

银翘散煮散与饮片煎煮过程挥发性成分蒸发规律比较研究

刘月^{1,2}, 顾永哲^{1,2}, 罗云^{1*}, 谭婷³, 廖正根¹, 杨明¹

1. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

2. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004

3. 江西中医药大学 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006

摘要: **目的** 建立银翘散蒸馏液中主要挥发性成分的含量测定方法, 比较银翘散煮散与饮片煎煮过程中挥发性成分的蒸发规律, 为客观表征银翘散“香气大出即取服”煎煮终点判断方法提供科学依据。**方法** 收集不同煎煮时间段银翘散煮散与饮片煎煮蒸馏液, 采用GC-MS法定性分析挥发性成分并测定 α -蒎烯、(-)- β -蒎烯、月桂烯、对伞花烃、(R)-(+)-柠檬烯、 γ -松油烯、薄荷酮、薄荷醇、4-萜烯醇、(R)-(+)-薄荷酮、(+)-香芹酮、胡椒酮12种主要挥发性成分的含量, 比较不同煎煮时间银翘散煮散与饮片挥发性成分蒸发速度。**结果** 银翘散煮散与饮片挥发油GC-MS总离子流色谱图分别确定48和34个色谱峰, 其中相对质量分数大于0.5%的色谱峰分别为26、21个; 随着煎煮时间的延长, 煮散蒸馏液中, 12种成分的平均蒸发速度均先增加后减少, 均在煮沸0~10 min达到最大值, 分别为7.28、13.21、1.06、0.48、1.49、0.42、2.08、2.27、1.76、0.79、0.16、0.20 mg/min; 饮片蒸馏液中, α -蒎烯、(-)- β -蒎烯、月桂烯、对伞花烃、(R)-(+)-柠檬烯、 γ -松油烯的平均蒸发速度先增加后趋于平缓, 在25~30 min达到最大值, 分别为1.38、4.58、0.11、0.06、0.22、0.04 mg/min, 其余6种成分则先增加后减少, 在0~5 min达到最大值, 分别为1.30、2.21、0.42、0.92、0.26、0.37 mg/min。**结论** 煎煮时间与药材粒度对银翘散挥发性成分蒸发速度影响较大; 相比于饮片煎煮, 煮散挥发性成分蒸发速度更快, 煮沸约5 min时, 12种主要挥发性成分均达到最大值, 煮沸约15 min后, 12种挥发性成分蒸发速度均明显减小, 提示银翘散“香气大出即取服”传统煎煮方法煎煮终点为煮沸5 min左右, 以饮片煎煮的银翘散类方制剂挥发性成分的蒸发规律与煮散具有一定差异性。

关键词: 银翘散; 煮散; 饮片; 挥发性成分; 蒸发规律; GC-MS法; α -蒎烯; (-)- β -蒎烯; 月桂烯; 对伞花烃; (R)-(+)-柠檬烯; γ -松油烯; 薄荷酮; 薄荷醇; 4-萜烯醇; (R)-(+)-薄荷酮; (+)-香芹酮; 胡椒酮; 蒸发速度

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)10-2991-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.10.008

Comparative study on evaporation changes of volatile components between powder and pieces decoction process of Yinqiao Powder

LIU Yue^{1,2}, GU Yong-zhe^{1,2}, LUO Yun¹, TAN Ting³, LIAO Zheng-gen¹, YANG Ming¹

1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

3. National Pharmaceutical Engineering Center (NPEC) for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To establish a method for the determination of main volatile components in Yinqiao Powder (银翘散) distillate and compare the evaporation law of volatile components between the process of powder and pieces decoction, so as to provide an evidence for objectively characterizing the boiling endpoint of its traditional decocting method “taking when the fragrance volatilized fiercely”. **Methods** Powder and pieces distillates with different decocting time were prepared to study the dynamic changes of chemical components during decocting process. GC-MS was used to analyze the volatile components qualitatively and determine the contents of α -pinene, (-)- β -pinene, myrcene, *p*-cymene, (R)-(+)-limonene, γ -terpinene, menthone, menthol, terpinen-4-ol, (R)-(+)-

收稿日期: 2021-11-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81760711); 江西省自然科学基金资助项目(20192ACBL21033)

作者简介: 刘月(1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药质量评价。Tel: (0791)87119027 E-mail: 1490952071@qq.com

*通信作者: 罗云, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药药效物质基础及质量评价研究。Tel: (0791)87119027 E-mail: luoyunn@163.com

pulegone, *D*-carvone and piperitone in powder and pieces distillates. **Results** A total of 48 and 34 chromatographic peaks were detected in GC-MS total ion chromatograms of volatile oil from powder and pieces, of which 26 and 21 peaks with relative mass fraction were greater than 0.5%, respectively. With the extension of the boiling time, the evaporation rates of 12 components in the decocting distillate all increased to maximum and then decreased. When boiling for 0—10 min, the maximum average evaporation rates were 7.28, 13.21, 1.06, 0.48, 1.49, 0.42, 2.08, 2.27, 1.76, 0.79, 0.16 and 0.20 mg/min, respectively. In the distillate of pieces, the evaporation rates of α -pinene, (-)- β -pinene, myrcene, *p*-cymene, (*R*)-(+)-limonene and γ -terpinene all increased to maximum and then tended to be flat. When boiling for 25—30 min, the maximum average evaporation rates were 1.38, 4.58, 0.11, 0.06, 0.22 and 0.04 mg/min, respectively. The other six components increased first and then decreased, and reached the maximum value in 0—5 min, which were 1.30, 2.21, 0.42, 0.92, 0.26 and 0.37 mg/min, respectively. **Conclusion** The decocting time and particle size of raw medicinal materials had great effects on the evaporation rate of volatile components of Yinqiao Powder; compared with pieces, the evaporation rate of volatile components in powder decoction was faster. When boiling for about 5 min, 12 main volatile components reach the maximum. After boiling for about 15 min, the evaporation rate of 12 volatile components decreases significantly, indicating that the traditional decoction method of Yinqiao Powder “taking when the fragrance volatilized fiercely” has a boiling end point of about 5 min. However, the evaporation law of volatile components in pieces decoction is different from that in powder decoction.

