

HPLC 测定荆芥饮片煎煮过程中胡薄荷酮的含量变化

束雅春^{1,2}, 秦昆明³, 刘晓², 蔡皓², 蔡宝昌^{2,3*}

(1. 南京中医药大学附属医院, 南京 210029; 2. 南京中医药大学国家教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心, 南京 210029; 3. 南京海昌中药集团有限公司, 南京 210061)

[摘要] 目的: 利用 HPLC 测定荆芥饮片煎煮过程中胡薄荷酮的含量变化, 为规范含荆芥复方汤剂的临床煎煮方法提供理论依据。方法: 以胡薄荷酮为考察指标, 采用高效液相色谱法在给定的色谱条件下测定荆芥饮片煎煮 5, 10, 20, 30, 45 min 后水煎液中胡薄荷酮的含量。结果: 不同煎煮时间对荆芥饮片中胡薄荷酮的含量有较大影响, 胡薄荷酮成分在煎煮 30 min 后已基本消失。结论: 应充分尊重中药传统煎煮方法的特殊要求, 对于含挥发油的中药饮片应后下, 且结合临床经验认为荆芥饮片的煎煮时间为 5 min。

[关键词] 荆芥; 胡薄荷酮; 含量测定; 煎煮; 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(2011)16-0060-03

[DOI] CNKI:11-3495/R.20110622.1305.009 **[网络出版时间]** 2011-06-22 13:05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110622.1305.009.html>

Study on Content Changes of Pulegone in Schizonepetae Herba under Decoction Process by HPLC Method

SHU Ya-chun^{1,2}, QIN Kun-ming³, LIU Xiao², CAI Hao², CAI Bao-chang^{2,3*}

(1. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;

2. Engineering Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;

3. Nanjing Haichang Chinese Medicine Group Corporation, Nanjing 210061, China)

[Abstract] **Objective:** To study the content changes of pulegone in Schizonepetae Herba under decoction process, and to provide a reference for normalizing decoction method of Schizonepetae Herba. **Method:** With index of pulegone, HPLC was used to determine the content of pulegone in Schizonepetae Herba after decoction time of 5, 10, 20, 30 and 45 minutes under given chromatographic condition. **Result:** Decoction time could significantly affect the content of pulegone in Schizonepetae Herba, and pulegone could not be detected after decoction time of 30 minutes. **Conclusion:** The special requirements in traditional decoction methods of herbs should be respected. Herbs containing essential oils should be added later during decoction, and in accordance with clinical experiences, decoction time for Schizonepetae Herba shall be 5 minutes.

[Key words] Schizonepetae Herba; pulegone; content determination; decoction; HPLC

荆芥为唇形科植物荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* Briq. 的干燥地上部分, 为中医常用的辛温解表

[收稿日期] 20110414(007)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201007010)

[第一作者] 束雅春, 主管中药师, 在读博士, E-mail: guzheng0512@sohu.com, Tel:13913890005

[通讯作者] * 蔡宝昌, 教授, 博士生导师, E-mail: bccai@126.com

药^[1]。荆芥具有祛风解表、透疹消疮等功效,临床上常用于外感表证、麻疹不透、风疹瘙痒、疮疡初期兼有表证、出血证等。荆芥煎服时不宜久煎^[2],因为其主要药效物质为挥发油类成分,包括薄荷酮、胡薄荷酮、胡椒酮等^[3],受热容易挥发,2010年版《中国药典》(一部)规定荆芥挥发油含量不得少于0.30% ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)^[1]。胡薄荷酮为荆芥挥发油中的主要有效成分,有文献报道采用HPLC测定胡薄荷酮含量准确可靠,且简便易于推广^[4]。为研究荆芥饮片煎煮过程中胡薄荷酮含量的变化,进而规范荆芥的煎煮工艺,本研究采用HPLC对荆芥饮片在经过传统砂锅煎煮过程中胡薄荷酮的含量变化进行考察,为确立荆芥最佳煎煮时间提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器与试剂 岛津LC-20AB型高效液相色谱仪(DGU-20A3在线脱气机、SIL-20A自动进样器、SPD-M20A检测器、CTO-20A柱温箱和Class-VP色谱工作站),Mettler Toledo AL104型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

