



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2024.01.10

文章编号: 2095-1264(2024)01-0059-06

基于气相色谱-质谱研究肝喜片处方中挥发性成分^{*}

陈玲珑^{1,2}, 陆艳艳³, 彭艳梅^{1,2*}

(¹湖南中医药大学, 湖南长沙, 410208; ²湖南省中医药研究院, 湖南长沙, 410006;

³中国科学院声学研究所, 北京, 100190)

摘要: 目的 前期研究显示肝喜片处方中陈皮、茵陈、沉香等 6 种含挥发性成分中药饮片提取的芳香水中解析出 8 种挥发性成分, 其中柠檬烯、 γ -萜品烯、冰片、 β -蒎烯具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等作用。为进一步研究肝喜片全方中挥发性成分, 本研究采用气相色谱-质谱法(GC-MS)分析医院制剂肝喜片处方中的挥发性化学成分。**方法** 利用水蒸气蒸馏法提取肝喜片中非全方芳香水及全方芳香水, 并结合 GC-MS 技术对其成分进行检测及解析。**结果** 肝喜片全方中药饮片提取的芳香水中共检测出 28 种挥发性成分, 含量较高的成分为右旋樟脑(48.45%)、苯甲醛(12.46%)、芳香酮(8.69%), 合计 69.6%, 但均无明显药理作用; 其他少量成分有药理作用, 但含量很低。**结论** 肝喜片工艺优化提取挥发性成分时不宜用全方, 应优选陈皮、茵陈、沉香等 6 种含挥发性成分中药饮片提取芳香水。

关键词: 肝喜片; 芳香水; 挥发性成分; 气相色谱-质谱法

中图分类号: R917 **文献标识码:** A

Study on the volatile components in Ganxi tablets based on GC-MS^{*}

CHEN Linglong^{1,2}, LU Yanyan³, PENG Yanmei^{1,2*}

(¹Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, 410208, Hunan, China; ²Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha, 410006, Hunan, China; ³Institute of Acoustics, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100190, China)

Abstract: Objective Previous studies showed that eight volatile components were separated from aromatic water which were extracted from 6 kinds of Chinese herbal pieces (including tangerine peel, herba artemisiae scopariae and others) in the prescription of Ganxi tablet. Of the eight volatile components, limonene, γ -terpene, borneol and β -pinene had anti-inflammatory, anti-oxidation and anti-tumor effects. Here, we aimed to analyze the volatile constituents of all the Chinese herbal pieces in the prescription of Ganxi tablet by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** The aromatic water was extracted from Ganxi tablet by steam distillation, and its components were analyzed by GC-MS. **Results** A total of 28 volatile components were detected in the aromatic water extracted from all the Chinese herbal pieces in Ganxi tablet. The highest content component was D-camphor (48.45%), followed by benzaldehyde (12.46%) and aromatic ketone (8.69%), with a total of 69.6%, but none of them had significant pharmacological effects. A few other components had pharmacological effects, but in very low content. **Conclusion** It is not suitable to use the whole formula when extracting the volatile components of Ganxi tablet. It is preferred to choose the 6 kinds of Chinese herbal pieces like tangerine peel, herba artemisiae scopariae, agarwood and others which contain volatile components to extract aromatic water.

Keywords: Ganxi tablet; Aromatic perfume; Volatile components; Gas chromatography-mass spectrometry

*基金项目: 长沙市科技局项目(kq2004047)。

作者简介: 陈玲珑, 女, 副主任药师, 研究方向: 中药制剂及质量控制。

*通信作者: 彭艳梅, 女, 研究员, 研究方向: 中药新药与大健康产品研发。

0 前言

“肝喜片”为我院肿瘤专家、国医大师的经验处方研制而成,已获制剂批文 25 年,处方含 22 味中药,具有疏肝健脾、软坚化痰、解毒抗癌的功效,主要用于肝癌、肝硬化、乙型肝炎、乳腺癌及其他消化系统肿瘤属肝郁脾虚、气血瘀滞证者,多年临床实践显示疗效确切,深受广大患者欢迎,为肿瘤患者带来了福音^[1-4]。

