

· 药学基础 ·

不同花期闹羊花中挥发性成分的GC-IMS分析

冯靖雯¹, 郭小红¹, 张砚¹, 杨昌林², 刘友平¹, 陈鸿平^{1*}

(1. 成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 西南特色中药资源国家重点实验室, 成都 611137; 2. 四川省食品药品检验检测院, 成都 611731)

[摘要] 目的:明确闹羊花的挥发性成分并比较不同花期样品的挥发性成分差异。方法:采用气相色谱-离子迁移谱法(GC-IMS)对5个不同花期(花蕾期、初花期、半花期、盛花期、盛期末期)闹羊花样品的挥发性成分进行检测;利用GC-IMS谱图结合聚类分析、主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)比较不同花期样品的挥发性成分异同。结果:GC-IMS检测出了不同花期闹羊花中的70种挥发性成分,其中67种为共有成分,定性确定了47种,以醇类、酯类、醛类为主。香芹醇是盛期末期样品特有成分; α -松油醇在初花期样品中的含量最高,盛花期、盛期末期样品中则未检出。活性成分(甲基庚烯酮,壬醛, α -松油醇,桉叶油醇,氧化芳樟醇,1-辛烯-3-醇,反式-3-己烯-1-醇)相对质量分数之和在花期中呈下降趋势。GC-IMS图谱显示不同花期样品有各自的特征峰区域,也有共同区域。聚类分析,PCA及OPLS-DA结果均显示,不同花期样品区分明显;通过OPLS-DA筛选获得19种区分不同花期样品的差异成分,包括 γ -丁内酯、桉叶油醇、乙酸乙酯等。结论:不同花期闹羊花样品可明显区分且其挥发性成分中的活性物质随花开放的程度逐步散失,可为闹羊花的物质基础完善及不同花期研究提供参考。

[关键词] 闹羊花;挥发性成分;花期;化学计量学;气相色谱-离子迁移谱法(GC-IMS);香芹醇; α -松油醇

[中图分类号] R22;R857.3;R28;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)10-0085-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210746

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210119.1658.001.html>

[网络出版日期] 2021-1-19 17:19

GC-IMS Analysis of Volatile Components in *Rhododendri Mollis Flos* at Different Flowering Stages

FENG Jing-wen¹, GUO Xiao-hong¹, ZHANG Yan¹, YANG Chang-lin², LIU You-ping¹, CHEN Hong-ping^{1*}

(1. Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

2. Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu 611731, China)

[Abstract] **Objective:** The volatile components of *Rhododendri Mollis Flos* were determined and the differences of volatile components at different flowering stages were compared and analyzed. **Method:** Gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS) was used to detect the volatile components in *Rhododendri Mollis Flos* at different flowering stages (bud stage, initial flowering stage, half-flowering stage, blooming stage and late blooming stage). GC-IMS spectra combined with cluster analysis, principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were used to compare the differences and similarities of volatile components in different flowering stages. **Result:** A total of 70 volatile

[收稿日期] 20201112(006)

[基金项目] 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2019jcyj-msxmX0552)

[第一作者] 冯靖雯,在读硕士,从事中药物质基础与质量标准化研究,E-mail:517244131@qq.com

[通信作者] *陈鸿平,博士,教授,从事中药物质基础与质量标准化研究,E-mail:chen-hongping@126.com

components in *Rhododendri Mollis Flos* at different flowering stages were detected, among which 67 were common components, and 47 were identified qualitatively, mainly alcohols, esters and aldehydes. Carveol was a special component at the late blooming stage. The content of alpha-terpineol is the highest at the initial flowering stage, but not at the blooming stage and late blooming stage. The relative contents of the active ingredients [6-methyl-5-hepten-2-one, nonanal, alpha-terpineol, 1, 8-cineole, linalool oxide, 1-octen-3-ol, (*E*)-3-hexenol] showed a decreasing trend during flowering stages. GC-IMS spectra showed that the samples at different flowering stages had their own characteristic peak regions, and also had common regions. The results of cluster analysis, PCA and OPLS-DA all showed that the samples at different flowering stages were distinguishable. OPLS-DA was used to screen 19 different components to distinguish different flowering stages, including γ -butyrolactone, 1, 8-cineole, ethyl hexanoate, etc. **Conclusion:** *Rhododendri Mollis Flos* samples at different flowering stages can be distinguished obviously, and the active substances in the volatile components are gradually dissipated with the degree of flower opening, which can provide reference for the improvement of material basis and the study of different flowering stages of *Rhododendri Mollis Flos*.

[Key words] *Rhododendri Mollis Flos*; volatile components; flowering stage; chemometrics; gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS); carveol; alpha-terpineol

闹羊花具有散瘀定痛、祛风除湿等功效,临床用于治疗偏正头痛、跌打损伤、风湿痹痛、顽癣等,是2020年版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)收录的10味大毒中药之一^[1]。该药材是六味木香散、生发搽剂、通窍散等成方制剂的原料,具有良好的开发及应用前景。

