

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.01.011

经典名方苓桂术甘汤中挥发油提取工艺优选*

彭安堂¹, 李佳佳², 魏艳婷², 张涛¹, 戴影¹, 李晓霞¹, 李建彪¹, 李春花^{3△}

(1. 河北省石家庄市中医院, 河北 石家庄 050000; 2. 河北省石家庄市第四医院, 河北 石家庄 050011; 3. 河北中医学院·河北省高校中药组方制剂应用技术研发中心, 河北 石家庄 050200)

摘要:目的 比较经典名方苓桂术甘汤中白术和桂枝混合挥发油的两种提取方法, 优选其挥发油的提取工艺。方法 分别采用提取-共沸精馏耦合(WER)法和水蒸气蒸馏(SD)法提取白术和桂枝混合挥发油, 采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法对提取物进行分析, 比较其差异。结果 WER法挥发油得率为每100g生药0.51mL, SD法挥发油得率为每100g生药0.98mL。两种方法共分析得到17个化合物, WER法分析鉴定了15个化合物, 主要为醛类物质(43.59%); SD法分析鉴定了11个化合物, 主要为酮类物质(59.31%)。结论 WER法提取的挥发油纯度、化合物成分含量均高于SD法, 更适合经典名方苓桂术甘汤中白术和桂枝混合挥发油的提取。

关键词:经典名方; 苓桂术甘汤; 挥发油; 提取-共沸精馏耦合; 水蒸气蒸馏法; 气相色谱-质谱联用法; 提取工艺

中图分类号: R932; R283

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)01-0041-04

Comparison of Different Extraction Processes of Volatile Oil in the Classical Prescription of Linguijuzhuan Decoction

PENG Antang¹, LI Jijia², WEI Yanting², ZHANG Tao¹, DAI Ying¹, LI Xiaoxia¹, LI Jianbiao¹, LI Chunhua³

(1. The Traditional Chinese Medicine Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang, Hebei, China 050000; 2. Shijiazhuang Fourth Hospital, Shijiazhuang,

*基金项目: 河北省科技厅重点研发计划项目[19272502D]; 河北省中医药管理局科研计划项目[2019403]; 2019年全国中药特色技术传承人培训项目[国中医药人教函[2019]43号]; 第五批河北省老中医药专家学术经验继承项目[冀中医药[2017]49号]。

第一作者: 彭安堂, 男, 硕士研究生, 副主任药师, 研究方向为中药制剂, (电子信箱)578101668@qq.com。

△通信作者: 李春花, 女, 硕士研究生, 教授, 研究方向为中药制剂新技术与新剂型, (电子信箱)13803369966@163.com。

科学出版社, 1990: 80.

[2] MANOJ KC, SANJAYA KDS, LOKESH T, et al. Investigation of *in vitro* antioxidant activity of *Mesua ferrea* L. Seed oil[J]. Indian Journal of Pharmaceutical Science & Research, 2012, 3(11): 4260-4263.

[3] MURTHUZA S, MANJUNATHA BK. *In vitro* and *in vivo* evaluation of anti-inflammatory potency of *Mesua ferrea*, *Saraca asoca*, *Viscum album* & *Anthocephalus cadamba* in murine macrophages raw 264.7 cell lines and Wistar albino rats[J]. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, 2018, 7(4): 719-723.

[4] GOPALAKRISHNAN C, SHANKARANARAYANAN D, NAZ-IMUDEEN, et al. Anti-inflammatory and C. N. S. depressant activities of xanthenes from 189 *Calophyllum inophyllum* and *Mesua ferrea* [J]. Indian Journal of Pharmacology, 1980, 12(3): 181-191.

[5] ASIF M, SHAFAEI A, MAJID ASA, et al. *Mesua ferrea* stem bark extract induces apoptosis and inhibits metastasis in human colorectal carcinoma HCT 116 cells, through modulation of multiple cell signalling pathways[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2017, 15(7): 505-514.

[6] ASIFA M, YEHYAB AHS, DAHAM SS, et al. Establishment of *in vitro* and *in vivo* anti-colon cancer efficacy of essential oils containing oleo-gum resin extract of *Mesua ferrea* [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 109: 1620-1629.