肝喜片原有提取方式为加水煎煮,没有挥发性成分提取过程。本课题组前期研究显示,肝喜片处方中陈皮、茵陈、沉香等 6 种含挥发性成分中药饮片提取的芳香水中共检测出 8 种挥发性成分,分别为:右旋樟脑(53.44%)、D-柠檬烯(20.19%)、乙酸冰片酯(18.36%)、 β -蒎烯、对伞花烃、 γ -蒎品烯、芳樟醇、冰片。其中柠檬烯、 γ -蒎品烯、冰片、 β -蒎烯具有抗炎、抗肿瘤等药理作用。

为了进一步解析肝喜片中的挥发性成分,为优化生产工艺提供科学依据,本项目选用水蒸气蒸馏法提取肝喜片全方饮片芳香水溶液,采用气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析芳香水中的化学成分,现报道如下。

1 材料

GC-MS 联用仪(型号 G-CMS-QP2010,中国科学院化学研究所);恒温加热器(厦门宇电科技有限公司);乙醇(纯度 $\geq 99.5\%$,阿拉丁生化科技股份有限公司);氦气(纯度 99.99%,北京兆格气体科技有限公司);肝喜片处方中药饮片样品经湖南省中医药研究院刘文虎副主任药师鉴定为正品。

2 方法

2.1 样品处理

分别按肝喜片非全方与全方处方比例 2 倍量调配中药饮片,加 8 倍量水,浸泡 1 h, 95~105 °C 提取 5 h 芳香水,冷却 1 h,密封,冰箱保存,得肝喜片 6 种含挥发性成分中药饮片芳香水样品(简称非全方芳香水样品)与全方芳香水样品。

2.2 顶空固相微萃取方法

分别取 10 mL 非全方芳香水样品和 10 mL 全方芳香水样品,置于顶空瓶中,用带有聚四氟乙烯-硅酮隔膜的盖子密封;在顶空固相微萃取(head-space solid phase microextraction, HS-SPME)采样前,将样

品瓶置于 25 °C 保持平衡 1 h;SPME 纤维在 25 °C 下暴露于样品瓶中萃取 10 min;吸附后,从样品瓶中移出 SPME 纤维,立即插入 GC-MS 进样口。

2.3 GC-MS 分析条件

MS:离子源温度 230 °C,全扫描 35~350 U,轰击电子能量 70 eV。GC:RTX-5MS 色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m)在 50 °C 保持 3 min,以 5 °C \cdot s⁻¹的速率从 50 °C 加热到 250 °C,并在 250 °C 保持 5 min,以氦气为载气,流速 1.0 mL \cdot min⁻¹,进气口温度 250 °C,接口温度 250 °C,分流比:非全方芳香水样品 20:1、全方芳香水样品不分流。

2.4 数据库的建立与分析鉴定

通过 Qualitative Analysis B.06 软件对所检测样本的 MS 数据进行筛查,再查阅 NIST Chemistry Web-Book 数据库和化学成分的相关中英文文献,收集整理已报道的化合物,将各化学成分进行汇总,包括分子式、分子结构式、相对分子质量、中英文名称等,结合已有文献信息推测可能的化合物的裂解规律并进行初步分析鉴定。

3 结果与讨论

3.1 GC-MS 鉴定肝喜片中挥发性成分

采用 GC-MS 对肝喜片芳香水中的成分进行分析,得到非全方芳香水样品的总离子流图(图 1)和全方芳香水样品的总离子流图(图 2)。通过定性与定量分析解析出非全方芳香水样品的主要成分,共 8 种挥发性成分(表 1);全方芳香水样品的主要成分,共 28 种挥发性成分(表 2)。

