

· 资源与质量评价 ·

十八种清热中药特征性挥发性成分分析

张星贤, 孙晓东, 杨轲, 于涛*
(中国药科大学药学院, 南京 211198)

[摘要] **目的:** 采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法(HS-SPME-GC-MS)探究 18 种清热中药特征性挥发性成分。**方法:** 采用 HS-SPME 萃取药材粉末样品, 结合 GC-MS 对挥发性成分进行定性和定量分析。GC 进样口温度为 250 °C, 程序升温, 以高纯氦气为载气, 柱流量 1.0 mL·min⁻¹, 不分流进样, 溶剂延时 3 min。MS 条件为电子轰击离子源, 电子轰击能量 70 eV, 离子源温度 230 °C, 四极杆温度 150 °C, 扫描范围 *m/z* 29~370。将质谱数据进行谱库 NIST2013 检索, 初步鉴定各中药材的挥发性成分, 采用面积归一法计算各组分相对含量, 并通过主成分分析(PCA)方法进行数据分析, 探讨清热类中药材的挥发性成分特征。**结果:** 在 18 种清热药中共检测到了 328 种挥发性化合物, 主要包括烷烃类、不饱和烃类、醇类、醛类、酮类、酯类、呋喃等。不同清热中药的挥发性成分数量和相对含量差异较大。主成分分析表明, 18 种清热中药存在一些特征性挥发成分, 如左旋樟脑、香榧醇、氧化石竹烯、蓝桉醇和优葛缕酮等。**结论:** 清热类中药中含有较为丰富的挥发性成分, 既有形成药材特有香气的主要贡献者, 又有发挥药效作用的主要活性物质。

[关键词] 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法; 挥发性成分; 清热药

[中图分类号] R284.2; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)16-0111-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191616

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190505.0907.005.html>

[网络出版时间] 2019-05-08 9:36

Characteristics Analysis for Volatile Compounds of 18 Heat-Clearing Herbs

ZHANG Xing-xian, SUN Xiao-dong, YANG Ke, YU Tao*
(School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] **Objective:** Headspace-solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) was used to analyze the characteristic volatile compounds from 18 heat-clearing herbs. **Method:** HS-SPME was used to extract the volatile components from different heat-clearing herbs, and the chemical compositions were analyzed by GC-MS. The GC was performed at the injector temperature of 250 °C, the high-purity helium was used as the carrier gas at a constant column flow of 1.0 mL·min⁻¹ with no split sampling. The solvent delay time was 3 min. Mass spectrum conditions included electron bombardment ion source, electron bombardment energy of 70 eV, ion source temperature of 230 °C, quadrupoles temperature of 150 °C, and scanning range of *m/z* 29-370. The volatile components were confirmed according to NIST2013 database, and the relative content percentage of each component was calculated by peak area normalization method. PCA was used to detect clustering and discuss the characteristics of volatile compounds of 18 heat-clearing herbs. **Result:** A total of 328 volatile compounds were detected in 18 heat-clearing herbs, including alkanes, unsaturated hydrocarbon, alcohols, aldehyde, ketones, esters, furan and other unknown compounds. The number and relative content of volatile components in different heat-clearing herbs varied dramatically. Several important characteristic volatile compounds, such as *l*-camphor, torreyol, caryophyllene oxide, globulol and 2, 4-cycloheptadien-1-one, 2, 6,

[收稿日期] 20190201(003)

[基金项目] 江苏省重点研发计划(现代农业)项目(BE2018389)

[第一作者] 张星贤, 从事中药学和药学研究, E-mail: 1136320002@qq.com

[通信作者] * 于涛, 博士, 讲师, 从事药物分析研究, E-mail: yangke_cpu@163.com

6-trimethyl, were detected in the 18 heat-clearing herbs by principal component analysis. **Conclusion:** Heat-clearing herbs contains rich volatile components, which are the main contributors to the formation of unique aroma of herbs, as well as the main active substances.

[Key words] HS-SPME-GC-MS; volatile components; heat-clearing herbs

清热类中药(简称清热药)以清泄里热,治疗里热病证为主,如温热病、高热烦渴、湿热泄痢、温毒发斑、痈疮肿毒及阴虚发热等。由于里热证有实热、虚热,热在气分、血分等的不同,清热药功效、主治各异,故而将清热药分为清热泻火药、清热燥湿药、清热解暑药、清热凉血药和清虚热药五类^[1-2]。清热药一般具有独特的芳香气味,其主要有效成分多为挥发性成分,比如具有“中药抗生素”之称鱼腥草中的鱼腥草素(癸酰乙醛)^[3],疟疾首选中药青蒿中的樟脑、桉叶素、蒿酮、石竹烯等^[4],抗菌抑病毒中药连翘中的 β -蒎烯,菝葜烯, α -水芹烯,桃金娘烯醛,香桃木醇,古巴烯,芍药醇等^[5],疏散风热、明目退翳中药谷精草中的石竹烯、薄荷脑、茴香脑、胡薄荷酮等^[6]。通常一味药中就含有几十种甚至上百种挥发性成分。根据结构决定性质的原则及分子药性假说^[7],清热药的药性应与其挥发性成分的种类和含量关系密切。因此,本研究选择临床常用 18 种清热药,对其挥发性成分的含量和种类进行研究,探讨中药挥发性成分与其功效的相关性,以及不同清热药挥发性成分的异性与共性。