[7] 国家中医药管理局, 《中华本草》编委会. 中华本草(维吾尔药卷)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005: 101-125.

[8] MAZUMDER R, DASTIDAR SG, BASU SP, et al. Antibacterial Potentiality of *Mesua ferrea* Linn. Flowers[J]. Phytother Res, 2004, 18: 824-826.

[9] 艾力克木·吐尔逊, 热娜·卡斯木, 王金辉, 等. 铁力木的生物学特征及其不同萃取部位抗血小板聚集作用研究[J]. 新疆医科大学学报, 2014, 37(6): 678-681.

[10] PLENGSURIYAKARN T, VIYANANT V, EUSITTHICHAI V, et al. Anticancer activities against cholangiocarcinoma, toxicity and pharmacological activities of Thai medicinal plants in animal models[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2012, 12: 23.

[11] 张亚梅, 钟国跃, 杜小浪, 等. 铁力木花蕾的化学成分研究[J]. 中药材, 2017, 40(11): 2579-2582.

[12] SHOME U, MEHROTRA S, SHARMA HP. Pharmacognostic studies on the flower of *Mesua ferrea* L. [J]. Plant Sciences, 1982, 91(3): 211-226.

[13] SAHU AN, HEMALATHA S, SAIRAM K. Quality control studies of *Mesua ferrea* Linn. flowers[J]. International Journal of Herbal Medicine, 2013, 1(2): 124-130.

[14] MYINT KZW, KIDO T, KUSAKARI K, et al. Rhusflavanone and mesuaferrone B: tyrosinase and elastase inhibitory biflavonoids extracted from the stamens of *Mesua ferrea* L. [J]. Nat Prod Res, 2019, 33: 1-5.

[15] 王晓梅, 王新玲, 古力扎尔·艾尼瓦尔, 等. 铁力木不同极性部位中总黄酮的含量测定[J]. 中医药导报, 2016, 22(22): 47-48.

[16] 王晓梅, 胡君萍, 李芸, 等. 铁力木多酚的提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(12): 2884-2887.

(收稿日期: 2020-05-29; 修回日期: 2020-08-08)

Hebei, China 050011; 3. Hebei Higher Education Institute Applied Technology Research Center on TCM Formula Preparation · Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang, Hebei, China 050200)

Abstract: Objective To compare the two extraction methods by the analysis of the volatile oil extracted from *Atractylodes Macrocephalae Rhizoma* and *Cinnamomi Ramulus* in the classical prescription of Lingguizhugan Decoction, and to optimize the extraction process. **Methods** The volatile oils of *Atractylodes Macrocephalae Rhizoma* and *Cinnamomi Ramulus* were extracted by water extraction coupling rectification(WER) method, and steam distillation(SD) method respectively. The volatile oil was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS), and the differences were compared. **Results** The yield of volatile oil extracted by WER method was 0.51 mL/100 g, and that of volatile oil extracted by SD method was 0.98 mL/100 g. A total of 17 compounds were identified by the two methods. A total of 15 compounds were identified by WER method and mainly were aldehydes (43.59%). A total of 11 compounds were identified by SD method and mainly were ketones(59.31%). **Conclusion** The purity of volatile oil and compound content in the volatile oil extracted by WER method were higher than that extracted by SD method. WER method is more suitable for the extraction of volatile oil from *Atractylodes Macrocephalae Rhizoma* and *Cinnamomi Ramulus* in Lingguizhugan Decoction.