3.2 图谱解析

质谱碎片离子峰可以辨别肝喜片中主要挥发性成分的化合物信息(图 3)。柠檬烯属于单萜类,双戊烯结构,脱(-CH₃)可生成 C₉H₁₃⁺(*m/z*=121),脱(-C₃H₅)可生成 C₇H₁₁⁺(*m/z*=95),C₇H₁₁⁺可进一步脱 2 个氢键,形成稳定的共轭键,以 C₇H₉⁺(*m/z*=93)结构稳定存在,双戊烯结构可裂解为丰度较高的单戊烯 C₅H₈⁺(*m/z*=68)。

3.3 讨论

本研究在肝喜片非全方芳香水中检测出 8 种挥发性成分,分别为:右旋樟脑(53.44%)、D-柠檬烯(20.19%)、乙酸冰片酯(18.36%)、 β -蒎烯、对伞花烃、 γ -蒎品烯、芳樟醇、冰片。其中柠檬烯具有抗炎、抗氧化作用,可以清除人体内的自由基^[5-7]。吕海涛等^[8]研究发现,柠檬烯可通过下调 NF- κ B 表达

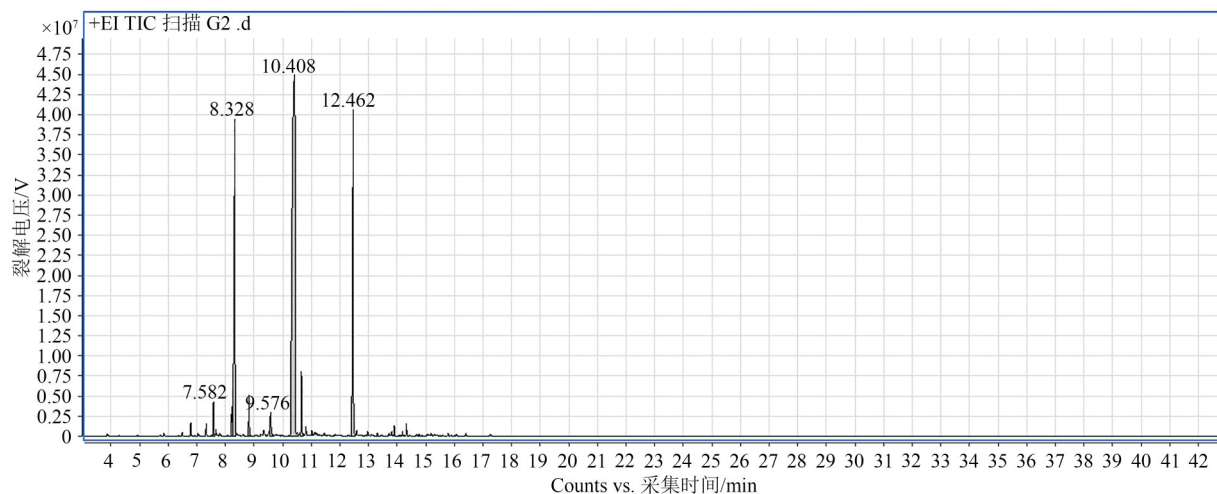


图 1 非全方芳香水成分总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of components in aromatic water extracted from 6 kinds of Chinese herbal pieces in the prescription of Ganxi tablet

