

· 研究报告 ·

川芎药材超临界 CO₂ 萃取与水蒸气蒸馏提取挥发油比较研究

邓 鹏, 韦飞雪, 文 艺, 王宝艺, 陈 珊(八加一药业股份有限公司, 广西 桂林 541000)

[摘要] 目的 通过对不同工艺下得到的川芎挥发油的比较, 阐明提取工艺对其有效成分的影响。方法 分别采用超临界 CO₂ 萃取和水蒸气蒸馏法提取川芎挥发油, 再通过气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术分析鉴定其中的主要化学成分及相对含量。结果 2 种方法所得川芎挥发油样品中共鉴定 18 种共有成分, 水蒸气蒸馏提取物中苯酞类成分约占 61%, 单萜类成分约占 25%, 倍半萜类成分约占 10%; 超临界 CO₂ 萃取物中苯酞类成分约占 97%, 单萜类成分约占 1%, 倍半萜类成分约占 0.4%。结论 水蒸气蒸馏法对川芎药材中挥发性较强的单萜和倍半萜类保留相对较强, 超临界 CO₂ 萃取法对苯酞类有效成分的提取率相对较高, 因此在川芎挥发油入药的中药制剂工艺中, 应根据制剂的功效充分考虑提取工艺对有效成分的影响。

[关键词] 超临界流体萃取; 水蒸气蒸馏; 川芎挥发油

[中图分类号] R94

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2020)02-0152-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.201907022

Comparative study on volatile oil in *Rhizoma chuanxiong* by steam distillation and supercritical fluid extraction

DENG Peng, WEI Feixue, WEN Yi, WANG Baoyi, CHEN Shan(Eight plus one Pharmaceutical Co.,Ltd, Guilin 541000, China)

[Abstract] **Objective** To clarify the influence of the extraction process on its active ingredients by comparing the volatile oils of *Rhizoma Chuanxiong* obtained under different processes. **Methods** The volatile oil of *Rhizoma Chuanxiong* was extracted by supercritical CO₂ extraction (SFE) and steam distillation. The main chemical components and relative contents were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Results** A total of 18 common components were identified in the volatile oil samples of Chuanxiong from the two methods. In steam distillation samples, main components included phthalides (61%), monoterpenoids (25%) and sesquiterpenes (10%). In SFE samples, phthalides (97%) were major components, followed by monoterpenoids (1%), sesquiterpenes (0.4%) and other minor components. **Conclusion** The steam distillation retains highly volatile components in *Rhizoma chuanxiong* such as monoterpenoids and sesquiterpenes. For SFE approach, the phthalides were extracted more efficiently compared with other components. The effect of the extraction process on the active ingredients should be fully considered in obtained products of *Rhizoma chuanxiong* since the difference in constituents may result in varied effects.

[Key words] supercritical fluid extraction; steam distillation; *Rhizoma Chuanxiong*; volatile components

川芎 *Rhizoma Chuanxiong* 为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎^[1], 最早记载于《神农本草经》, 有活血行气, 祛风止痛的功效, 是中医临床上最常用的药材之一, 在活血化瘀类成方制剂中占有重要地位。

现代药理学表明, 川芎含有多种药理活性成分, 主要包括苯酞类化合物(如藁本内酯)、酚类和有机酸类(如阿魏酸)、生物碱类(如川芎嗪)、多糖类等, 其中苯酞类化合物广泛的应用于治疗心脑血管

系统和神经系统疾病, 主要成分存在于川芎挥发油中, 其含量占挥发油总质量的 80% 以上。川芎挥发油除含有苯酞类化合物, 还含有烯萜醇、脂肪酸类化合物, 近年来随制剂工艺的发展, 川芎药材以挥发油入药已经比较常见, 在制剂工艺方面, 不同的提取工艺获得的川芎挥发油含量与成分不同, 药效也会有差异^[2-8]。川芎挥发油的常见提取方法主要有经典的水蒸气蒸馏法和近年来快速发展的超临界流体萃取技术 (supercritical fluid extraction, SFE), 本研究分别采用水蒸气蒸馏法和超临界 CO₂ 萃取法两种常用工艺对川芎药材中挥发油类成分进行提取, 并对提取成分进行比较, 旨在为不同药效中药制剂中川芎有效成分的提取工艺研究提供参考。

