

# GC-MS联用技术在唇形科中药材化学成分鉴定及含量测定中的应用<sup>△</sup>

张辰辰<sup>\*</sup>, 杨继章<sup>#</sup>, 吴丹(河北医科大学第一医院, 石家庄 050031)

中图分类号 R282.71;R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)31-2961-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.31.30

**摘要** 目的:为唇形科中药材化学成分鉴定及含量测定提供参考。方法:采用文献综述法,论述气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术在唇形科薄荷、广藿香、紫苏、荆芥、丹参、黄芩等药材中的应用进展。结果:采用GC-MS联用技术已对该6种唇形科中药材进行了化学成分鉴定,其中5种进行了化学成分含量测定。结论:GC-MS联用技术对唇形科中药材挥发油成分的鉴定和新化合物的发现起着至关重要的作用,但在该科其他中药材中的应用较少,值得进一步推广。

**关键词** 气相色谱-质谱联用技术;唇形科;中药材;化学成分;含量测定

气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术是一种高灵敏度、高效能、高选择性的分离分析方法。它结合了GC、MS两者的优点,适合于低分子化合物(相对分子质量<1 000)的分析,尤其适合于挥发性成分的分析。随着近年来其商品化仪器设备及分析检测技术的日益完善,GC-MS联用技术已成为中药挥发性成分鉴定、食品和中药中农药残留量测定、体育竞赛中兴奋剂等违禁药品检测以及环境监测等方面必不可少的工具。

唇形科(Labiatae)植物共约220属3 500余种,广布于全世界。我国有99属808种,全国各地均有分布。已有药用记载75属436种,但目前作为中药材应用的仅有黄芩、荆芥、藿香、丹参、薄荷、紫苏、香薷、夏枯草等十余种。唇形科植物以富含多种芳香油而著称,其中有不少芳香油成分可供药用。本文就GC-MS联用技术在唇形科中药材化学成分鉴定及含量测定中的应用作一综述,旨在为唇形科中药材的开发研究提供参考。

## 1 GC-MS联用技术在唇形科中药材化学成分鉴定中的应用

薄荷为多年生草本,有强烈清凉香气,全草入药,能疏散风热、清利头目、理气解郁。国内对薄荷挥发油化学成分已有较多的研究报道,其主要成分为薄荷脑、薄荷酮、异薄荷酮、胡薄荷酮、胡椒酮和胡椒烯酮等。此外,还含多种挥发油成分<sup>[1]</sup>。She GM等<sup>[2]</sup>通过GC-MS联用技术从薄荷的地上部分分离鉴定出两个新化合物:rel-(1R,2S,3R,4R) p-menthane-1,2,3-triol-3-O-β-d-glucopyranoside 和 rel-(1S,2R,3S) terpinolene-1,2,3-triol-3-O-β-d-glucopyranoside。Marin C等<sup>[3]</sup>通过GC-MS联用技术首次从新鲜的薄荷叶中鉴定出了薄荷酯,从而打破了其只能人工合成的假说。Lscan G等<sup>[4]</sup>采用体外研究技术微稀释法、琼脂扩散法和生物自显影法等验证了具有抗病原微生物作用的薄荷挥发油,通过GC-MS联用技术检测发

现其起作用的有效成分为薄荷脑。Atsbaha Zebelo S等<sup>[5]</sup>采用GC-MS联用技术和Y型管嗅觉器定量测定法,发现对食草性昆虫具有抑制作用的有效成分是薄荷呋喃。Sokovic MD等<sup>[6]</sup>通过水蒸气蒸馏法提取、GC-MS联用技术鉴定证明,薄荷中具有强大抗真菌作用的成分是薄荷脑和薄荷酮,并且经药理实验证实,其作用远远超过常规抗真菌药(咪康唑等),但容易产生耐受性。因此,薄荷可作为抗真菌药和天然防腐剂使用。

广藿香为多年生草本,全草能解暑化湿、镇吐健胃、祛风。陈地灵等<sup>[7]</sup>采用GC-MS联用技术对越南产广藿香和中国产广藿香的挥发油进行了比较。结果显示,两地广藿香挥发性成分在组份上具有一定相似性,主要为β-广藿香烯、β-榄香烯、顺式-石竹烯、反式-石竹烯、刺蕊草烯、α-愈创木烯、α-广藿香烯、δ-愈创木烯、广藿香醇和广藿香酮10个指标性成分。但是,越南产广藿香含挥发油率高于中国产广藿香<sup>[8]</sup>。