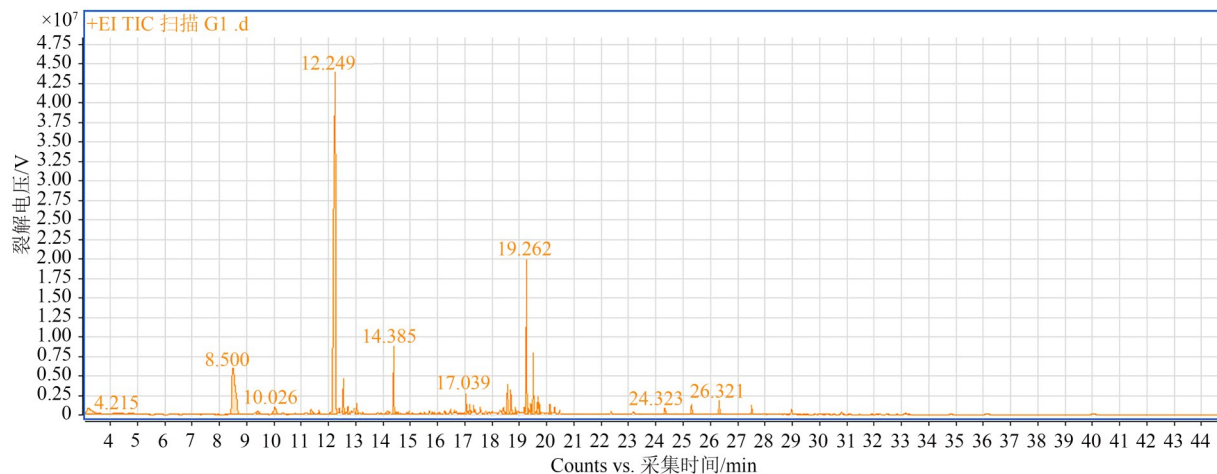


图 2 全方芳香水成分总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatogram of components in aromatic water extracted from all the Chinese herbal pieces in the prescription of Ganxi tablet

表 1 非全方芳香水 GC-MS 成分分析

Tab.1 Analysis of components in aromatic water extracted from 6 kinds of Chinese herbal pieces in the prescription of Ganxi tablet by GC-MS

峰号	化合物	峰面积占比/%	分子式	保留时间/min	质谱匹配度	CAS号
1	β -蒎烯	1.21	$C_{10}H_{16}$	7.582	97.47	127-91-3
2	对伞花烃	1.56	$C_{10}H_{14}$	8.219	98.4	99-87-6
3	D-柠檬烯	20.19	$C_{10}H_{16}$	8.328	98.33	5989-27-5
4	γ -蒎品烯	1.5	$C_{10}H_{16}$	8.819	99.02	99-85-4
5	芳樟醇	1.34	$C_{10}H_{18}O$	9.576	98.16	78-70-6
6	右旋樟脑	53.44	$C_{10}H_{16}O$	10.408	99.55	464-49-3
7	冰片	2.39	$C_{10}H_{18}O$	10.656	99.4	507-70-0
8	乙酸冰片酯	18.36	$C_{12}H_{20}O_2$	12.462	99.27	76-49-3

表 2 全方芳香水 GC-MS 成分分析

Fig. 2 Analysis of components in aromatic water extracted from all the Chinese herbal pieces in the prescription of Ganxi tablet by GC-MS

