

HPLC 测定广西不同产地千里香中九里香酮和 5-九里香酮的含量

姜平川^{*}, 李嘉, 黄建猷, 陈锋, 李红, 张赟赟
(广西中医药研究院, 南宁 530022)

[摘要] 目的: 建立千里香中九里香酮和 5-九里香酮的 HPLC 含量测定方法, 并检测广西不同产地千里香中九里香酮和 5-九里香酮的含量。方法: 采用高效液相色谱分析, 用 Global Chromatography SP-120-5-ODS-AP C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×150 mm, 5 μm); 以甲醇-水(60:40)为流动相; 检测波长 332 nm。结果: 九里香酮和 5-九里香酮分别在 0.589 6 ~5.896 μg 和 0.564 4 ~5.64 μg 呈良好的线性关系, $r=0.999 9$; 平均回收率分别为 100.2% (RSD 1.39%) 和 100.3% (RSD 2.01%)。结论: 广西不同产地千里香中九里香酮和 5-九里香酮的含量存在较大差异, 以龙州产含量最高。

[关键词] 千里香; 九里香酮; 5-九里香酮; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0036-03

Determination of Murrayone and 5-Murrayone in *Murraya paniculata* from Different Habitats in Guangxi by HPLC

JIANG Ping-chuan^{*}, LI Jia, HUANG Jian-you, CHEN Feng, LI Hong, ZHANG Yun-yun
(Guangxi Institute of Chinese Medicine & Pharmaceutical Science, Nanning 530022, China)

[Abstract] **Objective:** To determine murrayone and 5-murrayone in *Murraya paniculata* from different habitats in Guangxi. **Method:** A Global Chromatography SP-120-5-ODS-AP C₁₈ Column(4.6 mm ×150 mm, 5 μm) was used with methanol-water(60:40) as the mobile phase and UV detection was at 332nm. **Result:** The calibration curves were linear in the range of 0.589 6 ~5.896 μg for murrayone and 0.564 4 ~5.64 μg for 5-murrayone, and the both correlation coefficients ($n=5$) were 0.999 9; the average recovery ($n=6$) for murrayone and 5-murrayone were 100.2% (RSD 1.39%) and 100.3% (RSD 2.01%) respectively. **Conclusion:** There were large differences in the contents of murrayone and 5-murrayone among *murraya paniculata* with different habitats in Guangxi. The highest content was found in Longzhou.

[Key words] *Murraya paniculata*; murrayone; 5-murrayone; HPLC

千里香 *Murraya paniculata* (L.) Jack 为芸香科九里香属植物, 是 2010 年版《中国药典》收录的九里香品种之一^[1], 主要分布于广西、云南、贵州等地。具有行气活血, 散瘀止痛, 解毒消肿的功效, 主治胃

脘疼痛、风湿痹痛、跌扑肿痛、疮痛、蛇虫咬伤; 亦用于麻醉止痛^[2]。千里香中主要含香豆精、黄酮、挥发油等成分, 经研究发现其黄酮类成分含量较高, 而 2010 年版药典尚未建立相关含量测定方法。目前国内市场上九里香药材原料 90% 以上来自广西, 它是“三九胃泰颗粒”和国内妇科名牌产品“肤阴洁复方黄松洗液、湿巾”等多种中成药的主要原料药材。为了能更好的控制广西千里香的质量, 现用 HPLC 对广西境内不同产地的千里香进行含量测定, 研究不同产地千里香药材中九里香酮、5-九里香酮的含

[收稿日期] 20100613(004)

[基金项目] 广西科技厅科技攻关项目(桂科攻 0815005-1-22)

[通讯作者] ^{*} 姜平川, Tel: 13807712995, E-mail: gxyat@126.com

量并进行比较,对广西千里香的规范化种植具有重要指导意义,同时为下一步建立九里香质量标准提供依据。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪(Agilent 1200, 二极管阵列检测器, Agilent 化学工作站, 美国 Agilent 公司); 电子天平(XS205, 瑞士 METTLER TOLEDO 公司), 超声波清洗器(B2200s, 必能信超声(上海)有限公司)。

九里香酮、5-九里香酮对照品为自制, 纯度 > 98%, 1D-NMR, 2D-NMR, MS, IR 和 UV 等数据与文献报道一致。甲醇为色谱纯(Fisher 公司), 水为娃哈哈纯净水, 其他试剂均为分析纯。

