

# 基于 GC-MS 的荆芥和荆芥穗饮片挥发油中化学成分特征分析

程梦娟<sup>1,2</sup>, 耿晓桐<sup>3</sup>, 龚海燕<sup>1,2\*</sup>,  
谢彩侠<sup>1,2\*</sup>, 张娟<sup>1,2</sup>, 陈志红<sup>1,2</sup>, 杜宇<sup>1</sup>, 雷敬卫<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>河南中医药大学; <sup>2</sup>河南省中药质量控制与评价工程技术研究中心, 郑州 450046; <sup>3</sup>信阳农林学院, 信阳 464000

**摘要:** 分析荆芥和荆芥穗饮片挥发油中化学成分特征的差异, 为其质量评价及临床应用提供依据。本研究收集市场上不同来源的荆芥和荆芥穗饮片, 首先, 采用水蒸气蒸馏法提取样品总挥发油, 并利用 GC-MS 对荆芥和荆芥穗样品中的挥发油成分及含量进行测定; 其次, 利用 SIMCA14.1 软件对荆芥与荆芥穗中挥发油共有成分相对含量进行主成分分析、聚类分析; 最后, 利用 OPLS-DA 结合 *t*-test 筛选导致荆芥和荆芥穗挥发油存在差异的代谢标志物。结果表明, 荆芥中挥发油总含量普遍低于荆芥穗, 荆芥和荆芥穗挥发油含量的差异达极显著水平; 荆芥中挥发油成分种类多于荆芥穗, 荆芥与荆芥穗挥发油成分特征存在差异, 各自聚为一类; OPLS-DA 结果结合 *t* 检验共筛选出薄荷酮、异胡薄荷酮、 $\beta$ -石竹烯、柠檬烯、 $\beta$ -蒎烯、胡薄荷酮、香芹醇、顺-*p*-2,8-薄荷二烯醇、1-辛烯-3-醇、4-异丙烯基甲苯 10 种引起两种饮片差异的主要代谢标志物。因此, 荆芥与荆芥穗两种饮片挥发油的化学成分特征存在差异, 该差异与其临床功效的相关性还有待进一步研究。

**关键词:** 荆芥; 荆芥穗; 挥发油; GC-MS; PCA

中图分类号: R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)3-0362-11

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.3.002

## Analysis of chemical composition characteristics of volatile oil in Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica based on GC-MS

CHENG Meng-juan<sup>1,2</sup>, GENG Xiao-tong<sup>3</sup>, GONG Hai-yan<sup>1,2\*</sup>,  
XIE Cai-xia<sup>1,2\*</sup>, ZHANG Juan<sup>1,2</sup>, CHEN Zhi-hong<sup>1,2</sup>, DU Yu<sup>1</sup>, LEI Jing-wei<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Henan University of Chinese Medicine;

<sup>2</sup>Henan Province Traditional Chinese Medicine Quality Control and Evaluation

Engineering Technology Research Center, Zhengzhou 450046, China;

<sup>3</sup>Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang 464000, China

**Abstract:** Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica were analyzed to provide a basis for its quality evaluation and clinical application. In this study, Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica were collected from different sources on the market. First, the total volatile oil of the samples was extracted by steam distillation, and the volatile oil composition and content in Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica samples were determined by GC-MS; Second, principal component analysis and cluster analysis were used on the relative content of the common components of the volatile oil in Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica by the SIMCA14.1 software. Finally, OPLS-DA combined with *t*-test were used to test and screen differential metabolic markers of volatile oil in Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica. The result shows that the total content of volatile oil in Schizonepetae Herba is generally lower than Schizonepetae Spica, and it is extremely significant that the content of volatile oil in Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica is different. Moreover, the kind of volatile oil in Schizonepetae Herba is more than that in Schizonepetae Spica. Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica are differences in composition characteristics, and they are grouped into one category, respectively. The OPLS-DA results combined with *t*-test

indicates that there are 10 kinds of main metabolic markers including menthone, isopulegone,  $\beta$ -caryophyllene, limonene,  $\beta$ -pinene, pulegone, carvol, cis- $p$ -2,8-menthol, 1-octene-3-ol and 4-isopropenyl toluene that cause the difference between the two pieces of decoction. Therefore, there are differences in the chemical quality characteristics of the volatile oils of Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica, and the correlation between the difference and its clinical efficacy remains to be further studied.

**Key words:** Schizonepetae Herba; Schizonepetae Spica; volatile oil; GC-MS; PCA

荆芥为唇形科一年生草本植物荆芥(*Schizonepeta tenuifolia* Briq.)的干燥地上部分,荆芥穗为唇形科植物荆芥(*Schizonepeta tenuifolia* Briq.)的干燥花穗<sup>[1]</sup>。荆芥及荆芥穗主产于江苏、河北、江西、湖南、湖北等地<sup>[1,2]</sup>。荆芥与荆芥穗味辛,性微温,归肺、肝经,为临床常用的发汗解表药。2015 版《中国药典》中以挥发油含量作为评价荆芥和荆芥穗两种饮片质量的一个指标,规定荆芥饮片中挥发油含量不得低于 0.003 0 mL/g,荆芥穗饮片中挥发油含量不得低于 0.004 0 mL/g<sup>[1]</sup>。挥发油含量的高低直接影响着荆芥与荆芥穗饮片质量优劣及其药理药效,但由于荆芥产地较多、种质资源丰富,市场上荆芥、荆芥穗质量差异较大<sup>[2,3]</sup>,影响临床用药的安全性与有效性。

荆芥与荆芥穗作为临床常用解表药,2015 版《中国药典》对其功能主治记载皆为:“解表散风,透疹,消疮。用于感冒、头痛、麻疹、风疹、疮疡初起。”经查阅现有资料得知荆芥穗芳香气烈,质轻,效用较

荆芥强,生用荆芥穗取轻宣升散之性,以解表祛风,多见于治疗产后感冒、早产或难产的方剂中<sup>[4,5]</sup>。荆芥与荆芥穗的临床使用药理药效差异与其挥发油总含量及种类密切相关,目前关于荆芥与荆芥穗的研究主要侧重于种质资源、挥发油含量及提取方法、药理药效等<sup>[2,3,6,7]</sup>,而关于荆芥与荆芥穗挥发油成分种类及含量差异还未见报道。本研究利用 GC-MS 法分析不同来源荆芥和荆芥穗饮片中挥发油含量与成分特征,为建立能客观反映荆芥、荆芥穗药材质量的评价体系奠定基础,为荆芥和荆芥穗的临床使用提供科学的理论依据。