峰号	化合物	峰面积 占比/%	分子式	保留 时间/min	质谱 匹配度	CAS 号
1	N-甲基-3-(4-硝基苯基)-5-异恶唑丙烷胺	2.77	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O ₃	3.199	65.96	157170-19-9
2	己醛	0.93	C ₆ H ₁₂ O	4.215	90.3	66-25-1
3	环三硅氧烷	0.55	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃	4.725	84.75	541-05-9
4	苯甲醛	12.46	C ₇ H ₆ O	8.5	95.54	100-52-7
5	八甲基环四硅氧烷	0.67	C ₈ H ₂₄ O ₄ Si ₄	9.396	85.12	556-67-2
6	桉树醇	1.38	C ₁₀ H ₁₈ O	10.026	94.32	470-82-6
7	芳樟醇	0.86	C ₁₀ H ₁₈ O	11.364	78.16	78-70-6
8	右旋樟脑	48.45	C ₁₀ H ₁₆ O	12.249	99.38	464-49-3
9	冰片	2.26	C ₁₀ H ₁₈ O	12.541	97.97	507-70-0
10	松脂-4-醇	0.67	C ₁₀ H ₁₈ O	12.713	75.37	562-74-3
11	左旋肉豆蔻醇	0.87	C ₁₀ H ₁₆ O	13.032	84.86	19894-97-4
12	蛇麻酮	0.54	C ₂₆ H ₃₈ O ₄	14.149	65.53	468-28-0
13	乙酸冰片酯	3.36	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	14.385	98.46	76-49-3
14	1-(1,5-二甲基-4-己烯基)-4-甲基苯	0.94	C ₁₅ H ₂₂	17.039	94.83	644-30-4
15	γ-雪松烯	0.65	C ₁₅ H ₂₄	17.174	80.93	1000140-08-0
16	4,6,6-三甲基-2-(3-甲基丁-1,3-二烯基)-3-氧杂三环[5.1.0.0(2,4)]辛烷	0.71	C ₁₅ H ₂₂ O	18.411	82.96	1000190-22-2
17	反式 6-(对甲苯基)-2-甲基-2-庚烯醇	2.19	C ₁₅ H ₂₂ O	18.558	80.91	39599-18-3
18	细辛酮	1.48	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	18.678	94.49	2883-98-9
19	芳香酮	8.69	C ₁₅ H ₂₀ O	19.262	92.16	1000292-71-0
20	10,12-三碳二炔酸甲酯	0.6	C ₂₄ H ₄₀ O ₂	19.3	81.07	1000333-59-4
21	3-亚丁基,1(3H)-异苯并呋喃酮	0.58	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	19.416	81.81	551-08-6
22	(8S顺式)2,4,6,7,8,8-六氢-3,8-二甲基-4-(1-甲基亚乙基)-5(1H)-萹酮	3	C ₁₅ H ₂₂ O	19.51	90.01	6754-66-1
23	4,6,6-三甲基-2-(3-甲基丁-1,3-二烯基)-3-氧杂三环[5.1.0.0(2,4)]辛烷	1.48	C ₁₅ H ₂₂ O	19.671	82.24	1000190-22-2
24	4-烯-3-酮-2,2,7,7-四甲基三环[6.1.0(1,6)]十一碳	0.61	C ₁₅ H ₂₂ O	19.731	91.05	1000189-49-9
25	3(3aH)-酮,1,2,3b,6,7,8-六氢-6,6-二甲基-环戊[1,3]环丙[1-2]环庚烯	0.62	C ₁₃ H ₁₈ O	20.117	79.56	91531-58-7
26	二十二烷	0.53	C ₂₂ H ₄₆	24.323	91.01	629-97-0
27	二十四烷	0.8	C ₂₄ H ₅₀	26.321	95.48	646-31-1
28	二十七烷	1.38	C ₂₇ H ₅₆	27.509	92.32	593-49-7

和增强 IκB 表达使肿瘤坏死因子-α 表达减少,从而抑制炎症的发生。此外,柠檬烯具有广谱抗癌作用,对许多肿瘤细胞都有抑制作用^[9-10],其抗肿瘤机制主要包括抑制细胞周期、诱导细胞凋亡^[11-13]等,可以通过抑制促炎细胞因子抑制肿瘤的产生^[14],但其作用机制仍不完全清楚,还有待进一步研究。乙酸

冰片酯、芳樟醇、对伞花烃^[15]主要用作香料,右旋樟脑主要用于卫生杀虫,γ-萜品烯^[16]不论在体内还是体外都能发挥一定的抗氧化作用。冰片^[17]在中国作为佐使药使用已有数千年历史,具有保护中枢神经系统、改善学习记忆功能、促透、抑菌和抗炎等作用。β-蒎烯^[18]具有抑制人源 SW872 脂肪肉瘤细胞分

