

基于 GC-MS 分析蜜炙对甘草中挥发性成分的影响

周倩^{1,2}, 王亮^{1,2}, 戴衍朋², 周洪雷^{1*}

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东省中医药研究院, 济南 250014)

[摘要] 目的:分析蜜炙对甘草中挥发性成分组成及相对质量分数的影响,为该炮制品的炮制机制研究提供参考。方法:采用水蒸气蒸馏法提取挥发油,利用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对甘草不同样品中的挥发油成分进行确认,Restek Rxi-5ms 毛细管柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm),程序升温(40 °C,保持 5 min,以 7 °C·min⁻¹升温至 170 °C,保持 40 min,以 2.0 °C·min⁻¹升温至 220 °C,以 5.0 °C·min⁻¹升温至 280 °C),流量 1.0 mL·min⁻¹,载气为氦气;离子源为电子轰击电离源,分流比 29:1,电子能量 70 eV,离子源温度 200 °C,接口温度 280 °C,溶剂延时 3.5 min,检测器电压 0.8 kV,灯丝发射电流 750 μA,倍增器电压 1.2 kV。以面积归一化法计算各组分的相对质量分数。结果:生甘草中鉴定出 36 种成分,炙甘草中鉴定出 20 种成分。其中有 4 种为二者的共有组分,分别为乙苯、环己酮、邻苯二甲酸丁基 2-戊基酯和 6,6-二甲基富烯。甘草蜜炙后,4 个共有组分的相对含量均有明显变化,分别由 0.03%, 0.12%, 0.14%, 0.12% 提高到 3.37%, 13.24%, 7.57%, 10.84%。结论:甘草蜜炙后,其挥发性成分的组成和相对质量分数均发生非常显著的变化。

[关键词] 甘草; 蜜炙; 挥发油; 乙苯; 环己酮; 邻苯二甲酸丁基 2-戊基酯; 6, 6-二甲基富烯

[中图分类号] R283;R943.1;R284;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)17-0087-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017170087

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170609.1519.016.html>

[网络出版时间] 2017-06-09 15:19

Influence of Mix-fring with Honey Technics on Volatile Components of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Based on GC-MS

ZHOU Qian^{1,2}, WANG Liang^{1,2}, DAI Yan-peng², ZHOU Hong-lei^{1*}

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;

2. Shandong Academy of Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the influence of mix-fring with honey technics on volatile components of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma. **Method:** Steam distillation was used to extract the volatile oil from Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and GC-MS was used to analyze and identify these components, carrier gas was helium, temperature was rose by program, ionization mode was electron bombardment ion source. The relative contents of each component was calculated by area normalization method. **Result:** After analysis and identification, 36 components were identified in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, 20 components were identified in its processed product and there were 4 common components, including ethylbenzene, 6, 6-dimethylfenene, cyclohexanone and phthalic acid, butyl 2-pentyl ester. Before and after mix-fring with honey, the relative contents of 4 common components also had obvious changes from 0.03%, 0.12%, 0.12%, 0.14% to 3.37%, 10.84%, 13.24%, 7.57%, respectively. **Conclusion:** The mix-fring with honey technics can change the compositions and contents of volatile components in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma.

[收稿日期] 20170214(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81603299);山东省自然科学基金项目(ZR2013HQ029);山东省重点研发项目(2016GSF202004)

[第一作者] 周倩,助理研究员,从事中药炮制及天然药物有效成分质量控制研究,Tel:0531-82949803,E-mail:merveilleqq@163.com

[通讯作者] *周洪雷,博士,教授,从事中药及天然药物有效成分质量控制研究,Tel:13964017341,E-mail:zhouhongleitcm@163.com

[Key words] Glycyrrhizae Radix et Rhizoma; mix-fring with honey; volatile oil; ethylbenzene; cyclohexanone; phthalic acid, butyl 2-pentyl ester; 6, 6-dimethylfenene

