

· 药学基础 ·

GC-MS结合保留指数法解析太行菊挥发油的化学成分

薛淑娟, 杨江凯, 陈随清*

(河南中医药大学药学院, 河南省中药资源与中药化学重点实验室, 郑州 450046)

[摘要] 目的:研究太行菊挥发油的成分组成,为该药材的综合开发提供参考依据。方法:以小白菊、小黄菊和野菊花作为对照,采用气相色谱-质谱法(GC-MS)结合保留指数法对太行菊及3个对照菊花品种的挥发油进行定性及定量分析,GC条件为程序升温(初始温度60℃,保持2min;以5℃·min⁻¹升温至120℃,保持2min;以2℃·min⁻¹升温至180℃,保持3min;以8℃·min⁻¹升温至240℃,保持5min;以10℃·min⁻¹升温至280℃,保持5min),载气为高纯度氦气,分流比50:1;MS条件为电子轰击离子源(EI),离子源温度230℃,电子碰撞能量70eV,检测范围 m/z 30~445。采用主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)筛选太行菊与3个对照菊花品种中挥发油的差异性成分,明确其特征性。结果:分别从太行菊、小白菊、小黄菊和野菊花的挥发油中鉴定出了86、96、112、109个化合物,其中四者共有成分73个。太行菊与对照菊花品种的挥发油含量差异较大,其中太行菊中 α -侧柏酮、桉油精和4-松油烯醇的相对含量较高;而对照菊花品种中樟脑、桉油精和 α -乙酸松油酯的相对含量均较高。PCA和OPLS-DA分析共筛选出11个化合物作为区分太行菊和3个对照菊花品种的特征性成分,其主要差异成分为兰香油萹和 δ -杜松烯。结论:太行菊挥发油主要含醇类、萜烯类、酮类及酯类成分,药用价值较高;GC-MS结合保留指数法可提高挥发油定性分析的准确性,可为太行菊的开发与利用提供参考。

[关键词] 太行菊; 气相色谱-质谱法(GC-MS); 保留指数; 挥发油; 定性分析; 化学计量学; 菊花

[中图分类号] R22;R931;R28;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)15-0120-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211864 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210903.1123.002.html>

[网络出版日期] 2021-09-03 15:19

Analysis of Chemical Constitutions of Volatile Oil in *Opisthopappus taihangensis* by GC-MS Combined with Retention Index

XUE Shujuan, YANG Jiangkai, CHEN Suiqing*

(School of Pharmacy, Henan Key Laboratory of Chinese Medicine Resources and Chemistry, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To study the composition of volatile oil in *Opisthopappus taihangensis* (Taihangju), and provide a reference for comprehensive development of this medicine. **Method:** Taking *Chrysanthemum morifolium* (Xiaobaiju), *C. morifolium* (Xiaohuangju) and *C. indicum* (Yejuhua) as control, the qualitative and quantitative analysis of volatile oil in Taihangju and three control varieties were completed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) combined with retention index method. The GC conditions were as following: programmed temperature (initial temperature at 60℃, kept for 2 min; up to 120℃ with the heating rate of 5℃·min⁻¹, still kept for 2 min; up to 180℃ with the heating rate of 2℃·min⁻¹, kept for 3 min; and then up to 240℃ with the heating rate of 8℃·min⁻¹, kept for 5 min; finally up to 280℃ with the heating rate of 10℃·min⁻¹, kept it for 5 min and finished), high-purity helium as the carrier gas, the split ratio of 50:1.

[收稿日期] 2021-07-02

[基金项目] 河南省中药材产业技术体系项目(豫农科教[2018]14号);国家公共卫生服务补助专项“全国中药资源普查项目”(豫财社[2019]40号)

[第一作者] 薛淑娟,博士,讲师,从事中药质量标准研究,E-mail:sjxue3901@163.com

[通信作者] *陈随清,博士,教授,从事中药品种整理与质量评价研究,Tel:0371-65676686,E-mail:suiqingchen0371@163.com

MS conditions were as follows: electron impact ion source (EI), ion source temperature of 230 °C, electron collision energy of 70 eV and scanning range of m/z 30-445. Principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were used to obtain the characteristic components between Taihangju and the three control varieties. **Result:** A total of 86, 96, 112 and 109 compounds including 73 common components were identified in Taihangju, Xiaobaiju, Xiaohuangju and Yejuhua, respectively. The contents of volatile components in Taihangju were significantly different from that of the control varieties. In which, the relative contents of α -thujone, eucalyptol and terpinen-4-ol were high in Taihangju, and eucalyptol, camphor and α -terpinyl acetate were the main compositions in the control varieties. In addition, 11 compounds were screened as characteristic components to distinguish Taihangju and the three control varieties by PCA and OPLS-DA, including main differential components of chamazulene and δ -cadinene. **Conclusion:** The main components of volatile oil in Taihangju includes alcohols, terpenes, ketones and esters with high medicinal value. The accuracy of qualitative analysis of volatile oil is improved by GC-MS combined with retention index method, which provides scientific reference for development and utilization of Taihangju.

[Keywords] *Opisthopappus taihangensis*; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); retention index; volatile oil; qualitative analysis; stoichiometry; Chrysanthemi Flos

太行菊为菊科太行菊属多年生草本植物,具有清肝明目、清热润喉的功效^[1]。其分布区域较窄,主要分布于我国南太行山区域,如河南的新乡、焦作等地,为国家珍稀保护植物^[2-3]。太行菊属分类学上归属于菊科菊蒿亚族,与菊属亲缘关系较近,二者形态和结构类似,具有相似的化学成分^[4]。现代研究表明,菊花化学成分复杂,主要含有黄酮、挥发油、有机酸、萜烯等成分,具有显著的抗菌、抗氧化、抗肿瘤等药理活性^[5]。其中挥发油为其主要活性成分,挥发油中的单萜烯类、倍半萜烯类及其含氧衍生物等物质具有抗菌、抗炎作用,是菊花发挥抗菌作用的主要物质基础^[6]。太行菊作为我国特有的菊花种类,主要含有黄酮类、多酚类等化合物,具有显著的抗氧化、抑菌等作用^[7-8],当地居民常将太行菊泡茶、入食或作为野菊花入药,具有较大的研究及开发价值。

