

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.19.008

活血润肠软胶囊挥发油的提取工艺优化及气相色谱质谱分析

牛向伟^{1,2}, 姜莉莉¹, 周国忠¹, 张 宁^{1,2}

(1. 颈复康药业集团有限公司, 河北 承德 067000; 2. 河北省中药新辅料技术创新中心, 河北 承德 067000)

摘要:目的 探讨水蒸气蒸馏法提取活血润肠软胶囊中当归、羌活和防风中挥发油的最佳提取工艺条件。方法 采用正交试验法,以提取率为评价指标,考察加水量、浸泡时间、提取时间和加盐量对挥发油提取率的影响,采用气相色谱质谱(GC-MS)法分析其挥发油的化学成分。结果 最佳提取工艺条件为加6倍量水,浸泡1.5 h,提取4 h,此条件下挥发油的提取率为0.34%;GC-MS法分析得到的主要成分为1,4-双(1-甲基乙基)-苯、1R- α -蒎烯、 β -蒎烯、醋酸呋喃酯、(R)-4-甲基-1-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇、柠檬烯等。结论 浸泡时间、加水量和提取时间对挥发油的提取率影响不显著,影响顺序为浸泡时间>加水量>提取时间。

关键词:活血润肠软胶囊;水蒸气蒸馏法;挥发油;正交试验;气相色谱质谱法

中图分类号:R932;R284.1

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)19-0030-03

Optimization of the Extraction Process and GC-MS Analysis of Volatile Oil from Huoxue Runchang Soft Capsules

NIU Xiangwei^{1,2}, JIANG Lili¹, ZHOU Guozhong¹, ZHANG Ning^{1,2}

(1. Jingfukang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Chengde, Hebei, China 067000; 2. Hebei Province Traditional Chinese Medicine New Excipient Technology Innovation Center, Chengde, Hebei, China 067000)

Abstract: **Objective** To explore the optimal extraction process of volatile oil in *Angelica sinensis*, *Notopterygium incisum*, and *Radix saposhnikoviae* from Huoxue Runchang Soft Capsules by steam distillation. **Methods** Orthogonal experimental design was used to evaluate the extraction rate. The influence of the amount of water, soaking time, extraction time and the amount of salt added on the extraction rate of volatile oil was investigated. The chemical composition of the volatile oil was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Results** The optimal extraction process was adding 6 times the amount of water, soaking for 1.5 h, and extracting for 4 h. Under these conditions, the extraction rate of the volatile oil was 0.34%; the main component obtained by GC-MS analysis was 1,4-double(1-methylethyl)-benzene, 1R- α -pinene, β -pinene, furan acetate, (R)-4-methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyclohexene-1-alcohol, limonene, etc. **Conclusion** Soaking time, water addition and extraction time have no significant influence on the extraction rate of volatile oil. The order of influence is soaking time > water addition > extraction time.

Key words: Huoxue Runchang Soft Capsules; steam distillation; volatile oil; orthogonal experimental design; gas chromatography-mass spectrometry

活血润肠软胶囊由大黄、火麻仁、当归、桃仁、瓜蒌子、防风、羌活7味药材组方,用于治疗功能性便秘^[1]。方中,当归、防风、羌活为主药,且这3味药材中所含挥发性成分与该制剂的活血润肠功效密切相关。水蒸气蒸馏法是将含有易挥发成分的药材与水一同蒸馏,使挥发性成分随同水蒸气一起馏出,再经过冷凝回流提取挥发性成分,是常用的中药挥发油提取方法,适用于具有挥发性、能随水蒸气蒸馏而不被破坏其结构、不与水发生反应的挥发性成分的提取,且不使用有机溶剂,不易造成环境污染,适宜

工业化生产。本研究中采用水蒸气蒸馏法对这3味药材的挥发性成分的提取工艺进行研究,采用正交试验法确定其最佳提取条件,采用气相色谱质谱(GC-MS)法对所提挥发油进行化学成分分析并鉴定。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

7000C+7890B型气相色谱质谱仪(美国安捷伦公司,包括三重四极杆);Agilent HP-5MS石英毛细管色谱柱(30.0 m×0.25 mm,0.25 μ m,美国安捷伦公司);ME204

第一作者:牛向伟,男,大学本科,工程师,研究方向为中药制剂技术的研究与应用,(电子信箱)174602873@qq.com。

[9] 王怀隐. 太平圣惠方[M]. 北京:人民卫生出版社,1958:3022-3024.

[10] 周 斌,陈菊移,忻 旸,等. 蒽酮-硫酸比色法测定九华山地区黄精中多糖含量[J]. 中国药业,2009,18(16):24-25.