顶空固相微萃取技术是近年发展的新技术,以涂渍在石英玻璃纤维上的固定相作为吸附介质对待测分析物进行萃取和浓缩,结合 GC-MS 对挥发性物质进行解吸分析^[8],成功应用于多种中药材以及复方制剂中挥发性成分的定性和定量分析。目前,关于清热药的挥发性成分解析在金银花、连翘、鱼腥草、野菊花等物种有部分报道,但大多选取一两种,运用传统的提取方法,研究种类偏少,存在一定局限性。本研究通过增大样本量,采用 HS-SPME 提取 18 种清热药的挥发性成分,应用 GC-MS 对其挥发性成分进行分析,发现不同清热药中挥发性成分种类和含量均有较大差异,但是这些药物却能通过不同的物质基础和作用途径发挥相同的作用,根据这些中药各自化学成分的特性和药效作用特征,将不同中药进行科学合理的配伍,实现在通过协同作用来增强药效的同时,又减轻药物的毒副作用,这为清热药的开发利用提供了一定科学依据。

1 材料

18 种清热药均购于南京先声再康药店,经南京

农业大学中药学副教授唐晓清鉴定,均为正品,见表 1。450GC-320MS 型三重四级杆气质联用(德国布鲁克公司);SPME 手柄,聚二甲基硅氧烷(PDMS, 100 μm)萃取纤维头,15 mL 带聚四氟乙烯瓶塞的顶空取样瓶(美国 Supelco 公司);FW-80 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器(上海力辰邦西仪器科技有限公司);CP225D 型分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司)。

表 1 18 种清热药样品信息

Table 1 Information of 18 heat-clearing herbs

类别	No.	中文名称	拉丁名称	产地	批号
清热泻火药	1	知母	Anemarrhenae Rhizoma	河北	20170801
	2	栀子	Gardeniae Fructus	江西	170331
	3	夏枯草	Prunellae Spica	安徽	2017091
	4	决明子	Cassiae Semen	江苏	20170803
清热燥湿药	5	关黄柏	Phellodendri Amurensis Cortex	吉林	180519
	6	苦参	Sophorae Flavescentis Radix	内蒙古	160607
清热解暑药	7	金银花	Lonicerae Japonicae Flos	河南	18030201
	8	木蝴蝶	Oroxylis Semen	江苏	17102301
	9	蒲公英	Taraxaci Herba	湖南	170709371
	10	野菊花	Chrysanthemi Indici Flos	江苏	20160601
清热凉血药	11	生地黄	Rehmanniae Radix	河南	180101
	12	玄参	Scrophulariae Radix	浙江	170701991
	13	牡丹皮	Moutan Cortex	安徽	180307161
	14	赤芍	Paeoniae Radix Rubra	内蒙古	160613
清虚热药	15	青蒿	Artemisiae Annuae Herba	河北	1607001
	16	地骨皮	Lycii Cortex	陕西	20180101
	17	白薇	Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma	山东	17042
	18	银柴胡	Stellariae Radix	甘肃	160426

2 方法

2.1 HS-SPME 操作 分别将各药材进行粉碎,过

60 目筛,称取样品粉末 1 g 于 15 mL 顶空取样瓶,加入磁力转子用聚四氟乙烯隔垫密封,水浴 75 °C 恒温 6 h 后,打开磁力搅拌器插入 SPME(已在气相色谱进样口 250 °C 老化 30 min),推出固相微萃取针头,恒温 75 °C 顶空萃取 20 min 后,取出萃取头,立即插入 GC-MS 进样口,于 250 °C 解吸 2 min。

2.2 GC-MS 测定条件 色谱条件为 BR-5MS 型毛细管柱形中空色谱柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm, 涂层为 5% 联苯/95% 聚二甲基硅烷);流速 1.0 mL·min⁻¹;程序升温(初使温度 40 °C, 6 °C·min⁻¹ 升温到 160 °C, 2 °C·min⁻¹ 升温到 220 °C, 保持 3 min, 再以 20 °C·min⁻¹ 升温到 250 °C, 保持 2 min);载气高纯氦气;溶剂延时 3 min;不分流进样。

质谱条件为电子轰击(EI)离子源;电子能量为 70 eV;离子源温度 230 °C;传输线温度为 280 °C;进样口温度 250 °C;GC-MS 接口温度 250 °C;四极杆温度 150 °C;电子倍增器(EM)电压 1 200 V;扫描范围 *m/z* 29 ~ 370。

2.3 数据分析 经 NIST2013 谱库检索,结合人工

谱图解析,确定各中药材的挥发性成分,采用面积归一法计算各组分相对含量。主成分分析(PCA)通过 R 语言软件包中 graphics 计算,并通过 R 语言 plot 绘制二维展示图。

3 结果与分析

3.1 挥发性化学成分分析 采用 HS-SPME-GC-MS 从 18 种清热药共检测到了 328 种挥发性,表 2 中详细罗列了相对质量分数 >5% 的成分。由图 1 ~ 5 分析可知,不同清热药材中挥发性成分种类和含量差异较大。从种类上讲,芳香味特征明显的中药材所含挥发性成分较为复杂,如野菊花和青蒿药材中能检测到挥发油种类就有 100 多个,而芳香味较为清淡的中药材所含挥发性成分种类也较少,如决明子、木蝴蝶和梔子等。从含量上来说,清热解毒药野菊花,清热凉血药牡丹皮和赤芍,以及清虚热药青蒿中的挥发性成分相对含量较高,表明这些药物中的挥发性成分对药物清热作用的贡献性可能较大。而清热燥湿药关黄柏和苦参的挥发性成分相对含量较低,表明这些药物中的挥发性物质对药物清热作用的贡献较小。