Key words: Yinqiao Powder; boiled powder; decoction pieces; volatile components; evaporation changes; GC-MS; α -pinene; (-)- β -pinene; myrcene; *p*-cymene; (*R*)-(+)-limonene; γ -terpinene; menthone; menthol; terpinen-4-ol; (*R*)-(+)-pulegone; *D*-carvone; piperitone; evaporation rate

煎煮提取是现代中药制剂生产过程最基本、最重要的环节之一,也是实现中药现代化的重要部分。中医历来十分重视中药的煎煮方法,清·徐灵胎的《医学源流论》曰:“煎药之法,最宜深讲,药之效与不效,全在于此……方虽中病,而煎法失度,药必无效”,充分说明了煎药方法对于保证临床疗效的重要性^[1-4]。事实上,中药提取工艺不但攸关产品疗效,而且还直接影响物耗、能耗和成本,中药提取工艺是否科学合理已成为中药领域所关注的焦点之一。但是,由于中药本身的复杂性,加上缺乏行之有效的质量评价方法,中药的提取工艺研究一直是薄弱环节,提取终点的判断成为困扰研究者的技术难题^[5]。

银翘散出自《温病条辨》,为辛凉解表的中医经典名方,由金银花、连翘、荆芥、薄荷、牛蒡子、桔梗、淡竹叶、淡豆豉、甘草、芦根等组成,具有辛凉透表、清热解毒的功效,用于风热感冒、发热头痛、咳嗽口干、咽喉疼痛^[6]。《温病条辨》记载其煎煮方法^[7]:“上杵为散,每服六钱,鲜苇根汤煎,香气大出,即取服,勿过煮,肺药取轻清,过煮则味厚而入中焦矣”,可见原方作者认为“香气”是银翘散的主要有效成分之一,因此,若煎煮时间过长可能会导致“香气”大量散失,临床疗效降低^[8],故特别强调其煎煮方法“香气大出,即取服,勿过煮”。银翘散传统的煎煮方法经过数百年的临床检验,具有一定的科学合理性。然而,银翘散类方现代中药制剂(银翘伤风胶囊、银翘解毒片/颗粒/胶囊/软胶

囊)大多以药材饮片长时间煎煮提取,与其传统煎煮用药经验相悖,因而受到较多质疑^[9]。何谓“香气”?何为“香气大出”?为何“香气大出即取服”?为了能在银翘散类方现代中药提取中借鉴古人煎煮经验,首先必须用现代科学技术方法阐明这些疑问。

现代研究表明银翘散的“香气”可能是其挥发性成分,一直以来中药“香气”的辨识主要靠人的嗅觉,具有较大的主观差异性。随着现代科学技术的发展,出现了GC^[10]、GC-MS^[11]、电子鼻^[12]等客观评价“香气”的技术方法。本研究在前期研究基础上^[13-14],采用GC-MS法定性分析银翘散挥发性化学成分的组成,客观表征银翘散的“香气”,并建立银翘散蒸馏液中主要挥发性成分的含量测定方法,比较不同煎煮时间银翘散煮散与饮片主要挥发性成分蒸发速度,初步阐明“香气大出”的科学内涵,同时也为客观判断银翘散“香气大出即取服”煎煮终点及合理制定银翘散类方现代中药提取工艺提供科学依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 7890A 型气相色谱仪-5975C 型质谱联用仪,美国 Agilent 公司; BT25S 型电子分析天平,十万分之一,德国 Sartorius 公司; BSA224S 型电子分析天平,万分之一,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; KDM 型调温电热套,山东鄞城华鲁电热仪器有限公司; YF-103B 型高速中药粉碎机,瑞安市永历制药机械有限公司; 水蒸气蒸馏装置,四川

蜀牛玻璃仪器有限公司。

1.2 试药

金银花(产地河南封丘,批号 200403)、连翘(产地山西,批号 200220)、薄荷(产地江苏,批号 200129)、荆芥(产地河北,批号 190813)、牛蒡子(产地甘肃,批号 200119)、桔梗(产地山东,批号 200218)、淡竹叶(产地湖北,批号 190603)、淡豆豉(产地安徽,批号 200616)、甘草(产地内蒙古,批号 200313)、芦根(产地安徽,批号 200315)均购于江西江中中药饮片有限公司;以上药材均经江西中医药大学廖正根教授鉴定,分别为忍冬科忍冬属植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb.的干燥花蕾、木犀科连翘属植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实、唇形科薄荷属植物薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq.的干燥地上部分、唇形科荆芥属植物荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* Briq.的干燥地上部分、菊科牛蒡属植物牛蒡 *Arctium iappa* L.的干燥成熟果实、桔梗科桔梗属植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.的干燥根、禾木科淡竹叶属植物淡竹叶 *Lophatherum gracile* Brongn.的干燥茎叶、豆科大豆属植物大豆 *Glycine max* (Linn.) Merr.的干燥成熟种子(黑豆)的发酵加工品、豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的干燥根和根茎、禾本科芦苇属植物芦苇 *Phragmites communis* Trin.的干燥根茎。

对照品(-)- β -蒎烯(批号 MKCH0872,质量分数 99%)、 α -蒎烯(SHBL8492,质量分数 98%)、薄荷醇(批号 SHBL9104V,质量分数 99%)、4-萜烯醇(SHBM2387,质量分数 95%)、薄荷酮(批号 BCBX2166,质量分数 97%)、(R)-(+)-胡薄荷酮(批号 BCCC0049,质量分数 96%)、(R)-(+)-柠檬烯(批号 MKCH9774,质量分数 97%)、对伞花烃(批号 MKBH0325V,质量分数 99%)、(+)-香芹酮(批号 BNBC7878V,质量分数 95%)、胡椒酮(批号 BCBZ9676,质量分数 98%)、 γ -松油烯(批号 STBJ6637,质量分数 97%)、月桂烯(批号 X30A11S122905,质量分数 95%)均购自 Sigma 公司;银翘散,自制,批号 21032401、21032402、21032403;高纯氦气,江西省南昌市宏伟气体有限公司;水为蒸馏水;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 GC-MS 分析条件

