

祛白片挥发油的 GC-MS 分析及其对黑色素瘤细胞 B16 脱黑色素模型的影响

段松冷¹, 韦元元², 顾红燕³, 刘俊丽¹, 田佳懿¹, 刘敏¹, 孙路路^{1*}

(1. 首都医科大学附属北京世纪坛医院药学部, 北京 100038; 2. 临床合理用药生物特征谱学评价北京市重点实验室, 北京 100038; 3. 临床合理用药生物特征谱学评价国际合作联合实验室, 北京 100038)

摘要:目的 对祛白片挥发油进行 GC-MS 分析, 研究其对黑色素瘤细胞 B16 脱黑色素模型的影响。方法 水蒸气蒸馏法提取挥发油后, GC-MS 分析鉴定其成分。 H_2O_2 诱导建立 B16 细胞脱黑色素模型, 在光镜下观察细胞生长状态, CCK-8 法检测脱黑色素细胞增殖, NaOH 裂解法检测黑色素形成, 酶标法检测挥发油对酪氨酸酶活性的影响。结果 挥发油成分中 1-甲基-2, 4-二(丙-1-烯-2-基)-1-乙基环己烷含量最高, (2*E*, 4*E*)-deca-2, 4-二醛次之, 4*a*-甲基-1-亚甲基-7-(丙-1-烯-2-基)十氢萘再次之。祛白片各剂量挥发油作用 24 h 后脱黑色素细胞数、细胞增殖活性、黑色素合成增加, 作用 48 h 后减少。不同剂量祛白片挥发油对酪氨酸酶呈不同趋势作用。结论 祛白片挥发油中含量最高的为脂肪烃类, 其次为环烃类, 有促进脱黑色素细胞生长繁殖、升高黑色素水平的作用。

关键词: 祛白片; 挥发油; GC-MS; 小鼠黑色素瘤细胞 B16; 促黑色素; 酪氨酸酶

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)06-2045-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.06.058

首都医科大学附属北京世纪坛医院自制中药制剂祛白片(原名白癜片)是由蒺藜(炒)、制何首乌、黑芝麻(炒)、补骨脂、女贞子、北沙参、决明子、香橼、赤芍、丹参、桃仁(炒)、红花、独活、苍术(炒)、白芷组成的复方制剂, 具有滋补肝肾、活血通络的功效, 可用于治疗肝郁肾亏、血虚瘀阻、皮失所养之白癜风, 其临床疗效稳定可靠, 受到患者广泛好评^[1-2]。为实现祛白片制剂成果转化, 本研究从其特征图谱入手建立了祛白片的质量标准, 并考察了全方药效学。顾红燕等^[3-4]研究祛白片对实验性白癜风模型的作用机制, 证实了祛白片的抗白癜风作用, 并确定药效与促进黑色素形成相关。因祛白片制备工艺为水煎煮, 提取过程中全方药材挥发油几乎完全流失。因此, 为最大限度地保留处方饮片所有可能的有效成分, 进一步提高疗效, 本研究采用水蒸气蒸馏法提取祛白片挥发油, GC-MS 联用技术分离鉴定其成分, 并用 CCK-8 法检测祛白片挥发油对小鼠黑色素瘤细胞 B16 的细胞生长、促细胞活力、黑色素合成、酪氨酸酶活性的影响^[4], 以期优化祛白片工艺规程, 进一步提高疗效提供依据。

1 材料

1.1 仪器 Trace 气相-质谱联用仪(美国 Thermo Finnigan

公司); MCO-15AC 型 CO_2 培养箱(日本 SANYO 公司); COIC XDS-1B 型显微镜(重庆重光实业有限公司); RT-TDL-40B 型离心机(上海安亭科学仪器厂); YT-CJ-1ND 型无菌操作台(北京亚泰科隆仪器科技有限公司)。

