

气相色谱-质谱和化学计量学解析法分析药对麻黄-桂枝挥发油成分

李晓如, 梁逸曾*, 李晓宁

(中南大学 化学化工学院, 湖南 长沙 410083)

摘要: 利用气相色谱-质谱对药对麻黄-桂枝及单味药麻黄和桂枝的挥发油成分进行检测, 通过化学计量学解析法对产生的二维色谱-质谱数据进行解析, 得到各组分的纯色谱和质谱, 根据其保留时间和质谱, 在质谱库中进行相似检索, 实现对组分的定性, 再用总体积分法进行定量。麻黄-桂枝、麻黄和桂枝挥发油分别定性了 97、72 和 68 个色谱峰, 占总含量的 89.76%, 90.08% 和 91.62%。药对挥发油成分的数目大致为麻黄和桂枝挥发油成分的加和, 但相对含量有变化。

关键词: 药对麻黄-桂枝; 挥发油; 气相色谱-质谱; 化学计量学解析法

中图分类号: O657; R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2007)02-0187-05

Analysis of essential oil in *Herba Ephedrae-Ramulus Cinnamomi* by GC-MS and chemometric resolution method

LIXiao-ru, LIANG Yizeng*, LIXiao-ning

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China)

Abstract Gas chromatography/mass spectrometry, chemometric resolution method (CRM) and overall volume integration method were used to analyze the essential components of herbal pair *Herba Ephedrae-Ramulus Cinnamomi* (HP HE-RC) and compare it with that of single herbs HE and RC. 72, 68 and 97 essential components in essential oil of HE, RC, and HP HE-RC were determined, accounting for 90.08%, 91.62%, and 89.76% of total contents of essential oil of HE, RC, and HP HE-RC, respectively. The numbers of essential components of HP HE-RC are almost the summation of that of two single herbs, but some relative contents of them are changed. Some new components, such as 1,6-dimethylhepta-1,3,5-triene, tetracyclo[4.2.1.1(2,5).0(9,10)]deca-3,7-diene, globulol (*E,E*)-6,10,14-trimethyl-5,9,13-pentadecatrien-2-one, etc. have been found in HP HE-RC because of chemical reactions and physical changes during the course of decoction.

Key words herbal pair *Herba Ephedrae-Ramulus Cinnamomi*; essential oil; GC-MS; chemometric resolution method

配伍理论是中药复方的核心问题。药对是中医临床上常用的、相对固定的两个单味药的配伍形式, 是复方的最小组成单位。药对着重阐述两药之间的配伍关系, 是复方的一种特殊形式^[1]。只有了解药对中两药配伍后发生的化学变化和物理作用, 才能阐明复方中药物的配伍机制, 剖析和理解复方, 为创

制现代中药奠定基础。

麻黄-桂枝源于张仲景“伤寒论”之麻黄汤, 为辛温解表常用中药药对^[1]。麻黄发汗解表, 宣肺平喘, 利水消肿; 桂枝散寒解表, 温经通脉, 通阳化气^[2]。二药伍用, 是发汗解表之峻剂。挥发油是解表药对的有效成分^[3], 而药对麻黄-桂枝的挥发油成分尚未见报道。本文采用气相色谱-质谱和化学计量学解析法 (chemometric resolution method, CRM) 分析药对麻黄-桂枝的挥发油成分, 并比较了单味药与药对的挥发油成分, 讨论了单味药配伍后挥发油成分的变化。

收稿日期: 2006-05-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (2017503, 20235020); 教育部科技创新工程重大项目培育资金资助项目 (704036)。

* 通讯作者: Tel: 86-731-8822841, Fax: 86-731-8825637, E-mail: yizeng_liang@263.net

材料与amp;方法

仪器 日本岛津 QP2010型气相色谱仪/质谱仪。麻黄、桂枝均购自河南南阳药材公司，经湖南中医药大学研究院中药研究所袁晓清鉴定，分别为草麻黄 (*Ephedra sinica* Stapf) 的干燥茎、肉桂 (*Cinnamomum cassia* Fresl) 的干燥嫩枝。

