

顶空进样 GC-MS 分析柴胡不同炮制品的挥发性成分

叶耀辉¹, 张博文¹, 郑红梅¹, 史毅¹, 马越兴², 于欢¹, 龚千锋^{1*}

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 江西中医药大学科技学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的:研究柴胡不同炮制品中的挥发性成分,为揭示“勿令犯火”的炮制规律提供参考。方法:采用顶空进样 GC-MS 分析。采用 HP-5 MS 色谱柱。初始温度 60 ℃,保持 2 min;以 10 ℃·min⁻¹至 250 ℃,保持 10 min。电离方式为电子轰击,电子能量 70 eV,离子源温度 230 ℃,四级杆温度 150 ℃,进样量 1 μL。采用面积归一化法测定挥发性成分的相对含量并对其进行鉴定。结果:生品柴胡挥发性成分占总检出物的 89.21%,鳖血拌制柴胡 97.37%,鳖血炒制柴胡 98.00%,酒制柴胡 94.90%,醋制柴胡 98.88%。各炮制品均共有戊醛、己醛、庚醛和 1-戊醇等成分。其中己醛为生品柴胡、鳖血拌制柴胡及鳖血炒制柴胡中含量最高成分。戊醛、庚醛和 2-戊基呋喃在鳖血炒制柴胡中的含量均高于其他炮制品。己酸为醋制柴胡中独有成分。结论:柴胡不同炮制品的挥发性成分差异较大,可能是其发挥药效的重要物质基础。

[关键词] 柴胡;挥发性成分;炮制品;鳖血;戊醛;1-戊醇

[中图分类号] R283;R943.1;R284.1;R917 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)18-0011-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017180011

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170628.1618.028.html>

[网络出版时间] 2017-06-28 16:18

Analysis of Volatile Components in Different Processed Products of Bupleuri Radix by Headspace Injection Combined with GC-MS

YE Yao-hui¹, ZHANG Bo-wen¹, ZHENG Hong-mei¹, SHI Yi¹,

MA Yue-xing², YU Huan¹, GONG Qian-feng^{1*}

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China;

2. Science and Technology College of Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To study on volatile components in different processed products of Bupleuri Radix, and to reveal the processing rule of ‘don’t make a fire’. **Method:** Analysis was adopted by headspace injection combined with GC-MS, HP-5 MS column was used; the initial temperature was 60 ℃, which maintained 2 min, with the pace of 10 ℃·min⁻¹ to become 250 ℃, which maintained 10 min. Ionization mode was electron impact (EI), electron energy was 70 eV, the ion source temperature was 230 ℃, quadrupole temperature was 150 ℃, injection volume was 1 μL, the relative content of volatile components were determined by area normalization method, and its compounds were identified by headspace injection combined with GC-MS. **Result:** The volatile components in crude Bupleuri Radix accounted for 89.21% of total detective, turtle blood mixed Bupleuri Radix occupied 97.37%, turtle blood fired Bupleuri Radix occupied 98.00%, Bupleuri Radix processed by wine occupied 94.90% and Bupleuri Radix processed by vinegar occupied 98.88%. The processed products were a total of pentanal, 1-pentanol, hexanal, heptaldehyde and other ingredients, hexanal was the highest

[收稿日期] 20170323(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81260642);江西省研究生创新专项(YC2015-B066)

[第一作者] 叶耀辉,在读博士,教授,从事中药炮制机制研究,Tel:0791-87118716,E-mail:yeyaoahui791@qq.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:gongqf2006@163.com

components in crude Bupleuri Radix, turtle blood mixed Bupleuri Radix and turtle blood fired Bupleuri Radix. The contents of pentanal, heptaldehyde and 2-pentylfuran in turtle blood fired Bupleuri Radix were higher than those of the other processed products. Hexanoic acid was the unique component in Bupleuri Radix processed by vinegar. **Conclusion:** The volatile components in different processed products of Bupleuri Radix have great difference, which is an important material basis for their efficacy.

[Key words] Bupleuri Radix; volatile components; processed products; turtle blood; pentanal; 1-pentanol

柴胡是常用的传统中药之一,按性状不同,分别习称“北柴胡”和“南柴胡”。其味辛、苦,性微寒,归肝、胆、肺经,具有解表退热、疏肝解郁、升举阳气之功效^[1]。柴胡有生用、酒制、醋制、蜜制、鳖血制、麸炒、蜜麸制等炮制方法,临床以生品和醋制品最为常用,且为 2015 年版《中国药典》^[2]收录的炮制方法;据 1988 年版《全国中药炮制规范》^[3]中记载有柴胡酒制及鳖血炒制方法;鳖血拌柴胡见于《中药炮制经验集成》^[4],且各地区的炮制方法不一样。柴胡炮制方法不同,其药理作用也不尽相同。一般认为生品的升散作用较强;而醋制能缓解升散之性,疏肝止痛;酒炒升举脾胃;麸炒和中而不伤膈;蜜水炒,以节其性,恐走汗伤阴;鳖血制能抑制升浮之性,增强疏肝退热、截疟的功能^[5]。

