



气相色谱质谱和化学计量学组合方法分析半枝莲挥发性成分

姚惠平^{1*}, 贺云彪¹, 黄兰芳² (1 常德市食品药品检验所, 常德 415000; 2 衢州学院化学与材料工程学院, 衢州 324000)

摘要: 目的 研究半枝莲挥发油成分。方法 利用水蒸气蒸馏法提取半枝莲挥发油, 用气相色谱-质谱(GC-MS)检测, 对重叠色谱峰采用直观推导式演进特征投影法进行分辨, 从而获得每一组分的纯质谱和质谱, 依靠每一组分纯质谱在NIST质谱库进行相似性检索而定性分析, 用总体积分法进行定量分析。结果 从半枝莲挥发油样品中共分离出71个色谱峰, 鉴定出其中58个组分, 占挥发油总含量的86.51%, 主要组分为棕榈酸、甲氧基-4-乙烯基苯酚-十五烷酮、1-辛烯-3-醇、4-甲基-1-异丙基-3-环己烯-1-醇、丁香烯、氧化丁香烯、2-己烯醛和棕榈醛。结论 该方法不仅可鉴定的化合物数目增加, 而且提高了定性准确度, 可用于中药半枝莲质量控制, 能为进一步研究和开发半枝莲提供有利的科学依据。

关键词: 气相色谱/质谱 直观推导式演进特征投影法 挥发油 半枝莲

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187 (2016) 10-001-03

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (LY15B050008); 衢州市科技发展规划 (2013Y001); 常德市科技发展规划 (201407005)

Analysis of the volatile components of *Scutellaria barbata* D. Don by gas chromatography-mass spectrometry and combined chemometrics methods

Yao Huiping¹, Feng Xiaoliang², Wang Yuling², He Yunbiao¹, Huang Lanfang² (1 Changde institute for food and drug control, Changde, 415000, China; 2 Department of Chemistry and Material Engineering, Quzhou College, Quzhou 324000, China)

Abstract: **Objective** To study the volatile components of *Scutellaria barbata* D. Don. **Methods** The volatile chemical constituents were extracted by water distillation method and detected by GC-MS. After the overlapping chromatographic peaks were resolved into pure chromatograms and spectra with heuristic evolving latent projections (HELP), qualitative analysis was performed by similarity search in NIST library with the obtained pure mass spectrum of each component and the quantitative results were obtained by calculating the volume of total two-way response. **Results** A total of 71 components were separated and 58 components were identified, accounting for 86.51% of the total content. The main components were n-hexadecanoic acid, 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone, 1-octen-3-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyclohexen-1-ol, caryophyllene, caryophyllene oxide, 2-hexenal, hexadecanal and so on. **Conclusions** Not only more components were identified by the established method, but also the qualitative analysis of components was improved to a reliable degree. The proposed approach can be used to quality control of *Scutellaria barbata* D. Don. The obtained results can also provide useful information for further study and development of *Scutellaria barbata* D. Don.

Key words: GC-MS Heuristic evolving latent projections The volatile constituents *Scutellaria barbata* D. Don

半枝莲 (*Scutellaria barbata* D. Don), 又名并头草、狭叶韩信草, 是马唇形科黄芩属多年生草本植物, 主产于浙江、江苏、安徽、河南等地^[1-2]。半枝莲性寒、味辛、苦, 具有清热解毒、散瘀止血、利尿消肿等功效, 用于治疗疔疮肿毒、咽喉肿痛、跌打伤痛、水肿、黄疸、蛇虫咬伤等, 是民间常用中草药^[3], 现代药理活性研究表明, 半枝莲具有良好的抗肿瘤活性^[4-5]。黄酮类、萜类、生物碱、挥发油、多糖等是其主要的活性成分^[1-2]。挥发性成分为半枝莲活性组分之一, 但有关挥发性成分的研究报道却不多^[6-9], 由于半枝莲化学成分复杂, 且不同产地半枝莲化学成分也有一定差别^[6], 即使最优化色谱分离条件, 也不可避免会存在一些重叠峰, 因而定性定量鉴定的挥发性化学组分不多, 而快速发展的化学计量学分辨方法使半枝莲复杂体系挥发性组分分析成为可能^[10-13]。

本文用气相色谱质谱法和化学计量学组合方法, 系统研究了半枝莲挥发性组分, 不仅获得了更多的信息, 而且使得分析结果的可靠性得到了改进, 所获得的信息可用于半枝莲指纹图谱的进一步研究和其质量控制。