[作者简介] 邓 鹏, 本科, 主管药师, 研究方向: 药学工艺研究与药物分析, Email: dengpeng.81@188.com

[通讯作者] 陈 珊, 本科, 高级工程师, 研究方向: 药学工艺研究与药物分析, Email: chenshan.81@188.com

1 材料与仪器

1.1 材料

川芎药材(都江堰市伦洋中药材种植农民专业合作社,批号:Z02031-190201);乙酸乙酯(色谱纯,美国TEDIA试剂有限公司);无水硫酸钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);CO₂为医用级;水为重蒸馏水。

1.2 仪器

WF-20B高速万能粉碎机(江阴市海鑫药化机械制造有限公司);HA420-40-96型超临界萃取装置(南通市华安超临界萃取有限公司);挥发油测定器(天长市天沪分析仪器有限公司);智能数显加热套(上海豫康科教仪器设备有限公司);Thermo Fisher ITQ1100气相色谱-质谱联用仪(美国赛默飞世尔公司)。

2 方法和结果

2.1 挥发油提取

2.1.1 水蒸气蒸馏法

取川芎药材粉碎品(过一号筛)200 g,置5 000 ml

圆底烧瓶中,加入2 000 ml蒸馏水、少许碎瓷片,充分混匀后于室温浸泡2 h,按《中国药典》2015版四部通则2204挥发油测定法甲法进行。提取完成后分取油层,无水硫酸钠干燥离心,转移挥发油置棕色瓶中密封,4℃保存。

2.1.2 超临界CO₂萃取法

取川芎药材粉碎品(过一号筛)1 000 g,置萃取釜中,萃取条件为:萃取压力35 MPa,流体温度40℃,萃取1.5 h。萃取完成后从出料口放出挥发油,转移挥发油置棕色瓶中密封,4℃保存。

2.2 挥发油成分分析

2.2.1 GC-MS条件

InertCap 5MS/NP熔融石英毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);载气氦气;程序升温,初始温度60℃,保持1 min,5℃/min升温至100℃,3℃/min升温至160℃,保持2 min,10℃/min升温至280℃,保持2 min;进样口温度280℃;分流比30:1;传输线温度280℃;进样量1.0 μl,体积流量1.0 ml/min;离子源温度220℃;溶剂延迟4 min;EI源电离方式;电子能量70 eV;质量扫描范围m/z 50-400;质谱检索数据库NIST 11。

表1 川芎挥发油化学成分

序号	T _R /min	化合物	分子式	相对含量(%)	
				水蒸气蒸馏	超临界CO ₂ 萃取
1	5.66	α-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	1.48	0.09
2	6.52	β-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	5.70	0.30
3	7.71	邻伞花烃	C ₁₀ H ₁₄	1.63	0.05
4	8.60	α-松油烯	C ₁₀ H ₁₆	3.99	0.14
5	9.40	4-甲基-3-(1-甲基亚乙基)-1-环己烯	C ₁₀ H ₁₆	3.66	0.21
6	11.43	1,3,5-十一碳三烯	C ₁₁ H ₁₈	5.04	0.30
7	12.02	4-松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	3.56	0.05
8	20.91	4-异丙基-1,6-二甲基-1,2,3,4,4α,7-四氢化萘	C ₁₅ H ₂₄	1.31	0.22
9	23.21	γ-古芸烯	C ₁₅ H ₂₄	6.11	0.85
10	23.56	β-马榄烯	C ₁₅ H ₂₄	2.14	0.34
11	26.56	桉油烯醇	C ₁₅ H ₂₄ O	0.66	0.11
12	29.15	丁基苯酐	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	1.31	0.89
13	29.93	丁烯基苯酐	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	2.32	0.97
14	30.73	6-丁基-1,4-环庚二烯	C ₁₁ H ₁₈	0.45	0.60
15	31.83	洋川芎内酯A	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	9.53	25.60
16	32.02	-	-	1.97	2.95
17	32.33	Z-藁本内酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	45.40	65.59
18	33.86	E-藁本内酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	0.49	0.75

注:-表示未鉴定

2.2.2 供试品溶液制备

精密移取挥发油提取物样品 25 μl 置于 25 ml 量瓶中, 加入乙酸乙酯至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液, 吸取 1.0 μl 注入 GC-MS 联用仪进行分析。

