

[制剂工艺]

# 基于挥发性成分和抗类风湿关节炎活性考察二妙散煮散、饮片汤剂差异

张雨蒙<sup>1,2</sup>, 靳海珠<sup>1</sup>, 贾文悦<sup>1</sup>, 刘杨<sup>1,2</sup>, 郝慧琴<sup>1,2\*</sup>

(1. 山西中医药大学, 山西 晋中 030619; 2. 山西省中医药交叉创新工程研究中心, 山西 晋中 030619)

**摘要:** 目的 考察二妙散煮散、饮片汤剂差异。方法 GC-MS法鉴定挥发性成分, 测定蒸馏液中芳樟醇、4-萜烯醇、 $\alpha$ -松油醇、 $\beta$ -桉叶醇、柳杉二醇的含量, 绘制蒸发速度曲线。建立胶原诱导关节炎大鼠模型, 对踝关节进行HE、SO/FG染色, 检测体质量、足垫肿胀度、关节炎评分、免疫器官(脾脏、胸腺)指数、血清炎症因子(IL-10、IL-6)、踝关节结构(足爪肿胀、micro-CT)、运动能力。结果 煮散、饮片汤剂中分别共鉴定出43、26种挥发性成分。随着煎煮时间延长, 煮散蒸馏液中5种挥发性成分平均蒸发速度呈现先升后降的趋势, 在15~20 min达到最大值, 而在饮片蒸馏液中呈现降低趋势, 除 $\beta$ -桉叶醇外在15 min后未检测到。与饮片汤剂比较, 煮散改善大鼠足肿胀和关节炎评分、缓解关节组织病理改变、抑制炎症因子、恢复运动能力作用更强。结论 二妙散煮散中挥发性成分多于其饮片汤剂中, 抗类风湿关节炎活性更强。最佳煎煮终点为沸汤中15 min以内。

**关键词:** 二妙散; 煮散; 饮片汤剂; 挥发性成分; 抗类风湿关节炎活性; GC-MS

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)08-2514-09

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.005

## Differences between boiled powder and decoction of Ermiao Powder based on volatile constituents and anti-rheumatoid arthritis activity

ZHANG Yu-meng<sup>1,2</sup>, JIN Hai-zhu<sup>1</sup>, JIA Wen-yue<sup>1</sup>, LIU Yang<sup>1,2</sup>, HAO Hui-qin<sup>1,2\*</sup>

(1. Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China; 2. Shanxi Provincial Engineering Research Center for Interdisciplinary Innovation of Traditional Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China)

**ABSTRACT: AIM** To investigate the differences between boiled powder and decoction of Ermiao Powder. **METHODS** GC-MS was used to identify volatile constituents, after which the content determination of linalool, 4-terpineol,  $\alpha$ -terpineol,  $\beta$ -eucalyptol and taxifolin in distillate was performed, evaporation rate curve was drawn. The rat model for collagen-induced arthritis was established, then HE and SO/FG staining were conducted, and body weight, footpad swelling degree, arthritis score, immune organ (spleen, thymus) indices, serum inflammatory factors (IL-10, IL-6), ankle joint structure (foot claw swelling, micro-CT) and locomotor ability were detected. **RESULTS** Total 43 and 26 volatile constituents were identified in boiled powder and decoction, respectively. With the extension of boiling time, the average evaporation rates of 5 volatile constituents in the boiled powder distillate demonstrated the trends of first increase and then decrease, which reached a maximum at 15–20 min; those in the decoction distillate displayed the trends of decrease, which were not detected after 15 min except for  $\beta$ -eucalyptol. Compared with the decoction, the boiled powder exhibited stronger effects on improving foot swelling and arthritis score, alleviating pathological changes in joint tissues, inhibiting inflammatory factors and

收稿日期: 2024-10-29

**基金项目:** 中央引导地方科技发展资金项目 (YDZJSX2021A040); 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目 (2024XKJS-03); 山西省自然科学基金青年项目 (202303021212234); 博士科研启动基金项目 (2023BK02); 优秀博士毕业生来晋工作奖励科研启动基金项目 (2023BK25); 山西省科技创新人才重点团队 (202204051002033); 山西省中医药管理局科研课题 (2023ZYJC2052)。

**作者简介:** 张雨蒙 (1994—), 女, 博士, 讲师, 从事中西医结合防治类风湿关节炎研究。E-mail: 1466147429@qq.com

\* **通信作者:** 郝慧琴 (1974—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中医药交叉创新研究。E-mail: hhq@sxtcm.edu.cn

restoring motor ability. **CONCLUSION** More volatile constituents are observable in the boiled powder of Ermiao Powder than those in its decoction, along with stronger anti-rheumatoid arthritis activity. The optimal decocting endpoint is determined to be within 15 min in boiling water.

**KEY WORDS:** Ermiao Powder; boiled powder; decoction; volatile constituents; anti-rheumatoid arthritis activity; GC-MS

煮散是将中药粉碎成一定粒度后与水共煎，连同药沫一起或去渣服用的液体制剂，在《古代经典名方目录（第二批）》中有18首<sup>[1]</sup>，它是与汤剂并重的特色剂型，煎煮终点的判断是保证两者质量和疗效的重要因素<sup>[2]</sup>。目前，关于煮散终点的记载大多以水量多少为依据，譬如麻黄杏仁薏苡甘草汤“水盪半，煮八分，去滓，温服”，但往往存在识别、控制不准的情况，故煎煮程度如何衡量是影响其质量的关键。

二妙散出自《丹溪心法》，由黄柏和苍术组成，主治筋骨疼痛、湿热带下等证，临床上常用于类风湿关节炎等疾病的治疗<sup>[3]</sup>，但原方煮散时间不明确，缺少科学解释，并且它是否会影响药效发挥尚无定论。因此，本实验采用GC-MS法分析二妙散煮散、饮片汤剂中挥发性成分差异，测定两者蒸馏液中主要成分含量，比较不同煎煮时间下芳樟醇、4-萜烯醇、 $\alpha$ -松油醇、 $\beta$ -桉叶醇、柳杉二醇蒸发速度，并建立关节炎大鼠模型作进一步比较，以期为该方开发应用提供数据支撑。