千里香药材采自广西不同产地, 经本院中药资源所严克俭助理研究员鉴定为 *M. paniculata*。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Global Chromatography SP-120-5-ODS-AP C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(60:40), 柱温室温; 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 332 nm。将九里香酮和 5-九里香酮混合对照品溶液和千里香药材样品溶液分别进样量 20 μL, 色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取九里香酮和 5-九里香酮对照品适量, 置同一量瓶中, 加甲醇制成九里香酮质量浓度为 294.80 mg·L⁻¹ 和 5-九里香酮质量浓度为 282.20 mg·L⁻¹ 的混合溶液, 作为储备液。

2.3 供试品溶液的制备 取千里香里药材粉末(过 60 目筛) 1.0 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞三角瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称重, 超声处理 60 min, 放冷, 用甲醇补足减失的质量, 滤过, 续滤液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 线性关系考察 分别精密吸取储备液 1, 2, 4, 6, 8, 10 mL 置 10 mL 量瓶中, 并用甲醇定容至刻度, 摇匀, 即得。分别取上述对照品溶液 20 μL, 注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件测定峰面积。以进样量 $X(\mu\text{g})$ 为横坐标, 以峰面积 Y 为纵坐标进行线性回归, 九里香酮回归方程为 $Y = 2.15 \times 10^3 X + 5.23 \times 10$, $r = 0.9999$, 线性范围 0.5896 ~ 5.896 μg; 5-九里香酮回归方程为 $Y = 1.82 \times 10^3 X + 3.88 \times 10$, $r = 0.9999$, 线性范围 0.5644 ~ 5.64 μg。

