

后下中药饮片有效成分的煎出量及变化规律

葛尔宁^{*}, 盛振华, 朱飞叶, 丁红梅, 侯晓丽
(浙江中医药大学分析测试中心, 杭州 310053)

[摘要] 目的: 对 6 种较典型的后下中药饮片的主要有效成分煎出量及随煎药时间的变化规律进行研究。方法: 采用毛细管 GC 和 HPLC 色谱法。结果: 薄荷脑、广藿香油、樟脑、钩藤碱、橙花叔醇和肉豆蔻醚分别在 0.003 9 ~ 0.039 μg、0.500 0 ~ 2.500 0 μL、0.210 0 ~ 1.250 0 μg、0.190 0 ~ 0.950 0 μg、0.006 3 ~ 2.000 0 μg 和 0.400 0 ~ 2.000 0 μg 范围内与各色谱峰面积呈线性关系。结论: 易挥发芳香类后煎药的煎药时间控制在 3 min 内比较合适, 以生物碱为主要成分的后煎药, 煎药时间控制在 10 ~ 15 min 比较合适。

[关键词] 中药饮片; 气相色谱法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0042-04

中医用于解表、理气等作用的许多中药饮片中富含易挥发芳香类有效物质, 如薄荷中的薄荷脑、砂仁中的樟脑等, 煎药时宜后下, 以免有效成分被过度煎煮挥发, 至使药效下降^[1~2]。但后煎饮片具体需煎多少时间或煎药时间不能超过多少, 笔者查阅《金匱要略》等历代中医书籍发现^[2]: 具体的煎药时间和方法都较模糊, 很少说明。实际上不同中药饮片所含物质不同, 挥发度也存在较大差异, 所以, 单用后煎两字不能科学概括所有后煎中药饮片的合理煎药时间。

本研究拟对临床上常用的 6 种后煎中药饮片薄荷、广藿香、砂仁、钩藤、降香、肉豆蔻等进行最佳煎药时间评价, 通过对各有效成分薄荷脑、广藿香油、

樟脑、钩藤碱、橙花叔醇、肉豆蔻醚等在汤药中的总含量的检测^[3~8], 表达各有效成分在药汤中的总量随煎药时间的变化规律。

采用传统的滚煎入药法, 分时采样, 再分别用 GC 和 HPLC 法检测各样品中主要有效成分含量、药汤中该成分的总量及随时间的变化规律, 科学探索中药方剂的最佳煎药方案。

1 仪器和试剂

Waters1525 系列液相色谱系统; Hypersil BDS C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); Tigerkin-C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 岛津 CR4A 系列气相色谱仪; 毛细管气相色谱柱: 岛津 FQP-494-1, 25 m × 0.2 mm 极性柱; 对照品: 薄荷脑(中国药品生物制品检定所, 批号 0728-200005 含量测定用), 钩藤碱(上海融禾医药科技有限公司, 批号 071209 含量测定用), 樟脑(中国药品生物制品检定所, 批号 0747-9104 含量测定用), 广藿香油(中国药品生物制品检定所, 批号 110832-200403 含量测定用), 橙花叔醇(天津一方科技有限公司, 批号 G5885B 含量测定用), 肉豆蔻

145.81(C-2), 149.72(C-9), 162.00(C-4)。以上数据与文献^[6]对照, 确定该化合物为 4- 唑酮。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 219.
- [2] Deng Yonghong, Xu Rensheng, Ye Yang. A New Quinazolone Alkaloid from Leaves of *Dichroa febrifuga* [J]. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 2000, 9

(3): 116.

- [3] 耿红梅. 欧亚悬覆花化学成分的研究[J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(10): 2433.
- [4] 薛培风, 尹婷, 梁鸿, 等. 番白草化学成分研究[J]. *中国药理学杂志*, 2005, 40(14): 105.
- [5] 张晓琪, 戚进, 叶文才, 等. 苍耳茎化学成分的研究[J]. *中国药科大学学报*, 2004, 35(5): 404.
- [6] 柳继锋, 张雪梅, 薛多清, 等. 大青叶的化学成分研究[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(23): 195.

