

HS-SPME-GC-MS 分析柴胡、白芍配伍前后挥发性组分变化规律

张心一, 江汉美, 成 立, 刘 毅*

湖北中医药大学药学院 湖北省药用植物研发中心, 武汉 430070

摘要:为了探讨柴胡-白芍药对配伍的意义,通过单因素考察确定最佳萃取条件,采用顶空固相微萃取法(HS-SPME)与气相色谱-质谱(GC-MS)联用,测定柴胡、白芍及其药对挥发性成分,通过面积归一法确定各成分百分含量,并进行主成分分析(PCA)。结果表明:柴胡、白芍及其药对共有的挥发性成分有11种,但共有成分的含量有所不同。三者的PCA综合得分具有明显的差异,药对挥发性成分的PCA综合得分最高。柴胡-白芍药对的挥发性成分大部分来自于柴胡,柴胡、白芍配伍后有新的活性成分产生,从挥发性角度分析,柴胡、白芍配伍后具有一定增效减毒作用。

关键词:柴胡;白芍;药对;顶空固相微萃取;PCA;增效减毒

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)11-1907-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.11.009

HS-SPME-GC-MS analysis of the changes in volatile components before and after the compatibility of Radix Bupleurum and Radix Paeoniae Alba

ZHANG Xin-yi, JIANG Han-mei, CHENG Li, LIU Yi*

Hubei Research and Development Center of Medicinal Plants, College of Pharmacy,
Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430070, China

Abstract: In order to investigate the significance of the pairing of Radix Bupleurum (RB) and Radix Paeoniae Alba (RP), the optimal extraction conditions were determined by single-factor investigation, and the volatile components of RB, RP and RB-RP were determined by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) coupled with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and the percentage content of each component was determined by area normalization and subjected to principal component analysis (PCA). The results showed that there were ten volatile components shared by RB, RP and RB-RP, but the contents of the shared components were different. The PCA scores of the three pairs were significantly different, with the highest PCA score for the volatile components of the pair. Most of the volatile components of the pair of RB-RP came from RB, and the combination of RB-RP produced new active ingredients, and from the volatility point of view, the combination of RB-RP has certain potency and toxicity reduction effects.

Key words: Radix Bupleurum; Radix Paeoniae Alba; drug pairs; headspace solid-phase microextraction; PCA; efficacy enhancing and toxicity reducing

中药药对是组方用药的最小单元,药对的配伍主要遵循同气相求、相辅相成、相反相成、相制为用的规律^[1]。白芍养肝柔肝、柴胡疏肝解郁,二药相合,共奏疏达肝气,养血柔肝之功,白芍与柴胡配对,亦具有相反相成的配伍关系,白芍养血,防柴胡疏散太过而劫肝阴,柴胡和散,防白芍酸寒而肝气结也。既得疏肝解郁,相须为伍,又相辅佐,取长补短,二药

相配形成逍遥散、四逆散、大柴胡汤、柴胡疏肝散等方。柴胡为伞科植物柴胡(*Bupleurum chinense* DC.)或狭叶柴胡(*Bupleurum scorzonifolium* Willd.)的干燥根^[2]。白芍为毛茛科植物芍药(*Paeonia lactiflora* Pall.)的干燥根^[2]。查阅相关文献发现,已有研究采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析柴胡、白芍挥发性成分^[3-5],而到目前为止,还未有采用顶空固相微萃取法(HS-SPME)与气相色谱-质谱联用法(GC-MS)联用分析柴胡、白芍配伍前后挥发性成分的报道。HS-SPME应用广泛^[6],具有高效、便捷的特点。本研究采用HS-SPME-GC-MS技术,结合主成分分

收稿日期:2023-06-12 接受日期:2023-08-21

基金项目:国家自然科学基金(81772491);湖北省技术创新专项(重大项目)(2016ACA146)

* 通信作者 E-mail:zds2009@126.com

析(PCA)等数据分析方法,对柴胡和白芍的挥发性成分及其配伍前后挥发性组分的变化规律进行研究,为进一步深入探究此药对的配伍机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

柴胡(*Radix Bupleurum*, RB)和白芍(*Radix Paeoniae Alba*, RP)药材由湖北中医药大学黄家湖医院提供,经湖北中医药大学中药鉴定为伞形科植物柴胡(*Bupleurum chinense* DC.)的干燥根及毛茛科植物芍药(*Paeonia lactiflora* Pall.)的干燥根。

