

# HPLC同时测定广藿香中雷杜辛黄酮醇及广藿香酮的含量

张颖梅<sup>1</sup>,陈海明<sup>2</sup>,吴晓丽<sup>2</sup>,苏祖清<sup>2</sup>,曾惠芳<sup>3</sup>,苏子仁<sup>2\*</sup>

(1. 广州王老吉药业股份有限公司,广州 510450; 2. 广州中医药大学新药开发研究中心,广州 510006;  
3. 广州中医药大学第一附属医院,广州 510405)

**[摘要]** 目的:建立高效液相色谱(HPLC)同时测定广藿香中雷杜辛黄酮醇和广藿香酮的方法,对11批市售的广藿香药材进行质量分析。方法:采用高效液相色谱法。Phenomenex Luna C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.2%甲酸溶液(65:35),等度洗脱;检测波长310 nm,流速0.8 mL·min<sup>-1</sup>,柱温30℃。结果:雷杜辛黄酮醇在0.020~0.36 μg,广藿香酮在0.025~0.40 μg呈良好线性关系,相关系数均为1.000 0,平均回收率雷杜辛黄酮醇为98.57%(RSD 2.06%),广藿香酮为100.04%(RSD 2.66%);11批样品中雷杜辛黄酮醇含量在1.13~8.72 mg·g<sup>-1</sup>,广藿香酮含量在1.19~4.38 mg·g<sup>-1</sup>。结论:方法简便、快速、准确,重复性好,可用于广藿香中雷杜辛黄酮醇及广藿香酮含量的同时测定。

**[关键词]** 广藿香; 高效液相色谱法; 雷杜辛黄酮醇; 广藿香酮

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0160-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013160160

## Simultaneous Determination of Retusine and Pogostone in *Pogostemon cablin* by HPLC

ZHANG Ying-mei<sup>1</sup>, CHEN Hai-ming<sup>2</sup>, WU Xiao-li<sup>2</sup>, SU Zu-qing<sup>2</sup>, ZENG Hui-fang<sup>3</sup>, SU Zi-ren<sup>2\*</sup>

(1. Guangzhou Wanglaoji Pharmaceutical Company Limited, Guangzhou 510450, China; 2. Research and Development Center of New Drug of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;  
3. First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a high performance liquid chromatography (HPLC) method for simultaneous determination of retusine and pogostone in *Pogostemon cablin*, and analyze the quality of 11 batches of retusine and pogostone in *P. cablin*. **Method:** The RP-HPLC system consisted of a Phenomenex Luna C<sub>18</sub> column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) and the mobile phase of acetonitrile-formic acid by isocratic elution. The flow rate was set at 0.8 mL·min<sup>-1</sup> and detected at 310 nm; the column temperature was kept at 30℃. **Result:** The linear regression for retusine and pogostone was obtained in the range of 0.020-0.36 μg ( $r = 1.000\ 0$ ) and 0.025-0.40 μg ( $r = 1.000\ 0$ ) respectively; the average recovery was 98.57% (RSD 2.06%) and 100.04% (RSD 2.66%) respectively. The content of retusine and pogostone in 11 batches of *P. cablin* were in the range of 1.13-8.72 mg·g<sup>-1</sup> and 1.19-4.38 mg·g<sup>-1</sup> respectively. **Conclusion:** The method is quick, simple and reproducible for the determination of retusine and pogostone in *P. cablin* simultaneously.

