基于 GC-MS/MS 技术对经典名方小续命汤不同萃取溶剂中挥发性成分的差异分析

卓韦杰[1]，廖思明[1]，陈锦霞[2]，纪瑞锋[1]，黄焯华[1]，林碧珊[2]，何　新[1*]

1. 广东药科大学，广东 广州　510006
2. 国药集团广东环球制药有限公司，广东 佛山　528303

摘　要：目的　通过气相色谱-串联质谱联用技术（GC-MS/MS），探讨经典名方小续命汤在不同溶剂萃取条件下的挥发性成分差异和特性，优选小续命汤挥发性成分的萃取溶剂。**方法**　利用 GC-MS/MS 研究小续命汤中石油醚、正己烷、二甲苯、氯仿、乙醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取部位的挥发性成分，利用化学计量学分析方法对小续命汤不同溶剂萃取组进行差异性分析。利用统计学分析方法对小续命汤不同萃取溶剂萃取的挥发性成分进行类型与数量的可视化。利用分子对接技术预测小续命汤中潜在标志挥发性成分与缺血性卒中关键靶点的结合能力。**结果**　在小续命汤中共检出 11 类 63 种挥发性成分。醋酸乙酯萃取部位指认出 31 个挥发性成分，氯仿、正己烷萃取部位指认出 28 个挥发性成分，石油醚萃取部位指认出 26 个挥发性成分，乙醚、正丁醇萃取部位指认出 25 个挥发性成分，二甲苯萃取部位指认出 20 个挥发性成分。以各挥发性成分的峰面积、口服利用度及归一化百分含量为指标对 63 种成分进行筛选，与缺血性卒中关键靶点白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）、血管内皮生长因子 A（vascular endothelial growth factor A，VEGFA）和肿瘤蛋白 p53（tumor protein p53，TP53）进行分子对接，结果显示洋川芎内酯 A、6-姜辣素、顺式肉桂醛、人参炔醇、美迪紫檀素、8-姜烯酚、姜辣二酮结合能较低。**结论**　通过研究不同萃取溶剂中内在成分及其差异性，确定了经典名方小续命汤中潜在标志挥发性成分，优选醋酸乙酯、乙醚、氯仿作为后续小续命汤挥发性成分的萃取溶剂。

关键词：经典名方；GC-MS/MS；小续命汤；挥发性成分；川芎内酯 A；6-姜辣素；顺式肉桂醛；人参炔醇；美迪紫檀素；8-姜烯酚；姜辣二酮

中图分类号：R284.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2025)15 - 5359 - 11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.15.004

Analysis of differences in volatile components of classic formula Xiaoxuming Decoction in different extraction solvents based on GC-MS/MS technology

ZHUO Weijie[1], LIAO Siming[1], CHEN Jingxia[2], JI Ruifeng[1], HUANG Zhuohua[1], LIN Bishan[2], HE Xin[1]

1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China
2. Sinopharm Group Guangdong Medi-Word Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528303, China

Abstract: Objective　Using gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) to investigate the differences and characteristics of volatile components in the classical formula Xiaoxuming Decoction (小续命汤) under different solvent extraction conditions, aiming to select the optimal solvent for studying the volatile components of Xiaoxuming Decoction. **Methods**　GC-MS/MS was employed to analyze the volatile components in the petroleum ether, n-hexane, xylene, chloroform, diethyl ether, ethyl acetate, and *n*-butanol extracts of Xiaoxuming Decoction. Chemometric analysis was used to evaluate the differences of different solvent extraction groups of Xiaoxuming Decoction, while statistical methods were applied to visualize the types and quantities of these components. Molecular docking was conducted to predict the binding ability of potential marker volatile components inXiaoxuming Decoction with key targets of ischemic stroke. **Results**　A total of 63 volatile components belonging to 11 categories were identified in Xiaoxuming Decoction. Ethyl acetate extraction identified 31 volatile components, chloroform and *n*-hexane extraction identified 28 components, petroleum ether extraction identified 26 components, diethyl ether and *n*-butanol extraction identified 25 components,

收稿日期：2025-01-27

基金项目：广州市基础与应用基础研究计划项目（2025A03J3889）；国家自然科学基金资助项目（82174209）

作者简介：卓韦杰（1996—），硕士研究生，从事中药学研究。Tel: (020)39352086　E-mail: wjiezhuo@163.com

***通信作者：**何　新，博士，教授，从事中药药理与中药药动学研究。Tel: (020)39352086　E-mail: hexintn@163.com

and xylene extraction identified 20 components. Using peak area, oral bioavailability, and normalized percentage content as indicators, 63 components were screened and docked with ischemic stroke key targets interleukin-6 (IL-6), vascular endothelial growth factor A (VEGFA), and tumor protein p53 (TP53). The results showed that ligustilide A, 6-gingerol, *cis*-cinnamaldehyde, panaxynol, medioresinol, 8-gingerol, and gingerdione exhibited lower binding energies. **Conclusion** By studying the intrinsic components and their differences in different extraction solvents, representative volatile components of the classical formula Xiaoxuming Decoction were identified. Ethyl acetate, diethyl ether, and chloroform were selected as the optimal solvents for further research on the volatile components of Xiaoxuming Decoction.

Keywords: classical formula; GC-MS/MS; Xiaoxuming Decoction; volatile components; ligustilide A; 6-gingerol; *cis*-cinnamaldehyde; panaxynol; medioresinol; 8-gingerol; gingerdione

挥发性成分是指中药材中含有的一类可挥发、水不相混溶的、可被蒸馏的成分的总称，大多具有芳香气味，是中药独特气味的来源[1]。现代药理学研究表明，挥发性成分是中药发挥作用的重要物质基础之一。研究发现川芎挥发油对硝酸甘油诱导的偏头痛大鼠模型有显著药效活性[2]，人参挥发性成分具有一定抗癌活性[3]。经典名方制剂的研发可以免于临床和药效的评价，但挥发性成分在制剂研发过程中经过煎煮、浓缩、干燥等工艺时易损失。因此，挥发性成分的存在情况、传递追踪就显得尤为重要[4]。

小续命汤于 2018 年纳入国家中医药管理局发布的《古代经典名方目录（第一批）》[5]，最早记载于东晋的《小品方》。该方由麻黄、防己、人参、黄芩、肉桂、甘草、白芍、川芎、苦杏仁、黑顺片、防风、生姜共 12 味中药组成，以其辛温发散、扶正祛风的特点著称[6]。现代医学研究表明，小续命汤在治疗缺血性脑卒中、神经炎以及类风湿关节炎等疾病方面具有显著疗效[7]。小续命汤中多种药材含有丰富的挥发性成分，如肉桂中的桂皮醛、肉桂醇，川芎中的洋川芎内酯、藁本内酯等[8-13]。这些挥发性成分不仅赋予了方剂独特的香气，更是其药效发挥的关键所在[14]。挥发性成分具有易于吸收、作用迅速的特点，能够快速进入血液循环，发挥祛风散寒、通络止痛的作用，对于急性症状的缓解尤为重要。