Key words: classical prescription; Lingguizhugan Decoction; volatile oil; water extraction coupling rectification; steam distillation; GC-MS; extraction process

苓桂术甘汤是国家中医药管理局《古代经典名方目录(第一批)》中的第19个方剂,源自医圣张仲景《金匮要略》:“心下有痰饮,胸胁支满,目眩,苓桂术甘汤主之”“夫短气有微饮,当从小便去之,苓桂术甘汤主之”。方剂组成“茯苓四两,桂枝三两、白术三两,甘草二两。”“上四味,以水六升,煮取三升,分温三服,小便则利”^[1]。方中茯苓为君药,既淡渗利水、消已成之饮,又渗湿健脾、杜生痰之源;桂枝为臣药,温阳化气;佐以白术健脾燥湿;甘草佐使调和诸药^[2]。方中桂枝和白术的主要有效成分是挥发油类,且为经典药对,二者混合蒸馏提取更接近于传统汤剂的用法^[3]。目前,挥发油的提取方法主要是水蒸气蒸馏(SD)法^[4],提取-共沸精馏耦合(WER)法^[5]是在SD法基础上的改进方法。本研究中在前期研究^[6-10]基础上,分别使用SD法和WER法提取白术、桂枝混合挥发油,利用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法分析所提挥发油,通过美国国家标准与技术研究院(NIST)质谱库检索,鉴定其主要化学成分,使用离子流色谱峰面积归一化法计算各成分的百分含量,为经典名方苓桂术甘汤进一步的研究开发提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent GC-MS 5977 型气质联用仪(美国安捷伦科技公司),配备有SPH-300A氢气发生器、SPB-3全自动空气源(均购自北京中惠普分析技术研究所);YP2002型电子天平(上海津平科学仪器有限公司,精度为10 mg);98-1-B型电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);HCP-1000A型华晨高速多功能粉碎机(浙江省永康市金穗机械制造有限公司);挥发油提取器,精馏柱。

1.2 试剂

桂枝、白术均购于石家庄乐仁堂药房,经河北中医学院侯芳洁副教授鉴定为樟科植物肉桂 *Cinnamomum*

cassia Presl. 的干燥嫩枝和菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎;甲醇(色谱纯,天津市大茂化学试剂厂)。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取^[11]

WER法:称取桂枝100 g,白术最粗粉100 g,精密称定,置5 000 mL烧瓶,加入2 000 mL纯水,浸泡3 h,连接提取-共沸精馏耦合装置,提取6 h,收集得到挥发油。平行试验3次,观察挥发油性状较为澄清,3次平行试验挥发油得率分别为每100 g生药0.45,0.52,0.55 mL,平均值为每100 g生药0.51 mL。

SD^[12]法:取桂枝100 g,白术最粗粉100 g,精密称定,置5 000 mL烧瓶,加入2 000 mL纯水,浸泡3 h,连接挥发油提取装置,提取6 h,收集得到挥发油。平行试验3次,观察挥发油性状较浑浊,3次平行试验挥发油得率分别为每100 g生药1.02,0.98,0.95 mL,平均值每100 g生药为0.98 mL。

2.2 GC-MS法鉴定主要化学成分^[13-14]

2.2.1 溶液制备

取2.1项下所得挥发油,精密量取1 mL,置25 mL容量瓶,加甲醇溶解至刻度,取适量,经0.22 μm微孔滤膜过滤,即得供试品溶液。

2.2.2 GC-MS条件

色谱条件:色谱柱为Agilent 19091S-433 VIHP-5 MS毛细管色谱柱(30.0 m × 250 μm, 0.25 μm),柱流量为1.0 mL/min;进样口温度为280 ℃;检测器温度为290 ℃;载气为N₂;进样量为1 μL;分流比为50:1;程序升温:90 ℃,保持5 min,以3 ℃/min升至200 ℃,保持7 min,后升至300 ℃,运行2 min。

质谱条件:电离方式为电子电离(EI);电子轰击能量为70 eV;离子源温度为230 ℃;加速电压为34.6 V;分辨率为2 500;倍增器电压为1 388 V;四极杆温度为