2.1.1 色谱条件 HP-5MS 石英毛细管柱(30 m \times

0.25 mm \times 0.25 μ m);载气为高纯度氦气;体积流量 1.0 mL/min;进样量 1.0 μ L;分流比为 10:1;进样口温度 250 $^{\circ}$ C;接口温度 280 $^{\circ}$ C;程序升温:50 $^{\circ}$ C 保持 2 min,以 2 $^{\circ}$ C/min 升至 80 $^{\circ}$ C,再以 3 $^{\circ}$ C/min 升至 180 $^{\circ}$ C。

2.1.2 质谱条件 EI 电离源;电子能量 70 eV;离子源温度 230 $^{\circ}$ C;四级杆温度 150 $^{\circ}$ C;扫描范围 m/z 35~500。

2.2 对照品溶液的制备

分别取 α -蒎烯、(-)- β -蒎烯、月桂烯、对伞花烃、(R)-(+)-柠檬烯、 γ -松油烯、薄荷酮、薄荷醇、4-萜烯醇、(R)-(+)-胡薄荷酮、(+)-香芹酮、胡椒酮对照品适量,精密称定,加无水乙醇使溶解,定容至刻度,制成质量浓度分别为 2.04、9.70、0.22、0.16、0.42、0.13、0.49、1.03、0.90、0.39、0.18、0.13 mg/mL 的对照品溶液,备用。

2.3 混合对照品溶液的制备

分别取各对照品溶液 0.4 mL,混匀,即得混合对照品溶液,再用无水乙醇依次稀释成不同质量浓度的系列混合对照品溶液(80%、60%、50%、40%、20%、10%、5%)。

2.4 不同煎煮时间银翘散蒸馏液样品的制备

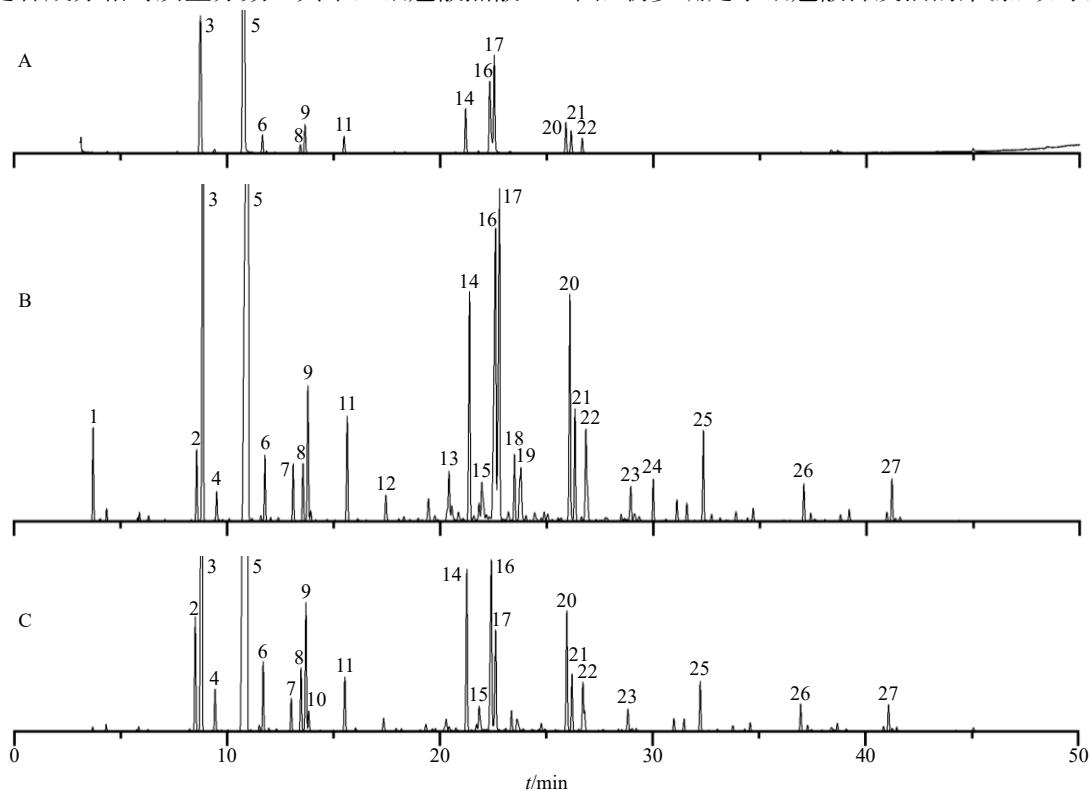
2.4.1 不同煎煮时间银翘散煮散蒸馏液样品的制备按照《中国药典》2020 版一部银翘散的制法,称取金银花 100 g、连翘 100 g、桔梗 60 g、薄荷 60 g、淡豆豉 50 g、淡竹叶 40 g、牛蒡子 60 g、荆芥 40 g、芦根 100 g、甘草 40 g,粉碎成细粉,过筛,混匀,制成银翘散。称取 390 g 银翘散,置于 5000 mL 圆底烧瓶中,加入 10 倍量水,浸泡 30 min 后加热收集蒸馏液,约 25 min 后开始沸腾,于煮沸后 0~5 min (SZ1)、5~10 min (SZ2)、10~15 min (SZ3)、15~20 min (SZ4)、20~25 min (SZ5)、25~30 min (SZ6)、30~40 min (SZ7)、40~50 min (SZ8)、50~60 min (SZ9)、60~80 min (SZ10)、80~100 min (SZ11)、100~120 min (SZ12) 分段收集蒸馏液,放冷,加乙醚振荡萃取,收集乙醚萃取液,定容至 5 mL,即得。

2.4.2 不同煎煮时间银翘散饮片蒸馏液样品的制备按照《中国药典》2020 版一部中银翘散药材比例,称取金银花 60 g、连翘 60 g、桔梗 36 g、薄荷 36 g、淡豆豉 30 g、淡竹叶 24 g、牛蒡子 36 g、荆芥 24 g、芦根 60 g、甘草 24 g,混匀,按“2.4.1”项下方法进行煎煮收集蒸馏液(YZ1~YZ12)。

