

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.09.031

◆ 校庆约稿 ◆



李生茂

专家简介

李生茂(1981-),男,博士,副教授,硕士研究生导师,川北医学院药学院教师。主要从事天然药物化学、药用植物学的教学工作,研究方向为中药药效物质基础及其质量标准化。主持厅局级科研项目6项;发表科研论文20余篇;参与编写《常见毒性植物中药图鉴》《常用有毒中药现代研究与应用》。

不同方法提取川芎挥发油化学成分及抗氧化活性的比较

夏珊¹,李生茂¹,张馨予¹,鲁琴芮¹,李倩茹¹,敖慧²

(1. 川北医学院药学院·川北医学院药物研究所,四川南充 637000;2. 成都中医药大学,四川成都 611137)

【摘要】目的:探讨不同方法提取川芎挥发油的化学成分及其抗氧化活性。**方法:**分别采用水蒸气蒸馏法(SD)、石油醚索氏提取法(SE)和超临界CO₂萃取法(SFE-CO₂)提取川芎挥发油,运用GC-MS、DPPH法结合直观比较、主成分分析(PCA)等比较不同方法提取的川芎挥发油的化学成分及其抗氧化活性的差异。**结果:**SD、SE和SFE-CO₂提取的川芎挥发油得率分别为0.28%、2.62%和2.15%,分别检测到44、23和30个色谱峰;分别鉴定了其中32、18和21个色谱峰所代表的化学成分,鉴定色谱峰相对含量之和分别是93.74%、96.61%和94.44%。SD、SE和SFE-CO₂提取的川芎挥发油有10个共有成分,各共有峰相对含量有所不同,但均以Z-藜本内酯含量最高,分别为53.71%、43.43%和46.93%;共有成分相对含量之和分别为87.17%、76.58%和83.40%,且以苯酚类为主,相对含量分别为79.13%、74.08%和80.13%。除共有成分外,SD提取的挥发油还主要含有烯类、酚类和醇类,SE和SFE-CO₂提取的挥发油则主要为脂肪酸及其酯类。PCA结果表明,SE和SFE-CO₂提取的川芎挥发油化学成分相似,且与SD法提取成分有一定差异。SD、SE和SFE-CO₂提取的川芎挥发油均具有清除DPPH自由基活性,其IC₅₀值分别是0.20 mg/mL、0.42 mg/mL和0.93 mg/mL。**结论:**SD、SE和SFE-CO₂提取的川芎挥发油的化学成分种类、数量和抗氧化活性存在一定差异,但主要化学成分相似,仅相对含量不同。

【关键词】川芎挥发油;不同提取方法;气相色谱-质谱法(GC-MS);主成分分析(PCA);抗氧化活性

【中图分类号】R284.1 **【文献标志码】**A

Comparison of different extraction methods on chemical constituents and antioxidant activities from essential oil of *Ligusticum Chuanxiong*

XIA Shan¹, LI Sheng-mao¹, ZHANG Xin-yu¹, LU Qin-rui¹, LI Qian-ru¹, AO Hui²

(1. Pharmaceutical Institute, School of Pharmacy, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000; 2. Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To compare the differences of the chemical constituents and antioxidant activities of the essential oils from *Ligusticum Chuanxiong*. **Methods:** The essential oil of *Ligusticum Chuanxiong* was extracted by steam distillation(SD), soxhlet extraction(SE) and supercritical CO₂ extraction(SFE-CO₂). GC-MS, DPPH, direct comparison and principal component analysis(PCA) were applied to compare the differences of the chemical components and the antioxidant activities of the essential oil extracted by different extraction methods. **Results:** The extraction yields of essential oil of *Ligusticum Chuanxiong* were 0.28% (SD), 2.62% (SE) and 2.15% (SFE-CO₂). And there were 44 peaks(SD), 23 peaks(SE) and 30 peaks(SFE-CO₂) detected. Among these peaks, 32 peaks(SD),

基金项目: 2017年四川省教育厅科研项目(17ZB0166); 2018年四川省中医药管理局科研项目(2018JJC017)

