

and Technical Publishers, 1999.

- [2] Tzeng S H, Ko W C, Ko F N, *et al.* Inhibition of platelet aggregation by some flavonoids [J]. *Thromb Res*, 1991, 64: 91-100.
- [3] Chen W M, Jin M, Wu W, *et al.* Inhibitory effect of flavonols of *Carthamus tinctorius* L. against rabbit platelet

activation induced by platelet activating factor [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36(12): 881-885.

- [4] Zhang G, Guo M L, Zhang H M, *et al.* Study on the chemical constituents of *Carthamus tinctorius* L. (I) [J]. *Acad J Second Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 2002, 23(1): 109-110.

RP-HPLC 法测定荆芥穗中胡薄荷酮的含量

张 丽, 单鸣秋, 孔 铭, 丁安伟*

(南京中医药大学, 江苏 南京 210029)

荆芥穗为唇形科一年生草本植物荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* (Benth.) Briq. 的干燥地上部分。荆芥穗性温、味辛, 其生品具有解表散风、透疹之功效, 主治风寒感冒、咽喉肿痛及多种皮肤病, 为中医临床常用药物。荆芥穗炒炭后专功止血, 可用于吐血、便血、崩漏、产后血晕等。《中华人民共和国药典》2000 年版中尚无荆芥穗药材指标性成分的含量测定方法, 本实验以 RP-HPLC 法对其挥发油中的主要成分胡薄荷酮的含量进行了测定, 方法回收率高、分离度好, 结果满意。

1 仪器和试剂

PE-100 高效液相色谱仪, Waters-2487 紫外检测器, 岛津 LBROR AEL-40SM 电子分析天平 (精确度为十万分之一)。

胡薄荷酮对照品由美国 Aldrich 公司提供 (供含量测定用, 批号: 10529PO)。按《中华人民共和国药典》2000 年版一部附录 VI D 高效液相色谱法中的“不加校正因子的主成分自身对照法”进行对照品纯度检查, 图谱积分时间大于胡薄荷酮保留时间的 2 倍, 结果表明胡薄荷酮对照品纯度为 98% 以上。改变流动相比例使保留时间增减 1 倍以上, 色谱中未

出现杂质峰。

甲醇为色谱醇 (淮安精细化工研究所), 水为亚沸蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

荆芥穗购于安徽亳州药材市场, 产地为安徽, 共 3 批。经南京中医药大学吴启南教授鉴定为唇形科植物荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* (Benth.) Briq. 的干燥花穗。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: 中国科学院大连化学物理所, Kromasil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (80:20); 体积流量 1.0 mL/min; 测定波长 252 nm; 柱温为 30℃; 进样量: 10 μL; 理论板数以胡薄荷酮峰计不得低于 3 000。

2.2 内标溶液的制备: 取萘 150 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 (含萘 6.0 mg/mL)。色谱图见图 1。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 药材供试品溶液的制备: 取药材粗粉 1.0 g, 精密称定, 置 25 mL 具塞锥形瓶中, 加入 10 mL 甲醇, 超声处理 (功率 250 W, 频率 50 kHz) 20 min, 滤过; 滤渣和滤纸再加 10 mL 甲醇, 超声处理 (功率

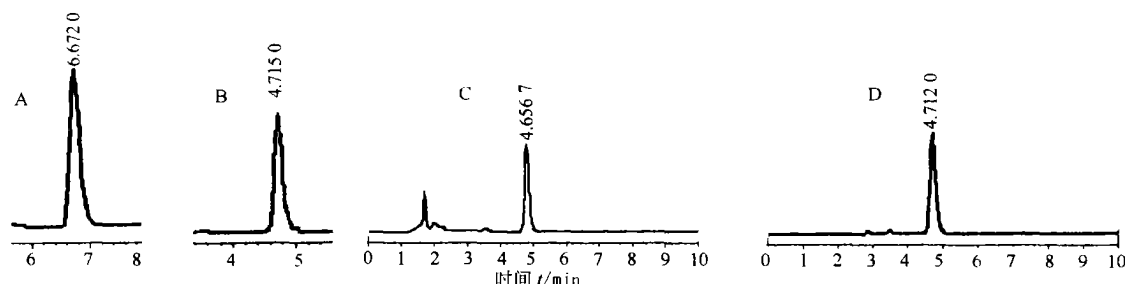


图 1 内标物萘(A)、胡薄荷酮(B)、荆芥穗(C)、荆芥穗挥发油(D)的 HPLC 图

Fig. 1 Chromatograms of naphthalene (A), pulegone (B), Spica Schizonepeta (C), volatile oil of Spica Schizonepeta (D)

250 W, 频率 50 kHz) 20 min, 滤过, 用适量甲醇洗涤 2 次, 合并两次滤液, 洗涤液置 25 mL 量瓶中, 摇匀。精密量取该溶液 5 mL、内标溶液 0.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得。