## 1 实验材料

### 1.1 荆芥及荆芥穗饮片

实验样品购自国内中药饮片公司(见表 1),经河南中医药大学陈随清教授鉴定为唇形科植物荆芥(*Schizonepeta tenuifolia* Briq.)的干燥地上部分与干燥花蕾。将荆芥和荆芥穗分别粉碎,过一号筛<sup>[8-10]</sup>(10 目),编号,装袋,置干燥器内待用。

表 1 荆芥与荆芥穗样品来源及批号

Table 1 Sources and batch numbers of Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica samples

编号 No.	来源 Source	生产批号 Batch No.	编号 No.	来源 Source	生产批号 Batch No.
J1	河北 Hebei	190218	S1	河北 Hebei	20180901
J2	河北 Hebei	20180902273	S2	河北 Hebei	20170804
J3	河北 Hebei	180101	S3	河北 Hebei	318181201
J4	河北 Hebei	181001	S4	江苏 Jiangsu	18062104
J5	河北 Hebei	316190201	S5	江苏 Jiangsu	180515002
J6	江苏 Jiangsu	180615	S6	浙江 Zhejiang	-
J7	安徽 Anhui	180601	S7	河南 Henan	180101
J8	河南 Henan	180301QF	S8	河南 Henan	180901QF
J9	河南 Henan	180101	S9	河南 Henan	-
J10	河南 Henan	-	S10	河南 Henan	-

注:J1~J10 为 10 批荆芥样品;S1~S10 为十批荆芥穗样品,下同。

Note: J1-J10 are 10 batches of Schizonepetae Herba; S1-S10 are 10 batches of Schizonepetae Spica, the same below.

## 1.2 仪器

1 号药典筛(浙江上虞市五四仪器筛具厂);YF-111B 高速中药粉碎机(瑞安市永历制药机械有限公司)

司);SZ-93 型 Milli-Q Reference 纯水机(上海亚荣生化仪器厂);ME204E 型万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);挥发油提取器(德阳市

乔生玻璃制品有限公司);101-3AB型电热鼓风干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司);0410462型加热套1(巩义市英峪予仪器厂);04061005型加热套2(巩义市英峪予仪器厂);7000-7890A型Agilent气质联用仪(美国Agilent公司);0.22 μm微孔滤膜(天津津腾实验设备有限公司)。

### 1.3 试剂

正己烷(色谱纯,默克股份两合公司);无水硫酸钠(分析纯,天津市凯通化学试剂有限公司);蒸馏水(上海亚荣生化仪器厂);人造沸石(天津市致远化学试剂有限公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 GC-MS 条件

依据相关文献<sup>[3,11]</sup>,根据预实验色谱图出峰结果对分流比、程序升温等条件进行调整,最终确定色谱条件。色谱柱:DB-5MS(30 m × 0.25 mm, 0.10 μm);进样口温度:200 °C;分流比:50:1;进样量:1 μL;溶剂延迟3 min;程序升温,柱温60 °C,保持8 min,以3 °C/min升至110 °C,保持7 min,再以10 °C · min<sup>-1</sup>升至220 °C,保持3 min。

质谱:接口温度:280 °C;离子源温度:230 °C;电离方式:EI;电离能量:70 eV;四极杆温度:150 °C;质量范围m/z:45~550;质谱检索库:NIST11。

### 2.2 供试品溶液制备

称取约50.0 g荆芥(荆芥穗)粉末,精密称定,加入至1 L圆底烧瓶中,加入7倍量蒸馏水(350 mL),沸石3粒,浸泡0.5 h,提取2.0 h,停止加热后冷却,取所得挥发油加入适量正己烷稀释,加入适量无水硫酸钠干燥,至再加入无水硫酸钠粉末呈疏松状,静置10 min,过滤,正己烷定容至5 mL容量瓶,摇匀,过0.22 μm微孔滤膜,即得样品<sup>[8-10]</sup>。

### 2.3 方法学考察

#### 2.3.1 精密度实验

取S7样品,按照“2.2”项下制备供试品溶液,按照“2.1”项下的GC-MS条件连续进样6次,记录胡薄荷酮的保留时间和相对峰面积,计算保留时间RSD及相对峰面积RSD,结果表明,其保留时间RSD为0.025%,相对峰面积RSD为0.68%,符合检测要求,仪器的精密度良好。

#### 2.3.2 稳定性试验

取S7样品,按照“2.2”项下制备供试品溶液,在制备后0、2、4、6、8、12 h按照“2.1”项下的GC-MS条件分别进样,记录胡薄荷酮的保留时间和相对峰

面积。计算保留时间RSD及相对峰面积RSD,结果表明,其保留时间RSD为0.032%,相对峰面积RSD为1.36%,符合检测要求,样品溶液稳定性较好。

#### 2.3.3 重复性试验

取S7样品,按照“2.2”项下制备6份供试品溶液,然后按照“2.1”项下的GC-MS条件分别进样,记录计算保留时间RSD及相对峰面积RSD,结果表明,其保留时间RSD为0.015%,相对峰面积RSD为3.59%,符合检测要求,表明该测定方法具有较好的重复性。

### 2.4 挥发油含量及各成分相对含量计算方法

按照“2.2”项下条件分别提取10批次荆芥和10批次荆芥穗饮片的挥发油,计算挥发油得率(V/M),每个样品重复3次,取平均值并计算挥发油含量。按照“2.1”色谱条件进样,以样品共有总峰面积为1,各成分峰面积与总峰面积比值为各成分相对含量,每个样品重复3次,取平均值。

### 2.5 数据统计分析

用面积归一化法计算荆芥及荆芥穗饮片挥发油成分的总离子流图中各组分的相对含量,各成分的质谱图通过质谱库检索、人工图谱解析、文献核对等多种方法进行综合分析鉴定。利用Agilent Mass Hunter Qualitative Analysis软件以峰面积比大0.001为标准对峰进行过滤,以色谱峰谷间连线为基线对峰进行积分,根据保留时间将峰进行对齐,采用归一化处理数据。利用SIMCA14.1统计软件对归一化后的数据进行多元统计分析,首先,进行PCA与HCA分析确定荆芥和荆芥穗挥发油成分特征是否存在差异;其次,利用Pareto标度化预处理对其进行OPLS-DA分析,进一步分析模式间的化学成分差异,并输出得分图和置换检验图;最后,对VIP>1的成分进行t检验计算P值,筛选VIP>1且P<0.05的成分为差异代谢物。

## 3 结果与分析

### 3.1 荆芥及荆芥穗挥发油总含量测定结果

荆芥与荆芥穗饮片挥发油含量测定结果(见图1)表明,10批荆芥挥发油含量在0.002 0~0.006 5 mL/g之间,平均含量为0.003 5 mL/g,10批荆芥穗总挥发油含量在0.005 0~0.015 5 mL/g之间,平均含量为0.011 6 mL/g。10批荆芥中来自江苏的生产批号为180615的荆芥挥发油总含量最高,为0.006 5 mL/g,其中来自河南、安徽、河北,生产批号分别为180301QF、180601、316190201的三批荆芥饮