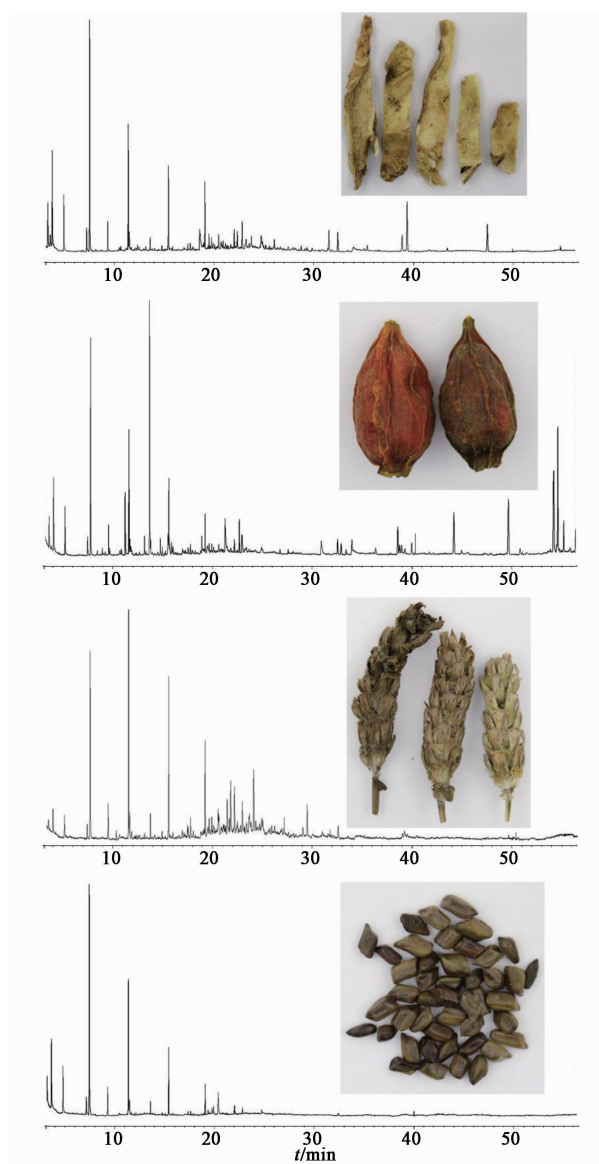
表 2 十八种清热中药中相对质量分数 >5% 的挥发性成分

Table 2 Volatile compounds and their relative contents (>5%) detected in 18 heat-clearing herbs %

No.	成分	知母	梔子	夏枯草	决明子	关黄柏	苦参	金银花	木蝴蝶	蒲公英	野菊花	生地	玄参	牡丹皮	赤芍	青蒿	地骨皮	白薇	银柴胡
1	2,6,10-三甲基十四烷	3.36	-	-	-	7.73	7.54	0.92	-	0.35	-	-	-	0.07	0.97	0.02	1.42	1.49	-
2	十五烷	4.56	6.43	2.15	34.58	9.84	-	3.41	33.40	4.89	0.07	-	6.45	-	4.24	0.03	3.07	3.55	3.36
3	3-甲基十五烷	-	-	-	-	-	-	-	14.14	-	-	-	-	-	-	-	-	0.57	-
4	十六烷	-	-	-	-	-	12.85	2.13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	十七烷	14.84	6.05	7.67	-	19.49	11.88	3.48	30.21	5.49	0.28	7.41	0.99	0.40	1.52	-	11.83	4.40	8.62
6	3-乙基-5-(2-乙基丁基)十八烷	1.62	-	4.15	-	5.77	6.83	0.84	-	1.40	-	4.85	-	-	-	-	0.66	-	0.83
7	十九烷	7.48	4.94	9.86	-	3.21	-	1.34	-	3.98	-	0.28	2.97	0.35	-	0.06	-	2.09	0.59
8	3-乙基-3-甲基十九烷	-	-	-	-	-	-	-	9.61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	二十烷	14.23	-	-	-	-	-	-	-	7.83	0.67	-	-	-	-	-	7.03	-	-
10	二十四烷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.98	-	-
11	1-二十六烯	3.79	-	3.30	-	1.67	11.69	1.74	-	0.99	-	0.31	-	-	-	0.09	0.48	0.72	0.74
12	(E)-β-金合欢烯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10.51	-	-	-	-	-	-	-	-
13	榄烯	-	-	-	-	7.43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.19	-	0.91	-
14	柏木脑	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.20	3.58	0.85
15	百秋李醇	-	-	13.82	-	-	8.80	-	-	3.22	-	-	-	-	-	-	0.87	-	-
16	蓝桉醇	-	-	-	-	-	9.15	-	-	-	2.77	-	-	-	-	-	-	-	-
17	桃金娘烷醇	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.32	-	-	-	-