色谱条件 色谱柱 OV-1 (30 m × 0.25 mm)。程序升温：起始温度 40 °C，以 2 °C · min⁻¹ 升至 120 °C，再以 10 °C · min⁻¹ 升至 230 °C，维持 20 min。载气：He 流速 1.0 mL · min⁻¹；进口温度 250 °C，界面温度 280 °C。质谱条件：EI源电子能量 70 eV，离子源温度：230 °C。倍增电压：1.28 kV，扫描范围 20~ 600 amu 扫描速率：3.8 scans · s⁻¹，溶剂延迟 2 min。

药对挥发油的提取 称取干燥的麻黄 (*Herba Ephedrae*, HE) 和桂枝 (*Ramulus Cinnamomi*, RC) 各 100 g 混合，按中华人民共和国药典 (2000年版) 挥发油提取法提取^[4]。

单味药挥发油的提取 分别称取干燥的麻黄和桂枝各 100 g 按照上法提取。

数据分析 数据分析在 Pentium III 850 (Intel) 计算机上进行，程序用 Matlab 6.1 编写，所分辨的质谱在 NIST107 标准质谱库中检索。

结果与amp;讨论

1 CRM 解析

CRM 是对二维色谱/光谱矩阵数据进行解析的一种有效方法，它利用二维矩阵数据包含的色谱/光谱信息，采用局部因子分析以分辨出各组分的纯色谱和光谱，其原理与解析方法见文献 [5~ 7]，它已成功地应用于单味药苍术、厚朴和复方四物汤等挥发性成分的分析^[8~ 11]。

2 挥发油化学成分的定性分析

图 1 中 (A)、(B) 和 (C) 分别是麻黄、桂枝和麻黄-桂枝的挥发油的总离子流色谱图 (TIC)，其中许多色谱峰产生重叠。图 1(B) 中 a 峰的保留时间段为 52.88~ 53.04 min 放大后 a 峰似乎是一个纯色谱峰。直接从色谱库中进行检索，A 峰左半部分不同位置质谱变化很大，且检索结果与被测物质谱相似度都较低，其中 1 个为 1, 2, 4-benzenetricarboxylic acid 1, 2-dimethyl ester (C₁₁H₁₀O₆)，相似度为 69%，中间部分为 1-nitro-2-propanone (C₃H₅NO₃)，相似度为 72%；而右半部分不同位置检索结果也不同，有的相似度较高，有的较低，如检索结果为 1-(3-n-

propoxyphenyl)-2-propanone oxime (C₁₂H₁₇NO₂) 的化合物，相似度仅为 45%。可见，直接从色谱库中进行检索的定性结果其可靠程度和准确度都较低，同时由于色谱峰重叠，难以进行定量分析。