甘草为临床最常用的传统中药之一,素有“十方九草”之称。甘草在临床上以生品、炙品2种规格入药。甘草中主要成分为黄酮类和三萜类成分,目前对甘草生品、炙品的研究多针对这类成分展开。甘草具有轻微的豆香气,微甜而特殊,蜜炙后豆香气消失。甘草豆香气与其挥发性成分有一定的关系^[1],近年来有少量关于甘草挥发油的研究报道^[2-3],但对蜜炙后产生的挥发油组成成分变化均未见报道。故本实验以水蒸气蒸馏法分别提取了生甘草和蜜炙甘草样品中的挥发性成分,采用GC-MS进行分析,并比较了两者的差异,为进一步研究蜜炙对甘草挥发性成分的影响奠定基础,也为探讨甘草蜜炙原理提供一定的数据支持。

1 材料

GC-MS QP2010型气质联用仪(日本岛津公司),XS205型1/10万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。炼蜜(自制,取适量蜂蜜,中火加热至沸腾后,改小火加热至116~118℃,出现浅黄色、有光泽、翻腾的均匀细气泡,停止加热,放凉,备用),甘草饮片(济南市中鲁医院药房,产地内蒙古,经山东省中医药研究院林慧彬研究员鉴定为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根和根茎加工的饮片),炙甘草饮片(自制,照2015年版《中国药典》蜜炙法加工制得,生甘草100g经蜜炙可得炙甘草110g),枣花蜂蜜[北京同仁堂蜂产品(江山)有限公司],试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取 采用水蒸气蒸馏法提取^[4]。取甘草饮片粉末100g(炙甘草饮片按得率称取110g),分别置圆底烧瓶中,各加7倍量水浸泡1h后于挥发油提取器上蒸馏5h,各平行操作2份。将挥发油提取器中油和水移入分液漏斗中,用水10mL分次洗涤容器,并入分液漏斗中。用乙酸乙酯强力振摇提取3次,每次5mL,合并乙酸乙酯液,加乙酸乙酯定容至50mL。精密吸取1mL置25mL量瓶中,加乙酸乙酯定容至刻度。加无水硫酸钠3g吸水干燥,冷藏备用。

2.2 空白样品的制备 取上述乙酸乙酯溶剂,加入无水硫酸钠吸水干燥,冷藏备用。

2.3 气相色谱条件 Restek Rxi-5ms毛细管柱(0.25mm×30m,0.25μm),进样量1μL,程序升

温(40℃,保持5min,以7℃·min⁻¹升温至170℃,保持40min,以2.0℃·min⁻¹升温至220℃,以5.0℃·min⁻¹升温至280℃),流量1.0mL·min⁻¹,载气为氦气。

2.4 质谱条件 离子源为电子轰击电离源(EI),分流比29:1,电子能量70eV,离子源温度200℃,接口温度280℃,溶剂延时3.5min,检测器电压0.8kV,灯丝发射电流750μA,倍增器电压1.2kV, *m/z* 50~500。

2.5 挥发油的定性分析 按上述GC-MS检测条件对甘草生品和蜜炙品进行分析与测定,扣除背景峰,得到甘草生品和蜜炙品的总离子流色谱图,见图1。对总离子流色谱图中的各峰经质谱扫描后得到质谱图,运用NIST08图谱库检索,生甘草中鉴定出36种组分,见表1,炙甘草鉴定出20种组分,见表2。二者共有成分4种,见表3。由图1可知,甘草蜜炙后,挥发性成分在组成和含量上均发生了非常明显的变化。

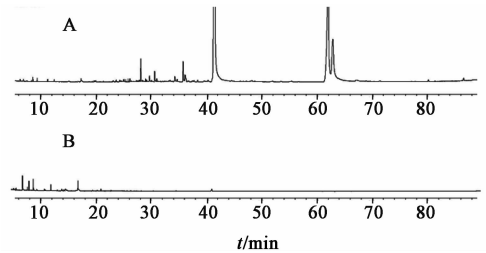


图1 生甘草(A)和蜜炙甘草(B)的GC-MS总离子流
Fig.1 Total ion current of raw product(A) and processed product (B) of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma by GC-MS

