

四制香附与生品香附挥发油成分的比较

胡律江^{1,3}, 胡志方², 郭慧玲^{1*}, 金鑫¹, 赵晓娟¹

(1. 江西中医学院, 南昌 330006; 2. 江西中医药高等专科学校, 江西 抚州 344000;
3. 湖南中医药大学, 长沙 410208)

[摘要] **目的:**研究建昌帮四制香附与生品香附挥发油成分的差异,探讨建昌帮四制法对挥发性成分的影响。**方法:**采用HPLC与GC-MS对香附炮制前后的挥发油成分进行比较分析。**结果:**HPLC法表明:四制香附与生品香附在主成分(相对峰面积>10%)种类上无明显差异(含3种),主成分相对峰面积略有不同。GC-MS气质联用检测结果表明,四制香附与生品香附所含化合物种类数量有所不同,从香附生品挥发油提取物中鉴别出33种化合物,四制香附挥发油提取物中鉴别出41种化合物。但主成分种类比较无明显差异,四制法主成分挥发油相对峰面积总体呈下降趋势。**结论:**四制香附挥发油提取物比生品香附挥发油提取物中成分种类增加20种,但对主成分相对峰面积进行比较含量略有差异,HPLC与GC-MS分析所得结果一致。

[关键词] 建昌帮; 四制香附; 挥发油; 高效液相色谱法; 气相色谱-质谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0112-05

Comparison of Volatile Oil Components from Four of *Cyperus rotundus* and Health Products of *Rhizoma Cyperi*

HU Lu-jiang^{1,3}, HU Zhi-fang², GUO Hui-ling^{1*}, JIN Xin¹, ZHAO Xiao-juan¹

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China;
2. Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 344000, China;
3. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** To study the volatile oil composition differences from Four of *Cyperus rotundus* of Jianchangbang and raw materials of *Cyperus rotundus*, and discuss the influence of Jianchangbang processing method on the volatile components. **Method:** The comparative analysis was performed with HPLC and GC-MS on the constituents of volatile oil of *Rhizoma Cyperi* before and after processing. **Result:** the HPLC method showed that the principal component of Four of *Cyperus rotundus* and raw materials *Rhizoma Cyperi* (relative peak area of more than 10%) had no significant differences (including 3). The relative peak area of main component was slightly different. The results of GC-MS detection showed that Four of *Cyperus rotundus* and health products of *Rhizoma Cyperi* contained a number of different compounds. 33 kinds of compounds of volatile oil extract from *Rhizoma Cyperi* raw materials were distinguished, and 41 kinds of compounds were distinguished from Four of *Cyperus rotundus* volatile oil extract. But the main components had no obvious difference. The relative peak area of principal component from volatile oil by preparation method was in overall downward trend. **Conclusion:** 20 components of volatile oil extracts from Four of *Cyperus rotundus* are increased compared with crude volatile oil extracts of *Cyperus rotundus*, but the relative peak areas of principal component are comparatively different. HPLC method and GC-MS analysis get the consistent results.

[Key words] Jianchangbang; Four of *Cyperus*; volatile oil; HPLC; GC-MS

[收稿日期] 20111007(002)

[基金项目] 江西省社会发展支撑计划项目(2010BSB02601);江西省中医药管理局中药研究重点项目(2010Z06)

[第一作者] 胡律江,博士,从事中药新剂型与新工艺研究,E-mail:380085581@qq.com,Tel:0791-86363831

[通讯作者] *郭慧玲,教授,硕士生导师,从事中药新剂型与新工艺研究,Tel:0791-87118645,E-mail:ghl6262@126.com

香附为莎草科植物 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎,始载于《名医别录》,列为中品,原名“莎草”,至《唐本草》始称“莎草根名香附子”,香附本为行气药,但经过辅料加工炮制后,又能入血分,前人称其为“血中气药”。气行则血行,气血通利,疏泄调达,则月经自调,故本品又为妇科调经止痛的要药,有“气病之总司,女科之主帅”之美称^[1]。

香附中除含有挥发油外,还有碱类、黄酮类、酚类、三萜类以及糖类等其他大类成分^[2]。近年来关于香附的化学成分研究主要集中在挥发油方面,但对建昌帮四制香附挥发油的研究未见报导。本研究针对建昌帮四制香附与生品香附挥发油成分的差异比较,探讨建昌帮四制法对挥发性成分的影响。

1 材料

1.1 试药 生香附(江西药都樟树中药饮片有限公司,批号 11020105), α -香附酮(中国药品生物制品检定所,批号 110748-200608),甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器 Dionex Ultimate 3000 型高效液相色谱仪, Dionex Ultimate3000 系列 PDA-3000 检测器, CHROMELEON 色谱工作站;HP6890GC/5973iMS 气相色谱-质谱联用仪。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 建昌帮四制香附的制备^[3-4] 香附子米置米泔水中浸漂 1 d 后,淘清晒干。每 1 kg 香附子米用生姜 50 g(取汁),盐 20 g 用适量水稀释,二液混合后将香附子米投入,经常翻动待一日后分档入锅,炒至棕黑色取出,趁热投加酒、醋各 0.5 kg 拌匀,置坛中密闭 2~3 d 即得。

