

泸州和安岳枳壳中的低极性化学成分*

罗禹¹ 张添植² 辜晓英¹ 税丕先^{1**}

¹西南医科大学药学院 泸州 646000

²泸州宇龙枳壳枳实研究院 泸州 646000

摘要 为分析比较泸州和安岳两地产枳壳中的低极性成分特别是脂肪酸和挥发油的组成,分别采用有机溶剂提取法和水蒸气蒸馏法提取泸州和安岳枳壳中的低极性成分,运用气质联用技术进行成分分析,所得成分的质谱数据经数据库检索鉴定,并应用面积归一化法计算各成分的相对含量。结果显示:(1)以石油醚为溶剂提取枳壳浸膏,泸州枳壳鉴定出61种化学成分,安岳枳壳鉴定出18种化学成分,成分以脂肪酸、烷烃为主,两种枳壳中含量最高的成分均为十八碳二烯酸;(2)以水蒸气蒸馏法提取枳壳挥发油,泸州枳壳鉴定出65种化学成分,安岳枳壳鉴定出81种化学成分,以小分子烯、醇、萜类物质为主,两种枳壳中含量最高的成分均为 d -柠檬烯。本研究表明不同方法提取出的化学成分种类差异明显;泸州和安岳两地产两种枳壳的脂肪酸组成具有较大的差异;挥发性成分种类相似,其含量组成有一定差异;结果可为四川地区枳壳的开发利用提供数据基础。(表3 参20)

关键词 枳壳;低极性成分;脂肪酸;挥发油;气相色谱-质谱联用

CLC R284

The low polar components in *Fructus aurantii* from Luzhou and Anyue*

LUO Yu¹, ZHANG Tianzhi², GU Xiaoying¹ & SHUI Pixian^{1**}

¹School of Pharmaceutical Sciences, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

²Luzhou Yulong Fructus Aurantii Research Institute, Luzhou 646000, China

Abstract To analyze and compare the composition of the low polar components in *Fructus aurantii* from Luzhou and Anyue, especially the composition of fatty acids and volatile oils, organic solvent extraction and steam distillation methods were used to extract the low polar components in *F. aurantii*. The components were analyzed by GC-MS. The mass spectra of the components were retrieved by database and identified, and the relative content of each component was calculated by the area normalization method. The following results were obtained: 1) From the petroleum ether extract of *F. aurantii*, 61 and 18 compounds were identified in samples from Luzhou and Anyue, respectively, including fatty acids and alkanes. Octadecadienoic acid was the compound with the highest content in both samples. 2) From the volatile oil of *F. aurantii* extracted by the steam distillation method, 65 and 81 compounds were separately identified in the samples from Luzhou and Anyue, respectively, including small molecules such as alkenes, alcohols, and terpenoids. D -Limonene was the compound with the highest content of *F. aurantii* from the two origins. This study showed that the difference in chemical composition extracted by the different methods was significant. The content of fatty acids in *F. aurantii* from Luzhou and Anyue was quite different. The composition of volatile oil was similar, whereas the content was different. This study provides a reference basis for the development of *F. aurantii* from Luzhou and Anyue.

Keywords *Fructus aurantii*; low polar component; fatty acid; volatile oil; GC-MS

枳壳 (*Fructus aurantii*) 为芸香科植物酸橙 (*Citrus aurantium* L.) 及其栽培变种的干燥未成熟果实,功效为理气宽中、行滞消胀,常用于胸胁气滞、胀满疼痛、食积不化、痰饮内停、脏器下垂等症^[1]。

我国长江流域及南方各省区为柑橘栽培地区。我国枳壳的道地产区有3个,分别为湖南沅江、江西新干、重庆江津,又称为湘枳壳、江枳壳、川枳壳。川枳壳、川枳实以重庆江津、綦江为主产区^[2],四川的达州、巴中、安岳等地亦产^[3]。泸州也有种植历史,泸州《合江县志》记载证明泸州产枳壳。1955年,合江收购品种40多个,1985年多达100多种。其中有佛手、麝香、杜仲、厚朴、甘草、黄柏、玄参、生地、白芍、云木香、柴胡、槟榔、枳壳。前人对重庆江津产枳壳研究较多,而对泸州、安岳等地枳壳中的化学成分研究还未见报道。

收稿日期 Received: 2018-05-22 接受日期 Accepted: 2018-06-01

*教育部西南地区健康与旅游扶贫实验项目(XN0206B)资助
Supported by the Experimental Project of Ministry of Education of China on Health and Tourism Poverty Alleviation in Southwestern China (XN0206B)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: spx6702@163.com)