片中总挥发油成分均含量低于 2015 版《中国药典》规定标准<sup>[1]</sup>。10 批荆芥穗中挥发油总含量均达到药典标准,其中来自河北、生产批号为 318181201 的荆芥穗挥发油总含量高达 0.015 5 mL/g,而同样来自河北、生产批号为 20170804 的荆芥穗在 10 批荆

芥穗中挥发油总含量最低,为 0.005 0 mL/g。利用 Excel 对荆芥与荆芥穗挥发油含量进行 *t* 检验, *P* < 0.01, 表明荆芥与荆芥穗挥发油总含量差异在统计学上达到极显著水平,荆芥穗挥发油含量整体高于荆芥。

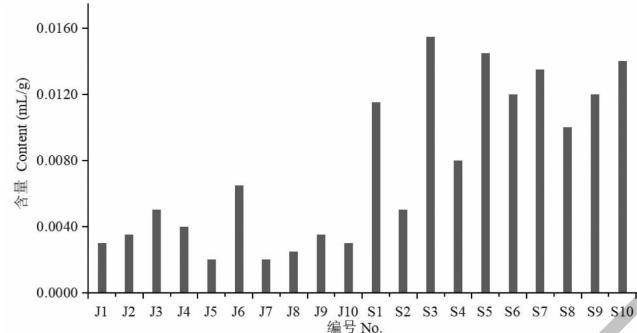


图 1 荆芥、荆芥穗饮片挥发油含量

Fig. 1 Volatile oil content of Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica samples

### 3.2 荆芥及荆芥穗饮片挥发油成分鉴定及含量分析

利用“2.1”和“2.2”项下的方法分别对 10 批荆芥和 10 批荆芥穗挥发油成分进行 GC-MS 分析,记录其挥发油总离子流色谱图(见图 2)。总离子流图经 NIST11 系统检索结合文献报导<sup>[3,11-13]</sup>得 10 批荆芥共有成分及 10 批荆芥穗共有成分(见表 2、表 3)。按照挥发油的构成可将其分为萜类化合物、芳香族化合物、脂肪族化合物等。由表可知 10 批荆芥饮片的挥发油共鉴定 27 种成分,其中萜类化合物 21 种,平均相对含量占 99.2%,脂肪族化合物 5 种、芳香族化合物 1 种;10 批荆芥穗饮片的挥发油共鉴定 24 种成分,其中萜类化合物 20 种,平均相对含量为

99.5%,脂肪族化合物 4 种、芳香族化合物 1 种。荆芥与荆芥穗饮片的挥发油中具有各自的特有成分,其中荆芥饮片的特有成分为脂肪族类化合物 1-辛烯-3-酮、环己酮,萜类化合物左薄荷脑、薄荷醇、*L*- $\alpha$ -松油醇、葎草烯,而荆芥穗饮片的特有成分为脂肪族化合物水杨酸己酯,萜类化合物(1S)-香芹醇、瓜菊醇酮。

荆芥与荆芥穗饮片挥发油的共有成分为 21 种,分别为脂肪族化合物 1-辛烯-3-醇、3-辛酮、乙酸辛烯酯,芳香族化合物 4-异丙烯基甲苯,其余均为萜类化合物,主要有薄荷酮、胡薄荷酮、柠檬烯等。为了探讨两种饮片挥发油中共有成分的分布特征,我们对两种饮片共有成分中相对含量大于 1% 的胡薄荷

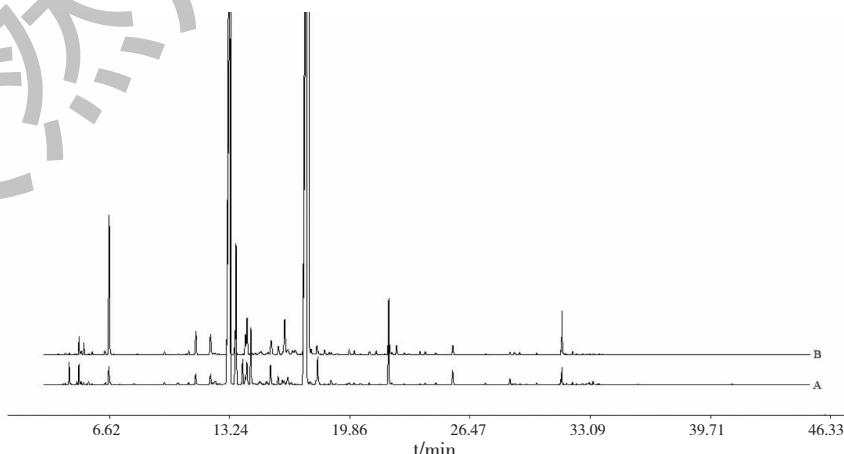


图 2 荆芥 J9 (A) 与荆芥穗样品 S7 (B) 的总离子流图

Fig. 2 Total ion current diagram of Schizonepetae Herba J9 samples (A) and Schizonepetae Spica S7 samples (B)

表 2 10 批荆芥饮片挥发油共有成分

Table 2 The common ingredients of volatile oil in 10 batches of Schizonepetae Herba