2.1.2 挥发油样品制备

2.1.2.1 挥发油提取 分别称取生香附和建昌帮四制香附粗粉,采用水蒸气蒸馏法提取。每 100 g 药材,加 10 倍量蒸馏水,浸泡 8 h,水蒸气蒸馏提取 12 h,分别制得生品香附与四制香附挥发油。

2.1.2.2 挥发油检测样品配制 分别称取生品香附与四制香附挥发油各 33 mg,加适量甲醇,超声 5 min,将其分别定容至 50 mL,得生品挥发油和四制品挥发油检测样品,分别用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,备用。

2.2 色谱条件

2.2.1 HPLC 色谱条件^[5] 色谱柱为 Diamonsil C₁₈(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm),检测波长 250 nm,流速 1.0 mL \cdot min⁻¹,进样量 20 μL ,流动相甲醇-水二元梯度洗脱,洗脱条件见表 1。

表 1 香附挥发油成分 HPLC 色谱条件

<i>t</i> /min	甲醇	水
0	30	70
10	70	30
35	100	0

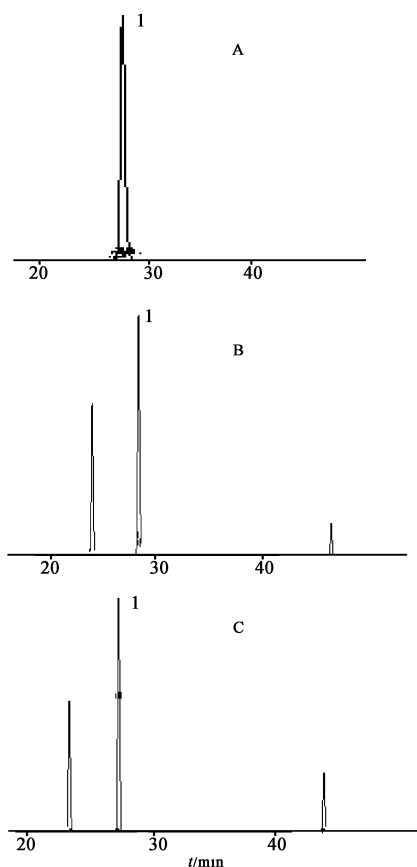
2.2.2 GC-MS 色谱条件

2.2.2.1 GC 条件 DB-1701 色谱柱(0.35 mm \times 30 m, 1.00 μm)弹性石英毛细管柱;升温程序:初始温度 70 $^{\circ}\text{C}$,恒温 1 min,以 8 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$,保持 20 min;载气 He;柱前压 50 Kpa;分流比 50:1,进样量 1 μL 。

2.2.2.2 MS 条件 EI 离子源,电子能量 70 eV,质量扫描范围 *m/z* 29~450,四极杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$ 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$,电子倍增器电压 1 500 V,GC-MS 接口温度 280 $^{\circ}\text{C}$,标准质谱图库 Wiley7n. L。