手动固相微萃取(SPME)进样装置(德国 IKA 公司);ThermoFisher Trace 1310 型气相质谱联用仪(美国 ThermoFisher 公司);顶空瓶(规格:15 mL);聚二甲基硅氧烷-二乙烯基苯(PDMS/DVB)萃取纤维头(规格:65 μm ,美国 Supelco 公司);ALC-210.2 型电子天平(北京赛多利斯天平有限公司)。

1.2 样品处理

先将柴胡、白芍样品置于冷冻干燥机中干燥,然后分别用打粉机粉碎,过 16 目筛备用。

1.3 GC-MS 条件

GC 条件:色谱柱为 TG-1701MS 毛细管柱;升温程序:从 50 $^{\circ}\text{C}$ 开始,保留 2.5 min 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 250 $^{\circ}\text{C}$;载气:高纯度 He(99.999%);柱流速:1.0 mL/min;进样口温度:250 $^{\circ}\text{C}$ 。

MS 条件:EI 源;电子能量 70 eV,温度 250 $^{\circ}\text{C}$ 。采用全扫描模式采集数据,扫描范围 40 ~ 600。

1.4 萃取方法

精密称取柴胡-白芍药对混合粗粉 0.8 g(柴胡、白芍粉末各 0.4 g),置于 15 mL 顶空瓶中,插入装有 65 μm PDMS/DVB 萃取纤维头的手动进样器,在 100 $^{\circ}\text{C}$ 下平衡 10 min 后,再压缩手柄伸出萃取头萃取 15 min,取出,立即插入气相色谱仪进样口(温度 250 $^{\circ}\text{C}$)解析 3 min。单味药材实验条件同上。

1.5 数据处理方法

采用峰面积归一化法计算各组分的相对百分含量,并通过 Mainlib 质谱数据库对获得的质谱图进行检索,以鉴定各组分。以 SPSS 21.0 软件对柴胡、白芍及其药对的挥发性成分及其相对百分含量进行主成分分析(PCA)。

2 结果

按上述 HS-SPME 和 GC-MS 条件分析柴胡、白芍配伍前后挥发性成分的变化,采用峰面积归一化法,将数据导入安捷伦化学工作站进行处理,并计算各组分相对百分含量,在 Mainlib 质谱数据库中按各峰的质谱图进行检索,查阅相关文献初步鉴定出 111 种化合物,化学成分鉴定结果见表 1,柴胡、白芍及药对的总离子流图见图 1。

表 1 柴胡、白芍及柴胡-白芍药对挥发性成分

Table 1 Analysis of volatile components in RB, RP and RB-RP

序号 No.	保留时间 t_{R} (min)	化合物名称 Compound	分子式 Molecular formula	相对百分含量 Relative content (%)		
				药对 RB-RP	柴胡 RB	白芍 RP
1	8.28	正十一烷 Undecane	$\text{C}_{11}\text{H}_{24}$	0.35	1.98	-
2	8.88	环五聚二甲基硅氧烷 Cyclopentasiloxane, decamethyl	$\text{C}_{10}\text{H}_{30}\text{O}_5\text{Si}_5$	0.14	0.19	0.11
3	9.08	Octen-2-one	$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}$	-	0.21	-
4	9.22	庚酸乙酯 Heptanoic acid, ethyl ester	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}_2$	-	0.26	-
5	9.39	正己酸 Hexanoic acid	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$	0.23	2.16	-
6	9.69	正壬醛 Nonanal	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}$	-	0.55	-
7	9.72	芳樟醇 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	-	-	0.44
8	9.85	十二烷 Dodecane	$\text{C}_{12}\text{H}_{26}$	-	0.18	0.29
9	9.96	苯甲醇 Benzyl alcohol	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$	-	-	0.69
10	10.25	2-Chloro-1,7,7-trimethyl-, Bicyclo[2.2.1]heptane	$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{Cl}$	-	-	0.47
11	10.26	龙脑烯醛 α -Campholenaldehyde	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	0.12	0.43	-
12	10.45	L-松香芹醇 L-Pinocarveol	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	-	0.11	-