1 材料与仪器

1.1 材料与仪器

GCMS-QP2010 型气相色谱-质谱联用仪 (日本 SHIMADZU 公司), 电子天平 (奥豪斯 PR2202CN), 挥发油提取器自制, FZ-102 中草药粉碎机 (天津天斯特仪器有限公司); 半枝莲干燥全草购自长沙老百姓大药房, 经湖南中医药研究所朱中冀副研究员鉴定为唇形科黄芩属植物半枝莲的干燥全草; 无水硫酸钠为分析纯。

1.2 挥发性成分提取

称取半枝莲 100.0g 用粉碎机粉碎, 加蒸馏水 1000ml, 根

据中国药典^[14]水蒸气蒸馏提取挥发性成分 6h, 获得的挥发油用无水硫酸钠干燥后得淡黄色油状物, 收油率为 0.27%, 分析之前置于冰箱中密封保存备用。

1.3 GC-MS 条件

DB-5 毛细管柱 (30m×0.25mm I.D×0.25μm), 起始温度 50℃, 保持 2min, 以 10℃/min 的速率升至 210℃, 保持 2min, 然后以 4℃/min 的速率升至 260℃, 维持 3min, 柱前压: 77.6kPa, 进样量 1μL, 流速 1mL/min, 分流比为 10:1, 进样口温度: 250℃。离子源 EI, 电子能量 70eV, 离子源温度 200℃, 倍增电压 1KV, 加速电压 4KV, 扫描范围 (m/z) 35-500amu, 扫描速度 1S/dec, 从 GC-MS 的总离子图中选出各成分的质谱图或经化学计量学方法分辨出的组分纯质谱进行鉴定。

1.4 数据分析

数据分析在 Pentium IV (Intel) 计算机上进行, 所有程序用 Matlab 6.5 编写, 所分辨的质谱在 NIST147 标准谱库中进行检索。

2 结果

2.1 GC-MS 检测半枝莲挥发性成分

图 1 为半枝莲挥发油总离子流图, 它是一个复杂的分析体系, 部分色谱峰达到基线分离, 但也有些色谱峰出现重叠现象。

2.2 直观推导式演进特征投影算法 (HELP) 分辨重叠峰

尽管不断优化色谱条件, 但还是存在部分重叠峰簇, 如用 NIST 质谱库直接定性则相似程度很低, 用 HELP 法^[10]对所有重叠峰进行分辨, 定性准确度显著提高。以图 1 中保留时间在 14.10~14.35min 峰 C 为例说明此解析方法的整个过程。图 2A 为峰 C 总离子流图, 经 PCA 法扣除背景和基线漂移后, 用固定尺寸窗口渐进因子分析法

* 通讯作者: 姚惠平, E-mail: 664252068@qq.com。



(FSMWEFA)^[9] 获得秩图, 依秩图用 HELP 法直接分辨由 GC-MS 所得的 C 重叠峰中各组分纯色谱图 (图 2B) 和纯质谱。用 NIST 质谱库定性, 1 和 2 分别为可巴烯和十二酸, 相关系数分别为 0.95 和 0.94, 而 3 因相关系数太低而未能定性。

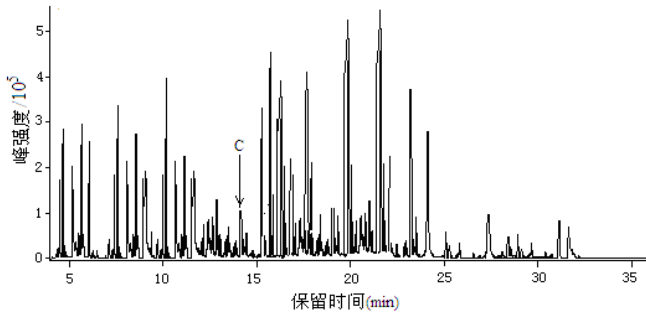


图 1: 半枝莲挥发油化学组分的色谱总离子流图

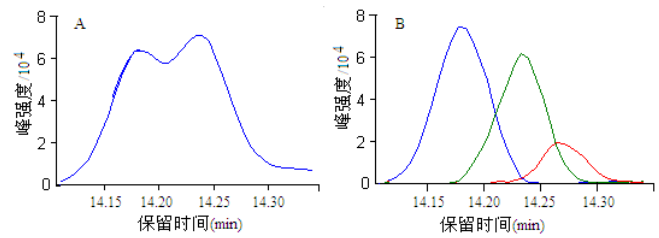


图 2: 峰簇 C 原色谱图 (A) 和分辨后色谱图 (B)