枳壳含多种化学成分,主要由挥发油、生物碱类、黄酮类、三萜内酯类、香豆素类、维生素、果胶、色素、无机盐等成分组成,前3种成分研究较多^[4]。挥发油是枳壳的3大有效成份之一,具有促进胃排空和加快肠蠕动、抗菌、抗病毒、抗肿瘤的作用,也可用于胆病治疗^[5]。挥发油的提取方法主要有水蒸气蒸馏法、有机溶剂提取法、超临界流体萃取法等。来源不同的枳壳,其挥发油成分有差异;不同方法提取的挥发油,其化学成分也必有差异。一般来说用有机溶剂提取法主要是根据相似相溶原理提出中低极性的成分,除了挥发性成分外,主要包括脂肪酸、高级烷类、萜类和甾醇类等;而水蒸气蒸馏法提取原理是水蒸气将挥发性物质一并带出,得到的是具有挥发性的成分,这些挥发性成分也基本属于低极性成分。

脂肪是人体所必需的三大基本营养成分之一,是人类膳食的必要营养,不仅为生物体提供能源,同时积极参与生物信号传导,调节激素代谢^[6]。现有绝大多数天然脂肪是由饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸的甘油酯形式存在的,也伴有少量结构多样的类脂化合物,甘油酯的理化性质和生物功能主要取决于其脂肪酸链的长度与结构。长链脂肪酸,特别是长链的不饱和或高度不饱和脂肪酸,对心血管等疾病具有比较好的防治作用。不饱和脂肪酸对人体肿瘤的发生、存在及影响也密切相关^[7]。因此现代医药及食品工业均十分重视长链不饱和脂肪酸资源的开发、研究与应用。目前对枳壳中脂肪酸组成的研究还未见报道。

我们以四川泸州和安岳的两种地方枳壳为研究对象,采用有机溶剂提取法和水蒸气蒸馏法分别研究其低极性和挥发性成分组成,并比较分析两地枳壳之间的成分差异,为下一步对两地枳壳的品种来源、质量评价、道地性等的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 设备与材料

DB-5MS气相毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, 美国安捷伦);气相色谱-质谱联用仪GCMS-QP2010 Plus(日本岛津)。

有机试剂均为分析纯,石油醚(60-90℃)、环己烷、甲醇、浓硫酸、无水硫酸钠、乙酸乙酯、无水乙醇等均购于成都科龙化工试剂厂。实验用枳壳药材分别采自四川省泸州市泸县天植枳壳种植基地和四川省安岳县千川枳壳种植基地,于2017年7月中旬采收,由西南医科大学生药学院教研室税丕先教授鉴定为酸橙(*Citrus aurantium* L.)的干燥未成熟果实,粉碎后过30目筛备用。

1.2 提取和处理方法

1.2.1 石油醚提取法和甲酯化处理 枳壳药材粉末100 g,加石油醚200 mL浸泡过夜,然后加石油醚600 mL渗漉,合并渗漉液,减压回收溶剂至近干,得到泸州枳壳石油醚浸膏4.6 g,安岳枳壳石油醚浸膏4.8 g。浸膏冷藏备用。

石油醚提取法得到的浸膏含有大量脂肪酸,脂肪酸特别是长碳链脂肪酸如果直接进行分析,常常柱温偏高,高温固定相难以选择,色谱峰易拖尾,有时有假峰出现,所以先将

其衍生为挥发性更好的脂肪酸甲酯再进行分析^[8]。我们采用了酸处理法进行甲酯化^[7]:取石油醚提取浸膏100 mg至烧瓶中,加1%硫酸甲醇溶液5 mL,70℃水浴回流35 min,然后分别以环己烷3 mL、2 mL萃取两次,合并环己烷溶液,加入3 mL水洗一次,无水硫酸钠干燥,冷藏备用。

1.2.2 水蒸气蒸馏法 根据2015版《中国药典》(四部)通则“2204挥发油测定法”中甲法进行提取。称取枳壳粉末100 g,称定重量(准确至0.01 g),置烧瓶中,加6倍量的水与玻璃珠数粒,振摇混合后,连接挥发油测定器与回流冷凝管。自冷凝管上端加水使充满挥发油测定器的刻度部分,并溢流入烧瓶时为止。置电热套中缓缓加热至沸,微沸约5 h后测定器中油量不再增加,停止加热,放置片刻,观察刻度可知收得泸州枳壳挥发油0.12 mL,安岳枳壳挥发油0.15 mL。开启测定器下端的活塞,将水缓缓放出,挥发油用环己烷0.5 mL洗涤提取两次,无水硫酸钠干燥,合并冷藏备用。

1.3 气相色谱和质谱条件

升温程序:进样口温度290.00℃,起始温度40℃,保持5 min,以10℃/min升温至100℃,保持2 min,再以5℃/min升温至140℃,保持5 min,再以10℃/min升温至290℃,保持10 min。

