

湖北产牛至药材不同提取部位挥发油 GC-MS 分析

韩 飞^{1,2}, 陈 泣², 舒积成², 赵志冬³, 黄 艺², 许汉林^{1*}, 杨 明^{2*}

1. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065

2. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330006

3. 江西中医药大学基础医学院, 江西 南昌 330006

摘要: 目的 研究湖北产牛至 *Origanum vulgare* 药材不同提取部位所得挥发油的化学成分。方法 采用水蒸气蒸馏法提取牛至药材不同部位(花和叶、茎、根)的挥发油,并用 GC-MS 法对其化学成分进行分析与鉴定,通过峰面积归一化法得出各成分在组分中的相对质量分数。结果 牛至花和叶中鉴定出 37 个化合物,占挥发油总量的 98.78%;牛至茎中鉴定出 11 个化合物,占挥发油总量的 99.51%,牛至根中鉴定出 29 个化合物,占挥发油总量的 98.97%,3 种不同提取部位所得挥发油共鉴定出化合物 59 个,其中 18 个为在牛至挥发油成分中首次报道。结论 牛至药材的根、茎中除含有花、叶部位相同的抗菌成分外,还含有大量脂肪酸类化合物,该类物质具有较强的抗氧化作用,同样具有一定的药用价值。

关键词: 牛至;挥发油;不同提取部位;GC-MS;脂肪酸

中图分类号: R284.14 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)13-1887-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.13.006

GC-MS analysis on volatile oil extracted from different parts of *Origanum vulgare* growing in Hubei province

HAN Fei^{1,2}, CHEN Qi², SHU Ji-cheng², ZHAO Zhi-dong³, HUANG Yi², XU Han-lin¹, YANG Ming²

1. Pharmacy College, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

2. Pharmacy College, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

3. Basic Medical College, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents in volatile oil extracted from different parts of *Origanum vulgare* growing in Hubei province. **Methods** Steam distillation method was used to extract volatile oil from different parts (flowers, leaves, stems, and roots) of *O. vulgare*, and the chemical constituents was analyzed and identified by GC-MS. The relative content of each chemical component was determined by peak area normalization method. **Results** Thirty-seven compounds were identified in the volatile oil from the flowers and leaves, accounting for 98.78% of the total volatile oil, 11 compounds in the oil from the stems, accounting for 99.51% of the total, and 29 compounds in the oil from the roots, accounting for 98.97% of the total. Altogether, 59 compounds were identified in the volatile oil extracted from three different parts, 18 of them were reported for the first time. **Conclusion** The roots and stems of *O. vulgare* contain not only the similar antibacterial ingredients existing in the flowers and leaves, but also large amounts of fatty acids, which have strong anti-oxidant effects, and can not be ignored completely because of their medicinal value.

Key words: *Origanum vulgare* L.; volatile oil; different extracted parts; GC-MS; fatty acids

牛至 *Origanum vulgare* L. 为唇形科(Labiatae)牛至属 *Origanum* L. 多年生草本植物,又名白花茵陈、止痢草、土香薷等,主要分布于地中海地区及

我国的湖北、江西、湖南、河南、江苏、安徽等省,为民间常用中药,曾被收载于《中国药典》1977年版,其具有清热解毒、利水消肿、理气化湿之功效。

收稿日期: 2015-01-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81173565, 81360630); 江西省自然科学基金项目(20142BAB205083); 江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ13609)

作者简介: 韩 飞(1981—),男,讲师,博士研究生,研究方向为中药新剂型与新技术。Tel: (0791)7118645 E-mail: hanfei8454871@163.com

*通信作者 许汉林(1964—),男,教授,博士生导师,研究方向为中药新剂型及新技术。Tel: (027)68890101 E-mail: xhl4201@sina.com

