

HPCE 测定夏枯草中迷迭香酸含量

刘伟, 郭兴辉 (河南中医学院分析测试中心, 郑州 450008)

摘要: 目的 建立高效毛细管电泳法测定夏枯草中迷迭香酸的含量。方法 采用毛细管区带电泳法。电泳条件为: 石英毛细管柱(75 $\mu\text{m} \times 60 \text{ cm}$); 运行缓冲液: 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硼砂溶液(pH 9.88); 分离电压 18 kV; 进样时间为 5 s; 温度为 25 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长为 330 nm。结果 迷迭香酸在 20.4~163.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好($r=0.9994$); 平均回收率为 97.7%, RSD 为 1.6%。结论 该方法简便、快速、准确并且专属性强, 可用于测定夏枯草中迷迭香酸的含量。

关键词: 夏枯草; 迷迭香酸; 高效毛细管电泳

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2009)08-0632-03

Determination of Rosmarinic Acid in *Spica Prunellae* by HPCE

LIU Wei, GUO Xinghui (Center for Analysis and Measurement, Henan College of TCM, Zhengzhou 450008, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPCE method for content determination of rosmarinic acid in *Spica Prunellae*. **METHODS** The separation was carried out in an uncoated fused silica capillary (75 $\mu\text{m} \times 50 \text{ cm}$). The running voltage was 18 kV. The buffer was 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ boric acid (pH 9.88), and the wavelength was 330 nm. **RESULTS** The linear range of the calibration curve was 20.4-163.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9994$), and the average recovery was 97.7%, RSD was 1.6%. **CONCLUSION** This method is proved to be simple, rapid, accurate and exclusive, and can be used as a new method for the determination of rosmarinic acid in *Spica Prunellae*.

KEY WORDS: *Spica prunellae*; rosmarinic acid; high performance capillary electrophoresis

夏枯草(*Prunella vulgaris* L.)是唇形科夏枯草属植物。因“此草夏至后即枯”故名,为中医临床常用的一味中药。夏枯草始载于《神农本草经》,列为下品,其味“苦辛寒,治寒热瘰疬,鼠瘻头痛,破症,散瘰结气,脚肿湿痹,轻身,一名乃东,生川谷”。其味苦、性寒、辛,具有清肝、明目、散结、消肿、止痛之功效。用于目赤肿痛、目珠夜痛、羞明流泪、头痛眩晕、瘰疬、瘰瘤、乳痈肿痛^[1]。现代临床多用于治疗甲状腺肿大、淋巴结核、乳腺增生、高血压、肺结核、急性黄疸型传染性肝炎等疾病^[2]。迷迭香酸为夏枯草中有效成分之一,它的含量直接影响夏枯草质量。本试验采用高效毛细管电泳法测定夏枯草中迷迭香酸的含量,为夏枯草质量控制提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Beckman coulter 高效毛细管电泳仪(PDA 检测器); 未涂层石英毛细管柱(75 $\mu\text{m} \times 50 \text{ cm}$, 河北永年光导纤维厂); 32 Karat 色谱工作站。METTLER AE240 电子分析天平(德国梅特勒-托利多公司)。

KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

迷迭香酸对照品(批号: 1231-050409, 纯度: 98.0%, 中国固体制剂制造技术国家工程研究中心); 试验中所用甲醇为色谱纯, 水为双蒸水, 其他试剂均为分析纯。

试验所用夏枯草样品采自于河南省桐柏县(经河南中医学院陈随清教授鉴定为夏枯草 *Spica Prunella*)。

2 方法与结果

2.1 电泳条件

缓冲液: 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼砂溶液(pH 9.88); 分离电压: 18 kV; 温度: 25 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: 330 nm。进样条件: 采用压力进样, 3 447.38 Pa, 5 s。每次进样前用 0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液冲洗 2 min, 纯水冲洗 2 min, 最后用运行缓冲液冲洗毛细管柱 3 min, 分析结束后用氢氧化钠溶液和水各冲洗 5 min。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取迷迭香酸对照品 5.10 mg, 用甲醇溶

解并定溶至 25 mL 量瓶中, 摇匀, 即得每 1 mL 含迷迭香酸 0.204 mg 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

夏枯草样品 60 °C 干燥后粉碎, 过 100 目筛。精密称取生药粉末 0.1 g, 精密加入甲醇 10 mL, 称定重量, 超声提取 1 h, 冷却, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 进样前用 0.45 μm 滤膜滤过即得。

2.4 线性关系试验

分别精密量取迷迭香酸对照品储备液(0.204 mg·mL⁻¹)0.5, 1, 2, 3, 4 mL 置 5 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 即为每 1 mL 含迷迭香酸 20.4, 40.8, 81.6, 122.4, 163.2 μg 的溶液, 分别进样。以对照品浓度 (X) 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标进行回归, 得回归方程为: $Y=2.87 \times 10^6 X + 1.0254 \times 10^6$, $r=0.9994$ 。结果表明: 迷迭香酸在 20.4~163.2 μg·mL⁻¹ 内线性关系良好。

2.5 仪器精密度试验

取迷迭香酸对照品溶液(40.8 μg·mL⁻¹), 重复进样 5 次, 以峰面积计算 RSD 为 1.1%, 表明该方法仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