1.2 试剂与药物 蒺藜(炒)、制何首乌、黑芝麻(炒)、补骨脂、女贞子、北沙参、决明子、香橼、赤芍、丹参、桃仁(炒)、红花、独活、苍术(炒)、白芷饮片均购自北京金崇光药业有限公司, 经首都医科大学附属北京世纪坛医院孙路路主任药师鉴定为正品。8-甲氧补骨脂素(8-MOP, 批号 M3501-1, 纯度 98%)、过氧化氢(H_2O_2 , 批号 H1009-100 mL)均购自美国 Sigma 公司。

1.3 细胞 小鼠黑色素瘤细胞 B16(编号 3111C0001CCC000324), 购自中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心。

2 方法与结果

2.1 GC-MS 分析

2.1.1 挥发油制备 按 1 剂祛白片处方量的 10% 称取所需饮片, 按 2020 年版《中国药典》四部 2204 挥发油测定法^[5-6], 加热处方并保持微沸 5 h 至挥发油提取器中油量不再增加, 即得(性状为黄色油状物)。

2.1.2 分析条件 B-5MS 色谱柱(0.25 mm × 30 m,

收稿日期: 2021-09-18

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项项目(2017ZX09301-040); 首都医科大学附属北京世纪坛医院青年基金项目(2015-q12)

作者简介: 段松冷(1982—), 女, 硕士, 主管药师, 从事医院制剂化学成分及生物活性研究。Tel: (010) 63926342, E-mail: duansongleng@126.com

* 通信作者: 孙路路(1958—), 女, 教授, 主任药师, 从事医院制剂及临床药学研究。Tel: (010) 63926362, E-mail: sunlulu@263.net

0.25 μm); 程序升温 (初始温度 50 $^{\circ}\text{C}$, 保持 3 min; 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$, 保持 10 min); 载气高纯氮气; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 0.5 μL ; 气化温度 270 $^{\circ}\text{C}$; 分流进样, 分流比 20 : 1。EI 离子源 70 eV; 离子源温度 200 $^{\circ}\text{C}$; 全扫描采集模式, 质量范围 m/z 35~450。

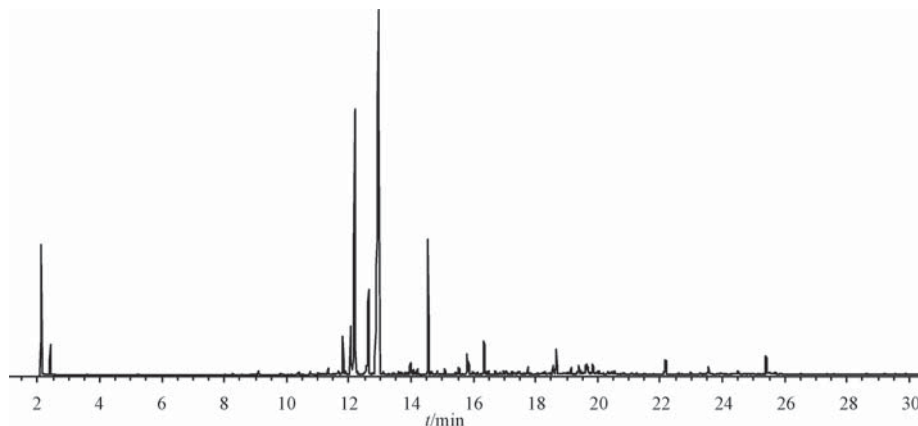


图 1 挥发油 GC-MS 图

2.2 药效学研究

2.2.1 模型建立 参考文献 [9] 报道制备 B16 细胞悬液, 血球计数板计数, 培养液 (10% FBS、DMEM、1% P/S) 稀释细胞, 24、96 孔板铺板, 每孔均 10 000 个细胞, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养, 24 h 后更换含 0.1 mmol/L H_2O_2 的培养液, 与细胞共同孵育 4 h 后吸弃培养基, 即得脱黑色素细胞, DMEM 清洗 1 次, 更换含不同药物的培养液。

2.2.2 细胞生长状态观察 将细胞分为模型组、溶剂组、8-MOP 组 (10、25、50、100、500 $\mu\text{mol/L}$)、祛白片挥发

2.1.3 结果分析 采用 NIST 谱库检索, 结合保留时间确认化学成分, 按峰面积归一化法进行计算^[7-8]。如图 1、表 1 所示, 挥发油水蒸气蒸馏法提取率为 0.169 0%, 从祛白片挥发油中分离出的 66 个峰, 确定了 53 个化合物, 占挥发油的 64.30%。

