

枳实不同炮制品挥发油 GC-MS 分析

于欢^{1,2}, 钟凌云², 宁希鲜², 张金莲², 李小宁², 龚千锋^{1,2*}

(1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100102; 2. 江西中医药大学 药学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的:采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对江西产枳实生品、麸炒品、蜜麸炒品、蜜糠炒品中挥发油成分进行定性和定量分析。方法:采用水蒸气蒸馏法提取枳实中挥发油,建立 GC-MS 分析方法鉴定不同枳实炮制品中挥发油成分,质谱条件为电子轰击能量 70 eV,离子源温度 230 ℃,加速电压 34.6 V,倍增器电压 1 388 V,四极杆温度 150 ℃,扫描数 4.45 次/s,利用峰面积归一化法测定各成分相对质量分数。结果:从枳实 4 种炮制品中共鉴定出 163 个化合物,加辅料炮制后均有新化合物产生且成分种类增多,麸炒枳实中含有的挥发油种类最多。麸炒品、蜜糠炒品、蜜麸炒品和生品中分别鉴定出 99,87,81,79 种,四者共有挥发油成分 42 种。与枳实生品相比,麸炒后新增 52 种化合物,蜜麸炒后新增 26 种化合物,蜜糠炒后新增 28 种化合物。结论:GC-MS 适用于枳实挥发油中化学成分的分析,为枳实炮制品的质量评价和炮制机制研究提供实验依据。

[关键词] 江枳实; 炮制品; 挥发油; 柠檬烯; γ -萜品烯; α -松油醇

[中图分类号] R283.3;R284.1;R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)15-0012-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015150012

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150610.0951.009.html>

[网络出版时间] 2015-06-10 9:51

Analysis on Volatile Oil in Different Processed Products of Aurantii Fructus Immaturus from Jiangxi by GC-MS

YU Huan^{1,2}, ZHONG Ling-yun², NING Xi-xian², ZHANG Jin-lian², LI Xiao-ning², GONG Qian-feng^{1,2*}
(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China; 2. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To conduct a qualitative and quantitative analysis on volatile oil from raw, bran-fried, honey bran-fried and honey chaff-fried Aurantii Fructus Immaturus from Jiangxi by GC-MS. **Method:** Volatile oil was extracted from Aurantii Fructus Immaturus by steam distillation method. Volatile oil in different processed products of Aurantii Fructus Immaturus were determined by GC-MS under mass spectrometer conditions of 70 eV, ion source temperature at 230 ℃, accelerating voltage of 34.6 V, multiplier voltage of 1 388 V, quadrupole rod temperature at 150 ℃, scanning frequency of 4.45 times/s. Peak area normalization method was used to determine the relative mass fraction of each component. **Result:** Altogether 163 components were separated and identified from raw, bran-fried, honey bran-fried and honey chaff-fried Aurantii Fructus Immaturus. A wider varieties of new compound were founded from processed products of Aurantii Fructus Immaturus by excipients, with the most varieties of volatile oils in bran-fried Aurantii Fructus Immaturus. Bran-fried, honey chaff-fried, honey bran-fried and raw Aurantii Fructus Immaturus contained 99, 87, 81, 79 new compounds, including 42 types of ingredients in total. Compared with raw Aurantii Fructus Immaturus, bran-fried products had 52 more types of new compounds; honey bran-fried products had 26 more types of new compounds; and honey chaff-fried products had 28 more types of new compounds. **Conclusion:** GC-MS is suitable for analyzing chemical components in volatile oil from Aurantii Fructus Immaturus, which can provide an experimental reference for quality evaluation and processing mechanism studies of processed products of Aurantii Fructus Immaturus.