2.3 提取物结果分析

按照水蒸气蒸馏和超临界 CO_2 萃取法提取挥发油后, 根据得油量和药材量计算两种提取方法的挥发油得率分别为 0.35% 和 4.8%。

采用 GC-MS 联用技术对两种提取工艺所得的挥发油提取物进行分析, 利用质谱检索数据库和相关文献资料^[9-12], 对挥发油中相对含量较大, 与相邻峰分离度良好的主要色谱峰进行了分析, 确定了

18 个主要成分, 其峰面积总和占总峰面积的 95% 以上, 结果见表 1 和图 1、2。水蒸气蒸馏提取物中苯酞类成分约占 61%, 单萜类成分约占 25%, 倍半萜类成分约占 10%; 超临界 CO_2 萃取物中苯酞类成分约占 97%, 单萜类成分约占 1%, 倍半萜类成分约占 0.4%。两种提取工艺的挥发油中 Z-藁本内酯含量最高, 其次是洋川芎内酯 A、丁烯基苯酞和丁基苯酞。

3 讨论

水蒸气蒸馏法是一种传统的挥发油提取工艺, 对川芎药材中挥发性较强的成分如单萜和倍半萜

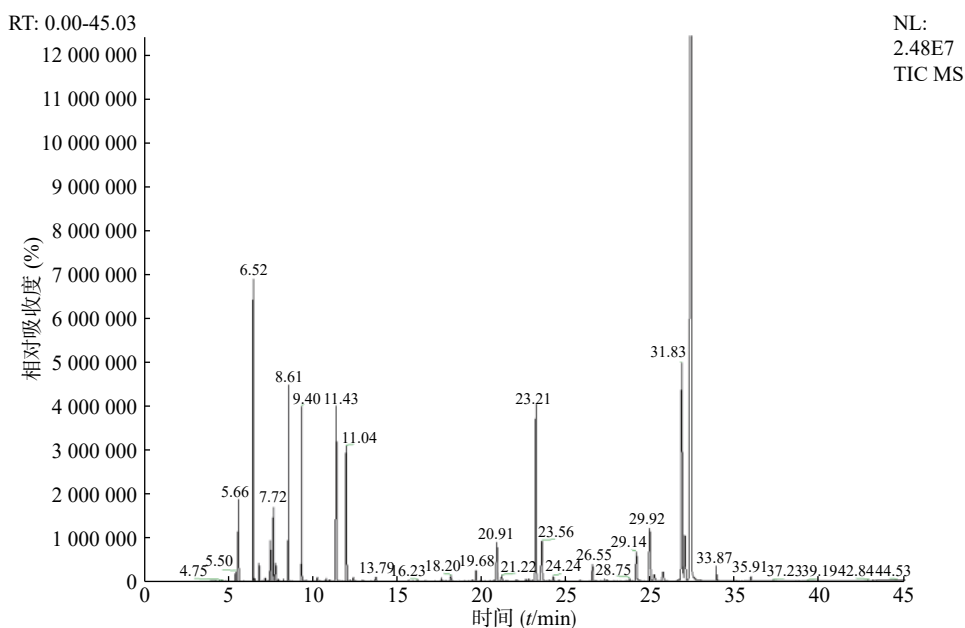


图 1 川芎水蒸气蒸馏挥发油总离子流图

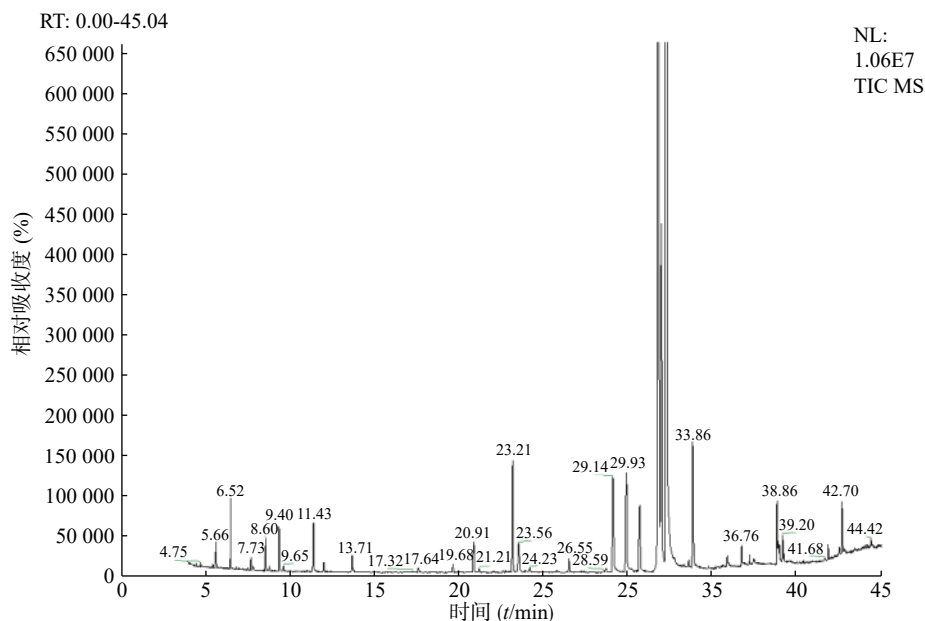


图 2 川芎超临界 CO_2 萃取挥发油总离子流图

类保留相对较强,适合低沸点、极性小的成分提取,且提取工艺对设备的要求不高,生产成本较低,在中药制剂工业上广泛应用,但是其挥发油提取率会相对较低。超临界 CO₂ 萃取法操作简单快速,基本 2 h 可完成提取过程,对川芎挥发油提取收率高,尤其对苯酞类有效成分的提取率相对较高,适合高沸点极性成分的提取,对环境及萃取产物无污染,便于提取工艺产业化。两种工艺的挥发油在成分上有一定的差异,因此在川芎挥发油入药的中药制剂工艺中,应根据制剂的功效充分考虑提取工艺对有效成分的影响,在适应证药效学研究的基础上分析不同工艺得到的挥发油的药效学和毒理学差异,而针对性的选择合适的提取工艺显得尤为重要。

【参考文献】

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2015年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

[2] 李海刚, 胡晒平, 周意, 等. 川芎主要药理活性成分药理研究进展[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2018, 23(11): 1302-1308.

[3] 李芳, 林丽美, 李春. 夏枯草化学成分研究概况[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(24): 270-274.