醚化学对照品(中国药品生物制品检定所,批号 1363700-30808312 含量测定用)。薄荷叶采自本校中药种植园;钩藤药材购于浙江中强医药有限公司;砂仁药材购于安徽亳州药材市场;广藿香药材购于杭州方回春堂;降香、肉豆蔻药材购于浙江中医药大学中药饮片厂。上述药材经浙江中医药大学资源鉴定教研室黄真教授鉴定为正品药材薄荷(*Mentha haplocalyx* Brixq)、钩藤(*Uncaria rhynchophylla* M. J)、砂仁(*Amomum vilosum* Lour)、广藿香(*Pogostemon cablin* B. B)、降香(*Dalbergia odorifera* T. chen)、肉豆蔻(*Myristica fragrans* Houtt)。甲醇、乙腈为色谱纯;其他实验用试剂均为分析纯。

表 1 6 种标准对照品的线性关系考察

对照品	线性回归方程	线性范围	色谱方法
薄荷脑	$Y = 6.12 \times 10^5 X + 3.35 \times 10^2$ ($r = 0.9993$)	0.0039 ~ 0.0390 μg	GC, DB-225 石英毛细管柱。柱温: 60 (2 min) 5 $\cdot \text{min}^{-1}$, 85, 10 $\cdot \text{min}^{-1}$, 150 15 $\cdot \text{min}^{-1}$ 240 (1 min), 进样口温度: 250, 检测器: FID, 温度: 250。
广藿香油	$Y = 8.05 \times 10^3 X - 2.51 \times 10^2$ ($r = 0.9994$)	0.5000 ~ 2.5000 μL	GC, DB-225 石英毛细管柱。柱温: 150 (23 min) 8 $\cdot \text{min}^{-1}$, 230 (5 min), 进样口温度: 280, 检测器: FID, 温度: 280。
樟脑	$Y = 6.51 \times 10^3 X + 6.5 \times 10^2$ ($r = 0.9992$)	0.2100 ~ 1.2500 μg	GC, DB-225 石英毛细管柱。柱温: 90 (4 min) 5 $\cdot \text{min}^{-1}$, 140 20 $\cdot \text{min}^{-1}$, 220 (1 min), 进样口温度: 200, 检测器: FID, 温度: 250。
钩藤碱	$Y = 1.13 \times 10^3 X - 5.3 \times 10^2$ ($r = 0.9993$)	0.1900 ~ 0.9500 μg	HPLC, Hypetsil BDS C_{18} 柱, 流动相: 甲醇 水 = 70 30, 1 mL/min, 检测波长: 254 nm, 柱温: 25。
橙花叔醇	$Y = 4.44 \times 10^4 X - 4.6 \times 10^2$ ($r = 0.9993$)	0.0063 ~ 2.0000 μg	HPLC, Hypetsil BDS C_{18} 柱, 流动相: 甲醇 水 = 78 22, 1.2 mL/min, 检测波长: 213 nm, 柱温: 25。
肉豆蔻醚	$Y = 2.89 \times 10^5 X - 1.26 \times 10^5$ ($r = 0.9998$)	0.4000 ~ 2.0000 μg	HPLC, Tigerkin- C_{18} 柱, 流动相: 甲醇 水 = 70 30, 1 mL $\cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长: 282 nm, 柱温: 25。

2.2 供试品溶液 参考 2005 版《中国药典》有关方法^[9], 分别称取干燥的薄荷叶、钩藤等上述 6 种药材每种 3 份, 每份 8 g, 共 18 份。取 18 只圆底烧杯, 各加入 500 mL 水, 3 只一组放置在 3 只用同一调压器加热的电炉上文火至沸; 取上述 6 种药材中的 1 种, 共 3 份药材各加入 3 杯已滚的沸水中用火煎煮, 在 0 ~ 20 min 内按需分时提取 15 ~ 20 个汤药样品(每次取 0.8 mL), 并记录每次提取汤药样品后烧杯中所剩的总汤药量以备计算相应成分在汤药中的总含量; 对应混和各时段提取的 3 份汤药样品。6 种药材的煎煮取样方法相同。