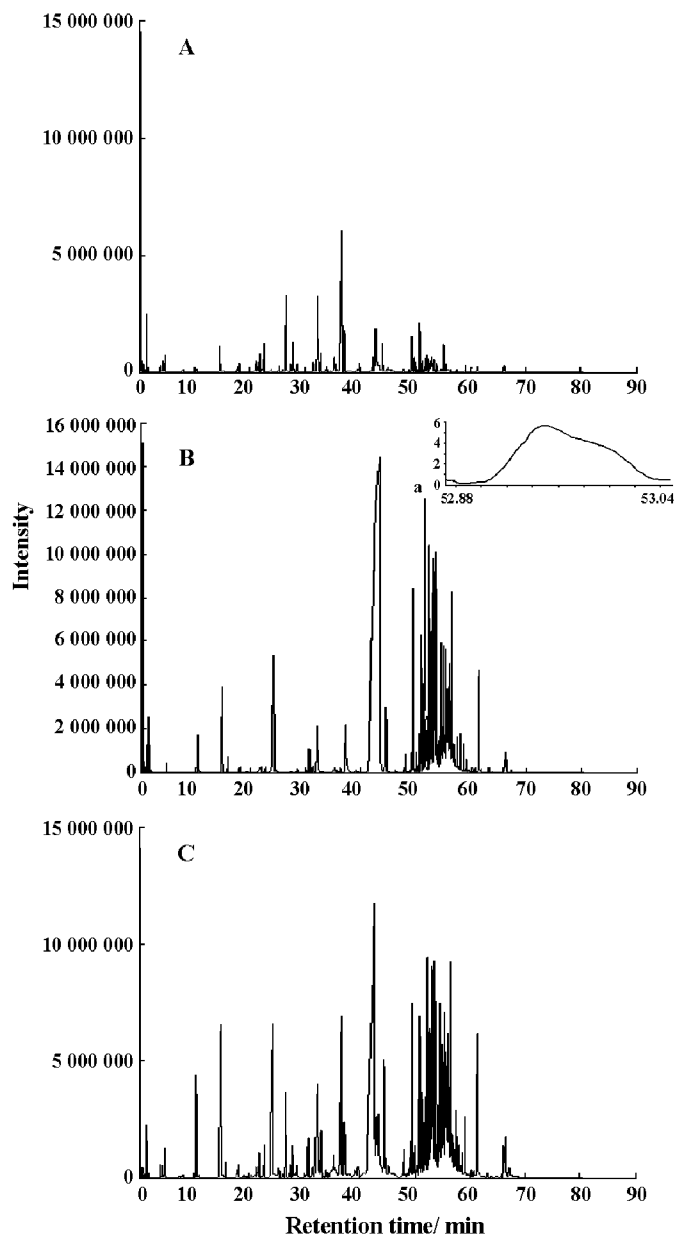


Figure 1 TICs of volatile oils from HE (A), RC (B) and HP HE-RC (C)

利用 CRM 分析，结果表明 a 峰是一个三组分体系 (图 2)。根据各组分的纯色谱和质谱，再将它们与 NIST 标准库进行匹配，可检索到 3 种组分分别为 hexadecanal (C₁₆H₃₂O)，n-hexadecanoic acid (C₁₆H₃₂O₂) 和 1, 8-dihydroxy-3-methyl-9, 10-anthracenedione (C₁₅H₁₀O₄)，相似度 (相对含量) 分别为 91.2% (0.023%)，92.35% (0.089%) 和 95.5% (0.045%)，其相应的质谱图如图 3。由于得到的是纯组分的质谱，定性结果的准确性和可靠程度大为提高。

与上述解析 a 峰过程相似,对桂枝和麻黄-桂枝的 TIC 图中其他保留时间段的峰簇和麻黄、麻黄-桂枝 TIC 图,利用 CRM 逐步进行分辨,可得到组分的纯质谱,再用质谱库对分辨出的组分进行质谱定性检索,得到组分定性结果。麻黄-桂枝、麻黄和桂枝挥发油定性鉴定的组分分别为 97、72 和 68 个。

3 挥发油化学成分的定量分析

对解析后的所有色谱采用总体积积分法积分,可得到各组分的定量分析结果,麻黄、桂枝和药对麻黄-桂枝定性组分含量分别占总含量的 90.08%, 91.62% 和 89.76%, 三者的挥发油主要化学成分

(含量 $\geq 0.10\%$) 见表 1。

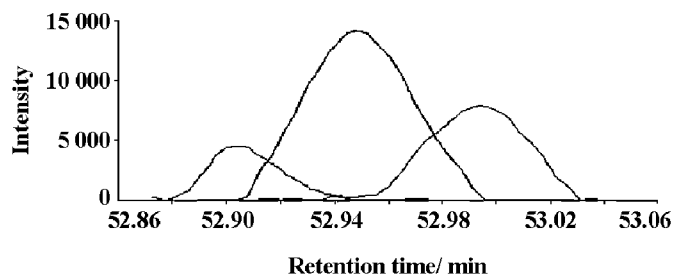


Figure 2 Resolved chromatograms of the a peak clusters in Figure 1 (B)

