

回药方剂回回脑梗通挥发油的超临界CO₂流体萃取工艺优化及其成分分析^Δ

管恩爽^{1*}, 张万年^{1,2,3}, 张霞^{1,2,3}, 李佼宁¹, 陈丽¹, 张立明^{1,2,3#} (1.宁夏医科大学药学院, 银川 750004; 2.宁夏回药现代化工程技术研究中心, 银川 750004; 3.回医药现代化省部共建教育部重点实验室, 银川 750004)

中图分类号 R283;R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)19-2650-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.19.19

摘要 目的:优化治疗脑卒中的回药方剂回回脑梗通挥发油的超临界CO₂流体萃取工艺,并对挥发油的成分进行分析鉴定。方法:以挥发油得率和肉桂醛含量为指标,以萃取压力、萃取温度和萃取时间为因素设计单因素试验和正交试验,并对优化后工艺进行验证试验;测定挥发油的理化指标;采用气相色谱-质谱法(GC-MS)并结合保留指数分析挥发油成分,以面积归一化法计算各成分的相对百分含量。结果:最优萃取工艺为萃取压力30 MPa、萃取温度50℃、萃取时间100 min;验证试验中挥发油得率为4.8% (RSD=0.02%, n=3)、肉桂醛含量为2.0 mg/g (RSD=1.8%, n=3);挥发油的相对密度为1.05、折光率为1.52、酸值为28.13 mg(KOH)/g、碘值为74.47 g(I)/100 g、皂化值为54.20 mg(KOH)/g、过氧化值为19.42 meq/kg;GC-MS分析结果表明挥发油成分与文献保留指数相似度在80%以上的化合物共31个,其中鉴定了21个,占总挥发油的44%,已鉴定的化合物中相对百分含量较高的有反式肉桂醛(9.14%)、β-石竹烯(3.21%)、α-没药醇(3.11%)、β-没药烯(2.56%)等。结论:优化的萃取工艺稳定可行;本试验所得萃取工艺和成分分析结果可为该方的开发利用提供试验基础和参考依据。

关键词 回药方剂;回回脑梗通;挥发油;正交试验;超临界CO₂流体萃取工艺;肉桂醛含量;GC-MS;成分分析

Supercritical CO₂ Fluid Extraction Technology Optimization of Volatile Oil from Hui Medicine Huihui Naogengtong and Its Component Analysis

GUAN Enshuang¹, ZHANG Wannian^{1,2,3}, ZHANG Xia^{1,2,3}, LI Jiaoning¹, CHEN Li¹, ZHANG Liming^{1,2,3} (1.College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2.Ningxia Engineering and Technology Research Center for Modernization of Hui Medicine, Yinchuan 750004, China; 3.Key Laboratory of Hui Medicine Modernization, Ministry of Education, Yinchuan 750004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize supercritical CO₂ fluid extraction (SFE-CO₂) technology of volatile oil from Hui medicine Huihui Naogengtong for stroke, and to analyze and identify its component. METHODS: With yield of volatile oil and the content of cinnamaldehyde indexes, and extraction pressure, temperature and time as factors, single factor test and orthogonal test were designed to optimize SFE-CO₂ technology; optimized technology was also validated. Physical and chemical indexes of volatile oil were determined, and the constituents of volatile oil were analyzed by GC-MS and retention index. Relative percentage contents of each component were calculated by area normalization method. RESULTS: Optimal technology was as follows as extraction pressure 30 MPa, extraction temperature 50℃ and extraction time 100 min. In verification test, the yield of volatile oil was 4.8% (RSD=0.02%, n=3), and the content of cinnamylaldehyde was 2.0 mg/g (RSD=1.8%, n=3). Physicochemical properties of volatile oil were as follows as relative density 1.05, refractive index 1.52, acid value 28.128 mg (KOH)/g, iodine value 74.47 g(I)/100 g, saponification value 54.2 mg(KOH)/g, peroxide 19.42 meq/kg. GC-MS analysis showed the similarity with retention index in literatures of 31 compounds were more than 80%, 21 of them were identified and accounted for 44% of total volatile oil, among which *E*-cinnamaldehyde (9.14%), β-caryophyllene (3.21%), α-bisabolol (3.11%) and β-bisabolene (2.56%) had high relative percentage content. CONCLUSIONS: Optimal extraction technology is stable and feasible. The results of extraction technology and component analysis can provide important trail base and reference data for the exploration and utilization of Huihui Naogengtong.