太行菊花色洁白、淡雅,香气浓郁,其植物通体富含芳香油,干燥后香味持久。但目前对太行菊的研究多集中在分类学、种质资源、部分化学成分及药理活性方面,尚无关于其挥发油的报道。挥发油是植物中广泛分布的一类化合物,其研究方法通常是依据谱图检索的匹配度高低来进行成分确认。由于植物挥发油普遍存在同分异构体,因此仅仅依靠气相色谱-质谱法(GC-MS)数据库中化合物的相似度匹配,很难对其中成分进行准确定性。保留指数(RI)的运用可以较好地鉴别同分异构体或同系物,避免了在定性过程中出现误判,提高了准确性^[9]。因此,本实验拟采用GC-MS结合RI法对太

行菊挥发油进行成分分析,并以小白菊、小黄菊和野菊花作为对照,探究太行菊挥发油的特征性,为该药材的深度开发与利用奠定基础,并为太行菊的临床应用提供依据。

1 材料

TSQ 8000 Evo型气相色谱质谱联用仪(赛默飞世尔科技有限公司),BS224S型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),Milli-Q型超纯水系统(美国密理博公司),FW177型中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)。C8-C20系列正构烷烃标准溶液(美国Sigma-Aldrich公司,批号115321-02-4PAK)。太行菊药材采自河南省焦作太行山区域,对照菊花品种(野菊花、小黄菊和小白菊)采自河南省武陟县和温县,具体信息见表1;所有药材经河南中医药大学陈随清教授鉴定,其中鉴定太行菊为菊科植物太行菊*Opisthopappus taihangensis*的干燥头状花序,野菊花为菊科植物野菊花*Chrysanthemum indicum*的干燥头状花序,而小黄菊和小白菊均为菊科植物菊*C. morifolium*的干燥头状花序。太行菊原植物保存在河南中医药大学药学院中药标本馆。

2 方法

2.1 挥发油的提取 参照2020年版《中华人民共和国药典》(四部)通则2204挥发油测定法甲法进行挥发油提取。分别取太行菊、野菊花、小白菊和小黄菊药材适量,粉碎,过二号筛,备用。取上述粗粉各60.0 g,加入蒸馏水600 mL及少许沸石,浸泡4 h,在挥发油测定仪上蒸馏至挥发油量不再增加,静置分液。取上层挥发油,用无水 Na_2SO_4 干燥后置于

表1 太行菊及对照菊花品种的样品信息

Table 1 Sample information of Taihangju and its control varieties

样品	采集地点	采集时间
太行菊-1	焦作太行山区域	2020-11-20
太行菊-2	焦作太行山区域	2020-11-20
太行菊-3	焦作太行山区域	2020-11-20
小白菊-1	武陟县东刘村	2020-11-17
小白菊-2	武陟县东刘村	2020-11-17
小白菊-3	武陟县东刘村	2020-11-17
小黄菊-1	温县保和堂	2020-11-15
小黄菊-2	温县保和堂	2020-11-15
小黄菊-3	温县保和堂	2020-11-15
野菊花-1	温县黄河滩区	2020-11-15
野菊花-2	温县黄河滩区	2020-11-15
野菊花-3	温县黄河滩区	2020-11-15

4 °C冰箱中备用。精密吸取挥发油 10 μL,用正己烷稀释并定容至 1 mL,于 4 °C、12 000 r·min⁻¹离心处理 10 min(离心半径 8.6 cm),即得。

2.2 GC-MS 条件 GC 条件为 HP-5MS 弹性石英毛细管柱(0.25 mm×30 m, 0.25 μm),载气高纯氦气,进样量 0.8 μL,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样口温度 230 °C,分流比 50:1,程序升温(初始温度 60 °C,保持 2 min;以 5 °C·min⁻¹升温至 120 °C,保持 2 min;以 2 °C·min⁻¹升温至 180 °C,保持 3 min;以 8 °C·min⁻¹升温至 240 °C,保持 5 min;以 10 °C·min⁻¹升温至 280 °C,保持 5 min)。MS 条件为电子轰击离子源(EI),电子碰撞能量 70 eV,离子源温度 230 °C,溶剂延迟时间 2.5 min,扫描方式为全扫描,检测范围 m/z 30~445。

2.3 RI 的计算 将 C8-C20 系列正构烷烃标准溶液按 2.2 项下条件测定其保留时间(t_R),按公式 $RI=100Z+100 \times [t_R(x) - t_R(Z)] / [t_R(Z+1) - t_R(Z)]$ 计算 RI^[10],式中 x 表示待分析的化合物; Z 表示正构烷烃的碳原子数,且 $t_R(Z) < t_R(x) < t_R(Z+1)$ 。采用自动质谱退卷积定性系统(AMDIS)进行自动质谱退卷积处理样品总离子流图(TIC),通过美国国家标准与技术研究院(NIST)14 质谱库检索的 RI 参考值与 RI 计算值比较,以质谱相似度和 RI 接近度最高的化学结构为最佳结果,从而对化合物进行准确性。

2.4 数据处理 采用 SIMCA-P 14.0 对太行菊和对照菊花品种的挥发油相对质量分数进行主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA),寻找差异化学标记物;采用 SPSS 20.0 对差异

成分进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义;采用 Origin 8.0 对差异成分进行图表分析。

3 结果

3.1 挥发油总量的测定 采用水蒸气蒸馏法对太行菊及 3 个对照菊花品种进行挥发油提取,根据挥发油提取器上的读数计算挥发油的提取率,结果太行菊、野菊花、小白菊和小黄菊的挥发油提取率分别为 0.53%、0.42%、0.33% 和 0.39%。

