phase: acetonitrile-10% acetonitrile(50: 50), flow rate 1 ml · min<sup>-1</sup>, wavelength 345nm. **RESULTS:** The number of theoretical plates calculated by rutaecarpine peak was 2100, The regression equation of rutaecarpine was  $Y = -0.2197 + 0.000000349X$  ( $r = 0.9999$ ) and the liner range was 12 ~ 60μg · ml<sup>-1</sup>. The average recovery of rutaecarpine was 96.9% ( $n = 5$ ),  $RSD$  3.7%. The measurable lowest limit of rutaecarpine was 0.1μg · ml<sup>-1</sup>. **CONCLUSION:** The method is sensitive, rapid and accurate.

**KEY WORDS** HPLC; Zuojin wan; rutaecarpine

左金丸收载于中华人民共和国药典 2000 年版二部, 由黄连和吴茱萸细粉水泛丸制成, 功能泄火, 疏肝, 和胃, 止痛, 用于肝火犯胃, 腕胁疼痛等。中国药典中左金丸含量测定是用酸性甲醇索氏提取, 经乙醇洗脱氧化铝柱分离后, 紫外分光光度法测定盐酸小檗碱的含量。除盐酸小檗碱外, 吴茱萸次碱也是左金丸中已知重要有效成分, 中国药典中没有吴茱萸次碱的含量测定方法。吴茱萸及其制剂中吴茱萸次碱含量测定方法报道有高效液相色谱法<sup>[1-3]</sup>、薄层扫描色谱法<sup>[4,5]</sup>等, 左金丸中吴茱萸次碱的含量测定方法未见报道。本实验建立了高效液相色谱测定左金丸中吴茱萸次碱含量的方法。

## 1 仪器与试剂

## 1.1 仪器

BIO-RAD 公司 2800 液相色谱泵, 7215 型手动进样器(USA), BIO-DIMENSION 紫外可见分光光度检测器, TL 9900 色谱数据工作站。

## 1.2 试剂

吴茱萸次碱(801 - 9702)对照品购自中国药品生物制品检定所。黄连和吴茱萸购自北京市药材公司, 经我院药剂科药检室检定符合中国药典 2000 年版一部标准。实验用样品由本院制剂室制备。乙腈(天津市西华特种试剂厂, 20010818)色谱纯。吴茱萸次碱对照品储备液为 10μg · ml<sup>-1</sup>乙醇溶液。

## 2 方法与结果

## 2.1 色谱条件和系统适用性试验

Intersil C<sub>18</sub> 分析色谱柱(4.6mm ID × 250mm, 粒径 5μm), 流动相为乙腈 - 10% 乙腈(50: 50), 流速 1ml · min<sup>-1</sup>, 检测波长 345nm。在此色谱条件下, 测得吴茱萸次碱对照品, 左金丸阴性样品和左金丸样品色谱图(图 1)。在图 1 中, 吴茱萸次碱保留时间为 16.0min, 与相邻峰的分度大于 1.5, 理论板数为 2100。

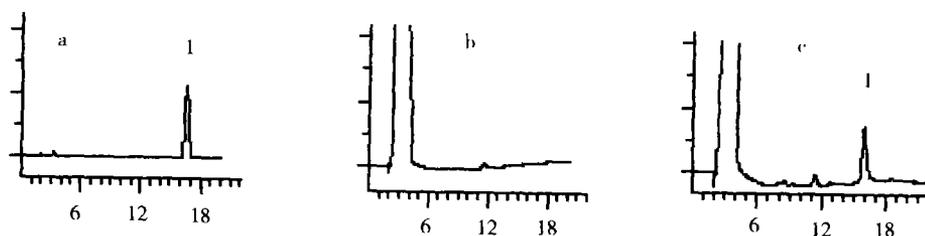


图 1 HPLC 色谱图

a - 对照品; b - 左金丸(吴茱萸)阴性样品; c - 左金丸 1 号峰为吴茱萸次碱

## 2.2 线性关系与最低检出浓度

精密量取吴茱萸次碱对照品储备液适量,用乙醇稀释成系列浓度( $n=5$ ),分别取  $20\mu\text{l}$  注入液相色谱仪,记录色谱峰面积,以峰面积均值  $X(n=3)$  对进样浓度  $Y(\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1})$  线性回归,得回归方程  $Y = -0.2197 + 0.0000003484X$ ,  $r = 0.9999$ ,线性范围  $12 \sim 60\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。

将吴茱萸次碱对照品溶液适当稀释后进样,以峰高为基线噪音 3 倍计算,最低检出浓度分别为  $0.1\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。