柴胡的炮制研究最早见于《雷公炮炙论》^[6]中“柴胡……勿令犯火,立便无效也”。此后诸多文章也提及柴胡“勿令犯火”一说,根据《中药炮制学辞典》中^[7]对该名词解释为不能用火或加热的方法炮制;但柴胡各不同炮制品(如醋制、酒制、鳖血炒制)都是需要炒制后才能制成相应炮制品,且炮制后药理作用均有所加强,与“勿令犯火”一说相违背,目前未见文献报道此类缘由。本实验拟选择柴胡鳖血拌制组进行气质分析,并与其他炮制组相比较,旨在揭示其炮制规律。顶空进样技术可实现样品固态进样,从而简化样品前处理过程,且具有干净、快速等优点,适合于分析含挥发性成分的物质,故本实验采用动态顶空进样分析柴胡不同炮制品的挥发性成分,为探究炮制对柴胡中化学成分的影响具有重大意义。

1 材料

6890-5973i 型气质联用仪(美国 Agilent 公司), DFY-400 型摇摆式高速中药粉碎机(温岭市林大机械有限公司)。柴胡药材(批号 20151012)购于陕西省宝鸡市陈仓区种植基地,经江西中医药大学龚千锋教授鉴定为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* 的根;中华鳖(批号 20160915)购于江西省军山湖甲鱼

养殖基地,经江西中医药大学龚千锋教授鉴定为鳖科动物鳖 *Trionyx sinensis*;黄酒(北京二商王致和食品有限公司,批号 20151127),米醋(山西紫林醋业股份有限公司,批号 20150809),试剂均为化学纯。

2 方法

2.1 柴胡不同炮制品制备

2.1.1 生品柴胡 取柴胡药材适量,根据 2015 年版《中国药典》,除去杂质和残茎,洗净,润透,切厚片,干燥,即得。

2.1.2 鳖血拌柴胡 参考《中药炮制经验集成》,以鳖血炒柴胡的炮制工艺为依据,制备鳖血拌柴胡,柴胡每 100 kg 淋入新鲜鳖血 15 kg,拌匀闷润,待鳖血吸尽,取出晾干,备用。

2.1.3 鳖血炒柴胡 参考 1988 年版《全国中药炮制规范》制备鳖血炒柴胡饮片,柴胡每 100 kg 用新鲜鳖血 15 kg,浸润,待鳖血吸尽后,于铜锅内 110 ℃ 炒制 15 min,取出晾干。

2.1.4 酒制柴胡 参考 1988 年版《全国中药炮制规范》,取柴胡饮片,加黄酒拌匀,稍焖润,待黄酒被吸尽后,置炒制容器内,用文火加热,炒至表面呈棕黄色时,取出冷却。按规定,柴胡每 100 kg 用黄酒 10 kg。

2.1.5 醋制柴胡 根据 2015 年版《中国药典》,取柴胡饮片,加米醋拌匀,闷透,置炒制容器内,炒至表面呈棕黄色时,取出,放凉。按规定,柴胡每 100 kg 用米醋 20 kg。

2.2 顶空 GC-MS 分析

2.2.1 顶空进样条件 柴胡各炮制品粉碎过 60 目筛,准确称取粉末 1.0 g,置 10 mL 顶空进样瓶中。加热箱温度 90 ℃,定量环温度 105 ℃,传输线温度 115 ℃,样品瓶平衡时间 25 min,进样持续时间 1 min,GC 循环时间 35 min,GC 控制载气。

2.2.2 GC-MS 条件 GC 条件设置为采用 HP-5 MS 色谱柱,载气氦气,进样口温度 300 ℃,柱流量 1 mL · min⁻¹。程序升温条件(初始温度 60 ℃,保持 2 min,以 10 ℃ · min⁻¹至 250 ℃,保持 10 min),分

流比 5:1。MS 条件为电离方式电子轰击 (EI), 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 ℃, 四级杆温度 150 ℃, 进样量 1 μL, 溶剂延迟时间 1.5 min, 扫描范围 m/z 33 ~ 350。检索谱库为 NIST14. L 质谱数据库。