峰号 No.	<i>t<sub>R</sub></i> (min)	化学成分 Chemical composition	相对含量 Relative content(%)									
			J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
1	4.83	1-辛烯-3-酮 1-Octene-3-one	0.16	0.2	0.05	0.01	0.11	0.06	0.07	0.03	0.07	0.05
2	4.94	1-辛烯-3-醇 1-Octene-3-ol	0.28	0.28	0.38	0.43	0.11	0.61	0.27	0.54	0.45	0.37
3	5.07	3-辛酮 3-Octanone	0.03	0.04	0.06	0.04	0.03	0.06	0.04	0.04	0.05	0.08
4	5.21	β-蒎烯 β-Pinene	0.04	0.06	0.06	0.04	0.04	0.07	0.07	0.05	0.04	0.07
5	6.59	柠檬烯 Limonene	0.49	0.61	0.52	0.45	0.38	0.74	0.76	0.34	0.56	0.58
6	9.65	4-异丙烯基甲苯 4-Isopropenyltoluene	0.05	0.06	0.06	0.07	0.04	0.06	0.08	0.04	0.05	0.10
7	10.99	乙酸辛烯酯 Octenyl acetate	0.05	0.06	0.05	0.05	0.03	0.10	0.04	0.05	0.09	0.05
8	11.37	顺-p-2,8-薄荷二烯醇 cis-p-2,8-Menthol	0.49	0.46	0.35	0.29	0.36	0.54	0.47	0.38	0.65	0.46
9	12.18	香芹醇 Carvol	0.42	0.39	0.31	0.25	0.32	0.49	0.44	0.33	0.59	0.40
10	13.24	薄荷酮 Menthone	30.54	36.02	45.83	33.29	35.19	33.10	19.90	32.20	33.34	27.48
11	13.58	异胡薄荷酮 Isopulegone	3.19	3.34	4.05	1.83	3.9	2.16	1.89	2.03	2.41	1.87
12	13.96	左薄荷脑 Levomenthol	0.37	0.35	0.67	0.18	0.46	0.12	0.37	0.12	0.12	0.09
13	14.19	香芹酮 Carvone	0.77	0.77	0.57	0.36	0.84	0.54	0.55	0.41	0.73	0.66
14	14.41	薄荷醇 Menthol	1.02	1.01	1.60	0.25	1.12	0.24	0.13	0.38	0.38	0.31
15	15.28	L-α-松油醇 L-α-Terpineol	0.09	0.08	0.11	0.05	0.07	0.06	0.11	0.09	0.08	0.07
16	15.5	异胡薄荷醇 Isopulegol	0.63	0.59	0.55	0.23	0.55	0.39	0.35	0.34	0.45	0.40
17	15.91	薄荷呋喃 Menthofuran	0.31	0.27	0.25	0.12	0.19	0.16	0.21	0.17	0.27	0.18
18	16.25	环己酮 Cyclohexanone	0.25	0.21	0.06	0.07	0.11	0.11	0.21	0.05	0.22	0.09
19	16.5	茴香脑 Anethole	0.34	0.31	0.33	0.06	0.26	0.07	0.05	0.20	0.12	0.10
20	17.49	胡薄荷酮 Pulegone	54.79	50.13	38.83	59.84	52.45	56.04	69.87	58.58	53.94	63.06
21	18.09	胡椒酮 Piperonone	0.63	0.69	0.89	0.22	0.34	0.24	0.26	0.23	0.48	0.26
22	20.09	乙酸香芹酯 Carylacetate	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.09	0.06	0.07	0.11	0.05
23	21.99	马鞭草烯酮 Verbenone	1.97	1.68	1.48	1.07	1.35	1.48	1.56	1.64	1.68	1.47
24	25.52	β-石竹烯 β-Caryophyllene	0.53	0.43	0.53	0.32	0.26	0.79	0.41	0.41	0.80	0.43
25	27.33	葎草烯 Humulene	0.05	0.03	0.05	0.02	0.02	0.08	0.05	0.03	0.08	0.04
26	28.67	γ-杜松烯 γ-Cadinene	0.23	0.15	0.24	0.11	0.08	0.44	0.23	0.16	0.48	0.13
27	31.53	石竹烯氧化物 Caryophylleneoxide	0.48	0.56	0.28	0.11	0.46	0.18	0.21	0.17	0.33	0.26

表 3 荆芥穗饮片挥发油共有成分

Table 3 The common components of essential oil in the Schizonepetae Spica

峰号 No.	<i>t<sub>R</sub></i> (min)	化学成分 Chemical composition	相对含量 Relative content(%)									
			S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
1	4.95	1-辛烯-3-醇 1-Octene-3-ol	0.24	0.14	0.13	0.30	0.24	0.20	0.28	0.15	0.14	0.22
2	5.07	3-辛酮 3-Octanone	0.10	0.03	0.03	0.27	0.11	0.03	0.06	0.03	0.02	0.03
3	5.21	β-蒎烯 β-Pinene	0.15	0.17	0.25	0.06	0.10	0.26	0.18	0.25	0.20	0.27
4	6.6	柠檬烯 Limonene	2.41	2.28	3.05	2.45	1.83	3.00	2.81	2.90	2.51	3.14
5	9.65	4-异丙烯基甲苯 4-Isopropenyltoluene	0.08	0.09	0.12	0.04	0.06	0.12	0.08	0.12	0.10	0.12
6	10.99	乙酸辛烯酯 Octenyl Acetate	0.11	0.06	0.06	0.14	0.10	0.07	0.08	0.06	0.06	0.07

续表 3

峰号 No.	$t_R$ (min)	化学成分 Chemical composition	相对含量 Relative content(%)									
			S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
7	11.38	顺-p-2,8-薄荷二烯醇 cis-p-2,8-Menthol	0.8	0.66	0.57	1.04	0.9	0.55	0.74	0.58	0.57	0.57
8	12.2	香芹酮 Carvol	0.77	0.67	0.55	0.90	0.82	0.52	0.69	0.56	0.54	0.54
9	13.28	薄荷酮 Menthone	25.85	3.00	2.46	15.59	8.84	6.60	15.51	3.06	4.17	6.27
10	13.6	异胡薄荷酮 Isopulegone	1.99	0.29	0.20	2.68	0.34	0.53	1.19	-	0.31	0.56
11	14.19	香芹酮 Carvone	0.84	0.61	0.50	1.24	1.35	0.50	0.86	0.61	0.55	0.49
12	15.53	异胡薄荷醇 Isopulegol	0.55	0.39	0.34	0.80	0.56	0.31	0.53	0.30	0.29	0.26
13	15.92	薄荷呋喃 Menthol furan	0.47	0.16	0.09	1.04	0.79	0.15	0.29	0.15	0.10	0.16
14	16.45	茴香脑 Anethole	0.13	0.06	0.06	0.51	0.15	0.06	0.13	0.06	0.06	0.06
15	16.84	(1S)-香芹醇 (1S)-Carvol	0.27	0.27	0.14	0.50	0.28	0.16	0.12	0.16	0.14	0.19
16	17.59	胡薄荷酮 Pulegone	60.56	87.39	88.64	64.38	77.08	84.01	70.24	87.56	86.65	83.64
17	18.04	胡椒酮 Piperonone	0.16	0.10	0.08	0.64	0.2	0.03	0.24	0.07	0.11	0.04
18	19.81	水杨酸己酯 Hexyl salicylate	0.30	0.14	0.08	0.42	0.46	0.10	0.15	0.13	0.10	0.13
19	20.09	乙酸香芹酯 Carvyl acetate	0.08	0.06	0.05	0.09	0.08	0.06	0.10	0.06	0.06	0.06
20	22	马鞭草烯酮 Verbenone	1.41	1.59	1.30	1.63	1.67	1.26	1.52	1.61	1.64	1.45
21	22.43	瓜菊醇酮 Citrinone	0.12	0.07	0.01	0.16	0.25	0.01	0.29	0.02	-	0.01
22	25.52	$\beta$ -石竹烯 $\beta$ -Caryophyllene	0.17	0.19	0.33	0.04	0.05	0.38	0.24	0.32	0.44	0.43
23	28.67	$\gamma$ -杜松烯 $\gamma$ -Cadinene	0.07	0.03	0.18	0.09	0.05	0.23	0.06	0.16	0.28	0.26
24	31.53	石竹烯氧化物 Caryophyllene oxide	0.40	0.19	0.06	0.32	0.36	0.07	0.73	0.07	0.09	0.10

注:“-”表示样品在该保留时间未出现色谱峰。

Note: “-” means there is no chromatographic peak in the sample at this retention time.