## 1 材料

1.1 仪器 Agilent 7890A型气相色谱仪、Agilent 7000E型质谱联用仪均购自美国Agilent公司；BCE224I-1CCN型电子分析天平（十万分之一）购自德国Sartorius公司；MH-2000型调温电热套购自北京科伟永兴仪器有限公司；SL-100型高速多功能粉碎机购自浙江省永康市松青五金厂；水蒸气蒸馏装置购自四川蜀牛玻璃仪器有限公司；纯水过滤系统购自美国Thermo Scientific公司；SB-5200型超声波清洗机购自宁波新芝生物科技股份有限公司；QL-866型涡旋振荡仪购自海门市其林贝尔仪器制造有限公司；FRESCO21型高速冷冻离心机购自美国Thermo Scientific公司；NMC-200型小动物Micro CT活体影像系统购自尼蒙（深圳）科技有限公司。

1.2 试剂、药材与药物 黄柏（产地四川，批号290252）、苍术（产地内蒙古，批号266142）均购自紫轩堂药材有限公司，经山西中医药大学中药鉴定教研室主任裴香萍教授鉴定为正品。完全弗氏佐

剂（7001）、不完全弗氏佐剂（7002）、牛Ⅱ型胶原蛋白（20022）均购自北京博蕾德生物科技有限公司；甲氨蝶呤购自上海上耀信义药业有限公司。4-萜烯醇（WP24011704，纯度 $\geq 98\%$ ）、芳樟醇（WP23061410，纯度 $\geq 98\%$ ）， $\alpha$ -松油醇（WP24022901，纯度 $\geq 97\%$ ）、 $\beta$ -桉叶醇（WP23092503，纯度 $\geq 98\%$ ）对照品均购自四川维克奇生物科技有限公司；柳杉二醇（C15315464，纯度 $\geq 98\%$ ）购自上海麦克林生化科技股份有限公司。高纯氦气、氮气均购自山西尧晟商贸有限公司。其他试剂均为色谱纯；水为蒸馏水。

1.3 动物 雄性SD大鼠，体质量170~200 g，购自斯贝福（北京）生物技术有限公司，在山西中医药大学实验管理中心动物平台中饲养，保持温度（23 $\pm$ 2） $^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度（55 $\pm$ 5）%，昼夜12 h光/暗周期，在整个实验过程中可自由获取食物和水。动物实验严格遵循山西中医药大学伦理规定（批准号AWE202403244）。

## 2 方法

### 2.1 挥发性成分变化规律研究

#### 2.1.1 GC-MS分析条件

2.1.1.1 色谱 HP-5MS石英毛细管柱（30 m $\times$  0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ ）；载气高纯度氦气；体积流量1.0 mL/min；进样量1.0  $\mu\text{L}$ ；分流比10:1；进样口温度250  $^{\circ}\text{C}$ ；程序升温（初始50  $^{\circ}\text{C}$ ，保持1 min，以5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至150  $^{\circ}\text{C}$ ，保持1 min，以3  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至240  $^{\circ}\text{C}$ ）。

2.1.1.2 质谱 电子轰击源（EI）；电子能量70 eV；离子源温度230  $^{\circ}\text{C}$ ；传输线温度280  $^{\circ}\text{C}$ ；四极杆温度150  $^{\circ}\text{C}$ ；扫描范围 $m/z$  30~300；溶剂延迟3.5 min。

#### 2.1.2 蒸馏液制备

2.1.2.1 煮散 称取黄柏（炒）、苍术（米泔浸，炒）各50 g，粉碎成末，过筛，混合均匀，制成二妙散。称取100 g，置于2 000 mL圆底烧瓶中，加入10倍量水浸泡30 min，加热蒸馏，分别于煮沸后0~5、5~10、10~15、15~20、20~30、30~40、40~50、50~60、60~80、80~100、100~

120 min收集,放冷,即得。

2.1.2.2 饮片汤剂 称取黄柏(炒)、苍术(米泔浸,炒)各50 g,置于2 000 mL圆底烧瓶中,加入10倍量水浸泡30 min,加热蒸馏,分别于煮沸后0~5、5~10、10~15、15~20、20~30、30~40、40~50、50~60、60~80、80~100、100~120 min收集,放冷,即得。

2.1.3 对照品溶液制备 精密称取4-萜烯醇、芳樟醇、 $\alpha$ -松油醇、 $\beta$ -桉叶醇、柳杉二醇对照品适量,乙酸乙酯溶解并定容至刻度,制成1.0 mg/mL贮备液,梯度稀释,即得。

2.1.4 供试品溶液制备 精密量取“2.1.2”项下蒸馏液各500  $\mu$ L,加入300  $\mu$ L乙酸乙酯,超声处理2 min,涡旋振荡2 min,12 000 r/min离心5 min,取上清,即得。

## 2.2 抗类风湿关节炎活性研究

2.2.1 造模、分组及给药 大鼠适应性饲养1周后,除空白组外均给予牛II型胶原和完全弗氏佐剂进行初始免疫,7 d后以牛II型胶原和不完全弗氏佐剂进行二次免疫。以关节炎评分为标准,将建模成功的大鼠随机分为模型组、甲氨蝶呤组(0.5 mg/kg)、二妙散煮散组(1.5 g/kg)、二妙散饮片汤剂组(1.5 g/kg),分别灌胃给予相应药物,连续4周,而空白组、模型组大鼠灌胃给予生理盐水。另外,为了保证实验的一致性,二妙散煮散组和二妙散饮片汤剂组均选用沸汤后15 min样品。

### 2.2.2 指标检测

2.2.2.1 体质量、足垫肿胀度、关节炎评分 每周记录1次,其中关节炎评分按照《中药新药研究指南》中的关节炎继发病变评价方法,0分为无关节炎症状,1分为关节内出现红色斑点,2分为踝关节出现中度红肿,3分为全爪严重红肿,4分为关节严重肿胀并伴有功能障碍。

