

炒制对细辛中黄樟醚、甲基丁香酚和细辛脂素含量的影响

黄皎^{1,2}, 易进海^{1*}, 刘玉红¹, 黄志芳¹, 陈燕¹, 刘云华¹

(1. 四川省中医药科学院, 成都 610041; 2. 成都中医药大学, 成都 610072)

[摘要] 目的: 研究炒制对细辛中黄樟醚、甲基丁香酚和细辛脂素含量的影响。方法: 采用 HPLC, Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 285 nm, 柱温 35 °C。结果: 甲基丁香酚、黄樟醚和细辛脂素为进样量分别在 0.103 7~2.074 μg($r=0.999\ 9$), 0.110 1~2.02 μg($r=0.999\ 9$), 0.054 3~1.086 μg($r=0.999\ 9$) 有良好的线性关系, 平均回收率分别为 98.74% (RSD 2.10%), 96.93% (RSD 1.58%), 101.92% (RSD 3.55%)。结论: 细辛炒制可显著降低毒性成分黄樟醚的含量, 较好地保留有效成分甲基丁香酚和细辛脂素, 起到减毒存效的作用。因此, 细辛炒制具有一定的合理性。

[关键词] 细辛; 炒制; 黄樟醚; 甲基丁香酚; 细辛脂素; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0090-03

[doi] 10.11653/syfy2013190090

Influence of Processing on the Content of Safrole, Methyleugenol and Asarinin in Asari Radix et Rhizoma

HUANG Jiao^{1,2}, YI Jin-hai^{1*}, LIU Yu-hong¹, HUANG Zhi-fang¹, CHEN Yan¹, LIU Yun-hua¹

(1. Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China;

2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the content changes of safrole, methyleugenol and asarinin by different processing methods in Asari Radix et Rhizoma. **Method:** Safrole, methyleugenol and asarinin were determined by Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column as stationary phase, 285 nm as detective wavelength, MeOH-H₂O as mobile phase; the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹; the column temperature was kept at 35 °C. **Result:** The linear ranges of methyleugenol, safrole and asarinin were 0.103 7-2.074 μg ($r=0.999\ 9$), 0.110 1-2.02 μg ($r=0.999\ 9$), 0.054 3-1.086 μg ($r=0.999\ 9$) and the average recoveries were 98.74%, 96.93%, 101.92% and RSDs were 2.10%, 1.58%, 3.55% respectively. **Conclusion:** The content of safrole decreased significantly in stir-fried products, while the content of methyleugenol and asarinin was conserved effectively. Therefore, it is very sensible to stir-fire Asari Radix et Rhizoma.

[Key words] Asari Radix et Rhizoma; processing; safrole; methyleugenol; asarinin; HPLC

[收稿日期] 20111201(003)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2009CB522804)

[第一作者] 黄皎, 硕士研究生, 从事中药化学成分与质量标准研究, Tel: 028-85210843, E-mail: huangjiaolxj@163.com

[通讯作者] * 易进海, 研究员, 从事中药化学成分与质量评价研究, Tel: 028-85210843, E-mail: yijinhai@yahoo.com.cn

细辛为马兜铃科植物北细辛、汉城细辛或华细辛的干燥根和根茎^[1], 具有祛风散寒、止痛、通窍、温肺化饮之功效, 用于风寒感冒、头痛、牙痛、鼻塞流涕、风湿痹痛、痰饮咳喘等症。细辛有小毒^[2-5], 如单用粉末不过钱, 现代药理研究证实, 细辛确有一定的毒性, 主要表现在呼吸系统和神经系统方面, 其毒性大小与挥发油含量密切相关, 主要毒性成分为挥发油中的黄樟醚^[2], 甲基丁香酚是细辛镇咳祛痰、镇痛和麻醉的主要成分^[6-7], 细辛脂素亦具有抗病

毒和抗结核杆菌的作用^[8-9]。现行版《中国药典》细辛仅除杂、水润、切段,阴干加工成饮片,但古代细辛已有炒、焙等炮制方法,以缓和药性、减轻毒性。如《本草纲目拾遗》:“去叶节炒焦”、“北细辛焙干”;《太平惠民和剂局方》云“凡使,先去土并苗,焙干,方入药用”;《圣济总录》曰“去苗叶炒”^[2-3]。本文以主要毒、效成分为评价指标,研究炒制对细辛中黄樟醚、甲基丁香酚和细辛脂素含量的影响,探究细辛炒制的合理性,为细辛加工炮制提供参考方法。

1 材料

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(包括 G1311A 型四元泵, G1315B 型 DAD 检测器, G1316A 型柱温箱, G1329A 型自动进样器, 化学工作站), HHS214 型电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器厂), AUW220D 型 1/10 万电子天平(日本岛津), Millipore Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

黄樟醚对照品, 购于 CHEM SERVICE(批号 03/11, 纯度 $\geq 98\%$), 甲基丁香酚对照品, 购于中国药品生物制品检定所(批号 111642-200301, 供含量测定用), 细辛脂素对照品, 购于上海同田生物技术有限公司(批号 11032521, 纯度 $\geq 98\%$), 甲醇为美国 Fisher 色谱纯, 水为 Millipore Milli-Q 超纯水系统制得的超纯水, 其余试剂均为分析纯。