钩藤、砂仁、肉豆蔻的汤药提取液经离心, 取上清液, 再经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续虑液, 即得供试品溶液。

薄荷、广藿香、降香的汤药提取液再用 3 倍量的

2 对照品溶液和被测样品溶液的制备

2.1 对照品溶液 参考 2005 版《中国药典》方法^[9], 精密称取薄荷脑对照品 7.8 mg、钩藤碱对照品 4.75 mg、樟脑对照品 1.67 mg、橙花叔醇对照品 10 mg、肉豆蔻醚对照品 4 mg、吸取广藿香油对照品 2.5 μL , 置于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度备用。

分别精密吸取上述标准溶液适量, 以 5, 10, 15, 20, 25 浓度级差稀释后, 各配置成等量标准溶液, 各吸取 5 μL 进样, 色谱方法见表 1, 以 Y 轴代表色谱峰面积, X 轴代表进样浓度分别做线性关系考察, 所得线性回归方程如表 1 所示。

乙醚提取 3 次, 合并醚液, 挥干, 残留物用甲醇稀释至 2 mL, 再经离心、取上清液、过 0.45 μm 微孔滤膜后即得供试品溶液。

2.3 精密度考察 取薄荷脑、钩藤碱、樟脑、广藿香油、橙花叔醇和肉豆蔻醚 6 个对照品各经浓度级差稀释后的中间浓度标样, 分别精密吸取 5 μL 进样, 重复 3 次, 记录色谱图, 结果表明, 用各标样所做精密度均良好, RSD(薄荷脑、樟脑、广藿香油、) 均在 1.7% 以内, RSD(钩藤碱、橙花叔醇、肉豆蔻醚) 均在 1.3% 以内。

2.4 稳定性和重复性考察 各药材提取溶液均取第 5 号样品进行 16 h 稳定性和 3 份非对应混合样品的重复性试验, 样品有效成分含量在 16 h 内稳定, RSD 均在 2.6% 以内, 重复性良好, RSD 均在 2.7% 以内。

2.5 供试品制备方法的回收率试验 取薄荷脑、钩藤碱、樟脑、广藿香油、橙花叔醇和肉豆蔻醚 6 个对照品稀释溶液适量, 分别对应加入上述 2.2 项中相应成分含量相对较高的汤药提取液中, 同 2.2 项供试品溶液提取处理方法处理后进样检测, 结果表明: 用 3 倍量的乙醚提取 3 次的薄荷脑、广藿香油和橙花叔醇的回收率分别为 96%、93% 和 94%; 钩藤碱、樟脑和肉豆蔻醚的回收率分别为 100%、98% 和 98%。方法的回收率良好。

2.6 样品含量测定 所有样品溶液均取 5 μL 进样, 每个样品重复 3 次, 记录色谱图, 根据各线性回归方程对应计算各样品中特定成分含量, 以煎药时间为横坐标, 汤药中特定成分含量溶出总量为纵坐

标, 绘制趋势图(见图 1), 以趋势图为基准, 采用多次曲线拟合法求得被测汤药中特定成分含量随时间变化方程, 求导数, 令 $dy/dt = 0$, 算得峰值时间 t 。由此得知汤药中的特定成分含量在 t 时间左右达到高峰, 其后在汤药中的含量逐渐下降, 至数分钟后趋向稳定或消失。图 1 分别为薄荷、广藿香、砂仁、钩藤、降香、肉豆蔻中有效成分含量薄荷脑、广藿香油、樟脑、钩藤碱、橙花叔醇、肉豆蔻醚等在汤药中的总含量随煎药时间的变化规律。