油组 (0、1 : 30 000、1 : 20 000、1 : 16 000、1 : 10 000、1 : 8 000), 模型组细胞造模后同步加入相同体积的培养基, 后续与实验组平行; 由于挥发油及 8-MOP 均是以 DMSO 配制所得, 故设溶剂组, 原液稀释 1 000 倍, 其余操作与实验组平行; 8-MOP 组、祛白片挥发油组分别加入相应药物, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 24、48 h, 在倒置显微镜下观察脱黑色素细胞形态学变化, 并在光镜下拍照, 结果见图 2。由此可知, 与模型组比较, 祛白片挥发油组作用 24 h 后细胞数增加, 而 48 h 后减少; 8-MOP 组作用 24、48 h 后细胞数均增加, 并呈时间、剂量依赖性。

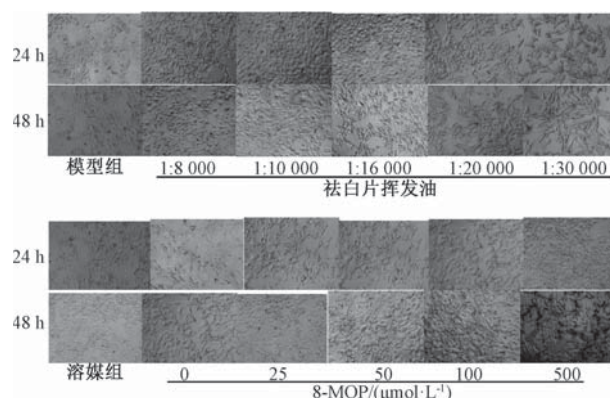


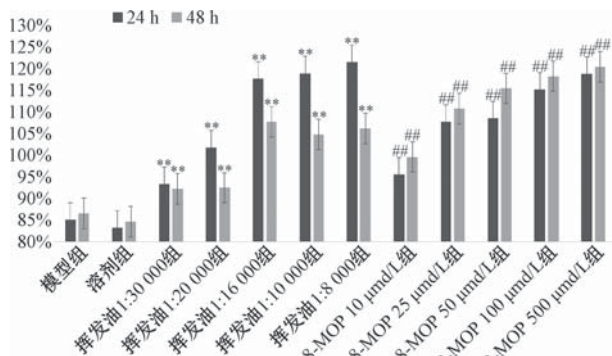
图 2 各组脱黑色素细胞生长 ($\times 100$)

2.2.3 CCK-8 法检测挥发油对黑色素细胞增殖的影响 取对数生长期 B16 细胞, 胰酶消化, 制成密度为 1×10^4 /孔的单细胞悬液, 接种于 96 孔培养板上, 每孔 100 μL , 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 24 h, 按“2.2.1”项下方法建立模型, 按“2.2.2”项下分组, 另设对照组 (不含细胞), 每组设 5 个复孔, 加入相应药物处理 24、48 h, 吸去上清, 更换为含 CCK-8 的溶液 (CCK-8 : DMEM = 1 : 10),

置于培养箱中培养 4 h, 采用酶标仪在 450 nm 波长处测定光密度 (OD) 值, 计算细胞增殖率^[10], 结果见图 3。由此可知, 与模型组比较, 祛白片挥发油组细胞增殖率升高 ($P < 0.01$); 与溶剂组比较, 8-MOP 组细胞增殖率升高 ($P < 0.01$), 提示脱黑色素细胞增殖率与药物浓度呈正相关, 8-MOP 组细胞增殖率与作用时间呈正相关, 祛白片挥发油组细胞增殖率与作用时间呈负相关。