3 结果

3.1 不同柴胡炮制品的总离子流图 根据 2.2 项下条件进样分析, 得不同柴胡炮制品的总离子流图, 结果发现柴胡各炮制品挥发性成分不尽相同, 且含

量有差异。

3.2 不同柴胡炮制品的 GC-MS 分析 见表 1, 未被明确鉴定出的物质没有在表 1 中列出。根据不同炮制品检出物种类结果可得, 挥发性成分种类排列顺序为酒制品 (32 种) > 醋制品 (31 种) > 鳖血拌制品 (30 种) > 鳖血炒制品 (29 种) > 生品 (23 种), 这可能与炮制时辅料种类、辅料用量、炮制时间、炮制温度、炮制方法等因素有关。

表 1 柴胡各炮制品的 GC-MS 分析

Table 1 GC-MS analysis of processed products of Bupleuri Radix

No.	t_R /min	化合物	相对质量分数/%				
			生品	鳖血拌制品	鳖血炒制品	酒制品	醋制品
1	1.750	2-甲基丙醛	3.92	4.51	-	5.71	-
2	2.039	乙酸	-	-	-	-	81.22
3	2.060	3-甲基丁醛	-	18.57	6.39	22.39	-
4	2.270	戊醛	12.49	10.98	13.05	9.19	2.46
5	2.530	3-甲基丁醇	-	-	-	2.00	-
6	2.679	二甲基二硫	-	-	0.79	-	-
7	2.682	3-己酮	-	0.34	-	-	-
8	2.820	1-戊醇	1.06	1.05	0.63	0.68	0.14
9	3.055	2,3-丁二醇	-	-	-	1.33	-
10	3.065	4-乙基环己烯	-	-	0.38	-	-
11	3.150	己醛	35.53	33.21	33.40	20.59	4.80
12	3.345	2-己醇	-	-	-	1.53	-
13	3.600	六甲基环三硅氧烷	0.54	0.35	0.43	-	-
14	3.470	环辛烯	-	-	0.44	-	-
15	4.035	1-丁醇	-	-	-	0.52	-
16	4.037	2-丙烯醛	0.48	-	-	-	-
17	4.370	2-庚酮	-	0.89	-	-	0.21
18	4.374	2-正丁基呋喃	-	-	1.22	-	-
19	4.510	庚醛	14.49	12.09	15.38	12.67	2.74
20	4.868	己酸甲酯	0.35	-	-	-	-
21	5.060	(1R)-2,6,6-三甲基双环[3.1.1]庚-2-烯	2.27	2.25	0.93	2.25	0.67
22	5.721	1-辛烯-3-醇	-	-	5.66	-	-
23	5.755	β -蒎烯	-	0.74	-	-	-
24	5.750	(1S)-6,6-二甲基-2-亚甲基二环[3.1.1]庚烷	1.03	-	-	0.95	-
25	5.767	己酸	-	-	-	-	3.03
26	5.793	2,3-辛二酮	-	-	0.43	-	-
27	5.849	3-辛酮	-	-	2.05	-	-
28	5.940	2-戊基呋喃	8.86	6.95	12.22	4.19	1.17
29	6.041	己酸乙酯	-	-	-	3.32	-
30	6.110	辛醛	2.97	2.60	2.82	2.54	0.55
31	6.500	对异丙基苯甲烷	-	-	-	0.34	0.10
32	6.502	1,3-二甲基-2-乙基苯	0.23	-	-	-	-
33	6.503	1,2-二甲基-4-乙基苯	-	0.15	-	-	-
34	6.570	D-柠檬烯	2.08	0.40	0.09	1.16	0.54
35	6.622	亚乙基环庚烷	-	0.11	-	-	-
36	7.018	6-溴-1-己烯	-	-	0.17	-	-
37	7.540	4-乙基环己醇	-	0.12	-	-	0.05
38	7.647	十一烷	2.13	1.21	0.29	2.81	0.63
39	7.731	壬醛	-	0.59	-	-	-
40	7.733	环庚烷	0.63	-	-	-	-
41	7.734	2-壬烯-1-醇	-	-	0.29	-	-
42	9.200	4-甲基-1-(1-甲基乙基)-2-甲氧基苯	0.15	0.16	-	0.15	0.03
43	11.789	α -葑烯	-	-	0.11	-	-
44	11.976	双环[10.1.0]十三碳-1-烯	-	-	-	-	0.06
45	12.101	N-2-丙烯基-2-丙烯-1-胺	-	0.10	-	-	-
46	12.320	[3R-(3 α ,3 β ,7 β ,8 α)]-2,3,4,7,8,8a-六氢-3,6,8,8-四甲基-1H-3a,7-氢呋喃-2-酮	-	-	0.83	0.58	0.35
47	12.440	大根香叶烯	-	-	-	-	0.10
48	13.490	(R)-1-甲基-4-(1,2,2-三甲基环戊基)-苯	-	-	-	-	0.03