作者简介: 夏珊(1995-),女,硕士。E-mail:xs950916@126.com

通讯作者: 李生茂。E-mail:lsm9110@163.com

18 peaks(SE) and 21 peaks(SFE-CO₂) were identified, and the sum of the relative amount of the identified peaks was 93.74% (SD), 96.61% (SE) and 94.44% (SFE-CO₂). There were 10 common constituents in the essential oil extracted by the three methods, and the relative amount of each peaks was different. However, the relative amount of Z-ligustilide was the highest, which were 53.71% (SD), 43.43% (SE) and 46.93% (SFE-CO₂), respectively. The total relative amount of the common components were 87.17% (SD), 76.58% (SE) and 83.40% (SFE-CO₂). Particularly, benzoquinones, which were the main components in the essential oil of *Ligusticum Chuanxiong*, accounted for 79.13% (SD), 73.50% (SE) and 80.13% (SFE-CO₂). In addition to the common components, the essential oil extracted by SD method also contained alkenes, phenols and alcohols, while the essential oil extracted by SE method and SFE-CO₂ method mainly contained fatty acids and their esters. PCA results showed that the chemical components extracted by SE and SFE-CO₂ were similar, but were different from those extracted by SD method. The essential oil extracted by the three methods had scavenging activity of DPPH free radicals, and the IC₅₀ were 0.20 mg/mL (SD), 0.42 mg/mL (SE) and 0.93 mg/mL (SFE-CO₂), respectively.

Conclusion: The chemical composition and antioxidant activities of the essential oil extracted from *Ligusticum Chuanxiong* by the three methods are different, but the main chemical components of the essential oil are similar and only their relative contents are different.

[Key words] Essential oil of *Ligusticum Chuanxiong*; The different extraction methods; Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); Principal component analysis (PCA); Antioxidant activity

川芎为伞形科植物川芎的干燥根茎,有活血行气、祛风止痛的功效^[1]。研究^[2-6]发现,挥发油是川芎的主要药效物质基础之一,主要含有以藁本内酯等为代表的苯酞类、烯萜醇类及脂肪酸类等成分,有镇静、解热、镇痛、改善血液流变、抗氧化、降血压、抗抑郁及抗缺血再灌注损伤等药理活性,其中抗氧化是对抗脑缺血再灌注损伤的药理作用机制之一^[7-9]。目前,对川芎挥发油提取方法的研究主要有超临界流体萃取法、水蒸气蒸馏法、石油醚提取法、中性乙醇提取法、蒸馏-萃取耦合法和提取-共沸精馏耦合法等^[10-11],但多集中于比较不同方法提取的川芎挥发油的化学成分差异,而对提取成分抗氧化活性差异的研究较少。本研究旨在比较水蒸气蒸馏法 (steam distillation, SD)、以石油醚为溶剂的索氏提取法 (soxhlet extraction, SE) 和超临界 CO₂ 萃取法 (supercritical CO₂ extraction, SFE-CO₂) 提取的川芎挥发油的化学成分及抗氧化活性的差异,为进一步开发利用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

川芎药材购于成都五块石中药材批发市场,并经川北医学院李毅主任中药师鉴定为伞形科植物川芎 (*Ligusticum Chuanxiong*) 的干燥根茎。1,1-二苯基-2-苦基苯肼 (1,1-diphenyl-2-picrylphenylhydrazine, DPPH, 美国 sigma 公司)、正己烷 (国药集团化学试剂有限公司)、无水硫酸钠 (国药集团化学试剂有限公司)、甲醇 (成都市科龙化工试剂厂) 和石油醚 (成都市科龙化工试剂厂) 均为分析纯。Ohaus Discovery 1/100 000 电子分析天平购于奥豪斯仪器 (上海) 有限公司, Epoch 微孔板分光光度计购于美国 BIOTEK 公司, Agilent 7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪购于美国安捷伦公司。

1.2 方 法

1.2.1 川芎挥发油的提取 取川芎粗粉过 20 目筛后提取。(1)SD^[12]:取约 200 g,置于 2 000 mL 圆底烧瓶中,加入 1 200 mL 蒸馏水,按《中国药典》2015 年版一部挥发油测定法 (附录 XD 甲法) 进行,水蒸气蒸馏 5 h,收集挥发油。(2)SE^[13]:取约 20 g,置于索氏提取器,加入 200 mL 石油醚 (60~90℃),提取 3 h,滤过,滤液减压浓缩,收集挥发油。(3)SFE-CO₂^[14]:取约 30 g,于萃取釜温度 44℃、压力 4 000 PSI 下萃取 1 h,收集挥发油。