2.2.2.2 免疫器官指数 4%水合氯醛麻醉大鼠,分离胸腺和脾脏,生理盐水浸泡冲洗,滤纸吸干水分,称定质量,计算免疫器官指数,公式为免疫器官指数=(免疫器官湿重/体质量) $\times$ 100%。

2.2.2.3 血清炎症因子水平 腹主动脉采集大鼠血液,4  $^{\circ}$ C、2 500 r/min离心15 min,分离血清,按照ELISA试剂盒说明书检测IL-10、IL-6水平。

2.2.2.4 踝关节结构 采用Micro-CT对大鼠踝关节进行扫描重建,设定参数为径向视野范围100 mm;最大轴向扫描范围250 mm;扫描速度4 s/bed;空间分辨率 $<$ 7.5  $\mu$ m。

2.2.2.5 部位观察 分离大鼠踝关节和膝关节,脱水,石蜡包埋,切片,前者进行苏木素-伊红(HE)染色,后者进行番红O-固绿(SO/FG)染色,在显微镜下观察并拍照。

2.2.2.6 运动能力 采用视频分析系统记录放置在开阔场地的大鼠10 min内运动轨迹,在通风良好、安静、光线昏暗的环境中进行。

2.3 统计学分析 通过Graphpad prism 9.0软件进行处理,数据以( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P<$ 0.05表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

3.1 挥发性成分鉴定 GC-MS总离子流色谱图见图1。再结合质谱图及NIST谱库对化合物进行指认,结果煮散、饮片汤剂中分别鉴定出43、26种该类成分,具体见表1。

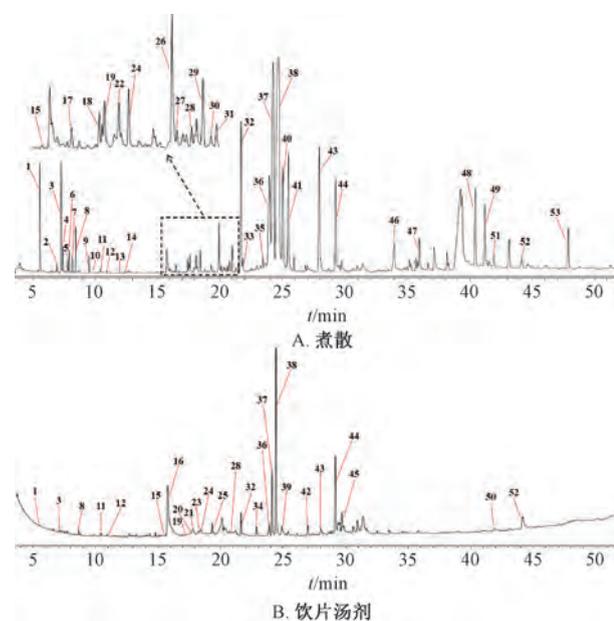


图1 二妙散GC-MS总离子流色谱图

Fig. 1 GC-MS total ion current chromatograms of Ermiao Powder

### 3.2 挥发性成分含量测定

3.2.1 专属性试验 取对照品、供试品溶液适量,在“2.1.1”项条件下进样测定,结果见图2。由此可知,各挥发性成分色谱峰分离度理想,表明该方法专属性良好。

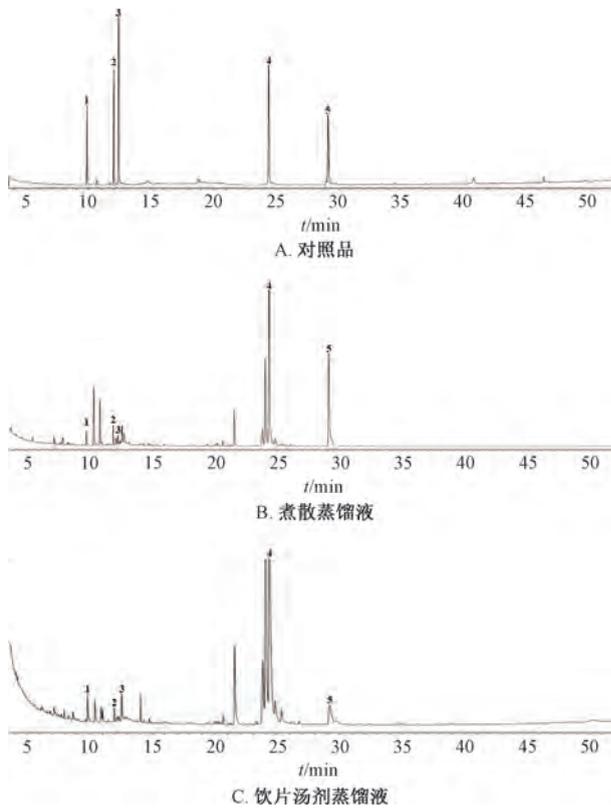
3.2.2 线性关系考察 取不同质量浓度对照品溶液适量,在“2.1.1”项条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,结果见表2,可知各挥发性成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 二妙散挥发性成分鉴定结果