药材购于成都荷花池药材市场, 经四川省中医药科学院舒光明研究员鉴定, 分别为华细辛 *Asarum sieboldii* Miq. 和北细辛 *A. heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag. 的干燥根及根茎。

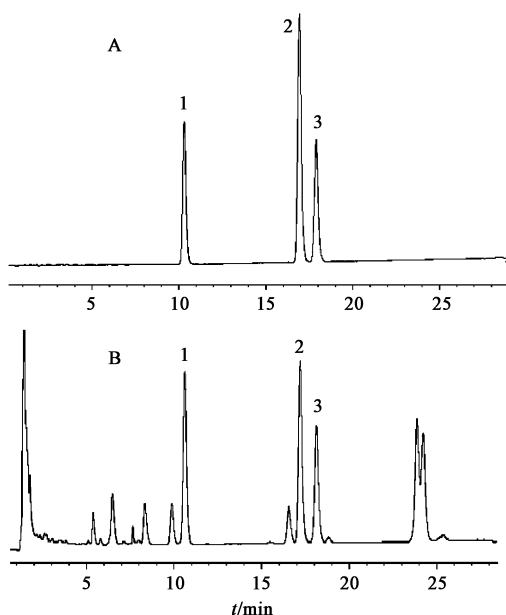
2 方法与结果

2.1 样品制备 华细辛(批号 110901)、北细辛(批号 110902)药材, 经除杂, 切段, 即为生品。分别取华细辛和北细辛生品各 500 g, 用文火炒至表面颜色加深时取出放凉, 即为炒黄品; 用中火炒至表面焦褐色, 并具有焦香气味时取出放凉, 即为炒焦品; 用武火炒至表面焦黑色时取出放凉, 即为炒炭品。

2.2 色谱条件^[10] Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相 A 相为水, B 相为甲醇, 梯度洗脱(0 ~ 10 min, 45% ~ 40% A; 10 ~ 15 min, 40% ~ 35% A; 15 ~ 30 min, 35% ~ 25% A), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 285 nm, 柱温 35 °C, 进样量 5 ~ 15 μL。对照品及样品的色谱图见图 1。

2.3 溶液的制备

2.3.1 混合对照品溶液的制备 精密称取甲基丁



A. 混合对照品; B. 北细辛样品;

1. 甲基丁香酚; 2. 黄樟醚; 3. 细辛脂素

图 1 混合对照品溶液及北细辛样品溶液的 HPLC

香酚对照品 10.37 mg、黄樟醚对照品 11.01 mg、细辛脂素 10.86 mg, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。再分别精密量取上述对照品溶液适量, 置同一 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 中含黄樟醚 0.110 1 mg、甲基丁香酚 0.103 7 mg、细辛脂素 0.054 3 mg 的对照品混合溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取细辛粉末(过三号筛)约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加甲醇溶液 20 mL, 精密称定质量, 回流提取 1 h, 取出, 放冷, 用甲醇补足减失质量, 滤过, 即得供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系 精密吸取甲基丁香酚、黄樟醚和细辛脂素混合对照品溶液各 1, 4, 8, 12, 16, 20 μL 注入液相色谱仪中, 以进样量(μg)为横坐标, 峰面积(A)为纵坐标, 进行线性回归计算, 得线性方程 $Y_{\text{甲基丁香酚}} = 738.095X - 1.971$ ($r = 0.9999$), 线性范围为 0.103 7 ~ 2.074 μg; $Y_{\text{黄樟醚}} = 1332.218X - 14.605$ ($r = 0.9999$), 线性范围为 0.110 1 ~ 2.202 μg; $Y_{\text{细辛脂素}} = 1394.46X - 7.942$ ($r = 0.9999$), 线性范围为 0.054 3 ~ 1.086 μg。

2.4.2 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液(No. 3)5 μL, 注入液相色谱仪, 重复进样 5 次, 按 2.2 项下色谱条件测定, 甲基丁香酚、黄樟醚和细辛脂素的峰面积的 RSD 分别为 0.65%, 0.79%, 1.17%, 表明色谱系统的精密度好。

2.4.3 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 (No. 3) 5 μL , 注入液相色谱仪, 分别于 0, 1, 2, 4, 8, 16, 24 h 检测, 记录色谱图, 甲基丁香酚、黄樟醚和细辛脂素的峰面积的 RSD 分别为 0.84%, 1.27%, 1.01%, 表明供试品溶液于 24 h 内稳定。

2.4.4 重复性试验 取细辛粉末 (No. 3), 精密称取约 0.5 g, 共 6 份, 按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 5 μL , 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 黄樟醚、甲基丁香酚和细辛脂素含量分别为 1.165 6, 2.078 5, 1.857 6 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 分别为 4.33%, 1.49%, 1.46%, 表明该方法重复性好。

2.4.5 加样回收率试验 取已知甲基丁香酚、黄樟醚和细辛脂素含量的细辛样品 (No. 3) 0.25 g, 共 6 份, 精密称定, 准确加入适量对照品, 照含量测定项下操作, 测定含量, 计算回收率^[11], 结果见表 1。