2.3.2 荆芥穗挥发油供试品溶液的制备: 取 3 批荆芥穗药材, 按《中华人民共和国药典》2000 年版一部附录 XD 挥发油测定法中的 A 法测定其挥发油的得率, 得其平均得率为 0.956%; 3 批荆芥穗挥发油的批号分别为 20030427, 20030428, 20030429。提取的挥发油加无水硫酸钠脱水。

取荆芥穗挥发油 0.3 g, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取该溶液和内标溶液各 0.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得。

2.4 线性关系的考察: 精密称取胡薄荷酮对照品 0.093 6 g, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 制成胡薄荷酮对照储备液 (3.744 mg/mL)。采用逐级稀释法再分别制成 0.187 2、0.093 6、0.046 8、0.023 4、0.011 7 mg/mL 的系列对照品溶液, 并加入适量内标溶液, 使每份对照品溶液中内标浓度均为 0.3 mg/mL。分别吸取上述 5 份溶液各 10 μL , 注入高效液相色谱仪, 以胡薄荷酮与内标峰面积比值为纵坐标 (Y), 对照品质量浓度 (mg/mL) 为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y = 0.002\,254 + 7.407\,X$ ($r = 0.999\,9$)。表明胡薄荷酮在 117~1 872 ng 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 取 0.093 6 mg/mL 的对照品为溶液依法测定, 连续进样 6 次, 测定胡薄荷酮的峰面积, 其 RSD 为 0.42%。以 1 号药材样品供试液作为考察对象, 依法测定, 连续进样 6 次, 测定胡薄荷酮的峰面积, 其 RSD 为 0.42%。

2.6 稳定性试验: 取 1 号药材样品供试液, 分别置 0、1、2、4、6、8 h, 依法测定一次, 共测定 6 次, RSD 为 0.26%, 表明供试液中胡薄荷酮在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验: 用 2 号药材, 依法处理样品 6 份, 测定, 结果表明胡薄荷酮的质量分数为 5.028 mg/g, RSD = 1.07%。

2.8 回收率试验: 精密称取 2 号药材各 0.5 g 共 6 份, 每份分别加入胡薄荷酮对照液 (2.308 mg/mL) 1 mL, 测定, 计算胡薄荷酮平均回收率为 98.85%, RSD = 1.29%。

2.9 样品测定: 共对 3 批药材和 3 批荆芥挥发油进行胡薄荷酮含量测定, 结果见表 1。

表 1 荆芥穗及其挥发油中胡薄荷酮的含量测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Pulegone in Spica Schizonepetae and its volatile oil ($n = 3$)

样 品	样品号	胡薄荷酮/(mg · g ⁻¹)
荆芥穗	1	4.606
	2	5.017
	3	4.565
荆芥穗挥发油	20030427	60.43
	20030428	60.36
	20030429	61.29

3 讨论

3.1 荆芥穗为常用的解表药, 其主要药效部位通常认为是挥发油, 故对荆芥及荆芥穗药材的质量控制多针对挥发油部位, 如《中华人民共和国药典》2000 年版中荆芥药材的质量控制是挥发油的含量^[1], 但用挥发油的得率控制药材质量相对较为粗糙, 宜采用准确度较高的色谱法。通常挥发油成分的测定都采用气相色谱法^[2], 但气相色谱法中出峰多, 干扰大, 色谱条件复杂, 如荆芥挥发油含化学成分超过 30 种^[3]; 而相比较而言, 高效液相色谱法出峰数目较少, 干扰较小, 色谱条件简单, 可作为有紫外吸收的挥发性成分的含量测定方法。荆芥穗挥发油, 其主要成分是单萜类化合物, 如薄荷酮、胡薄荷酮等, 而以胡薄荷酮含量最高 (由上述检测数据可知含量大于 50%), 且胡薄荷酮具有共轭结构, 其紫外最大吸收峰在 252 nm 处, 在此波长处其他成分干扰很小, 分析时间短, 故本实验选择高效液相色谱法建立荆芥穗药材的质控方法, 以期对其他含荆芥穗制剂的质控方法提供借鉴。

3.2 笔者考察了药材的提取条件, 对其中的提取溶剂和提取次数进行了考察。在提取溶剂的考察试验中, 选择了以甲醇和流动相作为提取溶剂, 结果表明, 以甲醇为提取溶剂效果较好; 在提取次数的考察试验中, 结果表明以甲醇两次提取就已完全, 故确定提取次数为两次。荆芥穗挥发油因其所含成分为脂溶性, 在甲醇中溶解性很好, 故荆芥穗挥发油直接采用甲醇溶解即可。

3.3 因所测成分为挥发性成分, 尤其是测定挥发油时, 色谱柱使用久后可能柱效下降较多, 此时选用一些洗脱能力强的溶剂如四氢呋喃等可使柱效恢复。

References

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol I. 2000.
- [2] Ye C Y, Wang Z Q. Research on quality of Jingjie oil from different areas [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 1988, 8(1): 33-35.
- [3] Wu Y L, Feng Y L, Ding A W. Reserch on volatile oil of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. and its correlative medicine herb [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2000, 31(12): 891.