表 1 挥发油成分 GC-MS 分析结果

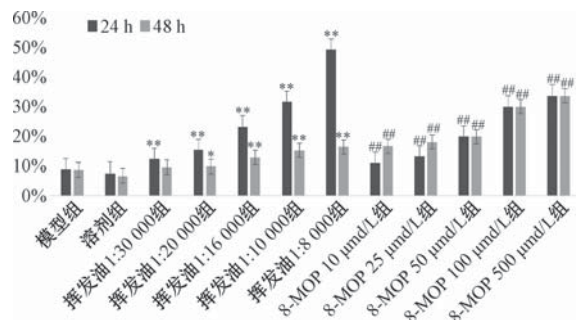
编号	t_R/min	成分	分子式	分子量/Da	含量/%
1	3.69	3-甲基环戊酮	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}$	98	1.38
2	3.73	己醛	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	100	0.15
3	5.96	2,6,6-三甲基双环[3.1.1]庚-2-烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	0.54
4	6.51	苯甲醛	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}$	106	1.73
5	7.24	5-异丙基-2-甲基环己烷-1,3-二烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	0.92
6	7.57	<i>p</i> -异辛	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}$	134	1.86
7	7.67	1-甲基-4-(丙基-1-烯-2-基)环己-1-烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	5.43
8	7.69	1-异丙基-4-亚甲基双环[3.1.0]己烷	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	0.13
9	8.12	1-异丙基-4-甲基环己烷-1,4-二烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	1.79
10	8.34	2-(5-甲基-5-乙烯基四氢呋喃-2-基)丙-2-醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_2$	170	0.07
11	8.57	3,7,7-三甲基双环[4.1.0]庚-2-烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	0.27
12	8.65	1-甲基-4-(丙-1-烯-2-基)苯	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}$	132	0.19
13	8.76	2,3-二甲基环己-1,3-二烯	C_8H_{12}	108	0.92
14	8.83	3,7-二甲基辛基-1,6-二烯-3-醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	154	0.15
15	9.10	4-异丙基-1-甲基环己-2-烯-1-醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	154	0.13
16	9.45	6,6-二甲基双环[3.1.1]庚烷-2-酮	$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}$	138	0.30
17	9.59	(1 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-1,7,7-三甲基双环[2.2.1]庚烷-2-酮	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	152	0.07
18	10.13	1-异丙基-4-甲基环己-3-烯-1-醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	154	0.30
19	10.36	2-(4-甲基环己-3-烯-1-基)丙-2-醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	154	0.24
20	10.72	2-异丙基-1-甲氧基-4-甲苯	$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}$	164	0.15
21	11.33	1-(4-羟基-2-甲基苯基)乙-1-酮	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2$	150	2.41
22	11.81	(1 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-1,7,7-三甲基双环[2.2.1]庚烷-2-基乙酸盐	$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_2$	196	0.97
23	12.20	(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)-癸二烯醛	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	152	8.03
24	12.64	反-1-甲基-5-异丙烯基-环己烯-2-醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	152	0.11
25	12.97	1-甲基-2,4-二(丙-1-烯基-2-基)-1-乙烯基环己烷	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	9.48
26	13.07	4a-甲基-1-亚甲基-7-(丙-1-烯基-2-基)十氢萘	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	5.74
27	13.29	1,4,9,9-四甲基-2,4,5,6,7,8-六氢-3 <i>H</i> -3a,7-甲基萘	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	0.13