**[Key words]** *Pogostemon cablin*; HPLC; retusine; pogostone

广藿香是唇形科植物广藿香的干燥地上部分,

具有芳香化浊、和中止呕、发表解暑功效,用于湿浊中阻、脘痞呕吐、暑湿表证、发热倦怠、胸闷不舒、寒暑闭暑、腹痛吐泻、鼻渊头痛<sup>[1]</sup>,为藿香正气口服液、藿香正气水、藿胆丸以及抗病毒口服液等中成药的重要组成药材。广藿香的主要化学成分为挥发油类、黄酮类及生物碱类成分。雷杜辛黄酮醇

**[收稿日期]** 20130301(013)

**[第一作者]** 张颖梅,硕士,中级中药师,从事中药质量管理研究, Tel:020-39358517, E-mail:25412003@qq.com

**[通讯作者]** \*苏子仁,研究员,从事中药新产品开发研究, Tel:020-39358517, E-mail:suziren@126.com

(retusine)则是广藿香黄酮类成分中的主要活性成分之一,同样具有抗真菌的作用<sup>[2]</sup>。广藿香酮(pogostone)是广藿香挥发油中主要的活性成分之一,现代药理研究表明,广藿香酮具有抗真菌(尤其是抗白色念珠菌)、杀虫等作用<sup>[3-4]</sup>。文献中有广藿香酮的HPLC<sup>[5-6]</sup>和GC<sup>[7-8]</sup>含量测定方法,尚未有同时测定雷杜辛黄酮醇的含量测定方法。HPLC测定法具有简便、快捷、准确等特点,广泛运用于测定中药中的成分<sup>[9-11]</sup>。为了更加方便、快捷的对广藿香药材以及相关产品进行含量测定及质量控制,本文运用高效液相色谱法对11批市售广藿香药材中雷杜辛黄酮醇及广藿香酮的含量进行测定。

## 1 材料

DIONEX SUMMIT 型高效液相色谱仪(配有PDA-100检测器、UVD170U检测器、STH585柱温箱、P680 HPLC泵、ASI-100自动进样器),Chromleon色谱工作站,Sartorius BP110s型(1/万)电子天平(德国sartorius公司),Sartorius CP225D型(1/10万)电子天平(德国sartorius公司),HH·S11·Cr2 II型电子恒温水浴锅(广东省汕头市医用设备厂有限公司),移液器(Transferpetter,德国Brand公司)。

雷杜辛黄酮醇(自制,其纯度达到99%),广藿香酮(自制,其纯度达到99.8%),乙腈(色谱纯,美国Merck公司),甲酸(分析纯,广东光华化学工厂有限公司),乙醇(分析纯,广东光华化学工厂有限公司),11批广藿香分别由广州各药材公司提供,全部药材经广州中医药大学新药开发研究中心陈建南研究员鉴定为唇形科植物广藿香 *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. 的干燥地上部分。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

Phenomenex Luna C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.2% 甲酸溶液(65:35),等度洗脱18 min,检测波长310 nm,流速0.8 mL·min<sup>-1</sup>,柱温30℃。在该实验条件下,理论塔板数以雷杜辛黄酮醇及广藿香酮峰计不低于4 000。

### 2.2 溶液配制

#### 2.2.1 对照品溶液的制备

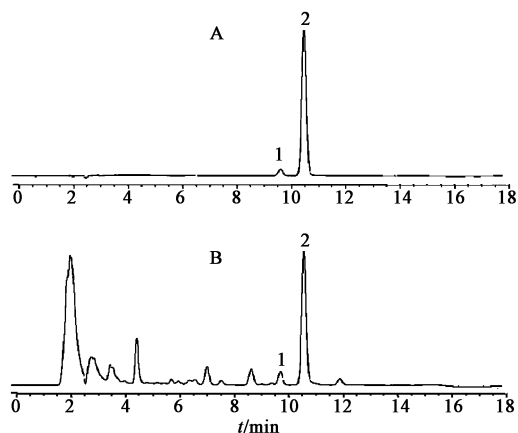
精密称取雷杜辛黄酮醇对照品和广藿香酮对照品适量至量瓶中,加乙醇定容至刻度,混匀,制得含雷杜辛黄酮醇质量浓度为0.02 g·L<sup>-1</sup>和广藿香酮质量浓度为0.025 g·L<sup>-1</sup>的对照品溶液,0.22 μm微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