紫苏为一年生草本,叶(紫苏叶)、茎(紫苏梗)、果(紫苏子)均可药用。紫苏叶能发表散寒、行气宽中;紫苏梗能利气宽胸、解郁安胎;紫苏子能降气定喘、化痰止咳、利膈宽肠。胡彦等<sup>[9]</sup>采用吹扫捕集GC-MS联用技术测定了紫苏3个变种4份试材叶片中的挥发性成分。3个变种分别为:野生紫苏变种(产于四川广安市)、回回苏变种(产于广西药用植物园)和紫苏变种;紫苏变种又分为紫苏变种1(产于河北安国市)和紫苏变种2(产于广西灵山县)。植物材料鉴定依据为《中国植物志》。结果显示,4份试材之间共有成分仅有3种:顺-3-己烯醛、石竹烯和圣亚麻三烯。紫苏3个变种叶片挥发油中的主要组分和相对含量差异较大,回回苏变种挥发油的主要成分是野生紫苏变种与紫苏变种之间的过渡类型。同一变种不同种源(紫苏变种1和紫苏变种2)叶片挥发油的主要组分与相对含量也存在较大差异,但相对来说具有一定的相似性。另外,金建忠<sup>[10]</sup>采用GC-MS联用技术首次在紫苏叶挥发油中鉴定出了洋芹醚、细辛脑和β-谷甾醇。

荆芥为一年生草本,花(果)序入药称荆芥穗,生用能解表散风、透疹,炒炭能止血。荆芥挥发油中主要成分为*d*-薄荷酮、*dl*-薄荷酮、*l*-胡薄荷酮、*d*-柠檬烯、荆芥昔A、荆芥昔B。荆芥叶、荆芥种子、荆芥穗和荆芥梗4个药用部位的共有成分有6种,分别为薄荷酮、异薄荷酮、*l*-胡薄荷酮、3-甲基-6-(1-甲基乙缩醛)-2-环己烯-1-酮、石竹烯和匙叶桉油烯醇。虽然荆芥叶中

<sup>△</sup> 基金项目:河北省中医药管理局中医药类科研计划课题(No.2013007)

<sup>\*</sup> 硕士研究生。研究方向:药剂学。电话:0311-85917352。E-mail:zhangchenchen666@163.com

<sup>#</sup> 通信作者:主任药师,教授,硕士研究生导师。研究方向:药物新剂型、药物稳定性、药品不良反应。电话:0311-85917352。E-mail:yjzh1957@163.com

挥发油的含量最高,但实际应用中荆芥梗被认为是最佳药用部位,因为该部位挥发油成分的种类最为丰富<sup>[11]</sup>。萨仁拉姆等<sup>[12]</sup>采用水蒸气蒸馏法和GC-MS联用技术对藏荆芥的挥发油进行了提取和化学成分鉴定。结果显示,藏荆芥挥发油中富含荆芥内酯等成分,主要为荆芥内酯、螺十二烷、2,4-二甲基-1,3-戊二烯、没药醇、5-壬烯-2-酮等,可见藏荆芥与其他荆芥的挥发油成分差异很大。杨红澎等<sup>[13]</sup>采用GC-MS联用技术对野荆芥花(产于河北承德地区)挥发油的化学成分进行了研究,首次从该植物花挥发油中鉴定分离出了4-异丙基-苯甲醇、2-甲基-5-戊酮(3)-基-咪喃、2-甲基-5-异戊酮基-咪喃、 $\beta$ -石竹烯、2-乙基-5-异丁酮基-咪喃、氧化- $\beta$ -石竹烯等成分。这充分证明了GC-MS联用技术灵敏度高、效能高和选择性强。

丹参为多年生直立草本,干燥根及根茎入药,具有活血调经、祛瘀止痛、凉血消痛、清心除烦、养血安神之功效。陈康健等<sup>[14]</sup>采用GC-MS联用技术分析中国产丹参不同部位的挥发性成分。结果表明,在丹参4个不同部位中,挥发性成分以倍半萜为主,其次含有芳香族和脂肪族化合物。Hudaib M等<sup>[15]</sup>试验发现,受蚕豆萎蔫病毒(BBWV)-I感染的丹参植株产油率为健康植株的2/3,且GC-MS联用技术检测显示,受感染植株挥发油主要成分为倍半萜(如大根香叶烯D、 $\beta$ -石竹烯等)、单萜和二萜类化合物,而健康植株挥发油单萜类成分含量较少。