KEYWORDS Hui medicine; Huihui Naogengtong; Volatile oil; Orthogonal test; Supercritical CO₂ fluid extraction technology; Cinnamylaldehyde content; GC-MS; Component analysis

回族医学是回族丰富的文化遗产,其中香药是回医药的特色。香药富含挥发油,通常散发出芳香性气味^[1]。以芳香开窍药治疗脑缺血的方剂早有研究,主要发挥其引药上行、快速

进入脑内的作用,从而达到芳香开窍、活血化瘀之功效^[2]。本课题组前期对101首治疗脑卒中的回药方剂进行整理和筛选,结果表明治疗脑卒中所用的回族香药均为热、干性药物^[3],多是具有开窍散风、化湿行气的传统中药材,如肉桂、乳香、没药等。回回脑梗通是宁夏医科大学附属回医医院经多年临床应用筛选出的经验方,是在研究传统回药方扎里努思方、哈里里里方、木香油方治疗脑卒中的基础上经过药效物质基础和机制分析、药效学评价、对香药所组成的药物组合进行配伍分

Δ 基金项目:国家科技支撑计划课题(No.2013BAI11B07)

* 硕士研究生。研究方向:天然药物。E-mail:1072656504@qq.com

通信作者:教授,硕士。研究方向:天然药物。E-mail:nyzlm@163.com

析,而研究优化出的一个治疗脑卒中的香药方剂,由胡椒、萆拔、没药、肉桂、红花组成,主要药效成分都具有活血化瘀、抗动脉粥样硬化方面的药理作用^[4-9]。为优化该回药方中挥发油的提取工艺并分析其成分,促进实现其药用价值的最大化,笔者在本试验中对上述内容进行了相关研究,以为回回脑梗通的进一步开发提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

超临界 CO₂ 萃取装置(美国 Applied Separations 公司); 6890N 气相色谱(GC)仪(美国 Agilent 公司);电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);GC-质谱(MS)分析仪(日本 Shimadzu 公司);电热恒温干燥箱(上海一恒科技仪器有限公司);阿贝折光仪(上海精科仪器有限公司)。

1.2 药材、药品与试剂

肉桂醛对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110710-201418,纯度:99.4%);胡椒(产地:海南,批号:121215)、萆拔(产地:云南,批号:121215)、没药(产地:云南,批号:121215)、肉桂(产地:四川,批号:121215)、红花(产地:新疆,批号:141016)均由安徽泰源中药饮片有限公司提供,经宁夏医科大学药学院董琳老师鉴定为真品;正构烷烃混标 C₈-C₂₄ 标准品(上海安谱科学仪器有限公司,批号:CDGG-115320-05,分析纯);CO₂(食品级,纯度:≥99%);甲醇为分析纯。

2 方法

2.1 挥发油的提取工艺流程

药材经适度粉碎后,按处方比例准确称取胡椒、萆拔、肉桂、没药和红花共计 45 g,充分混匀后装入料筒,放入萃取釜内。打开冷循环制冷气阀,待制冷设备降至 4 ℃,打开相应阀门保持通路状态,CO₂ 由气罐进入冷凝器变为液态,由高压泵注入萃取釜中。设置萃取温度 40~55 ℃、萃取压力 20~35 MPa、萃取时间 20~120 min。通过流量计调节 CO₂ 的流量,保持恒温恒压循环并维持一定的时间,萃取完毕后,打开分离釜排料阀,收集提取物,称质量后低温保存。