2.5 精密度试验 精密吸取 117.92 mg·L⁻¹ 九里香酮与 112.88 mg·L⁻¹ 5-九里香酮对照品混合溶液。

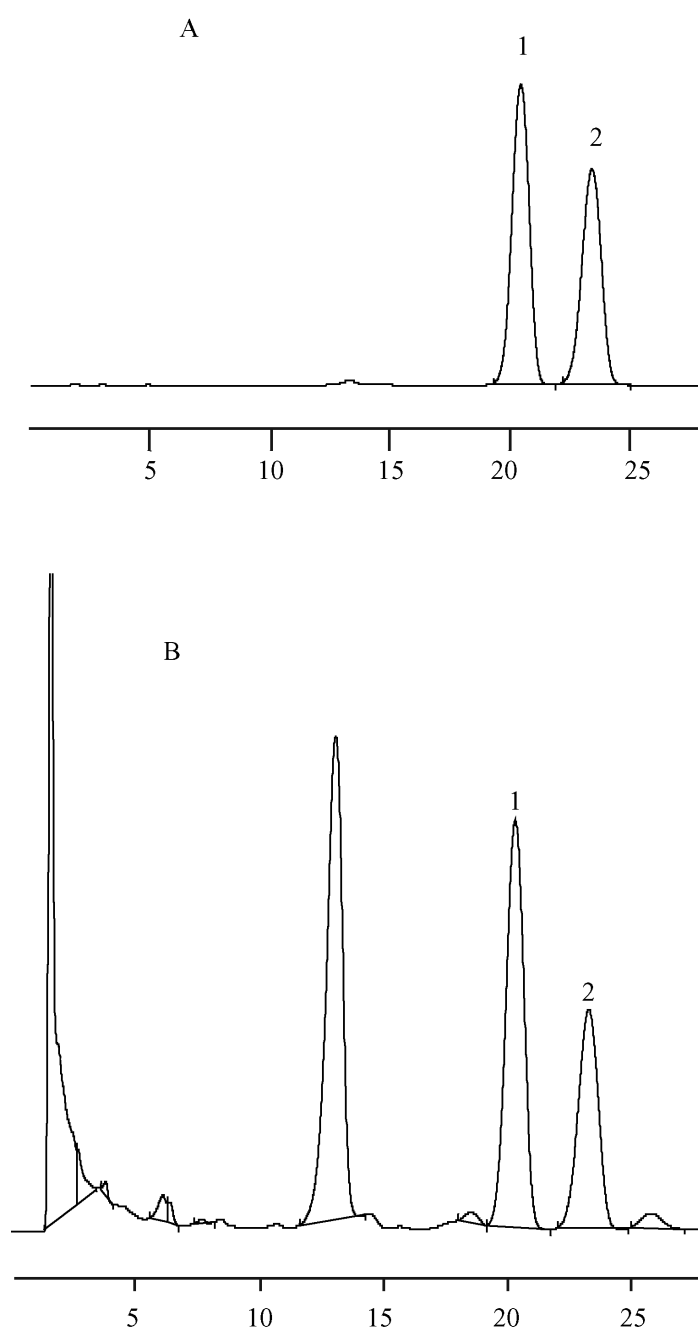


图 1 千里香药材的 HPLC 图

A. 对照品; B. 样品; 1. 九里香酮; 2. 5-九里香酮

连续进样 6 次, 测定峰面积, 九里香酮和 5-九里香酮峰面积的 RSD ($n=6$) 值分别为 0.19% 和 0.25%, 结果表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 精密称取广西龙州千里香药材粉末(过 60 目筛) 1.0 g, 按照 2.3 项所述方法制备供试品溶液, 按照上述色谱条件进行测定, 在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时间间隔进样测定, 计算九里香酮和 5-九里香酮峰面积的 RSD 分别为 0.35% 和 1.29%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取广西龙州千里香药材粉末(过 60 目筛) 6 份, 按 2.3 项所述方法制备供试品溶液, 按照上述色谱条件进行测定, 结果九里香酮和 5-九里香酮含量平均值 ($n=6$) 分别为 1.48% 和 1.07%; RSD 分别为 0.61% 和 1.21%, 结果表明方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的广西龙州千里香药材粉末(九里香酮和 5-九里香酮含量

分别为 1.48% 和 1.07%) 0.25 g, 分别加入一定量九里香酮、5-九里香酮对照品, 按 2.3 项所述方法制备供试品溶液, 依上述色谱条件进行含量测定并计算回收率, 九里香酮和 5-九里香酮平均回收率 ($n=6$) 分别为 100.2% (RSD 1.39%) 和 100.3% (RSD 2.01%), 结果见表 1。

表 1 九里香酮、5-九里香酮回收率试验 ($n=6$)

对照品	取样量 /g	样品中含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
九里香酮	0.250 8	3.711 8	7.393 3	99.5	100.2	1.39
	0.254 2	3.762 2	7.480 7	100.5		
	0.252 5	3.737 0	7.418 4	99.5		
	0.255 9	3.787 3	7.446 3	98.9		
	0.254 7	3.769 6	7.571 9	102.8		
	0.253 6	3.753 3	7.442 5	99.7		
5-九里香酮	0.250 8	2.683 6	5.471 7	103.3	100.3	2.01
	0.254 2	2.719 9	5.481 8	102.3		
	0.252 5	2.701 8	5.356 0	98.3		
	0.255 9	2.738 1	5.405 8	98.8		
	0.254 7	2.725 3	5.414 4	99.6		
	0.253 6	2.713 5	5.394 8	99.3		

注: 九里香酮加入量均为 3.700 mg, 5-九里香酮加入量均为 2.700 mg。

2.9 样品含量测定 取广西不同产地的千里香药材, 按上述色谱条件测定并计算含量。结果分别见表 2。

表 2 不同产地千里香药材中九里香酮和 5-九里香酮的含量测定 ($n=2$) %

No.	产地	采集时间	九里香酮	5-九里香酮
1	广西龙州	2009 年 11 月	1.92	1.69
2	广西永福	2009 年 9 月	0.091	未测出
3	广西灵川	2009 年 9 月	0.12	0.36
4	广西环江	2009 年 11 月	0.25	0.75
5	广西凌云	2009 年 4 月	0.080	0.22
6	广西百色	2009 年 4 月	0.28	0.053
7	广西靖西	2008 年 12 月	0.15	1.69
8	广西凭祥	2010 年 3 月	0.15	1.33

3 讨论

研究表明, 本实验建立了千里香(九里香品种之一)中九里香酮和 5-九里香酮含量测定的方法, 操作简单, 结果可靠, 重复性好。本实验建立的含量测定方法可为九里香质量标准研究提供科学的依据。

从实验数据上看, 不同产地的千里香中九里香酮和 5-九里香酮的含量相差较大, 两者合计以广西永福的含量最低, 以广西龙州产的含量最高, 而永福地处桂北, 龙州地处桂南, 不同地域的环境和温差是否是造成九里香酮和 5-九里香酮的含量差异的因素, 还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 10.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 4 册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1999: 942.

[责任编辑 顾雪竹]