[Key words] Aurantii Fructus Immaturus from Jiangxi; processed products; volatile oil; limonene; γ -terpinene; α -terpineol

[收稿日期] 20150330(005)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201007011)

[第一作者] 于欢,在读博士,从事中药饮片质量研究与炮制机制研究, Tel:0791-87118852, E-mail: yuhuanhebei@163.com

[通讯作者] * 龚千锋,博士生导师,教授,从事中药炮制传承、饮片质量标准与炮制机制研究, Tel:0791-87118852, E-mail: gongqf2002@163.com

枳实味苦、辛、酸,性微寒,具有破气消积、化痰散痞的作用^[1],为了消除其燥性和酸性,临床常选用炮制品入药^[2]。江西樟帮炮制法和建昌帮炮制法是我国重要的两大传统炮制帮派,分别用麦麸、蜜糠作为辅料来炮制药材^[3-5]。麸炒枳实的相关研究,多应用黄酮类化学成分可评价枳实的炮制工艺^[6-7],麸炒挥发油方面的相关研究较少^[8],尚无将麦麸炮制品、蜜麸炮制品、蜜糠炮制品和生品进行统一比较研究的报道,但这对于解释枳实炮制机制和质量标准研究具有积极指导意义。本实验应用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)分析江西产枳实不同炮制品中挥发油类成分,为枳实炮制机制和质量标准研究提供参考。

1 材料

TN408LC 型红外测温枪(上海仪迷杰光电技术有限公司),CF-18 型电炒锅(广东省湛江市家用电器工业公司),7890A-5975C 型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司)。枳实药材购于江西樟树天齐堂饮片公司(产地江西,批号 1307021),经江西中医药大学中药鉴定教研室葛菲教授鉴定为 *Citrus aurantium* 的干燥未成熟果实。麦麸、谷糠、蜂蜜(江西樟树天齐堂饮片公司)。生枳实饮片(将枳实药材润软,切片,干燥,即得^[9])和麸枳实、蜜麸枳实、蜜糠枳实饮片(取净生枳实饮片,照 2010 年版《中国药典》一部麸炒法炒至色变深,将炒锅加热,投入相应辅料到锅中至烟起,加入适量生枳实,迅速翻动,炒至表面呈亮黄色时,取出,筛去辅料,分别得麸枳实、蜜麸枳实和蜜糠枳实)均为实验室自制。

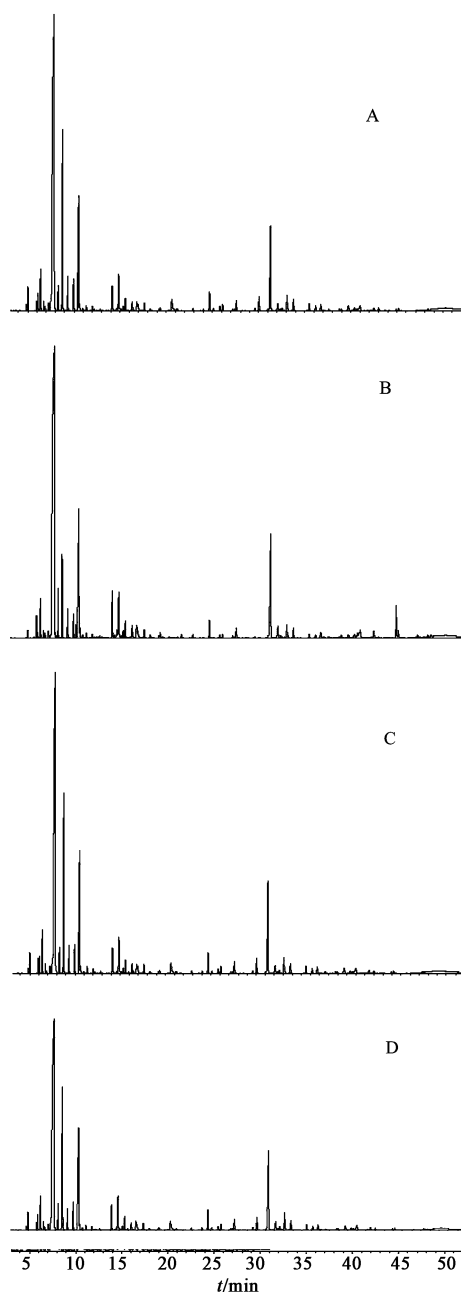
2 方法与结果

2.1 挥发油的提取与处理 将枳实饮片粉碎,按 2010 年版《中国药典》一部挥发油测定法(附录 X D 甲法)提取挥发油,计算供试品中挥发油得率 0.5%。挥发油经无水硫酸钠干燥和乙醚稀释后进行样分析。生枳实挥发油为淡黄色透明油,麸枳实、蜜麸枳实、蜜糠枳实的挥发油均为深黄色透明油,且具有特殊浓郁香气。