3.2 数据分析

3.2.1 图谱重叠峰的拆分 挥发油化学成分复杂,存在许多同分异构体及同系物,所得 TIC 中存在大量重叠峰,对分析结果具有一定的干扰性。AMDIS 基于模型峰的算法,将形状与保留值完全相同的碎片峰重新组合,去除其他干扰峰,形成相对“纯净”的 MS 图谱,从而对化合物进行准确性^[10]。例如,选择 6.531~6.595 min 的 TIC,运行 AMDIS 后该段显示含 20 个化合物,选择扫描点 scan1213(6.565 min)的“提纯”MS 图谱,运行“go to NIST MS program”命令,NIST Library 给出的最佳匹配化合物为 camphene,即蒎烯,匹配率高达 95%,scan1213 的原始图谱经检索后最佳匹配物仍为 camphene,但匹配率相对较低,为 80%,表明 AMDIS 对该扫描点的色谱峰进行了剔除纯化,增大了化合物的匹配率,使化合物的鉴定更加准确,具体分析过程见增强出版附加材料。

3.2.2 RI 的应用 将 RI 计算值与 NIST 14 质谱库检索出的 RI 参考值进行比较,以相似度和 RI 接近度最高的化学结构为最佳结果。例如, $t_R=8.92$ min 的色谱峰,通过 GC-MS 的 NIST 14 标准质谱库检索分析,得到匹配度较高的 3 个化合物反式-水合桉烯(*trans*-sabinene hydrate)、1,4-桉叶素(1,4-cineole)和桉油精(eucalyptol),单纯依据检索结果很难确定组分归属,经比对 NIST 14 质谱库检索出的 RI 参考值可知,三者的 RI 分别为 1 070、1 031、1 016,根据实测 RI=1 032 可判断该化合物应为桉油精。

3.3 太行菊挥发油的定性及定量分析 将太行菊和 3 个对照菊花品种提取的挥发油及 C8-C20 系列正构烷烃标准溶液按 2.2 项下条件进行分析,得 TIC,见增强出版附加材料。应用 AMDIS 对色谱峰进行纯化,再结合 RI 对化合物进行定性,运用峰面积归一化法对化合物进行相对定量,见表 2。结果发现在鉴定出的成分中,太行菊、小白菊、小黄菊和野菊花四者共有成分 73 个。太行菊挥发油鉴定的 86 个成分占总峰面积的 90.47%,包括 28 种萜烯类

(18.31%,该数值为此类成分的总相对质量分数,下同)、27种醇类(41.56%)、9种酯类(12.49%)、5种酮类(13.14%)、5种醛类(0.93%)、5种酚类(2.43%)及7种其他类(1.61%),其中 α -侧柏酮、桉油精、4-松油烯醇、 α -乙酸松油酯和樟脑的相对含量较高。小白菊挥发油鉴定的96个成分占总峰面积的84.15%,包括37种萜烯类(19.16%)、30种醇类(41.77%)、8种酯类(11.19%)、7种酮类(7.13%)、5种醛类(0.43%)、3种酚类(1.62%)及6种其他类(2.85%),其中樟脑、桉油精、 α -乙酸松油酯、龙脑和4-松油烯醇的相对含量较高。小黄菊挥发油鉴定的112个成分占总峰面积的92.13%,包括42种萜烯类(21.22%)、31种醇类(48.77%)、12种酯类(16.46%)、9种酮类(1.63%)、6种醛类(0.72%)、4种酚类(0.94%)及8种其他类(2.39%),其中樟脑、桉油精、 α -乙酸松油酯、龙脑和乙酸龙脑酯的相对含量较高。野菊花挥发油鉴定的109个成分占总峰面积的90.05%,包括40种萜烯类(27.12%)、31种醇类(43.23%)、11种酯类(14.08%)、9种酮类(1.60%)、6种醛类(0.65%)、4种酚类(0.55%)及8种其他类(2.82%),其中樟脑、桉油精、 α -乙酸松油酯、乙酸龙脑酯、兰香油萹和 δ -杜松烯的相对含量较高。太行菊与对照菊花品种挥发油中均含有萜烯类、醇类、酯类、酮类、醛类等成分,其中主要成分为醇类,其次为萜烯类。太行菊和对照菊花品种的挥发油种类和相对含量差异明显,太行菊挥发油中萜烯类和醇类成分相对较少,相对含量也较低。从单一成分来看,太行菊挥发油中 α -侧柏酮相对质量分数最高,其次是桉油精、4-松油烯醇;其中桉油精相对含量与对照菊花品种接近,均约7%;4-松油烯醇相对含量稍高于对照菊花品种;太行菊挥发油中樟脑相对质量分数明显低于3个对照菊花品种。此外,对照菊花品种挥发油中乙酸龙脑酯和龙脑的相对质量分数均高于太行菊,其中乙酸龙脑酯相对质量分数均>1%,而龙脑相对质量分数在小黄菊中最高,达到6.38%。

3.4 太行菊和对照菊花品种的挥发油差异分析

3.4.1 PCA 为了进一步分析太行菊与3个对照菊花品种的挥发油差异性,将四者共有的73个成分的相对质量分数导入SIMCA 14.1进行PCA处理,得分图见增强出版附加材料。结果显示,第1和第2主成分的贡献率分别为68.4%、18.6%,累积贡献率87.0%,表明前2个主成分所代表的信息已基本能反映出太行菊与3个对照菊花品种的挥发油主要特