Tab. 1 Results for volatile constituent identification of Ermiao Powder

编号	$t_R$ /min	名称	分子式	相对分子质量	煮散	饮片汤剂
1	5.567	cyclofenchene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.13	+	+
2	6.936	β-蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.13	+	—
3	7.284	水芹烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.13	+	+
4	7.423	3-蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.13	+	—
5	7.805	4-伞花烃	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134.11	+	—
6	7.925	pseudo-limonene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.13	+	—
7	8.171	(E)-B-罗勒烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.13	+	—
8	8.449	(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-十八烷三烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.13	+	+
9	9.527	萜品油烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.13	+	—
10	9.872	芳樟醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.14	+	—
11	10.444	2-cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, trans-	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.14	+	+
12	10.944	2-cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, cis-	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.14	+	+
13	12.001	4-萜烯醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.14	+	—
14	12.383	α-松油醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.14	+	—
15	15.751	2-甲氧基-4-烯基苯酚	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	150.07	+	+
16	15.818	cyclohexene, 2-ethenyl-1,3,3-trimethyl-	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub>	150.14	—	+
17	16.481	silphinene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.19	+	—
18	17.430	modhephene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.19	+	—
19	17.605	berkheyaradulene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.19	+	+
20	17.818	1,4-dihydroxy-p-menth-2-ene	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	170.13	—	+
21	17.954	香草醛	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	152.05	—	+
22	18.100	widdrol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.20	+	-
23	18.404	(4R,5R)-4-hydroxy-5-isopropyl-2-methylcyclohex-2-enone	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	168.12	—	+
24	18.435	反式石竹烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.19	+	+
25	19.321	邻苯二甲酸二甲酯	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	194.06	—	+
26	19.925	1-methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)cyclohexa-1,3-diene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.19	+	—
27	20.100	β-芹子烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.19	+	—
28	20.765	(+)-γ-杜松烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.19	+	+
29	20.987	β-杜松烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.19	+	—
30	21.270	γ-芹子烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.19	+	—
31	21.416	α-红没药烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.19	+	—
32	21.693	α-榄香醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.20	+	+
33	21.832	甘香烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.19	+	—
34	22.870	邻苯二甲酸二乙酯	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	222.09	—	+
35	23.435	(-)-葎澄茄油烯醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.20	+	—
36	23.961	γ-桉叶醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.20	+	+
37	24.286	(+/-)-沉香螺醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.20	+	+
38	24.683	β-桉叶醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.20	+	+
39	24.900	β-菖蒲醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.20	—	+
40	25.028	α-桉叶醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.20	+	—
41	25.487	红没药醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.20	+	—
42	26.971	1-[(1S,3aR,4R,7S,7aS)-4-hydroxy-7-isopropyl-4-methyloctahydro-1H-inden-1-yl]ethanone	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	238.20	—	+
43	27.961	苍术素	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O	182.22	+	+
44	29.276	柳杉二醇	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	240.21	+	+
45	29.712	6-isopropenyl-4,8a-dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-naphthalen-2-ol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220.18	—	+
46	33.972	棕榈酸	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256.24	+	—
47	35.972	senkyunone	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	326.00	+	—
48	40.473	3,3',5,5'-四甲基-4,4'-联苯醌	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	240.12	+	—
49	41.215	2-(3,7-dimethyl-octa-2,6-dienyl)-4-methoxy-phenol	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	260.18	+	—
50	41.843	铁屎米酮	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O	220.06	—	+
51	41.962	ent-kaurenal	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O	286.23	+	—
52	44.125	(±)-platydesmine	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>3</sub>	259.12	+	+
53	47.911	花生四烯酸	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	296.00	+	—

注：+表示检出该成分，—表示未检出该成分。



1. 芳樟醇 2. 4-萜烯醇 3.  $\alpha$ -松油醇 4.  $\beta$ -桉叶醇 5. 柳杉二醇  
1. linalool 2. terpinine-4-ol 3.  $\alpha$ -terpineol 4.  $\beta$ -eudesmol  
5. cryptomeridiol

图2 各挥发性成分 GC-MS 总离子流色谱图

Fig. 2 GC-MS total ion current chromatograms of various volatile constituents

3.2.3 精密度试验 精密吸取对照品溶液适量，在“2.1.1”项条件下进样测定6次，测得4-萜烯醇、芳樟醇、 $\alpha$ -松油醇、 $\beta$ -桉叶醇、柳杉二醇峰面积RSD分别为2.31%、1.45%、0.96%、1.73%、2.80%，表明仪器精密度良好。

3.2.4 稳定性试验 精密吸取煮散蒸馏液1  $\mu$ L，

表3 各挥发性成分含量测定结果

Tab. 3 Results for content determination of various volatile constituents

蒸馏时间/min	含量/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )									
	芳樟醇		4-萜烯醇		$\alpha$ -松油醇		柳杉二醇		$\beta$ -桉叶醇	
	煮散	饮片	煮散	饮片	煮散	饮片	煮散	饮片	煮散	饮片
0~5	4.267	2.976	3.960	1.090	1.748	0	18.975	7.099	37.204	47.839
5~10	4.718	1.315	4.540	0	1.681	0	35.342	0	33.441	43.190
10~15	4.642	1.132	4.544	0	1.315	0	39.654	0	33.994	39.591
15~20	4.743	0	5.123	0	2.579	0	42.219	0	40.834	36.596
20~30	1.849	0	2.119	0	1.163	0	10.291	0	30.733	36.584
30~40	1.153	0	1.154	0	0	0	0	0	35.979	34.619
40~50	0	0	0	0	0	0	0	0	35.911	34.845
50~60	0	0	0	0	0	0	0	0	35.535	34.416
60~80	0	0	0	0	0	0	0	0	32.563	31.213
80~100	0	0	0	0	0	0	0	0	36.988	31.473
100~120	0	0	0	0	0	0	0	0	32.898	26.540

表2 各挥发性成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various volatile constituents

挥发性成分	回归方程	$R^2$	线性范围/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
4-萜烯醇	$Y=8.67\times 10^6 X-5.58\times 10^5$	0.999 9	0.43~7
芳樟醇	$Y=8.18\times 10^6 X-3.89\times 10^6$	0.998 2	0.50~24.15
$\alpha$ -松油醇	$Y=9.16\times 10^6 X-7.38\times 10^5$	0.999 8	0.25~20
$\beta$ -桉叶醇	$Y=1.30\times 10^6 X-2.25\times 10^7$	0.995 2	5~100
柳杉二醇	$Y=9.79\times 10^7 X-1.25\times 10^7$	0.997 9	1~100

于0、4、8、12、24 h在“2.1.1”项条件下进样测定，测得4-萜烯醇、芳樟醇、 $\alpha$ -松油醇、 $\beta$ -桉叶醇、柳杉二醇峰面积RSD分别为1.23%、2.74%、0.99%、1.51%、1.09%，表明溶液在24 h内稳定性良好。