2.2 气相色谱分析条件 样口温度 260 ℃,传输线温度 250 ℃,载气为氦气,柱流速 1.0 mL·min⁻¹,分流比 30:1,进样量 2 μL,程序升温(柱温 70 ℃,以 2 ℃·min⁻¹升至 150 ℃;6 ℃·min⁻¹升至 186 ℃;60 ℃·min⁻¹升至 280 ℃,保持 1 min)。

2.3 质谱条件 电离方式为电轰击电离(EI),电子轰击能量 70 eV,离子源温度 230 ℃,加速电压 34.6 V,分辨率 2 500,倍增器电压 1 388 V,四极杆温度 150 ℃,扫描范围 *m/z* 40~350,扫描次数 4.45

次/s。江枳实生品、麸炒品、蜜麸品、蜜糠品挥发油总离子流见图 1。



A. 生品;B. 麸炒品;C. 蜜麸品;D. 蜜糠品

图 1 枳实不同炮制品中挥发油 GC-MS 总离子流

Fig.1 GC-MS total ion chromatograms of volatile oil in different processed products of *Aurantii Fructus Immaturus*

2.4 挥发油成分的鉴定 取枳实各炮制品适量,按 2.1 项下方法处理,按 2.2 和 2.3 项下条件检测,质谱图经计算机数据处理及 NST-11L 和 WILEY-275 标准质谱图库检索鉴定各种化学成份,并利用峰面积归一化法测定样品中各组分的相对质量分数,结果见表 1。

表1 枳实不同炮制品中挥发油成分的相对质量分数

Table 1 Names and relative mass fractions of ingredients in volatile oil from different processed products of *Aurantii Fructus Immaturus*

No.	化合物	相对质量分数/%			
		生枳实	麸枳实	蜜麸枳实	蜜糠枳实
1	糠醛		0.03		
2	β -蒎烯	0.56		0.52	0.53
3	对二甲苯	0.02			0.01
4	(1 <i>R</i>)-2,6,6-三甲基二环[3.3.1]庚-2-烯	0.61		0.54	0.51
5	β -水芹烯	0.31	0.74	0.45	0.27
6	β -月桂烯	1.47	1.55	1.50	1.38
7	辛醛	0.37	0.33	0.36	0.38
8	α -水芹烯	0.21	0.29	0.15	0.18
9	蒎品油烯	0.42	0.45	0.41	1.69
10	柠檬烯	45.14	46.33	44.68	40.89
11	1-甲基-5-异丙基环己烯	0.23			0.17
12	β -罗勒烯	0.85	1.39	0.85	0.96
13	γ -蒎品烯	9.69	2.66	8.97	9.85
14	反-对-孟-1,8-二烯-1-醇	0.15	0.62	0.16	
15	4-甲基-1-异丙基-二环[3.1.0]六-2-烯		0.03	0.14	
16	(1 <i>S</i>)-2,6,6-三甲基二环[3.1.0]庚-2-烯		0.22		
17	顺-对-孟-2,8-二烯-1-醇	0.18	0.19	0.23	0.19
18	香茅醛	0.07	0.08	0.12	0.09
19	5-甲基-2-呋喃醛		0.07		
20	5-甲基-3-异丙基环己烯	0.10		0.11	0.10
21	2-甲基-5-异丙基-2-环己烯-1-醇	0.62	0.93	0.72	0.60
22	6,6-二甲基-2-亚甲基双环[3.1.1]庚烷		0.19		
23	2-乙基-5-甲基-5-乙烯基-四氢呋喃	1.37	1.00	1.10	0.92
24	2-甲基-5-异丙基-双环[3.1.0]六-2-烯	0.16			0.12
25	苯乙醛		0.09		
26	1,3,8-对-孟-三烯	0.09	0.14	0.08	0.09
27	苯甲酸甲酯		0.61		
28	(-)-4-蒎品醇	1.39	2.37	1.37	1.58
29	4,5-二甲基-2-乙基苯酚	0.16			0.10
30	反-对-孟-2,8-二烯-1-醇	0.29	0.27	0.37	0.28
31	3,7-二甲基-1,5,7-辛三烯-3-醇		0.52		
32	2,6-二甲基-1,3,5,7-辛四烯		0.05		
33	(+)-4-萜烯	1.52	1.23	1.19	0.04
34	1-甲基-4-异丙基-2-环己烯-1-醇		0.08		
35	1-甲基-4-异丙基环己醇		0.05		
36	3,6,6-三甲基-环己烯-2-烯醇	0.28			
37	葵醛	0.64	0.78	0.70	0.78
38	乙酸辛酯	0.06	0.04	0.07	0.10
39	2-甲基硒基乙醛		0.06		