征。太行菊与对照菊花品种分布在主成分空间相对独立的区域,基本得到了有效分离,说明太行菊和对照菊花品种的挥发油在种类和相对含量上存在差异。

3.4.2 OPLS-DA 用SIMCA 14.1进行OPLS-DA操作,以寻找太行菊与对照菊花品种中挥发油之间的特征性成分。由于使用有监督的OPLS-DA进行分析时易产生过拟合现象,故采用200次交叉响应的置换检验来验证OPLS-DA模型是否存在过拟合现象,见增强出版附加材料。结果发现 R^2 (模型对数据的解释率)和 Q^2 (模型的预测能力)回归线斜率较大,左边任何1次随机排列产生的 R^2 、 Q^2 实验值均小于右边的原始值,且 Q^2 回归线在Y轴上截距<0,说明建立的OPLS-DA模型有效可靠,不存在过拟合现象,模型预测能力好,可用于后续特征性成分寻找。特征性成分的确定常根据各化合物变量重要性投影(VIP)值及P大小来进行筛选,VIP值越大,说明该变量在判别过程中贡献越大,在样品之间的差异越显著。S-plot图可将观测变量清晰展示在二维平面图上,一般认为位于“S”两翼的观测变量为两组间差异最为显著的化合物,是具有高研究价值的潜在标志物^[9]。选取VIP值>1.5且P<0.05的化合物并结合S-plot图进行差异化合物的筛选,见图1。结果共筛选出来11个特征性成分,即兰香油萹、 δ -杜松烯、薄荷酮、甲基丁香酚、乙酸-4-松油烯醇酯、香芹醇、茅苍术醇、 γ -桉叶醇、 δ -甜没药烯、顺式- β -松油醇和顺式-菊醇。在这11个特征成分中,其中太行菊与小白菊中挥发油之间的特征性成分为兰香油萹、 δ -杜松烯、薄荷酮、甲基丁香酚、乙酸-4-松油烯醇酯、香芹醇和茅苍术醇;太行菊与小黄菊挥发油之间的特征成分为兰香油萹、 δ -杜松烯、 γ -桉叶醇、 δ -甜没药烯、甲基丁香酚、乙酸-4-松油烯醇酯和顺式- β -松油醇;太行菊与野菊花挥发油之间的特征成分为兰香油萹、 δ -杜松烯、 γ -桉叶醇、 δ -甜没药烯、顺式- β -松油醇和顺式-菊醇;而太行菊与3个对照菊花品种中挥发油均具有显著差异的化合物有2种,即兰香油萹和 δ -杜松烯。

3.4.3 单因素方差分析 在明确了太行菊与对照菊花品种中挥发油之间特征性成分的基础上,为进一步比较特征性成分的变化情况,采用SPSS 20.0对各特征性成分进行单因素方差分析,数据分析见增强出版附加材料。结果发现筛选出的11个特征性成分在太行菊和对照菊花品种之间的差异均具有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$),其中兰香油萹和

表2 太行菊与对照菊花品种中挥发油的定性及定量分析($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2 Qualitative and quantitative analysis of volatile oil in Taihangju and its control varieties ($\bar{x}\pm s, n=3$)

No.	t_R /min	化合物	CAS号	RI		相对质量分数/%			
				计算值	参考值	太行菊	小白菊	小黄菊	野菊花
1	4.14	2-甲基丁酸	116-53-0	844	861	0.15±0.02	-	-	-
2	5.88	三环烯	508-32-7	922	925	-	-	0.03±0.00	0.05±0.00
3	5.97	α -侧柏烯	2867-05-2	924	929	0.20±0.03	-	0.09±0.00	0.10±0.00
4	6.17	α -蒎烯	80-56-8	933	937	3.76±0.44	0.72±0.02	0.54±0.01	0.75±0.01
5	6.56	蒎烯	79-92-5	947	952	0.29±0.05	0.07±0.01	0.85±0.02	1.12±0.02
6	6.70	(Z)-2-庚烯醛	57266-86-1	952	958	0.10±0.01	-	0.04±0.00	0.04±0.00
7	7.22	桉烯	3387-41-5	970	974	1.46±0.16	0.30±0.01	0.29±0.01	0.41±0.02
8	7.32	β -蒎烯	127-91-3	974	979	1.40±0.21	0.36±0.01	0.63±0.01	0.70±0.02
9	7.48	2,3-辛二酮	585-25-1	979	984	-	0.03±0.00	0.04±0.00	0.05±0.01
10	7.56	6-甲基-5-庚烯-2-酮	409-02-9	982	986	0.08±0.02	0.02±0.01	0.10±0.01	0.05±0.01
11	7.68	β -月桂烯	123-35-3	988	991	0.18±0.02	0.13±0.01	0.04±0.00	0.24±0.01
12	8.08	α -水芹烯	99-83-2	1 003	1 005	0.16±0.02	0.05±0.01	0.16±0.00	0.09±0.01
13	8.29	异丁酸异戊酯	2050-01-3	1 010	1 015	0.14±0.01	-	0.05±0.01	0.02±0.01
14	8.43	α -松油烯	99-86-5	1 015	1 017	0.93±0.12	0.40±0.01	0.77±0.02	0.72±0.02
15	8.65	p-伞花烃	99-87-6	1 023	1 025	2.16±0.22	1.96±0.08	1.11±0.02	1.02±0.02
16	8.80	柠檬烯	138-86-3	1 028	1 030	0.53±0.13	0.26±0.01	-	-
17	8.90	桉油精	470-82-6	1 031	1 032	7.11±0.55	6.66±0.10	7.69±0.42	7.77±0.30
18	9.19	苯乙醛	122-78-1	1 043	1 045	0.28±0.01	0.10±0.02	0.24±0.02	0.12±0.01
19	9.33	反式- β -罗勒烯	3779-61-1	1 049	1 049	0.06±0.00	-	0.01±0.00	-
20	9.66	γ -松油烯	99-85-4	1 059	1 060	2.34±0.12	1.33±0.04	1.76±0.02	1.57±0.03
21	9.80	4-丁香酚	546-79-2	1 068	1 070	0.08±0.00	-	-	-
22	10.07	氧化芳樟醇	60047-17-8	1 074	1 074	0.09±0.01	-	0.03±0.01	0.01±0.00
23	10.53	异松油烯	586-62-9	1 089	1 088	0.49±0.03	0.25±0.02	0.25±0.22	0.29±0.01
24	10.91	芳樟醇	78-70-6	1 105	1 099	3.68±0.52	2.17±0.06	1.00±0.01	0.60±0.01
25	10.97	2-甲基丁酸-2-甲基丁酯	2445-78-5	1 106	1 105	-	-	0.15±0.00	-
26	11.11	α -侧柏酮	546-80-5	1 110	1 103	8.82±0.09	4.68±0.16	0.68±0.01	0.58±0.01
27	11.20	乙酸辛烯酯	2442-10-6	1 114	1 111	-	-	0.73±0.01	0.57±0.01
28	11.40	β -侧柏酮	471-15-8	1 119	1 114	3.98±0.30	2.14±0.06	0.28±0.02	0.15±0.01
29	11.52	顺式-对薄荷烷-2-烯-1-醇	29803-81-4	1 124	1 122	0.12±0.00	0.03±0.01	0.07±0.00	0.03±0.00
30	11.65	α -龙脑烯醛	4501-58-0	1 129	1 125	0.15±0.02	0.06±0.01	0.08±0.01	0.03±0.01
31	11.78	4-乙酰基-1-甲基-环己烯	6090-09-1	1 134	1 137	0.11±0.01	-	0.01±0.00	-
32	11.93	顺式-马鞭草烯醇	1845-30-3	1 138	1 142	0.07±0.00	0.08±0.01	0.09±0.00	0.05±0.01
33	12.08	顺式- β -松油醇	7299-40-3	1 144	1 144	0.82±0.04	0.35±0.01	0.02±0.00	0.01±0.01
34	12.22	樟脑	76-22-2	1 152	1 145	6.35±0.37	10.6±0.27	19.62±0.49	16.54±0.52
35	12.58	异龙脑	124-76-5	1 160	1 157	0.02±0.01	0.04±0.00	0.14±0.01	0.05±0.00
36	12.75	顺式-菊醇	55722-60-6	1 165	1 162	2.66±0.03	1.59±0.03	0.25±0.00	0.06±0.00
37	12.85	龙脑	507-70-0	1 169	1 167	3.56±0.12	5.35±0.09	6.38±0.09	3.68±0.02
38	13.19	4-松油烯醇	20126-76-5	1 182	1 182	6.52±0.18	5.22±0.10	4.90±0.06	3.69±0.05
39	13.37	对伞花烃-8-醇	1197-01-9	1 188	1 183	0.25±0.02	0.20±0.00	0.31±0.01	0.10±0.01
40	13.55	L- α -松油醇	10482-56-1	1 193	1 190	3.49±0.08	2.79±0.02	3.05±0.03	1.99±0.01