DB-5MS气相毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, 美国安捷伦);进样量1.00 μL;柱箱温度40℃;进样温度290℃;载气(He)流量1.05 mL/min;分流比10.0;溶剂延迟时间3.20 min;电子轰击(EI)离子源;离子源温度200℃;接口温度220℃;质量扫描范围33-600 m/z。

1.4 化学成分分析

分别取1.2.1和1.2.2方法所得到的供试样品,用GC-MS进行分析处理。通过岛津气质联用工作站GCMS solution工作站数据处理系统,检索NIST 08谱图库,结合人工谱图解析,确认样品GC图谱中各峰所代表的化学成分。按照峰面积归一化法进行定量分析,分别求得各化学成分的相对含量。

2 结果与分析

按上述GC-MS条件对两地枳壳石油醚提取物和挥发油进行分析,确认样品GC图谱中各个峰所代表的化学成分,并采用面积归一化法分析统计各成分的相对含量,结果见表1、2。统计枳壳石油醚提取物中脂肪酸的组成,如表3所示。

3 讨论与结论

由表1和表2可以看出,不同提取方法提取出来的化学成分种类和相对含量存在较大的差异。石油醚提取物含各类低极性成分,其化学成分种类以脂肪酸、烷烃和甾醇为主。其中泸州枳壳石油醚提取物中共鉴定出了61种化学成分,含量最高的几种依次为十八碳二烯酸甲酯、γ-谷甾醇、正三十六烷、二十四烷酸甲酯;安岳枳壳石油醚提取物中共鉴定出了18种化学成分,含量最高的几种依次为十八碳二烯酸甲酯、十六烷酸甲酯、十八烷酸甲酯。两种石油醚提取物中脂肪酸成分都占了大部分,如表2所示泸州枳壳石油醚提取物中总脂肪酸含量为53.89%,安岳枳壳石油醚提取物中总脂肪酸含量达

表1 泸州和安岳产枳壳的石油醚提取物成分 (N=3)
Table 1 Constituents in petroleum ether extract of *Fructus aurantii* from Luzhou and Anyue (N=3)