3.2.5 重复性试验 取“2.1.2”项下蒸馏液(0~5 min)适量，按“2.1.4”项下方法平行制备6份供试品溶液，分别精密吸取1  $\mu$ L，在“2.1.1”项条件下进样测定，测得4-萜烯醇、芳樟醇、 $\alpha$ -松油醇、 $\beta$ -桉叶醇、柳杉二醇含量RSD分别为0.79%、0.32%、1.11%、0.45%、0.74%，表明该方法重复性良好。

3.2.6 加样回收率试验 精密吸取各挥发性成分含量已知的煮散蒸馏液乙酸乙酯萃取液6份，按100%水平加入对照品溶液，混匀，按“2.1.4”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项条件下进样测定，计算回收率。结果，4-萜烯醇、芳樟醇、 $\alpha$ -松油醇、 $\beta$ -桉叶醇、柳杉二醇平均加样回收率分别为92.7%、95.6%、92.0%、101.6%、105.2%，RSD分别为1.2%、2.4%、3.0%、5.6%、1.9%。

3.2.7 样品含量测定 取“2.1.2”项下蒸馏液适量，按“2.1.4”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项条件下进样测定，计算含量，结果见表3。

3.3 平均蒸发速度 计算公式为  $R=5C/t$ ，其中  $R$  为平均蒸发速度， $C$  为挥发性成分质量浓度， $t$  为蒸馏时间，结果见图3。由此可知，随着蒸发时间延长，煮散中各挥发性成分平均蒸发速度呈先升后降的趋势，并且均在15~20 min达到最大值，分别

为4.743、5.123、2.579、42.219、40.834 mg/min；饮片蒸馏液中未检测到 $\alpha$ -松油醇，其余4种挥发性成分平均蒸发速度均呈降低趋势，并且4-萜烯醇、柳杉二醇在5 min后未检测到，芳樟醇在15 min后未检测到。

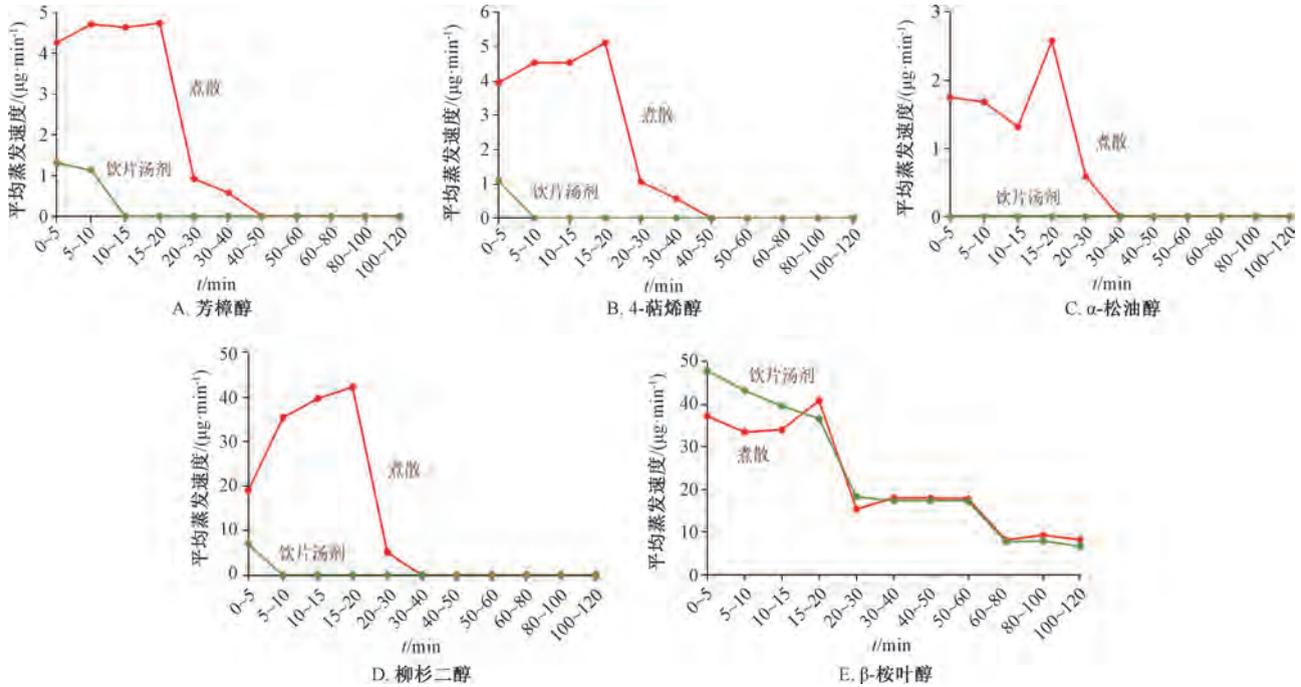


图3 各挥发性成分平均蒸发速度

Fig. 3 Average evaporation rates of various volatile constituents

### 3.4 抗类风湿关节炎活性

3.4.1 体质量、足垫肿胀度、关节炎评分 如图4A所示，随着饲养周期延长，各组大鼠体质量呈现增加趋势；与空白组比较，模型组大鼠体质量增长曲线平缓，至实验结束时有显著差异 ( $P < 0.01$ )，而二妙散煮散组、二妙散饮片汤剂组大鼠体质量有所增加。如图4B~4C所示，与空白组比较，模型组大鼠足垫肿胀度、关节炎评分升高 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，二妙散煮散组、二妙散饮片汤剂组大鼠足垫肿胀度、关节炎评分降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，并且在相同剂量下前者效果更好，与甲氨蝶呤组接近。

