

白术-茯苓不同配比药对挥发油成分的 GC-MS 分析

岳美颖, 于海艳*, 周勤梅, 潘媛
(成都中医药大学, 成都 611137)

[摘要] 目的:研究白术、茯苓单味药及其药对的挥发油成分,并考察白术、茯苓不同配比药对对挥发油成分的影响。方法:利用有机溶剂-水蒸气蒸馏法提取白术、茯苓单味药及其不同配比药对的挥发油,采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术,结合质谱库检索、文献资料比对,进行化学成分的分离和鉴定。结果:在白术、茯苓、药对(1:1),药对(1:2),药对(2:1)的挥发油中分别鉴定出26,22,30,29,41种化合物,其中共有成分3种,分别是亚油酸、棕榈酸和 α -柏木烯。白术与3个药对挥发油共有成分共计有16个,排名前三的分别为苍术酮,(-)-*g*-榄香烯, β -人参烯;而茯苓挥发油中仅有6个成分能被3个药对检测到,仅占茯苓成分的27%。结论:从挥发油的成分及含量来看,3个药对挥发油的主要成分均来自于白术,不同配伍比例药对挥发油的成分有不同程度的变化,其中以药对(2:1)最为明显,这可能与白术的用量增加有关。3个药对挥发油均有新的成分被检测到,其原因可能是由于在煎煮过程中发生了某些物理或化学的变化。

[关键词] 白术;茯苓;药对;不同配比;挥发油类;气相色谱-质谱法

[中图分类号] R284.1;R2-031;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)11-0061-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181108

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180315.1012.036.html>

[网络出版时间] 2018-03-15 11:51

GC-MS in Analysis of Chemical Composition of Volatile Oil in Different Ratio of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* and *Poria*

YUE Mei-ying, YU Hai-yan*, ZHOU Qin-mei, PAN Yuan
(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the volatile oil components in herbal pair (HP) of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* (AMK) -*Poria* (PCW) and its single herb, and to investigate the different HP proportions on the the volatile oil. **Method:** Volatile oil was extracted from HP and its single herb by organic-steam distillation. The chemical constituents were analysed and identified by GC-MS technique and combined with mass spectrometry library searching and literature comparison. **Result:** There were 26, 22, 30, 29 and 41 volatile constituents in AMK, PCW, HP (1:1), HP (1:2) and HP (2:1), and 3 common volatile constituents were identified. There were linoleic acid, palmitic acid and α -cedrene. 16 compounds were identified from volatile oil of AMK and the three HP. The top three were (4a*S*, 8a*R*)-3, 8a-dimethyl-5-methylene-4, 4a, 5, 6, 7, 8, 8a, 9-octahydronaphtho [2, 3-*b*] furan, (-)-*g*-elemene, β -panasinsene. And volatile oil of PCW were only six ingredients can be to detect from the three HP, accounts for only 27% of PCW. **Conclusion:** Regarding the volatile oil components and content, the volatile chemical components in the three HP were mainly from single herb AMK, the volatile oil components of different HP proportions have different degrees of change and the most obvious one is the HP (2:1). This may be associated with the increased dosage of AMK. And all the three HP have new

[收稿日期] 20170911(012)

[基金项目] 成都中医药大学校基金项目(ZRQN1437);成都中医药大学实验技术项目(024075039)

[第一作者] 岳美颖, 硕士, 实验师, 从事复方配伍理论及实验研究, E-mail:404455538@qq.com

[通信作者] *于海艳, 博士, 讲师, 从事中药复方配伍规律的理论、实验及临床研究, E-mail:1009712198@qq.com

components detected. The reason may be due to the occurrence of certain physical changes or chemical reactions during the decocting process.

[Key words] *Attractylodis Macrocephalae Rhizoma*; *Poria*; paired drugs; different proportion; volatile oils; gas chromatography-mass spectrometry