黄芩药用于干燥根,味苦,性寒,具有清热燥湿、泻火解毒、止血安胎的功效。黄芩有效成分主要是黄酮类化合物,目前已分离出该类化合物30多种,有黄芩苷元、黄芩苷、白杨黄素、千层纸素、千层纸素A-7-O-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩素、汉黄芩苷、黄芩新素I、黄芩新素II、二氢黄芩苷等;还含有14种氨基酸、挥发油、豆甾醇和黄芩酶等。吴海棠等<sup>[16]</sup>采用GC-MS联用技术测定黄芩素作用前后白假丝酵母菌的代谢指纹图谱,利用多元统计分析方法比较黄芩素给药组与对照组的代谢物差异。结果显示,共筛选得到20个潜在生物标志物,这些重要的差异代谢物主要参与了氨基酸代谢、三羧酸循环、磷脂代谢和氧化应激等相关通路。

## 2 GC-MS联用技术在唇形科中药材化学成分含量测定中的应用

Jirovetz L等<sup>[17]</sup>采用GC-MS联用技术测定薄荷挥发油中薄荷醇和薄荷酮的含量,分别高达41.2%和20.4%。据文献报道,薄荷挥发油中薄荷脑的相对含量达62%~87%。薄荷挥发油的鉴定主要采用GC-MS联用技术,薄荷脑、薄荷酮的含量测定主要采用GC法。不同来源薄荷挥发油所鉴定的成分及相对含量差异相当大,特别是薄荷脑的相对含量差异极大。有研究认为,这与野生薄荷种群的差异、薄荷鲜品与干品的不同、挥发油提取方法不同有关<sup>[18]</sup>。作为传统用药方式,复方煎剂采用薄荷饮片后下的方法,薄荷煎剂中薄荷脑含量最高,其次是(-)-薄荷酮。张玉朋等<sup>[19]</sup>采用水蒸气蒸馏法采集薄荷的挥发性成分,并利用GC-MS联用技术结合保留指数进行定性分析,共鉴定出36个主要挥发性成分,其中含 $\beta$ -毕澄茄烯6.11%、石竹烯8.04%。杨莉等<sup>[18]</sup>采用水蒸气蒸馏法和顶空加热法提取薄荷挥发油,并应用GC-MS联用技术比较两种提取

方法的不同。结果显示,主要组分薄荷醇的相对含量分别为82.27%和75.01%,顺式-5-甲基-2-(1-甲基)-环己酮的相对含量分别为2.38%和5.28%。

喻良文等<sup>[20]</sup>应用挥发油测定法和GC-MS联用技术比较了扦插繁殖和组织培养繁殖的广藿香药材样品中挥发油的平均含量,分别为14.2 ml/kg和12.2 ml/kg;10个指标性成分合计百分含量的平均值分别为81.31%和82.98%。两组间均用SPSS 13.0统计软件进行分析,结果显示,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。所以,扦插繁殖和组织培养繁殖的广藿香药材挥发油含量及10个指标性成分的百分含量相当。于敬等<sup>[21]</sup>为了优化广藿香挥发油的提取方法,在水蒸气蒸馏法提取广藿香油之前进行酶解处理。通过正交试验确定最佳工艺后,应用GC-MS联用技术检测目标成分。结果显示,水蒸气蒸馏法不仅可以提高广藿香油的收率,而且相同剂量下,该方法提取的广藿香油抑制Hela细胞增殖的活性也明显强于《中国药典》所用方法获得的广藿香油。