酮、薄荷酮、异胡薄荷酮、柠檬烯、马鞭草烯酮、香芹酮、顺-p-2,8-薄荷二烯酮 7 个成分进行分析(见图 3)。分析发现两种饮片挥发油成分中的胡薄荷酮与薄荷酮含量较高,虽然不同来源相同饮片中两种成分的含量差异较大,但各样本中胡薄荷酮与薄荷酮相对含量之和比较稳定,除 S4 外均高于 80%;两

种饮片挥发油中胡薄荷酮与薄荷酮两种成分的含量整体上存在差异,其中荆芥饮片挥发油中胡薄荷酮相对含量整体低于荆芥穗,而薄荷酮的相对含量则明显高于荆芥穗。此外,荆芥饮片中异胡薄荷酮的相对含量明显高于荆芥穗,而柠檬烯相对含量则明显低于荆芥穗。

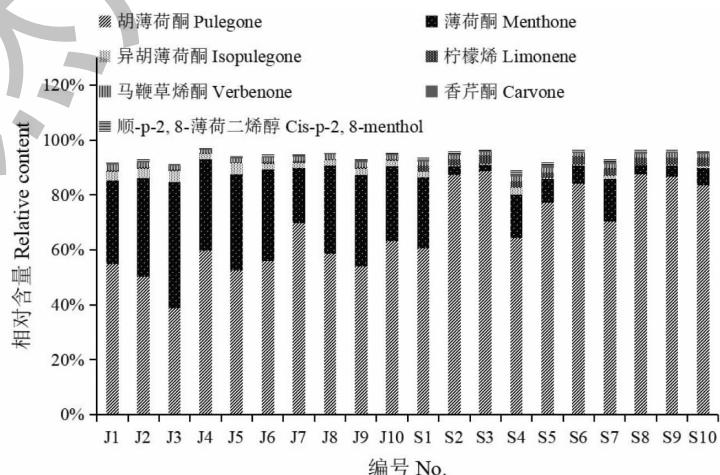


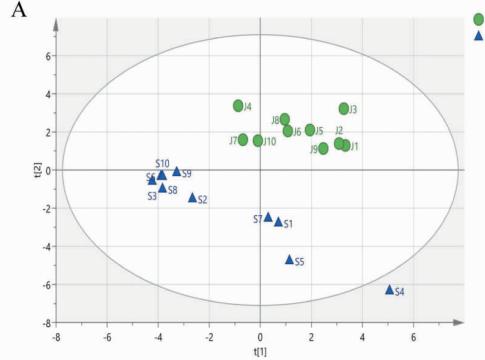
图 3 荆芥、荆芥穗主要共有成分含量

Fig. 3 The content of main components of Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica

### 3.3 荆芥及荆芥穗挥发油化学成分特征分析

#### 3.3.1 荆芥及荆芥穗挥发油化学成分的 PCA 及 HCA 分析

为了分析荆芥和荆芥穗挥发油化学成分特征的差异,我们以荆芥和荆芥穗所含挥发油共有成分种类和相对含量为对象,利用 SIMCA14.1 对荆芥和荆芥穗饮片挥发油成分特征进行 PCA-X 和 HCA 分析



(见图 4),由 PCA 得分结果可知,10 批荆芥和 10 批荆芥穗饮片挥发油成分特征存在差异,各自聚为一类,荆芥样本分布比较集中,而荆芥穗各样本间差异较大,但均未表现出来源差异。HCA 分析是基于 ward 算法的一种判别分析法,横坐标为样品编号、纵坐标为样品点间距离,HCA 结果显示样品距离在 120 时荆芥和荆芥穗饮片各自聚为一类。

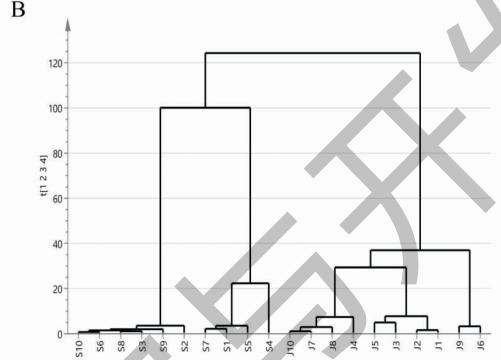


图 4 荆芥、荆芥穗饮片挥发油共有成分 PCA 得分图(A)和 HCA 分析图(B)

Fig. 4 PCA score chart (A) and HCA analysis chart (B) of the volatile oil common constituents of *Schizonepetae Herba* and *Schizonepetae Spica*

PCA 与 HCA 分析结果的一致性表明荆芥与荆芥穗挥发油化学成分特征存在差异,而且相同饮片不同批次之间也存在一定的差异。为了探讨两种饮片各批次样本挥发油成分特征相似性的程度,我们利用指纹图谱相似度评价软件,分别以表 2、表 3 中共有成分进行多点校正,得到两味饮片的对照图谱,如图 5,计算 10 批荆芥和 10 批荆芥穗饮片中挥发油总离子流色谱图间的相似度。结果表明,10 批荆芥饮片与对照图谱相似度均大于 0.900,除 J6、J9 外,其余样品相似度均大于 0.990;10 批荆芥穗饮片与对照图谱相似度均大于 0.930,除 S1、S4 外,其余样品的相似度均大于 0.990,与 PCA、HCA 结果基本一致。

#### 3.3.2 荆芥与荆芥穗饮片挥发油化学成分的 OPLS-DA 分析及差异成分筛选

为排除相同饮片不同批号间样本差异对两种饮片挥发油成分特征的干扰,我们对荆芥和荆芥穗两种饮片的 GC-MS 成分特征进行 OPLS-DA 分析(见图 6),以确定两种饮片质量差异的可靠性。由得分图可知,两种饮片差异明显,各自分布在两个不同的象限。为避免建立的 OPLS-DA 模型出现过度拟合而影响分析结果的准确性,我们利用 200 次 Permutations test 分别进行置换检验,结果显示置换后的  $R^2$ 、 $Q^2$  值均高于原始的  $R^2$ 、 $Q^2$  值,表明所建模型可