续表 2

No.	t_R /min	化合物	CAS号	RI		相对质量分数/%			
				计算值	参考值	太行菊	小白菊	小黄菊	野菊花
41	13.71	桃金娘烯醛	18486-69-6	1 199	1 193	0.37±0.02	0.21±0.01	0.16±0.01	0.06±0.01
42	14.02	反式-辣薄荷醇	16721-39-4	1 210	1 208	0.12±0.00	0.05±0.01	0.08±0.00	0.04±0.01
43	14.33	香芹醇	99-48-9	1 220	1 219	0.04±0.05	0.20±0.01	0.38±0.02	0.17±0.01
44	14.44	β -环柠檬醛	432-25-7	1 223	1 220	0.03±0.03	0.02±0.00	0.09±0.01	0.02±0.01
45	14.58	橙花醇	106-25-2	1 229	1 228	0.22±0.01	0.09±0.00	0.06±0.00	0.03±0.00
46	14.66	顺式-香芹醇	1197-06-4	1 231	1 229	-	-	0.06±0.00	0.02±0.01
47	15.04	香芹酮	99-49-0	1 244	1 242	0.25±0.02	0.05±0.01	0.04±0.01	0.02±0.01
48	15.35	乙酸芳樟酯	115-95-7	1 254	1 257	1.73±0.13	1.42±0.03	0.56±0.02	0.38±0.01
49	15.56	<i>cis</i> -chrysanthenol acetate	67999-48-8	1 262	1 262	2.21±0.10	1.25±0.03	0.36±0.01	0.13±0.00
50	15.83	壬酸	112-05-0	1 269	1 273	-	0.06±0.00	0.56±0.01	0.18±0.00
51	16.34	乙酸龙脑酯	76-49-3	1 287	1 285	0.74±0.04	1.91±0.03	6.23±0.08	5.41±0.08
52	16.53	百里香酚	89-83-8	1 294	1 291	2.22±0.17	1.44±0.02	0.36±0.01	0.23±0.01
53	16.83	香芹酚	499-75-2	1 303	1 299	0.07±0.01	0.07±0.00	0.12±0.01	0.06±0.00
54	17.33	乙酸-4-松油烯醇酯	4821-04-9	1 316	1 301	0.01±0.00	0.14±0.01	0.21±0.01	0.27±0.01
55	17.40	δ -乙酸松油酯	93836-50-1	1 318	1 315	0.59±0.05	0.40±0.01	0.93±0.01	0.72±0.02
56	18.14	乙酸香芹酯	1205-42-1	1 337	1 336	-	-	0.20±0.01	0.15±0.01
57	18.63	α -乙酸松油酯	80-26-2	1 350	1 350	6.37±0.13	5.80±0.04	6.73±0.07	6.23±0.06
58	18.90	丁香酚	97-53-0	1 357	1 357	0.05±0.01	-	0.07±0.01	0.02±0.01
59	19.15	乙酸橙花酯	141-12-8	1 364	1 364	0.20±0.03	0.06±0.00	0.23±0.01	0.17±0.01
60	19.29	癸酸	334-48-5	1 367	1 373	-	0.91±0.09	0.31±0.03	0.34±0.02
61	19.71	古巴烯	3856-25-5	1 378	1 376	-	0.07±0.02	0.23±0.01	0.24±0.01
62	19.92	乙酸香叶酯	105-87-3	1 384	1 382	0.50±0.05	0.21±0.01	0.08±0.01	0.03±0.00
63	20.18	(-)-isocomene	65372-78-3	1 390	1 386	-	2.96±0.02	1.11±0.02	1.13±0.01
64	20.8	甲基丁香酚	93-15-2	1 405	1 402	0.01±0.00	0.11±0.00	0.39±0.01	0.24±0.01
65	20.85	异丁香烯	118-65-0	1 410	1 406	-	0.11±0.01	0.33±0.01	0.33±0.01
66	21.07	(-)- α -古芸烯	489-40-7	1 412	1 409	-	-	0.07±0.00	0.07±0.01
67	21.29	顺式- α -香柠檬烯	18252-46-5	1 417	1 415	0.25±0.03	1.51±0.01	0.84±0.02	0.87±0.02
68	21.51	石竹烯	87-44-5	1 422	1 419	0.38±0.09	0.32±0.01	0.90±0.02	1.10±0.02
69	21.97	罗汉柏烯	470-40-6	1 433	1 429	-	0.24±0.01	0.11±0.01	0.10±0.01
70	22.48	顺式- β -金合欢烯	28973-97-9	1 444	1 444	0.10±0.01	-	-	-
71	22.81	大根香叶烯D	317819-80-0	1 451	1 448	-	0.04±0.00	0.32±0.01	0.34±0.00
72	22.96	葎草烯	6753-98-6	1 455	1 454	0.14±0.01	0.17±0.00	0.68±0.02	0.77±0.02
73	23.07	(<i>E</i>)- β -金合欢烯	18794-84-8	1 457	1 457	0.18±0.02	0.17±0.01	0.15±0.01	0.19±0.01
74	23.26	香树烯	25246-27-9	1 462	1 461	-	0.03±0.01	0.10±0.01	0.08±0.00
75	23.84	(+)- γ -古芸烯	22567-17-5	1 474	1 473	-	0.18±0.00	0.64±0.02	0.69±0.04
76	23.94	β -花柏烯	18431-82-8	1 476	1 476	0.52±0.02	0.19±0.01	0.10±0.01	0.10±0.02
77	24.11	δ -甜没药烯	N/A	1 480	1 480	0.92±0.03	0.39±0.01	0.04±0.01	0.02±0.00
78	24.25	α -姜黄烯	644-30-4	1 483	1 483	1.36±0.06	1.53±0.02	0.74±0.02	0.63±0.02
79	24.44	β -瑟林烯	17066-67-0	1 488	1 486	0.09±0.01	0.06±0.01	0.18±0.01	0.17±0.00
80	24.64	γ -紫穗槐烯	6980-46-7	1 492	1 496	0.05±0.00	0.25±0.01	0.75±0.02	0.91±0.01
81	24.86	α -瑟林烯	473-13-2	1 497	1 494	0.06±0.01	0.07±0.01	0.14±0.01	0.18±0.01
82	25.07	α -依兰油烯	10208-80-7	1 502	1 499	-	0.23±0.01	0.54±0.02	0.67±0.02