28	13.52	(<i>Z</i>)-11,11-二甲基-8-亚甲基双环[7.2.0]十一-4-烯	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}$	190	0.09
29	13.58	1-异丙基-7-甲基-4-亚甲基-1,2,3,4,4a,5,6,8a-十八氢萘	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	0.23
30	13.69	1-异丙基-6-甲基-3-(丙-2-亚基)-6-乙烯基环己-1-烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	0.35
31	13.96	(1 <i>E</i> ,4 <i>E</i> ,8 <i>E</i>)-2,6,6,9-四甲基环十一烷	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	0.21
32	14.18	4a-甲基-1-亚甲基-7-(丙-2-亚基)十氢萘	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	0.77
33	14.25	1-甲基-4-(6-甲基庚-5-烯-2-基)苯	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}$	202	1.08
34	14.41	4a-甲基-1-亚甲基-7-(prop-1-en-2-基)十氢萘	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	0.30
35	14.56	3,5,5-三甲基-9-亚甲基-2,4a,5,6,7,8,9,9a-八氢-1 <i>H</i> -苯并[7]环烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	5.69
36	14.71	1-甲基-2-(丙-1-烯-2-基)-4-(丙-2-亚基)-1-乙烯基环己烷	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	0.26
37	14.78	4-碘丙基-1,6-二甲基-1,2,3,4-四氢萘	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}$	202	0.77
38	14.98	(<i>E</i>)-3,7-二甲基辛酸-2,6-二烯-1-基乙酸	$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_2$	196	3.13
39	15.13	2-[4-甲基-3-(丙-1-烯-2-基)-4-乙烯基环己基]丙-2-醇	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	196	0.34
40	15.56	1a,3,3-三甲基-5-亚甲基十氢-2 <i>H</i> -环丁烯[1,2]茚并[5,6- <i>b</i>]氧化烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}$	218	0.18
41	16.13	2-(4a,8-二甲基-1,2,3,4,4a,5,6,7-十八氢萘-2-基)丙-2-醇	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	222	0.26
42	16.27	2,2,4a-三甲基-8-亚甲基十烷	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	0.12
43	16.34	2-(4a-甲基-8-亚甲基十氢萘-2-基)丙-2-醇 1	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	222	1.82
44	16.90	[1,1'-联苯]-4-乙醛	$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}$	182	0.24
45	16.72	6-甲基-2-(4-甲基环己-3-烯-1-基)庚-5-烯-2-醇	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	222	0.20
46	17.68	9 <i>H</i> -氟烷-2-醇	$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}$	182	0.31
47	18.56	6,10,14-三甲基十五烷-2-酮	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}$	268	0.39
48	19.63	棕榈酸	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	268	0.52
49	19.88	(<i>E</i>)-4-(3,7-二甲基-3-乙烯基-1,6-二烯-1-基)苯	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}$	256	0.33
50	21.22	7-甲氧基-8-(3-甲基-2-烯-1-基)-2 <i>H</i> -铬-2-酮	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_3$	244	0.81
51	22.17	十六烷	$\text{C}_{16}\text{H}_{34}$	226	0.86
52	25.41	十三烷	$\text{C}_{19}\text{H}_{40}$	267	0.96
53	25.52	二十烷	$\text{C}_{20}\text{H}_{42}$	283	0.47