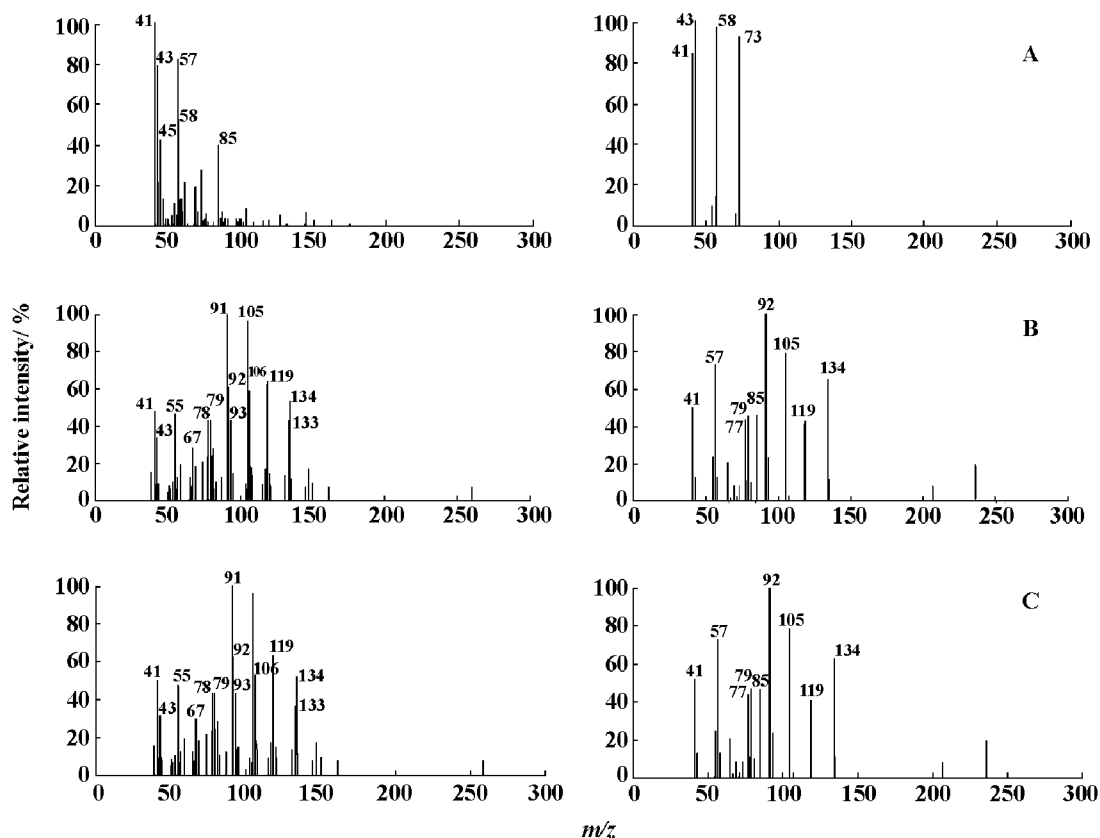


Figure 3 Resolved (left) and the standard (right) mass spectrum of the a peak clusters (A, B and C) in Figure 1 (B)