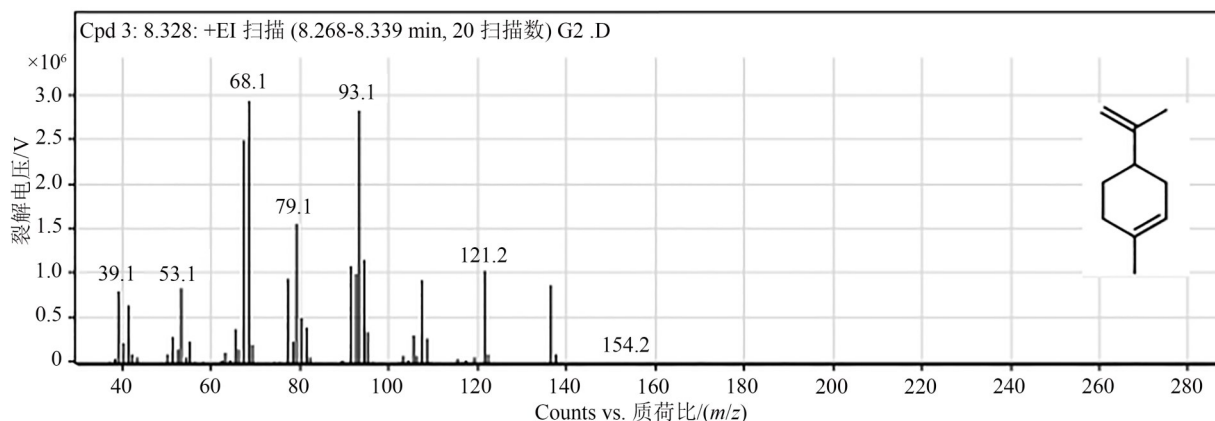


图3 柠檬烯离子碎片峰图谱

Fig. 3 The graph of limonene ion fragment peak

化、迁移、增殖的作用。本研究初步明确了肝喜片挥发性成分及其作用,为进一步研究其药理作用提供了一

本研究在肝喜片全方芳香水样品中共检测出 28 种挥发性成分,其中右旋樟脑、苯甲醛及芳香酮三种成分合计占比 69.6%,但三者均不是肝喜片的主要药效成分,其他少量成分有一定的药理作用,但含量很低。故肝喜片工艺优化提取挥发性成分时不宜用全方,应优选陈皮、茵陈、沉香等 6 种含挥发性成分中药饮片提取芳香水。

此外,近年来 GC-MS 技术因快速简便、灵敏度较高、重现性和耐用性好等优点广泛应用于食品、饮用水、化妆品、环境土壤等样品中挥发性成分的检测^[19-22]。为了快速高效地分离解析肝喜片芳香水中的挥发性成分,本研究亦选用了 GC-MS 技术。

肝喜片原提取工艺为加水煎煮,没有挥发性成分提取过程。研究挥发性成分及其药效能为肝喜片生产工艺优化及物质基础研究提供实验依据。但生产工艺增加芳香水提取步骤对其疗效的具体影响还有待进一步研究。本课题组之后拟对肝喜片芳香水开展抗肿瘤作用研究,并对比研究肝喜片原生产工艺与含芳香水提取工艺的药效学作用。未来还需要开展大规模多中心临床和基础研究,以明确肝喜片的作用靶点,为新药开发提供基础。

参考文献

[1] 滕然. 加味柴芍六君子汤与肝喜片联合 TACE 治疗原发性肝癌(肝瘀脾虚,湿热内蕴型)的临床观察[D]. 湖南中医药大学, 2020.
[2] 曾雯. 肝喜片联合艾迪注射液治疗晚期原发性肝癌(肝瘀脾虚型)临床研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学.
[3] 王其美, 王容容, 张迪, 等. 口服肝喜片配合三氧化二砷行肝动脉灌注化疗栓塞术治疗肝郁脾虚型原发性肝癌的临

床研究[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(3): 1121-1125. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3765.2014.11.075.