挥发油得率(%) = 挥发油的质量(g)/药材总质量(g) × 100%。

2.2 GC 法测定肉桂醛含量

2.2.1 肉桂醛含量的测定 色谱条件:6890N 气相色谱仪;HP-5MS 型石英毛细管柱(30.0 m×320 μm,0.25 μm);载气为高纯氮气,柱流量为 1.2 ml/min;升温程序为柱温 50 ℃保持 1 min,以 8 ℃/min 的速率升到 150 ℃,保持 3 min,再以 3 ℃/min 的速率升到 210 ℃,保持 5 min,再以 5 ℃/min 的速率升到 240 ℃,保持 15 min;进样口温度为 250 ℃;检测器温度为 280 ℃;进样量为 0.2 μl;分流比为 20:1。

2.2.2 对照品溶液的制备 取肉桂醛对照品适量,加甲醇溶解制成 2.98 mg/ml 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取挥发油 0.1 g,加甲醇溶解定容至 10 ml 量瓶中,超声 10 min 使挥发油充分溶解,取出并补足损失的甲醇。

2.2.4 肉桂醛标准曲线的绘制 按相关方法进行操作,建立肉桂醛标准曲线方程为 $y = 233.76x - 4.1337$ ($r = 0.9999$, y 为峰面积, x 为肉桂醛质量浓度),得肉桂醛检测质量浓度线性范围为 0.074 5~2.98 mg/ml。

2.2.5 精密密度、重复性、准确度试验 按相关方法操作,结果精密密度试验中峰面积的 RSD = 1.27% ($n = 5$);重复性试验中肉

桂醛含量的 RSD = 1.80% ($n = 5$);准确度试验中加样回收率平均值为 99.3% (RSD = 2.7%, $n = 6$)。

2.3 单因素试验

前期预试验发现,挥发油得率与萃取温度、萃取压力、萃取时间有关。在固定药材粉碎粒度为 40 目的试验条件下,分别对这 3 个因素进行单因素考察,考察各因素水平对挥发油得率的影响。

2.3.1 萃取温度对挥发油得率的影响 准确称取药材粉末 45 g,以不同萃取温度(40、45、50、55 ℃)、萃取压力为 25 MPa、萃取时间为 100 min 进行提取,计算挥发油得率。结果,温度为 40~50 ℃时,随着温度的升高挥发油得率增加;但当温度超过 50 ℃时,挥发油得率下降,甚至明显低于 40 ℃时的萃取率。这是由于温度过高导致 CO₂ 流体密度降低使溶质的溶解度下降所致;另外温度过高也不利于设备的耐用性,投资及操作费用也会增加。综合考虑,萃取温度宜选择为 50 ℃。

2.3.2 萃取压力对挥发油得率的影响 准确称取药材粉末 45 g,以不同萃取压力(20、25、30、35 MPa)、萃取温度 50 ℃、萃取时间 100 min 进行提取,计算挥发油得率。结果,当萃取压力在 20~25 MPa 时,随着压力的增加,挥发油得率也增加;当超过 25 MPa 时,曲线的变化近似直线,甚至有下降的趋势。这是因为随着压力的增加,流体扩散系数会减少,对挥发油的溶解能力也会减少;而且在实际操作过程中,压力过高对设备的要求及安全因素也会增加,萃取的挥发油纯度也受到影响。综合考虑,萃取压力宜选择为 25 MPa。

2.3.3 萃取时间对挥发油得率的影响 准确称取药材粉末 45 g,以不同的萃取时间(20、40、60、80、100、120 min)、萃取压力为 25 MPa、萃取温度为 50 ℃进行提取,计算挥发油得率。结果,随着萃取时间的增加,挥发油得率逐渐增加;但当萃取 100 min 后,得率增加趋于平缓;且在试验过程中发现,100 min 之后几乎再无挥发油萃取出。若时间过长会增加能耗,导致成本增加。综合实际情况和成本因素,提取时间宜选择为 100 min。