本研究以经典名方小续命汤为例，依据挥发性成分不同的结构、极性和溶解性，选取石油醚、正己烷、二甲苯、氯仿、醋酸乙酯、乙醚、正丁醇 7 种极性由低到高的萃取溶剂，探究小续命汤中挥发性成分存在情况。结合化学计量学分析、统计学分析、分子对接技术探究不同萃取溶剂组间的差异性。根据挥发性成分溶出数量、类型、归一化百分含量优选出可能作为小续命汤挥发性成分研究的最佳萃取溶剂，并探讨其中潜在的标志挥发性成分。

1 仪器与材料

1.1 仪器

GCMS-TQ8040 NX 型气相色谱-三重四极杆质谱联用仪（岛津公司），QUINITIX125-1CN 型十万分之一电子分析天平（赛多利斯科学仪器），TDL-420 型低速离心机（山东百欧科技医疗），FD.1C.50 型冷冻干燥机（北京博医康实验仪器有限公司），MIX-2005 多管涡旋混匀仪（上海净信实业），毛细管 SH-1-5Sil MS 色谱柱（30 m×0.25 mm，0.25 μm，岛津公司），SB-5200DTD 型超声波清洗器（宁波新芝生物科技）。

1.2 试剂

实验中所使用的石油醚、正己烷、二甲苯、氯仿、乙醚、醋酸乙酯、正丁醇（水饱和）溶剂均为质谱级（上海阿拉丁生物公司，GC≥98%），实验用水为超纯水。

1.3 样品信息

12 味药材均购于其道地产地或主产区，经国药集团广东环球制药有限公司质量部黄国满副主任中药师鉴定，各药材基原如下：麻黄为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎，防己为防己科植物粉防己 *Stephania tetrandra* S. Moore 的干燥根，人参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎，黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根，肉桂为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮，甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎，白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根，川芎为伞形科植物 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎，苦杏仁为蔷薇科植物杏 *Prunus armeniaca* L. 的干燥成熟种子，附子为毛茛科植物乌头的 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的子根的加工品，防风为伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricate* (Turcz.) Schischk.

的干燥根，生姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc.的新鲜根茎；各药材按《中国药典》2020 年版一部项下检测均合格。参考《中国药典》2020 年版药材项下炮制方法，对各药材进行炮制并检测合格。

实验中所用到的经典名方小续命汤基准样品由中国中药集团广东环球制药有限公司提供。具体批号信息见表 1。

表 1 样品信息

Table 1 Information of samples

编号	样品名称	样品批号
S1	XX221116-SYM	XX221116-DG
S2	XX221116-ZJW	
S3	XX221116-RJB	
S4	XX221116-YSYZ	
S5	XX221116-YM	
S6	XX221116-LF	
S7	XX221116-ZDC	
S8	XX230901-SYM	XX230901-DG
S9	XX230901-ZJW	
S10	XX230901-RJB	
S11	XX230901-YSYZ	
S12	XX230901-YM	
S13	XX230901-LF	
S14	XX230901-ZDC	
S15	XX240301H17-SYM	XX240301H17-DG
S16	XX240301H17-ZJW	
S17	XX240301H17-RJB	
S18	XX240301H17-YSYZ	
S19	XX240301H17-YM	
S20	XX240301H17 -LF	
S21	XX240301H17 -ZDC	

2 方法

2.1 小续命汤基准样品制备

按照国家中医药管理局发布的《古代经典名方目录（第一批）》中小续命汤组方标准，结合度量衡考证结果[15]，分别称取麻黄 13.80 g、防己 13.80 g、人参 13.80 g、黄芩 13.80 g、肉桂 13.80 g、炒甘草 13.80 g、白芍 13.80 g、川芎 13.80 g、燀苦杏仁 13.80 g、黑顺片 15.00 g、防风 20.70 g、生姜 69.00 g。粉碎成粗粒，先取麻黄加水 2 400 mL，浸泡 30 min，三沸去沫后，加入其余药味，煎至得液量为 600 mL（±30 mL），滤过，取煎液分装至 15 mL 西林瓶，并置真空冷冻干燥机中，−50 ℃预冷冻 12 h，冷冻干燥 72 h（冻干温度−80 ℃，真空度 10 Pa），加塞，轧盖，即得。

2.2 小续命汤基准样品萃取

分别取同一批次（XX221116-DG、XX230901-DG、XX240301H17-DG）相当于总饮片量 10 g 小续命汤基准样品 7 份。精密称定，分别加入温水（约 45 ℃）15 mL，400 r/min 振荡 20 min 使之充分溶解，分别加入 10 mL 石油醚、正己烷、二甲苯、乙醚、醋酸乙酯、氯仿、正丁醇，称定质量。400 r/min 振荡 20 min，冰浴超声 20 min（400 W/60 Hz）后取出，补足质量。4 000 r/min 离心 10 min，取有机萃取相 5 mL，加入无水硫酸钠 2.5 g，涡旋 1 min，于−20 ℃冰箱中静置 24 h，用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。

2.3 检测条件

2.3.1 气相色谱检测条件 色谱柱为毛细管 SH-1-5Sil MS 柱（30 m×0.25 mm，0.25 μm），载气为高纯氦气，体积流量 1.0 mL/min，进样方式选择不分流进样；程序升温：起始温度 100 ℃，保持 5 min，6 ℃/min 升温至 210 ℃，保持 5 min；再以 6 ℃/min 升温至 250 ℃，保持 10 min。接口温度 230 ℃；进样量 1 μL。

2.3.2 质谱检测条件 EI 离子源温度为 250 ℃；传输线温度 250 ℃；采集方式为 Q3 Scan 模式结合 MRM 模式；质量扫描范围 *m/z* 50～700；电离电压 70 eV；扫描时间 4～45 min。

2.4 挥发性成分的定性与定量

小续命汤的挥发性成分指认以仪器化学工作站 NIST 20s.lib（NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library 2020）谱库为基础进行筛选，筛选条件为检出化合物与系统谱库匹配度值（SI）≥90，导出检索结果后在 MS Search v.2.4 软件进行离子碎片比对，再结合 PubChem（https://pubchem.ncbi.nlm. nih.gov/），MassBank（https://massbank.eu/）在线数据库及文献检索综合比对。基于峰面积归一化法对各挥发性成分进行相对定量。

2.5 小续命汤挥发性成分分子对接验证方法

在 RCSB PDB 数据库（https://www.rcsb.org）下载关键靶点的蛋白晶体结构，利用 PyMOL-2.6 软件将蛋白晶体结构去除水分子和原配体，使用 AutoDockTools1.5.7 软件加氢及电荷，保存为 PDBQT 格式文件。在 PubChem（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/）下载小分子的 mol2 格式，用 PyMOL-2.6 软件进行预处理，保存为 PDBQT 格式文件，利用 AutoDockTools 的 Autogrid 与 Autodock