1.2 试药 荆芥饮片购自南京中医药大学附属医院中药房,经南京中医药大学附属医院宋金斌教授鉴定为药用荆芥*S. tenuifolia*饮片正品。甲醇为色谱纯(美国Merck公司),其他试剂为分析纯。胡薄荷酮对照品购自中国药品生物制品检定所(批号111706-201004,纯度>98.6%)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 YMC-Pack ODS-A色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)(YMC Co. Ltd, Japan),柱温35 $^{\circ}\text{C}$,流速1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长254 nm,流动相甲醇-水(80:20)。

2.2 供试品溶液的制备 精密称取荆芥饮片30 g加入10倍量水浸泡30 min,用传统砂锅武火煮沸后,改用文火煎煮5 min,趁热滤出药液,量得体积为175 mL,备用(1号样品)。同法制备荆芥煎煮10 min样品(2号样品),20 min样品(3号样品),30 min样品(4号样品),45 min样品(5号样品),每份样品均加纯净水定容至175 mL,备用。

分别量取1~5号样品溶液10 mL至50 mL量瓶中,加入无水乙醇定容至刻度,边加边轻轻振摇,静置即得供试品溶液。

2.3 对照品储备液的配制 精密称取胡薄荷酮对

照品17.46 mg置10 mL量瓶中,加无水乙醇溶解并定容至刻度,即得对照品储备液。

2.4 方法学考察

2.4.1 标准曲线的建立 精密量取1 mL胡薄荷酮对照品储备液至100 mL量瓶中,加无水乙醇定容至刻度,得浓度为17.46 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的胡薄荷酮对照品溶液,再依次稀释成3.492, 1.746, 0.873, 0.436 5, 0.218 2, 0.087 5, 0.010 6 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的7个不同浓度的胡薄荷酮对照品溶液。按照2.1项下的色谱条件分别进样10 μL (图1),记录峰面积,以峰面积为纵坐标,胡薄荷酮对照品溶液的浓度为横坐标绘制标准曲线,计算得回归方程为 $Y = 27\,977 X + 804.74$, ($r = 0.999\,9$),表明胡薄荷酮在0.010 6 ~ 17.46 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 具有良好的线性关系。

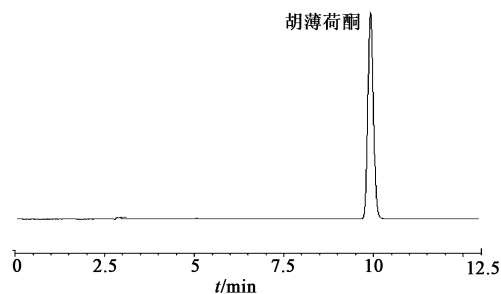


图1 胡薄荷酮对照品 HPLC

2.4.2 精密度试验 精密吸取荆芥饮片煎煮5 min的样品溶液10 μL ,重复进样5次,计算样品中胡薄荷酮峰面积的RSD 1.6%,表明仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 精密吸取荆芥饮片煎煮5 min的样品溶液10 μL ,分别于0, 4, 8, 12, 16, 24 h进样测定,计算样品中胡薄荷酮峰面积的RSD为0.8%,结果表明样品溶液在24 h内稳定。

2.4.4 重复性试验 取同一批号的荆芥饮片,重复制备5份煎煮10 min的样品溶液,精密吸取10 μL 进样测定,计算胡薄荷酮峰含量的RSD为2.66%。

2.4.5 加样回收率试验 称取荆芥饮片15 g,加入10倍量水浸泡30 min,用传统砂锅武火煮沸后,文火煎煮10 min,趁热滤出药液,定容至175 mL。精密量取上述荆芥样品溶液6份,每份10 mL,分别加入胡薄荷酮对照品溶液(1.746 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 0.8, 0.8, 1.0, 1.0, 1.2, 1.2 mL,加无水乙醇定容至50 mL,摇匀,静置。精密吸取各样品10 μL 进样测定,计算胡薄荷酮平均回收率为103.77%,RSD 1.8%。结果见表1。