2.4 正交试验

依据单因素试验结果,以挥发油得率和肉桂醛含量[肉桂醛萃取量(mg)/药材总质量(g)]为指标,各指标权重分别定为 0.3、0.7,综合评分 = 挥发油得率/挥发油得率最大值 × 0.3 + 肉桂醛含量/肉桂醛含量最大值 × 0.7。选取萃取温度(A)、萃取压力(B)、萃取时间(C)3 个因素,每个因素设定 3 个水平,采用 L₉(3³) 设计正交试验考察超临界 CO₂ 提取方法对挥发油得率和肉桂醛含量的影响。因素与水平见表 1;正交试验设计与结果见表 2;方差分析结果见表 3。

表 1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素		
	A, ℃	B, MPa	C, min
1	45	20	80
2	50	25	100
3	55	30	120

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为 B > A > C,即萃取压力 > 萃取温度 > 萃取时间。由表 3 可知,因素 B 的 $P < 0.05$,即因素 B 对试验结果有显著影响,即压力选择 30 MPa(B₃);其余因素的选择则结合实际情况考虑。在选择萃取温度时,虽然 45 ℃更有利于节能,但是笔者在试验中发现,萃取温度为 50 ℃(A₂)时挥发油得率更高一些,故选择萃取温度为 50 ℃,萃取时间为 100 min(C₂)。

表2 正交试验设计与结果

Tab 2 Design and results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	挥发油得率, %	肉桂醛含量, mg/g	综合评分
1	1	1	1	1	1.11	0.53	0.24
2	1	2	2	2	3.99	1.05	0.59
3	1	3	3	3	4.72	1.37	0.75
4	2	1	2	3	1.40	0.52	0.26
5	2	2	3	1	1.56	0.73	0.34
6	2	3	1	2	1.96	0.97	0.44
7	3	1	3	2	1.41	0.51	0.26
8	3	2	1	3	1.43	1.23	0.49
9	3	3	2	1	2.79	2.14	0.88
K_1	0.527	0.253	0.390	0.487			
K_2	0.347	0.473	0.577	0.430			
K_3	0.543	0.690	0.450	0.500			
R	0.197	0.437	0.187	0.070			

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

误差来源	离均差平方和	自由度	均方差	F	P
A	0.071	2	0.036	8.61	>0.05
B	0.286	2	0.143	34.51	<0.05
C	0.544	2	0.272	6.57	>0.05
误差(D)	0.008	2	0.004	1.00	>0.05

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00, F_{0.01}(2, 2) = 99.00$ Note: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00, F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

2.5 验证试验

精密称取药材粉末 45 g, 平行操作 3 份, 按照上述确定的最优萃取工艺进行试验, 结果挥发油得率为 4.8% (RSD=0.02%, $n=3$), 肉桂醛含量为 2.0 mg/g (RSD=1.8%, $n=3$), 表明优选的工艺稳定可行、重现性好。

2.6 挥发油理化性质考察

按照 2015 年版《中国药典》(四部) 相关内容及方法^[10] 对最优萃取工艺所得挥发油进行相对密度、折光率、酸值、碘值、皂化值、过氧化值的测定。结果各指标测定 3 次的平均值分别为 1.05、1.52、28.13 mg (KOH)/g、74.47 g (I)/100 g、54.20 mg (KOH)/g、19.42 meq/kg。以蒸馏水在 4 °C 时的相对密度 (1.0 g/cm³) 作为参照, 回回脑梗通挥发油的相对密度大于 1, 为重油; 常温下为黄色液体; 碘值小于 100, 为不干性油; 皂化值的高低则与油脂中所含的脂肪酸的分子量有关, 而其皂化值结果表明此挥发油中脂肪酸的分子质量较大。另, 挥发油的酸值和过氧化值过大, 这可能由于其本身就含有较多的游离脂肪酸, 还有可能是以下两个方面引起的: 第一, 萃取过程中挥发油溶解了一部分的 CO₂, 使得挥发油本身呈酸性; 第二, 由于超临界 CO₂ 流体萃取后的挥发油成分复杂, 可能存在一些影响酸值和过氧化值测定的化学物质。