1.2.2 川芎挥发油化学成分及相对含量测定 取提取的川芎挥发油样品,加正己烷稀释,用无水硫酸钠除去水分,0.22 μm 微孔滤膜过滤;气相色谱-质谱法 (gas chromatography mass spectrometry, GC-MS) 分析测定 (GC 条件:载气为氦气;体积流量 1.0 mL/min;程序升温,初始温度 50℃,保持 2 min;10℃/min 速率升至 120℃,保持 8 min;5℃/min 速率升至 180℃,保持 8 min;20℃/min 速率升至 260℃,保持 4 min,分流进样,分流比:分流比 1:60;进样量 1 μL;进样口温度 280℃) 川芎挥发油的总离子流图,通过工作站 NIST 标准质谱图库检索并结合文献报道^[15-17],确定各色谱峰代表的化学成分,并按面积归一化法计算各成分在挥发油中的相对含量。

1.2.3 川芎挥发油抗氧化活性检测 通过测定川芎挥发油对 DPPH 自由基的清除率检测其抗氧化活性^[18-19]:称取适量 DPPH 加甲醇配制成 170 μmol/L 的溶液,避光保存。取川芎挥发油样品适量,加甲醇溶解并稀释成一定浓度的供试品溶液,并取 0.15 mL 与 0.15 mL DPPH 溶液置 96 孔板,混匀后室温避光放置 60 min,517 nm 处测定吸收度 A1;同时测定 0.15 mL 供试品溶液 + 0.15 mL 甲醇的吸收度 A0,0.15 mL 甲醇 + 0.15 mL DPPH 溶液的吸收度 A2。DPPH 自由基清除率 = [1 - (A1 - A0)/A2] ×

100%。以清除率(Y)对药物浓度(x)进行回归,根据对数函数方程求出清除率为50%时药物的浓度(IC50)。

1.3 数据分析

采用 Excel 2016 对数据进行分析与处理。运用 Simca-P 进行主成分分析(principal component analysis, PCA); $R_x^2(cum)$ 表示模型的拟合程度, Q^2 表示模型的预测能力,两者数值越接近1,表明模型的拟合程度和预测能力越好^[20-21]。

2 结果

2.1 川芎挥发油的化学成分

SD 提取的川芎挥发油,检测到44个色谱峰,鉴定其中32个色谱峰的峰面积之和占总峰面积的93.74%。其中,Z-藁本内酯相对含量最高,占53.71%,其次是川芎内酯(13.94%)、丁基苯酞内酯(6.77%)、丁基苯酞(3.58%)和 β -Selinene(2.97%)。在鉴定的化合物类型中,内酯类(苯酞类)5个,峰面积之和占总峰面积的79.13%;烯类12个,占6.54%;酮类1个,占0.90%;醇类6个,占4.10%;酚类3个,占1.92%;脂肪酸及其酯类1个,占0.10%;其他类4个,占1.05%。SE 提取的川芎挥发油检测到23个色谱峰,鉴定其中18个色谱峰的峰面积之和占总峰面积的96.61%。其中,Z-藁本内酯相对含量最高,占43.43%,其次是川芎内酯(22.39%)、亚油酸(15.74%)、丁基苯酞内酯(3.38%)、丁基苯酞(2.88%)。在鉴定的化合物类型中,内酯类(苯酞类)6个,占74.08%;烯类5个,占3.56%;酚类1个,占0.68%;醇类2个,占

0.59%;脂肪酸及其酯类2个,占16.13%;酰胺类1个,占1.42%;酮类1个,占0.15%。SFE-CO₂提取的川芎挥发油检测到30个色谱峰,鉴定其中21个色谱峰的峰面积之和占总峰面积的94.44%。其中,Z-藁本内酯相对含量最高,占46.93%,其次是川芎内酯(23.40%)、亚油酸(6.93%)、丁基苯酞内酯(4.49%)、丁基苯酞(4.10%)。在鉴定的化合物类型中,内酯类(苯酞类)5个,占80.13%;烯类7个,占4.32%;醇类2个,占0.69%;酚类1个,占0.25%;脂肪酸及其酯类6个,占9.05%。SD、SE及SFE-CO₂提取的川芎挥发油有10个共有成分,分别为4-萜烯醇、4-乙基-2-甲氧基苯酚、 β -Selinene、Espatulenol、丁基苯酞、丁基苯酞内酯、川芎内酯、Z-藁本内酯、E-藁本内酯和亚油酸甲酯,其中Z-藁本内酯含量最高,分别为53.71%、43.43%和46.93%;10个共有成分相对含量之和分别为87.17%、76.58%和83.40%,且均以苯酞类为主,相对含量分别为79.13%、74.08%和80.13%。见表1、图1及图2。