2.5 银翘散煮散与饮片蒸馏液中挥发性成分定性分析

银翘散煮散与饮片蒸馏液中挥发性成分的 GC-MS 总离子流色谱图见图 1-B、C。经计算机贮存信号的检索及质谱图进行解析确定化合物,对 GC-MS 总离子流色谱图进行了初步指认,采用峰面积归一化法测定各成分相对质量分数。其中,银翘散煮散

共确定色谱峰 48 个,其中相对质量分数大于 0.5% 的色谱峰 26 个,占 95.24%;银翘散饮片共确定色谱峰 34 个,其中相对质量分数大于 0.5% 的色谱峰 21 个,占 96.47%。银翘散挥发性成分主要来自连翘^[15-16]、薄荷^[17-18]、荆芥^[19]和金银花^[20] 4 味药材,结合相关研究与单味药材挥发油的色谱图和质谱图,初步确定了银翘散挥发油的来源,如表 1 所示。



3- α -蒎烯 5-($-$)- β -蒎烯 6-月桂烯 8-对伞花烃 9-(R)-(+)-柠檬烯 11- γ -松油烯 14-薄荷酮 16-薄荷醇 17-4-萜烯醇 20-(R)-(+)-胡薄荷酮 21-(+)-香芹酮 22-胡椒酮
3- α -pinene 5-($-$)- β -pinene 6-myrcene 8- p -cymene 9-(R)-(+)-limonene 11- γ -terpinene 14-menthone 16-menthol 17-4-carvomenthenol 20-(R)-(+)-pulegone 21-(+)-carvone 22-piperitone

图 1 混合对照品溶液 (A)、银翘散煮散蒸馏液 (B)、银翘散饮片蒸馏液 (C) 的 GC-MS 总离子流色谱图

Fig. 1 GC-MS total ion chromatograms of reference substance mixture (A), Yinqiao powder decoction (B), Yinqiao pieces decoction (C)

2.6 银翘散蒸馏液中 12 种挥发性成分的定量测定

2.6.1 系统适用性试验 按“2.1”项下分析条件进行检测,以($-$)- β -蒎烯计算理论塔板数大于 3000,分离度大于 1.5。混合对照品溶液、银翘散煮散与银翘散饮片供试品溶液的色谱图见图 1。结果表明,在上述色谱条件下,各目标成分分离度良好。

2.6.2 线性关系考察 取不同质量浓度的系列混合对照品溶液,按上述色谱条件进样 1 μ L,记录色谱峰面积,以进样质量浓度为横坐标 (X),峰面积为纵坐标 (Y),绘制标准曲线,得回归方程分别为 α -蒎烯 $Y=431\,598\,829X+23\,595$, $r=0.999\,8$; ($-$)- β -

蒎烯 $Y=4\,09\,730\,290X+2\,081\,715$, $r=0.999\,6$; 月桂烯 $Y=497\,501\,598X-173\,957$, $r=0.999\,7$; 对伞花烃 $Y=1\,031\,430\,656X-50\,702$, $r=0.999\,8$; (R)-(+)-柠檬烯 $Y=633\,990\,677X-178\,022$, $r=0.999\,9$; γ -松油烯 $Y=1\,141\,308\,678X-101\,522$, $r=0.999\,8$; 薄荷酮 $Y=479\,887\,423X-249\,968$, $r=0.999\,8$; 薄荷醇 $Y=408\,760\,753X-576\,980$, $r=0.999\,8$; 4-萜烯醇 $Y=379\,641\,274X-285\,680$, $r=0.999\,7$; (R)-(+)-胡薄荷酮 $Y=505\,552\,340X-419\,347$, $r=0.999\,6$; (+)-香芹酮 $Y=812\,763\,477X-294\,127$, $r=0.999\,6$; 胡椒酮 $Y=766\,823\,299X-265\,236$, $r=0.999\,6$; 结

表1 银翘散挥发油化学成分分析结果

Table 1 Chemical constituents of volatile oil extracted from Yinqiao Powder

序号	<i>t_R</i> /min	化合物	分子式	相对分子质量	煮散相对质量分数/%	饮片相对质量分数/%	药材来源
1	3.71	甲苯	C ₇ H ₈	92	1.420	—	—
2	8.57	β-侧柏烯	C ₁₀ H ₁₆	136	1.194	2.804	连翘
3	8.86	α-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136	10.360	15.210	连翘
4	9.51	蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.585	1.081	连翘
5	10.99	(-)-β-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136	34.132	45.650	连翘
6	11.78	月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	136	1.078	1.509	连翘
7	13.10	α-松油烯	C ₁₀ H ₁₆	136	1.015	0.794	连翘
8	13.56	对伞花烃	C ₁₀ H ₁₄	134	1.049	1.562	连翘
9	13.79	(<i>R</i>)-(+)-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	136	2.403	3.220	荆芥、连翘、薄荷
10	13.83	桉油精	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.189	0.500	连翘、薄荷
11	15.63	γ-松油烯	C ₁₀ H ₁₆	136	1.982	1.405	连翘
12	17.45	萜品油烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.520	0.370	连翘
13	20.41	(-)-反式-松香醇	C ₁₀ H ₁₆ O	152	1.206	0.347	连翘
14	21.38	薄荷酮	C ₁₀ H ₁₈ O	154	4.536	4.283	荆芥、薄荷
15	21.95	异薄荷酮	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.096	0.784	荆芥、薄荷
16	22.59	薄荷醇	C ₁₀ H ₂₀ O	156	8.696	5.513	荆芥、薄荷
17	22.78	4-萜烯醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	7.763	2.744	连翘
18	23.48	α-松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.191	0.497	连翘、薄荷
19	23.78	(-)-桃金娘烯醇	C ₁₀ H ₁₆ O	152	1.663	0.489	连翘
20	26.08	(<i>R</i>)-(+)-胡薄荷酮	C ₁₀ H ₁₆ O	152	4.496	3.134	荆芥、薄荷
21	26.32	(+)-香芹酮	C ₁₀ H ₁₄ O	150	2.045	1.425	荆芥、薄荷
22	26.83	胡椒酮	C ₁₀ H ₁₆ O	152	2.306	1.684	荆芥、薄荷
23	28.93	萆烷	C ₁₀ H ₁₈	138	0.685	0.591	薄荷
24	29.99	反式-2,4-癸二烯醛	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.715	0.302	薄荷
25	32.34	4-乙酰基-1-甲基-环己烯	C ₉ H ₁₄ O	138	1.667	1.252	薄荷
26	37.05	对氯苯硫酚	C ₆ H ₅ ClS	143	0.674	0.658	薄荷
27	41.19	3-甲基二苯醚	C ₁₃ H ₁₂ O	184	0.762	0.664	薄荷