3 结果

3.1 HPLC 检测结果 α -香附酮、生品香附以及四制香附的 HPLC 图谱如图 1 所示。通过比较发现,四制香附与生品香附的主要成分无明显差异,主成分相对峰面积略有不同。



A. 对照品; B. 生香附; C. 四制香附; 1. α -香附酮

图 1 香附挥发油 HPLC

3.2 GC-MS 检测 从生品香附与四制香附的挥发油中共鉴定出 53 个化学成分,其中生品香附的挥发油中鉴定出 33 种成分,四制香附中鉴定出 41 种成分,有 21 个成分为生品香附和四制香附所共有。可

鉴定成分含量占挥发油总量分别为:生品香附 70.94%、四制香附 77.78%,GC-MS 图谱见图 2,3, 检出结果见表 2。

表 2 生品香附与四制香附挥发油 GC-MS 样品的色谱峰检索的化学结构

No.	t_R min ⁻¹	相对含量/%		相对 分子量	标准图库
		生品香附	四制香附		
1	6.836	0.03	0.08	136	beta. -pinene
2	6.936	0.03	0.03	138	cyclohexane, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, cis-
3	7.626	0.02	0.02	134	benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-
4	7.696	0.04	0.04	136	D-limonene
5	7.763	0.07	0.08	154	eucalyptol
6	8.690	0.04	0.03	132	benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-
7	9.546	-	0.40	152	bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 6,6-dimethyl-2-methylene-, [1S-(1.alpha., 3.alpha., 5.alpha.)]-
8	10.322	0.02	0.06	132	benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-
9	10.448	-	0.05	136	3-carene
10	10.583	-	0.50	150	bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-carboxaldehyde, 6,6-dimethyl-
11	10.862	-	0.12	150	bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-
12	10.978	-	0.04	134	1,3,8-p-menthatriene
13	13.381	-	0.26	192	3-buten-1-one, 4-[2,6,6-trimethyl-1(or2)-cyclohexen-1-yl]-
14	13.674	0.05	-	190	benzene, 1,4-dimethyl-2,5-bis(1-methylethyl)-
15	14.483	1.14	1.16	174	naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,1,6-trimethyl-4-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-
16	14.632	0.16	-	204	(+)-cycloisotativene
17	14.641	-	0.12	204	1,2,4-metheno-1H-indene, octahydro-1,7a-dimethyl-5-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,2.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,5.alpha.,7a.beta.,8S*)]-
18	14.818	-	1.39	202	11-isopropylidetricyclo[4.3.1.1(2,5)]undec-3-en-10-one
19	14.822	1.43	-	202	aromadendrene, dehydro-
20	15.278	0.16	0.16	204	cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1s-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)]-
21	15.594	9.37	7.46	204	3H-3a,7-methanoazulene, 2,4,5,6,7,8-hexahydro-1,4,9,9-tetramethyl-, [3aR-(3a.alpha.,4.beta.,7.alpha.)]
22	17.068	0.17	-	204	Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)- [1S-(1.alpha.,4.alpha.,7.alpha.)]-
23	17.077	-	0.17	204	naphthalene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,7.beta.,8a.alpha.)]
24	17.398	1.40	1.56	150	1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-one
25	17.826	-	1.79	202	neoisolongifolene, 8,9-dehydro-
26	18.295	11.64	9.74	204	naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]

续表

No.	t_R min ⁻¹	相对含量/%		相对 分子量	标准图库
		生品香附	四制香附		
27	18.560	1.69	1.62	204	naphthalene, 1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 8a-octahydro-4a, 8-dimethyl-2-(1-methylethenyl)-, [2 <i>R</i> -(2.alpha., 4a.alpha., 8a.beta.)]-
28	18.742	0.85	1.19	202	beta-vatirene
29	19.476	1.05	1.06	204	naphthalene, 1, 2, 3, 5, 6, 8a-hexahydro-4, 7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1 <i>S</i> -cis)-
30	19.732	1.36	2.33	202	11-isopropylidetricyclo[4.3.1.1(2,5)]undec-3-en-10-one
31	20.173	0.57	0.51	200	alpha.-calacorene
32	20.764	0.45	-	202	isolongifolene, 9, 10-dehydro-
33	20.769	-	0.57	202	cycloisolongifolene, 8, 9-dehydro-
34	21.629	-	2.83	220	caryphyllene oxide
35	22.479	1.60	-	202	aromadendrene, dehydro-
36	22.482	-	1.86	202	11-isopropylidetricyclo[4.3.1.1(2,5)]undec-3-en-10-one
37	22.995	2.48	-	218	2, 2, 7, 7-tetramethyltricyclo[6.2.1.0(1,6)]undec-4-en-3-one
38	23.000	-	2.89	218	9H-cycloisolongifolene, 8-oxo-
39	23.223	-	1.03	204	naphthalene, 1, 2, 3, 5, 6, 8a-hexahydro-4, 7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1 <i>S</i> -cis)-
40	23.237	0.77	-	204	naphthalene, 1, 2, 3, 4, 4a, 7-hexahydro-1, 6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-
41	23.391	0.40	-	206	cyclohexanone, 2, 6-bis(2-methylpropylidene)-
42	23.549	0.51	1.57	202	4, 4-dimethyl-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenebicyclo[4.1.0]heptane
43	24.088	0.69	-	204	azulene, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8-octahydro-1, 4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1 <i>S</i> -(1.alpha., 4.alpha., 7.alpha.)]-
44	24.218	0.37	-	204	naphthalene, 1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 8a-octahydro-4a, 8-dimethyl-2-(1-methylethenyl)-[2 <i>R</i> -(2.alpha., 4a.alpha., 8a.beta.)]-
45	24.320	-	1.06	202	4, 4-dimethyl-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenebicyclo[4.1.0]heptane
46	24.990	0.77	1.92	198	naphthalene, 1, 6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-
47	25.297	-	0.82	202	4, 4-dimethyl-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenebicyclo[4.1.0]heptane
48	25.775	13.63	13.41	218	2(3 <i>H</i>)-naphthalenone, 4, 4a, 5, 6, 7, 8-hexahydro-1, 4a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, (4a <i>S</i> -cis)-
49	27.602	-	1.52	232	2, 5-cyclohexadien-1-one, 2, 6-bis(1, 1-dimethylethyl)-4-ethylidene-
50	27.844	-	15.78	218	7-isopropenyl-1, 4a-dimethyl-4, 4a, 5, 6, 7, 8-hexahydro-3 <i>H</i> -naphthalen-2-one
51	27.849	17.68	-	218	2(1 <i>H</i>)naphthalenone, 3, 5, 6, 7, 8, 8a-hexahydro-4, 8a-dimethyl-6-(1-methylethenyl)-
52	28.969	-	0.26	202	isolongifolene, 9, 10-dehydro-
53	29.137	0.30	0.29	202	11-isopropylidetricyclo[4.3.1.1(2,5)]undec-3-en-10-one

