

毛细管气相色谱法测定薄荷煎剂中薄荷脑和 (-)-薄荷酮的含量及变化

葛尔宁*

(浙江中医药大学中心测试室, 浙江 杭州 310053)

[摘要] 目的: 测定薄荷煎剂中薄荷脑和(-)-薄荷酮等有效成分的煎出量及随时间的变化规律。方法: 采用毛细管气相色谱法; 毛细管柱(岛津 FQP-494-1, 25 m × 0.2 mm), 柱温: 60 °C保持 2 min, 5 °C·min⁻¹升温至85 °C, 10 °C·min⁻¹升温至150 °C, 15 °C·min⁻¹升温至240 °C保持 1 min; 分流进样, 分流比: 100: 1; 进样口温度: 250 °C; 检测器: FID, 温度: 250 °C。结果: 薄荷脑和(-)-薄荷酮在(0.003 9~ 0.039) μg 和(0.002 5~ 0.025) μL 范围内与色谱峰面积呈线性关系, *r* 分别为0.999 3, 0.999 6。结论: 文火煎煮 2.5 min 左右, 煎剂中的薄荷脑和(-)-薄荷酮含量达到高峰, 煎煮 10 min 后含量消失过半。

[关键词] 薄荷脑; (-)-薄荷酮; 薄荷煎剂; 毛细管气相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)05-0007-03

薄荷为常用中药, 其味辛散、性凉, 常用于感冒风热、皮肤瘙痒等症, 因所含有效成分易在沸水煎煮中分解挥发, 故煎药时常以后下为主, 不宜久煎。化学成分主含薄荷脑、(-)-薄荷酮等^[1]。笔者查阅有关资料, 薄荷后下乃众医家之共识^[2], 但后下煎煮多少时间则几无定论, 现代中药研究也无相关报道, 中

国药典有关薄荷的用法仅用“入煎宜后下”一语带过^[3]。有关用毛细管柱气相色谱法对薄荷油中及相关成药中薄荷脑和(-)-薄荷酮含量的检测在国内已有许多报道^[4-6], 而采用该法对薄荷煎剂中有效成分进行煎煮时的跟踪检测等相关报道则甚少。本文采用毛细管柱气相色谱法对薄荷煎剂中的两种主要成分薄荷脑和(-)-薄荷酮进行分时采样检测, 以确定相关中药汤剂中薄荷后下的最佳煎煮时间。

1 仪器和试剂

岛津 CR4A 系列气相色谱仪, 毛细管气相色谱

[收稿日期] 2006-10-23

[通讯作者] * 葛尔宁, Tel: (0571) 86613589; E-mail: ge_erning@sina.com

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), (-)-薄荷酮(Sigma 公司); 实验用试剂均为分析纯。薄荷叶采自本校中药种植园。

2 对照品溶液和被测样品溶液的制备

对照品溶液: 精密称取薄荷脑 7.8 mg 用甲醇稀释并定容于 5 mL 量瓶中。分别精密吸取浓度为 0.55 mg/mL 的(-)-薄荷酮对照品溶液 5, 12.5, 25, 37.5, 50 μL, 分别用甲醇稀释并定容于 5 只 0.5 mL 微量瓶中。

样品溶液: 称取 3 份干燥的薄荷叶药材粉末各 8 g, 精密称定; 取 3 只圆底烧瓶, 各加入 500 mL 水, 用同一调压器调压加热的电炉文火加热至沸, 加入上述 3 份药材用文火煎煮, 在 0 至 3.5 min 内每 30 s 取一次样, 3.5 至 25 min 内再取 9 样, 每次 0.8 mL, 记录每次提取样品后的总溶液量。分别对应混和 3 份样品溶液, 共取 16 个待测样品, 各样品用 3 倍量的乙醚提取 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 微孔滤膜后待测。

3 色谱条件

毛细管柱(岛津 FQP-494-1, 25 m × 0.2 mm), 柱温: 60 °C 保持 2 min, 5 °C·min⁻¹ 升温至 85 °C, 10 °C·min⁻¹ 升温至 150 °C, 15 °C·min⁻¹ 升温至 240 °C, 保持 1 min; 分流进样, 分流比: 100:1; 进样口温度: 250 °C; 检测器: FID, 温度: 250 °C; 对照品和样品进样量均为 0.5 μL。