蒋军辉等<sup>[22]</sup>用GC-MS联用技术测定紫苏挥发油成分,主要为萜烯类和含氧化合物,分别为:1-(2-咪喃基)-1-戊酮(11.10%)、石竹烯(14.18%)、 $\alpha$ -石竹烯(3.21%)、顺- $\beta$ -金合欢烯(1.17%)、顺,反- $\alpha$ -金合欢烯(2.55%)、5-烯丙基-1-甲氧(基)-2,3-亚二甲氧基-苯(4.89%)、 $\alpha$ -金合欢烯(1.14%)、榄香脂素(17.00%)、1,2,3-三甲基-5-(2-丙基基)-苯(1.05%)、石竹烯氧化物(4.05%)和芹菜脑(21.75%)。此外,紫苏叶中主要成分为紫苏醛(75.88%)、柠檬烯(3.82%)、石竹烯(9.87%)和法呢烯(3.21%);花中主要成分为紫苏醛(49.23%)、石竹烯(18.53%)、法呢烯(8.99%)、芳樟醇(11.3%)和姜黄二酮(4.55%)。由于水蒸气蒸馏法得率较低,约为0.4%,且紫苏有效成分中有些低沸点、易氧化物质在水蒸气蒸馏时会发生变化和损失,使得精油的含量下降。金建忠<sup>[10]</sup>采用GC-MS联用技术考察比较了超临界CO<sub>2</sub>流体萃取紫苏叶挥发油对水蒸气蒸馏法的先进之处。通过单因素试验和正交试验法确定超临界CO<sub>2</sub>流体萃取紫苏叶挥发油的最佳条件后,挥发油得率为3.2%,鉴定出的16个化合物占出峰物质总含量的97.68%。

2010年版《中国药典》记载荆芥挥发油的含量为0.6%,其中主要成分为*l*-胡薄荷酮(约含31%~43%)、*d*-薄荷酮。刘向前等<sup>[23]</sup>用GC-MS联用技术检测荆芥不同部位挥发油的成分。结果显示,含油量最高的是荆芥叶(3.57±0.04)%,其次为荆芥种子(2.56±0.07)%。各个部位含量最高的成分均为*l*-胡薄荷酮和*d*-薄荷酮。

Rojas LB等<sup>[24]</sup>采用水蒸气蒸馏法提取墨西哥产丹参新鲜叶的含油率为0.05%,GC-MS联用技术检测其主要成分依次为乙酸龙脑酯(24.1%)、 $\beta$ -古芸烯(14.8%)、 $\beta$ -石竹烯(14.1%)、蒎萝油脑(11.0%)和双环吉马烯(8.9%)。中国产丹参不同部位中的挥发性成分以倍半萜为主,其次含有芳香族和脂肪族化合物。倍半萜化合物中, $\beta$ -石竹烯含量较高,依次为丹参花36.16%、茎22.22%、叶5.41%;另一种倍半萜大根香叶烯D的含量依次为丹参花8.00%、茎9.69%、叶16.76%;波旁烯含量为丹参花4.25%、茎4.61%、叶13.05%;丹参根则不含这3种

成分。

### 3 结语

唇形科植物中,仅有十余种作为中药材使用,而这些中药材中,目前应用GC-MS联用技术进行化学成分鉴定及含量测定较为成熟的仅有薄荷、广藿香、紫苏、荆芥和丹参5种。GC-MS联用技术的应用,解决了高效液相色谱法、GC法和MS法等在中药材化学成分鉴定及含量测定中的不足,使得唇形科中药材的未知化学成分得以鉴定<sup>[9]</sup>,特别是在挥发油的化学成分鉴定及其含量测定中尤显突出。除此之外,GC-MS联用技术在其他唇形科中药材化学成分鉴定及其含量测定中的应用,目前研究较少。

采用GC-MS联用技术分析鉴定中药材挥发性成分,并通过计算机辅助检索MS库,能够方便快捷地进行化学成分的鉴定。但是,由于中药材挥发性组分非常复杂,以及受分离度不佳或色谱条件变化等因素的影响,会使组分的MS图发生变化,使检索结果出现偏差。而且计算机辅助检索MS库,有时一个组分会同时出现多个可能的化合物对应,导致定性困难,甚至出现错误。这就需要继续寻找新的方法来完善这一技术的发展,如GC-MS联用技术结合保留指数分析中药材挥发性成分等,从而提高对挥发性成分结构鉴定的准确性,使定性的结果更加准确可信。

总之,随着GC-MS联用技术的广泛应用和不断完善,唇形科植物中更多新的有效成分将会得到进一步的分离纯化和结构鉴定,从而为其药理作用和生物活性研究提供新的依据。GC-MS联用技术在中药材的化学成分鉴定和含量测定中的应用前景广阔。

### 参考文献

[1] 苏越,王呈仲,郭寅龙.基于准确质量测定和保留指数的GC-MS联用技术分析薄荷挥发性成分[J].化学学报,2009,67(6):546.