[4] 傅剑锋, 潘博, 蔡美. 肝喜片配合介入治疗原发性肝癌 30 例疗效观察[J]. 湖南中医杂志, 2012, 28(1): 10-11.
[5] 张芳, 姜媛媛, 杨洋, 等. 柚提取物含量测定及其抗氧化、抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(3): 65-69. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.03.004.
[6] 章斌, 侯小桢, 秦轶, 等. 柠檬果皮精油主要组分抑菌及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(12): 138-142. DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2017.12.028.
[7] 刘雅丽, 陈思佳, 张晨, 等. 橙皮苷、柠檬烯及茶多酚清除自由基能力的对比研究[J]. 口腔医学研究, 2015, 31(1): 11-14. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2392.2013.01.023.
[8] 吕海涛, 梁惠, 王文成, 等. D-柠檬烯对酒精性脑损伤大鼠脑组织 NF- κ B、I κ B 及 TNF- α 表达的影响[J]. 山东医药, 2015(27): 21-23. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2015.27.007.
[9] KAPOOR S. D-limonene [J]. Hum Exp Toxicol, 2013, 32(11): 1228. DOI: 10.1177/0960327113489053.
[10] RABI T, BISHAYEE A. D-Limonene sensitizes docetaxel-induced cytotoxicity in human prostate cancer cells: generation of reactive oxygen species and induction of apoptosis [J]. J Carcinog, 2009, 8: 9. DOI: 10.4103/1477-3163.51368.
[11] CHAUDHARY S C, SIDDIQUI M S, ATHAR M, et al. D-Limonene modulates inflammation, oxidative stress and Ras-ERK pathway to inhibit murine skin tumorigenesis [J]. Hum Exp Toxicol, 2012, 31(8): 798-811. DOI: 10.1177/0960327111434948.
[12] MILLER J A, LANG J E, LEY M, et al. Human breast tissue disposition and bioactivity of limonene in women with early-stage breast cancer [J]. Cancer Prev Res (Phila), 2013, 6(6): 577-584. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-12-0452.
[13] JIA S S, XI G P, ZHANG M, et al. Induction of apoptosis by D-limonene is mediated by inactivation of Akt in LS174T human colon cancer cells [J]. Oncol Rep, 2013, 29(1): 349-354. DOI: 10.3892/or.2012.2093.
[14] MANN A P, VERMA A, SETHI G, et al. Overexpression of tissue transglutaminase leads to constitutive activation of nuclear

- factor-kappaB in cancer cells: delineation of a novel pathway [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(17): 8788-8795. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1457.
- [15] 张秋格, 毕良武, 赵振东, 等. 对伞花烃的制备与应用研究进展[J]. *现代化工*, 2008, 28(S2): 401-406.
- [16] 甘芝霖, 倪元颖. γ -萜品烯的体内外抗氧化性研究[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(6): 100-105. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.06.017.
- [17] 吴瑜锋, 朱泽宇, 陈靖南, 等. 冰片药理作用及冰片酯的研究进展[J]. *药学研究*, 2020, 39(4): 217-224. DOI: 10.13506/j.cnki.jpr.2020.04.007.
- [18] 钱旭, 周吉, 富子桀, 等. β -蒎烯对人源 SW872 脂肪肉瘤细胞的抑制效果[J]. *中国全科医学*, 2021, 24(S2): 94-97.
- [19] 王辉, 王潇, 陈小丽, 等. 气相色谱质谱法同时检测食品中多种防腐剂含量[J]. *农产品加工*, 2023(11): 61-65.
- [20] 邱姚瑶, 谷贵章, 曹秋虹, 等. 固相萃取-气相色谱质谱法测定饮用水中 9 种农药残留[J]. *食品安全导刊*, 2023(16): 72-75.
- [21] 王玮, 邢玉瑾, 张雪. 气相色谱-质谱法测定化妆品中 19 种香精香料[J]. *日用化学工业(中英文)*, 2023, 53(5): 581-587. DOI:10.3969/j.issn.2097-2806.2023.05.013.
- [22] 刘喜, 施玉格, 李媛, 等. 快速溶剂萃取-气相色谱/质谱法测定土壤和沉积物中有机氯农药残留[J]. *福建分析测试*, 2023, 32(3): 37-42. DOI: 10.3969/j.issn.1009-8143.2023.03.07.

校稿: 于静 李征

本文引用格式: 陈玲珑, 陆艳艳, 彭艳梅. 基于气相色谱-质谱研究肝喜片处方中挥发性成分[J]. *肿瘤药学*, 2024, 14(1): 59-64. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2024.01.10.

Cite this article as: CHEN Linglong, LU Yanyan, PENG Yanmei. Study on the volatile components in Ganxi tablets based on GC-MS[J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2024, 14(1): 59-64. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2024.01.10.