

# HPLC法测定紫苏梗药材中迷迭香酸的含量

温献业<sup>1\*</sup>, 刘光明<sup>2</sup>, 林善远<sup>2</sup>(1.广东省医学科学院/广东省人民医院, 广州 510080; 2.广东省新兴中药学校, 广东新兴 527400)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)27-2565-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.27.23

**摘要** 目的: 建立测定紫苏梗药材中迷迭香酸含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Promosil C<sub>18</sub>(200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 甲酸溶液(38:62, V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 330 nm。结果: 迷迭香酸进样量在 0.294~4.708 μg 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系( $r=0.999\ 9$ ); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD<1%; 平均加样回收率为 99.78%, RSD=2.56% ( $n=6$ )。结论: 该方法简便、准确、重复性好, 可用于紫苏梗药材中迷迭香酸的含量测定。

**关键词** 高效液相色谱法; 紫苏梗; 迷迭香酸; 含量测定

## Content Determination of Rosmarinic Acid in *Perilla frutescens* by HPLC

WEN Xian-ye<sup>1</sup>, LIU Guang-ming<sup>2</sup>, LIN Shan-yuan<sup>2</sup>(1. Guangdong Academy of Medical Science/Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou 510080, China; 2. Guangdong Province Xinxing Chinese Medicine School, Guangdong Xinxing 527400, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of rosmarinic acid in *Perilla frutescens*. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Promosil C<sub>18</sub>(200 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-formic acid (38:62, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The determination wavelength was set at 330 nm. RESULTS: The linear range of rosmarinic acid was 0.294-4.708 μg ( $r=0.999\ 9$ ). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 1%. Average recovery was 99.78% (RSD=2.56%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The method is easy, accurate and reproducible, which can be used for the content determination of rosmarinic acid in *P. frutescens*.

**KEYWORDS** HPLC; *Perilla frutescens*; Rosmarinic acid; Content determination

紫苏梗为唇形科植物紫苏 *Perilla frutescens*(L.) Britt. 的干燥茎, 性温, 味辛, 归肺、脾经, 功效为理气宽中、止痛、安胎, 可用于治疗胸膈痞闷、胃脘疼痛、暖气呕吐、胎动不安<sup>[1-3]</sup>。据《中药现代研究与应用》记载, 本品含有迷迭香酸、挥发油、紫苏醛、左旋柠檬烯等成分<sup>[4-5]</sup>。药理研究表明, 本品具有扩张皮肤血管、刺激汗腺分泌而解热、抗过敏等作用<sup>[6-8]</sup>。鉴于迷迭香酸是紫苏梗的主要活性成分, 笔者在本试验中采用高效液相色谱(HPLC)法测定其含量, 以用于紫苏梗药材的质量控制。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC200 型 HPLC 仪(上海精密科学仪器有限公司); FA2004B/JY-001 型电子天平(上海越平科学仪器有限公司); SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); DHG-9140A/JY-010 型电热恒温干燥箱(上海鸿都电子科技有限公司); KQ3200VDB 型双频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 试剂

甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯; 迷迭香酸对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 111871-201102)。

\* 主管药师。研究方向: 医院药学。E-mail: wenxianye88@163.com

## 1.3 药材

从湖北、江苏、广东、广西等地购回紫苏梗药材共 24 批样品(每个产地各采收 6 批样品), 编号 1~24, 均经广东省新兴中药学校彭瑞松副主任中药师鉴定为唇形科植物紫苏 *P. frutescens*(L.) Britt. 的干燥茎。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Promosil C<sub>18</sub>(200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1% 甲酸溶液(38:62, V/V); 检测波长: 330 nm; 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 25 ℃; 进样量: 10 μl。

### 2.2 供试品溶液的制备

取本品粉末(过三号筛)约 0.5 g, 精密称定, 置 50 ml 具塞锥形瓶中, 精密加入 60% 丙酮 25 ml, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率: 250 W, 频率: 40 kHz) 30 min, 再称定质量, 用 60% 丙酮补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液, 即得。

### 2.3 对照品溶液的制备

取迷迭香酸对照品适量, 精密称定, 置 100 ml 量瓶中, 加 60% 丙酮溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 ml 含迷迭香酸 40 μg 的溶液, 即得。

### 2.4 系统适用性试验

精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μl, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。理论板数按迷迭香酸峰计算应为 3 000, 迷迭香酸峰与其他色谱峰的分离度 > 1.5。色谱见图 1。

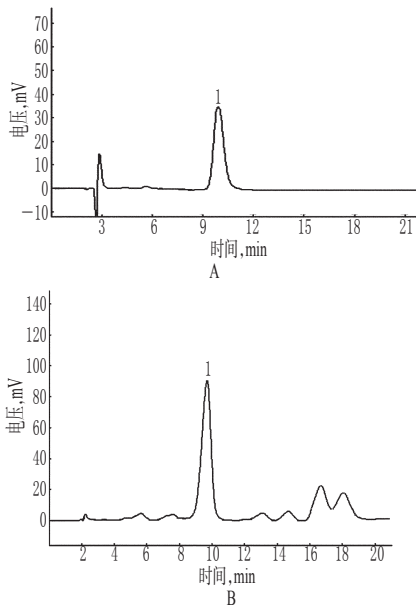


图1 高效液相色谱图

A.迷迭香酸对照品;B.供试品;1.迷迭香酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A.rosmarinic acid control; B. test sample; 1. rosmarinic acid