## 2.3 提取方法选择

取左金丸适量研为细粉。取左金丸细粉  $0.7\text{g}$ ,精密称定,置  $100\text{ml}$  磨口锥型瓶中,加入精密量取的乙醇  $25\text{ml}$ ,精密称定。分别超声提取 20、40min 后再精密称定,补足减失的溶剂,摇匀,按样品测定项下方法测定含量;同法取样,加乙醇后分别水浴加热提取 20、40、60、90min 后再精密称定,补足减失的溶剂,混匀,按样品测定法测定含量。以水浴加热提取 60min 的提取率为 100% 计算,吴茱萸次碱超声提取 20、40min 的提取率分别为 65%、66%;水浴加热提取 20、40、90min 的提取率,吴茱萸次碱分别为 69%、103% 和 100%,证明水浴加热提取 60min 吴茱萸次碱可提取完全。本试验采用水浴加热 60min 提取样品。

## 2.4 仪器精密度和方法重复性

同一左金丸样品溶液重复进样 5 次,记录吴茱萸次碱色谱峰面积,  $RSD$  为 1.5%。

同一批左金丸重复取样测定 5 次,记录吴茱萸次碱色谱峰面积,  $RSD$  为 1.9%。

## 2.5 加样回收

取同一批左金丸细粉 7 份,其中 5 份分别精密加入吴茱萸次碱对照品适量(加入量在各自含量的 80% ~ 120% 范围),制备 5 份回收样品,另外 2 份做空白。按样品测定项下方法测定含量,求得吴茱萸次碱平均回收率为 96.9%,  $RSD$  3.7%。

## 2.6 样品测定

### 2.6.1 对照品溶液制备

分别精密量取吴茱萸次碱对照品储备液  $3\text{ml}$ ,置  $25\text{ml}$  量瓶中,加乙醇稀释至刻度,摇匀,即得(每  $1\text{ml}$  含吴茱萸次碱  $12\mu\text{g}$ )。

### 2.6.2 供试品溶液制备

取左金丸  $12\text{g}$ ,研为细粉。取左金丸细粉  $0.7\text{g}$ ,精密称定,置  $100\text{ml}$  具塞锥型瓶中,加入精密量取的乙醇  $25\text{ml}$ ,精密称定,水浴加热提取 60min,放冷至室温,再精密称定,补足减失的溶剂,混匀,用  $0.45\mu\text{m}$  滤膜滤过,即得。

### 2.6.3 测定法

分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各  $20\mu\text{l}$ ,注入液相色谱仪,记录吴茱萸次碱色谱峰面积,外标法计算含量。

测定了 3 批样品,左金丸中吴茱萸次碱含量 ( $\text{mg/g}$ ) 分别是 0.4611、0.4826 和 0.4903。

## 3 讨论

经光谱扫描确认吴茱萸次碱最大吸收波长在  $345\text{nm}$ ,次强吸收波长在  $215\text{nm}$ ,在  $220 \sim 240\text{nm}$  左右为强吸收肩峰。本试验选用  $345\text{nm}$  作为测定波长。

经稳定性实验,样品溶液在实验温度 ( $18 \sim 22^\circ\text{C}$ ) 下置量瓶中,吴茱萸次碱至少在 10d 内稳定。

左金丸中还含有吴茱萸碱,也是已知有效成份。吴茱萸碱在  $300\text{nm}$  以上几无吸收,在  $225\text{nm}$  左右有较强吸收,可试用  $225\text{nm}$  作为检测波长,进行 HPLC 同时测定左金丸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量方法研究。

本法操作简便、测定结果准确可靠,可用于戊己丸中吴茱萸次碱含量测定。

## 参考文献:

- [1] 谭生建,扬成勇,贺京,等. 梯度洗脱变换波长 HPLC 测定四神丸中有效成分[J]. 中国药学杂志, 1999, 34(12): 839.
- [2] 庄燕黎,晁若冰. 高效液相色谱法测定吴茱萸药材及其制剂中吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量[J]. 药物分析杂志, 1997, 17(3): 174.
- [3] 于治国,侯晓,时雅. HPLC 测定吴茱萸及其制剂中吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量[J]. 中国药学杂志, 1999, 34(10): 691.
- [4] 刘蕴秀,罗淑荣,冯孝章. 薄层荧光扫描法测定吴茱萸药材及其制剂中 5 种生物碱的含量[J]. 药学报, 1999, 34(5): 383.

收稿日期: 2002-03-04