注：与模型组比较，** $P < 0.01$ ；与溶剂组比较，## $P < 0.01$ 。

图3 挥发油对脱黑色素细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.2.4 NaOH裂解法检测挥发油对黑色素形成的影响 按“2.2.3”项下方法分组、培养及给药，加入相应药物培养48 h后弃上清液，PBS (pH 7.4) 洗涤2次，加入200 μ L含10% DMSO的1 mol/L NaOH溶液，80 $^{\circ}$ C恒温水浴保温2 h，充分裂解细胞和溶解黑素颗粒，采用酶标仪在490 nm波长处测定OD值，计算促黑色素生成率^[11]，结果见图4。由此可知，与模型组比较，作用24 h后祛白片挥发油组细胞促黑色素生成率升高 ($P < 0.01$)，48 h后除祛白片挥发油1:30 000组外继续升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与溶剂组比较，8-MOP组细胞促黑色素生成率升高 ($P < 0.01$)，提示细胞促黑色素生成率与药物浓度呈正相关，8-MOP组细胞的促黑色素生成率与作用时间呈正相关，祛白片挥发油组细胞促黑色素生成率与作用时间呈负相关。

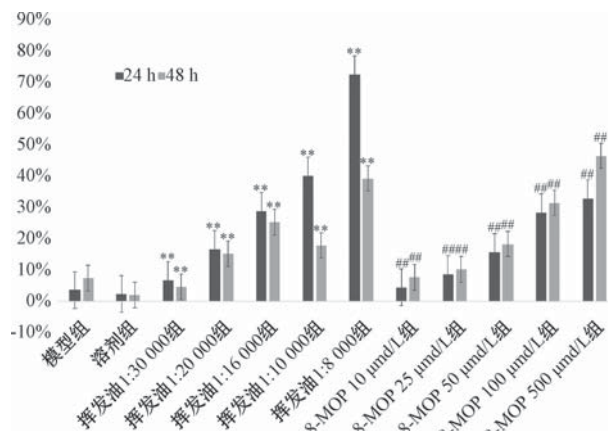


注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与溶剂组比较，## $P < 0.01$ 。

图4 挥发油对黑色素形成的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.2.5 酶标法检测挥发油对酪氨酸酶活性的影响 脱黑色素细胞接种于96孔板，按“2.2.2”项下分组，加入相应药物处理24、48 h后弃去培养液，PBS洗涤2次，每孔加入1% TritonX-100溶液90 μ L，迅速放入-80 $^{\circ}$ C冰箱中孵育30 min，随后室温融化使细胞完全破裂，在37 $^{\circ}$ C下预温后加入10 g/L L-DOPA溶液 (100 μ L/孔)，在37 $^{\circ}$ C下孵育30 min，采用酶标仪在490 nm波长检测OD值^[12]，计算酪氨酸酶活性促进率，结果见图5。由此可知，与模型组比较，祛白片挥发油组脱黑色素细胞中酪氨酸酶活性升高 ($P < 0.01$)；与溶剂组比较，8-MOP组脱黑色素细胞中酪氨酸酶活性升高 ($P < 0.01$)，提示脱黑色素细胞中酪氨酸酶

活性与药物浓度呈正相关，8-MOP组脱黑色素细胞中酪氨酸酶活性与作用时间呈正相关，而祛白片挥发油组脱黑色素细胞中酪氨酸酶活性与作用时间呈负相关。



注：纵坐标正值代表促进作用，负值为抑制作用。与模型组比较，** $P < 0.01$ ；与溶剂组比较，## $P < 0.01$ 。

图5 挥发油对酪氨酸酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3 讨论

3.1 祛白片挥发油成分分析 由提取中药挥发油制成的中成药在现代疾病治疗、预防保健中已被广泛应用^[13]。本研究采用GC-MS技术^[14]对祛白片挥发油的化学成分及含量进行考察，结果显示，挥发油成分中1-甲基-2, 4-二 (prop-1-en-2-基) -1-乙基环己烷最高，(2E, 4E)-癸二烯醛 (8.03%) 次之，4a-甲基-1-亚甲基-7- (prop-1-en-2-基) 十氢萘含量排名第3。分析结果表明，祛白片挥发油成分中含量最高的为脂肪烃类，其次为环烃。将祛白片挥发油成分，与方中君药蒺藜的挥发油^[15]比较可知，蒺藜中含量最高的 (2E, 4E)-癸二烯醛 (9.16%) 在祛白片挥发油中次高，祛白片挥发油中含量最高的1-甲基-2, 4-二 (prop-1-en-2-基) -1-乙基环己烷在蒺藜的挥发油中没有检测到，方中臣药补骨脂挥发油中含量最多的石竹烯 (36.24%)^[16]在祛白片中也未检测到，可能是在提取祛白片挥发油的过程中，发生了多种复杂的化学变化，使得挥发油在成分和含量上都与单味药成分存在较大差异。

3.2 阳性药物的选择 8-MOP加长波紫外线或日光照射是治疗白癜风应用最多的一种方法，其临床上应用的口服片剂、胶囊、针剂、酊剂等对白癜风均有一定的治疗作用^[17]。由于8-MOP结构简单、易与DNA发生作用，生物活性较易发挥作用，故选择其为阳性对照药物，考察祛白片挥发油的抗白癜风作用。

3.3 祛白片挥发油对小鼠黑色素瘤细胞B16脱黑色素模型的影响 与模型组比较，祛白片挥发油作用24 h后各剂量挥发油均可使细胞数增加，但作用48 h后细胞数较之前有所减少。8-MOP组给药24、48 h后对脱黑色素细胞的增殖作用呈时间和剂量依赖性。祛白片挥发油对脱黑色素细胞增殖活性及黑色素水平的研究结果与以上情况类似。祛白片挥发油给药48 h后结果不佳，可能是因为挥发油理化性