#### 2.2.2 供试品溶液的制备

取本品粉末(过4号筛)约0.25 g,精密称定。置具塞锥形瓶中,精密加入乙醇75 mL,称定质量,水浴回流提取3 h,放冷,再称定质量,用乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,0.22 μm微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

### 2.3 色谱系统适应性试验

上述色谱条件下,将对照品溶液和供试品溶液进入HPLC进行分析。结果表明供试品溶液中雷杜辛黄酮醇和广藿香酮峰形良好,与相邻色谱峰分离度>1.2。见图1。



A. 对照品;B. 样品;1. 雷杜辛黄酮醇;2. 广藿香酮

图1 雷杜辛黄酮醇和广藿香酮对照品和广藿香药材 HPLC

### 2.4 线性关系的考察

精密吸取对照品溶液1,2,4,8,12,16 μL,按2.1项下的色谱条件测定峰面积,并以峰面积积分值(Y)对进样量(X)进行线性回归,得回归方程  $Y_{\text{雷杜辛黄酮醇}} = 4.30X - 0.50$  ( $r = 1$ ),表明雷杜辛黄酮醇对照品进样量在0.020~0.36 μg有良好的线性关系,  $Y_{\text{广藿香酮}} = 92.67X - 8.46$  ( $r = 1$ ),结果表明,表明广藿香酮对照品进样量在0.025~0.40 μg有良好的线性关系。

### 2.5 精密度试验

精密吸取2.2项下对照品溶液10 μL,按2.1项下色谱条件连续进样6次。结果显示,雷杜辛黄酮醇RSD 0.21%,广藿香酮RSD 0.14%,提示仪器精密度良好。

### 2.6 重复性试验

按拟定的含量测定方法,取同一批号的广藿香(购于广州采芝林药业连锁店),按2.3项下方法制备供试品溶液,平行操作6份。每样进样10 μL,连续测定,测定雷杜辛黄酮醇和广藿香酮峰面积,雷杜辛黄酮醇RSD 0.17%,广藿香酮RSD 0.62%,表明方法具有较好的重复性。

### 2.7 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液(购于广州采芝林药业连锁店)10 μL,于0,2,4,6,8,12 h分别进行测定。每次进样10 μL,测定雷杜辛黄

酮醇和广藿香酮峰面积,雷杜辛黄酮醇 RSD 0.26%,广藿香酮 RSD 0.30%,表明供试品溶液中雷杜辛黄酮醇和广藿香酮在 12 h 内稳定。

**2.8 加样回收率试验** 取同一批已知广藿香酮含量的广藿香(购于广州采芝林药业连锁店,雷杜辛黄酮醇含量  $3.51 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ;广藿香酮含量  $2.15 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )共 6 份,每份约 0.25 g,精密称定。分别精密加入一定量的雷杜辛黄酮醇和广藿香酮对照品溶液(约为样品中雷杜辛黄酮醇和广藿香酮含量的 1.0 倍量),按 2.3 项下制备。每次进样 10  $\mu\text{L}$ ,对雷杜辛黄酮醇以及广藿香酮进行分析,计算它们各自的加样回收率。雷杜辛黄酮醇的平均回收率为 98.57% (RSD 2.06%),广藿香酮的平均回收率为 100.04% (RSD 2.66),表明雷杜辛黄酮醇和广藿香酮的加样回收率良好。

表 1 雷杜辛黄酮醇的加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品 中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.251 2	0.879 2	0.826 4	1.677 0	96.54	98.57	2.06
2	0.248 2	0.868 7	0.834 5	1.685 8	97.92		
3	0.245 3	0.858 6	0.834 6	1.666 5	96.81		
4	0.246 1	0.861 4	0.853 5	1.724 0	101.07		
5	0.244 3	0.855 1	0.827 5	1.691 7	101.11		
6	0.246 3	0.862 1	0.822 3	1.667 8	97.99		