闹羊花花期为每年的3~5月份,整个花期分为花蕾到盛开末期等多个阶段。2020年版《中国药典》(一部)^[1]“闹羊花”项下描述为“四、五月花初开时采收”,但对“初开”界定不明。传统上中药材采收多参考其物候期,如金银花、丁香以花蕾期为佳。由于采收方法、开放时间等因素的限制,市场上流通的闹羊花药材囊括多个花期。嗅气评价是中药整体性的一种评判手段,本草古籍对闹羊花药材气味有“不可近眼,令人昏翳”^[2]和“气味皆恶”^[3]等描述,表明闹羊花有明显刺激性气味。目前,有关闹羊花的物质基础研究尚不够完善,已有研究主要集中于二萜类、黄酮类、三萜类、木脂素类等非挥发性成分^[4],鲜有其挥发性成分的相关报道。仅ZHANG等^[5]采用气相色谱-质谱法(GC-MS)对闹羊花醇提物进行检测,鉴定出35种化合物,并发现其醇提物具有抗氧化、抗炎作用。挥发性成分是中药物质基础的重要组成部分,很多挥发性成分不仅具有解热、抑菌、抗炎等功效,还可作为有机合成的先导成分或植物代谢途径的重要中间产物等^[6-7]。有研究者发现,与闹羊花同科的云锦杜鹃、马银花的挥发性成分种类及含量在不同花期差异明显^[8-9]。目前仅有闹羊花醇提物中挥发性成分的研究,无法

全面、系统、准确地阐明闹羊花挥发性有效成分。因此对该药材挥发性成分及其不同花期异同进行研究具有重要实践和理论意义,以期更加全面、系统、快速、准确地识别闹羊花中挥发性成分,鉴别不同花期样品。

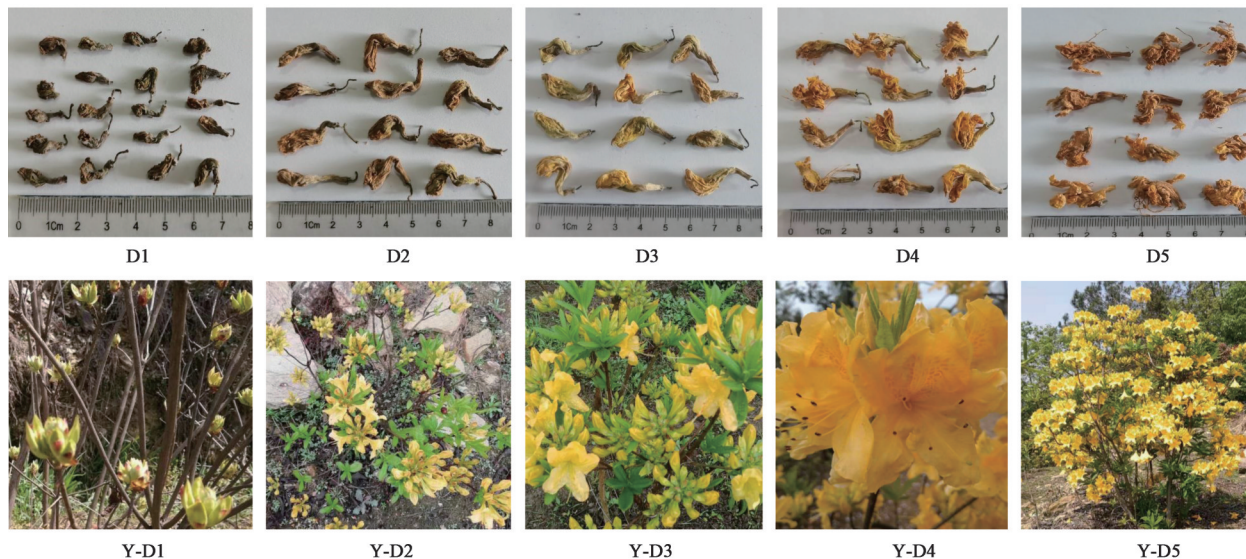
气相色谱-离子迁移谱法(GC-IMS)是将GC和IMS两者结合的检测技术,该技术克服了IMS技术分离度差的局限性,并使GC分离后得到的化学信息更丰富。与电子鼻,GC嗅闻分析,GC-MS等常用挥发性成分检测技术相比,GC-IMS具有更加快速、更加灵敏、无需前处理等优点^[10],已被用于药材产地、品种、发育期挥发性成分测定^[11-13]。采用色谱技术测定数据后,为挖掘数据隐含的信息,运用化学计量学方法分析数据已广泛应用于药材品种、产地研究方面^[14-15]。因此,本研究拟采用GC-IMS对闹羊花挥发性成分进行定性分析,明确其挥发性成分种类及组成,在此基础上,应用聚类分析、主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)等化学计量学方法对不同花期闹羊花中挥发性成分的动态变化进行研究,可为闹羊花物质基础全面阐释及花期研究奠定基础。

1 材料

FlavourSpec®型气相离子迁移谱联用仪(济南海能仪器股份有限公司),BP211D型1/10万电子天平(德国Sartorius公司),HX-200k型高速粉碎机(浙江省永康市溪岸五金药具厂)。于湖北随州地区选定5年生闹羊花植株采集花蕾期(采集时间为2020年3月28日),初开期(采集时间2020年4月2日),

半开期(采集时间为2020年4月7日),盛开期(采集时间为2020年4月16日),盛开末期(采集时间为2020年4月24日)共5个花期,每个花期采3批样

品,共15批次。实验所用药材经成都中医药大学中药资源与鉴定系严铸云教授鉴定为杜鹃花科植物羊躑躅 *Rhododendron molle* 的干燥花,见图1。



D1. 花蕾期样品;D2. 初开期样品;D3. 半开期样品;D4. 盛开期样品;D5. 盛开末期样品(表1和图2~7同);Y-D1.D1原植物;Y-D2.D2原植物;Y-D3.D3原植物;Y-D4.D4原植物;Y-D5.D5原植物