续表 1

No.	化合物	相对质量分数/%			
		生枳实	麸枳实	蜜麸枳实	蜜糠枳实
40	异薄勒醇		0.08		
41	3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛	0.05	0.04	0.06	0.08
42	右旋香芹酮	0.50	0.39	0.54	0.47
43	1-(2-甲基咪唑基)-1 <i>H</i> -吡咯		0.18		
44	α -松油醇	2.14		2.09	2.27
45	2-乙酰甲基-3-萜烯	0.07			
46	3-甲基-2-丁烯醛		0.40	0.34	0.29
47	α -4-二甲基-3-环己烯-1-乙醛		0.04		
48	柠檬醛	0.08	0.10	0.10	0.08
49	乙酸橙花酯		0.95	1.24	
50	香茅醇		0.44	0.55	0.51
51	香叶醇	0.20	0.25	0.16	0.21
52	1-(4-异丙烯基环己烯基)-1-甲醛	0.26	0.40	0.25	0.24
53	4-乙烯基-4-甲基苯酚		0.12		
54	芳樟醇	7.91	9.07	8.49	10.37
55	11,11-二甲基-螺[2.9]-十二烷		0.08		
56	1,3,5-三甲基-双环[2.2.1]庚烷-2-酮			0.06	
57	$\alpha, \alpha, 4$ -三甲基苯甲醇			0.08	0.07
58	2,6,6-三甲基-三环[3.1.1]庚烷		0.06		
59	壬醛	0.39		0.38	0.37
60	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮		0.11		0.04
61	13-十四碳烯-11-炔-1-醇		0.08		
62	百里香酚	1.37		1.20	0.12
63	2-乙基-1,4-二甲基苯			0.08	0.08
64	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚		0.35		
65	3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇	1.08	0.86		1.37
66	1,5-二甲基-1,5-环二辛烯		0.16		
67	香芹酚乙酸酯			0.12	
68	十二醛	0.10		0.11	0.12
69	α -萜品醇		2.45		
70	4-乙烯基-4-甲基-3-异丙烯基-1-异丙基-环己烯			0.17	
71	3-乙烯基-1-异丙基-1,4-环己二烯				0.08
72	1-甲基-4-(1-甲基乙烯基)-2-环己烯-1-醇				0.28
73	对-伞花烃-7-醇	0.12			
74	2-甲基-5-异丙烯基-环己酮		0.11		
75	3-萜烯				0.04
76	橙花醇	0.63	0.95	0.63	0.71
77	对-孟-1,8-二烯-9-醇			0.13	
78	对-孟-1,8-二烯-2-醇				0.14
79	乙酸香叶酯	0.25	0.21	0.25	0.22