Table 1 Main chemical components of essential oils from HE, RC and HPHE-RC

Name of component/molecule formula	RC rc/rt	HE rc/rt	HE-RC rc/rt
Benzaldehyde/C ₇ H ₆ O	1.45/16.30	1.65/16.20	3.45/16.44
1,6-D in ethylhepta-1,3,5-triene/C ₉ H ₁₄			0.06/20.22
7-Oxabicyclo[2.2.1]heptane-1-methyl-4-(1-methylethyl)-/C ₁₀ H ₁₈ O		0.61/21.65	0.11/21.68
D-Limonene/C ₁₀ H ₁₆	0.06/22.88	1.64/22.89	0.32/22.92
Acetophenone/C ₈ H ₈ O	3.04/23.93	0.31/23.75	4.45/24.00
Pyrazine tetraethyl/C ₈ H ₁₂ N ₂		6.26/26.15	1.23/26.23
(+)-4-Carene/C ₁₀ H ₁₆			0.36/27.29
3-Methyl-2,3-dihydro-benzofuran/C ₉ H ₁₀ O	0.32/29.55	1.92/27.25	0.50/29.60
3-Cyclohexen-1-ol-1-methyl-4-(1-methylethyl)-/C ₁₀ H ₁₈ O	0.81/30.23		0.18/30.29
Benzenepropanal/C ₉ H ₁₀ O	0.81/30.73		1.82/30.92
Benzene, 1-ethenyl-4-methoxy-/C ₉ H ₁₀ O		6.45/30.89	
Tetracyclo[4.2.1.1(2,5).0(9,10)]deca-3,7-diene/C ₁₀ H ₁₆			0.020/31.23