[11] 王冬梅,吕振江,王永红,等. 不同炮制方法对玉竹提取物得率及体外抗氧化作用的影响[J]. 植物研究,2012,32(5):621-626.

[12] 邓 肿,江迎春,张化为,等. 金樱子不同炮制饮片化学成分及抗氧化活性分析[J]. 中国医药信息杂志,2017,24(4):71-74.

[13] KIM JO, LEE GD, KWON JH, et al. Anti-diabetic effects of new

herbal formula in neonatally streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Biol Pharm Bull, 2009, 32(3):421-426.

[14] 赵宏丽,许 燕,赵红岩,等. 黄精多糖对2型糖尿病大鼠SREBP1c和SCD-1蛋白表达的影响[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(1):106-110.

[15] 李超彦,周媛媛,王福青,等. 黄精多糖对顺铂致肝损害大鼠肝功能的保护及抗氧化指标的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(16):229-231.

(收稿日期:2020-05-30)

型电子天平(梅特勒-托利多公司,精度为万分之一)。

1.2 试药

当归(北京市药材公司,批号为160035),羌活(江苏康缘药业股份有限公司,批号为160141),防风(赤峰荣兴堂药业有限责任公司,批号为170113),均经颈复康药业集团有限公司王春民高级工程师鉴定为正品;正乙烷(分析纯,天津欧博凯化工有限公司,批号为20170302)。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取

按活血润肠软胶囊处方工艺取当归、羌活、防风3味药材,粉碎成粗粉,混合。取混合粉适量,置圆底烧瓶中,加水适量,浸泡,连接挥发油测定器与回流冷凝管,置电热套中加热至沸,并保持微沸,收集挥发油,称定质量,计算挥发油提取率。采用GC-MS法对所得挥发油进行检测,对其所含化学成分进行分析和鉴定。

挥发油提取率(%) = 挥发油量(g) / 药材量(g) × 100%

2.2 因素水平设计

分别以加水量(因素A)、浸泡时间(因素B)、提取时间(因素C)和加盐量(因素D)为考察因素,以挥发油提取率为考察指标,按 $L_9(3^4)$ 正交试验表进行试验。因素水平见表1。

表1 因素水平表

水平	因素A(倍)	因素B(h)	因素C(h)	因素D(g)
1	6	1.0	3	0
2	8	1.5	4	11.7
3	10	2.0	5	23.3

2.3 试验方案与结果

试验方案与结果见表2,方差分析结果见表3。可见,因素A、因素B、因素C、因素D对提取挥发油的提取率均无显著影响。各因素对挥发油提取率的影响顺序依次为因素B > 因素A > 因素C > 因素D,最佳提取工艺条件为 A_1 (或 A_2) $B_2C_2D_1$,即加6(或8)倍量水,浸泡1.5 h,提取4 h。按最佳提取工艺即加6倍量水,浸泡1.5 h,提取4 h,对3味药材混合粉进行提取,结果挥发油的提取率为0.34%。

2.4 挥发油的GC-MS检测

色谱条件:程序升温,初始温度为50℃,保持2 min;以1℃/min的速率升至180℃,保持5 min;以1℃/min的速率升至202℃;以2℃/min的速率升至250℃;以5℃/min的速率升至280℃。进样口温度为250℃;分流比为10:1;进样量为1 μL;载气为氦气(≥99.999%);流速为1 mL/min。

表2 正交试验方案与结果

试验序号	因素A(倍)	因素B(h)	因素C(h)	因素D(g)	提取率(%)
1	A_1	B_1	C_1	D_1	0.32
2	A_1	B_2	C_2	D_2	0.38
3	A_1	B_3	C_3	D_3	0.19
4	A_2	B_1	C_2	D_3	0.33
5	A_2	B_2	C_3	D_1	0.35
6	A_2	B_3	C_1	D_2	0.21
7	A_3	B_1	C_3	D_2	0.24
8	A_3	B_2	C_1	D_3	0.18
9	A_3	B_3	C_2	D_1	0.22
K_1	0.297	0.297	0.237	0.297	
K_2	0.297	0.303	0.310	0.277	
K_3	0.213	0.207	0.260	0.233	
R	0.084	0.096	0.073	0.064	

表3 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F比	P
加水量	0.014	2	0.007	2.333	>0.05
浸泡时间	0.017	2	0.008	2.833	>0.05
提取时间	0.008	2	0.004	1.333	>0.05
加盐量	0.006	2	0.003	1.000	>0.05
误差	0.010	2			

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

质谱条件:EI离子源,电子能源70 eV,传输线温度为250℃,离子源温度为230℃,四极杆温度为150℃,全扫描检测方式,扫描范围(m/z)20~550 amu。