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	保留时间 t_R (min)	化合物名称 Compound	分子式 Molecular formula	相对百分含量 Relative content (%)		
				药对 RB-RP	柴胡 RB	白芍 RP
13	10.61	Hexanoic acid, dodecyl ester	$C_{18}H_{36}O_2$	-	0.38	-
14	10.63	2-甲基-1-十六烷醇 1-Hexadecanol, 2-methyl-	$C_{17}H_{36}O$	0.10	-	-
15	10.65	香茅醛 Citronellal	$C_{10}H_{18}O$	-	-	0.25
16	10.70	辛酸乙酯 Octanoic acid, ethyl ester	$C_{10}H_{20}O_2$	0.11	0.29	-
17	10.78	正庚酸 Heptanoic acid	$C_7H_{14}O_2$	-	0.75	-
18	10.80	Bicyclo[3.1.1]heptan-2-one, 6,6-dimethyl-	$C_9H_{14}O$	0.33	-	2.41
19	10.94	2-癸烯-1-醇 2-Decen-1-ol	$C_{10}H_{20}O$	-	0.99	-
20	10.96	反式-2-十一碳烯-1-醇 <i>trans</i> -2-Undecen-1-ol	$C_{11}H_{22}O$	0.31	-	-
21	11.05	异龙脑 Isoborneol	$C_{10}H_{18}O$	-	-	0.20
22	11.16	草蒿脑 Estragole	$C_{10}H_{12}O$	1.12	2.17	7.66
23	11.29	正十三烷 Tridecane	$C_{13}H_{28}$	4.41	5.42	0.33
24	11.36	2-Benzene, 2-methoxy-4-methyl-1-(1-methylethyl)	$C_{11}H_{16}O$	2.34	3.80	-
25	11.51	桃金娘烯醛 Myrtenal	$C_{10}H_{14}O$	-	-	2.66
26	11.54	香芹酚甲醚 Carvacrol methyl ether	$C_{11}H_{16}O$	0.55	0.89	-
27	11.69	17-十八炔酸 17-Octadecynoic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	-	0.16	-
28	11.77	二叔十二烷基二硫化物 Disulfide, di-tert-dodecyl	$C_{24}H_{50}S_2$	-	-	0.29
29	11.78	2-甲基-1-十六烷醇 2-Methyl-1-hexadecanol	$C_{17}H_{36}O$	-	0.10	-
30	11.83	6-甲基十八烷 6-Methyl-octadecane	$C_{19}H_{40}$	-	-	0.29
31	11.98	己酸戊酯 Hexanoic acid, pentyl ester	$C_{11}H_{22}O_2$	0.62	1.33	-
32	12.01	2,6,10-三甲基十四烷 2,6,10-Trimethyl-tetradecane	$C_{17}H_{36}$	-	-	0.80
33	12.04	1-甲基环己醇 1-Methyl-cyclohexanol	$C_7H_{14}O$	0.27	-	-
34	12.09	辛酸 Octanoic acid	$C_8H_{16}O_2$	-	0.72	-
35	12.18	马鞭烯酮 Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-	$C_{10}H_{14}O$	0.25	-	-
36	12.25	9-甲基十九烷 Nonadecane, 9-methyl-	$C_{16}H_{34}SO_3$	-	0.55	-
37	12.25	3-甲基十三烷 Tridecane, 3-methyl-	$C_{14}H_{30}$	0.68	-	0.94
38	12.37	α -愈创木烯 α -Guaiene	$C_{15}H_{24}$	-	1.42	1.39
39	12.37	桃金娘烷醇 <i>cis</i> -Myrtenol	$C_{10}H_{18}O$	-	-	6.17
40	12.46	2,5-十八碳二炔酸甲酯 2,5-Octadecadiynoic acid, methyl ester	$C_{19}H_{30}O_2$	0.25	0.40	-
41	12.64	正十四烷 Tetradecane	$C_{14}H_{30}$	1.12	1.33	1.47
42	12.74	α -古巴烯 α -Copaene	$C_{15}H_{24}$	-	0.65	1.70
43	12.74	α -葎澄茄油烯 α -Cubebene	$C_{15}H_{24}$	0.77	-	-
44	12.98	Berkheyaradulene	$C_{15}H_{24}$	1.27	1.35	1.27
45	13.13	γ -古芸烯 γ -Gurjunene	$C_{15}H_{24}$	1.37	-	3.58
46	13.24	氯代十八烷 Octadecane, 1-chloro-	$C_{18}H_{37}Cl$	0.14	-	0.21
47	13.27	己酸己酯 Hexyl hexanoate	$C_{12}H_{24}O_2$	2.26	-	-
48	13.44	(+)- β -柏木萜烯 (+)- β -Funebrene	$C_{15}H_{24}$	25.01	30.41	-
49	13.55	反式石竹烯 Caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	0.87	-	1.67