续表1

No.	化合物	相对质量分数/%			
		生枳实	麸枳实	蜜麸枳实	蜜糠枳实
80	3,9-环氧-对-孟-1,8-二烯				0.11
81	十一醛	0.14	0.07		0.11
82	2,6-二甲基-2,6-辛二烯		0.07	0.17	0.23
83	香芹醇	0.48			
84	α -胡椒烯	0.16	0.05	0.16	0.19
85	1-乙烯基-1-甲基-2,4-双异丙烯基-环己烷	0.36	0.19		
86	乙酸癸酯	0.09	0.10	0.10	0.11
87	石竹烯	0.65	0.55	0.67	0.74
88	顺式- β -法尼烯	0.94		1.03	1.00
89	十四醛		0.12	0.10	
90	1,2,4a,5,8,8a-六氢化-4,7-二甲基-1-异丙基-萘		0.36		
91	香树烯	0.23	0.03	0.25	0.15
92	γ -法尼烯		0.12		
93	γ -依兰油烯	0.09	0.11	0.05	0.08
94	α -依兰油烯	0.13	0.14	0.10	0.12
95	1,2,4a,5,6,8a-六氢化-4,7-二甲基-1-异丙基-萘		0.02		
96	3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷三烯-3-醇		0.25	0.37	
97	1a,2,3,5,6,7,7a,7b-八氢-1,1,4,7-四甲基-1 <i>H</i> -环丙基[e]萹		0.16		
98	1-甲基-5-亚甲基-1,6-环葵二烯	6.33	7.32	6.80	7.72
99	1,5,5-三甲基-6-亚甲基环己烯	0.55		0.58	
100	1,2,3,3a,4,5,6,7-八氢-1,4-二甲基-7-异丙基-萹		0.21		
101	对二乙胺基苯甲醛肟		0.11		
102	1,2,3,5,6,8a-六氢化-4,7-二甲基-1-异丙基-萘	0.90	0.65	0.73	0.84
103	1a,2,3a,4,5,6,7b-八氢-1,1,3a,7-四甲基-2-环丙基[d]萘		0.37		
104	α -法尼烯	1.11	0.70	1.08	1.25
105	2-萹烯	0.05	0.05	0.05	0.06
106	1,2,3,5,6,7,8,8a-八氢化-1,8a-二甲基-7-异丙烯基-萘	0.05		0.06	
107	β -愈创木烯		0.06		
108	1,2,3,4,5,6,7,8-八氢化-4,8a-二甲基-6-异丙烯基-萹			0.10	0.08
109	τ -木罗醇	0.31	0.33	0.27	0.27
110	1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢-a,a,4a,8-四甲基-2-萘甲醇		0.46		
111	长叶蒎烷		0.21	0.12	
112	β -胡椒烯	0.04			0.04
113	异丁子香烯		0.11		
114	3,7,11-三甲基四环[4.4.0.0(2,7)]-十二烷-3-烯		0.58		
115	1-氧化香树烯	0.12			
116	1 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,11 <i>R</i> -2,2,4,8-四甲基-萘胺	0.14			
117	2,6,10-三甲基-2,6,9,11-十二烷四烯醛		1.67	0.27	0.24
118	1-三十七烷醇		0.02		
119	8-十七烷烯		0.32		
120	2-氧化喇叭烯	0.55		0.60	0.49
121	4a,5,6,7,8,8a-六氢化-4,8a-二甲基-6-异丙烯基-萹	0.08			

续表 1

No.	化合物	相对质量分数/%			
		生枳实	麸枳实	蜜麸枳实	蜜糠枳实
122	十六碳酸		0.59		
123	石竹烯氧化物			0.08	
124	α -杜松醇			0.74	0.67
125	<i>N</i> -甲基-3-甲酰胺吡啶		0.22	0.03	
126	4,8a-二甲基-6-异丙烯基-1,2-环己二烯	0.28			
127	异喇叭烯				0.05
128	双环大根香叶烯				0.66
129	十六碳酸甲酯	0.10	0.16	0.09	0.09
130	三环[5.2.2.0(1,6)]十一烷-3-醇			0.13	
131	3,7,11-三甲基-1,6,10-十二碳三烯-3-醇	0.35			0.35
132	(-)-斯巴醇	0.48	0.48	0.53	0.49
133	4-甲基-4-乙烯基环己烯				0.06
134	愈创木酚磺酸钾-1,11-二烯				0.05
135	1,2,3,4,5,6,7,8-八氢化-1,4-二甲基-7-异丙烯基-萹	0.22			
136	1,2,3,5,6,7,8,8a-八氢化-1,4-二甲基-7-异丙烯基-萹	0.30	0.08	0.22	0.25
137	β -人参烯				0.18
138	香橙烯氧化物				0.11
139	2,6,10-三甲基-2,6,9,11-十二烷四烯	0.27			
140	1,3,3-三甲基-2-亚甲基环己醇			0.36	
141	1,2,4a,5,6,7-六氢化-2-萹胺				0.13
142	4,11-二甲基-二环[7.2.0]-十一烷-4-烯		0.15		
143	8-十七碳烯	0.13			
144	2-环己基环丙烷甲酰胺		0.03	0.08	
145	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	0.04			
146	4,4,11,11-四甲基-四环[6.2.1.0(3.8)0(3.9)]-7-十一醇				0.32
147	α -杜松醇	0.74	0.65		
148	顺罗汉柏烯			0.20	0.18
149	十四碳烷				0.13
150	γ -榄香烯	0.52	1.02	0.54	0.48
151	1,3,3-三甲基三环[2.2.1.0(2,6)]庚烷		0.03		
152	异蒲勒醇				0.03
153	6,8-二甲基-3-羧酸喹啉				0.31
154	草烯	0.18	0.09	0.20	0.20
155	<i>E,E,Z</i> -5,14-二甲基-1,3,12-十九烷三烯			0.14	
156	愈创木酚磺酸钾-9,11-二烯	0.03			
157	1-甲基-2-苯基-1H-吡啶			0.26	
158	11,13-二甲基-12-十四碳烯-醇				0.08
159	<i>E,E,Z</i> -5,14-二甲基-1,3,12-十九碳三烯		0.29		
160	β -榄香烯		0.41	0.40	
161	2-乙基吡啶	0.12		0.42	
162	2-乙基-7-苯基吡啶	0.54			
163	5-丁基-6-己基-八氢-1H-茛				0.16