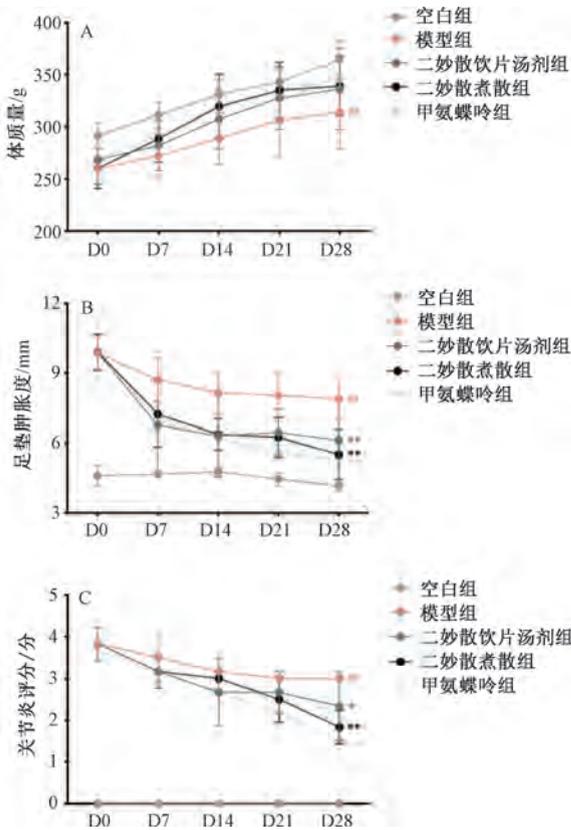
3.4.2 免疫器官指数、血清炎症因子水平 如图5A~5B所示，与空白组比较，模型组大鼠脾脏指数、胸腺指数升高 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，二妙散煮散组、二妙散饮片汤剂组大鼠脾脏指数、胸腺指数无明显变化 ( $P > 0.05$ )。如图5C~5D所示，与空白组比较，模型组大鼠血清IL-10水平降低 ( $P < 0.05$ )，IL-6水平升高 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，二妙散煮散组、二妙散饮片汤剂组大鼠血清

IL-10水平升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，IL-6水平降低 ( $P < 0.01$ )。

3.4.3 踝关节结构、运动能力 如图6A~6B所示，煮散显著减少大鼠踝关节骨破坏，其效果优于饮片汤剂。如图6C所示，与空白组比较，模型组大鼠运动能力减弱，活动减少，探索能力差；二妙散干预后有助于恢复大鼠运动能力，其中煮散效果与甲氨蝶呤相当。

3.4.4 踝关节病理结构 如图7A所示，空白组大鼠未发现病理症状，关节面光滑平整，细胞排列紧密有序；模型组大鼠踝关节组织有明显变化，包括炎性细胞浸润、滑膜细胞异常增生，同时可见血管翳形成、软骨侵蚀；与模型组比较，二妙散煮散组、二妙散饮片汤剂组显著阻止大鼠软骨表面侵蚀及关节退化、炎性细胞浸润、滑膜增生。

如图7B所示，空白组大鼠软骨基质呈均匀深红色，软骨下骨纤维层呈浅蓝色，切片着色均匀，蛋白多糖丰富，并且软骨基质和软骨下骨交界线明显，潮线清晰可见；模型组大鼠软骨基质着色变浅，蛋白多糖减少，并且软骨基质坍塌，结构层次



注: D0、D7、D14、D21、D28 分别为实验前及实验第 7、14、21、28 天。与空白组比较,###  $P < 0.01$ ; 与模型组比较,\*  $P < 0.05$ ,\*\*  $P < 0.01$ 。

图 4 二妙散对胶原诱导型关节炎大鼠体质量、足垫肿胀度、关节炎评分的影响

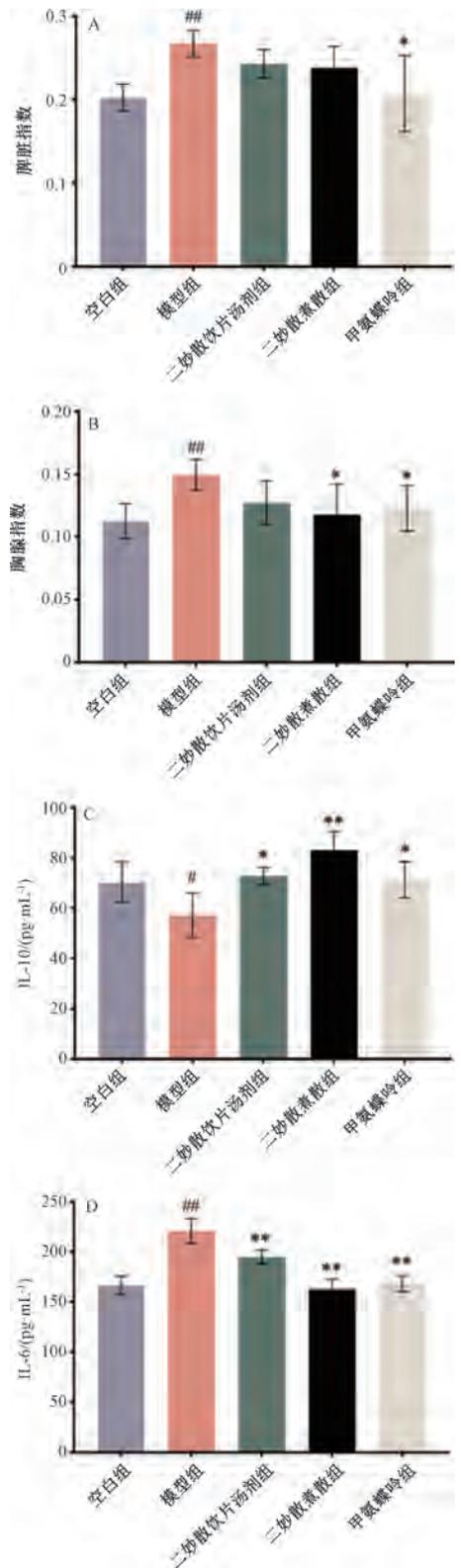
Fig. 4 Effects of Ermiao Powder on body weight, footpad swelling degree and arthritis score of collagen-induced arthritis rats