图1 闹羊花不同花期样品及原植物的照片

Fig. 1 Photos of different flowering samples and original plants of *Rhododendri Mollis Flos*

2 方法与结果

2.1 样品前处理及测试条件 取样品1.0 g(过四号筛),精密称定,置于20 mL顶空瓶中,于50 °C孵化15 min,经顶空进样用气相离子迁移谱联用仪进行测试,每个样品平行测定3次。测试条件为FS-SE-54-CB-1色谱柱(0.53 mm×15 m, 1 μm),载气/漂移气为氮气,漂移气流量设定150 mL·min⁻¹,离子迁移探测器温度设定45 °C,载气流量设定梯度程序(0~2 min, 2 mL·min⁻¹; 2~20 min, 2~100 mL·min⁻¹; 20~30 min, 100 mL·min⁻¹),柱温设60 °C,进样针温度85 °C,进样量400 μL。

2.2 数据分析 使用气相离子迁移谱联用仪自带的分析软件Laboratory Analytical Viewer(LAV)及GC-IMS Library Search软件内置的美国国家标准与技术研究院(NIST)2014质谱数据库和海能仪器的IMS数据库对特征挥发性物质进行定性分析;运用LAV中Reporter插件直接对比样品之间的谱图差异,并采用Gallery Plot插件进行指纹图谱对比,直观且相对定量地比较不同样品之间的挥发性物质差异;利用SPSS 23.0及SIMCA 14.1软件进行聚类分析,PCA和OPLS-DA处理。

2.3 不同花期样品的挥发性成分差异 GC-IMS共检测出70种挥发性成分,其中不同花期样品的共有

成分67种,明确定性了47种,见表1;其中醇类16种、醛类14种、酯类9种、其他类8种,这四者相对质量分数分别占总挥发性成分21.64%~25.54%, 10.81%~13.08%, 24.09%~31.02%, 9.32%~11.89%,表明闹羊花的特异气味是由多种挥发性成分组成的复合气味。分析后发现,香芹醇是盛开末期样品特有成分; α -松油醇初开期含量最高,盛开期、盛开末期未检出。由于5-甲基-2-呋喃甲醇、己酸乙酯、桉叶油醇、天然壬醛和1-辛烯-3-醇等化合物质量较高而出现了2个峰,分别对应于单体(M)和二聚体(D)。闹羊花挥发性成分中具有抗炎、抗菌等功效的活性成分可能与闹羊花抗炎、镇痛、杀虫药理作用相关,活性成分甲基庚烯酮、壬醛具有一定抑菌作用^[16-17], α -松油醇、桉叶油醇具有解热、消炎、抗菌、平喘及镇痛作用^[18-19],氧化芳樟醇对草地贪夜蛾有引诱效果^[20],1-辛烯-3-醇对三带喙库蚊和中华按蚊有引诱效果^[21],反式-3-己烯-1-醇具有抗虫作用。不同花期中挥发性活性成分(甲基庚烯酮,壬醛, α -松油醇,桉叶油醇,氧化芳樟醇,1-辛烯-3-醇,反式-3-己烯-1-醇)含量存在一定差异,这7种活性成分相对质量分数之和从高到低排序为花蕾期(14.77%)>初开期(14.14%)>盛开期(11.67%)>半开期(11.47%)>盛开末期(10.63%)。

表1 闹羊花不同花期样品中的挥发性成分及其相对质量分数

Table 1 Volatile constituents and their relative contents in *Rhododendri Mollis Flos* at different flowering stages