取同一批夏枯草粉末 0.1 g 共 5 份, 精密称定, 按“2.3”项下方法处理, 测定迷迭香酸含量的 RSD 值为 1.2%, 表明方法可行, 重复性好。

2.7 稳定性试验

取夏枯草样品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 进样, 测定迷迭香酸峰面积, 结果 RSD 为 1.7%。

2.8 加样回收试验

取已知含量的夏枯草样品(6.82 mg·g⁻¹)6 份, 每份约 0.05 g, 分别加入迷迭香酸对照品 0.34 mg, 按“2.3”项下方法处理, 测定回收率, 结果见表 1。

表 1 夏枯草中迷迭香酸加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Result for recovery tests of rosmarinic acid in *Spica Prunellae*(n=6)

样品含量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 %	平均值 %	RSD %
342.2	340.2	675.8	98.1		
342.8	340.2	674.3	97.4		
341.1	340.2	679.5	99.5	97.7	1.6
340.8	340.2	668.2	96.2		
341.9	340.2	680.1	99.4		
339.8	340.2	665.2	95.6		

2.9 样品含量测定

分别取 3 批夏枯草药材各 0.1 g, 按“2.3”项下方法处理并测定迷迭香酸含量, 结果见表 2。对照品和供试品色谱图见图 1。

表 2 含量测定结果(n=3)

Tab 2 Results of content determination(n=3)

样品	迷迭香酸含量/mg·g ⁻¹
桐柏县朱庄乡	3.86
桐柏县城郊乡	4.01
桐柏县大河乡	2.97

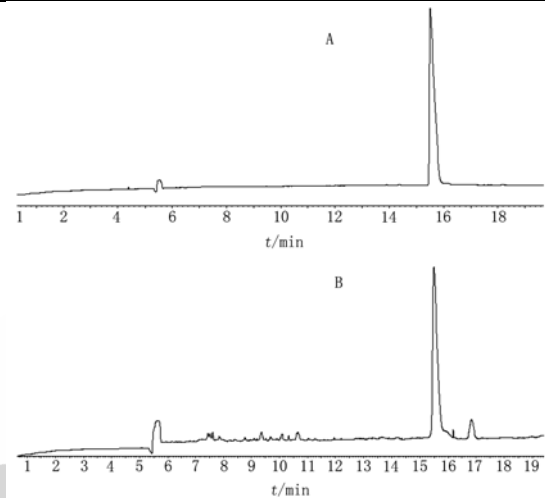


图 1 迷迭香酸对照品(A)、夏枯草药材(B)

Fig 1 HPLC chromatograms of rosmarinic acid(A) and samples of *Spica Prunellae*(B)

3 讨论

3.1 分离条件的选择

曾选择 10, 15, 20, 25, 30 mmol·L⁻¹ 的硼砂为分离缓冲液, 随着离子浓度的增大, 样品溶液的分离效果变好, 但是当离子浓度到 25 mmol·L⁻¹ 时, 由于电渗流过大, 产生热效应而影响分离, 故选择 20 mmol·L⁻¹ 的硼砂做分离缓冲液; 同时对分离电压进行了考察, 分别在 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 kV 电压下运行 20 mmol·L⁻¹ 的硼砂缓冲液, 随着电压的增高, 迁移时间变短, 考虑到样品溶液的分离度, 选择 18 kV 条件下进行分离, 样品分离度良好^[3-5]。

3.2 提取方法的选择

报道迷迭香酸的提取方法很多, 常用的提取溶剂有甲醇、不同浓度的乙醇, 常用的提取方式有超声提取、回流提取及索氏提取。考虑到乙醇的导电性差, 不利于样品分离, 故采用甲醇为提取溶剂, 分别进行超声、加热回流和索氏提取, 结果发现加热回流和索氏提取样品色谱图上杂质较多, 且超声提取与加热回流和索氏提取的提取效率基本相同, 故选择超声提取 1 h 作为供试品溶液制备方法^[6-7]。

REFERENCES

- [1] China Bencao Editor Committee. China Bencao(中华本草) [M]. 1st ed. Shanghai:Shanghai Science and Technology Press, 1988: 1642.
- [2] Ch.P(2005)Vol I(中国药典 2005 版.一部)[S]. 2005: 197.
- [3] ZHANG L Z, QIN W, ZHANG X H, et al. Assay method for contents of caffeic acid and rosmarinic acid in the diffidence parts of *Prunellae Vulgaris* L [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med(北京中医药大学学报), 2007, 30(5): 343-345.
- [4] LUO M H, ZHOU R B, TONG Q Z, et al. A Study on the optimum picking period for *Prunella Vugaris* L. cultivated in a standardized way [J]. J Hunan Coll Chin Tradit Med (湖南中
- 医学院学报), 2005, 25(1): 12-14.
- [5] YUAN W R, HE W. High performance capillary electrophoresis and its applications in the analysis of Chinese traditional medicine [J]. Food Drug(食品与药品), 2006, 8(9): 27-31.
- [6] RUI J Z, ZHOU Y P, ZHAO Y, et al. Advances in the application of micellar electrokinetic capillary chromatography for the analysis of complicated component of medicine [J]. J Med Postgraduates(医学研究生学报), 2006, 19(7): 653-656.
- [7] ZHAO L H. Determination of chlorogenic acid in marsdenia tenocissima and its preparations by high performance capillary electrophoresis [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2008, 25(2): 152-164.

收稿日期: 2008-08-07