插件完成半柔性对接，并通过 PyMol 软件对对接结果可视化分析。

2.6　数据处理

采用 Origin 2021 软件汇总整合不同萃取溶剂下小续命汤的总离子流图，绘制统计花瓣图、热力分析图；采用 R 语言绘制各成分相对百分含量气泡图。采用 SIMCA 14.1 软件进行偏最小二乘判别分析（partial least squares discriminant analysis，PLS-DA），计算权重重要变量（variable importance in the projection，VIP）以及模型的置换检验。利用 Microsoft Excel 2016 软件进行数据的整合，单因素方差分析（One-Way ANOVA）验证。利用 AutoDockTools-1.5.7 软件进行分子对接，PyMOL-2.6 软件绘制分子对接模式图。

3　结果

3.1　7 种不同溶剂萃取下小续命汤总离子流图

采用石油醚、正己烷、二甲苯、乙醚、醋酸乙酯、氯仿、正丁醇 7 种不同极性溶剂对小续命汤基准样品进行萃取，小续命汤挥发性成分 GC-MS/MS 分析总离子流图见图 1。

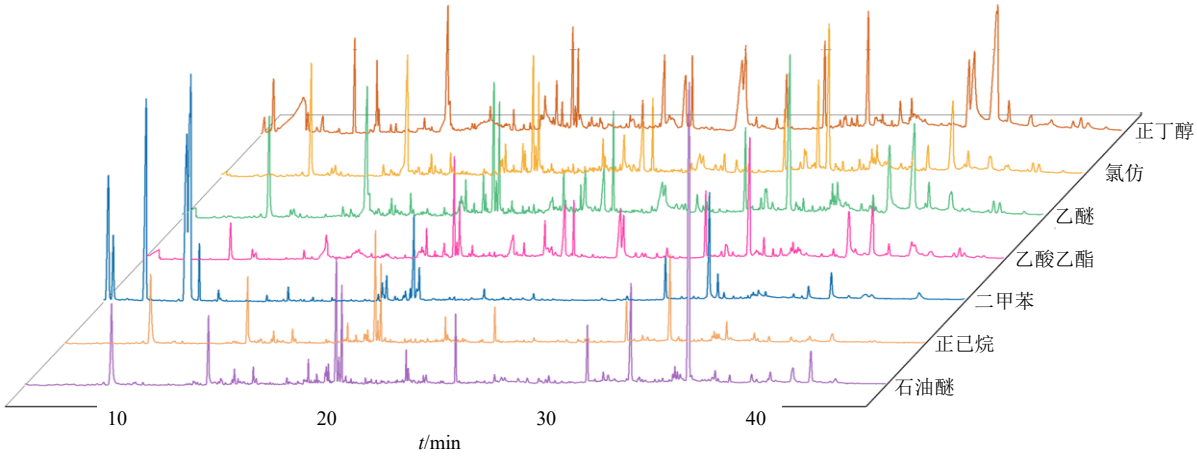


图 1　小续命汤挥发性成分总离子流图

Fig. 1　Total ion folw chromatogram of volatile components ofof Xiaoxuming Decoction

3.2　小续命汤挥发性成分检测结果

对 7 种不同萃取溶剂萃取下的小续命汤基准样品进行进样检测，依据“2.3”项下的检测条件进行成分筛选，结果见表 2。

3.3　不同萃取组小续命汤挥发性成分百分含量

对 7 种不同萃取溶剂处理的小续命汤基准样品进样检测，并基于峰面积归一化法对各挥发性成分进行定量，绘制不同挥发性成分在不同萃取溶剂溶出情况以及平均归一化百分含量气泡图，结果见图 2。

3.4　小续命汤挥发性成分分类

通过 GC-MS/MS 分析可知，使用 7 种不同萃取溶剂萃取的小续命汤中的挥发性成分共分为 11 类，分别是酯类、酚类、酮类、酸类、烷烃类、醛类、醇类、酰胺类、萜类、烯类和醚类。酯类化合物检出最多，占总检出化合物的 22.23%；其次是酚类化合物，占 15.97%；酮类化合物位列第 3，占 12.69%。占比最低的为醚类化合物，仅占 1.58%（图 3-A）。

醋酸乙酯萃取时，检测到 11 类化合物共 31 种，是 7 种溶剂中检测种类和数量最多的。氯仿、正己烷为萃取溶剂时，各检测到 28 种化合物。萃取溶剂是石油醚和乙醚时，分别检测到 26 和 25 种化合物。正丁醇作为萃取溶剂时检测到 24 种化合物，而二甲苯作为萃取溶剂时，仅检测到 20 种化合物，是 7 种溶剂中检测化合物数量最少的（图 3-B）。

3.5　各挥发性成分的 PLS-DA

PLS-DA 是一种多变量统计分析技术，用于将多个复杂指标简化为 1 个或几个综合指标，以判断不同样本组间是否存在差异，并识别出哪些成分对组间差异具有显著影响。本研究中，利用 7 种不同的萃取溶剂对小续命汤基准样品进行萃取，共检测出 63 种挥发性成分，以 63 种挥发性成分归一化相对百分含量为基础，使用 SIMCA 14.1 对小续命汤基准样品进行 PLS-DA，结果显示自变量拟合指数 R^2_X 为 0.893，因变量拟合指数 R^2_Y 为 0.990，模型预测指数 Q^2 为 0.972。对样本间预测率为 97.2%。R^2 和 Q^2 超过 0.5 说明该模型合格[16]，可以用于小续命汤不同样本的 PLS-DA（图 4），验证 7 种不同萃取溶剂对小续命汤挥发性成分的萃取结果的差异性。