质较为特殊^[18]，在室温下极易挥发，48 h 后，挥发油含量已下降，药效也随之降低。祛白片挥发油对 B16 细胞脱黑色素模型具有一定的促进生长繁殖和升高黑色素水平的作用。本研究可作为祛白片制备工艺改进的依据，建议在祛白片饮片水提之前进行挥发油的收集以及环糊精包合^[19-21]，以提高挥发油的稳定性，增强祛白片的疗效，更好的满足患者的临床需求。

参考文献:

- [1] 屠善庆. 中药白癜风片治疗白癜风 349 例白癜风疗效观察[J]. 北京医学, 1991, 13(3): 182-183.
- [2] 屠善庆. 中药白癜风片与部分外用氮芥酒精治疗白癜风 112 例疗效观察[J]. 铁道医学, 1983, 11(4): 232-233.
- [3] 顾红燕, 韦元元, 金 锐, 等. 祛白片对实验性白癜风模型的疗效学及其作用机制探讨[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(19): 1741-1746.
- [4] 顾红燕, 韦元元, 卢文超, 等. 祛白片对小鼠 B16 脱黑色素细胞模型促黑色素生成的影响[J]. 中成药, 2020, 42(7): 1910-1914.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [7] 肖宇硕, 卢金清, 黄 立, 等. 复方加味温胆汤挥发性成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(19): 82-85.
- [8] 陈凌霄, 张 帅, 胡德俊, 等. 顶空-气相色谱/质谱联用分析比较雪菊不同产地和部位的挥发性成分[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(2): 251-255.
- [9] Guan C P, Xu W, Hong W S, *et al.* Quercetin attenuates the effects of H₂O₂ on endoplasmic reticulum morphology and tyrosinase export from the endoplasmic reticulum in melanocytes[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(6): 4285-4290.
- [10] 李 敏, 周明伟, 刘翔宇, 等. 复方倍他米松注射液对小鼠 B16 黑色素瘤细胞增殖及黑色素生成的影响[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(7): 1253-1254.
- [11] Ullah S, Kang D, Lee S, *et al.* Synthesis of cinnamic amide derivatives and their anti-melanogenic effect in α -MSH-stimulated B16F10 melanoma cells[J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 161(1): 78-92.
- [12] 杨 倩, 杨 俭. 8-甲氧补骨脂素药理作用研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2014, 19(10): 1177-1182.
- [13] 黄睿珏, 李若阳, 王诗渝, 等. 中药挥发油防治心血管疾病研究进展[J]. 中国现代中药, 2022, 24(1): 169-175.
- [14] 谢 景, 何金明. GC-MS 技术在植物挥发油检测分析中的应用研究进展[J]. 韶关学院学报, 2020, 41(6): 61-65.
- [15] 霍 昕, 刘建华, 高玉琼, 等. 蒺藜挥发性成分的 GC-MS 分析[J]. 中国药房, 2014, 25(11): 1025-1027.
- [16] 刘 朋, 徐琳琳, 吕青涛, 等. 顶空进样 GC-MS 结合保留指数分析补骨脂挥发性成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 74-76.
- [17] 韩瑞玲, 罗顺德, 何 文, 等. 8-甲氧补骨脂素脂质体凝胶对实验性白癜风的药效学[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(5): 270-272.
- [18] 曹桂萍, 郭立玮. 50 味常用中药挥发油的理化性质研究[J]. 化工时刊, 2009, 23(3): 23-29.
- [19] 孙恩轶. 挥发油的提取和包合工艺的研究[J]. 江西化工, 2014, 30(2): 89-95.
- [20] 郝晶晶, 李海亮, 龚慕辛. 挥发油环糊精包合技术的研究进展及存在问题分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2): 352-356.
- [21] 李 哲, 丁 媛, 黄 浩, 等. 近红外光谱和混料实验设计研究 β -环糊精差异化包封挥发油成分: 以包合 α -蒎烯、月桂烯和 3-蒎烯为例[J]. 中国药学, 2021, 30(6): 524-537.