续表2

No.	t_R /min	化合物	CAS号	RI		相对质量分数/%			
				计算值	参考值	太行菊	小白菊	小黄菊	野菊花
83	25.46	β -甜没药烯	495-61-4	1 509	1 509	-	0.02±0.00	0.18±0.01	0.18±0.01
84	25.67	γ -杜松烯	39029-41-9	1 511	1 513	-	0.08±0.00	0.20±0.01	0.27±0.01
85	25.82	isolongifolan-8-ol	1139-08-8	1 517	1 523	-	0.55±0.01	0.70±0.02	0.73±0.01
86	26.15	δ -杜松烯	483-76-1	1 525	1 524	0.10±0.01	2.16±0.13	3.41±0.04	4.60±0.03
87	26.54	α -葎澄茄油烯	17699-14-8	1 532	1 532	-	0.06±0.00	0.32±0.02	0.36±0.03
88	27.03	α -白菖考烯	21391-99-1	1 542	1 542	-	0.37±0.02	0.46±0.01	0.45±0.01
89	27.17	4,5,9,10-dehydroisolongifolene	156747-45-4	1 545	1 544	-	0.31±0.01	0.35±0.02	0.34±0.01
90	27.35	榄香醇	639-99-6	1 549	1 549	0.10±0.00	0.05±0.01	0.24±0.01	0.29±0.01
91	27.49	diepicedrene-1-oxide	N/A	1 552	1 551	0.27±0.02	0.09±0.01	0.06±0.01	0.02±0.01
92	28.05	橙花叔醇	7212-44-4	1 564	1 564	0.04±0.01	-	-	-
93	28.18	喇叭茶醇	577-27-5	1 566	1 565	-	0.06±0.01	0.14±0.01	0.21±0.01
94	28.69	桉油烯醇	6750-60-3	1 577	1 576	0.06±0.01	0.13±0.00	0.07±0.00	0.11±0.01
95	28.81	(-)-桉油烯醇	77171-55-2	1 579	1 577	0.14±0.00	0.40±0.01	0.22±0.01	0.31±0.00
96	28.95	丁香烯氧化物	1139-30-6	1 583	1 581	0.96±0.09	1.13±0.03	0.95±0.00	1.12±0.02
97	29.31	绿花白千层醇	552-02-3	1 590	1 591	-	0.09±0.01	0.22±0.01	0.36±0.01
98	29.46	薄荷酮	89-80-5	1 593	1 595	0.01±0.01	0.16±0.01	0.19±0.01	0.16±0.03
99	29.91	客烯酮	30557-76-7	1 602	1 605	-	-	0.12±0.01	0.17±0.01
100	30.19	环氧化蛇麻烯 II	19888-34-7	1 609	1 606	0.02±0.00	0.08±0.00	0.13±0.10	0.45±0.01
101	31.2	表葎澄茄油烯醇	19912-67-5	1 627	1 627	0.34±0.21	0.67±0.04	0.61±0.01	1.01±0.02
102	31.34	γ -桉叶醇	1209-71-8	1 630	1 631	2.84±0.25	1.74±0.02	0.08±0.01	0.08±0.00
103	31.66	茅苍术醇	23811-08-7	1 638	1 635	0.33±0.01	0.03±0.01	0.03±0.00	0.05±0.00
104	31.82	T-依兰油醇	19912-62-0	1 642	1 642	-	0.40±0.11	0.67±0.03	1.33±0.01
105	32.04	δ -葎澄茄醇	36564-42-8	1 645	1 645	0.10±0.01	0.03±0.01	0.09±0.01	0.25±0.01
106	32.19	β -桉叶醇	473-15-4	1 648	1 649	1.38±0.16	0.55±0.03	0.11±0.01	0.25±0.01
107	32.42	α -葎澄茄醇	481-34-5	1 653	1 653	0.91±0.05	0.67±0.03	0.52±0.03	1.08±0.02
108	32.75	依兰醛	N/A	1 660	1 675	-	0.04±0.01	0.11±0.01	0.38±0.01
109	33.24	香橙烯氧化物 2	85710-39-0	1 669	1 678	0.02±0.02	-	0.05±0.01	0.09±0.00
110	33.89	α -红没药醇	515-69-5	1 683	1 684	0.23±0.01	0.94±0.04	0.90±0.03	2.19±0.03
111	34.12	顺式-反-法尼醇	3790-71-4	1 687	1 697	0.06±0.01	0.04±0.01	0.07±0.02	0.15±0.03
112	34.74	2-十五烷酮	2345-28-0	1 699	1 698	-	0.05±0.02	0.12±0.02	0.29±0.01
113	35.96	兰香油萸	529-05-5	1 724	1 725	0.07±0.01	1.73±0.05	1.61±0.04	4.64±0.08
114	37.13	新莪术二酮	108944-67-8	1 748	1 762	-	-	0.06±0.01	0.13±0.01
115	38.15	dehydrochamazulene	321732-25-6	1 769	1 785	-	-	0.05±0.01	0.18±0.01
116	41.88	植酮	502-69-2	1 845	1 844	0.09±0.01	0.43±0.03	0.27±0.02	0.45±0.02
117	47.52	棕榈酸	57-10-3	1 965	1 968	0.03±0.01	0.23±0.03	0.16±0.02	0.61±0.10

