

HPLC 测定九里香中脱水长叶九里香内酯的含量

姜平川, 李嘉, 杨海船, 张赟赟, 李红, 黄建猷(广西壮族自治区中医药研究院, 南宁 530022)

摘要: 目的 建立九里香药材中脱水长叶九里香内酯的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法, 使用 Agilent Esclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(55:45), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 332 nm, 柱温 25 ℃。结果 脱水长叶九里香内酯进样浓度在 20.72~207.2 μg·mL⁻¹ 内, 与峰面积呈良好的线性关系($r=0.9998$); 其平均回收率为 98.41%, RSD 为 1.65%($n=6$)。结论 本法简便易行, 重复性好, 可用于九里香药材中脱水长叶九里香内酯的含量测定。

关键词: 九里香; 脱水长叶九里香内酯; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R284.1; R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2011)04-0341-04

基金项目: 广西科技厅科技攻关项目(桂科攻 0815005-1-22)

作者简介: 姜平川, 女, 副研究员 Tel: 13807712995 E-mail: gxyat@126.com

Determination of Phebalosin in *Murrayae Folium et Cacumen* by HPLC

JIANG Pingchuan, LI Jia, YANG Haichuan, ZHANG Yunyun, LI Hong, HUANG Jianyou(Guangxi Institute of Chinese Medicine & Pharmaceutical Science, Nanning 530022, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a high performance liquid chromatographic method for the determination of phebalosin in *Murrayae Folium et Cacumen*. **METHODS** The analysis was carried out on an Agilent Esclipse XDB-C₁₈ column(150 mm×4.6 mm, 5 μm), using a mixture of 55% methanol and 45% water as the mobile phase at a flow rate of 1 mL·min⁻¹ at 25 °C, the wavelength for measurement was 332 nm. **RESULTS** The calibration curve was linear in the range of 20.72–207.2 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 8$); the average recovery was 98.41% with RSD of 1.65%($n=6$). **CONCLUSION** The method is simple, accurate and reproducible, and it is suitable for the determination of phebalosin in *Murrayae Folium et Cacumen*. **KEY WORDS:** *Murrayae Folium et Cacumen*; phebalosin; HPLC; determination

九里香为芸香科植物九里香(*Murraya exotica* L.)和千里香(*Murraya paniculata* L. Jack)的干燥叶和带叶嫩枝,主要分布于我国云南、广东、广西、海南、湖南、福建等省区^[1],具有行气止痛、活血散瘀的功能,用于胃痛、风湿痹痛;外治牙痛、跌扑肿痛、虫蛇咬伤。中国药典 2010 年版中九里香项下只有显微鉴别和理化鉴别,尚无含量测定的方法。本课题组研究发现,脱水长叶九里香内酯为九里香两个品种的共有成分,且含量较高,为有效控制其质量,笔者建立了以脱水长叶九里香内酯为指标的含量测定方法。

1 仪器与试药

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

九里香采自广西各地区,经广西中医药研究院严克俭助理研究员鉴定为九里香 *Murraya exotica* L.和千里香 *Murraya paniculata* L. Jack。脱水长叶九里香内酯对照品为自制,纯度>98%,¹D-NMR, ²D-NMR, MS, IR 和 UV 等数据与文献^[2]报道一致。结构图见图 1。

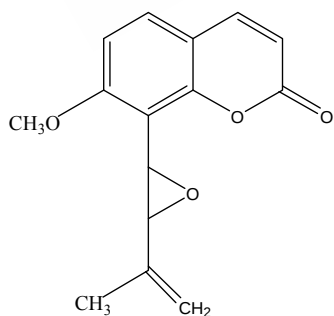


图 1 脱水长叶九里香内酯的结构

Fig 1 The structure of phebalosin

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。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Esclipse XDB-C₁₈ 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相: 甲醇-水(55:45);检测波长: 332 nm, 流速: 1 mL·min⁻¹;柱温 25 °C;进样量: 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备

取脱水长叶九里香内酯对照品适量,精密称定,加甲醇制成 100 μg·mL⁻¹ 的溶液,即得,避光保存。

2.3 供试品溶液的制备

取本品粉末(过 3 号筛)约 0.25 g,精密称定,精密加入甲醇 50 mL,称重,超声提取 1 h,放冷,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得,避光保存。

2.4 耐用性试验

曾用 Agilent Esclipse XDB-C₁₈, Agilent Zorbax XDB-C₁₈, Global Chromatography C₁₈ 等不同品牌色谱柱进样测定,结果本品供试液的 HPLC 色谱图中脱水长叶九里香内酯峰的分离很好,理论板数按脱水长叶九里香内酯峰计算,应不低于 3 000。

2.5 线性关系考察

取脱水长叶九里香内酯对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成含脱水长叶九里香内酯 0.207 2 g·mL⁻¹ 对照品储备液,将对照品储备液稀释,得到浓度为 20.72, 62.16, 103.6, 145.04, 207.2 μg·mL⁻¹ 共 5 个浓度对照品溶液,避光放置。分别精密吸取 10 μL 注入液相色谱仪,按“2.1”项下色谱条件进行测定。以对照品溶液浓度(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,进行

回归计算, 得回归方程为: $Y=19.033X+23.082$, $r=0.9998$ 。结果表明, 脱水长叶九里香内酯进样浓度在 $20.72\sim 207.2\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内, 呈良好的线性关系。

2.6 仪器精密性试验

取脱水长叶九里香内酯对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成浓度为 $60\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 避光放置, 连续进样 6 次, 每次进样 $10\ \mu\text{L}$, 测定峰面积, 脱水长叶九里香内酯峰面积的 RSD 为 1.25%。