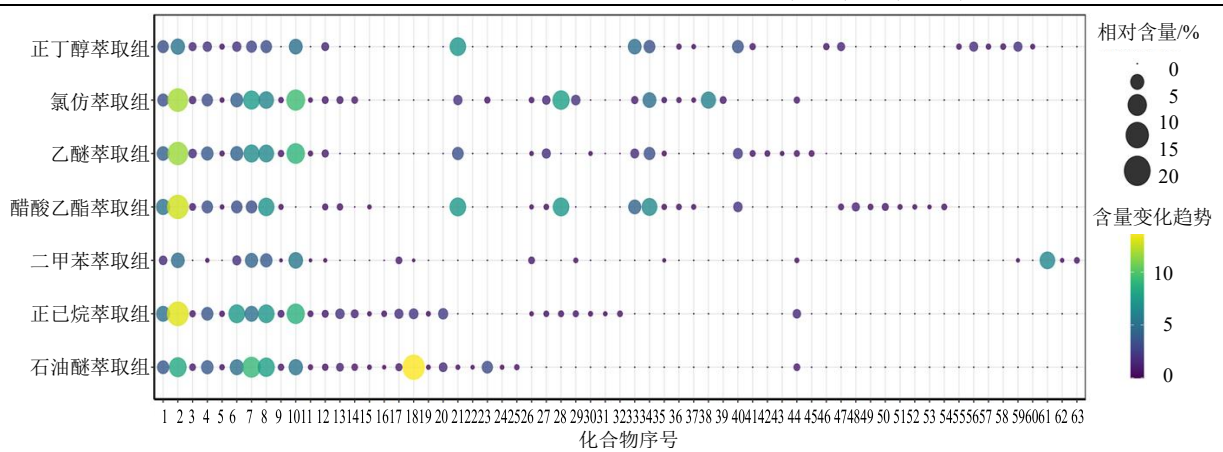
表 2 小续命汤挥发性成分信息

Table 2 Volatile component information of Xiaoxuming Decoction

序号	化合物名称	分子式	CAS 号	MS/MS 碎片离子信息	匹配度值
1	6-姜烯酚	$C_{17}H_{24}O_3$	555-66-8	276.00, 259.10, 219.00, 205.10, 163.05, 137.0	96
2	6-姜辣素	$C_{17}H_{26}O_4$	39886-76-5	294.00, 259.15, 205.05, 179.00, 150.05, 137.02	95
3	10-姜烯酚	$C_{21}H_{32}O_3$	36752-54-2	322.20, 301.00, 316.20, 219.00, 205.10, 163.00	92
4	人参炔醇	$C_{17}H_{24}O$	81203-57-8	229.00, 173.10, 159.05, 141.05, 115.05, 91.05	95
5	姜辣二酮	$C_{17}H_{24}O_4$	61871-71-4	292.15, 261.05, 221.00, 179.05, 137.00, 122.05	96
6	藁本内酯	$C_{12}H_{14}O_2$	81944-08-3	190.10, 161.05, 148.00, 105.05, 77.00, 55.00	97
7	顺式肉桂醛	C_9H_8O	57194-69-1	131.01, 103.00, 51.00, 133.00	95
8	洋川芎内酯 A	$C_{12}H_{16}O_2$	63038-10-8	107.05, 79.05, 77.05, 192.20, 57.10, 159.10	95
9	5-羟基-1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-3-十二酮	$C_{19}H_{30}O_4$	77398-92-6	322.20, 287.10, 273.00, 179.05, 150.00, 137.05	90
10	香豆素	$C_9H_6O_2$	91-64-5	146.00, 118.00, 90.05, 63.00	92
11	6-异生姜酚	$C_{17}H_{24}O_3$	863913-65-9	276.00, 179.10, 137.05, 122.05, 91.00, 55.05	95
12	8-姜烯酚	$C_{19}H_{28}O_3$	36700-45-5	304.20, 287.20, 219.05, 205.00, 137.05, 119.05	96
13	瑟丹内酯	$C_{12}H_{18}O_2$	6415-59-4	194.15, 165.00, 149.05, 108.00, 79.00, 53.00	96
14	正十七烷	$C_{17}H_{36}$	629-78-7	240.20, 197.00, 155.15, 113.10, 85.00, 71.05	92
15	人参环氧炔醇	$C_{17}H_{24}O_2$	72800-72-7	260.00, 231.00, 161.00, 133.05, 121.00, 91.00	90
16	正三十二烷	$C_{32}H_{66}$	544-85-4	450.00, 169.00, 141.15, 113.10, 85.10, 71.05	90
17	正丁基苯酞	$C_{12}H_{14}O_2$	6066-49-5	190.00, 172.00, 133.00, 105.00, 77.00, 51.00	92
18	邻苯二甲酸二辛酯	$C_{24}H_{38}O_4$	117-81-7	279.00, 261.00, 221.05, 167.00, 149.00, 113.10	91
19	2-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯酚	$C_{14}H_{22}O$	3884-95-5	206.00, 175.00, 169.25, 135.00, 107.00, 91.00	90
20	7,9-二叔丁基-1-氧杂螺[4.5]癸-6,9-二烯-2,8-二酮	$C_{17}H_{24}O_3$	82304-66-3	276.15, 261.10, 217.10, 205.00, 174.00, 135.00	91
21	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	60-33-3	280.20, 263.00, 196.15, 164.10, 136.00, 109.10	93
22	2*H*-1-苯吡喃-6-醇,2-[(3*E*)-4,8-二甲基-3,7-九烯-1-基]-3,4-四氢-2,8-二甲基	$C_{22}H_{32}O_2$	155661-15-7	329.00, 328.15, 285.05, 246.00, 217.00, 192.10	93
23	芥酸酰胺	$C_{22}H_{43}NO$	112-84-5	337.30, 306.10, 229.05, 212.00, 140.10, 126.00	91
24	正二十一烷	$C_{21}H_{44}$	629-94-7	296.20, 284.20, 239.00, 197.00, 169.00, 141.00	93
25	抗坏血酸二棕榈酸酯	$C_{38}H_{68}O_8$	28474-90-0	652.00, 256.20, 213.00, 157.00, 129.10, 85.00	94
26	姜酮	$C_{11}H_{14}O_3$	122-48-5	194.10, 137.05, 119.00, 91.00, 65.00	93
27	2-单棕榈酸甘油	$C_{19}H_{38}O_4$	23470-00-0	330.15, 312.00, 299.25, 257.25, 239.00, 193.15	91
28	汉黄芩素	$C_{16}H_{12}O_5$	632-85-9	284.00, 269.00, 241.05, 213.00, 167.00, 139.00	91
29	千层纸素 A	$C_{16}H_{12}O_5$	480-11-5	284.05, 269.00, 241.05, 210.00, 167.00, 139.00	91
30	乙酸二十二烷基酯	$C_{24}H_{48}O_2$	822-26-4	368.00, 350.20, 167.10, 139.10, 111.00, 97.10	93
31	正五十四烷	$C_{54}H_{110}$	5856-66-6	589.00, 547.00, 141.15, 113.00, 85.00, 71.05	90
32	(1*R*,2*R*)-rel-1-乙烯基-2-(1*E*)-环丙烷	$C_{11}H_{18}$	22822-99-7	150.00, 107.00, 79.05, 77.00	91
33	反油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	112-79-8	282.00, 264.25, 222.20, 193.15, 165.00, 137.10	92
34	洋川芎内酯 H	$C_{12}H_{16}O_4$	912359-25-2	180.15, 151.10, 55.05, 95.05, 165.10, 224.15	97
35	香兰素	$C_8H_8O_3$	121-33-5	152.05, 151.10, 81.00, 123.00, 109.00	95
36	萜品	$C_{10}H_{20}O_2$	80-53-5	139.10, 108.10, 96.00, 81.05, 59.00	92
37	4-姜辣素	$C_{15}H_{22}O_4$	77398-90-4	266.00, 231.00, 205.00, 179.00, 150.05, 137.00	96
38	油酸酰胺	$C_{18}H_{35}NO$	301-02-0	281.00, 238.00, 184.20, 140.10, 126.10, 83.05	90
39	十六碳酰胺	$C_{16}H_{33}NO$	629-54-9	255.00, 212.10, 170.15, 128.10, 86.05, 72.00	91
40	棕榈酸	$C_{16}H_{32}O_2$	57-10-3	256.20, 227.00, 213.20, 185.00, 157.00, 129.1	96
41	肉桂酸	$C_9H_8O_2$	621-82-9	147.05, 131.00, 103.05, 51.00	96
42	正十六烷	$C_{16}H_{34}$	544-76-3	226.00, 197.20, 155.15, 113.10, 85.10, 57.05	90
43	美迪紫檀素	$C_{16}H_{14}O_4$	32383-76-9	270.05, 255.00, 226.05, 197.10, 161.05, 148.00	91
44	邻甲氧基肉桂醛	$C_{10}H_{10}O_2$	76760-43-5	162.05, 147.00, 131.05, 91.05, 65.00	93