表 1 细辛中 3 种成分加样回收率试验

成分	样品含量		加入量		测得量		回收率		平均回		RSD
	/mg	/mg	/mg	/mg	/mg	/mg	/%	/%	收率/%	/%	
黄樟醚	0.292 3	0.342 2	0.633 4	0.99 68	96.93	1.58					
	0.298 6	0.342 2	0.630 3	96.94							
	0.291 7	0.342 2	0.624 7	97.31							
	0.287 3	0.342 2	0.612 9	95.16							
	0.295 7	0.342 2	0.625 0	96.24							
	0.290 4	0.342 2	0.619 7	96.26							
甲基丁香酚	0.521 3	0.492 6	1.002 2	97.63	98.74	2.10					
	0.532 5	0.492 6	1.025 4	100.06							
	0.520 2	0.492 6	1.003 9	98.19							
	0.512 4	0.492 6	1.010 5	101.13							
	0.527 3	0.492 6	1.019 9	100.00							
	0.517 8	0.492 6	0.987 9	95.45							
细辛脂素	0.465 9	0.450 7	0.912 0	98.98	101.92	3.55					
	0.475 9	0.450 7	0.944 5	103.97							
	0.465 0	0.450 7	0.944 2	106.34							
	0.457 9	0.450 7	0.893 8	96.72							
	0.471 3	0.450 7	0.927 5	101.23							
	0.462 7	0.450 7	0.932 6	104.26							

2.5 样品测定 照 2.3.2 项下方法制备各批细辛的供试品溶液, 分别精密吸取 5 ~ 15 μL 注入液相色谱仪, 在 2.2 项色谱条件下进行测定, 计算各样品中黄樟醚、甲基丁香酚和细辛脂素的含量, 结果见表 2。

3 讨论

炒黄细辛中主要毒性成分黄樟醚降低约 10% ~ 20%, 而药效成分甲基丁香酚和细辛脂素增加约 10% ~ 20%; 炒焦细辛中黄樟醚降低约 50%, 甲基丁香酚降低约 20% ~ 30%, 细辛脂素降低约 10%; 炒炭细辛中黄樟醚降低约 90%, 甲基丁香酚降低约 70%, 细辛脂素降低约 30% ~ 50%; 表明炒制可显著降低主

表 2 细辛中黄樟醚、甲基丁香酚和细辛脂素的含量测定

No.	样品	$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$		
		黄樟醚	甲基丁香酚	细辛脂素
1	北细辛生品	2.728 3	3.160 9	1.995 0
2	北细辛炒黄	2.077 1	3.193 7	2.306 6
3	北细辛炒焦	1.172 3	2.168 5	1.841 9
4	北细辛炒炭	0.340 1	0.887 0	0.879 0
5	华细辛生品	5.029 9	4.904 6	2.188 9
6	华细辛炒黄	4.590 8	5.573 9	2.693 9
7	华细辛炒焦	2.507 9	3.888 7	2.023 2
8	华细辛炒炭	0.838 5	1.612 4	1.440 7

要毒性成分黄樟醚的含量, 较好地保留药效成分甲基丁香酚和细辛脂素, 即减毒存效。这为古人用细辛时“去叶节炒焦”、“先去土并苗, 焙干”提供了科学依据, 也为细辛加工炮制提供参考方法。

[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: 214.
- [2] 杨西友, 张晓凤, 李飞. 细辛炮制的历史沿革及其毒性研究进展[C]. 武汉: 中华中医药学会中药炮制分会 2009 年学术研讨会论文集, 2009: 159.
- [3] 蓝森麟. 细辛采集与炮制的研究思考[C]. 北京: 中华中医药学会中药基础理论分会首届临床中药学学术研讨会论文集, 2008: 80.
- [4] 涨素清. 细辛的采收加工与炮制[J]. 传统医药, 2010, 19(22): 79.
- [5] 朱跃兰, 侯秀娟, 赵凤毛. 细辛应用安全性的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(6): 1176.
- [6] 周慧秋, 于滨, 乔婉红, 等. 甲基丁香酚药理作用研究[J]. 中医药学报, 2000(2): 79.
- [7] 杜成智, 陈玉萍, 覃洁萍, 等. 不同产地细辛挥发油的 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 57.
- [8] 蔡少青, 王禾, 陈世忠, 等. 北细辛非挥发性化学成分的研究[J]. 北京医科大学学报, 1996, 28(3): 228.
- [9] 张磊, 陈晓辉, 刘玉磊, 等. RP-HPLC 法同时测定辽细辛中 L-细辛脂素、L-芝麻脂素和卡枯醇[J]. 中草药, 2008, 39(7): 1098.
- [10] 刘玉红, 易进海, 黄蛟, 等. RP-HPLC 法同时测定细辛中甲基丁香酚、黄樟醚和细辛脂素的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(5): 822.
- [11] 毛敏珏, 严国俊, 侯振山, 等. HPLC 同时测定肝儿舒微丸中 3 种有效成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(24): 107.

[责任编辑 顾雪竹]