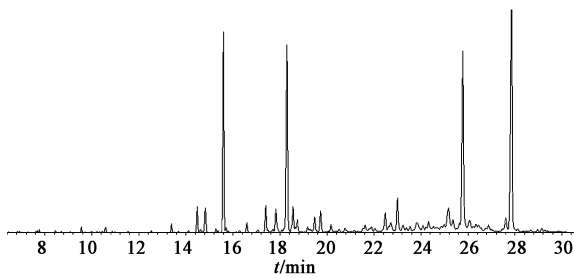


图 2 生香附挥发油 GC-MS

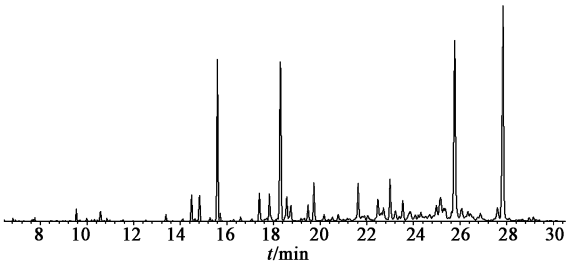
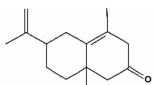


图 3 四制香附挥发油 GC-MS

由生香附、四制香附的 GC-MS 总离子流图谱和表 2 检测数据可知:生香附与四制香附相对峰面积 >7% 的有 3 个共有峰(21, 26, 48 号), 经鉴定分别为香附子烯、 β -芹子烯(或 β -桉叶烯)和 α -香附酮。另生香附 51 编号与四制香附 50 编号均为 α -香附酮的同分异构体, 相对峰面积分别为 17.68%, 15.78%, 51 编号异构体的结构式为:



50 号异构体的结构尚未检索到, 英文名为:

7-Isopropenyl-1, 4a-dimethyl-4, 4a, 5, 6, 7, 8-hexahydro-3H-naphthalen-2-one。

4 讨论

结果表明:四制香附与生品香附提取的挥发油在主成分(相对峰面积 >7% 的共有峰)种类上无明显差异(主要有 3 种成分, 经鉴定分别为:香附子烯、 β -芹子烯和 α -香附酮), 主成分相对峰面积略显不同。

GC-MS 气质联用检测结果表明:四制香附与生品香附提取的挥发油中所含化合物种类数量有较大差异, 从香附生品挥发油提取物中鉴别出 33 种化合物, 四制香附挥发油提取物中鉴别出 41 种化合物。但共有峰主要成分种类比较无明显差异, 分别为:香附子烯、 β -芹子烯和 α -香附酮。通过比较 GC-MS 图谱, 可看出四制法主成分挥发油相对峰面积总体呈下降趋势。四制香附挥发油提取物比生品香附挥发油提取物中成分种类增加 20 种, 其中生品香附和四制香附各有 1 个 α -香附酮的同分异构体成分, 相对峰面积较大(分别为 17.68%, 15.78%), 提示该化合物可能会影响香附的功效, 有待于进一步深入研究。

综上所述, HPLC 与 GC-MS 法对生香附与四制香附提取的挥发油所含共有峰主成分分析所得结果一致。可鉴定成分含量占挥发油总量分别为生品香附 70.94%, 四制香附 77.78%。四制香附所增加的 20 种成分是否对香附的药效有直接影响正在研究中。

[参考文献]

- [1] 徐燕, 李大祥, 凌铁辉, 等. 香附化学成分研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 11(9): 214.
- [2] 李英霞, 刘春农, 张泰, 等. 不同地区市售香附饮片中总黄酮含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14): 93.
- [3] 龚千峰. 中药炮制学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2006: 202.
- [4] 缪希雍. 炮炙大法[M]. 北京: 中国书店出版社, 1992: 25.
- [5] 胡志方, 谢颖, 胡律江, 等. 基于高效液相色谱法的建昌帮四制香附指纹图谱相似度评价[J]. 江西中医学院学报, 2011, 23(6): 46.

[责任编辑 顾雪竹]