表 2 为 6 种特定成分含量在汤药中变化规律的拟合方程及各拟合方程求导后算得的各特定成分含量在汤药中达到峰值的时间列表, t 代表峰值时间。

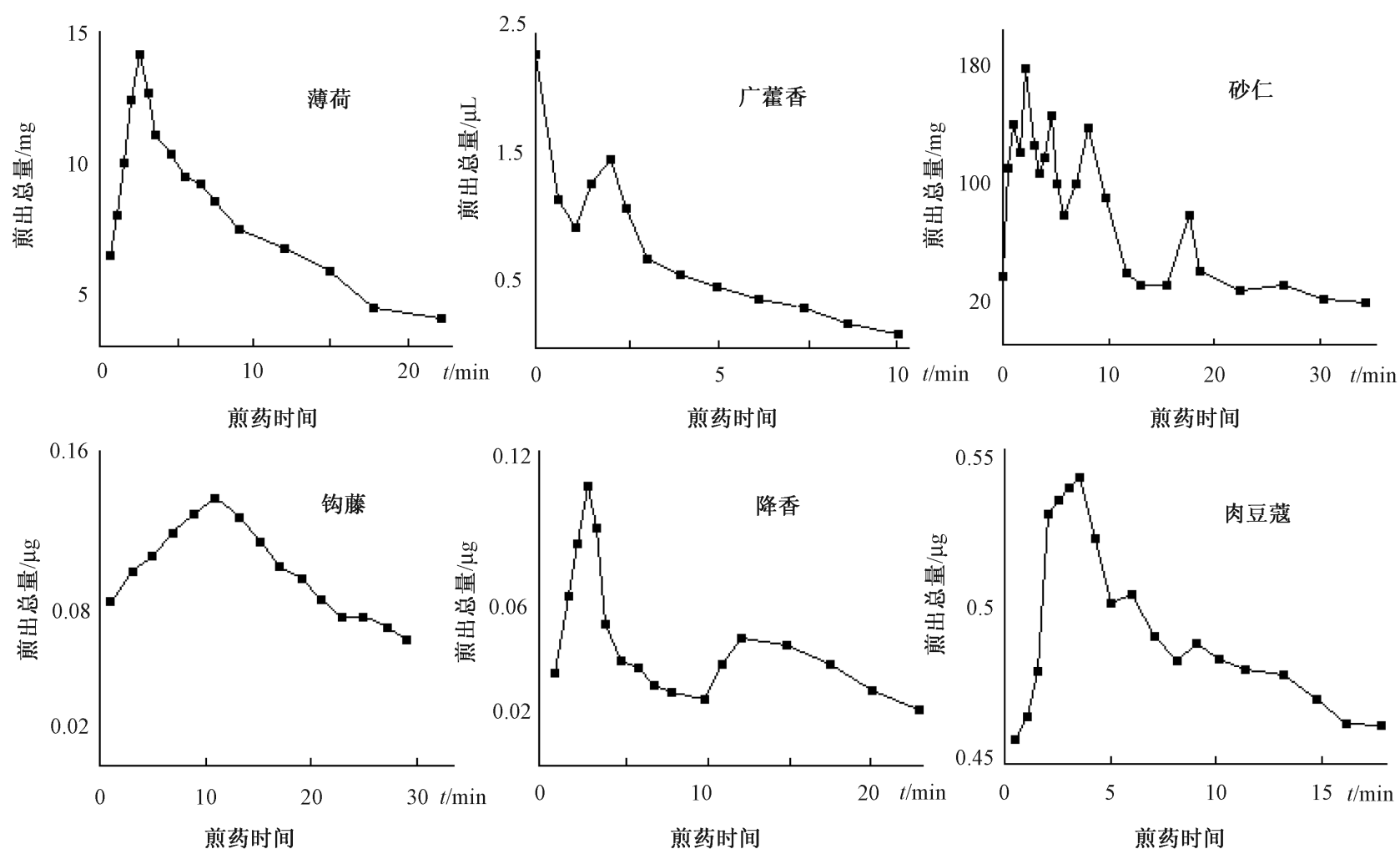


图 1 薄荷、广藿香、砂仁、钩藤、降香、肉豆蔻中有效成分含量薄荷脑、广藿香油、樟脑、钩藤碱、橙花叔醇、肉豆蔻醚等在汤药中的总含量随煎药时间的变化规律

表 2 6 种特定成分含量在汤药中变化规律的拟合方程及峰值时间

标准品名称	拟合方程	峰值时间 /min
薄荷脑	$Y = 5.92t^3 - 51.94t^2 + 147.78t - 122.59 \quad 0 < t < 5 \text{ min}$	2.5
广藿香油	$Y = 0.0257t^2 - 0.4713t + 2.2000$	0
樟脑	$Y = 0.0101t^3 - 0.4340t^2 + 0.4197t + 125.1000$	0.5
钩藤碱	$Y = -0.0002t^2 + 0.0049t + 0.0886$	12.3
橙花叔醇	$Y = -0.0221t^2 + 0.1285t - 0.0121 \quad 0 < t < 5 \text{ min}$	2.9
肉豆蔻醚	$Y = -5.9246t^2 + 29.0590t - 6.8129$	2.5