续表 2

No.	成分	知母	梔子	夏枯草	决明子	关黄柏	苦参	金银花	木蝴蝶	蒲公英	野菊花	生地黄	玄参	牡丹皮	赤芍	青蒿	地骨皮	白薇	银柴胡
18	香榧醇	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.72	-	-	-
19	2-羟基-1,8-桉叶素	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.21	-	-	-	18.51	0.06	-	-	-
20	4-氧代-β-异恶唑醇	-	-	-	-	-	-	14.09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	己醛	3.84	-	-	-	-	-	0.94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.75	-
22	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	1.31	-	9.27	-	0.45	-	1.76	-	14.43	0.51	-	-	-	-	3.63	0.85	0.59	-
23	2,4-二甲氧基苯乙酮	-	7.29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	左旋樟脑	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.29	-	-	-	-	2.87	-	0.87	-
25	丹皮酚	6.47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	94.09	32.38	-	20.35	7.64	57.28
26	优葛缕酮	-	48.07	-	-	-	-	-	-	-	0.08	-	-	-	-	-	-	-	-
27	2,3-二氢-2,2,6-三甲基苯甲醛	-	5.46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	棕榈酸甲酯	7.07	5.19	-	-	-	-	35.82	-	4.94	0.14	-	4.17	-	1.69	0.16	2.47	-	2.52
29	9,12-十八烯酸甲酯	-	-	-	-	-	-	6.16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	二氢猕猴桃内酯	-	-	5.74	53.18	-	-	-	-	12.49	-	-	-	-	-	0.48	-	-	-
31	9-十八烷-12-烯酸甲酯	0.91	-	6.54	-	9.66	1.03	0.57	-	-	-	-	-	0.10	-	-	0.47	-	-
32	4a,10-双(乙酰氧基)-9a,11a-二甲基-11-氧代-1-(5-氧代-2,5-二氢-3-呋喃基)十六氢环戊烷[7,8]菲并[8a,9-b]氧代-7-乙酸酯	2.82	-	1.33	-	5.37	3.03	0.20	-	-	0.05	0.53	-	-	-	-	0.31	-	-
33	二环[3,1,1]庚-2-烯醇,2,6,6-三甲基,乙酸酯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.72	-	-	-	-	-	-	-	-
34	棕榈酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50.06	-	-	-	-	-	-
35	3-呋喃甲醇	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17.19
36	2,2,6-三甲基-6-乙烯基四氢-2H-呋喃-3-醇	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.39	-
37	5,5-二甲基-4-(3-甲基-1,3-丁二烯基)-1-氧二桥[2.5]辛烷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.58	-	-	-
38	1-(2-十八烷基-9-甲氧基乙氧基)-9-十八烯	-	-	-	-	3.36	-	-	-	6.03	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	苯甲酸银	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18.74	-	-	-	-
40	环氧化蛇麻烯 II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.65	81.31	-	-	-	0.67	-	-	-
41	1H-吡啶,4,5-二氢-5,5-二甲基-4-异亚丙基-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	4-羟基-2,6-二甲基苯甲腈	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16.67	-	-	-	-	-	-
43	5β-胆甾烷-3-酮,乙二醇缩醛	2.28 ± 1.86	-	2.25	12.24	1.57	2.69	0.16	3.85	-	-	2.02	-	-	-	-	-	-	0.27
44	1H-3a,7-亚甲基奥,八氢-3,6,8,8-四甲基-6-丙氧基-,(3R,3aS,6S,7R,8aS)-	-	-	-	-	-	8.81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	(3R)-2,2,5aβ,9β-四甲基-3β,9aβ-甲氧基-1-氧杂环庚三烯	-	-	-	-	5.84	-	-	-	-	0.48	-	-	-	-	-	-	-	-
46	氧化石竹烯	-	-	12.62	-	-	-	-	-	-	7.29	-	-	-	-	23.55	2.40	2.95	-
47	莜术烯	-	-	-	-	6.76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.85	-	-
48	1-氯二十一碳烷	0.74	-	-	-	-	6.27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.58	-	-
49	1-氯十九烷	-	-	-	-	-	5.17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.11	-	-
50	萘,1,2,3,5,6,7,8,8a-八氢-1-甲基-6-亚甲基-4-(1-甲基乙基)-	-	-	-	-	3.67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.68	1.13	0.48	-

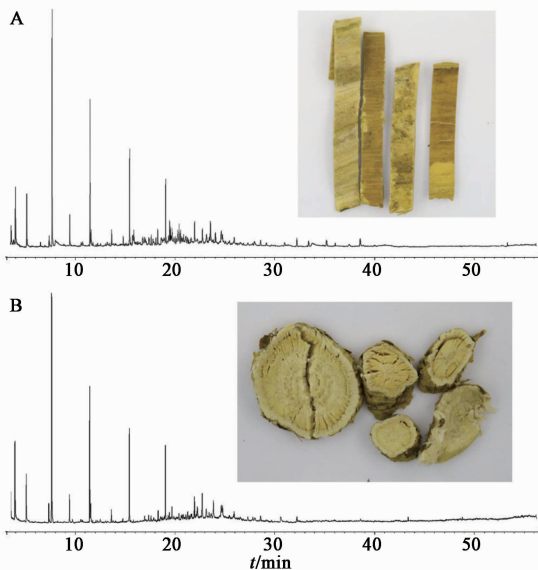


A. 知母; B. 栀子; C. 夏枯草; D. 决明子

图 1 4 种清热泻火药 GC-MS 总离子流色谱

Fig. 1 Total ion chromatograms of volatile components in 4 heat-clearing and fire-purging herbs by GC-MS

如图 6 所示,所检测到的挥发性成分根据分子骨架结构主要可分为烷烃类、不饱和烃类、醇类、醛类、酮类、酯类和呋喃等。木蝴蝶、知母、关黄柏、苦参、地骨皮中烷烃相对质量分数较高,达到 39.10%~87.36%;而牡丹皮、银柴胡和栀子中酮类相对质量分数较高,分别为 95.84%, 57.28% 和 63.45%;金银花和决明子酯类质量分数较高,占挥发性总成分 56.40% 和 53.18%;而酸类挥发性成分的相对质量分数在玄参中较高,达到 50.06%。此外,部分挥发性成分在多种清热药中均检测到,部分清热药具有特异的挥发性成分,例如,十五烷烃和十七烷烃分别在约 16 种清热药中检测到,特别是在木