[4] BAI Y B, XIA B H, XIE W J, et al. Phytochemistry and pharmacological activities of the genus *Prunella*[J]. *Food Chem*, 2016, 204: 483-496.

[5] MENG G, WANG M, ZHANG K J, et al. Research progress on the chemistry and pharmacology of *Prunella vulgaris* species[J]. *OALib*, 2014, 1(3): 1-19.

[6] 梁杰康, 张琳, 严晓明. HPLC-ESI-MS/MS鉴定夏枯草的主要化学成分[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2013, 11(14): 153-154.

[7] 孟正木, 何立文. 夏枯草化学成分研究[J]. *中国药科大学学报*, 1995, 26(6): 329-331.

[8] 王祝举, 赵玉英, 涂光忠, 等. 夏枯草化学成分的研究[J]. *药学学报*, 1999, 34(9): 679-681.

[9] 余茜, 戚进, 刘守金. 夏枯草果穗的化学成分[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(5): 107-109.

[10] 黄楨, 朱俏峭, 戚进, 等. 地黄的化学成分研究[J]. *海峡药学*, 2016, 28(7): 34-36.

[11] 刘彦飞, 梁东, 罗桓, 等. 地黄的化学成分研究[J]. *中草药*, 2014, 45(1): 16-22.

[12] 冯卫生, 李孟, 郑晓珂, 等. 生地黄化学成分研究[J]. *中国药理学杂志*, 2014, 49(17): 1496-1502.

[3] 杜旌畅, 谢晓芳, 熊亮, 等. 川芎挥发油的化学成分与药理活性研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(23): 4328-4333.

[4] 韩炜. 川芎的化学成分与药理作用研究进展[J]. *中国现代中药*, 2017, 19(9): 1341-1349.

[5] 朱尧, 刘激激, 顾宁, 等. 川芎的活性成分及其心血管系统保护作用研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2016, 27(7): 1701-1704.

[6] 马宁宁, 范姗姗, 李欣, 等. 川芎的抗炎物质筛选及其作用机制分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(18): 140-146.