No.	化合物名称 Compound name	相对含量 (w/%) Relative content		No.	化合物名称 Compound name	相对含量 (w/%) Relative content	
		石油醚提取法 Petroleum ether extraction				石油醚提取法 Petroleum ether extraction	
		泸州 Luzhou	安岳 Anyue			泸州 Luzhou	安岳 Anyue
1	正癸烷 Decane	0.16	—	37	十七碳烯酸甲酯 Heptadecenoic acid, methyl ester	0.06	—
2	Cyclobutane, 1,2-bis (1-methylethenyl) -, (1R,2R) -rel-	0.73	—	38	十七烷酸甲酯 Heptadecanoic acid, methyl ester	1.41	1.12
3	萜品油烯 Terpinolene	0.19	—	39	丙位十二内酯 4-Dodecanolide	—	0.86
4	芳樟醇 Linalool	0.15	—	40	1,8-Dioxacyclohexadecane-2,10-dione	2.59	—
5	蛔蒿醇 3,3,6-Trimethyl-1,5-heptadien-4-ol	0.07	—	41	十八碳二烯酸甲酯 Octadecadienoic acid, methyl ester	24.37	51.97
6	橙花醇甲酯 Nerol, methylether	0.21	—	42	十八烷酸甲酯 Octadecanoic acid, methyl ester	3.04	4.17
7	7-甲氧基-3,7-二甲基-辛醛 7-methoxy-3,7-dimethyl-Octanal	1.63	—	43	十九碳烯酸甲酯 Nonadecenoic acid, methyl ester	0.18	—
8	(2E) -1-Methoxy-3,7-dimethylocta-2,6-diene	0.83	—	44	十二烷基磷氯酸丙基酯 Phosphorochloridic acid, propyl dodecyl ester	0.11	—
9	甲氧香茅醛 7-methoxy-3,7-dimethyl-Octanal	0.22	—	45	正二十烷 Eicosane	0.25	1.82
10	烯虫丙酯 Altosid	0.20	—	46	Methyl tuberuculostearate	0.33	—
11	衣兰油烯 Muurolene	1.04	0.63	47	正二十四烷 Tetracosane	3.78	—
12	α -杜松萜烯 α -Cadinene	0.42	0.93	48	正三十四烷 Tetratriacontane	1.41	—
13	异喇叭烯 Isoledene	0.93	0.63	49	正三十六烷 Hexatriacontane	8.46	0.87
14	十二烷酸甲酯 Lauric acid,methyl ester	0.10	—	50	二十烷酸甲酯 Eicosanoic acid, methyl ester	2.32	0.64
15	d-杜松萜烯 d-Cadinene	0.99	1.22	51	3-甲基-十七烷 3-methyl-Heptadecane	—	1.45
16	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4- (1-methylethyl) -	0.11	—	52	二十一烷酸甲酯 Heneicosanoic acid, methyl ester	0.74	—
17	α -古芸烯 α -Gurjunene	—	0.56	53	γ -谷甾醇 γ -Sitosterol	9.99	—
18	马榄烯 Maaliene	0.51	—	54	二十二烷酸甲酯 Docosanoic acid, methyl ester	2.47	—
19	Eudesma-3,7 (11) -diene	0.15	—	55	二十三烷酸甲酯 Tricosanoic acid, methyl ester	2.10	—
20	Acetic acid, 5,5-dimethyl-6- (3-methyl-buta-1,3-dienyl) -7-oxa-bicyclo [4.1.0] heptyl ester	0.12	—	56	二十四烷酸甲酯 Tetracosanoic acid, methyl ester	4.02	—
21	香橙烯 Aromadendrene	—	0.91	57	二十五烷酸甲酯 Pentacosanoic acid, methyl ester	2.74	—
22	异长叶醇甲酯 Isolongifolol, methylether	0.77	—	58	2-羟基-二十四烷酸甲酯 Methyl 2-hydroxy-tetracosanoate	0.36	—
23	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1- (1-methylethy)	0.17	—	59	二十六烷酸甲酯 Hexacosanoic acid, methyl ester	1.66	—
24	桉叶油醇 Cineole	0.53	—	60	二十七烷酸甲酯 Carboceric acid, methyl ester	0.54	—
25	巴伦西亚橘烯 Valencene	0.13	—	61	3,4-dihydro-2,7,8-trimethyl-2- (4,8,12-trimethyltridecyl) -2H-1-Benzopyran-6-ol	1.15	—
26	1-isopropyl-7-methyl-4-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene	1.37	2.13	62	异二十七酸甲酯 Tricosanoic acid, 10,14,18,22-tetramethyl-, methyl ester	2.49	—
27	十四烷酸甲酯 Tetradecanoic acid, methyl este	0.35	—	63	4,6-胆甾二烯醇 Cholesta-4,6-dien-3-ol	0.65	—
28	蓝桉醇 Globulol	0.35	—	64	二十八烷酸甲酯 Octacosanoic acid, methyl ester	2.20	—
29	十五碳烯酸甲酯 Pentadecenic acid, methyl este	0.17	—	65	维生素E Tocopherol	3.14	—
30	十五烷酸甲酯 Pentadecanoic acid, methyl este	0.60	—	66	二十九烷酸甲酯 Motanic acid, methyl ester	0.33	—
31	植物醇 Phyto	0.17	—	67	正四十四烷 Tetratetracontane	—	1.07
32	十六碳烯酸甲酯 Hexadecenoic acid, methyl ester	0.19	—				
33	十六烷酸甲酯 Hexadecanoic acid, methyl ester	1.56	28.3				
34	2,5-dimethylhex-4-en-3-ol	—	0.10				
35	10- (Tetrahydro-pyran-2-yloxy) –tricyclo [4.2.1.1 (2,5)] decan-9-ol	0.19	—				
36	异十七碳酸甲酯 Tetradecanoic acid, 5,9,13-trimethyl-, methyl ester	0.25	—				

平行实验3次取平均值; —: 未检出。
The results represent means of 3 separate experiments. —: Not detected.

到86.2%。人体摄入不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比例会影响到正常生理功能, 食药材中不饱和脂肪酸的比重是衡量其药食用价值的标准之一。本文以不饱和脂肪酸 (Unsaturated fatty acid, USFA) 与饱和脂肪酸 (Saturated fatty acid, SFA) 的比率评价枳壳中不饱和脂肪酸^[10]。泸州枳壳中USFA/SFA值为0.86, 安岳枳壳USFA/SFA值为1.52。两者含量最高的成分均

为十八碳二烯酸。泸州枳壳中脂肪酸种类明显更多, 从碳链最短的十二烷酸到最长二十九烷酸共计有23种; 而安岳枳壳中脂肪酸只检出5种, 十八碳二烯酸和十六烷酸就占了80%以上。十八碳二烯酸具有重要的生理作用, 有研究表明(4Z,15Z)-十八碳二烯酸可以抑制H4IIE细胞中葡萄糖生成, 具有潜在的抗糖尿病活性^[11]。而统计表明, 枳壳以其疏肝益肾、理气和