表 2（续）

序号	化合物名称	分子式	CAS 号	MS/MS 碎片离子信息	匹配度值
45	邻苯二甲酸二丁酯	$C_{16}H_{22}O_4$	84-74-2	278.05, 223.00, 167.05, 149.00, 104.00, 57.05	91
46	硬脂酸	$C_{18}H_{36}O_2$	57-11-4	284.00, 255.20, 241.00, 199.00, 185.00, 143.10	91
47	5-*O*-甲维阿斯米醇	$C_{16}H_{18}O_5$	80681-42-1	290.10, 261.00, 257.10, 231.05, 213.00, 186.00	90
48	阿魏酸	$C_{10}H_{10}O_4$	1135-24-6	133.00, 195.00, 77.00, 177.00, 105.00	97
49	肉桂醇	$C_9H_{10}O$	104-54-1	134.05, 115.05, 105.00, 92.00, 51.00	97
50	升麻素	$C_{16}H_{18}O_6$	37921-38-3	306.00, 273.05, 247.00, 229.00, 205.00, 173.00	95
51	反式角鲨烯	$C_{30}H_{50}$	111-02-4	410.10, 350.25, 270.05, 231.20, 137.05, 121.10	90
52	洋川芎内酯 I	$C_{12}H_{16}O_4$	94596-28-8	224.00, 206.00, 180.00, 151.05, 123.00, 95.00	92
53	Z-亚丁基苯酞	$C_{12}H_{12}O_2$	72917-31-8	189.10, 188.00, 159.05, 131.00, 103.05, 76.00	90
54	4-[(*E*)-2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙烯基]-2-甲氧基苯酚	$C_{16}H_{16}O_4$	7329-69-3	273.10, 272.00, 239.10, 211.00, 169.00, 115.05	90
55	2,3-二氢-3,5 二羟基-6-甲基-4(*H*)-吡喃-4-酮	$C_6H_8O_4$	28564-83-2	144.00, 115.00, 101.00, 73.00, 72.00, 55.00	90
56	1,1-二异丁氧基-2-甲基丙烷	$C_{12}H_{26}O_2$	13262-24-3	159.10, 129.00, 73.00, 71.00, 57.05	91
57	1-丁氧基-1-异丁氧基丁烷	$C_{12}H_{26}O_2$	20266-12-0	159.10, 129.00, 103.00, 73.05, 57.00, 55.00	91
58	5-羟甲基糠醛	$C_6H_6O_3$	67-47-0	126.00, 97.00, 69.00	92
59	2-甲氧基-4-乙烯苯酚	$C_9H_{10}O_2$	7786-61-0	150.10, 135.05, 107.05, 77.00, 79.05, 151.10	94
60	二丁基苯甲醛缩醛	$C_{15}H_{24}O_2$	5395-8-4	163.10, 151.05, 107.05, 77.00, 57.00	90
61	3-甲基苄醇	$C_8H_{10}O$	587-03-1	22.05, 107.05, 91.05, 79.05, 77.05, 93.05	90
62	1,2-二对甲苯基乙烷	$C_{16}H_{18}$	538-39-6	105.05, 210.10, 79.05, 77.05	91
63	新川芎内酯	$C_{12}H_{18}O_2$	4567-33-3	108.05, 79.05, 53.05, 137.00, 220.10	94



化合物序号对应表 2 中各成分的序号。

The compound serial numbers correspond to the serial numbers of each component in table 2.

图 2　小续命汤各挥发性成分在不同萃取溶剂组中的归一化相对含量气泡图（*n* = 3）

Fig. 2　Bubble chart showing normalized percentage content of each volatile component in Xiaoxuming Decoction across different extraction solvent groups (*n* = 3)

为了验证小续命汤 PLS-DA 模型的有效性，进行置换检验。经过 200 次置换检验后，Q^2 回归线与纵轴的相交点小于 0，因此模型不存在过拟合，说明模型有效。可以认为该次 PLS-DA 结果可靠[17]，用于证明小续命汤使用不同萃取溶剂所萃取的样本之间的差异性。

根据 PLS-DA 结果，使用 7 种不同溶剂萃取下小续命汤基准样品的所有样本均在 95%置信区间。且各萃取溶剂处理组形成了不同的聚类（图 4），存在显著差异。

3.6　小续命汤挥发性成分筛选分析

VIP 是 PLS-DA 中的一个重要指标[18]。它被用来衡量每个变量在解释响应变量（如分类或回归目标变量）中的重要性。当挥发性成分的 VIP 值＞1 时[19]，可以认为该挥发性成分为小续命汤中的重要差异性成分，通过分析在不同萃取溶剂下，小续命汤中哪些挥发性成分导致了各组间的差异性。能够在研究小续命汤的不同挥发性成分时，为最优萃取

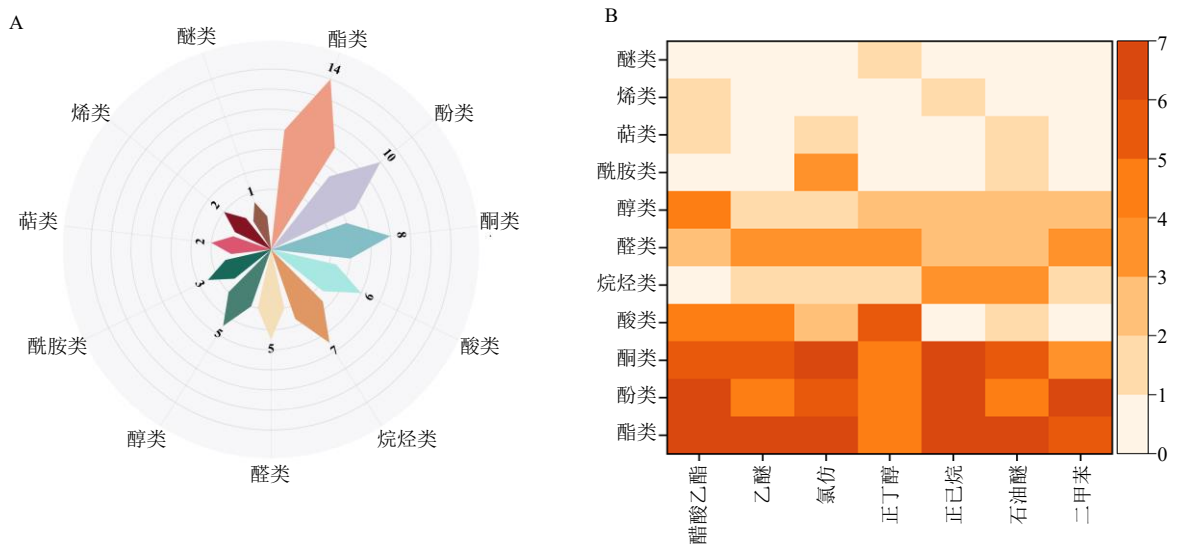


图 3　不同溶剂萃取小续命汤中挥发性成分统计花瓣图 (A) 及不同萃取溶剂中各类挥发性成分热图 (B)