150℃;扫描范围 m/z 为 50~500;扫描数为 4.45 次/秒。

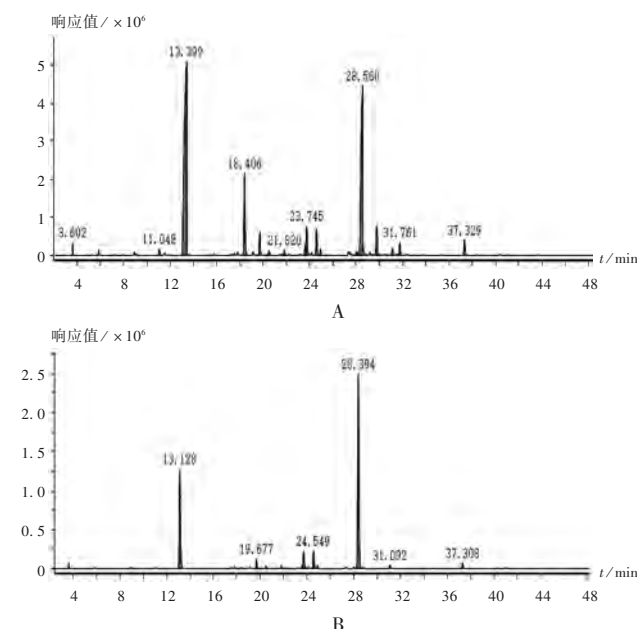
2.3.3 鉴定结果

GC-MS 总离子图见图 1。经 NIST MS Search 2.3 质谱计算机数据系统检索、CAS 号查询及文献检索确定各个成分,采用面积归一化法测定样品各组分的相对质量分数。结果见表 1。

2.4 白术和桂枝挥发油的化学成分分析

WER 法:由图 1 和表 1 可知,3.602 min 出峰,13.399 min 时出现最高峰,37.329 min 时出峰结束,共分离出 17 种化合物,鉴定出 15 种,并通过峰面积归一法确定了各组分含量。其中,含量大于 1% 的主要物质为反式肉桂醛(41.45%)、苍术酮(28.73%)、香附烯酮(2.81%)、1*E*,4*E*-大根香叶烯 B(2.54%)、 γ -榄香烯(2.13%)、反式缬草酸酯(1.54%)、 α -香附酮(1.32%)。WER 法提取的挥发性成分主要分为醛、酮、烯、酯类,其中醛类化合物 4 种,占总物质的 43.59%,以反式肉桂醛为主;酮类化合物 4 种,占总物质的 33.57%,以苍术酮为主;烯类化合物 5 种,占总物质的 6.25%;酯类化合物 1 种,占总物质的 1.54%。WER 法提取所得的挥发油中肉桂醛挥发油含量最高,苍术酮次之。

SD 法:由图 1 和表 1 可知,13.128 min 出峰,28.394 min 时出现最高峰,37.308 min 时出峰结束,共分离出 11 种化合物并同时鉴定,含量大于 1% 的主要物质为苍术酮(56.78%)、肉桂醛(26.54%)、1*E*,4*E*-



A. 提取-共沸精馏耦合法 B. 水蒸气蒸馏法

图 1 白术和桂枝挥发油总离子流图

A. WER method B. SD method

Fig.1 Total ion chromatograms of volatile oil extracted from *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* and *Cinnamomi Ramulus*

大根香叶烯 B(4.44%)、 γ -榄香烯(2.27%)、反式缬草酸酯(1.46%)、(4*ar*,5*s*)-4*a*,5-二甲基-3-丙-2-亚基-5,6,7,8-四氢-4*h*-萜-2-酮(1.07%)。其中,酮类化合物 2 种,占总物质的 57.85%;醛类化合物

表 1 提取-共沸精馏耦合法和水蒸气蒸馏法提取的白术和桂枝挥发油成分分析

Table 1 Analysis of volatile oil extracted by WER method and SD method in *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* and *Cinnamomi Ramulus*