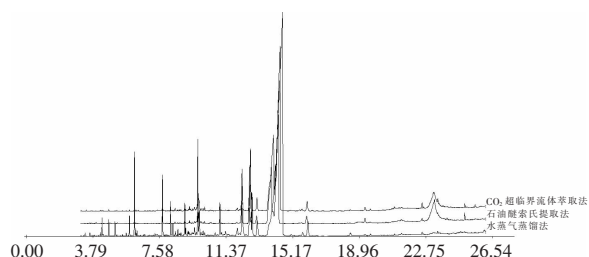


图1 三种方法提取的川芎挥发油 GC-MS 色谱图

表1 三种方法提取的川芎挥发油成分

序号	保留时间 (min)	名称	分子式	相对分子量	相对含量 (%)		
					SD	SE	SFE-CO ₂
1	3.346	α -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136.23	0.08	—	—
2	4.216	蒎品油烯	C ₁₀ H ₁₆	136.23	0.10	—	—
3	4.310	邻异丙基甲苯	C ₁₀ H ₁₄	134.22	0.38	—	—
4	4.693	γ -蒎品烯	C ₁₀ H ₁₆	136.23	0.39	—	—
5	5.875	5-Pentylcyclohexa-1,3-diene	C ₁₁ H ₁₈	150.26	0.58	—	—
6	6.145	4-萜烯醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	2.11	0.15	0.20
7	6.240	苯基三甲基硅烷	C ₉ H ₁₄ Si	150.29	0.17	—	—
8	6.310	α -松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.16	—	—
9	7.328	4-乙基-2-甲氧基苯酚	C ₉ H ₁₂ O ₂	152.19	0.06	—	—
10	7.739	4-乙基-2-甲氧基苯酚	C ₉ H ₁₀ O ₂	150.17	1.64	0.68	0.25
11	8.204	1-苯基-1-戊酮	C ₁₁ H ₁₄ O	162.23	0.90	0.15	—
12	8.469	α -Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	204.35	—	—	0.17
13	8.628	β -Elemene	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.21	—	—
14	9.016	α -柏木烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	—	0.30	—
15	9.198	香橙烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.39	—	0.12
16	9.286	Aromandendrene	C ₁₅ H ₂₄	204.35	—	0.43	—
17	9.440	Tetradecamethylcycloheptasiloxane	C ₁₄ H ₃₆ O ₇ Si ₇	519.07	0.31	—	—
18	9.569	Neoisolongifolene	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.44	—	—