4 线性范围

分别精密吸取上述薄荷脑对照品溶液 0.10, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mL, 置 5 只 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 再取该 5 个薄荷脑对照品稀释液和上述(-)-薄荷酮对照品稀释液各 100 μL 对应混和, 分别精密吸取该混和对照品溶液各 0.5 μL 进样, 以对照品峰面积 Y 为纵坐标, 进样量 X (μg) 为横坐标绘制标准曲线, 薄荷脑进样量在 0.003 9 μg ~ 0.039 μg、(-)-薄荷酮进样量在 0.002 5 μL ~ 0.025 μL 范围内与峰面积呈良好的线性关系。回归方程分别为: $Y = 612\,153 X + 335$, $r = 0.999\,3$ ($n = 3$); $Y = 865\,678 X + 165$, $r = 0.999\,6$ ($n = 3$)。

5 精密度和稳定性

精密吸取 5 号(2.5 min 采样点)样品溶液 0.5 μL, 按含量测定方法连续进样 5 次, 测定峰面积, RSD 为 2.5% (薄荷脑)、2.3% ((-)-薄荷酮); 分别

于 0, 2, 4, 8, 16 h 精密吸取该样品溶液 0.5 μL 进样, 测定上述两种物质的峰面积积分值, RSD 为 1.5% (薄荷脑); RSD 为 1.6% ((-)-薄荷酮), 精密度和稳定性均良好。

6 样品测定

取 16 个样品溶液各 0.5 μL 进样, 记录气相色谱图(见图 1)。根据各图谱中薄荷脑和(-)-薄荷酮两种成分的峰面积, 由上述 2 个回归方程算出各样品

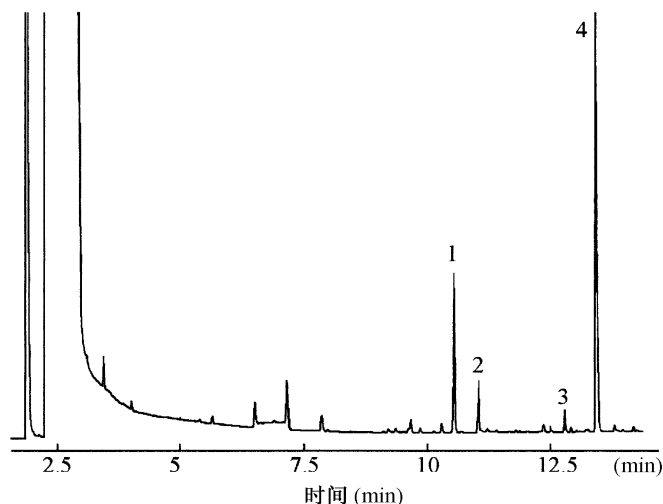


图 1 样品煎煮 2.5 min 时的气相色谱图

1. (-)-薄荷酮 2. (+)-薄荷酮 3. 新薄荷酮 4. 薄荷脑

中薄荷脑和(-)-薄荷酮的含量, 重复三次取平均值, 以煎煮时间 t 为横坐标, 药汤中薄荷脑和(-)-薄荷酮的含量为纵坐标绘制趋势图(见图 2), 设第一样为 30 s 点, 以曲线拟合法对趋势图中峰值区域(1.5 min ~ 3.5 min)及峰后区域(3.5 min ~ 25 min)进行区间分段拟合, 求得汤中薄荷脑和(-)-薄荷酮含量随煎煮时间的变化方程为:

$$Y_{11}(\text{薄荷脑}) = 5.92 t^3 - 51.943 t^2 + 147.78 t - 122.59 \\ (3.5 \text{ min} \geq t \geq 1.5 \text{ min})$$

$$Y_{21}[(-)\text{-薄荷酮}] = 0.32 t^3 - 3.83 t^2 + 13.22 t - 10.75 \\ (3.5 \text{ min} \geq t \geq 1.5 \text{ min})$$

$$Y_{12}(\text{薄荷脑}) = 0.017 t^2 - 0.861 t + 13.145 \\ (3.5 \text{ min} \leq t \leq 25 \text{ min})$$

$$Y_{22}[(-)\text{-薄荷酮}] = 0.006 t^2 - 0.283 t + 3.782 \\ (3.5 \text{ min} \leq t \leq 25 \text{ min})$$