检测法:将得到的挥发油进行GC-MS法检测,用面积归一法确定其主要成分及相对含量。

结果分析:结果见表4。可见,共检测出244种成分,共鉴别出50种主要成分。其中,1,4-双(1-甲基乙基)-苯含量最高(含量为9.99%),其次依次为1R- α -蒎烯(8.148%)、 β -蒎烯(6.221%)、醋酸呋喃酯(4.101%)、(R)-4-甲基-1-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇(3.733%)、柠檬烯(3.647%)。

3 讨论

采用GC-MS法对水蒸气蒸馏法提取的羌活挥发油进行计算机检索,并与标准图谱对照^[2-3],共鉴定出136个成分(羌活78个成分、宽叶羌活58个成分),其中多数为单萜、单萜醇、倍半萜、倍半萜醇类化合物,含量在1%以上的有 α -蒎烯、 β -蒎烯、 γ -松油烯、对-聚伞花素、柠檬烯、水芹烯、香桉烯、缬草萜烯醇等成分。当归挥发油^[4]中含量最高的为藁本内酯,其次为2-乙基-1-己醇、十三烷、9,12-十八烯酸单甘油酯、9,12-十八二烯酸乙酯、十七酸乙酯等。防风挥发油^[5-6]的主要成分为3-苯基-2-丙烯醛、亚油酸乙酯、9,12-十八二烯酸、芹菜脑、人参

表4 挥发油化学成分 GC-MS 分析结果

编号	化合物名称	分子式	保留时间 (min)	相对含量 (%)	编号	化合物名称	分子式	保留时间 (min)	相对含量 (%)
1	1,4-双(1-甲基乙基)-苯	C ₁₂ H ₁₈	92.858	9.99	28	1,2,4a,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)萘	C ₁₅ H ₂₄	67.905	0.718
2	1R-α-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	8.591	8.148	29	[1R-(1α,3α,4β)]-4-乙基-α,α,4-三甲基-3-(1-甲基乙基)-环己烷甲醇	C ₁₅ H ₂₆ O	72.334	0.717
3	β-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	10.972	6.221	30	(1α,4α,8α)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-萘	C ₁₅ H ₂₄	82.043	0.707
4	醋酸吡喃酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	41.900	4.101	31	1-甲氧基-4-甲基-3,7,7-三甲基-双环[4.1.0]庚-2-烯	C ₁₀ H ₁₆	13.672	0.651
5	(R)-4-甲基-1-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇	C ₁₀ H ₁₈ O	29.218	3.733	32	2,2,3-三甲基-3-环戊烯-1-乙醛	C ₁₀ H ₁₆ O	23.442	0.648
6	柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	14.754	3.647	33	2-异丙基苯	C ₁₂ H ₁₈	97.758	0.600
7	(1,2,3,4,5,6,7,8)-八氢化-α,α-3,8-四甲基-5-甲氧基-萘	C ₁₅ H ₂₆ O	77.947	3.467	34	石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	60.486	0.590
8	1,2,3,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)萘	C ₁₅ H ₂₄	69.567	2.705	35	[1S-(1α,3α,5α)]-6,6-二甲基-2-亚甲基-双环[3.1.1]庚-3-醇	C ₁₀ H ₁₆ O	24.542	0.577
9	(1aR,4aS,7R,7aR,7bS)-十氢-1,1,7-三甲基-4-亚甲基-1H-环丙并[e]萘	C ₁₅ H ₂₄	75.022	2.529	36	[1R-(α,3α,7α)]-1a,2,3,3a,4,5,6,7b-八氢-1,1,3a,7-四甲基-1H-环丙并沙星萘	C ₁₅ H ₂₄	80.883	0.570
10	3,7-二甲基-3,6-辛二烯-1-醇	C ₁₀ H ₁₈ O	87.070	2.306	37	[2R-(2α,4α,5α)]-α,4a-三甲基-8-亚甲基-十氢化萘-2-萘基-萘基	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	82.811	0.568
11	α-杜松醇	C ₁₅ H ₂₄ O	83.759	1.990	38	1-甲基-4-(1-甲基亚乙基)-环己烯	C ₁₀ H ₁₆	19.775	0.530
12	1-甲基-4-(1-甲基乙基)-1,4-环己二烯	C ₁₀ H ₁₆	17.249	1.845	39	顺式-2-甲基-5-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-醇	C ₁₀ H ₁₈ O	34.070	0.528
13	环氧异长叶烯	C ₁₅ H ₂₄ O	70.056	1.753	40	1-甲氧基-4-辛基-苯	C ₁₅ H ₂₄ O	76.660	0.509
14	脱羧基异水菖蒲二烯	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	80.364	1.630	41	吡啶	C ₄ H ₆ N ₂	21.696	0.480
15	3-亚丁基-1(3H)-异并吡喃酮	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	85.554	1.573	42	(3R,3aA,6R,7R,8aA)-八氢-3,6,8,8-四甲基-1H-3A,7-亚甲基甘菊环-6-醇甲酯	C ₁₆ H ₂₆ O ₂	55.573	0.475
16	1-甲基-2-(1-甲基乙基)-苯	C ₁₀ H ₁₄	14.331	1.463	43	1-(1-甲基乙基)-4-(1-丁烯-3-基)-苯	C ₁₃ H ₁₈ O	121.981	0.468
17	[2R-(2α,4α,8β)]-1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-α,4a,8-四甲基-2-萘基-萘基	C ₁₅ H ₂₆ O	83.252	1.449	44	α,α,4-三甲基-3-环己烯-1-甲酯	C ₁₀ H ₁₈ O	30.632	0.457
18	菖蒲酮	C ₁₅ H ₂₄ O	65.766	1.384	45	1-甲基-1,4-环己二烯	C ₇ H ₁₀	28.161	0.453
19	[3S-(3α,3α,5α)]-1,2,3,3a,4,5,6,7-八氢-α,α,3,8-四甲基-5-奥甲酯	C ₁₅ H ₂₆ O	85.046	1.224	46	(E)-2-癸烯醛	C ₁₀ H ₁₈ O	39.314	0.416
20	辛醛	C ₈ H ₁₆ O	12.911	1.170	47	1-甲基-2(1H)-噻吩酮	C ₁₀ H ₈ NO	88.309	0.410
21	(E)-3,7-二甲基-1,3,7-辛三烯	C ₁₀ H ₁₆	15.715	1.105	48	6,6-二甲基-双环[3.1.1]庚-2-烯-2-甲酯	C ₁₀ H ₁₆ O	31.188	0.406
22	三环[3.2.1.0(1,5)]辛烷	C ₈ H ₁₂ O ₂	58.619	1.095	49	正十六烷酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	116.760	0.391
23	3-苯基-2-丙烯酸 1-甲基乙基酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	68.195	1.069	50	γ-榄香烯	C ₁₅ H ₂₆	87.523	0.371
24	2-甲氧基-4-乙基苯酚	C ₈ H ₁₀ O ₂	45.030	0.360					
25	3-萘烯	C ₁₀ H ₁₆	13.183	1.006					
26	冰片	C ₁₀ H ₁₈ O	27.635	0.877					
27	(1α,4α,8α)-1,2,4a,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)-萘	C ₁₅ H ₂₄	66.594	0.809					