表2 泸州和安岳产枳壳的挥发性成分分析 ($N=3$)Table 2 Volatile constituents in *Fructus aurantii* from Luzhou and Anyue ($N=3$)

No.	化合物名称 Compound name	相对含量 (w/%) Relative content		No.	化合物名称 Compound name	相对含量 (w/%) Relative content	
		水蒸气蒸馏法 Steam distillation				水蒸气蒸馏法 Steam distillation	
		泸州 Luzhou	安岳 Anyue			泸州 Luzhou	安岳 Anyue
1	Ethanone, 1- (1-methyl-2-cyclopenten-1-yl) -	—	0.01	45	十六醛 Hexadecanal	0.24	—
2	环己醇 Cyclohexanol	—	0.01	46	十八醛 Octadecanal	—	0.19
3	庚醛 Heptanal	—	0.01	47	β -石竹烯 β -Caryophyllene	0.94	0.58
4	β -侧柏烯 β -Thujene	—	0.01	48	2'-乙酰氧基苯乙酮 2'-Acetoxyacetophenone	—	0.10
5	α -蒎烯 α -Pinene	0.41	0.58	49	葑澄茄烯 Cubebene	—	0.23
6	茨烯 Camphene	—	0.07	50	γ -榄香烯 γ -Elemene	1.55	1.12
7	β -蒎烯 β -Pinene	2.40	2.74	51	大根香叶烯B Germacrene B	1.96	0.85
8	月桂烯 Myrcene	0.88	1.34	52	α -愈创烯 α -Guaiene	1.03	0.68
9	正辛醛 Octanal	0.19	0.47	53	α -石竹烯 α -Caryophyllene	1.09	0.46
10	1,2,3,4,5,8-六氢茚 1,2,3,4,5,8-Hexahydronaphthalene	0.19	0.27	54	巴伦西亚橘烯 Valencene	—	0.63
11	3-十二炔 3-Dodecyne	—	0.13	55	大根香叶烯D Germacrene D	11.31	6.32
12	4-薷烯 4-Carene	—	0.20	56	蛇麻烯 Humulen	1.27	0.76
13	萜品油烯 Terpinolene	0.15	—	57	α -衣兰油烯 α -Muurolene	0.96	0.66
14	1,4-Cyclohexadiene, 3-ethenyl-1,2-dimethyl-	0.15	0.32	58	古芸烯 Gurjunene	1.81	0.57
15	<i>d</i> -柠檬烯 <i>D</i> -Limonene	22.74	32.73	59	γ -衣兰油烯 γ -Muurolene	0.62	0.41
16	罗勒烯 Ocimene	0.44	0.72	60	杜松萜烯 Cadinene	3.33	2.27
17	萜品烯 Terpinene	0.31	0.32	61	β -愈创烯 β -Guaiene	—	0.63
18	1-辛醇 1-Octanol	0.12	0.23	63	9-甲氧菖蒲烯 9-Methoxycalamenene	—	0.30
19	α -Methyl- α - [4-methyl-3-pentenyl] oxiranemethanol	0.64	1.09	64	橙花叔醇 Nerolidol	1.49	1.17
20	α -松油醇 α -terpineol	4.59	5.22	65	兰桉醇 Globulol	—	0.30
21	芳樟醇 Linalool	5.11	5.29	66	Cubenol	1.09	0.81
22	十一醛 Undecanal	0.37	0.6	67	Humulane-1,6-dien-3-ol	2.34	1.81
23	葑醇 Fenchyl alcohol	0.06	0.07	68	桉油烯醇 Spathulenol	1.33	1.4
24	冰片 Borneol	0.06	0.10	69	香榧醇 Torreyol	3.15	2.19
25	1-壬醇 1-Nonanol	0.07	0.11	70	β -桉叶醇 β -Eucalyptol	—	0.80
26	癸醛 Decanal	0.94	1.05	71	α -毕澄茄醇 α -Cadinol	4.98	3.82
27	乙酸辛酯 Acetic acid, octyl ester	—	0.05	72	1-Naphthalenemethanol, 1,4,4a,5,6,7,8,8a- octahydro-2,5,5,8a-tetramethyl-	0.85	0.75
28	3-Cyclohexene-1-acetaldehyde, α , 4-dimethyl-	0.10	0.07	73	Longipinocarveol, trans-	0.43	0.92
29	2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5- (1-methylethenyl) -, trans-	1.07	0.50	74	Eudesm-7 (11) -en-4-ol	0.82	0.55
30	橙花醇 Nerol	0.63	0.75	75	香叶里拉醇 Geranyl linalool	0.46	—
31	2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5- (1-methylethenyl) -, cis-	0.31	—	76	十二烯基丁二酸酐 2-Dodecen-1-yl (-) succinic anhydride	0.31	—
32	Cyclohexanol, 2-methylene-5- (1-methylethenyl) -	—	0.16	77	正十七醇 1-Heptatriacotanol	—	0.21
33	香芹酮 Carvone	0.10	0.21	78	9-Isopropyl-1-methyl-2-methylene-5- oxatricyclo [5.4.0.0 (3, 8)] undecane	0.26	0.27
34	香叶醇 Geraniol	0.48	0.52	79	异长叶醇 Isolongifolol	—	0.11
35	4- (1-甲基乙烯基) -1-环己烯-1-甲醛 4- (1-methylethenyl) -1-Cyclohexene-1- carboxaldehyde	0.13	0.12	80	植酮 Fitone	—	0.10
36	乙酸冰片酯 Bornyl acetate	—	0.03	81	十六烷酸甲酯 Hexadecanoic acid, methyl ester	0.30	0.24
37	<i>p</i> -Mentha-1 (7) , 8 (10) -dien-9-ol	—	0.04	82	正十五烷酸 Pentadecanoic acid	4.46	4.11
38	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚 2-Methoxy-4-vinylphenol	—	0.05	83	镰叶芹醇 Falcarinol	0.30	—
39	δ -榄香烯 δ -elemene	1.34	0.78	84	<i>Z</i> , <i>E</i> -2,13-Octadecadien-1-ol	0.38	0.13
40	橙花乙酸酯 Nerol acetate	0.85	0.72	85	叶绿醇 Phytol	—	0.28
41	癸酸 Decanoic acid	—	0.05	86	十八碳二烯酸甲酯 Octadecadienoic acid, methyl ester	0.39	—
42	α -古巴烯 α -Copaene	0.25	0.23	87	异丁酸橙花醇酯 Nerolidol isobutyrate	0.13	—
43	γ -马榄烯 γ -Maaliene	0.15	—	88	正二十烷 Eicosane	2.52	2.71
44	β -榄香烯 β -Elemene	1.27	0.82	89	2,6,10-Dodecatrien-1-al, 12- (acetoxy) -2,6,10-trimethyl-, (E,E,E) -	0.19	0.16
				90	十八烷酸甲酯 Octadecanoic acid, methyl ester	0.29	0.66
				91	四十四烷 Tetratetracontane	0.27	0.73

