

# 薄荷迷迭香酸的提取及分析研究

罗盛旭<sup>1</sup>, 梁振益<sup>1</sup>, 张德拉<sup>1</sup>, 陈宗宪<sup>2</sup>

(1. 海南大学理工学院, 海南 海口 570228 2. 海南万恒生物工程有限公司, 海南 海口 570125)

**摘 要:** 对薄荷迷迭香酸进行提取及分析研究。以干制薄荷叶为原料, 采用热回流水浸提与乙酸乙酯萃取相结合的方法提取, 以硫酸亚铁比色法和高效液相色谱法分别对提取物中迷迭香酸进行定性、定量研究。结果表明, 薄荷中含有迷迭香酸成分, 其含量为 0.156%。该法准确度高, 结果可靠。

**关键词:** 薄荷; 迷迭香酸; 提取; 分析

## Research on Extraction and Analysis of Rosmarinic Acid in Mentha haplocalyx Briq

LUO Sheng-xu<sup>1</sup>, LIANG Zhen-yi<sup>1</sup>, ZHANG De-la<sup>1</sup>, CHEN Zong-xian<sup>2</sup>

(1. Science and Engineering College of Hainan University, Haikou 570228, China

2. Hainan Everlasting Biological Engineering Co., Ltd, Haikou 570125, China)

**Abstract:** This paper studied the extraction and analysis methods of Rosmarinic acid in the Mentha haplocalyx Briq. The dry leaves of Mentha haplocalyx Briq were used as raw material. By hot refluxing water and ethyl acetate Rosmarinic acid was extracted. Colorimetry was adopted to conduct qualitative analysis. High performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine Rosmarinic acid content. The results showed that Rosmarinic acid in the Mentha haplocalyx Briq was identified and its content was 0.156%. This assay method was precise and reliable.

**Key words:** mentha haplocalyx Briq; rosmarinic acid; extraction; analysis

中图分类号 0658

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2005)11-0192-02

薄荷(Mentha haplocalyx Briq)为唇形科植物,主产于江苏、湖南、江西等地。作为中药的薄荷来源于植物薄荷的干燥地上部分,具有宣散风热,清利咽喉,透疹的功能。用于风热感冒,风湿初起、头痛、目赤、咽喉肿痛、口疮、麻疹、皮肤瘙痒等症。迷迭香酸(Rosmarinic Acid 简称 RosA)是一种酚酸类化合物,具有抗氧化性、抗病毒、抗急性慢性感染、抑制血小板或全血的凝集、抑制免疫细胞的非正常增殖、降低感染引起的酶含量等多种优异的生理医学活性<sup>[1]</sup>。作为抗氧化剂,它能极强地清除体内自由基,能抑制内皮细胞调节的低密度脂蛋白的氧化<sup>[2]</sup>,其抗氧化性强于咖啡酸、绿原酸、叶酸等<sup>[3]</sup>;Arda 等<sup>[4]</sup>发现变豆菜的醇提取物具有抗 HIV(人类免疫缺陷病毒)的活性,其中发挥作用的主要物质是 RosA, Hangay 等<sup>[5]</sup>的研究还发现 RosA 是控制疱疹病的一种有效成分。基于薄荷中迷迭香酸成分的提取和分析研究未见报道,本实验以干制薄荷叶为原料,对薄荷迷迭香酸进行提取及分析研究,

其结果可为薄荷开发利用的精细化提供科学资料。

### 1 材料与方法

#### 1.1 仪器、材料与试剂

仪器: 高效液相色谱仪 Jasco-1586 日本分光公司; LEO 超声波清洗器 大连华洋科技仪器有限公司; PPENDORF 微量移液器 德国; Heidolph LABOROTA 4000 旋转蒸发仪 德国; BINDER 真空干燥箱 德国; UV-2450 紫外可见分光光度计 日本岛津株式会社。

材料: 干制薄荷叶 海南万恒生物制药有限公司提供。

试剂: RosA 标准品 Alexis Corporation Alexis USA, San Diego, CA 92121/USA; 乙腈 色谱纯; 超纯水; 无水乙醇、硫酸亚铁、甲醇、醋酸钠、乙酸乙酯; 盐酸 分析纯。

#### 1.2 标准溶液配制

将 RosA 标准品在 105℃ 下干燥 4h 后,准确称取

收稿日期: 2004-11-25

基金项目: 国家火炬计划项目(2002EB021188)

作者简介: 罗盛旭(1964-),男,副教授,研究方向为分析化学、分离科学。

6.51mg, 置于25ml容量瓶中, 用无水乙醇溶解, 稀释至刻度, 作为标准溶液。

### 1.3 迷迭香酸(RosA)提取

将干燥薄荷叶粉碎, 称取其粉末适量, 置于三角瓶中, 加入适量水, 在90℃水浴中浸提30min, 浸提两次, 用纱布粗滤, 合并浸提液, 用1mol/L的盐酸调pH值至2.0~2.5, 进行抽滤, 将滤清液用乙酸乙酯萃取3次, 合并萃取液, 用旋转蒸发器除去乙酸乙酯, 浓缩液经真空干燥制得薄荷提取物。以无水乙醇溶解提取物并稀释至25ml得样品溶液。