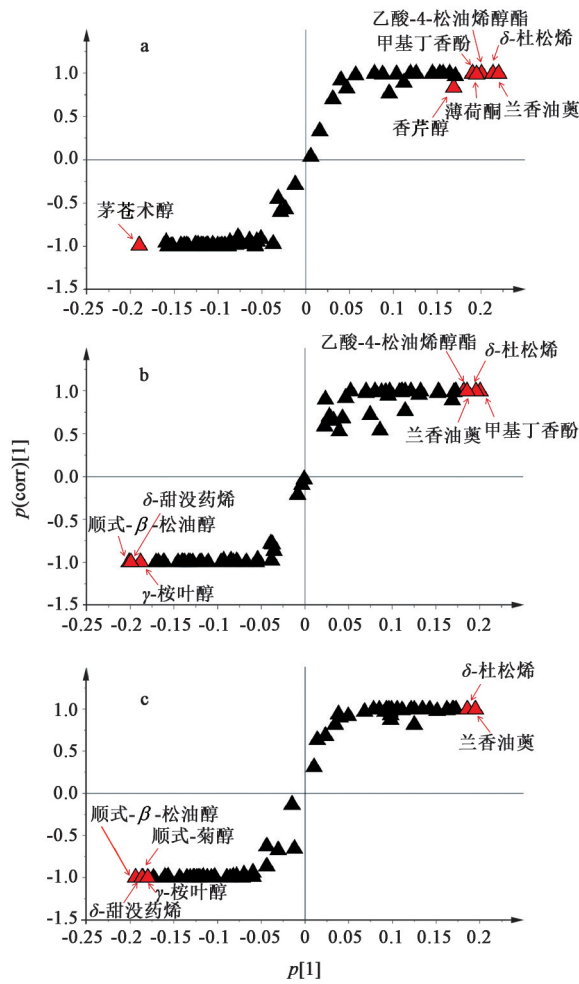
注：-，未被检出或该物质检出为痕量；N/A. 无CAS号或未查到CAS号

δ -杜松烯的相对含量在太行菊中较低，而在野菊花中相对含量最高。

4 讨论

GC-MS是分析中药挥发油的常用方法，但由于挥发油成分组成复杂，同时含有大量的同分异构体

或同系物，若仅依靠质谱库检索进行定性，难免会对结果进行主观性评价，从而出现误判。RI的性能仅与固定相的性质和柱温有关，具有较好的准确度和重复性，采用RI法对挥发性成分进行定性分析，可大大提高鉴定结果的准确性，因此本研究利用



注:a. 太行菊与小白菊;b. 太行菊与小黄菊;c. 太行菊与野菊花
图1 太行菊与对照菊花品种之间差异化合物的S-plot

Fig. 1 S-plot of differential compounds between Taihangju and its control varieties

GC-MS结合RI法对太行菊挥发油进行鉴定。

本研究选择药用菊花小白菊、小黄菊及野菊花作为对照,采用PCA进行统计学分析,结果发现太行菊与3个对照菊花品种分布在不同的象限区域,提示太行菊挥发油整体化学轮廓与对照菊花品种存在一定差异。通过对各成分的定性和定量分析发现,太行菊与对照菊花品种挥发油均以醇类、萜烯类及酯类成分为主要成分。总体上看,所鉴定成分在太行菊中的种类及相对含量与3个对照菊花品种具有一定的差异性,这可能与太行菊的生长环境有一定关系。太行菊一般为野生,多丛生于海拔为1 000 m的峭壁之上,昼夜温差大,植物赖以生存的温度、光、水等条件与种植菊花明显不同,从而导致其所含挥发油存在差异。在鉴定的化合物中,太行菊挥发油中相对含量较高的主要为 α -侧柏酮、桉油精和4-松油烯醇等,而对照菊花品种中相对含量较

高的主要为樟脑、桉油精和 α -乙酸松油酯等。据报道,中药挥发油具有多种药理作用,如抗氧化、抗菌、抗炎、镇痛、抗肿瘤等,其主要成分不同,可能导致药理活性不同^[11]。樟脑是菊花挥发油发挥抗菌作用的主要成分之一;桉油精也具有广谱抗菌作用,可显著抑制革兰氏阳性菌,是一种抗菌增强剂^[12];4-松油烯醇对黑曲霉、青霉等常见的5种食品致腐败真菌具有显著抑制作用,抑制率达18.2%~72.9%^[13];太行菊中的 α -侧柏酮还具有一定的平喘止咳作用^[14-15]。此外,太行菊挥发油中还含有较高的 α -蒎烯、 γ -松油烯、*p*-伞花烃及 α -乙酸松油酯,其中, α -蒎烯具有抗抑郁、抗炎等作用^[16-17], γ -松油烯和*p*-伞花烃均可抑菌^[18-19], α -乙酸松油酯则具有特殊的香气。提示太行菊与3个对照菊花品种具有相似的抑菌、抗炎等药用价值,这与文献报道相一致^[2,20],表明太行菊具有较大的开发和应用前景。