药对是中医临床常用的相对固定的 2 味药的配伍组合,是中药配伍应用中的基本形式。药对是药物组成方剂的核心,相对复方研究的复杂性,药对则更便于展开现代实验科学研究。药对配伍的研究是复方研究的基础,因此了解药对中两味药配伍后的化学成分变化,才能更好地剖析和阐明复方中药物的配伍机制,促进复方的理论研究和临床应用^[1]。自古以来,白术、茯苓就是治疗脾胃气虚及水湿内停证的常用药对,两药配伍始见于张仲景《伤寒论》和《金匮要略》^[2]。白术,气清香,味苦甘,性温,入脾、胃经,健脾益气,燥湿利水;茯苓,气微,味甘淡,性平,归心、肺、脾、肾经,利水渗湿,健脾宁心^[3]。当代名医施今墨亦将白术、茯苓列为健脾祛湿的“对药”。而药对不同剂量配比在临床上有不同的作用^[4],因此在基础研究中药对的配比是不容忽视的。贾波等^[5]研究显示 184 首含有白术、茯苓的益气健脾方中两药使用频率排名前三的分别是 1:1, 1:2, 2:1, 由此本实验确定这 3 个配伍比例进行研究。

经查阅文献,对于白术^[6-7]、茯苓^[8-9]这 2 个单味药的挥发油成分研究已有报道,彭腾等^[10]运用薄层色谱,UV, HPLC 等现代化学成分的研究手段比较白术、茯苓药对组方益气健脾类方剂的化学成分变化,目前尚无药对白术-茯苓挥发油成分的报道。为此,本实验采用经典的水蒸气蒸馏法提取白术、茯苓及白术-茯苓药对(1:1, 1:2, 2:1)中的挥发油,结合 GC-MS 分离鉴定各样品挥发油中的化学成分,并采用峰面积归一化法对各检出成分定量,比较其成分及含量之间的差异,以考察两药配伍前后挥发油成分的变化。

1 材料

7890A-5975C 型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司,包括自动进样器, NIST14. L 数据库),挥发油测定器(温江区科桥仪器耗材经营部), ZDHW 型调温电热套(北京中兴伟业仪器有限公司), HX-200 型高速中药粉碎机(浙江省永康市溪岸五金药具厂)。

白术、茯苓均购于成都济恩大药房,经成都中医药大学卢先明教授鉴定白术为菊科植物白术

Attractylodes macrocephala 的干燥根茎,茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* 的干燥菌核。水为蒸馏水。色谱纯正己烷、无水硫酸钠均购自温江区科桥仪器耗材经营部。

2 方法与结果

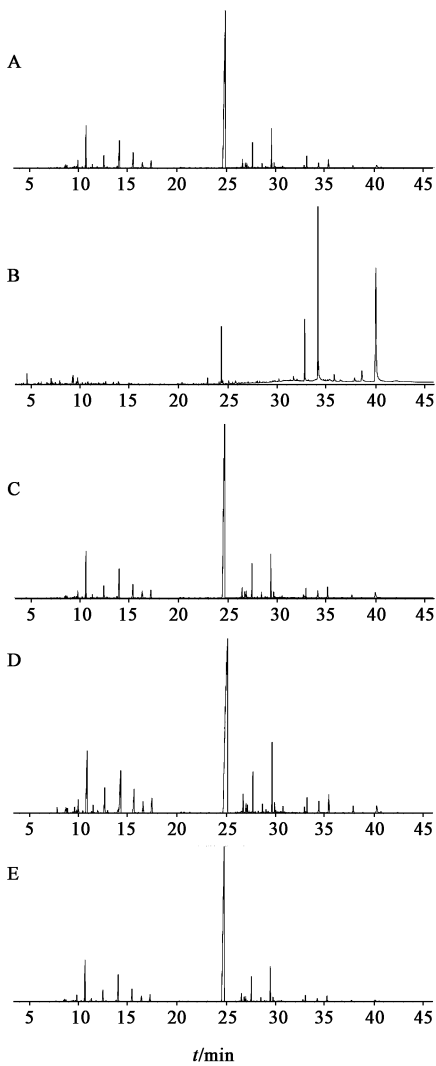
2.1 挥发油提取方法 取白术、茯苓药材粗粉适量,参照 2015 年版《中国药典》的方法用水蒸气蒸馏法(SD)提取挥发油。称取白术 50 g,茯苓 50 g,药对(1:1,含白术 50 g,茯苓 50 g),药对(2:1,含白术 100 g,茯苓 50 g),药对(1:2,含白术 50 g,茯苓 100 g)进行提取,各加 8 倍量蒸馏水浸泡 12 h,加正己烷 5 mL,保持微沸提取 5 h。分别获得无色,具有特殊气味的混合油状物 4.6(白术), 4.4(茯苓), 4.65(药对 1:1), 4.7(药对 2:1), 4.65 mL(药对 1:2)。收集上层油状物,用无水硫酸钠干燥作为供试品。