紊乱,潮线不齐,黏合线呈锯齿状;二妙散煮散组大鼠软骨结构完整,软骨基质着色加深,与空白组相当,并且蛋白多糖丰富,潮线整齐可见。

#### 4 讨论

煮散历史悠久,在现代临床上玉屏风散等品种被保留下来<sup>[4-5]</sup>,但仍有不少未得到延续。《丹溪心法》记载,二妙散为煮散,但在基础<sup>[6-8]</sup>、临床<sup>[3]</sup>研究中均以汤剂入药。因此,本实验旨在阐明二妙散煮散的科学性及其煎煮终点的科学内涵。

煮散以粉体入药,与溶剂接触面积大,溶出速度快<sup>[9-10]</sup>。刘月等<sup>[11]</sup>报道,银翘散煮散、饮片中分别有 48、34 种成分。蒋近近等<sup>[12]</sup>发现,桑白皮煮散中指标成分总含量为汤剂中的 1.2 倍。本实验采用 GC-MS 法检测出二妙散煮散中含有 43 种挥发性成分,而饮片汤剂中仅有 26 种,表明与后者比较,前者可将方中该类成分尽可能多地溶出,避



注:与空白组比较,\*  $P < 0.05$ ,###  $P < 0.01$ ;与模型组比较,\*  $P < 0.05$ ,\*\*  $P < 0.01$ 。

图 5 二妙散对胶原诱导型关节炎大鼠脾脏指数、胸腺指数及血清 IL-10、IL-6 水平的影响

Fig. 5 Effects of Ermiao Powder on spleen index, thymus index and serum IL-10, IL-6 levels of collagen-induced arthritis rats

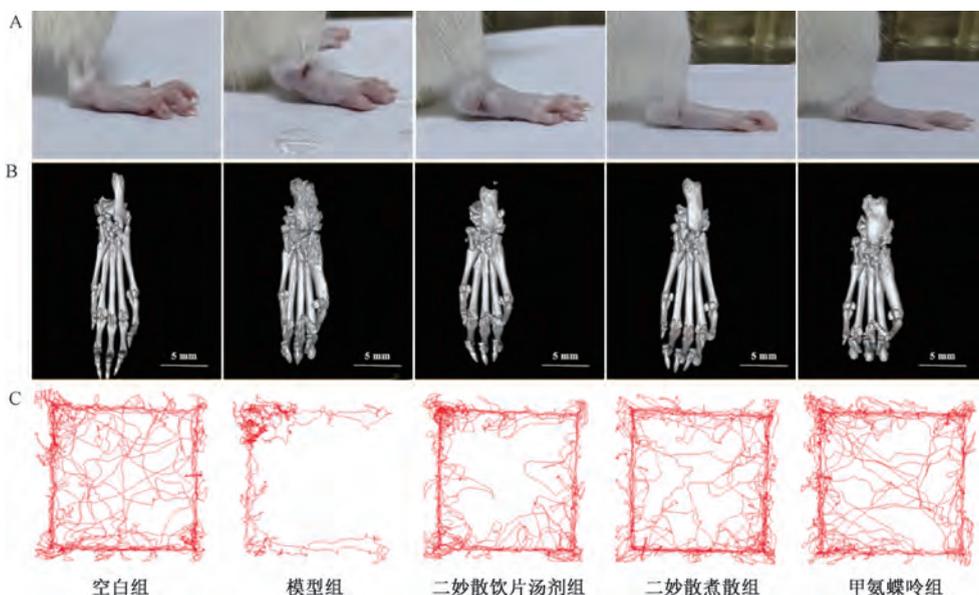


图6 二妙散对胶原诱导型关节炎大鼠足爪肿胀、micro-CT、运动能力的影响

Fig. 6 Effects of Ermiao Powder on foot claw swelling, micro-CT and locomotor ability of collagen-induced arthritis rats

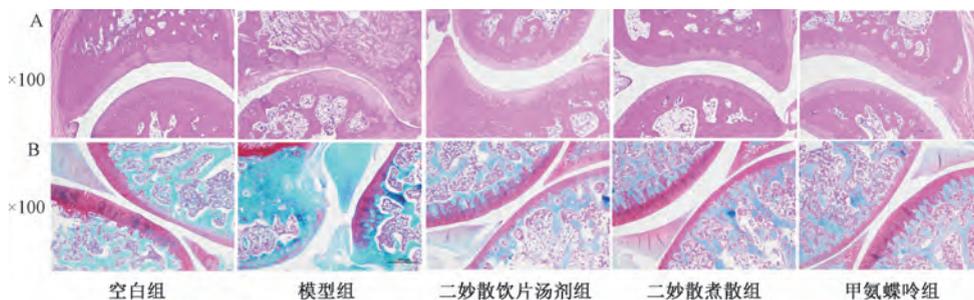


图7 二妙散对胶原诱导型关节炎大鼠踝关节 HE 染色、膝关节 SO/FG 染色的影响

Fig. 7 Effects of Ermiao Powder on ankle joints stained with HE and knee joints stained with SO/FG of collagen-induced arthritis rats

免损失。

中药煎煮是有效成分释放-溶解的过程，但煎煮过久会使后者不断蒸发而减少，导致药效降低<sup>[13-14]</sup>。刘月<sup>[15]</sup>等比较银翘散煮散、饮片中成分蒸发规律，确定其煎煮终点为煮沸 5 min 左右。挥发性成分在二妙散中的含量较高，是后者发挥作用的有效物质，具有祛风除湿之功<sup>[16-18]</sup>，本实验发现其煮散中 5 种成分平均蒸发速度大于饮片汤剂中，而且在 15~20 min 达到最大值，随后下降，表明煎煮终点为沸汤中煎煮 15 min 以内，从而避免活性成分大量快速流失。另外，Li 等<sup>[19]</sup>报道，排脓散治疗结肠炎的疗效优于排脓汤；麻黄汤煮散止咳作用显著，疗效优于饮片汤剂<sup>[20]</sup>，与上述结果一致。