序号	保留时间 (min)	化合物	分子式	峰面积占总峰面积比例(%)	
				WER 法	SD 法
1	3.602	benzaldehyde 苯甲醛	C ₇ H ₆ O	0.54	-
2	11.048	(<i>Z</i>)-3-phenylacrylaldehyde (<i>Z</i>)-3-苯基丙烯醛	C ₉ H ₈ O	0.61	-
3	13.399	cinnamaldehyde, (<i>E</i>)/cinnamaldehyde 反式肉桂醛/肉桂醛	C ₉ H ₈ O	41.45	26.54
4	18.406	-	-	8.05	-
5	19.703	γ -elemene γ -榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	2.13	2.27
6	20.502	humulene α -石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	0.49	0.71
7	21.82	(+)- β -selinene (+)- β -蒎烯	C ₁₅ H ₂₄	0.52	0.72
8	23.636	(<i>Z</i>)-2-methoxycinnamaldehyde (<i>Z</i>)-2-甲氧基肉桂醛	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	0.99	0.91
9	23.745	(4 <i>aR</i> ,8 <i>aS</i>)-4 <i>a</i> -methyl-1-methylene-7-(propan-2-ylidene)decahydronaphthalene (4 <i>aR</i> ,8 <i>aS</i>)-4 <i>a</i> -甲基-1-亚甲基-7-(丙-2-亚基)十氢萜	C ₁₅ H ₂₄	2.74	4.34
10	24.596	(1 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)-germacrene B 1 <i>E</i> ,4 <i>E</i> -大根香叶烯 B	C ₁₅ H ₂₄	2.54	4.44
11	24.912	β -vatiene β -缬草烯	C ₁₅ H ₂₂	0.57	0.78
12	28.046	-	-	0.57	-
13	28.560	atractylon 苍术酮	C ₁₅ H ₂₀ O	28.73	56.78
14	29.769	cyperotundone 香附烯酮	C ₁₅ H ₂₂ O	2.81	-
15	31.118	(4 <i>aR</i> ,5 <i>S</i>)-4 <i>a</i> ,5-dimethyl-3-propan-2-ylidene-5,6,7,8-tetrahydro-4 <i>H</i> -naphthalen-2-one (4 <i>aR</i> ,5 <i>S</i>)-4 <i>a</i> ,5-二甲基-3-丙-2-亚基-5,6,7,8-四氢-4 <i>h</i> -萜-2-酮	C ₁₅ H ₂₂ O	0.71	1.07
16	31.761	α -cyperone α -香附酮	C ₁₅ H ₂₂ O	1.32	-
17	37.329	<i>trans</i> -valerenylacetate 反式缬草酸酯	C ₁₇ H ₂₆ O ₂	1.54	1.46

2种,占总物质的27.45%;烯类化合物5种,占总物质的8.92%。SD法提取的挥发油中,苍术酮挥发油有效成分含量最高,肉桂醛次之。

3 讨论

由表1和图1可知,与SD法相比,WER法提取的挥发油总体积较少,所含化合物种类较多,各化合物含量较高;SD法的收率虽高于WER法,但挥发油纯度和有效成分种类及含量则低于WER法。分析原因,WER法的提取设备比SD法多一个精馏柱,且由特殊填料所制,在富集挥发油过程中,挥发性成分随着水蒸气进入精馏柱,利用混合物中各组分挥发能力的差异,通过液相和气相的回流,柱中的填料使气、液两相逆向多级接触,在热能驱动和相平衡关系的约束下,挥发性成分不断地从液相转移至气相,而难挥发组分由气相向液相迁移。周而复始,混合液体在精馏柱中完成了多次气-液传质过程,连续或多次部分汽化与冷凝,是SD工艺中气液传质和平衡过程的很多倍,故WER法富集挥发油更充分,得到的挥发油杂质少、纯度高^[15]。由图1可知,WER法提取的挥发油比SD法提取的挥发油含量高,且多出6个化合物,占总物质的13.9%,说明WER法比SD法能提取分离出更多的成分。其中,出峰时间为18.406 min的物质(占8.05%)和28.046 min的物质(占0.57%),均在质谱库中没有对应化合物,且其物质峰面积占总峰面积比例达8.05%,即为WER法提取的挥发油中比SD法提取的挥发油中多出来的物质,值得后续进一步研究。

SD法是通过将中药饮片加水加热,将具有一定挥发性的有机物质随水蒸气蒸馏出现的方法,设备简单,操作安全,成本低。本研究中所得苍术酮的相对含量较高,桂皮醛的相对含量较低。原因在于,在SD工艺中气液传质和平衡过程次数较少,挥发油不能充分从液相转移到气相,故不适于提取极性相对较大的成分。与苍术酮挥发油成分相比,桂皮醛极性较大,较易溶于水,提取过程中气相中的油水之比较小,挥发油在冷凝液中的含量小于其在水中的饱和溶解度,无法在冷凝器中充分冷凝成液体^[16],故SD法相对于WER法提取的挥发油中桂皮醛类挥发油成分含量较少。