续表 1

序号	保留时间 (min)	名称	分子式	相对分子量	相对含量 (%)		
					SD	SE	SFE-CO ₂
19	9.569	[S, (-)]-2,3,4,4a,5,6-Hexahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	204.35	—	—	0.39
20	9.681	十五烷	C ₁₅ H ₃₂	212.41	0.19	—	—
21	9.745	β-Selinene	C ₁₅ H ₂₄	204.35	2.97	1.42	1.95
22	9.810	巴伦西亚橘烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	—	1.14	1.34
23	9.851	γ-Selinene	C ₁₅ H ₂₄	204.35	1.01	—	—
24	9.951	2,5-二叔丁基酚	C ₁₄ H ₂₂ O	206.32	0.22	—	—
25	10.063	1-isopropyl-7-methyl-4-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene	C ₁₅ H ₂₄	204.19	0.18	—	—
26	10.063	δ-Cadinene	C ₁₅ H ₂₄	204.35	—	—	0.12
27	10.139	α-panasinsene	C ₁₅ H ₂₄	204.35	—	0.27	0.23
28	10.151	β-Cadinene	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.17	—	—
29	10.751	15-Copaenol	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	0.19	—	—
30	11.010	Espatulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	1.22	0.44	0.49
31	11.122	(-)-蓝桉醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222.36	0.20	—	—
32	12.257	丁基苯酚	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190.24	3.58	2.88	4.10
33	12.692	丁基苯酚内酯	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	188.22	6.77	3.38	4.49
34	12.816	N,N'-对苯乙烯二乙酰胺	C ₁₀ H ₁₂ N ₂	192.21	—	1.42	—
35	13.951	川芎内酯	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	192.25	13.94	22.39	23.40
36	14.357	Z-藁本内酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190.24	53.71	43.43	46.93
37	15.962	E-藁本内酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190.24	1.13	1.42	1.21
38	18.457	十六烷醇	C ₁₆ H ₃₄ O	242.44	0.22	—	—
39	20.962	棕榈酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.48	—	—	0.38
40	21.356	洋川芎内酯 H	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	224.25	—	0.58	—
41	22.533	亚油酸甲酯	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294.47	0.10	0.39	0.38
42	23.238	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.45	—	15.74	6.93
43	23.432	亚油酸乙酯	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308.49	—	—	0.79
44	24.968	棕榈酸缩水甘油酯	C ₁₉ H ₃₆ O ₃	312.48	—	—	0.21
45	25.556	(Z,Z)-9,12-十八烯酸丁酯	C ₂₂ H ₄₀ O ₂	336.55	—	—	0.36
46	26.080	角鲨烯	C ₃₀ H ₅₀	410.72	0.02	—	—
—	—	合计	—	—	93.74	96.61	94.44
—	—	内酯类(苯酚类)	—	—	79.13	74.08	80.13
—	—	烯类	—	—	6.54	3.56	4.32
—	—	酮类	—	—	0.90	0.15	—
—	—	醇类	—	—	4.10	0.59	0.69
—	—	酚类	—	—	1.92	0.68	0.25
—	—	脂肪酸及其酯类	—	—	0.10	16.13	9.05
—	—	酰胺类	—	—	—	1.42	—
—	—	其他	—	—	1.05	—	—

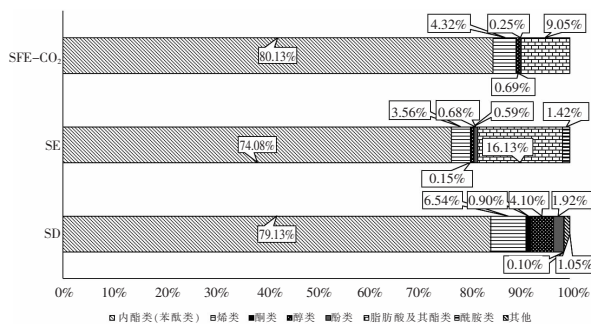


图 2 三种方法提取的川芎挥发油种类所占比例

2.2 川芎挥发油的 PCA

以三种方法提取的挥发油成分的相对含量为变量进行 PCA, 提取了 PC1 和 PC2 两个主成分。其中, PC1 解释了总变异的 76.90%, PC2 解释了总变异的 23.10%; R^2 (cum) 为 1, Q^2 为 0.999。三种方法提取的川芎挥发油化学成分大致分为两类, 其中 SE 和 SFE-CO₂ 所得川芎挥发油化学成分在 PCA 得分图上相对较近, 而 SD 法则离两者较远。见表 2 及图 3。

表2 PCA 特征值及累积方差贡献率

主成分	R^2_{λ} 值	R^2_{λ} (cum) 值	特征值	Q^2 值
1	0.769	0.769	2.31	0.642
2	0.231	1	1	0.999