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	保留时间 t_R (min)	化合物名称 Compound	分子式 Molecular formula	相对百分含量 Relative content (%)		
				药对 RB-RP	柴胡 RB	白芍 RP
50	13.55	异丁香烯 Isocaryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	4.11	6.31	-
51	13.64	乙酸癸酯 Acetic acid, decyl ester	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	0.94	0.74	-
52	13.77	2,6,10-三甲基十四烷 2,6,10-Trimethyltetradecane	C ₁₇ H ₃₆	-	0.13	-
53	13.83	β -金合欢烯 β -Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	0.66	0.45	-
54	13.84	塞瑟尔烯 Seychellene	C ₁₅ H ₂₄	-	-	1.04
55	13.90	十五烷 Pentadecane	C ₁₅ H ₃₂	5.59	4.90	1.00
56	13.97	紫穗槐二烯 Amorphadiene	C ₁₅ H ₂₄	1.50	1.08	-
57	14.04	丁香酚 Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	-	-	1.77
58	14.09	百里氢醌二甲醚 Thymohydroquinone dimethyl ether	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	0.96	1.20	-
59	14.18	γ -摩勒烯 γ -Muurolene	C ₁₅ H ₂₄	1.50	0.98	-
60	14.28	β -花柏烯 β -Chamigrene	C ₁₅ H ₂₄	1.79	1.88	-
61	14.30	α -菖蒲醇 α -Acorenol	C ₁₅ H ₂₆ O	-	-	0.11
62	14.39	α -姜黄烯 α -Curcumene	C ₁₅ H ₂₂	4.62	0.72	10.17
63	14.45	β -瑟林烯 β -Selinene	C ₁₅ H ₂₄	2.06	0.89	2.90
64	14.50	β -红没药烯 β -Bisabolene	C ₁₅ H ₂₄	3.38	1.89	4.50
65	14.57	异胡萝卜烯 Isodaucene	C ₁₅ H ₂₄	-	0.23	-
66	14.64	香叶基丙酮 Geranylacetone	C ₁₃ H ₂₂ O	0.46	-	0.41
67	14.75	1-氯十八烷 1-Chlorooctadecane	C ₁₈ H ₃₇ Cl	1.25	1.18	-
68	14.82	β -倍半水芹烯 β -Sesquiphellandrene	C ₁₅ H ₂₄	-	-	2.67
69	14.85	呋巴烯 Cuparene	C ₁₅ H ₂₂	3.62	3.37	-
70	14.98	瓦伦亚烯 Valencene	C ₁₅ H ₂₄	0.62	-	-
71	15.09	正十六烷 Hexadecane	C ₁₆ H ₃₄	0.65	0.55	0.69
72	15.32	反式- α -紫罗兰酮 <i>trans</i> - α -Ionone	C ₁₃ H ₂₀ O	-	-	0.49
73	15.40	1-正三十七醇 1-Heptatriacontanol	C ₃₇ H ₇₆ O	0.91	-	-
74	15.41	3,7,11-三甲基-1-十二烷醇 1-Dodecanol, 3,7,11-trimethyl-	C ₁₅ H ₃₂ O	-	0.30	-
75	15.46	前列腺素 E1 Prostaglandin E1	C ₂₀ H ₃₆ O ₅	0.17	-	-
76	15.51	丹皮酚 Paeonol	C ₉ H ₁₀ O ₃	-	-	2.77
77	15.60	冰草烯 Agropyrene	C ₁₂ H ₁₀	1.40	1.51	-
78	15.77	韦得醇 Widdrol	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	-	-	0.28
79	15.77	反式橙花醇 (±)- <i>trans</i> -Nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	0.40	0.29	-
80	15.85	2-十二烷烯-1-基丁二酸酐 2-Dodecen-1-yl(-) succinic anhydride	C ₁₆ H ₂₆ O ₃	0.16	-	-
81	15.86	2-戊基壬-2-烯醛 2-Nonenal, 2-pentyl-	C ₁₄ H ₂₆ O	-	0.17	-
82	15.95	叔十六硫醇 <i>tert</i> -Hexadecanethiol	C ₁₆ H ₃₄ S	-	-	0.21
83	16.00	乙酸十二烷基酯 Lauryl acetate	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	0.64	0.61	-
84	16.09	8-十七烷烯 8-Heptadecene	C ₁₇ H ₃₄	0.45	0.42	-
85	16.16	1,8,11-十七碳三烯 1,8,11-Heptadecatriene	C ₁₇ H ₃₀	0.50	-	2.44
86	16.22	十七烷 Heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	0.74	0.45	-