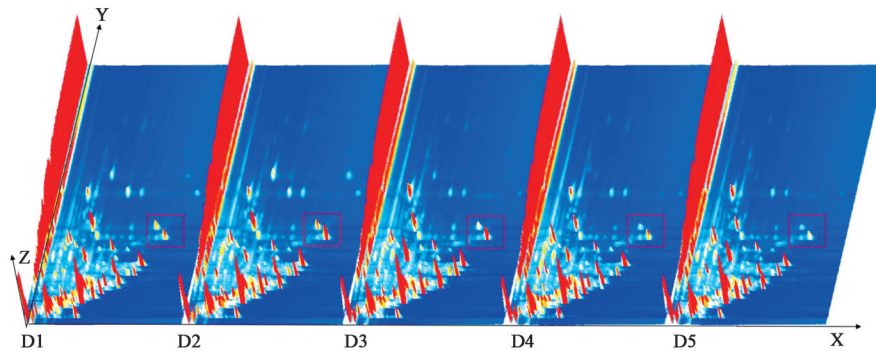
类型	化合物	相对质量分数($n=3$)/%					
		D1	D2	D3	D4	D5	
醛类	丙醛 (propanal)	1.84	2.05	2.51	2.20	2.50	
	丁醛 (butanal)	0.88	0.72	0.47	0.75	0.55	
	异戊醛 (3-methylbutanal)	0.73	0.66	0.76	0.55	0.28	
	2-甲基丁醛 (2-methylbutanal)	1.68	1.09	0.92	1.59	1.83	
	正戊醛 (pentanal)	0.46	0.41	0.41	0.57	0.42	
	3-甲硫基丙醛 (methional)	0.91	1.04	0.98	1.26	0.93	
	苯甲醛 (benzaldehyde)	1.09	0.98	1.02	0.86	0.86	
	辛醛 (octanal)	0.22	0.14	0.13	0.19	0.21	
	苯乙醛 (phenylacetaldehyde)	0.26	0.30	0.25	0.19	0.24	
	天然壬醛 M (nonanal M)	2.29	1.74	1.14	1.47	1.49	
	天然壬醛 D (nonanal D)	0.65	0.58	0.26	0.31	0.29	
	反式-2-癸醛 (<i>trans</i> -2-decenal)	0.64	0.65	0.58	0.64	0.52	
	(<i>E,E</i>)-2,4-壬二烯醛 [(<i>E,E</i>)-2,4-nonadienal]	0.42	0.39	0.38	0.56	0.47	
	(<i>E,E</i>)-2,4-辛二烯醛 [(<i>E,E</i>)-2,4-octadienal]	1.01	0.87	1.00	1.48	1.21	
	醇类	乙醇 (ethanol)	8.65	8.57	8.45	9.89	9.42
反式-2-己烯-1-醇 [(<i>E</i>)-2-hexen-1-ol]		2.86	2.43	2.03	2.14	1.93	
反式-3-己烯-1-醇 [(<i>E</i>)-3-hexenol]		0.16	0.16	0.17	0.15	0.20	
3-甲基-1-戊醇 (3-methyl-1-pentanol)		1.28	1.54	1.71	1.27	1.42	
正己醇 (<i>n</i> -hexanol)		0.54	0.52	0.49	0.42	0.41	
4-甲基-1-戊醇 (4-methyl-1-pentanol)		0.38	0.36	0.25	0.22	0.19	
5-甲基-2-呋喃甲醇 M (5-methyl-2-furanmethanol M)		0.18	0.21	0.18	0.25	0.20	
5-甲基-2-呋喃甲醇 D (5-methyl-2-furanmethanol D)		0.32	0.30	0.24	0.36	0.22	
1-辛烯-3-醇 M (1-octen-3-ol M)		1.24	1.17	1.20	1.36	1.40	
1-辛烯-3-醇 D (1-octen-3-ol D)		0.16	0.19	0.23	0.21	0.23	
氧化芳樟醇 (linalool oxide)		0.24	0.28	0.42	0.25	0.30	
香芹醇 (carveol)		0	0	0	0	0.34	
2-甲基-1-丁醇 (2-methyl-1-butanol)		0.89	0.81	0.61	0.96	0.82	
α -松油醇 (α -terpineol)		0.38	0.45	0.34	0	0	
桉叶油醇 D (1,8-cineole D)		1.96	2.10	1.35	0.93	0.72	
桉叶油醇 M (1,8-cineole M)		6.30	6.09	5.06	4.50	3.84	
酯类		乙酸乙酯 (ethyl acetate)	11.00	11.66	12.49	12.21	13.20
		丙酸乙酯 (ethyl propanoate)	1.00	1.91	1.64	1.71	1.34
		异丁酸乙酯 (ethyl-2-methylpropanoate)	0.60	1.01	1.55	0.40	0.80
		丁酸乙酯 (ethyl butyrate)	2.22	2.01	2.14	2.35	2.17
	2-甲基丁酸乙酯 (ethyl 2-methylbutyrate)	0.53	0.96	1.45	0.63	0.93	
	戊酸乙酯 (ethyl pentanoate)	1.90	2.20	2.00	1.94	1.71	
	γ -丁内酯 (γ -butyrolactone)	2.71	2.15	5.13	2.82	4.90	
	己酸乙酯 M (ethyl hexanoate M)	1.87	1.82	1.71	1.79	1.73	
	己酸乙酯 D (ethyl hexanoate D)	2.26	3.42	2.91	2.32	1.81	
	烯炔类	松油烯 (α -terpinene)	0.22	0.22	0.16	0.26	0.21
酮类		丙酮 (acetone)	2.37	2.00	1.26	2.55	2.03
	甲基庚烯酮 (6-methyl-5-hepten-2-one)	1.39	1.38	1.32	2.49	2.16	
	2,3-丁二酮 (2,3-butanedione)	0.66	0.75	0.69	0.90	0.69	

续表 1

类型	化合物	相对质量分数(n=3)/%				
		D1	D2	D3	D4	D5
酸类	丁酸(butanoic acid)	0.54	0.44	0.40	0.58	0.47
	正戊酸(pentanoic acid)	0.58	0.56	0.57	0.35	0.38
杂环类	2-正戊基呋喃(2-pentyl furan)	0.23	0.19	0.15	0.19	0.19
酚类	甲基麦芽酚(maltol)	3.85	3.78	5.71	4.52	5.76

2.4 不同花期闹羊花样品的 GC-IMS 三维谱图分析

由图2可知,GC-IMS技术可以很好地分离闹羊花挥发性组分,且不同花期样品中挥发性成分种类差异较小。



GC-IMS产生的数据为三维数据,X、Y、Z轴分别表示离子迁移时间(归一化处理),GC保留时间(s)和峰强度,1个峰代表1种挥发性物质
图2 闹羊花不同花期样品的GC-IMS三维分析

Fig. 2 3D analysis of different flowering stage samples of Rhododendri Mollis Flos by GC-IMS

2.5 不同花期闹羊花样品的 GC-IMS 二维谱图分析 运用LAV中Reporter插件对比样品间的二维谱图差异,见图3。结果发现不同花期闹羊花样品均有多种挥发性成分,且不同花期成分含量有一定差异。采用差异对比模式比较不同样品间的异同,见图4。选取D1样品的谱图为参比,其他样品的谱图扣减参比。二者挥发性成分一致,则扣减后的背景为白色,而红色代表该物质的浓度高于参比,蓝色代表该物质的浓度低于参比。差异对比后发现不同花期闹羊花样品中挥发性成分的含量存在显著差异,花蕾期、初开期样品中的挥发性成分含量相似,盛开期、盛开末期样品中的挥发性成分含量相似。