Fig. 3　Statistical petal plot of volatile components in Xiaoxuming Decoction extracted by different solvents (A) and heatmap of various volatile components in different extraction solvents (B)

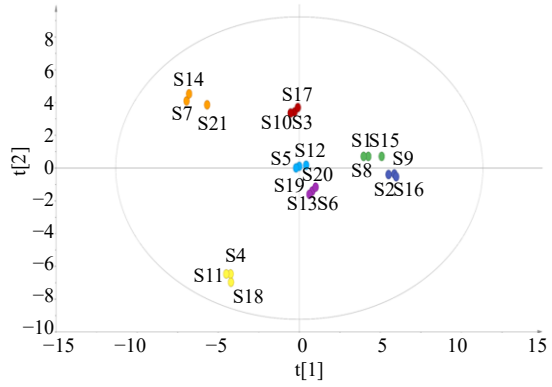


图 4　不同溶剂萃取下小续命汤中挥发性 PLS-DA 聚类分析

Fig. 4　Cluster analysis of volatile PLS-DA in Xiaoxuming decoction under different solvent extraction

溶剂的选择提供合理参考。

在小续命汤的全部 63 种挥发性成分中，共筛选出 20 种具有显著差异的挥发性成分（VIP 值＞1），见表 3。其中主要包括 4-[(*E*)-2-(4-羟基-3-甲氧基苯基) 乙烯基]-2-甲氧基苯酚、洋川芎内酯 H、芥酸酰胺、香豆素、藁本内酯、6-姜辣素、肉桂醇、阿魏酸、升麻素、正丁基苯酞等成分。基于双验证分析结合准则[20]，对 20 种差异挥发性成分进行基于单因素方差分析（One-Way ANOVA）的结合验证，验证结果显示这 20 种成分的 *P* 值均小于 0.05 且 VIP 值大于 1，具有显著性差异，推断它们是影响小续命汤不同萃取溶剂萃取组间差异性的关键因素。

表 3　不同溶剂萃取下小续命汤中差异挥发性成分 VIP 值得分 (VIP＞1)

Table 3　VIP scores for differential volatile components in Xiaoxuming Decoction in different extraction solvents (VIP > 1)

编号	化合物名称	VIP 值	编号	化合物名称	VIP 值
23	芥酸酰胺	1.110 50	35	香兰素	1.103 51
18	邻苯二甲酸二辛酯	1.110 48	48	阿魏酸	1.099 18
10	香豆素	1.110 25	54	4-[(*E*)-2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙烯基]-2-甲氧基苯酚	1.098 86
28	汉黄芩素	1.109 58	6	藁本内酯	1.097 90
34	洋川芎内酯 H	1.109 40	17	正丁基苯酞	1.094 84
7	顺式肉桂醛	1.109 16	53	Z-亚丁基苯酞	1.094 75
33	反油酸	1.109 08	20	7,9-二叔丁基-1-氧杂螺[4.5]癸-6,9-二烯-2,8-二酮	1.094 03
21	亚油酸	1.108 63	40	棕榈酸	1.092 25
50	升麻素	1.106 78	49	肉桂醇	1.088 43
2	6-姜辣素	1.105 37	25	抗坏血酸二棕榈酸酯	1.084 32

血性卒中方面历史悠久。历代医家均证实其具有显著疗效[21]。现代医学研究也支持这一传统观点[22]。

对小续命汤的 63 种挥发性成分进行综合评分，评分指标为该成分在不同萃取溶剂中的峰面积、该挥发性成分的归一化相对含量[23]以及该成分在中药系统药理学数据库与分析平台 TCMSP（https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php）数据库的口服利用度。前 2 项指标权重设置为 40，后一项指标权重设置为 20，不同萃取溶剂中共有成分取权重最高的唯一值，总分为 100。根据综合评分对成分进行筛选。7 种不同萃取溶剂中，分别选取综合评分最高的 3 种挥发性成分作为该溶剂的具有代表性的重要挥发性成分。将各代表性成分与小续命汤缺血性卒中的潜在关键靶点白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）、血管内皮生长因子 A（vascular endothelial growth factor A，VEGFA）和肿瘤蛋白 p53（tumor protein p53，TP53）[24]进行分子对接验证。

从 7 种不同萃取溶剂中共筛选出 21 种综合得分较高的挥发性成分（表 4）。分子对接最低结合能越小，分子与蛋白结合越好，当结合能≤−5.0 kcal/mol（1 kcal＝4.2 kJ）时判定结合较为稳定，可筛选为具有潜在活性的挥发性成分。因此根据分子对接结果可知，平均结合能低于−5 kcal/mol 的成分[25]共有 7 种。分别为洋川芎内酯 A、6-姜辣素、顺式肉桂醛、人参炔醇、美迪紫檀素、8-姜烯酚、姜辣二酮，其中平均结合能最低的为洋川芎内酯 A（图 5）。

4 讨论

目前小续命汤的非挥发性成分研究较为多见，对其全方挥发性成分的研究未见报道。本研究参考常用中药成分提取的溶剂类别[26]，选取极性顺序由小到大依次为石油醚、正己烷、二甲苯、氯仿、乙醚、醋酸乙酯、正丁醇的 7 种不同萃取溶剂。利用 GC-MS/MS 技术检测小续命汤中的挥发性成分，通过分析 7 种不同萃取溶剂的溶出类型和数量，共检测到 11 类 63 种挥发性成分。对各萃取溶剂组挥发性成分的归一化相对含量进行初步分析发现，醋酸

表 4　不同溶剂中重要挥发性成分分子对接结果

Table 4　Molecular docking results of important volatile components in different solvents

萃取溶剂	重要挥发性成分	峰面积得分	含量得分	口服利用度得分	综合得分	结合能/(kcal·mol^{-1})		
						IL-6	VEGFA	TP53
石油醚	芥酸酰胺	19.78	31.71	5.57	57.06	−4.65	−2.64	−3.66
	8-姜烯酚	33.71	11.44	4.75	49.91	−6.18	−3.41	−5.47
	正十七烷	13.31	25.12	1.73	40.16	−4.11	−4.38	−4.01
正己烷	邻苯二甲酸二辛酯	4.23	44.12	8.12	44.35	−1.94	−2.15	−2.03
	正丁基苯酞	17.14	7.93	11.01	36.08	−2.51	−2.62	−2.71
	正三十二烷	14.41	8.46	1.61	24.48	−1.21	−1.50	−1.35
二甲苯	香豆素	15.32	31.56	2.24	49.12	−3.32	−3.41	−3.51
	3-甲基苄醇	6.21	21.33	10.49	38.03	−2.51	−2.77	−3.04
	姜酮	10.24	12.42	5.04	27.71	−4.45	−4.02	−3.95
氯仿	姜辣二酮	39.27	29.55	1.77	70.59	−5.45	−5.14	−5.28
	千纸素 A	22.02	26.22	8.27	56.51	−4.11	−4.21	−4.62
	十六碳酰胺	21.16	16.02	3.96	41.14	−1.51	−2.33	−3.16
乙醚	美迪紫檀素	41.21	13.64	12.09	66.94	−6.25	−5.13	−5.01
	人参炔醇	41.24	13.23	8.67	63.14	−4.45	−5.21	−4.54
	邻苯二甲酸二丁酯	23.28	16.14	12.91	52.43	−4.89	−4.78	−5.12
醋酸乙酯	洋川芎内酯 A	32.44	27.43	13.65	73.52	−5.72	−5.71	−5.95
	顺式肉桂醛	30.12	11.11	5.44	46.67	−5.61	−5.73	−5.49
	6-姜辣素	21.43	17.84	7.13	46.40	−4.01	−6.92	−5.40
正丁醇	5-羟甲基糠醛	13.44	16.12	9.01	38.57	−3.20	−3.06	−3.07
	2,3-二氢-3,5 二羟基-6-甲基-4(*H*)-吡喃-4-酮	18.42	12.61	7.56	38.59	−0.93	−3.01	−3.27
	硬脂酸	7.19	10.14	3.56	20.89	−3.00	−3.26	−3.52