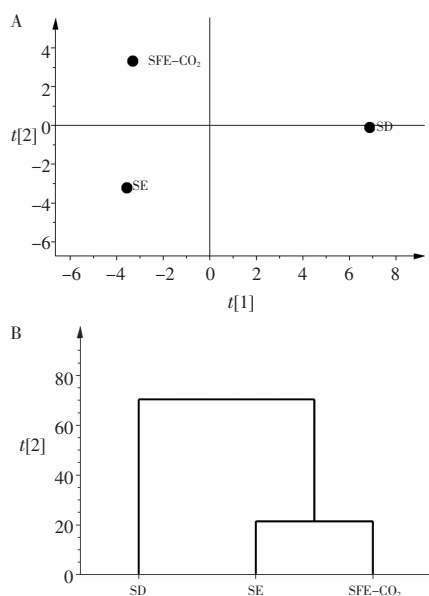


图3 三种方法提取的挥发油化学成分 PCA 得分及聚类

A. 三种方法提取的挥发油化学成分 PCA 得分; B. 三种方法提取的挥发油化学成分 PCA 得分及聚类。

2.3 川芎挥发油的抗氧化活性

SD、SE 及 SFE-CO₂ 提取的川芎挥发油对 DPPH 自由基均有一定的清除作用,且清除率与剂量有依赖关系。对数回归方程分别为 $Y_{SD} = 0.2495 \ln(x) + 0.9001$, $R^2 = 0.9243$, $Y_{SE} = 0.3186 \ln(x) + 0.7772$, $R^2 = 0.9962$, $Y_{SFE-CO_2} = 0.2585 \ln(x) + 0.519$, $R^2 = 0.9779$; IC_{50} 值分别为 0.20 mg/mL、0.42 mg/mL、0.93 mg/mL; 三种方法提取川芎挥发油清除 DPPH 自由基的能力大小依次为 SD > SE > SFE-CO₂。见图 4。

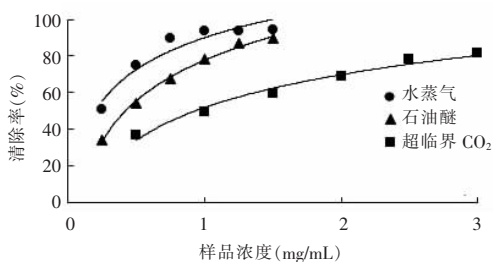


图4 川芎挥发油的抗氧化活性

3 讨论

SD 利用挥发油难溶于水且沸点较低,可随水蒸气蒸出来的原理提取,具有设备简单、容易操作、成本较低等优点,是提取挥发油的经典方法之一,但易

破坏热敏性成分,且能耗较大。SE 利用挥发油易溶于石油醚、乙醇、正己烷、乙醚、丙酮等有机溶剂的原理,通过有机溶剂减压浓缩回收得到挥发油成分,耗能小、工艺简单,且挥发油得率相对较高,但所得挥发油多含有植物蜡、色素、脂肪等杂质,并存在提取时间长、溶剂使用量大、回收困难等不足。SFE-CO₂ 是最近三十多年快速发展起来的一种提取挥发油的方法,具有提取温度低、效率高、不破坏热敏成分及无溶剂残留等优势,但所需设备价格贵、运行成本高^[22-24]。

本研究采用 GC-MS 分析比较 SD、SE 和 SFE-CO₂ 提取的川芎挥发油,结果显示,SD 提取的川芎挥发油中化学成分数量相对最多,为 44 个, SFE-CO₂ 次之,为 30 个, SE 相对最少,为 23 个。在鉴定的化学成分中,三种方法提取的川芎挥发油有 10 个共有成分,共有成分相对含量之和分别达 87.17% (SD)、76.58% (SE) 和 83.40% (SFE-CO₂),且均以苯酚类化学成分为主,相对含量分别为 79.13%、74.08% 和 80.13%,表明这三种方法提取的川芎挥发油主要化学成分相似,仅相对含量有所不同。除共有成分外,不同方法提取的挥发油的化学成分种类也有一些差异。其中,SD 提取的川芎挥发油烯类成分较多,如 α -蒎烯、蒎品油烯、 γ -蒎品烯、5-Pentylcyclohexa-1,3-diene、 α -松油醇、 β -Elemene、Tetradecamethylcycloheptasiloxane、 β -Cadinene、Neoisolongifolene、 γ -Selinene、1-isopropyl-7-methyl-4-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene、15-Copaenol、(-)-蓝桉醇和角鲨烯等。而 SE 及 SFE-CO₂ 提取的挥发油中亚油酸等脂肪酸类较多,与文献报道^[12,15-17]基本一致。

PCA 结果显示,SE 和 SFE-CO₂ 提取川芎挥发油化学成分较为相似,与 SD 差异相对较大。三种方法提取的川芎挥发油均具有一定的抗氧化活性,其清除 DPPH 自由基活性的大小顺序依次为 SD > SE > SFE-CO₂,可能与 SD 提取的川芎挥发油中 4-乙基-2-甲氧基苯酚、 α -蒎烯^[25]、 α -松油醇、 γ -蒎品烯^[26] 和角鲨烯^[19] 等具有较强清除 DPPH 自由基活性的成分有关。但川芎挥发油抗氧化的活性成分还有待进一步研究。

综上所述,SD、SE 和 SFE-CO₂ 提取的川芎挥发油化学成分的种类、数量和抗氧化活性存在一定差异,但主要化学成分相似,仅相对含量有所不同。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 42.