### 1.4 提取物中迷迭香酸(RosA)的定性分析

用微量移液器分别移取1.2标准溶液和1.3样品溶液各0.20ml, 分别加入0.1mol/L NaAc-HAc缓冲溶液(pH6.0)4.77ml和新配制的0.2mol/L FeSO<sub>4</sub>溶液30μl, 充分混匀后, 在室温下于暗处反应30min, 使显色完全。对显色溶液从400~800nm波段测定可见吸收光谱, 找出最大吸收波长 $\lambda_{\max}$ 。

### 1.5 提取物中迷迭香酸(RosA)的定量分析

#### 1.5.1 高效液相色谱法条件

色谱柱为Hil sil C<sub>18</sub>(250mm×4.6mm, 5μm); 流动相为甲醇-0.5%醋酸水溶液(85:15); 流速为1.0ml/min; 检测波长为280nm; 灵敏度为0.16AFUS; 柱温为室温(25℃)。

#### 1.5.2 RosA含量测定

将1.2标准溶液和1.3样品溶液经0.45μm微孔滤膜过滤, 分别吸取滤液20μl在上述色谱条件下进样分析, 以峰面积按外标法定量测定样品中RosA的含量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 RosA的定性分析

本文采用硫酸亚铁比色法鉴定提取物中是否含有RosA。其原理是RosA在NaAc-HAc缓冲溶液(pH6.0)中能与Fe<sup>2+</sup>结合, 生成特异的暗蓝色复合物<sup>[6]</sup>; 而且RosA-Fe<sup>2+</sup>复合物在可见光区572nm处有最大吸收。实验结果表明, 样品溶液和RosA标准溶液都呈现出特异的暗蓝色反应, 且可见区的 $\lambda_{\max}$ 均为572nm, 证明薄荷提取物中含有RosA。

### 2.2 RosA的定量分析

采用HPLC法测定薄荷提取物中RosA的含量。在上述色谱条件下, RosA标准溶液和样品溶液的谱图见图1和图2。

固定色谱条件下, 依峰面积与组分含量成正比原理, 以外标法计算样品中RosA的含量。经测定, 1.3样品溶液中RosA的含量为34.96%, 因此薄荷中RosA的含量为0.156%。

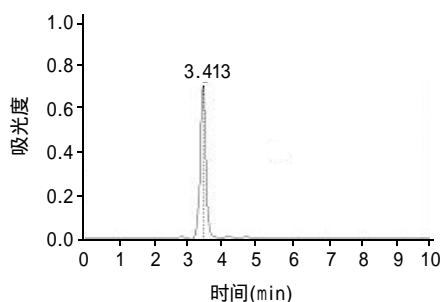


图1 迷迭香酸标准品的HPLC图

Fig.1 HPLC chromatograms of Carnosic RosA reference substance

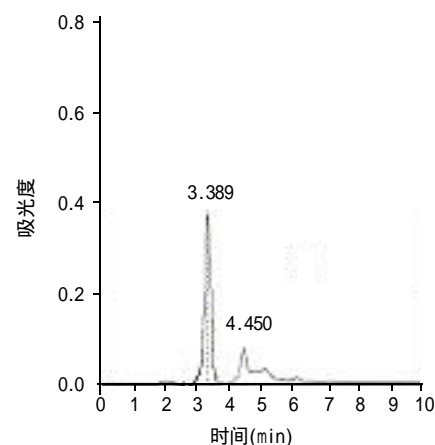


图2 薄荷提取物的HPLC图

Fig.1 HPLC chromatograms of M.haplocalyx sample

综上所述, 薄荷中含有迷迭香酸(RosA)成分, 其含量为0.156%。我国有丰富的薄荷资源, 开发制取纯天然、具有多种优异功能的迷迭香酸(RosA), 可造福社会, 并可为薄荷开发利用的精细化提供一条重要的途径。

### 参考文献:

- [1] Kwak W J, Han C K, Kin H S, et al. Eur Pat Appl EP832652, 1998.
- [2] Pearson D A, Frankel E N, Aeschbach R, et al. Inhibition of endothelial cell-mediated oxidation of low-density lipoprotein by rosmarinic and plant phenolics[J]. J Agric Food Chem, 1997, 45(3): 578-582.
- [3] Chen J H, Ho C T. Antioxidant activities of rosmarinic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds[J]. J Agric Food Chem, 1997, 45(7): 2374-2378.
- [4] Arda N, Goeren, Kuru A, et al. J Med Chem, 1997, 60(11): 1170-1173.
- [5] Mazumder A, Neamati N, Sunder S, et al. J med Chem, 1997, 40(19): 3057-3063.
- [6] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京: 人民出版社, 1997. 738-740.