[7] 张晓琳, 徐金娣, 朱玲英, 等. 中药川芎研究新进展[J]. *中药材*, 2012, 35(10): 1706-1711.

[8] 谢秀琼, 詹珂, 尹蓉莉, 等. 川芎挥发油的研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(6): 1508-1510.

[9] 朱立俏, 盛华刚. 川芎挥发性成分GC-MS分析[J]. *山东中医药大学学报*, 2013, 37(2): 164-165.

[10] 石世学, 潘勤, 元英群, 等. GC-MS法建立都江堰产川芎挥发油的指纹图谱[J]. *中草药*, 2007, 38(8): 1177-1180.

[11] 梁明金, 贺浪冲, 李永茂. 川芎有效部位气相色谱-质谱研究与指纹图谱分析[J]. *质谱学报*, 2004, 25(3): 150-154.

[12] 吴广通, 石力夫, 余建国. 超临界流体萃取法对川芎挥发油成分的研究[J]. *药学服务与研究*, 2001, 1(1): 61-62.

【收稿日期】 2019-07-08 【修回日期】 2019-11-13

【本文编辑】 陈盛新

(上接第 142 页)

[3] 李芳, 林丽美, 李春. 夏枯草化学成分研究概况[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(24): 270-274.

[4] BAI Y B, XIA B H, XIE W J, et al. Phytochemistry and pharmacological activities of the genus *Prunella*[J]. *Food Chem*, 2016, 204: 483-496.

[5] MENG G, WANG M, ZHANG K J, et al. Research progress on the chemistry and pharmacology of *Prunella vulgaris* species[J]. *OALib*, 2014, 1(3): 1-19.

[6] 梁杰康, 张琳, 严晓明. HPLC-ESI-MS/MS鉴定夏枯草的主要化学成分[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2013, 11(14): 153-154.

[7] 孟正木, 何立文. 夏枯草化学成分研究[J]. *中国药科大学学报*, 1995, 26(6): 329-331.

[8] 王祝举, 赵玉英, 涂光忠, 等. 夏枯草化学成分的研究[J]. *药学学报*, 1999, 34(9): 679-681.

[9] 余茜, 戚进, 刘守金. 夏枯草果穗的化学成分[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(5): 107-109.

[10] 黄楨, 朱俏峭, 戚进, 等. 地黄的化学成分研究[J]. *海峡药学*, 2016, 28(7): 34-36.

[11] 刘彦飞, 梁东, 罗桓, 等. 地黄的化学成分研究[J]. *中草药*, 2014, 45(1): 16-22.

[12] 冯卫生, 李孟, 郑晓珂, 等. 生地黄化学成分研究[J]. *中国药理学杂志*, 2014, 49(17): 1496-1502.

[13] 钟艳梅, 冯毅凡, 郭姣. 基于UPLC/Q-TOF MS技术的白术药材化学成分快速识别研究[J]. *质谱学报*, 2015, 36(1): 72-77.

[14] 李伟, 文红梅, 崔小兵, 等. 白术的化学成分研究[J]. *中草药*, 2007, 38(10): 1460-1462.

[15] 邓爱平, 李颖, 吴志涛, 等. 苍术化学成分和药理的研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(21): 3904-3913.

[16] 庞雪, 刘玉强, 刘小丹, 等. 苍术麸炒前后活性部位药效比较研究[J]. *中国药房*, 2016, 27(10): 1308-1311.

[17] 吕狄亚. 中药苍术化学成分分析及药代动力学研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2011.

[18] 汤敏燕, 孙凌峰, 汪洪武. 中药苍术挥发油化学成分的研究[J]. *林产化学与工业*, 2000, 20(3): 65-69.

[19] ZHAO L, LOU Z Y, ZHU Z Y, et al. Characterization of constituents in *Stellera chamaejasme* L. by rapid-resolution liquid chromatography-diode array detection and electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. *Biomed Chromatogr*, 2008, 22(1): 64-72.

[20] ZHANG H, GONG C G, LV L, et al. Rapid separation and identification of furocoumarins in *Angelica dahurica* by high-performance liquid chromatography with diode-array detection, time-of-flight mass spectrometry and quadrupole ion trap mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2009, 23(14): 2167-2175.

【收稿日期】 2019-07-25 【修回日期】 2019-11-12

【本文编辑】 陈盛新