2.7 GC-MS 分析挥发油成分

2.7.1 GC/MS 条件 GC 条件: Rxi-5sil MS 毛细管色谱柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 进样口温度为 250 °C, 升温程序为初始 50 °C 保持 1 min, 以 10 °C/min 升至 120 °C 保持 3 min, 以 3 °C/min 升至 200 °C 保持 3 min, 以 5 °C/min 升至 290 °C 保持 10 min; 载气为 99.999% 氦气, 体积流量为 1.0 ml/min; 进样量为 1 μl; 分流比为 25:1。

MS 条件: EI 电离源; 离子源温度为 230 °C; 接口温度为 320 °C; 扫描质量范围 m/z 为 33~500。

2.7.2 供试品溶液的制备 取挥发油按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液。

2.7.3 GC-MS 结果与分析 精密量取供试品溶液, 按“2.7.1”项下 GC/MS 条件分析得到总离子流图, 见图 1; 取正构烷烃混标 C₈-C₂₄ 标准品 10 μl, 定容至 1.5 ml, 进样 1 μl, 按“2.7.1”项下的条件分析。记录每个标准品出峰的保留时间, 以 Kovats^[11] 保留指数的计算方法求出挥发油各组分的校正保留指数, 对比文献中保留指数^[12-20] 进行挥发油成分的鉴定, 采用面积归一化法确定各组分的相对百分含量, 结果见表 4。

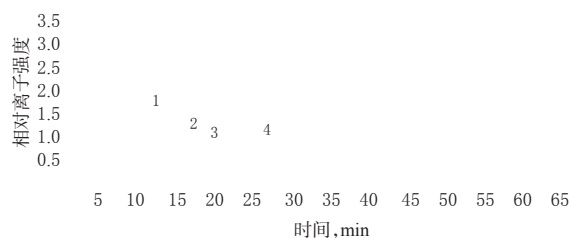


图1 挥发油的总离子流图

1. 反式肉桂醛; 2. β -石竹烯; 3. α -没药醇; 4. β -没药烯

Fig 1 Total ion chromatogram of volatile oil

1. *E*-cinnamaldehyde; 2. β -caryophyllene; 3. α -bisabolol; 4. β -bisabolene

表4 挥发油成分和相对百分含量

Tab 4 Components and relative percentage content of volatile oil

保留时间, min	校正保留指数	文献保留指数	化合物名称	分子式	相对百分含量, %
5.645	940	928	α -蒎烯(α -pinene)	C ₁₀ H ₁₆	1.07
10.010	1 185	1 188	α -蒎品醇(α -terpinenol)	C ₁₀ H ₁₆ O	1.24
12.456	1 276	1 271	反式肉桂醛(<i>trans</i> -cinnamaldehyde)	C ₉ H ₈ O	9.14
15.830	1 380	1 382	α -葑澄茄油烯(α -cubebene)	C ₁₅ H ₂₄	1.71
17.375	1 424	1 426	β -石竹烯(β -caryophyllene)	C ₁₅ H ₂₄	3.21
17.795	1 436	1 438	α -愈创木烯(α -guaiene)	C ₁₅ H ₂₄	1.30
19.420	1 481	1 482	大牛儿烯D(<i>germacrene D</i>)	C ₁₅ H ₂₄	0.74
19.520	1 483	1 460	香树烯(<i>alloaromadendrene</i>)	C ₁₅ H ₂₄	1.82
19.640	1 487	1 489	β -桉叶烯(β -selinene)	C ₁₅ H ₂₄	0.67
19.810	1 491	1 492	瓦伦烯(<i>valencene isomer</i>)	C ₁₅ H ₂₄	0.72
20.145	1 501	1 500	β -没药烯(β -bisabolene)	C ₁₅ H ₂₄	2.56
20.430	1 508	1 508	α -法尼烯(α -farnesene)	C ₁₅ H ₂₄	0.91
20.840	1 520	1 519	肉豆蔻烯(<i>myristicin</i>)	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	1.17
24.785	1 628	1 630	洋芹子油脑(<i>apiol</i>)	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	0.90
26.625	1 679	1 678	α -檀香烯醇(α -santalol)	C ₁₅ H ₂₂ O	1.58
26.935	1 687	1 685	α -没药醇(α -bisabolol)	C ₁₅ H ₂₆ O	3.11
27.430	1 701	1 700	正十七烷(<i>n</i> -heptadecane)	C ₁₇ H ₃₆	2.40
32.885	1 859	1 857	橄榄烯(<i>elemol</i>)	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	2.04
33.650	1 882	1 889	nerolidol isobutyrate	C ₁₅ H ₂₆ O	1.70
35.050	1 952	1 953	3-ethyl-3-hydroxyandrostan-17-one		0.62
40.615	2 246	2 225	香紫苏醇(<i>scleareol</i>)	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	1.60
46.955	2 454	2 499	二十五烷(<i>pentacosane</i>)	C ₂₅ H ₅₂	2.36
51.690	2 669		未知物		9.07
52.175	2 682		未知物		6.83
54.520	2 853		未知物		1.75
57.565	3 055		未知物		6.00
64.600	3 456		未知物		3.51
64.835	3 462	3 462	β -古巴烯(β -copaene)	C ₁₅ H ₂₄	1.31
65.790	3 483		未知物		13.28
65.915	3 485		未知物		3.95
66.455	3 497		未知物		2.02