2.2 色谱条件 HP-INNOWAX 毛细管色谱柱(0.25 mm×30 m, 0.25 μm);载气为高纯氦气;进样口温度 250 °C;进样量 1 μL,分流比 5:1;恒流模式,载气流速 1.0 mL·min⁻¹;程序升温:起始温度 50 °C,以 10 °C·min⁻¹的速率升至 120 °C,以 2 °C·min⁻¹升至 150 °C,以 10 °C·min⁻¹升至 240 °C,保持 15 min。

2.3 质谱条件 电子轰击(EI)离子源,电子能量 70 eV,离子源温度 230 °C,四级杆温度 150 °C,传输线温度 240 °C,质量范围(*m/z*) 35~550,数据采集扫描模式为全扫描,溶剂延迟 3 min。

2.4 挥发油总离子流色谱 按上述测试条件分别进行 GC-MS 分析,通过气相色谱-质谱联用仪得到相应的色谱、质谱数据,将所分离化合物质谱图与 NIST14. L 谱库进行匹配,并结合相关文献报道确定分析样品的化学成分。各样品 GC-MS 总离子流色谱图见图 1。

2.5 挥发油成分分析 结合计算机谱库检索,并与文献资料比对,采用峰面积归一化法测定各成分相对百分百分比含量,匹配度不低于 90%,结果见表 1。从白术挥发油中共鉴定出 25 种成分,占总量的 81.57%,主要的化学成分为苍术酮(58.42%),(-)-*g*-榄香烯(6.17%),β-人参烯(5.28%),大根香叶烯 B(2.94%);茯苓挥发油中共鉴定出 22 种成



A. 白术; B. 茯苓; C. 药对(1:1); D. 药对(2:1); E. 药对(1:2)
图 1 白术、茯苓及白术-茯苓药对挥发油成分 GC-MS 总离子流色谱
Fig. 1 Total ion chromatogram of GC-MS of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, *Poria* and paired drugs of volatile oil

表 1 白术、茯苓及白术-茯苓药对挥发油化学成分 GC-MS 分析

Table 1 GC-MS analysis result of volatile oil components of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, *Poria* and paired drugs

峰号	t_R /min	化合物	分子式	相对分子质量	相对质量分数/%				
					白术	茯苓	白术-茯苓 1:1	白术-茯苓 2:1	白术-茯苓 1:2
1	4.29	双戊烯	$C_{10}H_{16}$	136	-	0.19	-	-	-
2	4.66	2-正戊基呋喃	$C_9H_{14}O$	138	-	0.88	-	-	-
3	7.65	糠醛	$C_5H_4O_2$	96	-	-	-	0.36	-
4	7.98	α -蒎烯	$C_{15}H_{24}$	204	-	-	-	0.02	-
5	8.27	2-乙酰基呋喃	$C_6H_6O_2$	110	-	-	-	0.03	-
6	8.55	modephene	$C_{15}H_{24}$	204	0.20	-	0.17	0.22	0.20
7	8.62	(-)-香附烯	$C_{15}H_{24}$	204	0.33	-	0.27	-	0.32
8	8.75	cyclopenta[c]pentalene, 1,2,3,3a,5a,6,7,8-octahydro-1,3a,4,5a-tetramethyl-, (1R,3aS,5aS,8aR)-	$C_{15}H_{24}$	204	0.29	-	0.26	0.34	0.30

分,占总量的 87.61%,主要的化学成分为亚油酸(32.54%),棕榈酸(27.84%),柏木脑(7.47%),正十五酸(7.42%);药对(1:1)挥发油中共鉴定出 26 种成分,占总量的 80.41%,药对(2:1)挥发油中共鉴定出 35 种成分,占总量的 80.93%,药对(1:2)挥发油中共鉴定出 25 种成分,占总量的 83.51%;3 个不同配伍比例的药对挥发油中的主要化学成分均是苍术酮,(-)-g-榄香烯, β -人参烯,大根香叶烯 B,其中药对(1:1)中 4 个化合物的分别是 57.86%,6.13%,4.72%,2.37%,药对(2:1)中分别是 54.77%,6.87%,5.75%,2.66%,药对(1:2)中分别是 60.93%,6.713%,5.43%,2.563%。