综上所述,WER法更适合白术、桂枝混合挥发油的提取。苓桂术甘汤中的挥发性成分主要来源于白术和桂枝,在苓桂术甘汤的研究开发中可以白术和桂枝混合提取的挥发油用 β -环糊精包合或其他适宜的方法处理后,再与方中其余中药加工品复合加工成适宜的制剂,尽最大可能保留所需物质。后续研究中将继续进行经典名方苓桂术甘汤的开发,采用双提法^[17](先提取挥发性

成分,再提取水溶性成分)进一步优化制剂工艺,完善质量标准,为传承发展中医药事业、加强古代经典名方的开发积累研究数据。

参考文献

- [1] 汉·张仲景. 金匱要略[M]. 何任,何若苹,整理. 北京:人民卫生出版社,2005:44.
- [2] 李冀,连建伟. 方剂学(新世纪第四版)[M]. 北京:中国中医药出版社,2016:225.
- [3] 余金明,钟明,梁逸曾,等. 药对桂枝-白术及其单味药中挥发油成分GC-MS的比较分析[J]. 中南大学学报(自然科学版),2011,42(1):22-27.
- [4] 陈红英,郭巧玲,姚龙珠. 水蒸气蒸馏法提取橙皮精油的影响因素研究[J]. 中国药业,2011,20(1):39-40.
- [5] 杨宇杰,刘振虹,王春氏,等. 提取-共沸精馏耦合工艺提取挥发油制备颈复康颗粒的抗炎镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(5):274-278.
- [6] 李春花,李佳佳,顿佳颖,等. 提取-共沸精馏耦合技术提取白术、桂枝挥发油工艺优化[J]. 中成药,2019,41(5):1132-1135.
- [7] 忻晓东,张秀芳,王舒琪,等. 艾叶挥发油提取工艺研究[J]. 中药材,2020,43(1):150-154.
- [8] 李春花,张静宜,张华潭,等. β -环糊精包合葶苈生脉方中白术桂枝混合挥发油的工艺研究[J]. 时珍国医国药,2016,27(9):2167-2170.
- [9] 相聪坤,张静宜,李佳佳,等. 白术、桂枝挥发油 β -环糊精包合工艺研究及其包合物评价[J]. 天然产物研究与开发,2017,29(1):46-51.
- [10] 郑鹏,李佳佳,顿佳颖,等. 葶苈生脉口服液挥发油的稳定性研究[J]. 时珍国医国药,2018,29(11):2656-2658.
- [11] 王晓影,杨宇杰,张立国,等. 提取-共沸精馏耦合工艺提取川芎挥发油的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(21):2734-2737.
- [12] 邹俊波,张小飞,史亚军,等. 川芎挥发油水蒸气蒸馏法提取工艺的关键影响因素考察[J]. 中国药理学杂志,2019,54(18):1468-1474.
- [13] 李滢,陶海燕,杨秀伟. 生白术和炒白术挥发油成分的GC-MS分析[J]. 药物分析杂志,2013,33(7):1210-1217.
- [14] 彭加兵,严安定,陈昆鹏,等. 不同方法提取颍半夏挥发油化学成分的气相色谱-质谱联用法分析[J]. 中国药业,2019,28(9):25-27.
- [15] 耿榕徽,姜福义,王春氏,等. 提取-共沸精馏耦合工艺提取挥发油制备颈复康颗粒的活血化瘀作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(2):239-242.
- [16] 刘继鑫,王克霞,李朝品. 水蒸气蒸馏法提取中药挥发油存在的问题及解决方法[J]. 时珍国医国药,2008,19(1):97-98.
- [17] 王美玲,倪健,郭琳,等. 川芎、当归双提法提取工艺及挥发油包合工艺研究[J]. 中国中医药信息杂志,2018,25(11):68-72.

(收稿日期:2020-04-18;修回日期:2020-08-15)