通过校正保留指数与文献保留指数数值比较, 能辅助 MS 检索分析提高其定性的准确性。按各色谱峰的 MS 裂片图与文献核对, 对各色谱峰加以确认, GC-MS 分析表明, 相似度在 80% 以上的共 31 个, 其中鉴定了 21 个, 占挥发油总成分百分

含量的44%,见表4。已鉴定的化合物中相对百分含量较高的有反式肉桂醛(化合物1,9.14%)、 β -石竹烯(化合物2,3.21%)、 α -没药醇(化合物3,3.11%)、 β -没药烯(化合物4,2.56%)。肉桂醛的含量相对来说较高,其具有扩张血管和降压的作用^[21],所以本试验选中肉桂醛为指标性成分进行工艺优化是合理的。但图中其他相对百分含量较高的物质目前未被鉴定出来,此部分还有待课题组的进一步研究。

3 讨论

回族医学是中国传统医药的重要组成部分,是阿拉伯医学吸收兼容中医学的结合。但目前来看,回族医药的研究开发尚处于起步阶段,关于回族医药的论著和文献较少,特别是未见系统研究的文献报道,使得其临床应用缺乏科学的理论支持。因此,本文对回回脑梗通进行提取工艺及成分分析研究,以为该方的开发利用提供科学的依据。

超临界CO₂萃取方法是近几年应用比较广泛的提取挥发油的方法,具有技术工艺简单、操作方便、提取的挥发油纯度高、又可充分保持挥发油活性等特点^[22],所以本研究选择超临界CO₂萃取方法对回回脑梗通挥发油部位进行提取。在前期考察粉碎粒度对挥发油得率的影响时,原则上讲粉碎粒度越小得率越高,但是本研究发现当粒度为60目时,挥发油得率反而下降,而且在试验过程中发现萃取后的粉末极不容易从料筒中倾倒出来。这可能是由于粒度太小造成CO₂流通不畅,致挥发油不能完全被萃取,粉末粘连,使料筒淤塞所致。相比之下粉碎成40目更容易从萃取釜里倾倒出来,且萃取后的药渣未见粘连,所以选择粉碎粒度为40目进行后续试验。

为了选择一个合理的正交试验水平范围,在正交试验之前以挥发油得率为指标进行了单因素试验;考虑到肉桂醛为挥发油的主要药效成分,故在正交试验中增加肉桂醛含量为指标,并用综合评分法对2个指标进行综合评分。在最优萃取工艺条件的选择上,课题组综合了实际试验情况进行确认,验证试验结果表明优选的萃取工艺稳定、可行、产率高。

目前国际上通过GC-MS定性研究油脂类化学成分时,统一执行国际食用香料工业组织(IOFI)标准,需采用谱库检索联合保留指数以更准确地对化合物进行定性鉴定。本试验采用GC-MS分析结果与Kovats保留指数相结合的方法对挥发油成分进行鉴别,笔者认为比单纯使用谱库检索鉴定更准确、可信。GC-MS结果为课题组后期对有效成分及药理作用的研究提供了重要参考依据。

参考文献

[1] 徐保宁,王文革,隋宏.回药香药外用剂型简述[J].宁夏医科大学学报,2013,35(11):193.