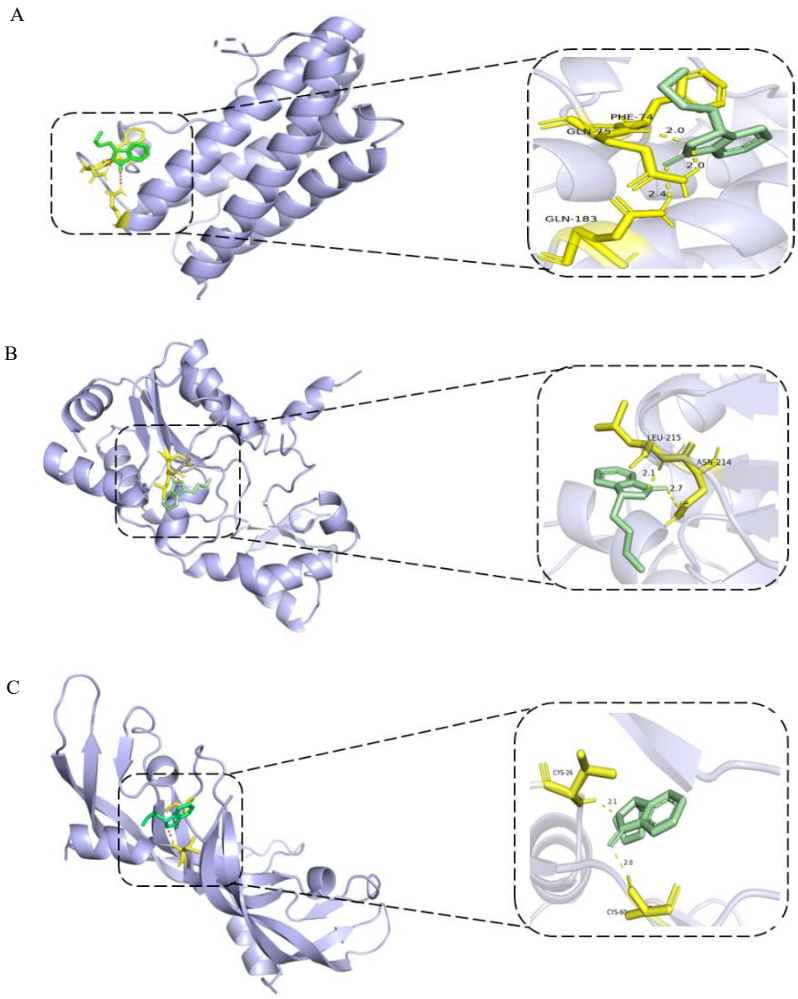


图 5　洋川芎内酯 A 与 IL6 分子 (A)、TP53 分子 (B) 和 VEGFA 分子 (C) 的对接模式图

Fig. 5　Docking models of ligustilide A with IL-6 molecule (A), TP53 molecule (B), and VEGFA molecule (C)

乙酯、氯仿和乙醚萃取组的成分平均含量高于其他 4 组，结合 PLS-DA，各萃取溶剂组间存在一定差异。因此，在研究小续命汤挥发性成分时，选择合适的萃取溶剂至关重要。

小续命汤中，挥发性成分以酯类和酚类为主。醋酸乙酯作为中等极性溶剂，与这些成分具有更强的相溶性，符合“相似相溶”原则，因此能够有效萃取出更多种类和数量的挥发性成分。结合各成分的归一化相对含量，醋酸乙酯萃取组的成分种类、平均含量均高于其他溶剂组，表现出较好的萃取效果。氯仿和乙醚的极性略低于醋酸乙酯，对部分挥发性成分（如酚类和内酯类）也有较好的提取能力，挥发性成分的种类、数量、平均含量略低于醋酸乙酯萃取组，高于正己烷、石油醚、二甲苯萃取组。正己烷、石油醚、二甲苯作为低极性溶剂，主要萃取低极性化合物。二甲苯是《中国药典》中挥发油提取乙法中推荐萃取溶剂，因此更适合萃取非极性或弱极性挥发油，而对小续命汤中以酯类和酚类为主的中等极性挥发性成分表现出较弱的萃取效果。正己烷的极性略高于石油醚，因此正己烷萃取组检出的挥发性成分种类略高于石油醚组，7 种溶剂中正丁醇极性最大，对挥发性成分的溶解能力较弱，导致其萃取的挥发性成分数量、平均含量较低。

基于刘昌孝院士于 2016 年提出的中药质量标志物理论[27]，结合药学研究应服务临床用药原则，筛选各萃取溶剂组中综合得分最高的代表性挥发性成分。根据分子对接验证结果，7 种挥发性成分显示出其较强的结合能力。洋川芎内酯 A 具有对缺血性脑损伤具有保护作用，可通过抑制氧化应激和细胞凋亡，改善神经功能障碍[28]。6-姜辣素、顺式肉桂醛能够通过调节血脂水平和改善血管功能，表现出抗血栓和心血管保护作用[29-30]。人参炔醇、美

迪紫檀素则能够通过抑制神经炎症和氧化应激，起到神经元保护作用[31-32]。姜辣二酮、8-姜烯酚已经被证实具有抗血栓和心血管保护作用[33]。对 7 种筛选出的成分的药理作用进行进一步分析发现，这些成分多聚焦于神经保护，心血管保护等方面。结合小续命汤临床研究相关文献报道[34]，推断这些成分可能是小续命汤治疗缺血性卒中的关键物质基础。因此，这些挥发性成分也可考虑作为小续命汤制剂量值传递研究的潜在标志挥发性成分，用于评价制剂的质量和工艺流程的稳定性。综上所述，在小续命汤挥发性成分的研究中，可以考虑将醋酸乙酯、氯仿及乙醚作为优选萃取溶剂。

本研究的局限性主要在于研究范围仅限于小续命汤基准样品，尚未对其他制剂形式或不同工艺条件下的挥发性成分变化进行全面探讨，且分子对接结果尚未进行动物活性验证。后续研究将进一步优化定量方法，对鉴定出的潜在标志挥发性成分实现精准定量，并扩展研究范围至小续命汤的整体制剂流程及不同工艺环节，并结合动物活性实验验证。以更全面地揭示其挥发性成分的特性和规律。