表 1 胡薄荷酮加样回收率试验

No.	样品中含量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	2.981	2.095	5.174	104.67		
2	2.981		5.176	104.79		
3	2.981	1.746	4.786	103.41	103.77	1.78
4	2.981		4.830	105.90		
5	2.981	1.396	4.385	100.54		
6	2.981		4.423	103.30		

2.5 样品含量测定 取 2.2 项下各样品溶液,在 2.1 项色谱条件下分别进样分析,进样体积 10 μL ,见图 2。荆芥饮片煎煮过程中胡薄荷酮的浓度变化结果见图 3。结果显示,荆芥饮片在煎煮过程中随着煎煮时间的延长,胡薄荷酮的含量急剧降低,煎煮 30 min 后胡薄荷酮成分已基本检测不到。

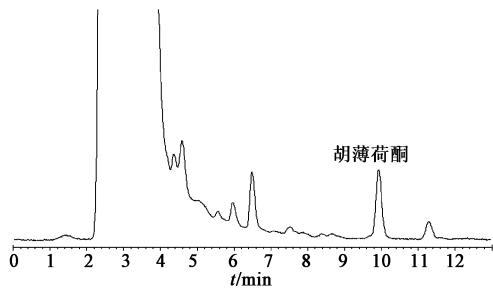


图 2 荆芥饮片的液相色谱

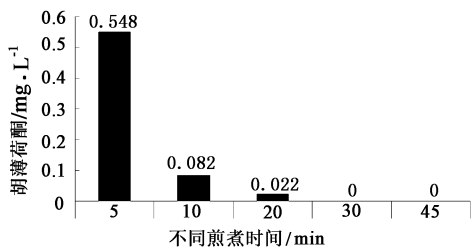


图 3 荆芥饮片煎煮过程中胡薄荷酮质量浓度变化

3 讨论

荆芥为常用解表药,其主要药效成分通常认为是挥发油类成分。一般而言,挥发油类成分的测定常采用气相色谱法,但气相色谱法色谱条件复杂,出峰多,干扰大;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。荆芥的主要成分是胡薄荷酮等单萜类化合物,其具有共轭结构,紫外最大吸收峰在 252 nm 处,在此波长下其他成分干扰很小,分析时间短,故本实验采用高效液相色谱法建立荆芥饮片煎煮过程中胡薄荷酮的含量测定方法。

本研究发现,按照传统方法煎煮,煎煮时间对胡

薄荷酮的含量有较大的影响。煎煮 5 min 的样品胡薄荷酮浓度较高,煎煮 10 min 的样品胡薄荷酮浓度减少了近 7 倍,煎煮 20 min 的样品胡薄荷酮的浓度减少了近 25 倍,而在煎煮 30,45 min 的样品中,胡薄荷酮的色谱峰已完全消失。由此可见,随着煎煮时间的延长,荆芥饮片中胡薄荷酮的含量明显减少直至完全消失,这验证了古今医家对于含有挥发性成分的中药煎煮时“香气大出”,“勿过煮”的理论。本研究也揭示了中药汤剂的疗效与其煎煮方法有直接关系,正如清代著名医学家徐灵胎所说“大都发散之药,及芳香之药,不宜多煎,取其生而疏荡……故方药虽中病,而煎法失度,其药必无效”^[5]。现代研究也认为,含挥发油较多的药物,一般在汤剂煎好前 5~10 min 入药煎煮即可^[6]。通过本研究,笔者认为对于含有挥发性成分的中药饮片要严格按照传统“后下”煎煮方法的要求规范煎煮,且结合临床经验认为荆芥饮片的煎煮时间为 5 min。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010: 216.
- [2] 高学敏.中药学[M]. 2版.北京:中国中医药出版社, 2007: 57.
- [3] Lin R, Tian J, Huang G, et al. Analysis of menthol in three traditional Chinese medicinal herbs and their compound formulation by GC-MS[J]. Biomed Chromatogr, 2002, 16 (3): 229.
- [4] 杨建平,包贝华,张丽,等.荆芥饮片中胡薄荷酮的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(9): 669.
- [5] 刘洋.徐灵胎医学全书[M]. 北京:中国中医药出版社, 1999: 136.
- [6] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1996: 41.

[责任编辑 蔡仲德]