把上 4 式微分得:

$$dY_{11}/dt = 17.76 t^2 - 103.89 t + 147.78 \\ (3.5 \text{ min} \geq t \geq 1.5 \text{ min})$$

$$dY_{21}/dt = 0.96 t^2 - 7.66 t + 13.22 \\ (3.5 \text{ min} \geq t \geq 1.5 \text{ min})$$

$$dY_{12}/dt = 0.034t - 0.861$$
$$(3.5 \text{ min} \leq t \leq 25 \text{ min})$$

$$dY_{22}/dt = 0.012t - 0.283$$
$$(3.5 \text{ min} \leq t \leq 25 \text{ min})$$

令上4式等于零,解方程(二次方程可用数值逼近法)可算得:当 $t \approx 2.5 \text{ min}$ 时,药汤内薄荷脑含量达到最高, $t \approx 2.52 \text{ min}$ 时,药汤内(-)-薄荷酮含量达到最高,当 $t \approx 25.3 \text{ min}$ 时,药汤内薄荷脑含量降至低点,仅为峰值时的20%左右, $t \approx 23.6 \text{ min}$ 时,药汤内(-)-薄荷酮含量降至低点,仅为峰值时的20%左右。峰点含量:薄荷脑/薄荷药材为:1.829 mg/g, (-)-薄荷酮/薄荷药材为:0.234 mg/g。

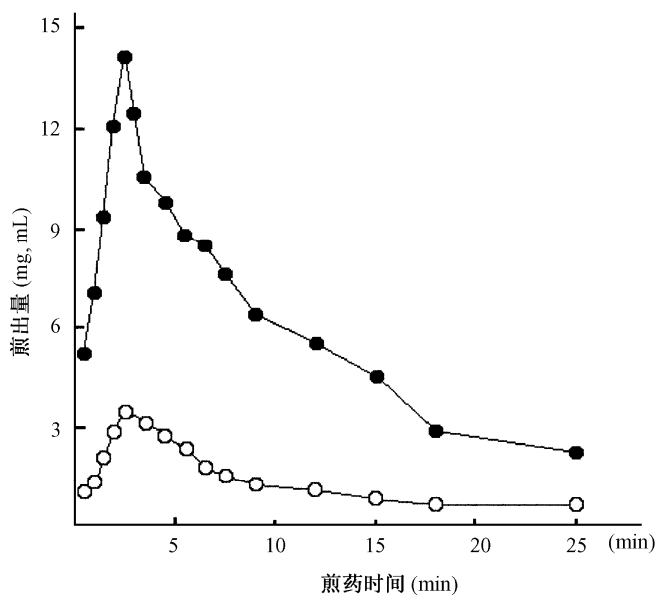


图2 煎出量随煎药时间的变化规律

●—●: 薄荷脑(mg) ○—○: (-)-薄荷酮(mL)

7 讨论

本实验采用在沸水中加入药材的方法来模拟薄荷后下的煎煮过程,鉴于薄荷中的薄荷脑等主要有效成分易被煎煮挥发,所以开始时的采样点间距选

择较短的30 s,但此采样密度在峰值区域仍显不够,见图2,为此在该区域选择更短的15 s采样间距采集数据再次实验,并以此实验数据来推导式: Y_{11} 和 Y_{21} ,以求方程 Y_{11} 和 Y_{21} 的准确拟合。

由图2及拟合方程分析得知,薄荷后下入药后的最佳煎煮时间为2.5 min左右,此时汤中薄荷脑等有效成分含量将达到高峰,煎煮10 min左右,汤中有效成分含量将减半,煎煮23 min以后将减至高峰时的20%以下。本实验结果为中药薄荷的煎煮方法提供科学依据,对临床科学煎药有一定的指导意义。

水煎薄荷的得油率通常较低,所以本实验测得的薄荷脑及(-)-薄荷酮含量均不高,但却更接近汤药中上述两种物质的实际含量。由气相色谱图分析得知,本方法检测薄荷药材中薄荷脑及薄荷酮类成分的含量,效果颇佳。色谱图中薄荷脑及薄荷酮类成分的特征峰非常明显,与其他峰的分度度也很好,完全能够满足薄荷脑及薄荷酮类成分质量检测标准的要求。

[参考文献]

- [1] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002. 396-401.
- [2] 许济群, 王锦之. 方剂学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995. 69-86.
- [3] 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. 261.
- [4] 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.
- [5] 高海. 气相色谱法测定薄荷油中三种主要成分的含量[J]. 药学通报, 1988, 23(7): 414.
- [6] 郑虎占, 董泽宏, 余靖. 中药现代研究与应用[M]. 第五卷, 北京: 学苑出版社, 1998. 4656-4670.