果表明, α-蒎烯、(-)-β-蒎烯、月桂烯、对伞花烃、(*R*)-(+)-柠檬烯、γ-松油烯、薄荷酮、薄荷醇、4-萜烯醇、(*R*)-(+)-胡薄荷酮、(+)-香芹酮、胡椒酮分别在 8.5~136.0、40.415~646.640、0.915~14.640、0.665~10.640、1.75~28.00、0.54~8.64、2.04~32.64、4.29~68.64、3.75~60.00、1.625~26.000、0.75~12.00、0.54~8.64 ng 线性关系良好。

2.6.3 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 1 μL, 重复进样 6 次, 测定峰面积积分值, 结果 α-蒎烯、(-)-β-蒎烯、月桂烯、对伞花烃、(*R*)-(+)-柠檬烯、γ-松油烯、薄荷酮、薄荷醇、4-萜烯醇、(*R*)-(+)-胡薄荷酮、(+)-香芹酮、胡椒酮的 RSD 分别为 1.22%、1.04%、1.28%、1.75%、1.60%、1.27%、1.74%、2.99%、

0.70%、2.46%、2.11%、2.12%, 表明仪器的精密度良好。

2.6.4 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 1 μL, 分别于 0、4、8、12、16、20、24 h 重复进样, 测定峰面积, 结果 α-蒎烯、(-)-β-蒎烯、月桂烯、对伞花烃、(*R*)-(+)-柠檬烯、γ-松油烯、薄荷酮、薄荷醇、4-萜烯醇、(*R*)-(+)-胡薄荷酮、(+)-香芹酮、胡椒酮的 RSD 分别为 1.48%、1.78%、1.73%、1.57%、1.72%、1.71%、1.76%、2.45%、1.47%、1.94%、2.22%、1.89%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6.5 重复性试验 取同一银翘散蒸馏液的乙醚萃取液, 精密吸取 1 μL, 注入气相色谱仪, 测得 α-蒎烯、(-)-β-蒎烯、月桂烯、对伞花烃、(*R*)-(+)-柠檬烯、

γ -松油烯、薄荷酮、薄荷醇、4-萜烯醇、(R)-(+)-胡薄荷酮、(+)-香芹酮、胡椒酮的平均质量浓度为 3.3、10.5、0.4、0.2、0.6、0.2、1.1、1.7、0.9、0.8、0.2、0.3 mg/mL, RSD 分别为 0.74%、1.48%、1.00%、0.74%、0.72%、0.70%、0.65%、0.87%、0.78%、0.69%、0.70%、0.65%, 表明方法的重复性良好。

2.6.6 加样回收率试验 取同一份已测定的银翘散蒸馏液的乙醚萃取液 6 份, 按照样品中相应成分量的 100%精密加入 α -蒎烯、(-)- β -蒎烯、月桂烯、对伞花烃、(R)-(+)-柠檬烯、 γ -松油烯、薄荷酮、薄荷醇、4-萜烯醇、(R)-(+)-胡薄荷酮、(+)-香芹酮、胡椒酮对照品溶液, 混匀, 按“2.4”项下方法制备供试品溶液, 进样 1 μ L, 测定峰面积, 计算回收率, α -蒎烯、(-)- β -蒎烯、月桂烯、对伞花烃、(R)-(+)-柠檬烯、 γ -松油烯、薄荷酮、薄荷醇、4-萜烯醇、(R)-(+)-胡薄荷酮、(+)-香芹酮、胡椒酮的平均回收率分别为 98.91%、90.05%、109.72%、99.42%、106.75%、94.48%、104.65%、94.97%、113.13%、102.81%、119.47%、101.37%, RSD 分别为 2.00%、2.32%、2.48%、2.44%、2.19%、2.36%、1.24%、0.80%、2.77%、2.56%、2.18%、1.67%, 结果表明加样回收率良好, 方法可行。

2.6.7 检测限及定量限 精密吸取“2.3”项下混合对照品溶液适量, 不断稀释, 按“2.1.1”项下条件进样分析, 以信噪比 (S/N) > 3 作为检测限, S/N > 10 作为定量限, 得 α -蒎烯、(-)- β -蒎烯、月桂烯、

对伞花烃、(R)-(+)-柠檬烯、 γ -松油烯、薄荷酮、薄荷醇、4-萜烯醇、(R)-(+)-胡薄荷酮、(+)-香芹酮、胡椒酮的检测限分别为 0.058、0.059、0.064、0.026、0.044、0.023、0.061、0.081、0.084、0.070、0.045、0.059 μ g/mL; 定量限分别为 0.290、0.294、0.321、0.129、0.222、0.116、0.306、0.403、0.417、0.350、0.225、0.293 μ g/mL。

2.6.8 不同煎煮时间段银翘散煮散与饮片蒸馏液的乙醚萃取液定量测定 取不同煎煮时间段所得银翘散煮散与饮片蒸馏液样品, 按“2.4”项下方法制备供试品溶液, 以“2.1”项下色谱条件进行测定, 每份进样 2 次, 以外标一点法计算样品中 α -蒎烯、(-)- β -蒎烯、月桂烯、对伞花烃、(R)-(+)-柠檬烯、 γ -松油烯、薄荷酮、薄荷醇、4-萜烯醇、(R)-(+)-胡薄荷酮、(+)-香芹酮、胡椒酮的平均质量浓度, 结果见表 2、3。