2.6 不同药对与单味药白术、茯苓挥发性成分变化比较分析 从 3 个药对挥发油成分来看,药对挥发油成分主要来自于单味药白术,与白术的共有成分共计有 16 个,其中药对(1:1)与白术有 19 个共有成分,药对(1:2)与白术有 18 个共有成分,药对(2:1)与白术有 20 个共有成分。单味药白术成分含量与 3 个药对基本一致,如(-)-g-榄香烯的含量,在白术及 3 个药对中分别为 6.17%,6.13%,6.87%,6.71%;4 个组排名前 10 的成分的峰面积如图 2 所示,白术与药对(1:1),药对(1:2)基本一致,而药对(2:1)的峰面积则有所增加。

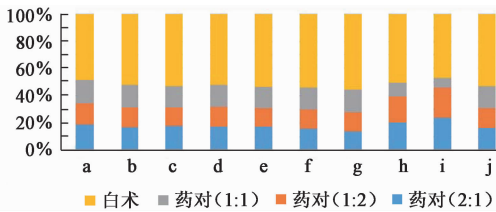
而单味药茯苓成分与 3 个药对有很大的不同,茯苓中仅有 6 个成分能被不同的药对检测到,占茯苓成分的 27%;在药对(1:1),药对(1:2),药对(2:1)中茯苓挥发油成分分别占 2.01%,1.14%和 2.21%,含量非常低。其百分比含量与药对有明显的不同,如亚油酸的百分比含量在单味药和药对

续表 1

峰号	t_R /min	化合物	分子式	相对分子质量	相对质量分数/%				
					白术	茯苓	白术-茯苓 1:1	白术-茯苓 2:1	白术-茯苓 1:2
9	9.30	α -柏木烯	$C_{15}H_{24}$	204	0.07	0.72	0.07	0.08	0.07
10	9.45	5-甲基呋喃醛	$C_6H_6O_2$	110	-	-	-	0.41	-
11	9.69	b-榄香烯	$C_{15}H_{24}$	204	0.18	-	0.16	0.2	0.18
12	9.82	B-柏木烯	$C_{15}H_{24}$	204	-	1.01	-	-	-
13	9.85	1-石竹烯	$C_{15}H_{24}$	204	0.92	-	0.82	0.99	0.9
14	10.26	甘香烯	$C_{15}H_{24}$	204	-	-	0.17	0.21	0.18
15	10.69	(-)-g-榄香烯	$C_{15}H_{24}$	204	6.17	-	6.13	6.87	6.71
16	10.85	5-甲基-2-(1-甲基亚乙基)环己酮	$C_{10}H_{16}O$	152	-	0.42	-	-	-
17	11.10	a-古芸烯	$C_{15}H_{24}$	204	-	-	0.08	-	0.09
18	11.16	(1aR)-1a β ,2,3,3a,4,5,6,7b β -octahydro-1,1,3a β ,7-tetramethyl-1H-cyclopropa[a]naphthalene	$C_{15}H_{24}$	204	0.1	-	-	0.14	-
19	11.33	a-石竹烯	$C_{15}H_{24}$	204	0.45	-	0.43	0.5	0.46
20	11.43	a-人参烯	$C_{15}H_{24}$	204	-	-	-	-	0.05
21	11.49	(1R)-(+) -反式-异柠檬烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.05	-	-	-	-
22	11.80	1-methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)cyclohexa-1,3-diene	$C_{15}H_{24}$	204	0.23	-	0.18	0.25	0.21
23	11.92	萜品油烯	$C_{10}H_{16}$	136	-	-	-	-	0.02
24	12.19	吉玛烯	$C_{15}H_{24}$	204	-	-	-	-	0.02
25	12.45	(-)-a-芹子烯	$C_{15}H_{24}$	204	-	0.23	-	-	-
26	12.50	b-桉叶烯	$C_{15}H_{24}$	204	2.06	-	1.85	2.25	1.85
27	12.66	2,6-二甲基-2,4,6-辛三烯	$C_{10}H_{16}$	136	-	0.38	-	-	-
28	12.79	巴伦西亚橘烯	$C_{15}H_{24}$	204	-	-	-	0.24	-
29	12.86	异喇叭烯	$C_{15}H_{24}$	204	0.18	-	-	-	-
30	13.45	杜松烯	$C_{15}H_{24}$	204	-	0.33	-	-	-
31	13.84	B-倍半水芹烯	$C_{15}H_{24}$	204	0.34	-	0.29	0.4	0.33
32	13.96	芳姜黄烯	$C_{15}H_{22}$	202	-	0.53	-	-	-
33	14.07	β -人参烯	$C_{15}H_{24}$	204	5.28	-	4.72	5.75	5.4
34	15.03	反式-2,4-癸二烯醛	$C_{10}H_{16}O$	152	-	0.23	-	-	-
35	15.46	大根香叶烯 B	$C_{15}H_{24}$	204	2.94	-	2.37	2.66	2.56
36	15.95	异柠檬烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.08	-	0.1	0.08	-
37	17.28	(8R,8aS)-8,8a-dimethyl-2-(propan-2-ylidene)-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalene	$C_{15}H_{22}$	202	1.45	-	1.36	1.47	1.47
38	18.23	a-二去氢菖蒲烯	$C_{15}H_2O$	200	-	-	-	0.01	-
39	23.07	橙花叔醇	$C_{15}H_{26}O$	222	-	-	-	0.13	-
40	24.16	水菖蒲烯	$C_{15}H_{24}$	204	0.02	-	-	-	-
41	24.20	a-布黎烯	$C_{15}H_{24}$	204	-	0.35	-	-	-
42	24.43	柏木脑	$C_{15}H_{26}O$	222	-	7.47	-	-	-
43	24.79	苍术酮	$C_{15}H_{20}O$	216	58.42	-	57.86	54.77	60.93
44	25.18	乙酸柏木酯	$C_{17}H_{28}O_2$	264	0.03	0.35	-	-	-