[2] She GM, Xu C, Liu B. New monocyclic monoterpene glycoside from *Mentha haplocalyx* Briq[J]. *Chem Cent J*, 2012,6(1):253.

[3] Marin C, Schippa C. Identification of monomenthyl succinate in natural mint extracts by LC-ESI-MS/MS and GC-MS[J]. *J Agric Food Chem*, 2006,54(13):4 814.

[4] Lscan G, Kirimer N, Kurkuoglu M, et al. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils[J]. *J Agric Food Chem*, 2002,50(14):3 943.

[5] Atsbaha Zebelo S, Berteau CM, Bossi S, et al. Chrysolina herbacea modulates terpenoid biosynthesis of *Mentha aquatica* L[J]. *PLoS One*, 2011,6(3):192.

[6] Sokovic MD, Vukojevic J, Marin PD, et al. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities[J]. *Molecules*, 2009,14(1):238.

[7] 陈地灵,陈文光,林励,等.越南和中国产广藿香挥发性成分的比较研究[J].中药新药与临床药理,2011,22(3):

334.

[8] Hu LF, Li SP, Cao H, et al. GC-MS fingerprint of *Pogostemon cablin* in China[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006,42(2):200.

[9] 胡彦,丁友芳,温春秀,等.吹扫捕集GC-MS联用技术测定紫苏不同变种叶片中的挥发性成分[J].食品科学,2010,31(12):159.

[10] 金建忠.超临界CO<sub>2</sub>萃取紫苏叶挥发油及其成分分析[J].药物分析杂志,2011,31(5):826.

[11] Xie LW, Dai SK, Wang GH, et al. Composition of essential oil from the aerial part of *Schizonepeta tenuifolia*[J]. *Nat Prod Res Dev*, 2009,21:976.

[12] 萨仁拉姆,童志平,张垠,等.藏荆芥挥发油化学成分的研究[J].时珍国医国药,2011,22(6):1 520.

[13] 杨红澎,王松文,刘跃魁.野荆芥花挥发油化学成分分析[J].中国现代应用药学杂志,2009,26(11):871.

[14] 陈康健,王喆之.GC-MS分析丹参不同部位中的挥发性成分[J].陕西师范大学学报:自然科学版,2011,62(1):66.

[15] Hudaib M, Bellardi MG, Rubies-Autonell C, et al. Chromatographic (GC-MS, HPLC) and virological evaluations of *Salvia sclarea* infected by BBWV- I [J]. *Farmaco*, 2010,56(3):219.

[16] 吴海棠,李祥,王添琦.黄芩素作用白假丝酵母菌的GC-MS联用技术代谢组学研究[J].第二军医大学学报,2013,34(2):184.

[17] Jirovetz L, Wlcek K, Buchbauer G, et al. Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of essential oil from *Mentha Canadensis*[J]. *Nat Prod Commun*, 2009,4(7):1 011.

[18] 杨莉,于生,丁安伟,等.GC-MS联用技术联用技术分析鉴定薄荷中挥发性成分[J].现代中药研究与实践,2009,23(2):22.

[19] 张玉朋,张莹,容蓉,等.气相色谱质谱联用结合保留指数分析薄荷挥发油成分[J].山东中医药大学学报,2011,35(3):247.

[20] 喻良文,钟燕珠,李巍,等.不同繁殖方式的广藿香药材挥发油分析[J].中药新药与临床药理,2008,19(4):296.

[21] 于敬,齐悦,罗岗,等.酶解辅助提取广藿香挥发油成分分析与抗肿瘤活性初探[J].中药材,2012,35(5):796.

[22] 蒋军辉,杨慧仙,杨胜园,等.GC-MS联用技术分析湖南产紫苏挥发油成分[J].亚太传统医药,2012,8(5):26.

[23] 刘向前,李尚玟,李钟泌,等.荆芥不同部位挥发油成分研究[J].中草药,2008,39(10):1 472.

[24] Rojas LB, Visbal T, Morillo M, et al. The volatile constituents of *Salvia leucantha*[J]. *Nat Prod Commun*, 2010,5(6):937.

(收稿日期:2013-10-26 修回日期:2014-03-25)