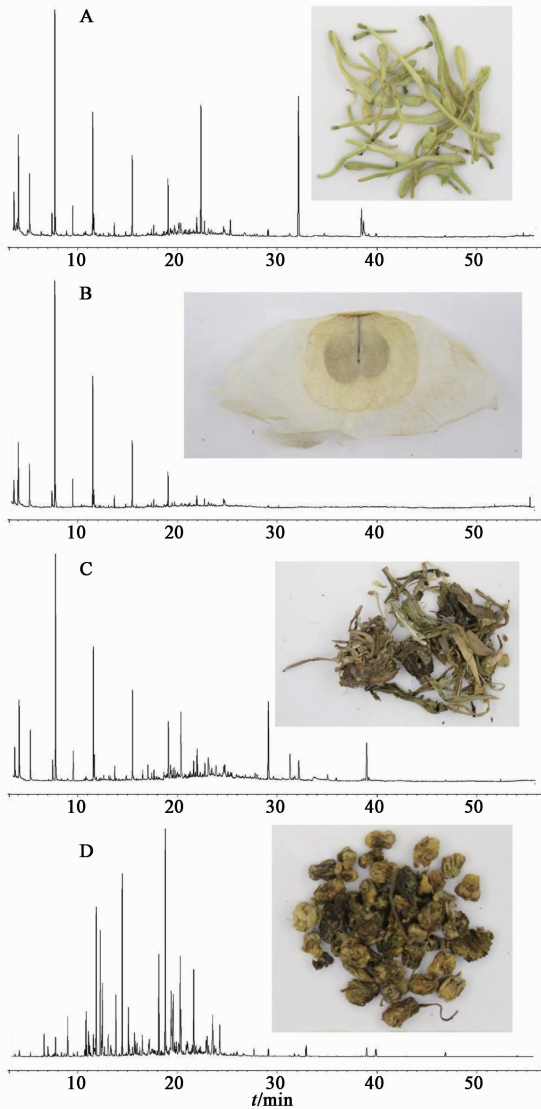
A. 关黄柏; B. 苦参

图 2 2 种清热燥湿药 GC-MS 总离子流色谱

Fig. 2 Total ion chromatograms of volatile components in 2 heat-clearing and damp-drying herbs by GC-MS

蝴蝶中的相对质量分数均高于 30%,棕榈酸甲酯也在大多数清热药中检测到,而三十一烷,反式角鲨烯, α -衣兰烯, β -波旁烯和桉烯仅分别在知母、地骨皮、白薇、夏枯草和野菊花中检测到。

3.2 主要香气化学成分分析 许多中药材的香气化学成分主要集中在挥发油中,各成分均有其独特的特征香气,不同香气成分的配伍则形成了中药材特有的香气特征。二氢猕猴桃内酯是从猕猴桃属木天蓼、茶叶和烟草等植物中分离得到的一种天然产物,带有香豆素样香气,并有麝香样气息,常用于调配烟用香精^[9],尽管其药效活性报道较少,但在决明子挥发油中高达 53.18%,可能正是决明子特殊气味的主要来源之一,同时在蒲公英中相对质量分数也大于 10%。环氧化蛇麻烯 II 有啤酒花、臭鼬的气味,作为生地黄中的特异性成分,相对质量分数占 81.31%,可能是生地黄香气的主要贡献者。氧化石竹烯具有甜蜜的木屑、胡萝卜的芳香,在青蒿和夏枯草中相对质量分数分别高达 23.55% 和 12.62%,同时在野菊花、地骨皮和白薇中也均有检测到。另外,本研究还检测到许多的微量成分,如具有浓郁的甜木香气息的芳樟醇,具有令人愉快的柠檬样香气的柠檬烯,具有浓郁的脂肪气味的壬醛,具有温暖的胡椒气味的松油醇等^[10]。尽管这些香气成分的质量分数较低,但并不代表这些成分对药材特征香味的贡献一定就小。比如野菊花中最大的香气成分相对



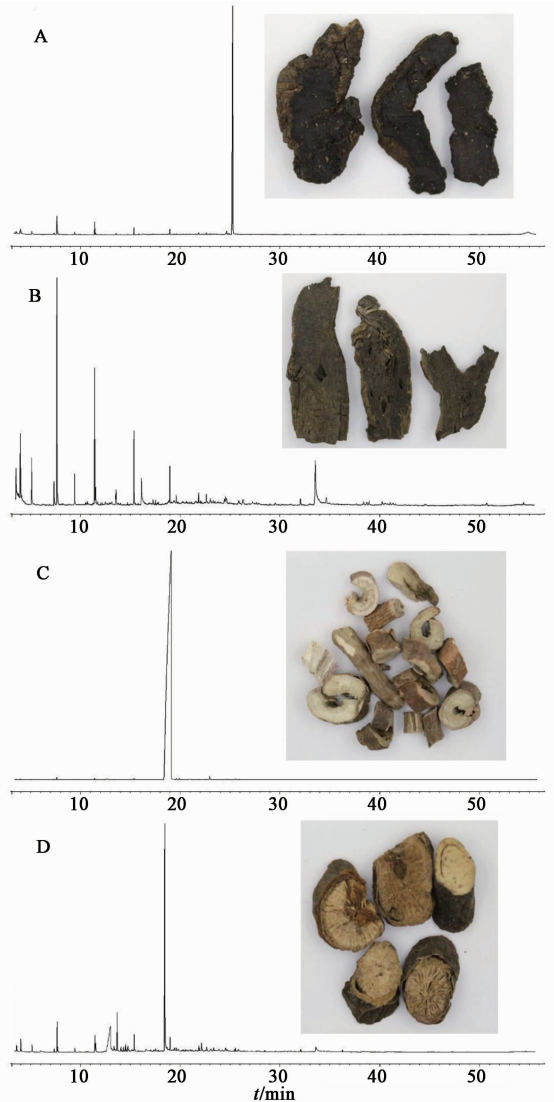
A. 金银花; B. 木蝴蝶; C. 蒲公英; D. 野菊花

图 3 4 种清热解暑药 GC-MS 总离子流色谱

Fig. 3 Total ion chromatograms of volatile components in 4 heat-clearing and detoxicating herbs by GC-MS