同样方法可得到其它各组分的定性结果, 共分辨出 71 个色谱峰, 其中得到 58 个组分的定性结果, 相对含量大于 1% 的组分如表 1。

2.3 定量分析

在解析出各组分的纯色谱和质谱以后, 采用总体积分和归一化法得到各组分的定量结果, 定性组分含量占总含量的 86.51%, 结果如表 1

表 1: 半枝莲样品挥发油的组成及相对含量 /%

峰号	保留时间 /min	化学成分名称	分子式	相对含量 /%	相似度 /%
1	4.264	呋喃甲醛 Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	1.71	95
2	5.301	2-己烯醛 (E)-2-Hexenal	C ₆ H ₁₀ O	2.76	95
3	7.526	1-辛烯-3-酮 1-Octen-3-one	C ₈ H ₁₄ O	1.55	94
4	7.634	1-辛烯-3-醇 1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	7.21	95
5	7.880	异戊酸 Isovaleric acid	C ₆ H ₁₀ O ₂	1.25	93
6	7.978	2-戊基呋喃 2-Pentyl-furan	C ₉ H ₁₄ O	1.16	96
7	10.116	4-甲基-1-异丙基-3-环己烯-1-醇 3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	C ₁₀ H ₁₈ O	5.82	96
8	10.223	棕榈醛 Hexadecanal	C ₉ H ₁₈ O	2.19	94
9	11.557	α-松油醇 α-Terpieol	C ₁₀ H ₁₈ O	1.51	95
10	12.321	3-烯丙基-6-甲氧基苯酚 3-Allyl-6-methoxyphenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	1.33	92
11	14.363	戊烯 Cyclobuta[1,2:3,4]dicyclopentene	C ₁₅ H ₂₄	1.92	94
12	14.447	1,2-二甲氧基-4-(2-丙烯基)-苯 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-Benzene	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	1.17	87
13	14.864	2,6-二甲基-6-(4-甲基-3-戊烯基)-降蒎-2-烯 Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)-	C ₁₅ H ₂₄	1.53	96
14	15.313	α-愈创木烯 α-Guaiene	C ₁₅ H ₂₄	1.14	92
15	15.554	反式-β-紫罗兰酮 trans-.β.-Ionone	C ₁₃ H ₂₀ O	1.88	91
16	15.701	丁香烯 Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	5.39	90
17	15.846	α-蛇床烯 α-Selinene	C ₁₅ H ₂₄	1.61	93
18	16.044	8 ^a -甲基六氢-1,8(2h,5h)-萘二酮 8 ^a -Methylhexahydro-1,8(2H,5H)-naphthalenedione	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	1.64	94
19	16.868	斯巴醇 Spathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	1.43	92
20	16.956	氧化丁香烯 Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	2.86	83
21	19.742	甲氧基-4-乙烯基苯酚-十五烷酮 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone	C ₁₈ H ₃₀ O	7.63	96
22	21.857	棕榈酸 n-Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	13.60	91
23	23.219	肉豆蔻酸 Tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	1.76	94

3 讨论

本文采用 GC-MS 结合化学计量学组合方法分析了半枝莲挥发油中化学成分, 相比 GC-MS 用 NIST 质谱库直接定性, 当用直观推导式演进特征投影算法 (HELP) 对所有重叠峰进行分辨后定性准确度显著提高。从半枝莲挥发油中共分辨出 71 个色谱峰, 其中得到 58 个组分的定性结果, 定性组分含量占总含量的 86.51%。当然有些组分由于信噪比很低或质谱库中没有收录相应的物质而未被检索到或相似系数很低, 无法进行定性。对于那些信噪比低的组分可通过增加进样量的办法解决, 对于信噪比较高但质谱库中不存在而又感兴趣的组分, 由于已获得其纯质谱, 可通过质谱理论推断其结构并结合文献资料找到所对应特征峰, 做出大概的判断。

如表 1 所示半枝莲挥发油主要活性组分为酸类、酮类、烯炔类和醇类等, 主要组分为主要组分为棕榈酸 (13.60%)、甲氧基-4-乙烯基苯酚-十五烷酮 (7.63%)、1-辛烯-3-醇、4-甲基-1-异丙基-3-环己烯-1-醇、丁香烯 (5.39%)、氧化丁香烯 (2.86%)、2-己烯醛 (E)-2-Hexenal (2.76%) 和棕榈醛 (2.19%) 等。

利用化学计量学组合方法, 采用气相色谱-质谱联用法 (GC-MS) 分析了半枝莲挥发性化学成分, 使其分析结果更加完善可靠, 获得的信息为半枝莲指纹图谱地建立提供基础, 也可以用于半枝莲的质量控制。