3 讨论

目前关于甘草中挥发油的研究较少,“豆香气”为鉴别甘草质量优劣的主要特征之一,传统上更是将“豆香气浓”作为优级饮片的必备特性,因此必然与其质量和药效有着密切的联系,目前虽未见甘草挥发油药理作用的相关研究报道,但不能简单忽视该类成分。本文按实验条件进行测试分析,经过计算机数据系统检索,从生甘草中鉴定出36个化合物,生甘草中相对质量分数>0.5%的成分有十六醛、菲、顺、顺-7,10-十六碳烯醛、顺、顺、顺-7,10,13-十六碳三烯醛、亚油酸、亚麻酸和L-抗坏血酸-2,6-二棕榈酸酯,总占比达97.14%,其他成分相对质量分数较低。并首次对炙甘草饮片挥发油组成进行

表 1 生甘草样品中挥发油的 GC-MS 分析

Table 1 GC-MS analysis of volatile oil in raw product of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*

No.	t_R /min	化合物		化学式	相对分子质量/Da	相对质量分数/%	相似度/%
		中文名	英文名				
1	5.11	螺环[2,4]庚-4,6-二烯	spiro[2.4]hepta-4,6-diene	C_7H_8	92	0.12	89
2	6.24	2,3-二甲基戊烷	2,3-dimethyl-pentane	C_7H_{16}	100	0.06	83
3	6.82	乙酸丁酯	<i>n</i> -butyl acetate	$C_6H_{12}O_2$	116	0.05	94
4	8.26	乙苯	ethylbenzene	C_8H_{10}	106	0.03	84
5	8.53	6,6-二甲基富烯	6,6-dimethylfenene	C_8H_{10}	106	0.12	89
6	9.30	环己酮	cyclohexanone	$C_6H_{10}O$	98	0.12	87
7	11.22	正辛醇	<i>n</i> -octanol	$C_8H_{18}O$	130	0.06	86
8	12.43	2-甲基二十二烷	2-methyldocosane	$C_{23}H_{48}$	324	0.05	72
9	17.26	3,7-二甲基壬烷	3,7-dimethylnonane	$C_{11}H_{24}$	156	0.06	87
10	19.73	反式-2,4-癸二烯醛	(<i>E,E</i>)-2,4-decadienal	$C_{10}H_{16}O$	152	0.03	76
11	19.91	十六烷酸(2-十五烷基-1,3-二氧戊环-4-基)甲酯	hexadecanoic acid (2-pentadecyl-1,3-dioxolan-4-yl) methyl ester	$C_{44}H_{58}O_5$	552	0.03	67
12	23.63	二苯并呋喃	dibenzofuran	$C_{12}H_8O$	86	0.04	86
13	24.28	月桂酸	dodecanoic acid	$C_{12}H_{24}O_2$	200	0.03	75
14	24.94	芴	fluorene	$C_{13}H_{10}$	166	0.05	86
15	25.04	2,3,5-三甲基萘	2,3,5-trimethyl-naphthalene	$C_{13}H_{14}$	170	0.04	76
16	25.36	十五醛	pentadecanal	$C_{15}H_{30}O$	226	0.06	83
17	25.78	4-联苯甲醛	4-biphenylcarboxaldehyde	$C_{13}H_{10}O$	182	0.09	85
18	26.10	9-羟基芴	9-hydroxyfluorene	$C_{13}H_{10}O$	182	0.12	84
19	27.85	2-甲基芴	2-methylfluorene	$C_{14}H_{12}$	180	0.12	83
20	28.07	十六醛	hexadecanal	$C_{16}H_{32}O$	240	0.97	91
21	28.95	1,4,5,8-四甲基萘	1,4,5,8-tetramethylnaphthalene	$C_{14}H_{16}$	184	0.11	63
22	29.12	1,2-二甲基萘并[2,1-b]呋喃	1,2-dimethylnaphtho [2,1-b]furan	$C_{14}H_{12}O$	196	0.08	71
23	29.65	十四酸	tetradecanoic acid	$C_{14}H_{28}O_2$	228	0.25	85
24	30.03	苯甲酸苄酯	benzyl benzoat	$C_{14}H_{12}O_2$	212	0.05	65
25	30.59	菲	phenanthrene	$C_{14}H_{10}$	178	0.51	94
26	30.96	9-亚甲基芴	9-methylene-fluorene	$C_{14}H_{10}$	178	0.15	76
27	34.24	十五酸	pentadecanoic acid	$C_{15}H_{30}O_2$	242	0.28	87
28	34.66	邻苯二甲酸	phthalic acid	$C_{16}H_{20}O_4$	276	0.13	89
29	35.76	顺,顺-7,10-十六碳烯醛	<i>cis,cis</i> -7,10-hexadecadienal	$C_{16}H_{28}O$	236	1.35	91
30	36.13	顺,顺,顺-7,10,13-十六碳三烯醛	<i>cis,cis,cis</i> -7,10,13-hexadecatrienal	$C_{20}H_{34}O_2$	306	0.56	87
31	40.98	邻苯二甲酸丁基-2-戊基酯	phthalic acid, butyl 2-pentyl ester	$C_{17}H_{24}O_4$	292	0.14	86
32	41.49	<i>L</i> -抗坏血酸-2,6-二棕榈酸酯	<i>L</i> -(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	$C_{38}H_{68}O_8$	652	54.10	91
33	62.04	亚油酸	(<i>Z,Z</i>)-9,12-octadecadienoic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	280	26.40	93
34	62.85	亚麻酸	9,12,15-octadecatrienoic acid	$C_{18}H_{30}O_2$	278	13.25	89
35	80.13	2-乙基-2-甲基-十三烷醇	2-ethyl-2-methyl-tridecanol	$C_{16}H_{34}O$	242	0.17	81
36	86.52	8-己基十五烷	8-hexyl-pentadecane	$C_{21}H_{44}$	296	0.21	83