杨 明(1962—),男,教授,博士生导师,研究方向为中药制药工程、新技术及新设备的研发。

Tel: (0791)87118658 E-mail: yangming16@126.com

现代药理研究表明,牛至具有抗菌、消炎、镇痛以及调节免疫功能等多方面作用,临床用于预防流感,治疗中暑、发热、呕吐、急性胃肠炎、腹痛、痢疾等病症。牛至油是从牛至中提取的挥发油,为淡黄色油状液体,世界范围内均有以其为原料的药品和保健品,长期以来,欧美等国把其作为食品的抗菌保鲜剂,同时也是常用的动物饲料添加剂之一。美国农业部的植物化学和植物物种学背景资料表明,牛至油含有 50 多种不同化合物,是一种潜在的自然抗生素和药物生长促进剂。目前,大多数文献报道^[1-5]表明牛至药材的主要提取部位为花和叶,牛至挥发油的来源及其化学成分的分析也主要集中于牛至药材的地上部分,对于牛至药材其他提取部位(茎)及地下部位(根)所得挥发油化学成分的分析还未见报道。本实验采用 GC-MS 分析,以湖北产牛至药材为原料比较不同提取部位(花和叶、茎、根)所得挥发油的化学成分,为牛至油的抗菌、消炎、抗氧化等药理作用研究提供物质基础,同时也为牛至药材不同药用部位的筛选及新的药用价值提供一定实验依据及参考。

1 仪器与材料

Agilent 6890N 气相色谱-Agilent5973N 质谱联用仪(美国安捷伦科技有限公司);KQ5200DB 型超声仪(江苏省昆山市超声仪器有限公司);BS110S 型电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司);SL-100 型高速万能粉碎机(江阴市力仁机械制造有限公司);挥发油提取器(天津市天玻玻璃仪器有限公司)。无水乙醚、无水硫酸钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

牛至药材于 2014 年 7 月采自湖北省黄冈市团风县方高坪镇,经江西中医药大学药学院生药教研室葛菲教授鉴定为牛至 *Origanum vulgare* L. 干燥的全草(花、叶、茎和根)。

2 方法与结果

2.1 GC-MS 分析条件

2.1.1 色谱条件 DB-35MS 石英毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);载气为高纯度氦气;体积流量 1.0 mL/min;进样量 1.0 μL;分流比 20:1;进样口温度 250 °C;接口温度 280 °C;程序升温:60 °C 保持 2 min,以 10 °C/min 升至 250 °C,保持 20 min。

2.1.2 质谱条件 电离源 EI;电子能量 70 eV;离子源温度 230 °C;四级杆温度 150 °C;扫描范围 m/z 35~450。

2.1.3 图谱检索 采用 WILEY 谱库和 NIST 08.L 质谱库进行数据检索及分析。

2.2 牛至药材的预处理

将牛至药材的不同提取部位(花和叶、茎、根)分离,茎和根洗净后晾干,并处理分类,将各原料粉碎至粗粉,过二号筛备用。

2.3 挥发油的提取

分别称取牛至药材不同部位原料粉末各 500 g,分别置于圆底烧瓶中,加 10 倍量水,连接挥发油提取器和蒸馏装置后,采用水蒸气蒸馏法蒸馏 8 h,直至挥发油不再增加为止,收集挥发油,经无水硫酸钠脱水干燥后,置于棕色瓶中贮藏备用。

2.4 挥发油的化学成分分析

取不同提取部位所得挥发油各 1.0 μL,按“2.1”项下条件用 GC-MS 联用仪进行分析鉴定。经 WILEY 谱库和 NIST 08.L 质谱库检索,并结合标准质谱图和相关文献报道确定各化学成分,总离子流图见图 1、2。并采用峰面积归一化法进行分析,得出各化学成分在挥发性组分中的相对质量分数,结果见表 1。

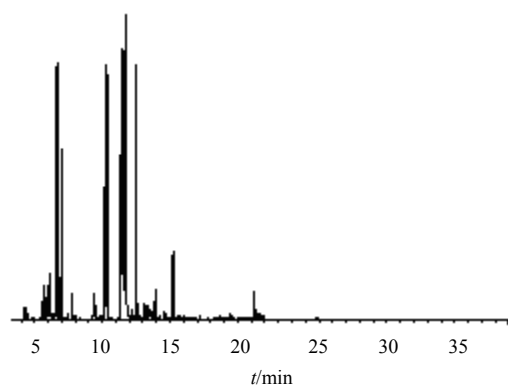


图 1 牛至花和叶挥发油总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of volatile oil from flowers and leaves of *O. vulgare*

牛至花和叶中鉴定出 38 个化合物,占挥发油总量的 98.47%,其中量较高的化合物为香芹酚(30.73%)、麝香草酚(18.81%)、对聚伞花素(10.88%)、石竹烯(7.73%)、3-蒎烯(4.06%),这 5 种成分共占挥发性组分的 72.21%;牛至茎中鉴定出 12 个化合物,占挥发油总量的 99.51%,其中量较高的化合物为棕榈酸(60.18%)、亚油酸(14.25%)、香芹酚(6.02%)、麝香草酚(3.46%)、油酸(5.65%),这 5 种成分共占挥发性组分的 89.56%;牛至根中鉴定出 29 个化合物,占挥发油总量的 98.97%,其中量较