3 讨论

后下中药饮片一般以含芳香植物油、醇、醚等类物质为主,在汤药中经高温煎煮极易被挥发,由表 2 可见,主要有效成分一般在 3 min 内就可达到煎出总量高峰。以广藿香为例,滚水入药后,主要成分广藿香油即可被迅速煎出,并达到总量高峰。高温环境下被不断挥发后,总含量呈下降趋势。类似如薄荷脑、樟脑、橙花叔醇、肉豆蔻醚等易挥发物质在汤药中的总含量走势图也大致相似。通常我们对后下药的煎煮时间均理解为 5 ~10 min,实验证明对于以油、醇、醚类为主要有效成分的后下药,煎药时间控制在 3 min 以内比较合适,而药材中主要含生物碱类有效成分的后下药则不同,达到总含量高峰会稍长些,如钩藤碱,煎药时间一般控制在 10 ~15 min 比较合适。

后煎中药的合适煎药时间存在较大差异,但也有规律可寻,像广藿香这样入药就达到总含量高峰的并不多,类似药材可经实验筛选后,加以罗列。总体来说,本文研究的后下中药饮片可分为 3 类: 为特快型,该类中药饮片的有效成分在高温下的溶出速度非常快,则煎药时间一般控制在 1 min 之内即可; 为较快型,实验表明,该类饮片经高温入药煎煮,药汤中有效成分溶出总量需经数分钟才可达到高峰,煎药时间一般控制在 2 ~3 min 比较合适; 为一般型,该类饮片的有效成分不具芳香性,或如生物碱类物质,不易挥发,但高温煎煮下溶出速度也相对快且稳定。实验表明,该类饮片的煎药时间一般控制在 10 ~15 min 比较合适。从趋势图中可发现,后煎药的一个共同特点是:当煎药时间相对较长时,汤中有效成分总量会下降或迅速下降,这一点与煎

出总量在一定时间内会达到相对稳定的先煎或常规饮片如葛根、白芍^[10~11]等区别较大。

[参考文献]

- [1] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用[M]. 第 1 ~5 卷. 北京: 学苑出版社, 1997, 1860, 3214, 3335, 3557, 4656, 4706.
- [2] 李文瑞. 金匱要略汤症论治[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1993. 47, 74, 104, 587.
- [3] 郑纯,曾洁. 高效毛细管气相色谱法测定保心安油中(-)—薄荷酮、薄荷脑和桂皮醛的含量[J]. 药物分析杂志, 2003, 23(2): 100.
- [4] 顾民心,扬颖,王宝,等. 气相色谱法测定砂仁挥发油中乙酸龙脑脂及樟脑的含量[J]. 药物分析杂志, 1985, 5(6): 359.
- [5] 王英峰,魏璐雪,王保中. 高效液相色谱法测定钩藤中钩藤碱、异钩藤碱的含量[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(1): 56.
- [6] 关玲,权丽辉,徐丽珍,等. 广藿香化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1994, 19(6): 355.
- [7] 韩静,唐星,巴德纯. HPLC 法测定降香挥发油中橙花叔醇的含量[J]. 中草药, 2004, 35(7): 824.
- [8] 贾天柱,沙明,王忠海,等. 肉豆蔻不同炮制品挥发油中肉豆蔻醚、黄樟醚的 HPLC 法测定[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(7): 410.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 30, 90, 158, 177, 180, 261.
- [10] 葛尔宁. RP-HPLC 法测定葛根汤中葛根素的含量及变化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(4): 12.
- [11] 葛尔宁. RP-HPLC 法测定不同煎煮方法下当归芍药汤中阿魏酸和芍药苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(6): 16.