表 2 广藿香酮的加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品 中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.251 2	0.527 5	0.515 4	1.033 5	98.17	100.04	2.66
2	0.248 2	0.521 2	0.532 3	1.029 2	95.43		
3	0.245 3	0.515 1	0.508 3	1.033 1	101.90		
4	0.246 1	0.516 8	0.513 1	1.038 9	101.75		
5	0.244 3	0.513 0	0.516 7	1.036 1	101.24		
6	0.246 3	0.517 2	0.512 2	1.038 3	101.73		

**2.9 样品含量的测定** 取市售各批广藿香药材(共 11 批),按 2.2.2 项下制备供试品溶液的方法制备供试品溶液,进行 HPLC 分析,结果见表 3。

### 3 讨论

目前对广藿香的药理研究表明,广藿香中挥发油类成分和黄酮类成分都具有良好的抗真菌作用。文献报道广藿香成分含量测定,多以挥发油类成分广藿香醇及广藿香酮居多,未有黄酮类相关成分含

表 3 11 批广藿香药材中雷杜辛黄酮醇和广藿香酮含量的测定的平均含量( $n=3$ ) %

购买厂家	雷杜辛黄酮醇	广藿香酮
广州市海王星辰医药连锁店	0.34	0.24
广东大翔药业连锁有限公司	0.11	0.22
广州二天堂大药房连锁店	0.41	0.20
北京同仁堂广州药业有限公司	0.17	0.17
广州致信药业有限公司	0.61	0.13
广州采芝林药业连锁店	0.35	0.21
广州仁和堂药业连锁有限公司	0.37	0.29
广东本草药业连锁有限公司	0.14	0.22
广州慈济药业有限公司	0.43	0.23
广东大参林连锁药店有限公司	0.14	0.44
广州市健民医药连锁有限公司	0.87	0.12

量测定的报道。因此,选择广藿香中挥发油类成分广藿香酮,黄酮类成分雷杜辛黄酮醇作为指标,评价广藿香质量,能够将广藿香成分与质量、药效相结合,更加有利于全面、客观评价广藿香的质量。

比较了甲醇、乙醇、稀乙醇和水等不同提取溶剂,考察了加热回流、冷浸和超声处理等不同提取方法,还对溶媒用量、超声时间等因素进行了比较和优选,确定了供试品溶液的制备方法为取广藿香粗粉 0.25 g,加 75 mL 乙醇回流提取 3 h。

市售不同医药公司广藿香中雷杜辛黄酮醇及广藿香酮的含量有较大差别,分别为  $1.13 \sim 8.72 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  和  $1.19 \sim 4.38 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,同一医药公司不同批次间含量差异也很明显。究其原因,可能是广藿香药材产地<sup>[12]</sup>、药材采收期<sup>[13]</sup>以及药用部位不同等因素导致。因此本含量测定方法的建立对广藿香质量标准的研究有重大意义。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:41.
- [2] 张广文,马祥全,苏镜娱,等. 广藿香中的黄酮类化合物[J]. 中草药,2001,32(10):871.
- [3] Li Yu-Cui, Liang Hai-chun, Chen Hai-ming, et al. Anti-Candida albicans activity and pharmacokinetics of pogostone isolated from Pogostemonis Herba [J]. Phytomedicine, 2012,20(1):77.
- [4] 曾庆钱,严振,蔡岳文,等. 广藿香精油对檀香粉蝶和荔枝卷叶蛾生物活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2006,18(4):541.