质量分数也仅 10.51%, 约 80 种香气成分相对质量分数 < 1%, 但药材独特的芳香气味却是由所有香气成分综合形成。

3.3 主要活性化学成分分析 如表 2 所示, 许多清热药中均含有大量的挥发性活性物质。作为牡丹皮的主要活性成分之一, 丹皮酚在其挥发性成分总量中的占比高达 94.09%, 同时在银柴胡、赤芍、地骨皮、白薇和知母等清热药中也检测到大量的丹皮酚, 质量分数分别占其挥发性成分总量的 57.28%, 32.38%, 20.35%, 7.64% 和 6.47%。国内外研究报道丹皮酚拥有广泛的良好药理活性, 具有保护心脑血管系统、促进微循环、抗菌消炎、抗肿瘤、抗氧化、抗变态反应、增强免疫力以及治疗糖尿病、骨质

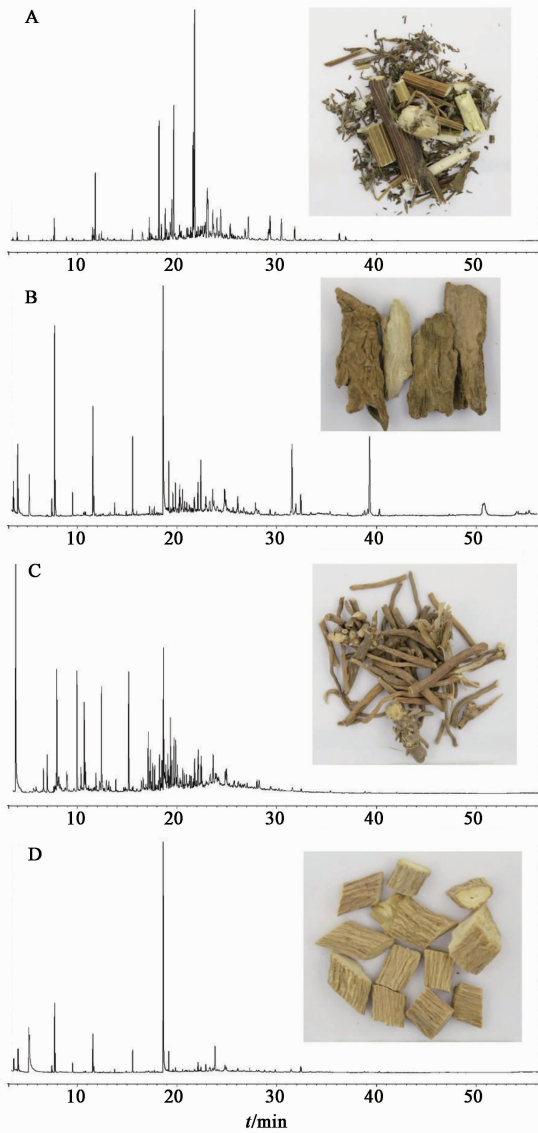


A. 生地黄; B. 玄参; C. 牡丹皮; D. 赤芍

图 4 4 种清热凉血药 GC-MS 总离子流色谱

Fig. 4 Total ion chromatograms of volatile components in 4 heat-clearing and blood-cooling herbs by GC-MS

疏松症等作用^[11]。作为我国卫生部发布的第一批药食两用中药材, 栀子中被检测到含有大量的优葛缕酮, 其质量分数占栀子挥发性成分总量的 48.07%, 药效学研究发现优葛缕酮具有很强的抑菌活性^[12]。石竹烯是大麻素受体 2 型的选择性激动剂, 具有抗炎、镇痛、神经保护、抗肿瘤、防治肝损伤等作用^[13], 在野菊花和青蒿中均有检测和文献报道^[14-15]。而青蒿、夏枯草、野菊花、地骨皮和白薇中的氧化石竹烯也具有类似的生物活性。许多不饱和脂肪酸(酯)与脂类代谢、胆固醇代谢密切相关, 具有降低血脂和胆固醇、减少动脉粥样硬化等作用, 并且有利于大脑发育和抑制癌细胞生长。棕榈酸甲酯在许多清热药中均有检测到, 特别是在金银花中占



A. 青蒿; B. 地骨皮; C. 白薇; D. 银柴胡
图 5 4 种清虚热药 GC-MS 总离子流色谱

Fig. 5 Total ion chromatograms of volatile components in 4 deficient heat clearing herbs by GC-MS

挥发性成分总量的 35.82%^[16]。玄参中特异性存在的棕榈酸相对质量分数高达 50.06%，药理学研究表明棕榈酸具有降血脂、抗动脉粥样硬化、抗血小板聚集及血栓形成等作用^[17]。此外，还有一些生物活性较好但相对质量分数较低的挥发性物质，如作为冰片主要有效成分的左旋樟脑，具有促进神经胶质细胞生长、镇痛抗炎、抗菌、抗病毒和促进其他药物吸收等作用^[18]，在野菊花中相对质量分数 6.29%，在青蒿、白薇中也有检测到；具有抗菌作用的蓝桉醇^[19]，在苦参、野菊花中相对质量分数分别为 9.52%、2.77%。