参考文献

- [1] 林靖怡, 刘韶松, 明艳林. 半枝莲化学成分及药理活性研究进展 (综述) [J]. 亚热带植物科学, 2015, 44(1):77-82
- [2] 任强. 半枝莲化学成分及药理作用研究进展 [J]. 济宁医学院学报, 2014, 37(3):157-161.
- [3] 肖海涛, 李锐. 半枝莲的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(10):637-640.
- [4] 何福根, 章红燕, 沈斌. 半枝莲抗肿瘤作用及其机制研究进展 [J]. 中国肿瘤, 2008, 17(2):108-112.
- [5] 罗金强, 刘宏斌. 半枝莲、白花蛇舌草抗肿瘤的研究进展 [J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(2):481-484.
- [6] 张福维, 回瑞华, 侯冬岩. 半枝莲挥发性化学成分分析 [J].

(下转第 5 页)



诊断、但因救命的需要不允许当即处理的,在NICU期间应遵循损害控制理念人,合理安排修复性手术;对于一些比较隐蔽的合并伤或易被颅脑损伤掩盖的特殊类型合并伤如颈椎颈髓损伤应注意鉴别诊断,防止漏诊漏治^[4]。本组延期骨折整复等分期手术112例次,收到了良好的治疗效果。

3.4 预防和控制医院内获得性感染,提高NICU患者的抢救成功率。重症颅脑损伤患者在ICU期间可因昏迷、肢体神经功能缺失长期卧床、营养不合理而致抵抗力免疫力下降、各种有创操作的侵入、抗菌素的不合理应用以及医务人员对院内获得性感染的麻木等原因,ICU病房经常是院内获得性感染的高发区^[5],从而增加了重症病人治疗的难度:住院时间延长、住院费用增加甚至病情加重难以逆转,直接影响到重症患者救治的预后。因此,重视医院内获得性感染的防控是ICU救治工作的重要组成部分。本组病例据不完全统计,约有超半数病例发生了不同程度的肺部感染,所幸经积极的抗感染、呼吸道管理和支气管气道冲洗等综合处理,大部分病例均获得治愈,但仍有少数病人重症混合感染迁延难治。

3.5 加强多学科协作与联系,及时会诊或ICU推行联合查房和多学科治疗,针对各种合并伤、患者的各种原发病、以及患者在救治过程中出现的各种并发症或器官衰竭积极处理,让重症病人治疗更加体现个性化,对重症病人的救治十分必要。笔者认为,多学科协作中参与的不仅有内科、外科、专科、急诊、麻醉及辅助、非临床科室,尚应将部分职能科室如感控科、质控科、医学工作科、后勤保障等一并列入,各司其职又密切配合才能给ICU患者提供安全、可靠、有力的医疗保障。

3.6 重视早期营养支持治疗^[6],防止机体长期处于负氮平衡状态。重症颅脑损伤患者由于机体内分泌紊乱、出血、呕吐、高热、昏迷及治疗过程中的禁食、限水、补液不当,常易并发代谢紊乱和营养障碍,如高能量代谢、高血糖、低蛋白血症、高分解代谢等,这不仅不利于机体正常生理功能的维持,更因免疫功能下降发生各种并发症的概率

大大增加;因此,在患者生命体征平稳后,应尽早进行营养支持治疗。合理的营养支持和代谢调理,对减少感染等并发症、促进神经功能的恢复十分重要。不少文献报道,重症颅脑损伤患者早期存在“胃瘫”现象——即胃排空延期,主张胃肠内营养选用空肠管提供营养物质;我科与医院营养科合作,营养科在病人伤病早期即介入病人营养管理;同时,我们对鼻空肠管和鼻胃管在重型颅脑损伤患者早期肠内营养中应用效果进行了对比研究,结果是:鼻空肠管组患者出现反流、腹胀、消化道出血的比例明显低于鼻胃管组。因此,我们推荐:肠内营养支持应首选鼻空肠管。

3.7 注重早期康复训练,防止肌萎缩、关节挛缩。临床工作中,医务人员注意力集中在抢救生命,未注重康复的早期介入,肢体也未能维持在正常的生理功能位置,待患者进入康复阶段,由于肌萎缩、关节挛缩部分病人不得已需要再行关节松解术,值得反思。本组病例由于重视了早期功能康复工作,未发生一例病人行晚期矫形处理。