2.7 不同煎煮时间段银翘散煮散与饮片 12 种挥发性成分的平均蒸发速度

根据公式 $R_{AE} = 5C/t$ (R_{AE} 表示平均蒸发速度 mg/min, C 表示乙醚萃取液中的质量浓度 mg/mL, t 表示收集时长 min), 计算银翘散煮散与饮片 12 种挥发性成分的平均蒸发速度, 结果见图 2。由图 2 可见, 随着煎煮时间的延长, 煮散蒸馏液中, 12 种成分的平均蒸发速度均先增加后减少, 均在煮沸 0~10 min 达到最大值, 分别为 7.28、13.21、1.06、0.48、1.49、0.42、2.08、2.27、1.76、0.79、0.16、0.20 mg/min; 饮片蒸馏液中, α -蒎烯、(-)- β -蒎烯、月桂烯、对伞

表 2 不同煎煮时间段银翘散煮散蒸馏液的乙醚萃取液中 12 种挥发性成分的质量浓度 ($n = 3$)

Table 2 Contents of 12 volatile components in ether extract solution of Yinqiao powder distillate in different decoction periods ($n = 3$)

编号	质量浓度/(mg·mL ⁻¹)											
	α -蒎烯	(-)- β -蒎烯	月桂烯	对伞花烃	(R)-(+)-柠檬烯	γ -松油烯	薄荷酮	薄荷醇	4-萜烯醇	(R)-(+)-胡薄荷酮	(+)-香芹酮	胡椒酮
SZ1	7.28	6.88	1.06	0.48	1.49	0.42	2.08	2.02	1.57	0.69	0.14	0.18
SZ2	3.88	13.21	0.46	0.24	0.76	0.25	1.93	2.27	1.76	0.79	0.16	0.20
SZ3	2.19	8.16	0.21	0.11	0.37	0.14	1.12	1.52	1.31	0.56	0.12	0.15
SZ4	2.03	7.39	0.19	0.10	0.33	0.13	0.98	1.48	1.32	0.56	0.13	0.15
SZ5	1.42	5.38	0.12	0.06	0.22	0.09	0.64	1.10	1.04	0.43	0.11	0.13
SZ6	1.08	3.32	0.09	0.05	0.16	0.07	0.45	0.86	0.83	0.34	0.09	0.11
SZ7	1.86	6.46	0.17	0.08	0.29	0.13	0.73	1.66	1.60	0.69	0.19	0.23
SZ8	1.32	4.56	0.11	0.05	0.20	0.10	0.42	1.13	1.15	0.50	0.16	0.19
SZ9	1.00	2.93	0.08	0.04	0.14	0.07	0.28	0.84	0.88	0.39	0.14	0.16
SZ10	1.55	4.89	0.14	0.06	0.24	0.13	0.39	1.33	1.34	0.64	0.25	0.30
SZ11	0.85	2.40	0.07	0.03	0.12	0.07	0.19	0.66	0.70	0.35	0.16	0.20
SZ12	0.58	1.68	0.05	0.02	0.09	0.05	0.13	0.45	0.47	0.26	0.14	0.17

表3 不同煎煮时间段银翘散饮片蒸馏液的乙醚萃取液中12种挥发性成分的质量浓度 (n=3)

Table 3 Contents of twelve volatile components in ether extract solution of Yinqiao pieces distillate in different decoction periods (n=3)

编号	质量浓度/(mg·mL ⁻¹)											
	α-蒎烯	(-)-β-蒎烯	月桂烯	对伞花烃	(R)-(+)-柠檬烯	γ-松油烯	薄荷酮	薄荷醇	4-萜烯醇	(R)-(+)-胡薄荷酮	(+)-香芹酮	胡椒酮
YZ1	0.07	0.26	-	0.01	0.04	0.01	1.30	2.21	0.42	0.92	0.26	0.37
YZ2	0.50	0.13	0.04	0.04	0.05	0.02	1.28	1.81	0.32	0.64	0.15	0.20
YZ3	0.71	1.80	0.06	0.04	0.17	0.02	0.83	1.21	0.25	0.43	0.10	0.12
YZ4	0.99	2.39	0.08	0.05	0.19	0.03	0.60	0.89	0.23	0.34	0.08	0.10
YZ5	1.35	4.50	0.11	0.06	0.22	0.04	0.55	0.84	0.27	0.34	0.08	0.10
YZ6	1.38	4.58	0.11	0.06	0.21	0.04	0.44	0.66	0.27	0.28	0.07	0.09
YZ7	2.00	6.33	0.17	0.09	0.29	0.07	0.51	0.77	0.42	0.35	0.10	0.13
YZ8	1.59	5.02	0.12	0.06	0.20	0.05	0.46	0.61	0.52	0.32	0.10	0.13
YZ9	2.38	7.20	0.21	0.09	0.31	0.10	0.34	0.54	0.63	0.29	0.11	0.13
YZ10	3.17	9.14	0.31	0.13	0.43	0.15	0.37	0.62	0.99	0.34	0.14	0.17
YZ11	3.33	9.39	0.32	0.13	0.44	0.17	0.27	0.45	1.13	0.26	0.12	0.14
YZ12	2.62	7.35	0.23	0.09	0.31	0.13	0.15	0.25	0.92	0.15	0.07	0.09