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	保留时间 t_R (min)	化合物名称 Compound	分子式 Molecular formula	相对百分含量 Relative content (%)		
				药对 RB-RP	柴胡 RB	白芍 RP
87	16.33	桉油烯醇 Spathulenol	$C_{15}H_{24}O$	-	0.29	-
88	16.33	1,8,11,14-十七碳四烯 1,8,11,14-Heptadecatetraene	$C_{17}H_{28}$	6.50	-	21.7
89	16.39	氧化石竹烯 Caryophyllene oxide	$C_{15}H_{24}O$	1.77	0.81	0.43
90	16.60	2-乙基己基己二酸氢酯 2-Heptenoic acid, isobutyl ester	$C_{14}H_{26}O_4$	-	-	0.46
91	16.70	环氧葎草烯 II Humulene epoxide II	$C_{15}H_{24}O$	-	0.12	0.25
92	16.83	4(15),5,10(14)-大根香叶三烯-1-醇 4(15),5,10(14)-Germacatrien-1-ol	$C_{15}H_{24}O$	0.19	0.22	-
93	16.84	蓝桉醇 Globulol	$C_{15}H_{26}O$	-	-	0.41
94	16.94	苍术酮 Atractylon	$C_{15}H_{20}O$	-	-	0.21
95	16.99	顺-7-十四碳乙酸酯 (Z)-7-Tetradecen-1-yl acetate	$C_{15}H_{26}O_2$	0.11	-	-
96	17.00	3-甲基十七烷 Heptadecane,3-methyl-	$C_{18}H_{38}$	-	-	0.24
97	17.22	百秋李醇 Patchouli alcohol	$C_{15}H_{26}O$	-	-	0.38
98	17.30	十九烷 Nonadecane	$C_{19}H_{40}$	-	0.32	-
99	17.30	十八烷 Octadecane	$C_{18}H_{38}$	-	-	0.30
100	17.38	异香橙烯环氧化物 Isoaromadendrene epoxide	$C_{15}H_{24}O$	-	0.44	-
101	18.22	香附烯酮 Cyperenone	$C_{15}H_{22}O$	-	-	0.42
102	18.31	Estra-1,3,5(10)-trien-17a-ol	$C_{18}H_{24}O$	0.11	-	-
103	18.79	木香醇 Costol	$C_{15}H_{24}O$	-	-	0.38
104	19.16	十六醇 1-Hexadecanol	$C_{16}H_{34}O$	0.16	-	-
105	19.29	棕榈酸甲酯 Methyl palmitate	$C_{17}H_{34}O_2$	0.97	0.59	-
106	19.40	西松烯 Cembrene	$C_{20}H_{32}$	0.23	-	-
107	19.89	棕榈酸乙酯 Hexadecanoic acid, ethyl ester	$C_{18}H_{36}O_2$	-	0.30	-
108	20.10	棕榈酸异丙酯 Isopropyl palmitate	$C_{19}H_{38}O_2$	0.17	-	-
109	21.05	亚油酸甲酯 Methyl linoleate	$C_{19}H_{34}O_2$	0.67	0.36	-
110	21.60	亚油酸乙酯 Ethyl linoleate	$C_{20}H_{36}O_2$	0.26	0.16	-
111	22.06	二十一烷 Heneicosane	$C_{21}H_{44}$	-	-	0.22