另外，抗类风湿关节炎实验结果表明，二妙散煮散在抑制炎症因子分泌、缓解软骨损伤、提高运

动能力、恢复骨关节结构方面优于饮片汤剂，其原因可能为该剂型具有更复杂的活性物质，需进一步研究。

**利益冲突：**所有作者均声明不存在利益冲突。

**参考文献：**

[ 1 ] 国家中医药管理局. 古代经典名方目录 (第二批) [ R ]. 2023.  
[ 2 ] 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.  
[ 3 ] 肖阳. 二妙散合宣痹汤加减治疗湿热蕴结型踝关节急性痛风性关节炎的临床研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2023.  
[ 4 ] 胡朝妙, 廖晗禹, 姜盛铭, 等. 玉屏风散调控 IRS/PI3K/Akt 通路对 2 型糖尿病大鼠肝脏胰岛素抵抗的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(12): 3280-3287.  
[ 5 ] 霍炳杰, 常靓, 张风宾, 等. 银翘散不同煎煮时间治疗时

- 行感冒邪在肺卫证74例疗效观察[J]. 中医杂志, 2020, 61(12): 1065-1068.
- [6] Chen S M, Wang J, Wang J Y, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway promotes abnormal activation of fibroblast-like synoviocytes and angiogenesis in rheumatoid arthritis and the intervention of Er Miao San[J]. *Phytomedicine*, 2023, 120: 155064.
- [7] Liu H D, Kong L, Cao D D, et al. Efficacy and mechanism of the Ermiao San series of formulas for rheumatoid arthritis based on Chinmedomics strategy[J]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155903.
- [8] 刘静淑, 岳进茹, 李玉彤, 等. 二妙散通过 $\alpha 7nAChR$ -JAK2/STAT3途径改善胶原诱导性关节炎大鼠炎症的免疫学机制[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(13): 3591-3599.
- [9] 谢翡翡, 卢晓莹, 何广铭, 等. 中药煮散的历史渊源、应用特点及现代化研究进展[J]. 中南药学, 2024, 22(1): 180-185.
- [10] 路立峰, 闫方杰, 胡高升. 中药煮散应用优势、质量控制、质量评价的研究进展[J]. 中成药, 2021, 43(7): 1830-1833.
- [11] 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]. 中国中药杂志, 2022, 47(14): 3788-3797.
- [12] 蒋近近, 吴磊, 朱育凤, 等. 不同煎煮时间桑白皮汤煮散与汤剂的特征图谱及多指标成分含量比较[J]. 中国药房, 2023, 34(5): 565-568; 574.
- [13] 刘月, 顾永哲, 罗云, 等. 银翘散不同煎煮时间指纹图谱及对金黄色葡萄球菌抑菌活性的影响[J]. 中国药学杂志, 2021, 56(24): 1981-1990.
- [14] 赖长江生, 陈泽炎, 邱子栋, 等. 中药煎煮的化学反应机制研究现状[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(4): 890-899.
- [15] 刘月, 顾永哲, 罗云, 等. 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[J]. 中草药, 2022, 53(10): 2991-2999.
- [16] 徐城, 孟令邦, 卢美琪, 等. 基于HS-GC-MS技术探讨不同炮制方法对苍术挥发性成分的影响[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(16): 4427-4436.
- [17] 彭乐. 基于挥发性成分谱的苍术药材的质量比较[D]. 天津: 天津中医药大学, 2023.
- [18] Fu X L, Zhou J, Tang W W, et al. Study on the compatibility effect and active constituents of *Atractylodes Rhizoma* in Ermiao Wan against acute gouty arthritis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 279: 114353.
- [19] Li J C, Rui X L, Xu L, et al. Enhanced therapeutic effect on colitis with powder formulations of Painong San associated with the promotion of intestinal adhesion and absorption[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 289: 115030.
- [20] 杨正腾, 王力宁, 张明, 等. 麻黄汤其饮片汤剂与煮散剂止咳和抗炎药效比较研究[J]. 中医药导报, 2017, 23(4): 50-52.

## 冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳凝胶制备

文静, 牛俊淞, 吴玉珍, 邓婕, 李楠\*

(成都中医药大学药学院, 西南特色中药资源国家重点实验室, 四川成都 611137)

**摘要:** 目的 制备冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳凝胶。方法 测定川芎嗪在不同油相、乳化剂、助乳化剂中的平衡溶解度, 进行配伍实验, 绘制伪三元相图。以 $K_m$ 值、油相占比、水相用量为影响因素, 粒径、PDI、饱和载药量为评价指标, 星点设计-响应面法优化处方。将载药纳米乳分散于卡波姆940凝胶基质中制备纳米乳凝胶, 考察其理化性质、体外释药和透皮吸收性能。结果 最佳处方为低共熔物、EL-40、1, 2-丙二醇、水比例 3.31 : 6.16 : 1.56 : 88.97, 粒径、PDI、饱和载药量分别为 37.85 nm、23.04、5.82 mg/g。所得纳米乳凝胶呈白色半固体, 平均pH值为 6.68 $\pm$ 0.07, 黏度为 (289.69 $\pm$ 1.06) mPa $\cdot$ s, 体外释药符合 Higuchi 方程, 24 h 内单位面积累积渗透量为 (2 048.23 $\pm$ 55.6)  $\mu$ g/cm<sup>2</sup>, 分别是水凝胶、水溶液的 3.72、1.21 倍。结论 冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳凝胶满足制剂要求, 可实现原料药有效经皮递送。

**关键词:** 川芎嗪; 纳米乳凝胶; 低共熔物; 冰片; 薄荷脑; 制备

中图分类号: R944

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)08-2522-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.006

收稿日期: 2024-10-24

基金项目: 四川省中医药管理局-中医药基础研究课题(2023MS467); “杏林学者”学科人才科研提升计划-乡村振兴专项(XCZX2022007)

作者简介: 文静(1998—), 女, 硕士生, 研究方向为中药制剂新技术及其新药开发。E-mail: 981804860@qq.com

\*通信作者: 李楠(1981—), 女, 博士, 教授, 研究方向为中药制剂新技术及其新药开发。E-mail: 55743198@qq.com