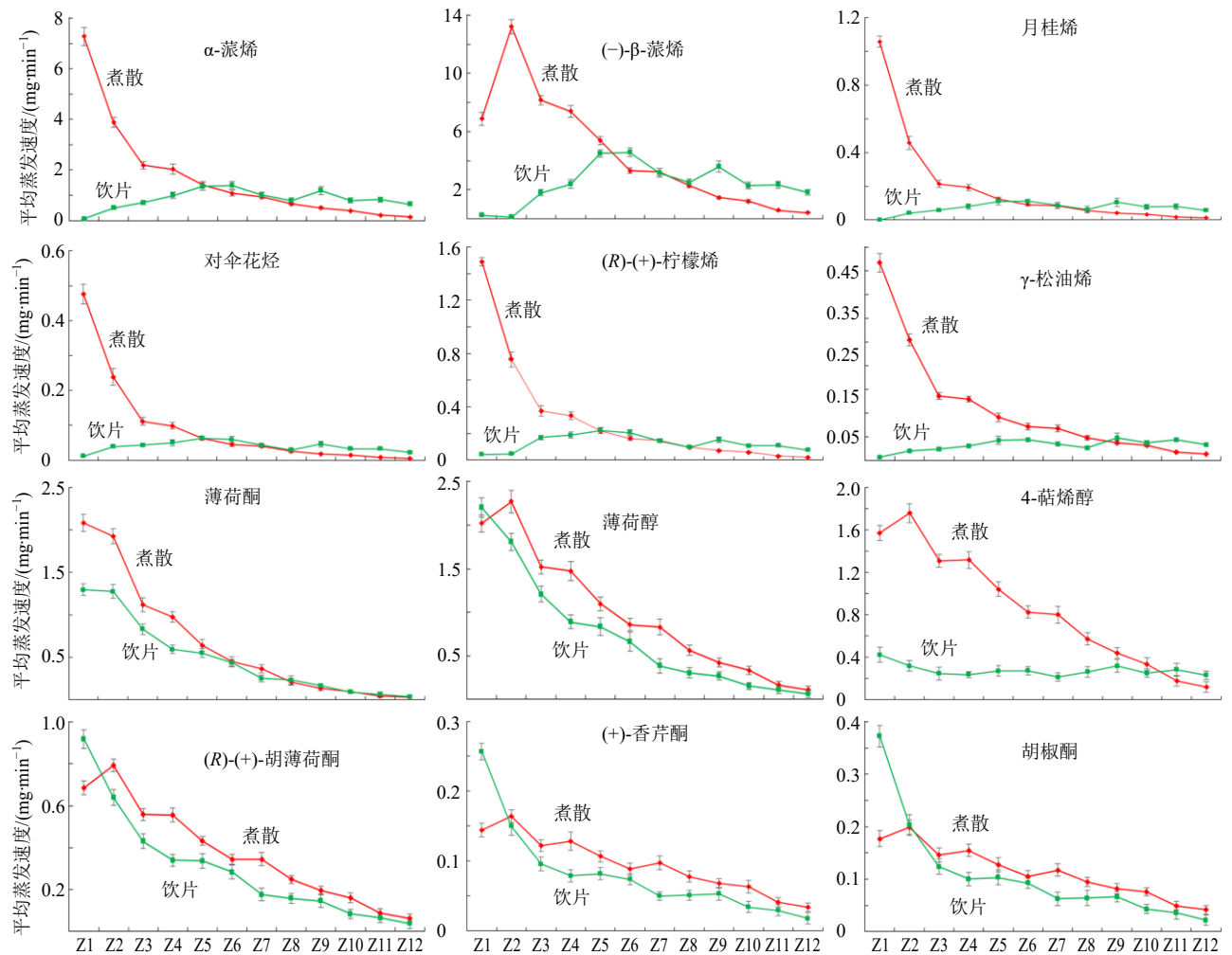


图2 银翘散煮散与饮片12种挥发性成分的平均蒸发速度随煎煮时间动态变化图

Fig. 2 Dynamic changes of average evaporation rates of 12 volatile components in Yinqiao powder and Yinqiao pieces with extension of decoction time

花烃、(R)-(+)-柠檬烯、 γ -松油烯的平均蒸发速度先增加后趋于平缓,在25~30 min达到最大值,分别为1.38、4.58、0.11、0.06、0.21、0.04 mg/min,其余6种成分则先增加后减少,在0~5 min达到最大值,分别为1.30、2.21、0.42、0.92、0.26、0.37 mg/min。结果表明,煎煮时间与药材粒度对银翘散挥发性成分蒸发速度影响较大。

可见,不同煎煮时间银翘散煮散与饮片挥发性成分的蒸发速度不同,相比于饮片蒸馏,煮散蒸馏液挥发性成分蒸发速度更快且浓度更大,煮沸约5 min时,有6种挥发性成分的平均蒸发速度最大,煮沸5~10 min时,其余6种挥发性成分的平均蒸发速度最大,此时“香气”大出,煮沸15 min后,12种挥发性成分蒸发速度明显减小,再继续煎煮,挥发性成分大量蒸发散失,提示银翘散“香气大出即取服”传统煎煮方法具有一定的科学依据,但以饮片煎煮的银翘散类方制剂挥发性成分的蒸发规律与煮散具有一定差异性。

3 讨论

中药煮散是将中药材、中药饮片等粉碎成一定粒度后与水共煎,去渣取汁而成的中药液体制剂^[21-22]。它与中药汤剂一样都是中药的传统用药形式,具有悠久的历史和丰富的内涵,其煎煮规律研究对于中药质量研究、新药研发、中医临床合理用药、中药配方颗粒的应用都有重要现实意义^[23]。其使用方便、节约药材与能源、安全有效,是对中药汤剂剂型研究的再深入,既保持了传统汤剂的特色优势,又提高了煎煮效率而优于汤剂,以此优势应用于临床,历经千年,虽经起起伏伏,但源远流长^[24-25]。在目前医药资源匮乏、药价上涨明显、厉行节能减排的情况下,推广使用中药煮散对现代经济和社会效益都意义重大。

银翘散中挥发性成分主要来自薄荷、荆芥、连翘、金银花等含挥发性成分的药材,煎煮时有效成分易挥发,故不宜久煎。而银翘散原方为煮散剂,与药材饮片比,扩散面大、扩散距离较短,有利于药效物质溶出,既可以缩短煎煮时间又能较好的保留挥发性成分,从而提高药材的利用率和临床疗效^[5]。本研究结果显示,银翘散煮散中12种挥发性成分的平均蒸发速度更快,随着煎煮时间的延长蒸发的越多,煮沸5 min时,12种挥发性成分蒸发速度最大,香气最浓,即“香气大出”,继续煎煮,挥发性成分大量散失,煮沸15 min时,煮散中12种挥发

性成分的蒸发速度降至最大蒸发速度的18%~78%,饮片中12种挥发性成分的蒸发速度降至最大蒸发速度的27%~84%,香气变淡,挥发性成分大量蒸发散失。结果表明,银翘散煮散可以缩短时间,避免挥发性成分长时间煎煮可能带来的散失。