续表 1

峰号	t_R /min	化合物	分子式	相对分子质量	相对质量分数/%				
					白术	茯苓	白术-茯苓 1:1	白术-茯苓 2:1	白术-茯苓 1:2
45	25.56	百秋李醇	$C_{15}H_{26}O$	222	-	0.23	-	-	-
46	25.27	杜松烯	$C_{15}H_{24}$	204	-	-	-	0.03	-
47	25.76	(-)-g-杜松烯	$C_{15}H_{24}$	204	-	-	0.04	-	0.04
48	25.94	巴伦西亚橘烯	$C_{15}H_{24}$	204	0.09	-	0.08	0.08	-
49	27.14	反,反-西基乙酸	$C_{17}H_{28}O_2$	264	0.12	-	-	0.11	0.1
50	27.40	(1 <i>aR</i>)-1 <i>aβ</i> ,2,3,3 <i>a</i> ,4,5,6,7 <i>β</i> -octahydro-1,1,3 <i>aβ</i> ,7-tetramethyl-1 <i>H</i> -cyclopropa[<i>a</i>]naphthalene	$C_{15}H_{24}$	204	-	-	0.06	0.06	0.05
51	28.32	异丁香酚	$C_{10}H_{12}O_2$	164	-	0.22	-	-	-
52	30.13	(<i>Z,Z</i>)-9,12-十八烷二烯酸乙酯	$C_{20}H_{36}O_2$	308	-	-	-	0.05	-
53	31.76	肉豆蔻酸	$C_{14}H_{28}O_2$	228	-	0.78	0.05	0.06	-
54	32.89	正十五酸	$C_{15}H_{30}O_2$	242	-	7.42	0.19	0.09	-
55	34.24	棕榈酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	0.83	27.84	1.09	0.89	0.58
56	35.89	十七烷酸	$C_{17}H_{34}O_2$	270	-	1.34	-	-	-
57	37.97	硬脂酸	$C_{18}H_{36}O_2$	284	-	1.11	-	-	-
58	38.71	油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	282	-	3.04	0.12	0.08	-
59	40.13	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	0.74	32.54	1.49	1.01	0.49
60	42.24	亚麻酸	$C_{18}H_{30}O_2$	278	-	-	-	0.09	-



a. 苍术酮; b. (-)-g-榄香烯; c. β-人参烯; d. 大根香叶烯 B; e. b-桉叶烯; f. (8*R*,8*aS*)-8,8*a*-dimethyl-2-(propan-2-ylidene)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaphthalene; g. 1-石竹烯; h. 棕榈酸; i. 亚油酸; j. a-石竹烯

图 2 白术与药对峰面积比较

Fig. 2 Comparison of peak area between *Atractylodes Macrocephalae Rhizoma* and herbal pair