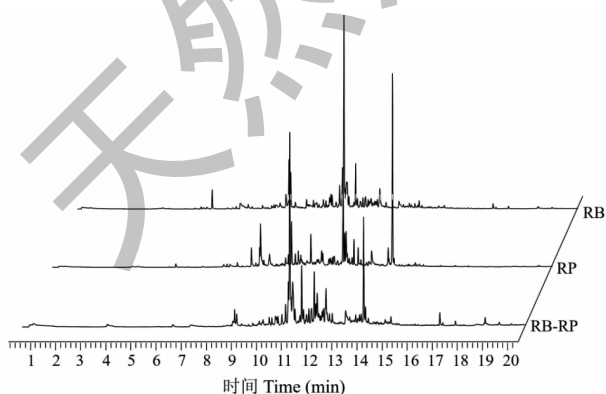


图 1 柴胡、白芍及其药对挥发性成分总离子流图

Fig. 1 Total ionchromatogram of volatile components in RB, RP and RB-RP

2.1 柴胡、白芍及其药对的挥发性成分分析结果

2.1.1 柴胡、白芍及其药对的挥发性组分的定量分析

从柴胡药材粉末分离鉴定出 61 个挥发性成分;从白芍药材粉末分离出 50 个挥发性成分;柴胡-白芍药对药材粉末分离鉴定出 61 个挥发性成分;柴胡、白芍及其药对鉴定出的挥发性成分含量分别占总挥发性成分含量的 93.04%、92.14% 和 95.21%。

2.1.2 药对与单味药之间挥发性成分的比较与分析

在柴胡中鉴定出了 61 种挥发性成分,其中最主要的成分是 (+)- β -柏木萜烯(30.41%)、异丁香烯(6.31%)、正十三烷(5.42%);在白芍中鉴定出了 50 种挥发性成分,其中最主要的成分是 α -姜黄烯

(10.17%)、草蒿脑(7.66%)、桃金娘烷醇(6.17%);在柴胡-白芍药对中鉴定出了61种挥发性成分,其中最主要的成分是(+)- β -柏木萜烯(25.01%)、1,8,11,14-十七碳四烯(6.50%)、十五烷(5.59%)、 α -姜黄烯(4.62%)。柴胡和药对的共有成分为27个,主要为(+)- β -柏木萜烯、异丁香烯、冰草烯、呋巴烯等;白芍和药对的共有成分为7个,主要为 γ -古芸烯、 β -瑟林烯、1,8,11,14-十七碳四烯、1,8,11-十七碳三烯等;柴胡、白芍及药对的共有成分为11个,主要为 α -姜黄烯、 β -红没药烯、 β -瑟林

烯、氧化石竹烯等,结果见表1。

2.1.3 柴胡、白芍及其药对挥发性成分种类和含量的差异

由表1得,挥发性成分主要分为烯类、酯类、酮类、醛类、酸类、醇类、烷烃类及其他类化合物。烯类成分在柴胡、白芍及其药对挥发性成分相对百分含量中占比最高,其中柴胡挥发性成分中烯类成分占比为54.49%,白芍挥发性成分中烯类成分占比为58.95%,药对挥发性成分中烯类成分占比为64.17%,三者挥发性成分种类和含量见表2。

表2 柴胡、白芍及药对挥发性成分种类和相对含量的分析

Table 2 Analysis of volatile components in RB, RP and RB-RP and its relative content

类别 Type	柴胡-白芍药对 RB-RP		柴胡 RB		白芍 RP	
	数量 Number	相对含量 Content (%)	数量 Number	相对含量 Content (%)	数量 Number	相对含量 Content (%)
烯类 Olefin	23	64.17	18	54.49	16	58.95
醇类 Alcohol	8	2.45	7	2.30	10	9.27
醛类 Aldehyde	1	0.12	3	1.15	2	2.91
酮类 Ketone	3	1.04	1	0.21	5	3.94
酯类 Ester	10	7.00	12	5.97	1	0.46
酸类 Acid	1	0.23	4	3.79	0	0.00
烷烃类 Alkane	7	13.54	9	15.26	11	6.57
其他类 Other	8	6.66	7	9.87	5	10.04

2.2 柴胡、白芍及其药对挥发性成分的 PCA

由表1可知,柴胡、白芍及其药对三者的挥发性成分含量数据较为分散,拟通过主成分分析(PCA)将离散的数据进行标准化处理。采用SPSS 21.0统计软件对3组样品的111种挥发性成分含量进行PCA。特征值和贡献率见表3,各成分的主成分特征向量及载荷矩阵见表4。从表3和表4可以看出,第一主成分的贡献率为67.001%,它主要反映了醇类、酯类、烷烃类3类组分的变化信息,并且第一主成分与醇类化合物之间存在正相关,而与酯类化合物和烷烃之间存在负相关关系;第二主成分的贡献率为32.999%,与酸类化合物存在正相关关系,与