- [2] 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.
- [3] 周雪,李小清,刘琪,等. 川芎挥发油防治脂多糖致小鼠血管认知障碍的作用机制研究[J]. 中草药,2019,50(10):2390-2397.
- [4] 吴玲,唐宇,郑琴,等. 基于 CUMS 大鼠川芎挥发油抗抑郁症作用研究[J]. 世界中医药,2019,14(7):1643-1648.
- [5] 李生茂,刘琳,潘媛,等. 川芎挥发油化学成分 GC-MS 分析及抗氧化活性研究[J]. 中国民族民间医药杂志,2018,27(2):16-20.
- [6] 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.
- [7] 杨玉霞. 当归、川芎、石菖蒲挥发油化学成分分析及抗氧化活性研究[D]. 长春:吉林大学,2015.
- [8] 凌婧,邓文龙,张杰,等. 川芎油对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用[J]. 中药药理与临床,2008,24(1):39-41.
- [9] 盛艳梅,孟宪丽,李春雨,等. 川芎挥发油对大鼠大脑皮层神经细胞体外存活及脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 时珍国医国药,2012,23(3):536-538.
- [10] 邹俊波,张小飞,史亚军,等. 川芎挥发油水蒸气蒸馏法提取工艺的关键影响因素考察[J]. 中国药学杂志,2019,54(18):1468-1474.
- [11] 胡春兰,杨冬丽,张东阁,等. 蒸馏-萃取耦合法提取川芎挥发油及质量评价[J]. 中国医院药学杂志,2015,35(5):417-420.
- [12] 张琳,周欣,卢焘韬,等. 川芎挥发油提取工艺优化及其地上部分 GC-MS 分析[J]. 中药材,2019,42(3):607-611.
- [13] 谢静,张浩,易涛,等. 高效液相和气质联用色谱法检测不同方法提取川芎挥发油的化学成分[J]. 中国医院药学杂志,2008,(6):418-421.
- [14] 邓鹏,韦飞雪,文艺,等. 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[J]. 药学实践杂志,2020,38(2):152-155.
- [15] 吴立军. 天然药物化学(第 6 版)[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:23.
- [16] 刘晓芬,连艳,高必兴,等. 不同方法提取川芎挥发油的 GC-MS 分析[J]. 中药与临床,2014,5(3):17-19.
- [17] 李慧,王一涛. 不同方法提取川芎挥发油的比较分析[J]. 中国中药杂志,2003(4):94-95.
- [18] 恽祥惠,邢丽娜,李云,等. 建立基于 96 孔板检测的 FRAP 法和 DPPH 法及其在橘核抗氧化活性研究中的应用[J]. 时珍国医国药,2014,25(5):1275-1278.
- [19] Lan YW, Wen CH, Tian AS, et al. Chemical composition, antioxidant and bioactivities of essential oils from *Melaleuca bracteata* leaves[J]. *Plant Protection Science*,2020,56(1):18-29.
- [20] 吴胜鸿,黄圆圆,周欣,等. 痔疮消炎颗粒 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中药新药与临床药理,2020,31(1):90-95.
- [21] 崔丹丹,曾令杰,黄嘉玲,等. 基于主成分聚类及 PLS 回归分析的穿心莲质量等级评价研究[J]. 中草药,2019,50(13):3200-3206.
- [22] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1997:496.
- [23] 何凤平,雷朝云,范建新,等. 植物精油提取方法、组成成分及功能特性研究进展[J]. 食品工业科技,2019,40(3):307-312,320.
- [24] 吴帆,倪伟超,李彪,等. 植物精油的提取方法及其功能特性研究进展[J]. 中国野生植物资源,2016,35(5):47-51.
- [25] Koudou J, Edou P, Obame LC, et al. Volatile Components, Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Essential Oil of *Dacryodes edulis* G. Don from Gabon[J]. *Journal of Applied Sciences*,2008,8(19):3532-3535.
- [26] 章斌,侯小楨,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.