在中药现代化研究中，尤其是具有多种挥发性成分的药材或组方，挥发性成分的研究是确保中药制剂质量和疗效一致性的关键环节之一。本研究从 7 种极性不同、溶解度不同、结构不同的常用萃取溶剂出发，分析了小续命汤中挥发性成分的存在情况。结合化学计量学分析与生物信息技术分析，探讨了不同萃取溶剂对小续命汤挥发性成分溶出的影响，筛选不同萃取溶剂中的潜在标志挥发性成分、并优选出最适合用于小续命汤挥发性成分研究的萃取溶剂，为经典名方小续命汤的制剂开发与挥发性成分的研究提供了科学依据，并为其他经典名方的挥发性成分研究提供了重要研究思路，对推动中药现代化研究具有重要意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 马贝娜, 白昀川, 宋萍, 等. 中药挥发油提取精制技术研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(11): 6606-6610.

[2] 胡存玉, 曹小霞, 王先林, 等. 川芎挥发油化学成分、制剂及药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(3): 124-130.

[3] 崔庆丽. 基于网络药理学探讨人参挥发性成分治疗胃癌的作用机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2022.

[4] 国家中医药管理局. 关于发布《古代经典名方目录 (第一批)》的通知 [EB/OL]. (2018-04-13) [2019-05-20]. http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7017.html.

[5] 庄欣雅, 张倩, 江悦, 等. 古代经典名方含挥发性成分中药的提取工艺进展与生产策略分析 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(1): 363-367.

[6] 陈建强, 侯金萍. 从临床实践看小续命汤的新价值[J]. 中国实用医药, 2024, 19(13): 170-174.

[7] 王梦雷, 陈平, 杨雨婷, 等. 古代经典名方小续命汤的处方关键信息考证 [J]. 中药药理与临床, 2022, 38(4): 179-186.

[8] 李泽钊, 洪震, 芮汉臣, 等. 浅议小续命汤的源流 [J]. 内蒙古中医药, 2017, 36(15): 138-139.

[9] 郑雷, 陈翔, 尹博炜, 等. 洋川芎内酯 A 对单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化的作用及机制研究 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2020, 26(2): 237-242.

[10] 管咏梅, 蒋成, 臧振中, 等. 川芎挥发油化学成分、药理作用及临床应用研究进展 [J].中成药, 2024, 46(3): 873-880.

[11] 黄敏, 程珂, 马春松, 等. 6-姜烯酚对斑马鱼肝脏细胞炎症通路和抗氧化作用的影响 [J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(1): 202-209.

[12] 胡晓晴, 熊娟, 范国华, 等. 姜酮在博来霉素诱导小鼠肺纤维化中的保护作用及机制研究 [J]. 医学研究杂志, 2021, 50(11): 60-64.

[13] 顾春涛, 王雅莹, 朱军莉, 等. 顺反式肉桂醛对肉源隆德假单胞菌生物被膜和致腐性的抑制作用 [J]. 微生物学报, 2020, 60(1): 26-35.

[14] 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.

[15] 邱光明, 邱隆, 杨平. 中国科学技术史度量衡卷 [M]. 北京: 科学技术出版社, 2017: 416.

[16] 邵淑贤, 徐梦婷, 林燕萍, 等. 基于电子鼻与 HS-SPME-GC-MS 技术对不同产地黄观音乌龙茶香气差异分析 [J]. 食品科学, 2023, 44(4): 232-239.

[17] 郭英杰, 郭智鑫, 卞建明, 等. 气相色谱-质谱结合相对气味活性值分析不同干燥方式对桂花浸膏与净油香气成分的影响 [J]. 食品科学, 2024, 45(14): 151-160.

[18] 刘泽, 张硕, 徐欣雨, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的枳实炮制前后化学成分的比较研究 [J]. 中药材, 2024, 47(9): 2208-2214.

[19] 谢佳灵, 陈佳瑜, 袁海波, 等. 基于电子舌和代谢组学评价不同等级滇红茶汤非挥发性差异组分 [J]. 中国食品学报, 2024, 24(6): 354-368.

[20] Yun J, Cui C J, Zhang S H, *et al*. Use of headspace GC/MS combined with chemometric analysis to identify the geographic origins of black tea [J]. *Food Chem*, 2021, 360:

130033.

[21] 刘思民, 于志峰. 小续命汤治疗缺血性卒中可行性探讨 [J]. 河北中医, 2024, 46(9): 1549-1553.

[22] 丁慧敏, 李彦杰, 秦合伟, 等. 基于 HIF-1α/BNIP3 信号通路探讨小续命汤对脑缺血-再灌注损伤大鼠线粒体自噬的调控机制 [J]. 中药材, 2024, 47(4): 1004-1010.

[23] 李小敏, 宫贺, 梁浩明, 等. 经典名方当归补血汤中挥发性成分量值传递规律研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(9): 2017-2025.

[24] 王飞, 徐莉莉, 张雅珍, 等. 基于网络药理学和动物实验探讨小续命汤治疗缺血性卒中的作用机制 [J]. 中成药, 2023, 45(7): 2398-2402.

[25] 邹旭欢, 付雪琴, 王玮玮, 等. 基于网络药理学和分子对接分析小续命汤治疗阿尔茨海默病的作用机制 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2023, 21(19): 3497-3506.

[26] 匡海学, 冯卫生. 中药化学 [M]. 第 4 版. 北京: 中国中医药出版社, 2021: 6862.

[27] 刘昌孝. 从中药资源-质量-质量标志物认识中药产业的健康发展 [J]. 中草药, 2016, 47(18): 3149-3154.

[28] Li Y, Zhang J, Zhang Y. Ligustilide: A review of its pharmacology, pharmacokinetics,and toxicity [J]. *Neuropharmacol*, 2018, 136(Part B): 408-421.

[29] Rao P V, Gan S H. Cinnamon: A multifaceted medicinal plant [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2014, 2014: 642942.

[30] Zhang M Z, Viennois E, Prasad M, *et al*. Edible ginger-derived nanoparticles: A novel therapeutic approach for the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer [J]. *Biomaterials*, 2016, 101: 321-340.

[31] 邹丹丹, 林晨. 人参炔醇在肿瘤治疗中的研究进展 [J]. 中国医药科学, 2024, 14(18): 42-45.

[32] 赖克道, 陆国寿, 黄周锋, 等. 美迪紫檀素及其衍生物的植物来源及药理作用的研究进展 [J]. 广西医学, 2023, 45(1): 92-97.

[33] Nicoll R, Henein M Y. Ginger (*Zingiber officinale* roscoe): A hot remedy for cardiovascular disease? [J]. *Int J Cardiol*, 2009, 131(3): 408-409.

[34] 刘萱, 侯惠玲, 宋伟鹏, 等. 小续命汤对神经系统疾病的治疗作用及机制研究进展 [J]. 药学前沿, 2024, 28(11): 536-549.

[责任编辑 王文倩]