3.4 主成分分析 通过对 18 种清热药的挥发性成

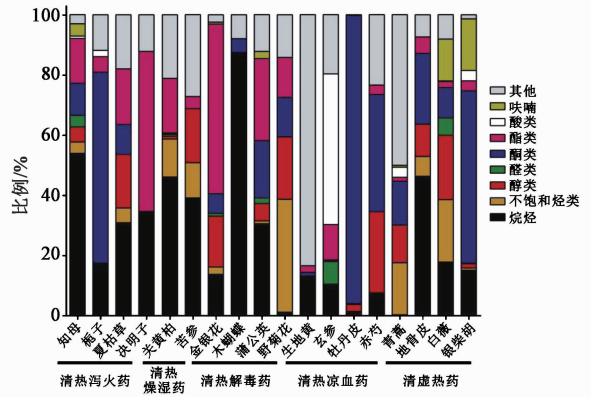


图 6 18 种清热药的挥发性成分物质种类及相对质量分数
Fig. 6 Classes and contents of volatile compounds detected in 18 heat-clearing herbs

分相对质量分数进行 PCA 分析，第 1 主成分、第 2 主成分方差贡献率分别为 42.96% 和 41.73%，累积方差贡献率达到 84.69%，能够代表所有的差异，见表 3，图 7。18 种清热中药根据其挥发性成分相对质量分数可以分为 4 类，其中清热燥湿药和清热解暑药均聚集在一起，而知母单独聚集在一起，进一步表明不同的中药材挥发性差异较大。此外，通过选取相对质量分数 >5% 的 50 种成分进行了主成分分析，第 1 主成分方差贡献率为 42.96%，其中 1H-3a，7-亚甲基奥，八氢-3,6,8,8-四甲基-6-丙氧基-，(3R,3aS,6S,7R,8aS)-，1-氯二十一碳烷，十六烷，1-二十六烯和 2,6,10-三甲基十四烷贡献最大，对应的特征向量分别为 0.323, 0.323, 0.317, 0.312 和 0.306；第 2 主成分方差贡献率为 41.73%，蓝桉醇，十六烷，1H-3a,7-亚甲基奥，八氢-3,6,8,8-四甲基-6-丙氧基-，(3R,3aS,6S,7R,8aS)-和 1-氯二十一碳烷贡献最大，对应的特征向量分别为 0.220, 0.218, 0.214 和 0.206；第 3 主成分方差贡献率为 15.31%，优葛缕酮和 2,4-二甲氧基苯乙酮的贡献率最大，对应的特征向量为 0.214 和 0.205；3 个主成分方差累积贡献率达到 100.00%，完整反映总体情况，见表 3, 4。

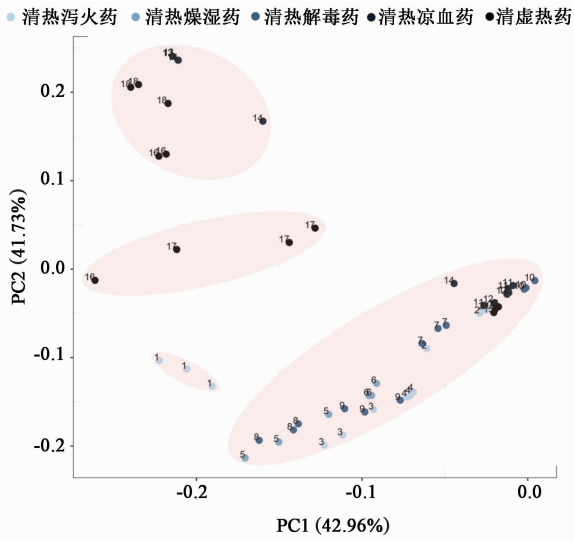
表 3 主成分分析的特征值

Table 3 Eigenvalues of principal component analysis

主成分	标准差	方差贡献率/%	累积贡献率/%
1	0.134	42.96	42.96
2	0.132	41.73	84.69
3	0.080	15.31	100.00

4 讨论

本实验采用 HS-SPME 提取了 18 种清热型中药



图中样品编号与表 1 相对应,相同的编号代表同种中药的重复

图 7 18 种清热药的挥发性成分相对含量的 PCA

Fig. 7 PCA of volatile compounds in 18 heat-clearing herbs

的挥发性物质,经 GC-MS 初步鉴定出 328 种挥发性香气成分,这些成分不仅包括药材特征芳香的主要贡献者,如氧化石竹烯、二氢猕猴桃内酯、芳樟醇、柠檬烯等;还有许多药材生物活性的主要作用物质,如丹皮酚、棕榈酸等。尽管不同清热药中的活性物质在种类和含量均有较大差异,但是这些药物却能通过不同的作用途径发挥相同的作用。现代研究中也有许多的中药复方制剂正是根据这些中药各自化学成分的特性和药效作用特征,将不同中药材进行合理配伍,以实现减毒增效的作用。比如银花梔黄散中就以金银花清热解毒为君药,梔子清泻三焦火毒,为臣药,野菊花、蒲公英清热解毒、凉血消肿,黄芩清肺热燥湿,黄连清胃热燥湿为佐药,甘草清热解毒兼调和诸药,为使药,诸药合用共奏清热利湿、泻火解毒来实现对内热性痤疮的治疗作用^[20]。除此之外,许多药材中还检测到生物活性报道较少、且无明显香气特征的成分,如在大部分药材中均有检测到的正十五烷烃、十七烷烃、十九烷烃、二十烷烃等。

另外,本研究中采用的 HS-SPME-GC-MS 具有无需有机溶剂,灵敏度高,样品用量少,操作简便等优点,是一种绿色的样品制备前处理方法,尤其对挥发性物质解析效果较好。目前 HS-SPME 结合 GC-MS 联用技术在中药的挥发性物质检测中广泛使用,包括在葛根、五加皮、香加皮、地骨皮、疏毛吴茱萸和发酵虫草等中药均有报道。本实验通过 HS-SPME-GC-MS 分析清热药中的挥发性物质成分,