平行实验3次取平均值; —: 未检出。

The results represent means of 3 separate experiments. —: Not detected.

表3 泸州和安岳产枳壳中的脂肪酸组成 ($N=3$)Table 3 Fatty acid compositions in *Fructus aurantii* from Luzhou and Anyue ($N=3$)

化合物名称 Compound name	相对含量 (w%) Relative content	
	泸州 Luzhou	安岳 Anyue
总饱和脂肪酸 Saturated fatty acid (SFA)	24.97	51.97
总不饱和脂肪酸 Unsaturated fatty acid (USFA)	28.92	34.23
总脂肪酸 Fatty acid	53.89	86.20
总不饱和脂肪酸/总饱和脂肪酸 (USFA/SFA)	0.86	1.52

胃的功效,早已应用于治疗糖尿病的中药复方中^[12]。因此枳壳中抗糖尿病的活性成分除了黄酮^[13]外,不饱和脂肪酸也是值得进一步研究的对象。

与石油醚提取法不同,水蒸气蒸馏法提取两种枳壳,得到的主要都是挥发性成分,即挥发油,以烯烃、醇类、萜类、醛类为主,多具有芳香的气息。泸州枳壳挥发油中共鉴定出65种成分,其中含量最高的几种成分依次为 d -柠檬烯、大根香叶烯D、芳樟醇、 α -毕橙茄醇、 α -松油醇、正十五烷酸;安岳枳壳挥发油中共鉴定出81种成分,其中含量最高的几种成分为 d -柠檬烯、大根香叶烯D、芳樟醇、 α -松油醇、正十五烷酸、 α -毕橙茄醇等。据报道在各地产枳壳的挥发油中 d -柠檬烯均为主要成分^[14-15],但由于产地、炮制、贮存、实验操作等因素的不同,检出含量差别很大。比如有报道湘枳壳挥发油中 d -柠檬烯含量为62.39-80.25%,江枳壳中为69.33-92.49%,川枳壳中为72.12%^[14],而也有报道重庆枳壳挥发油中 d -柠檬烯含量为41.20%^[15],沅江枳壳中为9.44%^[16]。本文研究中泸州和安岳两地枳壳挥发油中 d -柠檬烯含量为22.74%和32.73%,少于上述报道。而值得注意的是泸州和安岳两地枳壳挥发油中含量第二的均为大根香叶烯D,该成分在其他产地的枳壳中少有发现,可望作为泸州和安岳两地枳壳鉴别的标志性成分。对比文献和我们的测试结果,芳樟醇在重庆、沅江、泸州、安岳产枳壳挥发油中的含量分别为26.10%、10.77%、5.11%和5.29%,而 α -松油醇为0.32%、3.72%、4.59%和5.22%^[15-16]。