银翘散被后世医家称为“温病第一方”,用于外感风热表证或温病初起、邪在卫分。其中薄荷、荆芥主要成分为挥发油,含有大量“香气”,连翘、金银花含有少量“香气”,其余药味基本不含“香气”,含有大量非“香气”成分。有研究表明挥发油在一些药理方面具有很大相似性,可能是解表药发汗解表的主要物质基础之一^[26]。可见,“香气”成分是银翘散临床治疗作用的药效物质之一,同时也是判断其煎煮终点的指示性成分。而石钺等^[27]研究发现非“香气”成分可能是银翘散清热解毒的药效物质之一,故银翘散疏风解表、清热解毒作用由“香气”成分与非“香气”成分共同发挥^[13]。本课题组前期研究结果表明,煮沸5 min时,银翘散煮散水煎液中17种非挥发性指标成分浓度即可达到较大值^[28]。本研究结果也证实了当煮散煮沸约5 min时,挥发性成分的蒸发速度也较大,根据菲克扩散理论,此时水煎液中“香气”也应最浓,若继续煎煮,虽银翘散饮片水煎液中某些非挥发性指标成分浓度可能会略微增加,但挥发性有效成分必将大量散失,导致疗效降低,故银翘散“香气大出”传统煎煮方法具有一定的科学依据。此外,本研究发现银翘散以煮散和饮片煎煮时,蒸馏液中的挥发性成分变化规律具有一定的差异,银翘散类方现代中药制剂的提取、浓缩、干燥、成型等工艺过程应同时兼顾挥发性成分和非挥发性成分,才能达到甚至超越原方煮散的临床疗效。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王云英.《伤寒论》药物煎煮法初探[J].陕西中医,1981,2(2):25-27.
- [2] 李雯,汪东东.《伤寒论》药物煎煮浅析[J].中医药临床杂志,2017,29(6):782-783.
- [3] 刘月,罗云,谭婷,等.《伤寒论》和《温病条辨》中汤剂煎煮终点的判断[J].中草药,2020,51(24):6405-6413.
- [4] 李祥林,潘卫峰,范瑞娟,等.解表剂煎煮时间之我见[J].山西中医,2012,28(1):53.
- [5] 赵海平,廖正根,朱根华,等.银翘散类方中成药系统性再评价的探讨[J].中华中医药杂志,2012,27(11):

- 2779-2781.
- [6] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 1627.
- [7] 陈健, 张越, 崔小兵, 等. 基于多成分质量控制的温经汤制备工艺研究 [J]. 中草药, 2021, 52(2): 404-412.
- [8] 丁敬远. 关于中药的煎煮时间 [J]. 中医杂志, 2004, 45(7): 557.
- [9] 杨明, 张婧, 宋民宪, 等. 银翘散原方改剂问题的分析及建议 [J]. 中成药, 2012, 34(8): 1621-1624.
- [10] 林林, 于凤蕊, 徐丽华, 等. GC 测定女金丸中 7 种挥发性成分的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(24): 73-77.
- [11] 常雅晴, 薛紫鲸, 杨贵雅, 等. 基于 GC-MS 和化学计量学的不同采收期祁艾挥发油成分动态变化研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(10): 2417-2424.
- [12] 刘晓梅, 张存艳, 刘红梅, 等. 基于电子鼻和 HS-GC-MS 研究地龙腥味物质基础和炮制矫味原理 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(12): 154-161.
- [13] 罗云, 杨明, 蔡瑛, 等. 从挥发性成分的动态变化规律探索银翘散“香气大出即取服”的科学内涵 [J]. 中草药, 2016, 47(15): 2650-2655.
- [14] 罗云, 杨明, 李舒宇, 等. 基于水煎液中挥发性成分含量变化规律探索银翘散“香气大出即取服”的科学内涵 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(18): 3349-3354.
- [15] 封燮, 石欢, 杨贵雅, 等. 基于 GC-MS 与化学计量学的不同采收时期连翘挥发油类成分动态变化研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(1): 54-61.
- [16] 张浅, 朱华旭, 唐志书, 等. 基于蒸气渗透膜技术的中药连翘含油水体中挥发油分离工艺研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(8): 1642-1648.
- [17] 朱梅芳, 唐宇, 郑琴, 等. 不同提取方式对连翘、荆芥、薄荷挥发油成分及抗菌活性的影响 [J]. 中草药, 2018, 49(12): 2845-2854.
- [18] 段松冷, 曾蔚欣, 孙路路. 薄荷-荆芥穗药对挥发油成分的 GC-MS 分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(11): 50-54.
- [19] 周莹, 黄丽瑾, 赵永娟, 等. 花期荆芥在盐胁迫下离子吸收、分布和挥发油成分的变化 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(22): 4410-4418.
- [20] 李海英, 樊启猛, 贺玉婷, 等. 金银花、山银花动态挥发性成分的质量控制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(22): 148-155.
- [21] 章霞, 朱向东. 《备急千金要方》煮散之初探 [J]. 中医药临床杂志, 2017, 29(1): 49-51.
- [22] 仝小林, 张家成, 穆兰澄, 等. 恢复煮散 节省药材 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21(5): 470-474.
- [23] 乔三洋, 王学勇, 李耿, 等. 基于化学全息研究四物汤煎煮溶出规律 [J]. 中草药, 2020, 51(19): 4960-4971.
- [24] 俱蓉, 李响, 朱向东, 等. 中药煮散的历史沿革、制备工艺及药效学研究进展 [J]. 中国药房, 2020, 31(23): 2924-2927.
- [25] 马开, 张迪文, 屠万倩, 等. 基于多成分含量和多元统计分析的益艾康胶囊水提取工艺研究 [J]. 中草药, 2020, 51(8): 2162-2169.
- [26] 黄明进, 郭刚, 徐立军, 等. 解表药药性与挥发油成分相关性研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(2): 101-103.
- [27] 石钺, 石任兵. 银翘散抗流感病毒有效部位各组分变化及归属分析 [J]. 药学学报, 2007, 42(2): 192-196.
- [28] 刘月, 罗娟, 顾永哲, 等. 基于多主要成分含量测定的银翘散煮散与饮片煎煮过程比较研究 [J/OL]. 中国中药杂志, 1-13 [2021-10-09]. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20210913.302>.

[责任编辑 郑礼胜]