醇等。羌活、防风药对配伍后有新的活性成分产生^[4]。经与文献[5-6]对比,正十六烷酸、金合欢烯、罗汉柏烯、3-萘烯、α-蒎烯、β-蒎烯、α-水芹烯、柠檬烯等在单味药材提取的挥发油中存在;而1-甲基-2(1H)-噻吩酮、γ-榄香烯、菖蒲酮、侧柏酮等是单味药材提取挥发油中所没有的,提示药材在混合提取时其所含成分间可能发生了氧化、聚合、异构化等作用,这些新提取的化合物的药理活性、功效等还有待进一步研究。

本研究结果表明,水蒸气蒸馏法提取3味药材的挥发油提取率为0.34%,与超临界二氧化碳萃取法提取挥发油的收率无优势。GC-MS法分析结果显示,其成分种类也多于超临界二氧化碳萃取法。因此,水蒸气蒸馏法是否适宜于活血润肠软胶囊的生产有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 郭金甲,党晓伟,李君,等.活血润肠软胶囊对急性血瘀模型大鼠血液流变学的影响[J].中国当代医药,2015,22(21):7-9.
- [2] 吉力,徐植灵,潘炯光,等.羌活挥发油成分分析[J].天然产物研究与开发,1997,9(1):4-8.
- [3] 胡敏敏,蔡宝昌,张志杰,等.两种方法提取羌活挥发油化学成分的比较[J].中医药学报,2006,24(10):1931-1933.
- [4] 刘琳娜,梅其炳,程建峰.当归挥发油的化学成分分析[J].中成药,2005,27(2):204-206.
- [5] 黄雪莹,王圣鑫,余爱明,等.HS-SPME-GC-MS联用分析羌活、防风药对配伍前后挥发性组分变化规律[J].中药新药与临床药理,2019,30(6):707-714.
- [6] 李洪峰,于喆英,金星海,等.不同产地防风中挥发油成分分析[J].黑龙江水专学报,2007,34(4):101-104.

(收稿日期:2019-12-26;修回日期:2020-03-20)