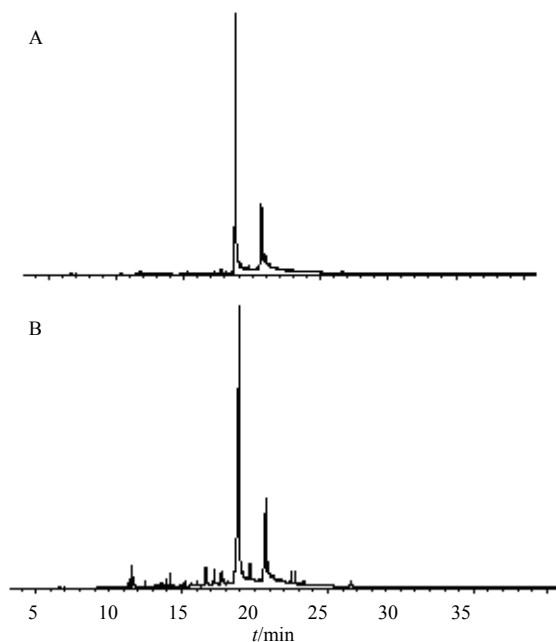


图2 牛至茎 (A) 和根 (B) 挥发油总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatogram of volatile oil from stems (A) and roots (B) of *O. vulgare*

高的化合物为棕榈酸 (58.23%)、亚油酸 (12.11%)、亚麻酸 (3.66%)、香芹酚 (3.27%)、麝香草酚 (1.08%)，这 5 种成分共占挥发性组分的 78.35%。3 种提取部位所得挥发油共鉴定出 59 个化合物，其中有 3 个化合物 (香芹酚、麝香草酚、石竹烯) 是各提取部位所共有的，其中 18 个化合物为在牛至挥发油成分中首次报道，这些化合物主要集中在牛至根、茎中 (12 个化合物)。

3 分析与讨论

3.1 成分种类分析

从表 1 中可知，牛至药材不同提取部位所得挥发油的化学成分主要为酚类、萜烯类及其衍生物、脂肪酸类。酚类化合物主要有香芹酚、麝香草酚，萜烯类化合物主要有松油烯、柠檬烯、石竹烯、香桉烯、3-萜烯、 δ -杜松烯、别罗勒烯等，萜烯类衍生物主要为醚、醛、醇或酯类，如百里酚甲醚、十八烷基乙烯基醚；2-甲基-3-苯基丙醛、3-环己烯-1,3,4-二甲基甲醛；香油醇、芳樟醇、斯巴醇、(-)-4-

表 1 牛至药材不同提取部位所得挥发油的化学成分

Table 1 Chemical constituents of volatile oil extracted from different parts of *O. vulgare*

峰号	保留时间/min	化学成分	分子式	相对分子质量	相对质量分数/%		
					花和叶	茎	根
1	4.30	萜烯	C ₁₀ H ₁₆	136.23	0.32		
2	4.45	α -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136.23	0.17		
3	4.90	α -侧柏烯	C ₁₀ H ₁₆	134.00	0.11		
4	5.41	β -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136.23	0.07		
5	5.53	β -侧柏烯	C ₁₀ H ₁₆	136.23	0.44		
6	5.73	1-辛烯-3-醇*	C ₈ H ₁₆ O	128.21	1.05		
7	5.92	3-辛醇	C ₈ H ₁₈ O	130.23	0.73		
8	6.04	3-辛酮	C ₈ H ₁₆ O	128.21	0.82		
9	6.13	(+)-4-萜烯	C ₁₀ H ₁₆	136.23	1.26		
10	6.36	(+)-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	136.23	0.21		
11	6.63	对聚伞花素	C ₁₀ H ₁₄	134.00	10.88		
12	6.99	3-萜烯	C ₁₀ H ₁₆	136.23	4.06		
13	7.32	β -松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.10		
14	7.46	萜品油烯	C ₁₀ H ₁₆	136.23	0.14		
15	7.76	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.80		
16	7.99	1-甲基-4-(1-甲基乙烯基)苯*	C ₁₀ H ₁₂	132.20	0.13		
17	9.38	(-)-4-萜品醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.85		
18	9.93	α -松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.18		
19	10.19	牻牛儿苗酸*	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164.20	3.82		
20	10.33	百里酚甲醚	C ₁₁ H ₁₆ O	164.24	7.72		
21	11.16	2-甲基-3-苯基丙醛*	C ₁₀ H ₁₂ O	148.20	0.15		
22	11.39	麝香草酚**	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	18.81	3.46	1.08
23	11.57	香芹酚**	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	30.73	6.02	3.27
24	11.77	2-乙基-4,5-二甲基苯酚*	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	1.23		
25	12.45	石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	8.21		0.37