## 2.5 线性关系考察

精密称取迷迭香酸对照品0.011 77 g,置10 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取该溶液0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 ml,分别置10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按上述色谱条件分别进样10  $\mu$ l,测定峰面积。以峰面积积分值(x)对对照品进样量(y)进行线性回归,得回归方程为 $y=0.000\ 02x-0.413\ 2(r=0.999\ 9,n=5)$ 。结果表明,迷迭香酸进样量在0.294~4.708  $\mu$ g范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

## 2.6 精密度试验

取对照品溶液适量,按上述色谱条件进样,测定峰面积,重复6次。结果,RSD=0.18%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

## 2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液适量,分别于0.2、4、8、12、24、48、72 h按上述色谱条件进样,测定峰面积。结果,RSD=0.18%( $n=8$ ),表明供试品溶液在72 h内稳定性良好。

## 2.8 重复性试验

取1号紫苏梗样品粉末适量,共6份,分别按“2.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样,测定峰面积,计算样品含量。结果,样品中迷迭香酸的平均质量分数为0.246%,RSD=0.16%( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

## 2.9 加样回收率试验

取1号紫苏梗样品(迷迭香酸质量分数为0.246%)粉末约0.25 g,共6份,精密称定,分别精密加入一定量的迷迭香酸对照品,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

## 2.10 样品含量测定

分别取1~24号样品粉末约0.5 g,精密称定,按“2.2”项下方法分别制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,按干

燥品计算样品中迷迭香酸的含量,结果见表2。

表1 加样回收率试验结果( $n=6$ )

称样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	$\bar{x}$ ,%	RSD,%
0.237 2	0.593 0	0.500 0	1.072 0	95.80		
0.237 3	0.593 3	0.500 0	1.103 5	102.05		
0.239 2	0.598 0	0.500 0	1.102 3	100.86	99.78	2.56
0.240 8	0.602 0	0.500 0	1.105 6	100.72		
0.243 3	0.608 3	0.500 0	1.095 5	97.45		
0.242 5	0.606 3	0.500 0	1.115 2	101.79		

表2 紫苏梗药材中迷迭香酸的含量测定结果( $n=6$ )

样品号	产地	平均质量分数,%	RSD,%
1~6	湖北	0.246	2.06
7~12	江苏	0.212	2.68
13~18	广东	0.198	2.10
19~24	广西	0.213	2.23

## 2.11 检测限与定量限测定

以信噪比为3:1计算供试品的检测限,结果为0.03  $\mu$ g;以信噪比为3:1计算供试品的定量限,结果为0.10  $\mu$ g。

## 3 讨论

在选择流动相时,笔者分别考察了甲醇-0.1%甲酸溶液(38:62,  $V/V$ )、甲醇-0.1%醋酸溶液(40:60,  $V/V$ )<sup>[9-10]</sup>、甲醇-0.1%磷酸溶液(40:60,  $V/V$ )、20%乙酸溶液-乙腈(77:23,  $V/V$ )的分离效果。结果表明,以甲醇-0.1%甲酸溶液为流动相系统的基线平稳,所测色谱峰峰形好、分离好、保留时间适度,故最终确定流动相为甲醇-0.1%甲酸溶液(38:62,  $V/V$ )。

本试验对不同产地紫苏梗药材中的迷迭香酸含量进行测定,结果显示,不同产地紫苏梗药材中迷迭香酸的含量存在差异。其原因可能与样品采收季节、生长年限等有关。

综上所述,本方法简便、准确、重复性好,可用于紫苏梗药材中迷迭香酸的含量测定。

## 参考文献

- [1] 广东省食品药品监督管理局.广东省中药材标准:第1册[M].广州:广东科技出版社,2004:220.
- [2] 郑虎占,董泽宏,余清.中药现代研究与应用:第1卷[M].1版.北京:学苑出版社,1997:2 377-2 778.
- [3] 黄兆胜.中药学[M].1版.北京:人民卫生出版社,2006:38-39.
- [4] 张卫明,刘月秀,王红.紫苏子的化学成分研究[J].中国野生植物资源,1998,17(1):42.
- [5] 林文群,陈忠,刘剑秋.紫苏子化学成分初步研究[J].海峡药学,2002,14(4):26.
- [6] 王静珍,陶上乘,宋兆仪.紫苏与白苏药理作用的研究[J].中国中药杂志,1997,22(1):50.
- [7] 谷丽华,郝希民,赵森森,等.紫苏梗质量标准研究[J].中国药学杂志,2010,45(17):1 308.
- [8] 刘洪旭,陈海滨,吴春敏.紫苏子的研究进展[J].海峡药学,2004,16(4):5.
- [9] 任淑清,孙长海,方洪壮,等.紫苏梗挥发油的GC-MS定性分析[J].中国药房,2008,19(9):48.
- [10] 黄亮辉,苏琪,赵婷婷,等.白苏子和紫苏子生品及其炮制品中迷迭香酸的含量测定[J].中药材,2010,33(12):1 856.

(收稿日期:2014-01-13 修回日期:2014-04-21)