参考文献

- [1] 吕红,肖瑾,徐培坤.重型颅脑损伤监护的研究进展[J].中国微创外科杂志,2010,10(9):848-856.
- [2] Cairns S, Reilly J, Booth M. Prevalence of healthcare-associated infection in Scottish intensive care units [J]. J Hosp Infect, 2010, 21: Epub ahead of print.
- [3] 邱炳辉,漆松涛,曾浩,等.持续颅内压监测指导重型颅脑损伤治疗的临床研究[J].中华神经外科杂志,2013,29(9):933-936.
- [4] 杨帆,胡尚,白祥军,等.多发伤早期诊疗中漏诊原因分析[J].创伤外科杂志,2010,12(1):15-17.
- [5] 马卫星,王杰.重型颅脑损伤患者继发医院感染的防治现状[J].中华危重症医学杂志(电子版),2010,3(3):196-200.
- [6] 郭睿,李牧,杜宏生,等.重型颅脑损伤患者早期营养支持的随机对照研究[J].中华神经外科杂志,2012,28(11):1090-1092.

(上接第2页)

质谱学报,2009,30(3):175-178.

[7] 王兆玉,汪铁山,陈飞龙,等.半枝莲全草挥发油的GC-MS分析[J].南方医科大学学报,2009,29(7):1482-1483.

[8] 杨帅,杨文文,吕青涛,等.GC-MS结合保留指数分析半枝莲挥发性成分[J].现代仪器,2012,18(3):47-50.

[9] 曹英夕,张东,杨立新,等.HS-SPME-GC-MS测定中药半枝莲中的挥发性成分[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(12):40-43.

[10] Liang Y Z, Kvalheim O M, Keller H R, Massart D L, Kiechle P and Erni F. Heuristic evolving latent projections: resolving

two-way multicomponent data. Part 2: Detection and resolution of minor constituents [J]. Anal. Chem., 1992, 64(8):946 - 953

[11] 梁逸曾.白灰黑复杂多组分分析体系及其化学计量学算法[M].长沙:湖南科技出版社,1996

[12] 李博岩,梁逸曾,谢培山,等.光谱相关色谱及其在中药色谱指纹图谱分析中的应用[J].分析化学,2003,31(7):799-803.

[13] 马诗瑜,沈岚,洪燕龙,等.化学计量学在中药定量表征中的应用[J].世界科学技术-中医药现代化,2014,16(12):2700-2707.

[14] 中国药典2010年版.一部[S].2010:758,附录63.

(上接第3页)

因此当高血压的病理改变致某一动脉发生循环障碍时,不能由其他动脉的血液给予补偿,可影响内耳的血液循环,进而引起内耳供血不足、供氧下降,导致细胞缺血缺氧,促使听觉器官衰退而引起听力改变。耳蜗血管纹、基底膜、蜗轴、螺旋韧带、内耳淋巴囊及听神经的微血管以及听动脉等微循环常会受到累及,其中尤以耳蜗血管纹的微血管病变最为多见。高血压患者螺旋韧带纤维细胞有不同程度萎缩,螺旋神经节细胞减少,部分患者还伴有血管纹变性及耳蜗底转内外毛细胞减少或消失以及以耳蜗底转为主的血管纹部分微小血管硬化,这些病理学改变可能参与了高血压患者耳蜗功能受损的发生发展。高血压患者全血黏度、血浆黏度、红细胞压积和血小板黏度也均高于正常人,这些可能也是造成内耳微循环障碍而影响听觉功能的潜在因素^[3]。

老年聋是老年人由于纯年龄因素,听觉器官发生退变而引起的进行性感音神经性聋,属生理范畴^[4]老年聋发生的年龄和进展的速度因人而异,这种因人而异的现象取决很多因素,包括外源性(如环

境噪声刺激)与内源性(如心脑血管疾病与代谢性疾病)两类。高血压除了本身发展至高血压危象,对患者的健康甚至生命造成直接威胁外,更重要的是引起心脑血管等器官以血管损伤为主要病理改变的器官损坏,进而引起上述器官各种疾病的发生,甚至危及生命,造成对人类健康的间接威胁,因此积极地治疗和控制高血压病不仅仅在于减少高血压的直接损坏,还可望延缓老年聋发生。

参考文献

- [1] ROSENHALL U, SUND V. Age-related hearing loss and blood pressure [J]. Noise Health, 2006, 8: 88-94.
- [2] Kim JS, Lopez J, DipATRE PL, et al. Internal auditory artery infarction. Clinicopathologic correlation. Neurology, 1999, 52(1):40-44.
- [3] Nakashima T, Naganawa S, Sone M, et al. Disorders of cochlear blood flow. Brain Res Rev, 2003, 43(1):17-28.
- [4] 李宝实,吴学愚,何永照,等.中国医学百科全书耳鼻咽喉科学[M].上海科学技术出版社,1980,2:71.