2.6 不同花期闹羊花样品的 GC-IMS 指纹图谱分析 使用LAV软件的Gallery Plot插件对所得GC-IMS二维图谱中所有的待分析峰自动生成指纹图谱,以利于更加全面地对比不同花期闹羊花中挥发性成分的差异,见图5。结果表明不同花期样品有各自的特征峰区域,也有共同区域。其中,A区域中辛醛、天然壬醛D和天然壬醛M是花蕾期闹羊花的特征挥发性物质;B区域中 α -松油醇、反式-2-癸醛、戊酸乙酯、苯乙醛、己酸乙酯D和桉叶油醇D是初开期闹羊花的特征挥发性物质;C区域中丙醛、氧化芳

樟醇、异丁酸乙酯和2-甲基丁酸乙酯是半开期闹羊花的特征挥发性物质;D区域中正戊醛,(E,E)-2,4-壬二烯醛,(E,E)-2,4-辛二烯醛,甲基庚烯酮和松油烯是盛开期闹羊花的特征挥发性物质;E区域中香芹醇是盛开末期闹羊花的特征挥发性物质。

2.7 化学计量学分析

2.7.1 聚类分析 将GC-IMS测得的不同采收期间羊花样品数据导入SPSS 23.0软件进行系统聚类,数据分析采用组间平均欧氏距离法,见图6。结果发现欧氏距离为20时,5个不同采收期样品可分为3个类别,即D1和D2聚为第I类;D3为第II类,D4和D5为第III类。其中,D4和D5的距离最近,说明二者挥发性成分组成相似度最高,提示此时闹羊花的挥发性成分变化较小。

2.7.2 PCA和OPLS-DA 将GC-IMS测得的不同花期闹羊花样品数据导入SIMCA 14.1进行PCA,系统自动拟合后选用前2个主成分进行分析,其中第1主成分贡献率40.3%,第2主成分贡献率33.5%,模型检验 R^2Xcum (表示所有成分的累积解释率)为0.968, Q^2cum (表示整体模型的预测能力)为0.931,表明该模型稳定性及预测信度良好,见图7(A),结果发现不同花期样品分类良好。PCA不能忽略组内误差,为消除与研究目的无关的随机误差,在

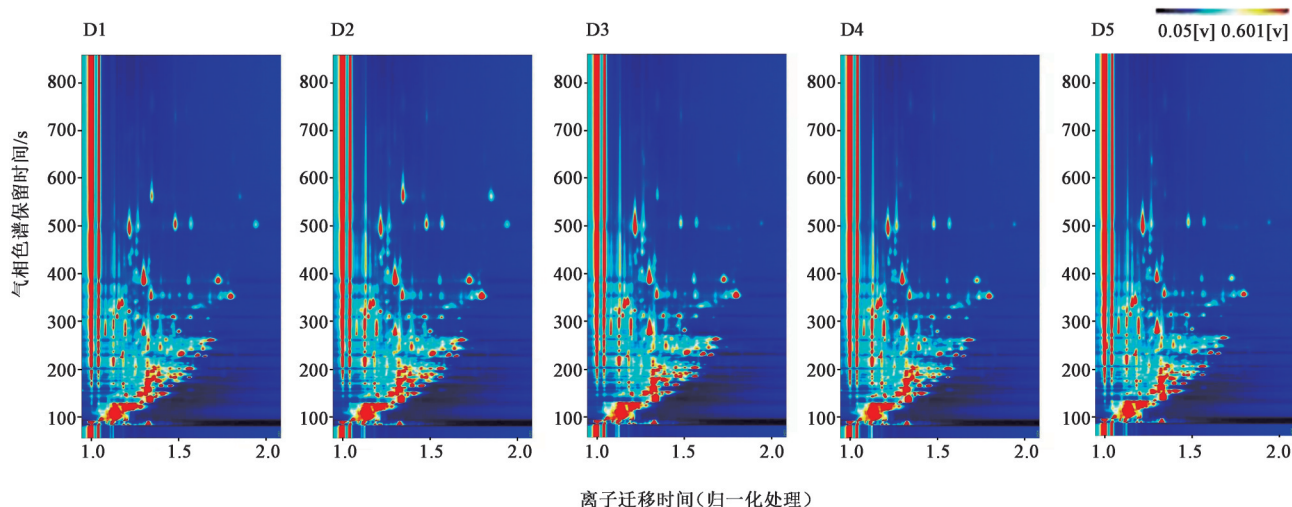


图3 闹羊花不同花期样品的GC-IMS二维分析

Fig. 3 2D analysis of different flowering stage samples of Rhododendri Mollis Flos by GC-IMS