中分别为 32.54% ,1.49% ,1.01% ,0.49% 。

2.7 3 个药对挥发性成分比较分析 比较 3 个白术-茯苓药对与单味中药这 5 个挥发油的化学成分数量及百分比含量,从表 1 中可以发现,3 个药对与两味药的共有成分有 3 个,为亚油酸、棕榈酸和 α-柏木烯。药对中新增了一些化学成分,尤以药对(2:1)最为突出,新增了 9 个成分,但百分比含量均比较低。白术中有 4 个化学成分在 3 个药对中均未检测到,分别是(1*R*)-(+) -反式-异柠檬烯(0.05%),异喇叭烯(0.18%),水菖蒲烯(0.02%),乙酸柏木酯(0.03%)。茯苓中有 16 个成分在 3 个

药对中均未被检测到。

3 讨论

本实验对白术-茯苓药对配伍前后挥发油的化学成分及百分比含量进行了考察,结果表明 3 个药对中的成分及百分比含量基本上和白术成分及百分比含量一致,再结合图 2 比较,得出单味药白术与药对(1:1),药对(1:2)中的白术用量相同的前提下,成分的峰面积则基本一致,而白术的用量增加时,其峰面积也会增加;这 4 个组中含量最高的成分是苍术酮,与文献[11-13]报道一致。百分比含量在药对中变化突出的是茯苓挥发油成分,其 73% 成分均未被检测出来,可能与茯苓的含油量过低有关,使其在总挥发油中所占比例相对更低。从 2 个单味药挥发油样品的总离子流图信号强度中看出,茯苓信号响应只有白术的 1/9,这也就导致了 3 个药对中茯苓的大部分微量成分未被检出。

不同配伍比例药对挥发油的成分有不同程度的变化,尤以药对(2:1)最为明显,这可能与白术的用量增加有关。从结果中可以看出,3 个药对均有新的成分被检测到,其原因可能是由于白术、茯苓药对提取过程中存在一定的物理、化学反应,比如增溶助溶作用,氧化、水解、还原反应等。

总而言之,3 个药对挥发油成分及百分比含量基本上与白术挥发油一致,无明显的差异。因茯苓的化学成分主要为多糖、三萜等,挥发油的百分比含量很低,所以不能单一的从挥发性化学成分这一角度去探求其配伍机制,要从多角度、多层次出发去探寻其配伍机制。

[参考文献]

[1] 杨鸿珠,龚雨萍. 中药药对的研究进展与思考[J]. 中国中西医结合杂志,2010,30(2):218-220.
[2] 陈芳. 白术茯苓药对及其配伍的文献及实验研究—补气健脾方剂配伍规律研究[D]. 成都:成都中医药大学,2003:26.
[3] 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,2015:103,240.
[4] 张森,秦昆明,郑礼娟,等. 白术-白芍药对不同配比的中医应用数据分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(18):216-219.
[5] 贾波,张丰华,刘岩,等. 白术 茯苓 白术茯苓汤及其不同配比对脾气虚大鼠 VIP 的实验研究——论配伍及剂量对方剂功效的影响[J]. 中华中医药学刊,2008,26(9):1851-1852.
[6] 邱琴,崔兆杰,刘廷礼,等. 白术挥发油化学成分的

GC-MS 研究[J]. 中草药,2002,33(11):980-981,1001.
[7] 周日宝,吴佳,童巧珍,等. 不同提取方法中白术挥发油成分的比较研究[J]. 中药材,2008,31(2):229-232.
[8] 廖川,杨迺嘉,刘建华,等. 茯苓超微粉与普通粉挥发性成分的研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(12):3024-3026.
[9] 林喆,胡佳丽,窦德强. 云苓的挥发油及脂溶性成分的 GC-MS 分析[J]. 广州化工,2014,42(1):85-88.
[10] 彭腾,贺钢民,李柏群,等. 白术、茯苓药对组方的益气健脾类方剂化学成分的比较研究[J]. 中药与临床,2011,2(2):47-49.
[11] 石晓,黄艳萍. GC-MS 分析白术炮制前后化学成分的变化[J]. 食品与药品,2011,13(1):36-38.
[12] 李滢,陶海燕,杨秀伟. 生白术和炒白术挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 药物分析杂志,2013,33(7):1210-1217.
[13] 吴佳,周日宝,童巧珍,等. 不同采收时期白术挥发油比较研究[J]. 湖南中医药大学学报,2007,27(4):40-42.

[责任编辑 顾雪竹]