烯类化合物存在负相关关系,两个主成分的累计贡献率达到100.000%,较好地反映了样本的总体信息。以 F_1 和 F_2 两个新的综合指标来代替原来的8类成分所表达的信息,综合得分 $F = 67.001\% Y_1 + 32.999\% Y_2$,得到综合得分值表5。PCA结果如图2所示,单味药材和药对的综合评分具有较大差异,柴胡-白芍药对挥发性成分的得分明显高于单味药材。综合得分越高,表明挥发性成分含量越多,因此可以认为主成分在该组总挥发性成分含量的比重也越高。从挥发性成分的角度来看,柴胡-白芍药对配伍后具有最丰富的挥发性成分。

表3 主成分分析的特征值及其贡献率

Table 3 The eigenvalues of principal components and their contribution rates

主成分 Principal component	特征值 Eigenvalue (Y)	方差贡献率 Variance contribution (%)	累积方差贡献率 Cumulative variance contribution (%)
1	5.36	67.001	67.001
2	2.64	32.999	100

表 4 主成分的特征向量和载荷矩阵

Table 4 Eigenvector and load matrix of principal components

类别 Type	第一主成分 First principal component		第二主成分 Second principal component	
	特征向量 Eigenvector	特征载荷 Eigenload	特征向量 Eigenvector	特征载荷 Eigenload
烯类 Olefin	-0.038	-0.088	-0.613	-0.996
醇类 Alcohol	0.431	0.998	-0.038	-0.062
醛类 Aldehyde	0.409	0.946	0.200	0.325
酮类 Ketone	0.418	0.967	-0.156	-0.254
酯类 Ester	-0.430	-0.995	-0.064	-0.104
酸类 Acid	-0.220	-0.510	0.529	0.860
烷烃类 Alkane	-0.420	-0.973	0.141	0.229
其他类 Other	0.248	0.574	0.504	0.819

表 5 柴胡、白芍及其药对挥发性成分主成分得分和综合得分

Table 5 Principal component scores and comprehensive scores of volatile components of RB, RP and RB-RP

组别 Group	F1	F2	F
RB-RP	2.67	-0.08	1.76
RB	-1.24	1.66	-0.28
RP	-1.43	-1.58	-1.48

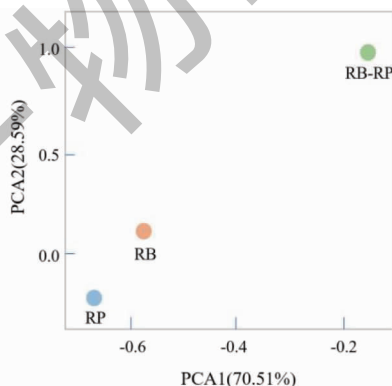


图 2 柴胡、白芍及其药对 PCA 分析得分图

Fig. 2 PCA analysis scores of RB, RP and RB-RP

3 讨论与结论

本研究采用 HS-SPME-GC-MS 法对柴胡、白芍及柴胡-白芍药对的挥发性成分进行测定分析,柴胡-白芍药对特有的挥发性组分为 16 个,与柴胡有 27 个共有挥发性组分,与白芍有 7 个共有挥发性组分。

将药对与单味药的挥发性成分含量进行对比可

得,药对挥发性成分含量较单味药有所提高的成分有 15 种,包括 α -姜黄烯、 β -红没药烯、氧化石竹烯、紫穗槐二烯、(+)- β -柏木萜烯等。药对中挥发性成分含量较单味药有所降低的成分有 15 种,包括十二烷、苯甲醇、十六烷、十九烷等。同时,药对新增了 16 种新的挥发性成分,包括马鞭烯酮、反式石竹烯、 α -萜澄茄油烯、瓦伦亚烯、前列腺素 E1 等。与单味

药相比,药对中含量增加的(+)- β -柏木萜烯是侧柏精油的主要成分^[7],具有抗菌消炎、收敛、利尿、柔软、化痰、杀霉菌等作用; α -姜黄烯具有比较强的抗菌活性^[8]; β -红没药烯对多种乳腺癌细胞有抑制作用^[9];氧化石竹烯具有平喘、抗肿瘤、抗菌和镇咳作用^[10]。并且,二药配伍后新增加的成分如反式石竹烯、 α -萜澄茄油烯、前列腺素 E1 等,反式石竹烯具有一定的平喘、抗菌作用^[14],产生的 α -萜澄茄油烯具有良好的抑菌作用^[15],前列腺素 E1 具有良好的抗炎作用^[16],与柴胡-白芍配伍的临床应用相符。此外,药对中含量降低的成分如十二烷具有低毒性^[11];苯甲醇对中枢神经系统有毒性^[12];十六烷蒸气会对人体上呼吸道、眼和皮肤产生刺激性^[13]等,这些有害成分在二药配伍后含量均有所降低。从挥发性成分的角度出发可得柴胡-白芍配伍后有减毒增效的作用,如经典中药制剂安乳消痛丸,柴胡和白芍作为其中主要成分,二药合用,既能疏肝解郁以治肝用之不达,又能柔肝益阴以补肝体,有养血敛阴,缓解疼痛之功效^[17]。