4 讨论

以峰面积归一化法计算各挥发性成分相对质量分数,通过与NIST14.L质谱库中数据配对及人工分析,生品柴胡中挥发性成分占总检出物的89.21%,鳖血拌制柴胡97.37%,鳖血炒制柴胡98.00%,酒制柴胡94.90%,醋制柴胡98.88%。其大都为脂肪族类化合物,与文献[8]报道基本一致。戊醛、己醛和庚醛等为含量较高的共有成分,其中己醛为生品柴胡、鳖血拌制柴胡及鳖血炒制柴胡挥发性成分中含量最高的成分,可能是其发挥药理效用重要的物质基础之一;戊醛、庚醛和2-戊基呋喃在鳖血炒制柴胡中的含量均高于其他炮制品,可能与鳖血柴胡退虚热功效相对应。酒制柴胡中含量最高成分为3-甲基丁醛;酒制品中的3-甲基丁醇是其独有成分,推测极有可能是其3-甲基丁醛中的醛基(-CHO)还原为(-CH₂OH)转变而来;己酸乙酯只见于酒制品中,可能是在炮制过程中辅料黄酒中的乙醇参与了酯化反应所得。醋制柴胡挥发性成分与文献报道差别较大^[9]。文献报道己酸为柴胡发挥抗炎作用的物质^[10],而表1中数据显示,己酸只在醋制柴胡中被检测到,不能完全说明醋制柴胡抗炎作用强于其他炮制品,需进一步通过药理实验证明;己酸有可能是醋制品中乙酸在炮制过程中转化所得。根据不同炮制品检出物成分种类的结果,各炮制品中己醛含量均低于生品,鳖血拌制品与鳖血炒制品比较,前者中挥发性成分种类明显多于后者,且有些物质(如3-甲基丁醛、*D*-柠檬烯和十一烷等)含量也多于鳖血炒制品,由此古人谓之“勿令犯火”确有一定的根据。柴胡经不同方法炮制后,挥发性成分变化很大,2-丙烯醛、己酸甲酯、环庚烷等经炮制后消失,也产生出新物质如3-甲基丁醇,3-己酮,2,3-丁二醇, α -萜澄茄油烯等。生品中的1,3-二甲基-2-乙基苯,鳖血拌制品中的1,2-二甲基-4-乙基苯,醋制品及酒制品中的对异丙基苯甲烷互为同分异构体,可能与炮制过程相关。

柴胡挥发性成分种类较多且复杂,庞雪等^[11]研究柴胡经净制、醋炙、酒炙、麸炒、鳖血炙后挥发性成分的变化情况,结果发现无论种类还是含量均与本文中的结果有很大差别,初步判断可能与样品前处理方式的不同有极大关系。文献中是先通过水蒸气提取挥发性成分再进行气质分析,而本文采用样品粉末直接进行GC-MS分析。柴胡主要用于解表退热、疏肝解郁,本文未进行药理实验来说明不同炮制品的退热、抗抑郁等作用是否与挥发性成分差异有关,这是后续研究将进行的工作。

[参考文献]

- [1] 薛文峰,刘长利,张淑华,等.柴胡药材中的矿质元素与有效成分的相关性分析[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(8):45-49.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:280-281.
- [3] 中华人民共和国药政管理局.全国中药炮制规范[M].北京:人民卫生出版社,1988:85-87.
- [4] 中医研究院中药研究所,北京药品生物制品检定所.中药炮制经验集成[M].北京:人民卫生出版社,1963:125-127.
- [5] 张艳,邱云.柴胡炮制的现代研究进展[J].湖南中医杂志,2015,31(7):197-200.
- [6] 雷敦.雷公炮炙论[M].张骥,补辑.施仲安,校注.南京:江苏科学技术出版社,1985:34.
- [7] 叶定江,原思通.中药炮制学辞典[M].上海:上海科学技术出版社,2005:96.
- [8] 孟繁娜,郭楠.GC-MS测定黑柴胡和银州柴胡挥发油成分的比较研究[J].医药前沿,2013(13):194-195.
- [9] 白宗利,王岩,贾天柱.柴胡醋制前后挥发油成分的GC-MS分析[J].中成药,2009,31(9):1397-1398.
- [10] 施铮,陈仁寿,陈勇.不同方法提取的柴胡挥发油化学成分比较[J].南京中医药大学学报,2015,31(6):576-578.
- [11] 庞雪,廖念,周逸群,等.柴胡5种不同炮制品中挥发性成分的气相色谱-质谱联用分析[J].时珍国医国药,2017,28(1):108-110.

[责任编辑 刘德文]