柠檬烯是一种无色至淡黄色液体,具有令人愉快的柠檬样香气,它具有抗肿瘤、抑菌、止咳平喘、镇静等多种生理作用,在香料和食品工业中具有广泛的用途^[17]。芳樟醇具有铃兰香气,表现出镇痛、抗焦虑、镇静催眠、抗炎、抗肿瘤、抗菌等诸多药理活性,广泛应用于日化 and 食品工业中^[18]。 α -松油醇具有紫丁香味,用于医药、日化等工业中,据报道有抑菌作用^[19]。可见上述挥发性成分均是枳壳的活性有效成分。大根香叶烯D是生物体内合成许多倍半萜的前体^[20],它和 α -毕橙茄醇药理活性还少见报道,这两种成分在枳壳的各种药用活性中所发挥的作用还有待进一步研究。

泸州枳壳挥发油和安岳枳壳挥发油共同检出的成分有56种。泸州枳壳挥发油中独有的化学成分为9种,占挥发油总量的2.44%;安岳枳壳挥发油中独有的化学成分为25种,占挥发油总量的4.70%。可以说大部分挥发性成分相同,而成分含量有所差异,造成了两种枳壳挥发油香气的差异。

结果表明,石油醚提取法与水蒸气蒸馏法提取出来的成分有很大差异,在两种提取物中都有检出的成分只有13种,既有挥发性成分萜品油烯、芳樟醇等,也有十五烷酸、

正二十烷等脂肪酸和高级烷烃类成分。这些脂肪酸和高级烷本身挥发性不强,在水蒸气蒸馏提取时由于加热时间长,也随水蒸气蒸发携带了一部分到挥发油中。两种提取物检出成分的差异是由两种原因造成的:一是提取方法本身的原理差异;二是对石油醚提取物进行甲酯化处理时,经过酸化加热,可能对其他成分进行了一定程度的破坏。

本研究采用气质联用法首次分析了泸州和安岳的两种地方枳壳的低极性化学成分,首先采用石油醚提取法分析其低极性成分组成,特别分析了其脂肪酸组成,然后采用水蒸气蒸馏法分析其挥发性成分组成。结果表明两种枳壳的脂肪酸组成具有较大的差异;挥发性成分种类相似,其含量组成有一定差异。上述结果可为四川地区枳壳品种、道地性的确立以及开发利用提供理论依据。

参考文献 [References]

- 1 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: 246 [Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of People's Republic of China: Part 1 [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015: 246]
- 2 蔡逸平, 陈有根, 范崔生. 中药枳壳、枳实类原植物调查及商品药材的鉴定[J]. 中国中药杂志, 1999, 20 (5): 259-262 [Cai YP, Chen YG, Fan CS. Investigation on raw plants of *Fructus aurantii* and *Fructus aurantii* immaturus and identification of commercial medicinal materials [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 1999, 20 (5): 259-262]
- 3 草原. 枳实新品上市价升[J]. 全国药材信息, 2008, 19: 9 [Cao Y. The market price of *Fructus aurantii* immaturus increased [J]. *Nat Herb Med Inform*, 2008, 19: 9]
- 4 曾晓艳, 陈婷, 谭伟民, 文诗泳, 龚力民, 严建业, 刘塔斯. 枳壳的生物学特性及化学成分研究进展[J]. 中南药学, 2017, 7 (15): 869-872 [Zeng XY, Chen T, Tan WM, Wen SY, Gong LM, Yan JY, Liu TS. Research advances on biological characteristics and chemical constituents of *Aurantii fructus* [J]. *Centr S Pharm*, 2017, 7 (15): 869-872]
- 5 舒尊鹏, 胡书法, 翟亚东, 周加林, 王秋红, 匡海学. 中药枳壳化学成分及药理作用研究[J]. 科技创新与应用, 2012, 17: 8-9 [Shu ZP, Hu SF, Zhai YD, Zhou JL, Wang QH, Kuang HX. Studies on the chemical constituents and pharmacological activities of *Fructus aurantii* [J]. *J Sci Innov Appl*, 2012, 17: 8-9]
- 6 沈同, 王镜岩. 生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1993 [Shen T, Wang JY. Biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press, 1993]
- 7 Burns CP, Spector AA. Biochemical effects of lipids on cancer therapy [M]. *Nut Rev*, 1990, 48 (2): 233-238
- 8 余珠花. 气相色谱法中油脂脂肪酸衍生化方法及其选择[J]. 粮食加工, 2004, 29 (6): 64-66 [She ZH. Oil fatty acid derivatization method and choose in gas chromatography [J]. *Grain Proc*, 2004, 29 (6): 64-66]
- 9 Luo Y, Huang Y, Yuan XH, Zhang L, Zhang XY, Gao P. Evaluation of fatty acid compositions and antioxidant activities of wild growing mushrooms in Southwest China [J]. *Int J Med Mushrooms*, 2017, 19 (10): 937-947
- 10 张碧波, 冉烈. 食用菌脂肪酸成分研究[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2005, 27 (2): 277-279 [Zhang BB, Ran L. A study of fatty acid