PCA结果显示,太行菊和3个对照菊花品种整体挥发油具有明显差异,在鉴定出的73个共有成分中,通过化学计量学方法共筛选出了11个成分作为区分太行菊和3个对照菊花品种的特征性成分,分别为兰香油萹、 δ -杜松烯、甲基丁香酚等。太行菊与3个对照菊花品种均具有显著差异的特征性成分为兰香油萹和 δ -杜松烯,其中兰香油萹具有明显的消炎作用,而 δ -杜松烯具有一定的抗癌作用,尤其对乳腺癌BT-20细胞系和宫颈癌HeLa细胞系具有较强的抑制作用^[21],但这2种成分在太行菊挥发油中的相对含量明显偏低,在野菊花挥发油中相对含量则最高。此外,甲基丁香酚^[22]和 γ -桉叶醇^[23]也被证实具有抗菌、抗炎等药理活性。然而,太行菊在当地常作为野菊花入药,单从太行菊挥发油所含的特征性成分来看,这种用法似乎不太合理。由于中药功效的发挥是多种成分综合的结果,除了挥发油以外,太行菊还含有与野菊相似的黄酮类及多酚类物质,呈现出较强的抗氧化作用^[20],因此太行菊是否可作为野菊入药还有待进一步研究和考证。

本研究对太行菊和产于河南的3个对照菊花品种所含挥发油进行了化学成分分析,明确了太行菊与对照菊花品种之间的特征挥发性成分,可为太行菊的开发及应用提供参考。但本研究仅对其中的挥发油进行了分析,且未进行相关的药理和毒理实验,后续将对太行菊其他种类成分进行分析,结合活性研究,以期对太行菊的开发与利用提供科学依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 刘莹,孙跃枝,田转运. 太行菊的生物学特性及保护利用[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(17): 3775-3776.
- [2] 于琨,张小龙,赵婷,等. 太行菊提取物对乙型肝炎病毒的抑制作用[J]. 药物评价研究, 2016, 39(1): 61-65.
- [3] 刘海芳,魏东伟,刘全军,等. 太行菊不同器官中绿原酸和4种黄酮类物质含量研究[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(5): 646-651, 671.
- [4] 高亚卉,戴攀峰,姬志峰,等. 太行菊属植物花粉形态研究[J]. 西北植物学报, 2011, 31(12): 2464-2472.
- [5] 王德胜,黄艳梅,石岩,等. 菊花化学成分及药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(23): 9-11, 17.
- [6] 邓玺玮,周正莲,易亚乔,等. 菊花中黄酮类化合物及挥发油的研究进展[J]. 湖南中医药大学学报, 2014, 34(11): 61-64.
- [7] 葛水莲,陈建中,刘娜,等. 太行菊总黄酮抗氧化活性及稳定性研究[J]. 食品科技, 2019, 44(10): 241-245.
- [8] 张钰倩,刘君锋,张靖楠. 太行菊提取物的抑菌作用研究[J]. 生物技术世界, 2016(1): 15, 18.
- [9] 曾琼瑶,龚瑞莹,杨海玲,等. GC-MS结合保留指数法分析云南产胡萝卜籽挥发油成分[J]. 中成药, 2016, 38(6): 1311-1315.
- [10] 王坚,陈鸿平,刘友平,等. 应用自动质谱退卷积定性系统拆分中药挥发油总离子流谱图中的重叠峰——以青皮为例[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(10): 1564-1569.
- [11] 汪镇朝,张海燕,宋远斌,等. 中药挥发油抗肿瘤作用机制及其研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(24): 219-226.
- [12] 吴宇锋,吕圭源,张志茹,等. 贮存时间对柳叶蜡梅挥发油及桉油精含量的影响[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(17): 2803-2806.
- [13] 努尔比耶·奥布力喀斯木,热娜·卡斯木,杨璐,等. 艾叶挥发油化学成分分析和抗真菌活性的研究[J]. 新疆医科大学学报, 2017, 40(9): 1195-1198, 1202.
- [14] 吴国欣,吴翠萍,曾国芳,等. 干、鲜石芥苎精油含量及其化学成分的比较研究[J]. 海峡药学, 2003, 15(5): 62-65.
- [15] 夏新中,肖静,夏庭君. 湖北五峰野菊花挥发性化学成分的GC-MS分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21): 132-137.
- [16] KIM D S, LEE H J, JEON Y D, et al. Alpha-pinene exhibits anti-inflammatory activity through the suppression of MAPKs and the NF- κ B pathway in mouse peritoneal macrophages[J]. Am J Chin Med, 2015, 43(4): 731-742.
- [17] 许攀,沈倩,杨明,等. 中药精油止痛研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(17): 211-216.
- [18] WANG W, LI N, LUO M, et al. Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components [J]. Molecules, 2012, 17(3): 2704-2713.
- [19] 黄凌,朱毅. 气相色谱法测定益智挥发油中

-聚伞花烃的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(8): 1333-1335.

[20] 魏东伟,徐铭蔓,孙武勇,等. 太行菊和野菊不同器官水提液抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2015, 15(2): 56-63.

[21] 张洪权,刘文琪,肖长生,等. GC/MS法结合保留指数分析车前叶黄腺香青花茎叶挥发油的化学成分[J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(11): 1379-1384.

[22] 吴昊,温晓茵,颜鹏,等. 细辛的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(4): 186-195.

[23] 许金凤,万彦,王晶,等. 气相色谱-质谱联用技术分析紫苏叶、厚朴共煎煮前后挥发油成分的变化[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(7): 848-854.

[责任编辑 刘德文]