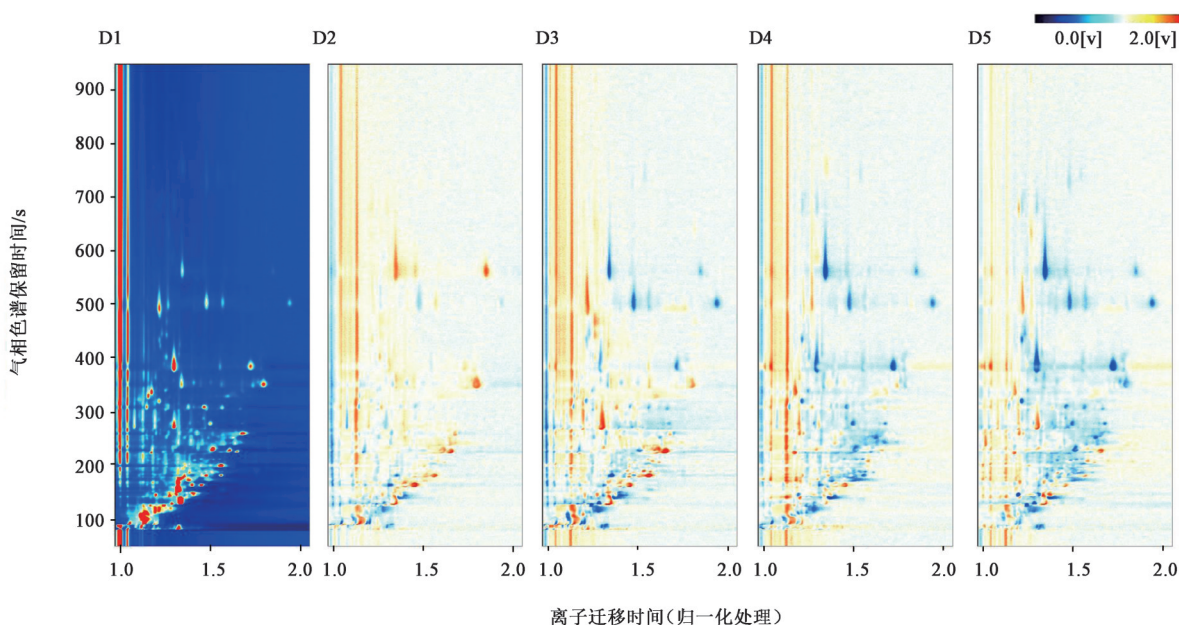


图4 闹羊花不同花期样品GC-IMS的差异分析

Fig. 4 Difference analysis of GC-IMS in different flowering stage samples of Rhododendri Mollis Flos

PCA基础上选择有监督模式的OPLS-DA模型进行分析,见图7(B)。结合评价OPLS-DA模型质量的 R^2Y (表示模型的拟合能力)=0.996和 $Q^2cum=0.992$,说明样品聚类良好,与PCA结果一致,表明GC-IMS可用于鉴别不同花期闹羊花样品。

2.7.3 差异成分分析 不同花期闹羊花OPLS-DA模型色谱峰的变量投影重要性(VIP)值见图8, VIP值越大,表明该色谱峰对不同花期闹羊花的分类贡献越大。结果不同花期闹羊花样品中VIP值>1且能够定性识别的峰共有19个,分别为 γ -丁内酯,桉

叶油醇M,乙酸乙酯,甲基麦芽酚,己酸乙酯D,丙酸乙酯,桉叶油醇D,异丁酸乙酯,甲基庚烯酮,乙醇,天然壬醛D,反式-2-己烯-1-醇,2-甲基丁醛,丙酮,2-甲基丁酸乙酯,异戊醛,香芹醇,丙醛,戊酸乙酯。

3 讨论

预试验采用GC-MS对闹羊花药材粉末进行测定,仅检测到十几种挥发性成分且含量较低,也未能发现不同花期闹羊花样品的差异。因此,本实验采用灵敏度更高、无需富集浓缩、更适合检测痕量物质的GC-IMS对闹羊花样品进行测定。GC-IMS