有研究^[18]采用索氏、微波、水蒸馏、超临界 CO₂-水蒸气蒸馏提取法提取柴胡挥发油并定性化学成分,共分析鉴定其所得挥发性成分分别为 34、21、25、19 种,本研究采取 HS-SPME 分离定性的柴胡挥发性成分为 61 种,采用 HS-SPME-GC-MS 联用技术可提高药物挥发性成分的提取率,与文献中所用的方法相比,药物的出峰数和挥发性物质含量更高,表明顶空固相微萃取萃取药物挥发性组分具有高效灵敏的特性。

综上所述,柴胡、白芍配伍使用在临床上运用广泛。但鲜有柴胡、白芍及其药对挥发性成分的研究。本实验应用 HS-SPME-GC-MS 技术测定柴胡、白芍以及柴胡-白芍药对挥发性成分,通过面积归一法确定各成分百分含量,从挥发性成分角度出发,分析柴胡-白芍药对配伍前后化学成分的变化,根据配伍规律,探讨柴胡-白芍药对的配伍作用,以期进一步挖掘其疗效机理。

参考文献

- Zhong GT. Research progress and reflections on Chinese medicine pairs in the last two decades[J]. J Sichuan Tradit Chin Med(四川中医),2016,34:221-223.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I (中华人民共和国药典:

- 第一部[M]. Beijing: China Medical Science Press,2020: 108,293.
- Bing YF, Li SN, Liu XQ, et al. Mechanism of antidepressant effect of volatile oil of *Bupleurum scorzonerifolium* based on GC-MS and network pharmacology[J]. Special Wild Econ Anim Plant Res(特产研究),2023,45:32-38.
- Ivanova A, Delcheva I, Tsvetkova I, et al. GC-MS analysis and anti-microbial activity of acidic fractions obtained from *Paeonia peregrina* and *Paeonia tenuifolia* roots[J]. Z Naturforsch C J Biosci,2002,57,624-628.
- Zhao MM, Xiao LX, Linghu KG, et al. Comprehensive comparison on the anti-inflammation and GC-MS-based metabolomics discrimination between *Bupleuri chinense* DC. and *B. scorzonerifolium* Willd[J]. Front Phal,2022,13:1005011.
- Yi ZR, Zhang RY, Wang JL, et al. Determination of volatile components in different parts of *Atractylodes macrocephala* by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2022,34:1690-1698.
- Zhou CJ. Study on the extraction process, chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities of the essential oil of *B. scorzonerifolium* [D]. Nanning: Guangxi University(广西大学),2015.
- da Silva GNS, Pozzatti P, Rigatti F, et al. Antimicrobial evaluation of sesquiterpene α -curcumene and its synergism with imipenem[J]. J Mic Biot,2015,4:434-436.
- Liang XL, Li QX, Huang SY, et al. Advances in the antitumor effects of plant essential oils[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2022,53:1252-1263.
- Ngamprasertsith S, Menwa J, Sawangkeaw R. Caryophyllene oxide extraction from lemon basil (*Ocimum citriodorum* Vis) straw by hydrodistillation, straw by hydrodistillation and supercritical CO₂[J]. J Supercrit Fluid,2018,138:1-6.
- Lee YJ, Ahn YJ, Lee GJ. Cytotoxicity evaluation of sodium lauryl sulfate in a paper-based 3D cell culture system[J]. Analy meth,2022,14:1755-1764.
- Huang Y. Toxic effects of benzyl alcohol[J]. Milit Med Joint Logist(联勤军事医学),1990,3:22-23.
- Xu JJ. Preparation of microbial loaded porous materials and degradation of n-hexadecane [D]. Lanzhou: Northwest University for Nationalities(西北民族大学),2022.
- Bezerra CF, Camila FB, José GAJ, et al. Antifungal effect of the liposome encapsulation of the *trans*-caryophyllene and its association with fluconazole [J]. Chem Biol Interact,2023,373:110377.