靠,未出现过度拟合现象。

荆芥与荆芥穗的 PCA、HCA、OPLS-DA 分析结果一致表明荆芥与荆芥穗饮片的挥发油化学成分存在显著差异,为了确定引起两种饮片差异的主要化学成分,我们利用所建立的 OPLS-DA 模型筛选荆芥与荆芥穗中挥发油化学成分 VIP (variable importance in projection)  $> 1$  的成分(见图 7),并进行  $t$ -test 计算其  $P$  值,筛选 VIP  $> 1$  且  $P < 0.05$  的物质为潜在的差异成分(见表 4)。分析及筛选结果表明,荆芥与荆芥穗饮片挥发油化学成分中存在 10 个 VIP  $> 1$  且  $P < 0.05$  的成分,其中荆芥中薄荷酮、异胡薄荷酮、 $\beta$ -石竹烯、1-辛烯-3 醇含量显著高于荆芥穗,而荆芥中的柠檬烯、 $\beta$ -蒎烯、胡薄荷酮、香芹醇、顺-*p*-2,8-薄荷二烯醇、4-异丙烯基甲苯的含量较荆芥穗低。

## 4 讨论

荆芥与荆芥穗饮片是荆芥植株不同部位加工后的产物,由于荆芥是多年生植物,在全国分布较广,因此两种饮片中挥发油的种类及含量受多种因素的影响。Cao 等<sup>[14]</sup>对 3 个荆芥品系与 2 个对照进行比较试验发现种质资源对荆芥穗与荆芥饮片中总挥发油含量及成分具有决定作用;另外,荆芥的生长环境<sup>[3,15,16]</sup>及采收期<sup>[17]</sup>等也对荆芥及荆芥穗中挥发

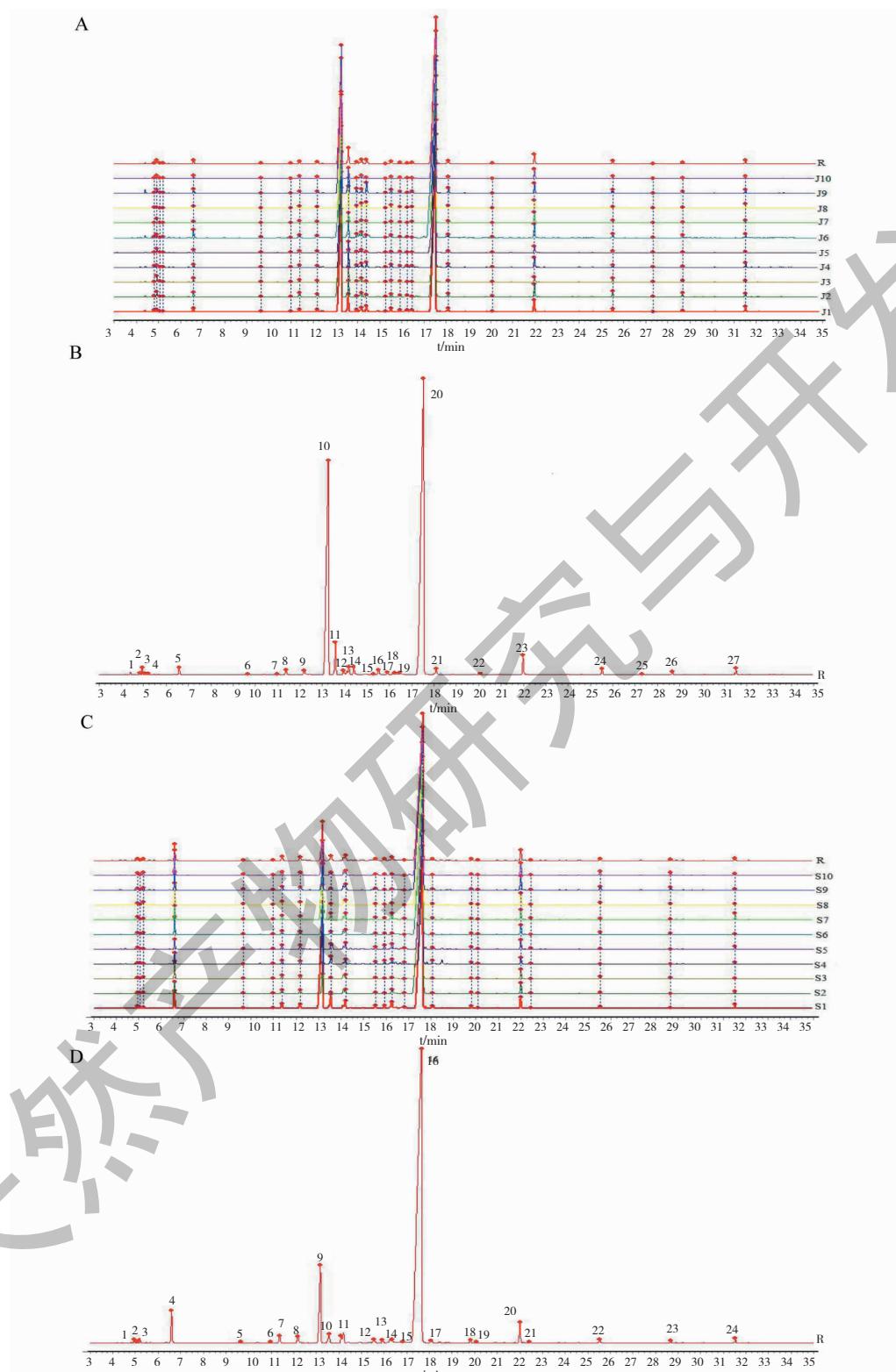


图 5 荆芥、荆芥穗挥发油 GC-MS 叠加指纹图谱及共有模式参照图谱

Fig. 5 The GC-MS superimposed fingerprints and reference fingerprints of Schizonepetae Herba volatile oil and Schizonepetae Spica volatile oil

注:A、B 为荆芥挥发油叠加指纹图谱及对照图谱;C、D 为 10 批荆芥穗挥发油指纹图谱及对照图谱。Note: A and B are the superimposed fingerprints and reference fingerprints of Schizonepetae Herba volatile oil; C and D are the superimposed fingerprints and reference fingerprints of Schizonepetae Spica volatile oil.