了研究和分析,结果从炙甘草中鉴定出 20 个化合物,且各成分相对质量分数均 >0.5%。

目前蜜炙对甘草挥发油成分的影响未见相关报道,本文比较了甘草蜜炙前后挥发油的成分组成及相对质量分数,结果发现甘草蜜炙后挥发油成分在组成和含量上均发生了非常明显的变化,甘草中大部分挥发油成分尤其是保留时间 >20 min 的成分在

炒炙过程中几乎损失殆尽,表明蜜炙对甘草挥发油成分影响显著。生甘草豆香气在蜜炙后消失,推测为豆香气可能主要与保留时间 >20 min 的化学成分有关。已有研究表明中药挥发油类物质在抗菌、抗炎、抗肿瘤及促进药物吸收等多方面均具有一定作用^[5-12],且挥发油的来源和组成不同则药效各异。甘草蜜炙后挥发油成分及含量发生了非常明显的变

表 2 炙甘草样品中挥发油的 GC-MS 分析

Table 2 GC-MS analysis of volatile oil in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma fried with honey

No.	t_R /min	化合物		化学式	相对分子质量/Da	相对质量分数/%	相似度/%
		中文名	英文名				
1	5.840	3-甲基-2-丁烯醛	3-methyl-2-butenal	C_5H_8O	84	1.47	82
2	6.280	草酸丁基异己基酯	oxalic acid, butyl isohexyl ester	$C_{12}H_{22}O_4$	342	2.94	85
3	6.560	2-甲基四氢呋喃-3-酮	dihydro-2-methyl-3(2H)-furanone,	$C_5H_8O_2$	100	0.75	85
4	7.400	糠醛	furfural	$C_5H_4O_2$	96	20.94	98
5	8.290	乙苯	ethylbenzene	C_8H_{10}	106	3.37	84
6	8.550	6,6-二甲基富烯	6,6-dimethylfenene	C_8H_{10}	106	10.84	90
7	9.300	环己酮	cyclohexanone	$C_6H_{10}O$	98	13.24	94
8	9.905	2-乙酰基呋喃	2-acetylfuran	$C_6H_6O_2$	110	2.34	91
9	11.315	苯甲酰甲酸	benzoylformic acid	$C_8H_6O_3$	150	1.68	85
10	11.449	5-甲基呋喃醛	5-methyl-furfural	$C_6H_6O_2$	110	1.51	89
11	12.430	癸烷	decan	$C_{11}H_{24}$	142	5.17	93
12	13.585	苯乙醛	benzeneacetaldehyde	C_8H_8O	120	0.78	84
13	14.340	(E)-氧化芳樟醇	(E)-linalool oxide	$C_{10}H_{18}O_2$	170	3.51	81
14	14.730	(Z)-氧化芳樟醇	(Z)-linalool oxide	$C_{10}H_{18}O_2$	170	2.15	78
15	15.005	丙酸芳樟酯	linalyl propionate	$C_{13}H_{22}O_2$	210	1.68	73
16	17.255	十二烷	dodecane	$C_{12}H_{26}$	170	14.12	92
17	17.390	α -丙基苯乙醇	α -propyl-benzeneethanol	$C_{11}H_{16}O$	164	2.67	64