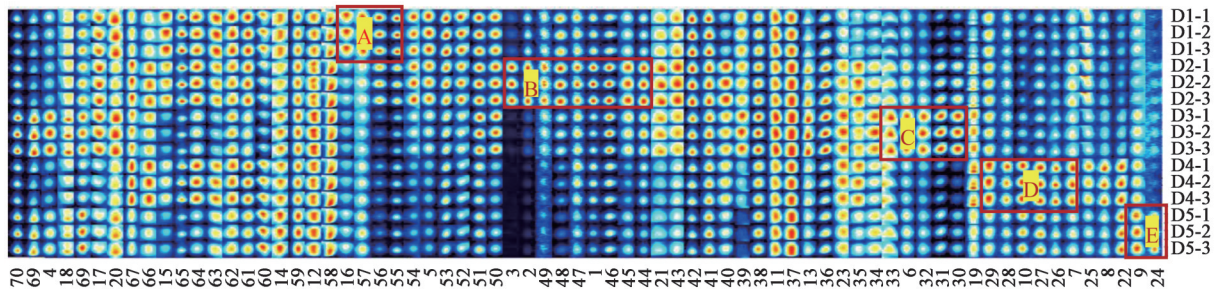


图5 闹羊花不同花期样品中挥发性成分的指纹谱分析
 每行代表1个样品中选取的全部信号峰,每列代表同一挥发性成分在不同样品中的信号峰;D1~D5各有3个样品(图6,7同);A~E红框区域分别为花蕾期、初开期、半开期、盛花期、盛开末期样品的特征峰区域。1~23.未知成分;24.香芹醇;25.松油烯;26. (E,E)-2,4-辛二烯醛;27.甲基庚烯酮;28. (E,E)-2,4-壬二烯醛;29.正戊醛;30.异丁酸乙酯;31. 2-甲基丁酸乙酯;32. 氧化芳樟醇;33. 丙醛;34.1-辛烯-3-醇D;35. 5-甲基-2-咪喃甲醇M;36.3-甲基-1-戊醇;37. 乙酸乙酯;38. 丁酸乙酯;39. 异戊醛;40. 丙酸乙酯;41. 己酸乙酯M;42. 桉叶油醇M;43. 正己醇;44. 己酸乙酯D;45. 苯乙醛;46. 戊酸乙酯;47. 反式-2-癸醛;48. 桉叶油醇D;49. α -松油醇;50. 正戊酸;51. 苯甲醛;52.2-正戊基咪喃;53. 反式-2-己烯-1-醇;54. 4-甲基-1-戊醇;55. 天然壬醛D;56. 天然壬醛M;57. 辛醛;58. 乙醇;59. 1-辛烯-3-醇M;60. 2-甲基丁醛;61. 2-甲基-1-丁醇;62. 丁酸;63. 丙酮;64. 5-甲基-2-咪喃甲醇D;65. 丁醛;66. 2,3-丁二酮;67. 3-甲基丙醛;68. 反式-3-己烯-1-醇;69. γ -丁内酯;70. 甲基麦芽酚(图8同)

图5 闹羊花不同花期样品中挥发性成分的指纹谱分析

Fig. 5 Fingerprint analysis of volatile components in *Rhododendri Mollis Flos* samples at different flowering stages

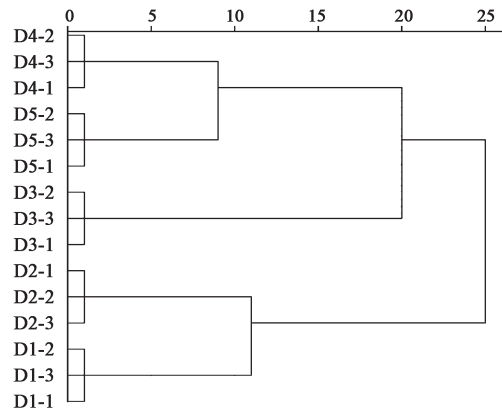
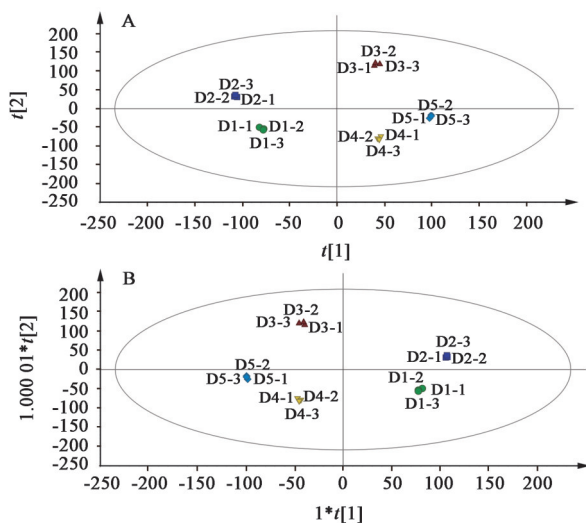


图6 闹羊花不同花期样品中挥发性成分的聚类分析

Fig. 6 Cluster analysis of volatile components in different flowering stage samples of *Rhododendri Mollis Flos*



A.PCA;B.OPLS-DA

图7 闹羊花不同花期样品中挥发性成分的PCA和OPLS-DA得分

Fig. 7 PCA and OPLS-DA scores of volatile components in different flowering stage samples of *Rhododendri Mollis Flos*

技术可以实现样品中物质的2次分离,根据挥发性物质GC保留时间和离子迁移时间对其进行定性分析。经GC-IMS分析,共检测出不同花期闹羊花中70种挥发性化合物,通过仪器内置的NIST 2014气相保留指数数据库与海能仪器的IMS数据库进行二维定性,明确了47种挥发性物质,其中7种具有抗炎、抗菌等功效,可能与闹羊花抗炎、镇痛、杀虫等药理作用相关。本研究首次对5个不同花期(花蕾期、初开期、半开期、盛花期、盛开末期)闹羊花样品的挥发性成分进行分析与比较,对全面了解闹羊花的挥发性成分有一定参考意义。

不同花期闹羊花的挥发性成分在物质种类上差异较小,但相对含量存在一定差异,且闹羊花挥发性活性物质的相对含量会随着花开放的程度逐步散失,可为花期研究奠定基础,但是否会导致其药理作用的差异还有待于进一步实验证实。中药材采收多参考其物候期,闹羊花药材来源主要以野生资源为主,导致其采收花期不一,本研究固定采收地点、采样植株、树龄条件,通过GC-IMS结合化学计量学方法对不同花期闹羊花的挥发性成分进行分析,可明显区分不同花期样品,可为花期的鉴别提供实验依据。本研究对闹羊花的挥发性成分测定较为完整,鉴定出了较多的挥发性成分。但本研究亦存在一些局限性,例如,确定了闹羊花部分挥发性成分的化学结构,但由于缺乏全面的化合物数据库且各仪器的IMS数据库不能通用,挥发性化合物定性尚无可信度匹配,有23种成分尚需结合其他技术进一步定性分析;本研究仅以单一产地某一年份样品进行研究,样品批次相对较少,代表性待