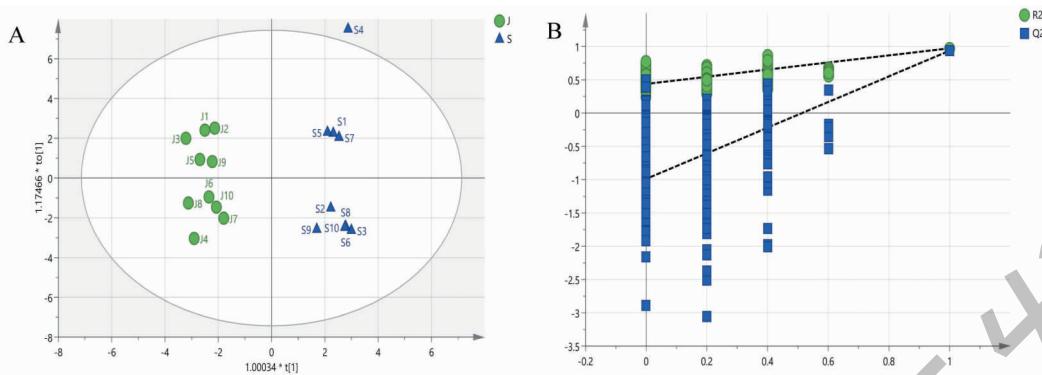


图 6 荆芥与荆芥穗饮片挥发油成分的 OPLS-DA 得分图(A)和置换检验图(B)

Fig. 6 OPLS-DA score map (A) and displacement test chart (B) of the essential oil components of Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica

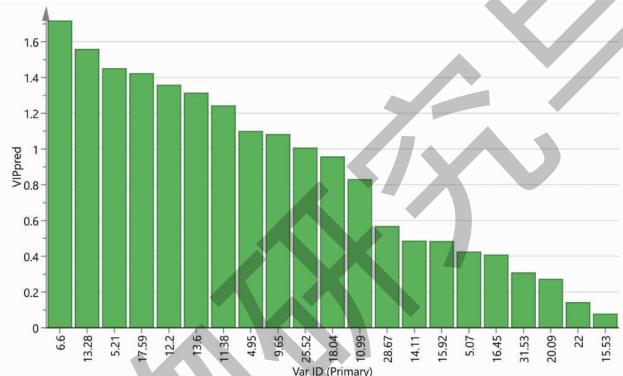


图 7 荆芥与荆芥穗饮片中共有化学成分 VIP 值

Fig. 7 VIP of chemical constituents in Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica

注: 横坐标为各成分色谱峰保留时间。Note: The abscissa is the retention time of each component chromatographic peak.

表 4 荆芥与荆芥穗饮片挥发油差异成分筛选与比较

Table 4 Screening and comparison of different components of volatile oil in Schizonepetae Herba and Schizonepetae Spica

差异成分 Difference component	荆芥 vs 荆芥穗 Schizonepetae Herba vs Schizonepetae spica			差异成分 Difference component	荆芥 vs 荆芥穗 Schizonepetae Herba vs Schizonepetae spica		
	VIP	P	含量比较 Content comparison		VIP	P	含量比较 Content comparison
柠檬烯 Limonene	1.718 29	0.000 0 ***	<	异胡薄荷酮 Isopulegone	1.313 96	0.002 4 **	>
薄荷酮 Menthone	1.543 22	0.000 2 ***	>	顺-p-2,8-薄荷二烯醇 <i>cis</i> -p-2,8-Menthol	1.224 75	0.009 3 **	<
β-蒎烯 β-Pinene	1.443 24	0.000 1 ***	<	1-辛烯-3-醇 1-Octene-3-ol	1.086 15	0.013 9 *	>
胡薄荷酮 Pulegone	1.413 21	0.001 2 **	<	β-石竹烯 β-Caryophyllene	1.085 29	0.000 3 ***	>
香芹醇 Carvol	1.342 71	0.003 0 **	<	4-异丙烯基甲苯 4-Isopropenyl toluene	1.049 33	0.012 0 *	<

注: \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ 。

油含量及成分产生一定影响,而且不同采收期的荆芥中茎、叶、穗比例存在差异<sup>[7]</sup>,而荆芥中各部位挥发油成分含量为穗>叶>茎<sup>[8,11]</sup>。为了比较荆芥和

荆芥穗两种饮片挥发油成分质量特征的差异,本研究以不同来源的两种饮片为研究对象,依据 2015 版《中国药典》中挥发油照测定法(通则 2204),结合

文献对浸泡方式、加水量、提取时间及粉碎程度等参数进行优化,确定了荆芥和荆芥穗饮片中挥发油提取的最佳工艺。通过对两种饮片中总挥发油含量及成分分析发现,荆芥和荆芥穗两种饮片挥发油成分特征存在差异。为了分析引起荆芥和荆芥穗饮片挥发油总量差异的原因,我们观察比较了两种饮片及不同批次饮片的外观形状,发现市场上的荆芥饮片约 90% 为荆芥的茎,而荆芥穗则基本上 90% 为荆芥的穗,而荆芥穗中种子较多。而且,我们在处理样品过程中也发现,不同产地和批次的荆芥与荆芥穗饮片的颜色也存在一定的差异,胡薄荷酮相对含量最低的 J3 荆芥饮片颜色与另外 9 个样品有较大差异,J3 粉末颜色偏绿,其余 9 种偏棕褐色;挥发油含量明显偏低的 S2 荆芥穗饮片颜色明显比其它几个褐色的荆芥穗浅,而荆芥中叶片与茎的组成比例及饮片的颜色取决于荆芥品种、采收期及加工方法等多种因素,因此,荆芥和荆芥穗饮片质量的差异性及不稳定性和药材的采收、品种、产地环境、加工方法、储藏环境等多种因素有关,而这种差异的多样性和不可控性可能影响荆芥和荆芥穗饮片质量的稳定性和临床疗效。因此,对于荆芥这类影响其质量因素较多的中药,应以“药材来源-化学质量-药学性质-临床疗效”相结合的一致性评价方法,建立其药材产地溯源的鉴别体系,进而为临床合理使用荆芥及荆芥穗饮片提供依据。另外,为了保证荆芥及荆芥穗饮片质量的稳定性,我们可通过转录组学、代谢组学等技术进一步研究相关因子对荆芥及荆芥穗挥发油成分的影响机理,为荆芥优良种质选择、饮片质量控制及药效成分的合成生物学提供依据。

药效成分是决定中药产生临床功效的物质基础,荆芥与荆芥穗同为发汗解表药,二者均为多种复方中药的组成药物,但荆芥穗较荆芥发散力强,祛风解表之功更甚,为了进一步探讨引起两种饮片临床疗效差异的药效物质特征,本研究利用 GC-MS 对不同批次的荆芥及荆芥穗饮片中挥发油成分特征进行分析,发现虽然两种饮片挥发油中含有许多相同的化学成分,但共有成分的含量特征却存在明显差异,OPLS-DA 分析从两种饮片挥发油共有成分进行筛选到 10 个差异成分,其中 8 个成分的差异达极显著水平,这些成分涉及到薄荷酮、胡薄荷酮及柠檬烯等,其中胡薄荷酮是《中国药典》2015 年版中控制荆芥和荆芥穗饮片质量的评价指标。本研究结果表明荆芥穗中胡薄荷酮和薄荷酮含量占总挥发油量的