3 讨论

4种枳实饮片中挥发油成分的种类及含量变化明显,经加热炮制后可鉴定出的成分数均较生品多,其中麸炒枳实鉴定出99种,蜜糠枳实鉴定出87种,蜜麸枳实鉴定出81种,生枳实鉴定出79种。四者共有挥发油成分42种。与枳实生品相比,麸炒后新增52种化合物,蜜麸炒后新增26种化合物,蜜糠炒后新增28种化合物。同时还有部分化合物含量增加或降低的现象。枳实生品中14种化合物在各炮制品中均未检测到,提示可能在炮制过程中发生了成分转化,如各炮制品中都有香茅醇产生和香芹醇的消失等变化现象。枳实挥发油的主要成分柠檬烯在不同炮制品含量差异较小,其中麸炒枳实含量最高(46.33%),蜜糠炒含量最低(40.89%)。 γ -萜品烯麸炒后含量降低较大,只有2.66%,而其他三种枳实饮片含量相近,均约9%。由于在炮制过程中,麦麸、蜜麸、蜜糠用量较少,辅料本身的挥发油成分对枳实炮制品的影响较小。结果提示炮制过程中加热作用或其与辅料的交互作用可能是导致挥发油含量与种类变化的关键因素。

樟帮炮制法和建昌帮炮制法作为两大重要的传统炮制帮派,他们不仅在炮制方法上各具特色,炮制辅料也各有特点,麦麸、米糠分别是樟帮、建昌帮炮制法常用固体辅料中的1种。研究认为麦麸、米糠可以吸油,在与药物共同加热下会带走中药中含有的一些油性成分。本文研究结果表明,麦麸、米糠对中药的影响在于辅料与炮制过程的其他因素(如加热)等一起发挥了综合作用,使药材发生了一系列

化学成分的改变,进而影响其疗效。枳实生品偏于行气除胀,麸炒后作用较为缓和,偏于理气健脾。蜂蜜是中药炮制中常用的液体辅料,蜜炙中药可增强药物的止咳润肺和补脾益气作用^[9]。本文通过对江西产枳实不同炮制品中挥发油成分的分析,为枳实饮片的质量标准研究提供了实验依据,结合指纹图谱研究和药效学研究,可为阐明枳实饮片的炮制机制提供更科学合理的理论依据。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:230-231.
- [2] 罗小泉,杨武亮,周至明,等. 中药枳实药材的研究概况[J]. 江西中医学院学报,2004,18(2):45-47.
- [3] 龚千锋. 樟树中药炮制全书[M]. 南昌:江西科学技术出版社,1990:238.
- [4] 胡志方. 盱江医学纵横[M]. 北京:人民卫生出版社,2012:160.
- [5] 江西省食品药品监督管理局. 江西省中药饮片炮制规范[M]. 上海:上海科学技术出版社,2009:575.
- [6] 曹君,龚千锋,王少军,等. 多指标正交优选枳实麸炒工艺[J]. 中成药,2005,27(3):294-296.
- [7] 张金莲,何敏,谢一辉,等. 正交法优选蜜麸炒樟帮枳实炮制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(10):8-10.
- [8] 龚千锋,钟凌云,曹君,等. 不同产地枳实饮片炮制前后挥发油 GC-MS 分析[J]. 中成药,2007,29(11):1639-1644.
- [9] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京:中国中医药出版社,2012:162.

[责任编辑 刘德文]