Continued

Name of component/molecule formula	RC rc/rt	HE rc/rt	HE-RC rc/rt
Ethanone, 2-hydroxy-1-phenyl-/C ₈ H ₈ O ₂	0.05/31.35	1.53/31.34	0.62/31.48
β-Terpinol/C ₁₀ H ₁₈ O		0.76/32.22	0.20/32.27
3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-(1-methylethyl)-/C ₁₀ H ₁₈ O		1.18/33.37	0.37/33.44
Benzenemethanol, α, α, 4-trimethyl-/C ₁₀ H ₁₄ O		0.73/33.57	
3-Cyclohexene-1-methanol, α, α, 4-trimethyl, (S)-/C ₁₀ H ₁₈ O	0.08/34.26	21.68/34.46	4.46/34.50
γ-Terpinol/C ₁₀ H ₁₈ O		3.00/34.92	1.34/35.03
Propanal, 2-methyl-3-phenyl-/C ₁₀ H ₁₂ O		0.78/37.06	0.20/37.13
2,6-Dimethoxytoluene/C ₉ H ₁₂ O ₂		1.13/39.15	0.25/39.77
1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethyl)-/C ₁₀ H ₁₆ O		6.31/39.76	2.44/40.14
Benzylidenemalonaldehyde/C ₁₀ H ₈ O ₂	52.20/40.01		22.93/39.39
4-Hexadecen-6-yne (E)-/C ₁₆ H ₂₈		0.85/40.27	
Benzene, 1,2-(methylenedioxy)-4-propenyl, (E)-/C ₁₀ H ₁₀ O ₂		1.98/40.74	
2(1H)-Naphthalenone, 3,4,4a,5,6,7-hexahydro-1,1,4a-trimethyl-/C ₁₃ H ₂₀ O		0.56/41.05	0.28/41.18
Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-/C ₁₀ H ₁₂ O	1.26/41.11		1.72/40.95
Benzenemethanol, 4-(1-methylethyl)-/C ₁₀ H ₁₄ O		0.74/41.52	0.30/41.61
Benzene, 1,2,3-trimethoxy-5-methyl-/C ₁₀ H ₁₄ O ₃		0.55/45.02	0.17/45.07
Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-/C ₁₁ H ₁₄ O ₂		1.54/45.07	1.13/45.14
Copaene/C ₁₅ H ₂₄	1.50/45.23	0.37/45.17	1.21/45.23
Cedrene/C ₁₅ H ₂₄		1.70/46.14	
Diriprα-cedrene/C ₁₅ H ₂₄	0.31/46.15		0.73/46.17
Isocaryophyllene/C ₁₅ H ₂₄		1.19/46.28	
Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methyleno-/C ₁₅ H ₂₄	1.05/46.32		1.15/46.31
1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene; [1aR-(1aα, 4aβ, 7α, 7aβ, 7bα)]-/C ₁₅ H ₂₄	0.66/47.24	0.69/47.21	0.20/47.24
3-Buten-2-one, 4-(2,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl); (E)-/C ₁₃ H ₂₀ O		0.53/47.33	0.19/47.38
1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl; [1aR-(1aα, 4α, 4aβ, 7bα)]-/C ₁₅ H ₂₄		0.54/47.47	
Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-/C ₁₅ H ₂₂	1.84/47.51		
1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene; [1aR-(1aα, 4aβ, 7α, 7aβ, 7bα)]-/C ₁₅ H ₂₄		0.74/47.74	
2-Propenal, 3-(2-methoxyphenyl)-/C ₁₀ H ₁₀ O ₂	2.20/47.89		1.58/47.86
1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene; (1aα)/C ₁₅ H ₂₄		0.64/47.92	
α-Muurolene/C ₁₅ H ₂₄	1.11/47.99		1.31/47.99
Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl); (S)-/C ₁₅ H ₂₄	1.65/48.14		1.61/48.14
Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl); (1α, 4aα, 8aα)-/C ₁₅ H ₂₄	1.05/48.26		0.97/48.26
Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl); (1S-cis)-/C ₁₅ H ₂₂	0.56/48.34	0.11/48.27	0.51/48.33
Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl); (1S-cis)-/C ₁₅ H ₂₄	1.78/48.41		1.53/48.42
1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,6,7,8,8a-hexahydro-1,4,9,9-tetramethyl; (1α, 3aα, 7α, 8aβ)-/C ₁₅ H ₂₄	1.42/48.55		1.25/48.55
Spathulenol/C ₁₅ H ₂₄ O	1.21/49.36		1.15/49.37
Epiglobulol/C ₁₅ H ₂₆ O		0.32/49.40	
Caryophyllene oxide/C ₁₅ H ₂₄ O	0.33/49.44		0.44/49.44
Tetradecanal/C ₁₄ H ₂₈ O	1.19/49.68		1.04/49.68
Globulol/C ₁₅ H ₂₆ O			0.031/49.73
8βH-Cedran-8-ol/C ₁₅ H ₂₆ O		1.13/49.78	1.18/49.88
Cubanol/C ₁₅ H ₂₆ O		0.24/50.31	0.45/50.23
3-Cyclohexen-1-ol, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-/C ₁₅ H ₂₆ O	0.53/50.68		0.63/50.69
α-Bisabolol/C ₁₅ H ₂₆ O	1.47/50.92		1.69/50.92
1-Heptatriacotanol/C ₃₇ H ₇₆ O	0.43/51.17		0.59/51.16
Tetradecanoic acid/C ₁₄ H ₂₈ O ₂	0.34/51.81		0.62/51.84
5,9,13-Pentadecatrien-2-one, 6,10,14-trimethyl, (E, E)-/C ₁₈ H ₃₀ O			0.06/54.28
Eicosanoic acid/C ₂₀ H ₄₀ O ₂	1.52/55.16		2.51/55.20
9,12-Octadecadienoic acid (Z, Z)-/C ₁₈ H ₃₂ O ₂	0.19/59.03	0.50/58.97	0.58/59.10
9-Octadecenoic acid (E)-/C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.33/59.25	0.53/59.18	0.74/59.33

rc: Relative content (%); rt: Retention time (min); RC: *Ramulus Cinnamomi*; HE: *Herba Ephedrae*