表 4 主成分分析的特征向量

Table 4 Eigenvectors of principal component analysis

成分	主成分			成分	主成分		
	PC1	PC2	PC3		PC1	PC2	PC3
1	0.306	-0.151	0.005	26	-0.070	0.080	0.214
2	-0.048	-0.075	0.187	27	-0.065	0.080	0.200
3	-0.030	-0.023	0.116	28	-0.038	0.047	0.095
4	0.317	0.218	-0.024	29	-0.016	0.033	0.039
5	0.134	-0.162	0.173	30	-0.041	0.003	0.067
6	0.264	-0.089	0.003	31	0.149	-0.307	-0.001
7	0.022	-0.134	0.094	32	0.269	-0.234	0.024
8	-0.025	-0.025	0.116	33	-0.048	0.074	-0.211
9	0.016	-0.056	0.051	34	-0.049	0.034	0.026
10	-0.007	0.005	-0.005	35	-0.031	0.027	0.019
11	0.312	0.122	-0.008	36	-0.034	-0.006	-0.012
12	-0.048	0.077	-0.216	37	-0.059	-0.030	-0.319
13	0.118	-0.372	-0.003	38	0.036	-0.151	0.028
14	-0.029	-0.007	-0.004	39	-0.044	0.042	0.012
15	0.184	0.061	-0.033	40	-0.015	0.012	0.009
16	0.288	0.220	-0.090	41	-0.069	0.079	0.210
17	-0.040	0.039	0.017	42	-0.049	0.034	0.026
18	-0.065	-0.032	-0.344	43	0.042	-0.010	0.102
19	-0.044	0.043	0.015	44	0.323	0.214	-0.032
20	-0.018	0.029	0.037	45	0.127	-0.380	-0.007
21	-0.015	-0.023	0.026	46	-0.062	-0.033	-0.382
22	-0.015	-0.033	-0.063	47	0.111	-0.336	0.021
23	-0.067	0.083	0.205	48	0.323	0.206	-0.025
24	-0.077	0.057	-0.351	49	0.296	0.199	-0.030
25	-0.070	0.054	0.020	50	-0.003	-0.204	-0.310

注:选取了相对质量分数 >5% 的 50 种成分进行了 PCA,表中的数字编号与表 2 一致。

能够将其微量成分富集分析,更全面、科学地对清热药的质量进行表征及评估。

[参考文献]

[1] 杨德全. 中药学[M]. 北京:人民卫生出版社,2014.
 [2] 邹国发,熊成成,陈艳芬,等. 基于中药药性理论的清热药现代研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(6):229-234.
 [3] 麦明朗,余林中,刘俊珊. “中药抗生素”鱼腥草抗炎作用研究及临床应用进展[J]. 中药药理与临床,2018,34(5):172-176.
 [4] 黄文瑜. 湖南产青蒿挥发油化学成分的 SPME/GC/MS 研究[J]. 湖北中医杂志,2016,38(2):75-76.

- [5] 朱祥英,王丽丽,潘再法,等. HS-SPME-GC/MS 法分析金银花-连翘药对挥发性成分[J]. 浙江工业大学学报,2011,39(5): 501-507,519.
- [6] 夏佳璇,卢金清,肖宇硕,等. 顶空固相微萃取结合气-质联用分析谷精草及其伪品的挥发性成分[J]. 中国医院药学杂志,2018,38(9):939-941,945.
- [7] 付先军,王鹏,王振国. 从中药“性-构关系”探索构建寒热药性成分要素表征体系的研究构想[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2011,13(5): 919-924.
- [8] 叶欣,卢金清,曹利. 顶空-固相微萃取技术在中药领域的运用[J]. 中国药房,2017,28(6):861-864.
- [9] 唐雪阳,秦优,陈林,等. 零陵香挥发性成分的 SPME-GC/MS 分析[J]. 北京中医药大学学报,2017,40(9):764-771.
- [10] 金晶,赵新海. GC-MS 法结合 AMDIS 及保留时间分析槐花提取物成分[J]. 安徽农业科学,2017,45(21):85-88.
- [11] 吴桂莹,亓玉玲,郝宝燕,等. 丹皮酚衍生物及其药理活性研究进展[J]. 中草药,2019,50(4):1001-1006.
- [12] 曲绮雯,魏琴,李数数,等. 三种提取藏红花废弃物挥发油方法比较[J]. 四川大学学报:自然科学版,2017,54(6):1306-1310.
- [13] 张季林,魏惠珍,张洁. β -石竹烯生物学功能的研究进展[J]. 山东医药,2018,58(38):110-112.
- [14] 钟灵允,曾佳恒,刘巧,等. 野菊花挥发油组成分析及其抗菌活性研究[J]. 成都大学学报:自然科学版,2018,37(4):373-376.
- [15] 张丽勇,林秀梅,战月,等. 不同方法提取青蒿挥发油成分分析及抗菌活性比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(22):60-63.
- [16] 王静,李峰,陈永新,等. 金银花脂溶性成分的气相-质谱联用分析[J]. 山东中医药大学学报,2011,35(5):450-452.
- [17] 王筱菁,李万根,苏杭,等. 棕榈酸及亚油酸对人成骨肉瘤细胞 MG63 作用的研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2007,13(8):542-546.
- [18] 李昀骏. 左旋樟脑靶向 miR-140 调节脑缺血自噬分子机制[D]. 广州:广州中医药大学,2016.
- [19] 陶奕,殷梦,张皓冰. 桉叶提取物抗菌作用及主要挥发性成分的年度变化[J]. 中成药,2015,37(5):1050-1055.
- [20] 余云辉,关爱阁,赵洪波,等. HPLC 法测定银花梔黄散中齐墩果酸的含量[J]. 中国民间疗法,2018,26(12):104-105.

[责任编辑 顾雪竹]