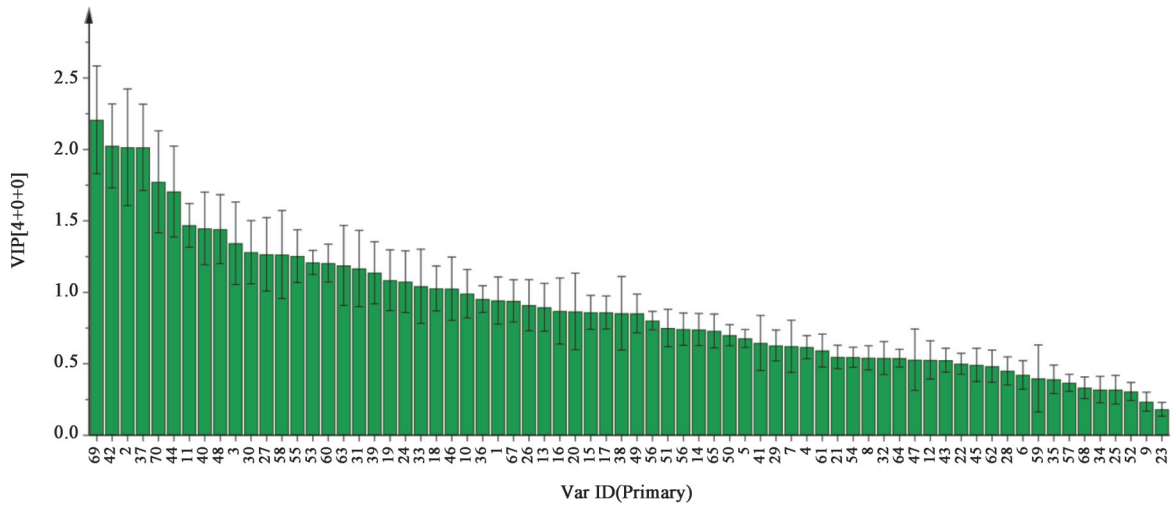


图8 闹羊花不同花期样品中挥发性成分OPLS-DA模型的VIP值

Fig. 8 VIP values of OPLS-DA model of volatile components in different flowering stage samples of *Rhododendri Mollis Flos*

加强;采集样品仅考察了花期对闹羊花挥发性成分的影响,未考察产地、生态环境的影响,下一步将考察不同产地闹羊花挥发性成分差异并结合药理与化学分析实验研究嗅味与其质量优劣的相关性。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020.

[2] 陈嘉谟. 本草蒙筌[M]. 北京:人民卫生出版社,1988.

[3] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京:人民卫生出版社,2007.

[4] 郭小红,冯靖雯,尤强,等. 有毒中药闹羊花的现代研究进展[J]. 中国药业,2020,29(23):96-104.

[5] ZHANG J, LIU J, DAI L F, et al. Unlocking the potential antioxidant and anti-inflammatory activities of *Rhododendron molle* G. Don[J]. Pak J Pharm Sci, 2019,32(5):2375-2383.

[6] 苏晶,李宜航,周玲娟,等. 基于HS-GC-MS及化学计量学的不同形态龙血树属含脂药材的成分差异比较研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(14):3467-3474.

[7] 祝婧,袁恩,陈香玲,等. 江西特色炮制工艺对升麻挥发性成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(21):95-105.

[8] 章辰飞,鲁昌鑫,汪庆昊,等. 两种杜鹃不同花期的挥发性成分分析[J]. 分子植物育种,2020,18(11):278-289.

[9] 杨华,韩素芳,宋绪忠. 马银花开花过程挥发性成分的变化[J]. 森林与环境学报,2016,36(3):355-359.

[10] VAUTZ W, FRANZKE J, ZAMPOLLI S, et al. On the potential of ion mobility spectrometry coupled to GC

pre-separation—a tutorial[J]. Anal Chim Acta, 2018, 1024:52-64

[11] SUN X, GU D Y, FU Q B, et al. Content variations in compositions and volatile component in jujube fruits during the blacking process[J]. Food Sci Nutr, 2019, 7(4):1387-1395.

[12] 周倩,戴衍朋,郭威,等. 基于顶空-气相色谱-离子迁移谱的生、炙甘草饮片挥发性有机物指纹图谱分析[J]. 中国中药杂志,2020,45(16):3857-3862.

[13] 马云,王尧尧,管明瑞,等. 不同发育期忍冬花颜色与气味变化[J]. 中成药,2019,41(6):1349-1353.

[14] 王维皓,杨立新. 羌活挥发性成分GC-MS分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(23):153-160.

[15] 黄小兰,何旭峰,杨勤,等. HPLC-PDA同时测定地笋中7种酚酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(15):156-162.

[16] 宫春波,杨伟,刘永红,等. 鲜姜汁抑菌效果及其在鲜肉保鲜中的研究[J]. 肉类工业,2005(4):29-31.

[17] 孙和龙. α -水芹烯及壬醛对番茄圆弧青霉和灰霉的抑菌作用研究[D]. 湘潭:湘潭大学,2017.

[18] 石超峰,殷中琼,魏琴,等. α -松油醇对大肠杆菌的抑菌作用及其机理研究[J]. 畜牧兽医学报,2013,44(5):796-801.

[19] 胡文杰,戴彩华,周升团. 油樟叶精油馏分的主要成分、抑菌活性及其主要单体成分抑菌机理研究[J]. 安徽农学通报,2019,25(15):14-19.

[20] 钟永志,谢明惠,林璐璐,等. 草地贪夜蛾对氧化芳樟醇的趋性[J]. 植物保护,2020,46(4):178-180,222.

[21] 李春晓,阎婷,董言德,等. 1-辛烯-3-醇对我国稻田区主要媒介蚊种的引诱作用研究[J]. 寄生虫与医学昆虫学报,2019,26(2):88-91.

[责任编辑 刘德文]