4 单味药与药对挥发油成分的比较与分析

由表 1 可见,药对麻黄-桂枝挥发油主要化学成分的数量大致是两个单味药麻黄和桂枝的加和,含量较高的主要成分或来自麻黄,如 α, α -4-trimethyl-(S)-3-cyclohexene-1-methanol-4-(1-methylethyl)-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde 等;或来自桂枝,如 benzylidenemalonaldehyde, acetophenone 等;或来自二者之叠加,如 copaene, acetophenone, benzaldehyde 等。这些主要成分在药对中的含量与在单味药中的不同。实验结果还表明,药对麻黄-桂枝挥发油中还出现了多个单味药中没有的新的化学成分,如 1,6-dimethylhepta-1,3,5-triene, tetracyclo[4.2.1.1(2.5).0(9.10)]deca-3,7-diene, globulol (E,E)-6,10,14-trimethyl-5,9,13-pentadecatrien-2-one 等,但它们的含量都很低。这些新化学成分的出现可能是由于合煎中的化学反应和物理变化,如增溶作用、助溶作用等。由于这些物理作用,单味药中的某些化学成分在配伍后溶出率将提高,因此,单味药中含量很低而未能检测到的挥发性成分,在药对中含量提高而可被检测。这些物理变化也会导致其他挥发性成分在药对中的含量变化。

大多数情况下,中药的活性成分是由一系列结构不同的有机物和无机物所组成的混合物——活性化合物群。不同的单味药含有不同的活性化合物群。两个单味药配伍形成药对,合煎时,由于化学反应与物理变化,形成新的活性化合物群,它与单味药的活性化合物群在量与质方面均存在差别,从而导致药效的不同。但发生了什么物理变化与化学反应,导致新的活性化合物群产生,值得深入研究。

References

- [1] Xu QH, Liu LY, Zhao RH, et al. Collection of Herb Pairs in Traditional Chinese Medicine (中药药对大全) [M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Publishing House, 1996: 27-29.
- [2] Tian DH. Practical Dictionary of Traditional Chinese Herbs (实用中药辞典) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000: 1818-1821, 1533-1535.
- [3] Shen YJ. Study on Exterior-releasing Drugs and Prescriptions in Traditional Chinese Medicine (中药解表方药研究) [M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Publishing House, 2005: 198-199.
- [4] State Pharmacopoeia Committee of the People's Republic of China. Pharmacopoeia of People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 2000. Beijing: Chemical Industry Press, 2000: Appendix 64.
- [5] Kvalheim OM, Liang YZ. Heuristic evolving latent projections-resolving 2-way multicomponent data. I. Selectivity, latent-projective graph, datascope, local rank and unique resolution [J]. Anal Chem, 1992, 64: 936-946.
- [6] Liang YZ, Kvalheim OM, Keller HR, et al. Heuristic evolving latent projections-resolving 2-way multicomponent data. 2. Detection and resolution of minor constituents [J]. Anal Chem, 1992, 64: 946-953.
- [7] Liang YZ. White, Grey and Black Multicomponent System and Their Chemometrics Algorithms (白灰黑复杂多组分分析体系及其化学计量学算法) [M]. Changsha: Hunan Science and Technology Press, 1996: 177-206.
- [8] Gong F, Peng YG, Cui H, et al. Determination of volatile components in peptic power by gas chromatography-mass spectrometry and chemometric resolution [J]. J Chromatogr A, 2001, 909: 237-247.
- [9] Gong F, Liang YZ, Xu QS, et al. Gas chromatography-mass spectrometry and chemometric resolution applied to the determination of essential oils in *Cortex cinnamomi* [J]. J Chromatogr A, 2001, 905: 193-205.
- [10] Guo FQ, Liang YZ, Xu CJ, et al. Determination of the volatile chemical constituents of *Notopterygium incisum* by gas chromatography-mass spectrometry and iterative or non-iterative chemometrics resolution methods [J]. J Chromatogr A, 2003, 1016: 99-110.
- [11] Gong F, Liang YZ, Chau FT. Combination of GC-MS with local resolution for determining volatile components in *Siwu* decoction [J]. J Sep Sci, 2003, 26: 112-122.