80% ~ 90%,荆芥中胡薄荷酮和薄荷酮含量占总挥发油量的 83% ~ 90%,虽然荆芥和荆芥穗胡薄荷酮和薄荷酮的相对总含量差异不大,但是两种饮片中胡薄荷酮与薄荷酮的比例差异较大,荆芥穗饮片中胡薄荷酮平均约占 75%,薄荷酮约占 10%,比例约为 7.5:1,荆芥中胡薄荷酮约占 55%,薄荷酮约占 32%,比例约为 5:3,因此,从胡薄荷酮和薄荷酮两种成分的相对比例来看,荆芥穗饮片更偏向于胡薄荷酮型。萜类成分作为荆芥挥发油中最主要的化学成分,是抗炎、抗病毒等重要药理活性的物质基础,文献研究发现胡薄荷酮型薄荷挥发油炎症抑制活性高于薄荷酮型薄荷挥发油<sup>[18]</sup>,也有研究表明胡薄荷酮具有高炎症抑制活性的同时毒性也有所增加<sup>[19,20]</sup>。此外,柠檬烯在荆芥与荆芥穗中相对含量差异极其显著,有研究显示柠檬烯对大鼠酒精性肝损伤具有拮抗作用<sup>[21]</sup>,因此,荆芥穗与荆芥饮片临床功效差异可能与这些成分的分布特征有关。另外,关于荆芥和荆芥穗两种饮片挥发油中各自特有成分与相应饮片临床功效的相关性也未见报道。

由于荆芥产地较多,本研究仅收集到部分产地的荆芥和荆芥穗饮片,而且对于饮片的药材来源、产地环境及采收期并不清楚,研究结果也仅能说明两种饮片挥发油成分的初步特征及差异,后期还需要收集足够多代表性的饮片,通过对大量样本挥发油成分特征的统计分析,科学准确阐释荆芥与荆芥穗两种饮片挥发油成分的特异性及其与临床疗效的关系,为建立两种饮片科学的质量控制评价体系及临床合理用药提供依据。

## 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission, Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: Chinese Medicine Science and Technology Press, 2015.
- 2 Ma YZ. Diversity of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. based on AFLP and ITS sequence analysis [J]. J Northwest A&F Univ:Nat Sci(西北农林科技大学学报:自科版), 2017, 45 (6):228-234.
- 3 Du CZ, Qin JP, Chen YP, et al. GC-MS analysis of volatile oil components in *Schizonepeta tenuifolia* Briq. from various habitats [J]. Hubei Agr Sci(湖北农业科学), 2014, 53 (1): 188-190.
- 4 Zhang L, Shan MQ, Kong M, et al. Determination of pulegone in *Schizonepetae Spica* by RP-HPLC method [J]. Chin Tradit

- Herb Drugs(中草药),2004,35(12):97-98.
- 5 Wu JH. Analysis on the application characteristics of Nepeta Ears in "Fu Qingzhu Nyke" [J]. Hubei J Tradit Chin Med (湖北中医杂志),2000,22(8):39-40.
- 6 Huang SJ,Mu F,Li F,et al. Potential mechanism study of herbal pair Schizonepetae Herba and Saposhnikoviae Radix against coronavirus pneumonia via network pharmacology and molecular docking[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2020,32:1087-1098.
- 7 Jiang YH,Luo ZH,Hong LL,et al. GC-MS analysis of the influence of different extraction methods on the volatile oil of Schizonepetae[J]. J Chin Med Mater(中药材),2014,37(1):77-79.
- 8 Wu JX. Comparing methods of extracting volatile oil from spicas,leaves and stems of *Schizonepeta tenuifolia* Briq[J]. Hubei Agr Sci(湖北农业科学),2015,54:953-955.
- 9 Wang SY,Zheng J,Ji R. Research on extraction process of volatile oil of 4 medicinal materials [J]. Capital Food Med (首都食品与医药),2016,23(2):54-56.
- 10 Huang HL,Lin T,Ye YH,et al. Optimization of volatile oil of *Schizonepeta tenuifolia* by orthogonal test and quality control method[J]. J Jiangxi Univ Tradit Chin Med(江西中医药学院学报),2011,23(4):31-33.
- 11 Jiang YH,Luo ZH,Huang LL,et al. GC-MS analysis of the influence of different extraction methods on the volatile oil of Schizonepetae Herba [J]. J Chin Med Mater(中药材),2014,37:77-79.
- 12 Chen Y,Jiang ZH,Tian JK. GC-MS analysis of volatile oil from the ear of *Schizonepeta tenuifolia* Briq [J]. J Chin Med Mater(中药材),2006,29:140-142.
- 13 Wang F,Wen TQ,Sang WT,et al. Chemical constituents in essential oils of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. and their pharmacological activities [J]. Central South Pharm (中南药学),2017,15:312-318.
- 14 Cao L,Jin Y,Wei JH,et al. Comparison on agronomy and quality characters of selective strain of *Schizonepeta tenuifolia* [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志),2009,34:1075-1077.
- 15 Zhou Y,Huang LJ,Zhao YJ,et al. Changes of ion absorption, distribution and essential oil components of flowering changes of ion absorption,distribution and essential oil components of flowering[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志),2018,43:4410-4418.
- 16 Lu QQ,Chen ZK,Bai GQ,et al. Quantitative analysis of 3 kinds of volatile oil components in herba and spica of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. from different areas [J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志),2019,34:448-452.
- 17 Yu LX. Study on the optimal harvest time of *Schizonepeta tenuifolia* based on chemical composition and biological activity[D]. Nanjing:Nanjing University of Chinese Medicine (南京中医药大学),2014.
- 18 Yang Q. Preliminary study on the composition and biological activity of *Menthae Herba*[D]. Zhenjiang:Jiangsu University (江苏大学),2017.
- 19 Yang X,Zeng N,Fu T,et al. Comparative study on chemistry and pharmacology of Schizonepetae volatile oil produced in different places [J]. J Chengdu Univ Tradit Chin Med(成都中医药大学学报),2006(2):50-52.
- 20 Wen TQ. Study on Mechanism of essential oils of *Schizonepetae tenuifolia* Briq. and pulegone in anti-inflammatory effect of LPS-induced endotoxin poisoning mice based on NLRP3 signaling pathway[D]. Chengdu:Chengdu University Traditional Chinese Medicine(成都中医药大学),2017.
- 21 Sun TT,Liang H,Liu Y,et al. Effect of D-limonene on iron overload in rats with alcoholic liver injury[J]. Chin J Public Health(中国公共卫生),2015,31:1176-1179.