# 液相色谱-质谱串联法测定清血内消丸中马兜铃酸 A 含量

甘盛<sup>1</sup>, 韩婷<sup>3</sup>, 刘华钢<sup>2</sup>, 施晓光<sup>1\*</sup>, 吴超权<sup>1</sup>

(1. 广西壮族自治区食品药品检验所, 南宁 530012;

2. 广西壮族自治区食品药品监督管理局, 南宁 530022;

3. 河北联合大学基础医学院药理教研室, 河北 唐山 053009)

**[摘要]** 目的: 建立清血内消丸中马兜铃酸 A 的限量检查法。方法: 采用 1% 碳酸钠溶液多次加热溶解样品, 用三氯甲烷多次提取, 弃去三氯甲烷层, 碱水层用稀盐酸调 pH, 加三氯甲烷提取多次, 收集合并三氯甲烷层, 蒸干, 残渣加甲醇溶解, 精密吸取 1 mL, 置 20 mL 量瓶, 加乙腈-水(40:60)稀释至刻度, 以水(0.1% 甲酸 + 5 mmol·L<sup>-1</sup> 甲酸铵)/(%) 和乙腈(含 5% 水, 0.1% 甲酸 + 5 mmol·L<sup>-1</sup> 甲酸铵)/(%) 为流动相梯度洗脱, 应用高效液相色谱/电喷雾质谱多离子反应监测模式(MRM)测定。结果: 马兜铃酸 A 在 11.21 ~ 299.0 pg 进样量与马兜铃酸 A 峰面积呈良好的线性关系( $r=0.9995$ ), 检测限 0.1 μg·L<sup>-1</sup>, 定测限 0.3 μg·L<sup>-1</sup>, 平均回收率 119.20%, RSD 4.0% ( $n=9$ )。结论: 方法准确, 快速, 简便, 重复性好, 干扰少, 特异性好, 能满足马兜铃酸 A 的痕量残留的检测要求。

**[关键词]** 清血内消丸; 马兜铃酸 A; 液相色谱-质谱串联; 限量; 检查

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0163-05

**[doi]** 10.11653/syfyj2013160163

## Determination of Aristolochic Acid A in Qingxueneixiao Pills by LC-MS-MS

GAN Sheng<sup>1</sup>, HAN Ting<sup>3</sup>, LIU Hua-gang<sup>2</sup>, SHI Xiao-guang<sup>1\*</sup>, WU Chao-quan<sup>1</sup>

(1. Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530012, China;

2. Guangxi Food and Drug Administration, Nanning 530022, China;

**[收稿日期]** 20121209(004)

**[第一作者]** 甘盛, 博士, 主管药师, 从事食品药品检验及质量研究, Tel:15994436944, E-mail:gansheng@hotmail.com

**[通讯作者]** \* 施晓光, 硕士, 主管药师, 从事食品药品检验及质量研究, Tel:13517681047, E-mail:shixiaoguang2007@126.com

- [5] 陈海明, 易宇阳, 彭绍忠, 等. 高效液相色谱法测定广藿香中广藿香酮的含量[J]. 广州中医药大学学报, 2011, 28(6):645.
- [6] 易宇阳, 陈海明, 秦臻, 等. HPLC 法测定广藿香油中广藿香酮的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(5):560.
- [7] 邹玉繁, 张健泓, 汪小根. 双指数方程拟合广藿香酮巴布剂体外透皮特性的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3):1.
- [8] 汪小根, 莫小路, 蔡岳文, 等. 组培广藿香与扦插广藿香中百秋里醇和广藿香酮的含量对比分析[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(1):96.
- [9] 章军, 薛翠娟, 荆文光, 等. HPLC 测定葛根饮片中 5 个成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7):108.
- [10] 李才堂, 文萍, 郭琦丽, 等. HPLC 测定裸花紫珠药材中毛蕊花糖苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1):47.
- [11] 毕赢, 刘军辉, 罗容, 等. HPLC 同时测定葶苈中胡椒碱和葶苈明宁碱含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1):84.
- [12] 罗集鹏, 刘玉萍, 冯毅凡, 等. 广藿香的两个化学型及产地与采收期对其挥发油成分的影响[J]. 药学学报, 2003, 38(4):307.
- [13] 罗集鹏, 冯毅凡, 郭晓玲. 不同采收期对广藿香产量及挥发油成分的影响[J]. 中药材, 2001, 24(5):316.

[责任编辑 顾雪竹]