18	17.495	己酸异丙基苯酯	hexanoic acid,4-isopropylphenyl ester	$C_{15}H_{22}O_2$	234	0.97	73
19	26.571	柠檬酸三乙酯	ethyl citrate	$C_{12}H_{20}O_7$	276	0.77	83
20	41.001	邻苯二甲酸丁基 2-戊基酯	phthalic acid, butyl 2-pentyl ester	$C_{17}H_{24}O_4$	292	7.57	90

表 3 甘草蜜炙前后挥发油中共有成分的相对质量分数比较

Table 3 Comparison of relative percentage of 4 common components in volatile oil from Glycyrrhizae Radix et Rhizoma before and after processing

No.	化合物	相对质量分数/%	
		生甘草	炙甘草
1	乙苯	0.03	3.37
2	6,6-二甲基富烯	0.12	10.84
3	环己酮	0.12	13.24
4	邻苯二甲酸丁基 2-戊基酯	0.14	7.57

化,颜色也较生甘草略有加深,这些变化与其功效作用之间是否存在某种关联尚未可知,后续将就这些方面进行研究。

[参考文献]

[1] 梁勇,典灵辉,方昆阳,等.甘草挥发性成分 GC-MS 分析[J].西北药学杂志,2005,20(1):3-5.
 [2] 郭耀,尚琼,汪森,等.甘草挥发油的提取及鉴定分析[J].甘肃高师学报,2013,18(2):37-41.
 [3] 禹晓梅.甘草挥发性成分的气相色谱-质谱联用分析[J].安徽农业科学,2010,38(2):735-736.
 [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.四部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:203-204.

[5] 季芳,黄国兴.阿魏酸和川芎挥发油对大鼠实验性高血脂血症的不同影响[J].中国药师,2007,10(7):634-637.
 [6] 于欢,钟凌云,宁希鲜,等.枳实不同炮制品挥发油 GC-MS 分析[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(15):12-18.
 [7] 王勇,赵艳红. SFE-CO₂ 等方法提取没药化学成分及其 GC-MS 研究[J].中草药,2005,36(6):821-823.
 [8] 唐裕芳,张妙玲,陶能国,等.苍术挥发油的提取及其抑菌活性研究[J].西北植物学报,2008,28(3):588-589.
 [9] 石雪蓉,顾健,谭睿.姜黄挥发油抗肿瘤作用机制研究[J].中药药理与临床,2003,19(6):15-16.
 [10] 文波,令狐克刚,徐旖旎,等.艳山姜挥发油抑制 JNK1/2/3 磷酸化对 ox-LDL 诱导的 HAECs 损伤的影响[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(22):112-115.
 [11] 王艳宏,刘书博,王锐,等.中药挥发油促透皮吸收及透皮吸收作用的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(3):192-199.
 [12] 羊青,晏小霞,王茂媛,等.不同产地姜黄挥发油的化学成分及其抗氧化活性[J].中成药,2016,38(5):1188-1191.

[责任编辑 刘德文]