- composition in edible fungi [J]. *J SW Agric Univ (Nat Sci Ed)*, 2005, **27** (2): 277-279]
- 11 Yoshida J, Uesugi S, Kawamura T, Kimura KI, Hu D, Xia S, Toyooka N, Ohnishi M, Kawashima H. (4Z,15Z)-Octadecadienoic acid inhibits glycogen synthase kinase-3 β and glucose production in H4IIE cells [J]. *Lipids*, 2017, **52** (3): 295-301
- 12 庞博. 施今墨学派名老中医诊治糖尿病学术思想与经验传承研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2012 [Pang B. Inheritance and research on the academic thought and experience of Shi Jinmo's famous traditional chinese medicine in the diagnosis and treatment of diabetes [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2012]
- 13 王笑笑, 王思为, 方月娟, 胡泽富, 钟松阳, 楼丽君. 衢枳壳不同组分体外降糖活性研究及4种黄酮组分含量分析[J]. 中国现代应用药学, 2017, **34** (10): 1418-1423 [Wang XX, Wang SW, Fang YJ, Hu ZF, Zhong SY, Lou LJ. Study on the hypoglycemic activity of different components of quzhiquiao *in vitro* and analysis of four flavonoids [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2017, **34** (10): 1418-1423]
- 14 刘清茹, 谭伟民, 文诗泳, 肖幸华, 陈婷, 郭英, 曾晓艳, 刘塔斯. 枳壳药材挥发油的GC-MS指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2018, **29** (4): 461-465 [Liu QR, Tan WM, Wen SY, Xiao XH, Chen T, Guo Y, Zeng XY, Liu TS. Study on GC-MS Fingerprint of Volatile Oil from *Citrus aurantium* [J]. *Chin Pharm*, 2018, **29** (4): 461-465]
- 15 廖凤霞, 辛龙涛, 陈华, 夏之宁. 中药枳实与枳壳挥发油成分对比分析[J]. 重庆大学学报(自然科学版), 2004, **27** (5): 38-40 [Liao FX, Xin LT, Chen H, and Xia ZN. Analysis of the constituents of volatile oil from *Fructus aurantii immaturus* and *Fructus aurantii* as traditional chinese medicine [J]. *J Chongq Univ (Nat Sci Ed)*, 2004, **27** (5): 38-40]
- 16 施学骄, 张杰红, 樊丹青, 刘友平. 枳实、枳壳挥发油化学成分及抑菌活性的比较研究[J]. 中药与临床, 2012, **3** (2): 25-31 [Shi XJ, Zhang JH, Fan DQ, Liu YP. Comparative studies on chemical composition and antibacterial activity of essential oil from *Aurantii fructus immaturus* and *Aurantii fructus* [J]. *Pharm Clin Chin Mater Med*, 2012, **3** (2): 25-31]
- 17 王伟江. 天然活性单萜—柠檬烯的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2005, **1**: 33-37 [Wang WJ. Recent advances on limonene, a natural and active monoterpene [J]. *Chin Food Add*, **1**: 33-37]
- 18 姜冬梅, 朱源余, 江南, 徐希明. 芳樟醇药理作用及制剂研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, **40** (18): 3530-3533 [Jiang DM, Zhu YY, Jiang N, Xu XM. Advances in research of pharmacological effects and formulation studies of linalool [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2015, **40** (18): 3530-3533]
- 19 石超峰, 殷中琼, 魏琴, 贾仁勇. α -松油醇对大肠杆菌的抑菌作用及其机理研究[J]. 畜牧兽医学报, 2013, **44** (5): 796-801 [Shi CF, Yin ZQ, Wei Q, Jia RY. Bacteriostatic action and mechanism of α -terpineol on *escherichiacoli* [J]. *Acta Vet Et Zootech Sin*, 2013, **44** (5): 796-801]
- 20 Nils B, Wilfried AK. The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements [J]. *Phytochemistry*, 2000, **55** (2): 141-168