2.7 稳定性试验

取九里香供试品(广西灵川)溶液, 避光放置, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 24 h 进样测定, 脱水长叶九里香内酯峰面积的 RSD 为 2.36%, 表明供试品溶液在室温避光条件下 24 h 内基本稳定。

2.8 重复性试验

取九里香样品(广西灵川), 按“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 避光放置, 按“2.1”项下的色谱条件, 测定脱水长叶九里香内酯峰面积, 其平均含量为 1.63%, RSD 为 1.57%。

2.9 回收率试验

取已知含量(1.63%)的千里香粉末 6 份, 每份 0.125 g, 加入对照品适量, 按“2.3”项下方法操作, 制得 6 份供试品溶液, 避光放置, 按“2.1”项下的色谱条件, 测定含量, 计算回收率。结果见表 1。

表 1 回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 The results of recovery test($n=6$)

取样量/g	样品中 含量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.125 9	2.052 2		4.014 0	96.6		
0.125 0	2.037 5		4.064 4	99.9		
0.126 8	2.066 8	2.030 0	4.066 2	98.5	98.4	1.65
0.125 9	2.052 2		4.074 7	99.6		
0.126 7	2.065 2		4.088 3	99.6		
0.128 0	2.086 4		4.039 2	96.2		

2.10 样品测定

取所采集广西各地的九里香和千里香药材, 晾干, 打粉, 过 60 目筛, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 $10\ \mu\text{L}$, 注入液相色谱仪进行测定, 采用外标一点法计算脱水长叶九里香内酯的含量, 结果见表 3, 色谱图见图 2。

表 2 九里香中脱水长叶九里香内酯含量测定结果

Tab 2 Contents of phebalosin in *Murrayae Folium et Cacumen*

品种	样品 编号	样品产地	采收时间	脱水长叶九里 香内酯含量/%
千里香 (<i>Murraya paniculata</i> L. Jack)	1	广西靖西	2008-12	0.16
	2	广西堡里	2009-01	0.37
	3	广西罗锦	2009-03	1.08
	4	广西凌云	2009-04	0.81
	5	广西百色	2009-04	1.23
	6	广西灵川	2009-11	1.45
	7	广西永福	2009-11	1.06
	8	广西环江	2009-11	0.87
九里香 (<i>Murraya exotica</i> L.)	9	广西来宾	2009-03	0.62
	10	广西崇左	2009-04	0.31
	11	广西武鸣	2009-06	1.14
	12	广西南宁	2009-11	1.85
	13	广西桂平	2009-11	2.02
	14	广西南丹	2009-11	1.30
	15	广西环江	2009-11	1.17
	16	广西罗城	2009-11	1.45

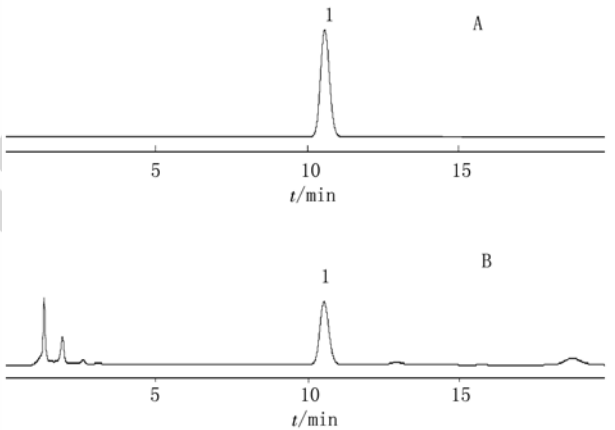


图 2 脱水长叶九里香内酯对照品与供试品色谱图
A—脱水长叶九里香内酯对照品; B—九里香供试品; 1—脱水长叶九里香内酯

Fig 2 HPLC chromatograms of control and sample
A—control; B—sample; 1—phebalosin

3 讨论

3.1 检测波长的选择

本实验对脱水长叶九里香内酯进行了全波长扫描, 结果显示在 332 nm 有最大吸收, 故选 332 nm 为检测波长。

3.2 流动相的选择

本实验考察了不同比例的甲醇-水为流动相对分离效果的影响。结果表明, 选用甲醇-水(55:45)可使样品中目标峰与杂质峰达到基线分离。

3.3 供试品溶液制备方法的确定

本实验考察了脱水长叶九里香内酯在溶液状

态的稳定性, 结果发现其在光照和含水溶液条件下极不稳定, 故在提取溶剂考察方面只选择甲醇和乙醇, 结果甲醇的提取效率较高; 通过对超声提取 1 h, 回流提取 1 h, 索氏提取 2 h 的提取率的比较, 发现三者提取率基本一致, 由于超声提取操作简便, 因此选择超声提取; 另对超声提取 30, 50, 60, 70 min 的提取率比较, 30 min 提取率最低, 60 min 和 70 min 的提取率基本一致; 故最终确定供试品的制备方法为取本品粉末, 加入甲醇 50 mL, 超声提取 1 h, 避光保存。

本实验建立了九里香中脱水长叶九里香内酯的含量测定方法, 操作简单, 结果可靠, 重复性

好。对不同产地的九里香两个品种进行了分析, 结果表明脱水长叶九里香内酯为九里香(*Murraya exotica* L.)和千里香(*Murraya paniculata* L. Jack)两个品种的共有成分。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。

REFERENCES

- [1] ZHOU L X, ZHENG H C, YANG Q R. Research progress in *Murraya* plants [J]. J Pharm Pract(药学实践杂志), 1997, 15(4): 214-219.
- [2] ITO C, FURUKAWA H. Constituents of *Murraya exotica* L. structure elucidation of new coumarins [J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35(10): 4277-4285.

收稿日期: 2010-06-23