[2] 王利苹,奉建芳,胡凯莉.芳香开窍药对血脑屏障通透性的调节作用及其机制研究进展[J].中国中药杂志,2014,39(6):949.

[3] 李婷婷,王星,马学琴,等.回药治疗脑卒中方剂配伍规律研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(20):307.

[4] 白永忠.胡椒碱对兔实验性动脉粥样硬化的预防作用[J].中国民族医药杂志,2002,8(3):35.

[5] 包兰兰,金桩,博·格日勒图.胡椒碱降血脂作用的实验研究[J].中国民族医药杂志,2004,10(1):22.

[6] Bai YF, Xu H. Protective action of piperine against experimental gastric ulcer[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2000, 21(4):357.

[7] 李瑞和,苏日娜,郭林云,等.草拔化学成分与药理作用研

究概况[J].中国民族医药学杂志,2006,12(3):73.

[8] 赵金凤,周春兰,韩陆,等.没药研究进展[J].中国药房,2011,22(3):661.

[9] 张荣发.桂皮醛的药理作用研究进展[J].中国药业,2008,17(10):75.

[10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015版.北京:中国医药科技出版社,2015:73,77,93.

[11] 苏越,刘素红,王呈仲,等.谱图相似度分析结合保留指数对单萜同分异构体的GC-MS定性分析[J].分析测试学报,2009,28(5):525.

[12] Sereshti H, Heidari R, Samadi S. Determination of volatile components of saffron by optimized ultrasound-assisted extraction in tandem with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2014, 143(2):499.

[13] Singh S, Kapoor IPS, Singh G, et al. Chemistry, antioxidant and antimicrobial potentials of White pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil and oleoresins[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 2013, 83(3):357.

[14] Chen YL, Zhou CL, Ge ZD, et al. Composition and potential anticancer activities of essential oils obtained from myrrh and frankincense[J]. *Oncology Letters*, 2013, 6(4):1140.

[15] Catherine A, Helen S. Identification of essential oil components of *Marrubium thessalum* Boiss. & Heldr., growing wild in Greece[J]. *Natural Product Research*, 2012, 26(7):599.

[16] Tian J, Zeng XB, Zhang S, et al. Regional variation in components and antioxidant and antifungal activities of *Perilla frutescens* essential oils in China[J]. *Industrial Crops and Products*, 2014, doi: 10.1016/j.indcrop.2014.04.048.

[17] Cheng SS, Liu JY, Lin CY, et al. Terminating red imported fire ants using *Cinnamomum osmophloeum* leaf essential oil[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(4):889.

[18] Sylvestre M, Pichette A, Longtin A, et al. Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 103(1):99.

[19] Murugan R, Mallavarapu GR. α -Bisabolol, the main constituent of the essential oil of *Pogostemon speciosus*[J]. *Industrial Crops and Products*, 2013, doi: 10.1016/j.indcrop.2013.03.047.

[20] Langhasova L, Hanusova V, Rezek J, et al. Essential oil from *Myrica rubra* leaves inhibits cancer cell proliferation and induces apoptosis in several human intestinal lines[J]. *Industrial Crops and Products*, 2014, doi: 10.1016/j.indcrop.2014.04.018.

[21] 周明,陈征义,申书婷.肉桂醛的研究进展[J].经济动物学报,2015,19(1):1.

[22] 裴少平,李自强,周丹,等.超临界二氧化碳技术的应用[J].山西化工,2012,32(2):31.

(收稿日期:2015-12-23 修回日期:2016-03-28)
(编辑:刘 萍)