续表 1

峰号	保留时间/min	化学成分	分子式	相对分子质量	相对质量分数/%		
					花和叶	茎	根
26	12.76	香橙烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.21		0.27
27	13.29	γ-衣兰油烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.45		
28	13.38	α-姜黄烯	C ₁₅ H ₂₂	202.34	0.31		0.32
29	13.43	δ-杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	1.32		0.51
30	13.53	去氢白菖烯	C ₁₅ H ₂₂	202.00	0.16		0.34
31	13.61	α-衣兰油烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.48		0.47
32	13.78	别罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	136.23			0.25
33	14.06	花侧柏烯	C ₁₅ H ₂₂	202.34			0.19
34	14.61	2-氨基-5,6-二甲基苯并噻唑*	C ₉ H ₁₀ N ₂ S	178.25	0.40		
35	15.21	石竹素**	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	1.81	1.59	0.63
36	15.60	巴伦西亚橘烯*	C ₁₅ H ₂₄	204.35			0.42
37	15.62	3-环己烯-1-3,4-二甲基甲醛*	C ₉ H ₁₄ O	138.20	0.23		
38	15.82	2-十五烷酮*	C ₁₅ H ₂₀ O	226.40			0.31
39	16.01	(Z)-11-十四碳烯-1-醇*	C ₁₄ H ₂₈ O	212.37			1.02
40	16.32	斯巴醇	C ₁₅ H ₂₄ O	220.00		1.86	
41	16.41	α-毕橙茄醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222.37	0.17		
42	16.64	肉豆蔻酸	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228.37			2.53
43	17.21	植酮	C ₁₈ H ₃₆ O	268.48	0.08		1.35
44	17.38	顺式-7,8-环氧-2-甲基十八烷*	C ₁₉ H ₃₈ O	282.50	0.17		0.31
45	17.72	十五烷酸	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242.40		1.07	2.09
46	17.84	8-甲基-1-癸烯*	C ₁₁ H ₂₂	154.29			0.55
47	18.18	9,17-十八二烯醛	C ₁₈ H ₃₂ O	264.45			0.23
48	18.50	香叶基香叶醇*	C ₂₀ H ₃₄ O	290.49			0.11
49	18.64	邻苯二甲酸二异丁酯*	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34			1.21
50	18.82	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42		60.18	58.23
51	19.18	1,19-二十碳二烯*	C ₂₀ H ₃₈	278.52		2.67	
52	19.19	十八烷基乙烯基醚*	C ₂₀ H ₄₀ O	296.53			1.78
53	19.67	西松烯	C ₂₀ H ₃₂	272.47			2.52
54	19.73	十七烷酸	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.45		1.24	
55	20.60	油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.46		5.65	
56	20.68	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O	280.45		14.25	12.11
57	20.89	亚麻酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.45			3.66
58	21.24	Z,Z-10,12-hexadecadien-1-ol acetate*	C ₁₂ H ₂₂ O	182.30		1.52	0.82
59	26.59	邻苯二甲酸二异辛酯*	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390.56			2.02
总计					98.78	99.51	98.97

*首次发现的成分, **3种提取部位共有成分

* found for the first time, ** common components of three extraction parts

萜品醇; 邻苯二甲酸二异丁酯、邻苯二甲酸二异辛酯等; 脂肪酸类主要有棕榈酸、亚油酸、亚麻酸、肉豆蔻酸、十五烷酸等。

3.2 成分差异分析

本实验所鉴定的化学成分与以往文献报道有所差异, 由于牛至药材种植区域广泛, 生长环境各异, 采收时间千差万别, 这些都导致了牛至药材的品种和质量参差不齐, 所含化学成分种类及量的变化较大, 稳定性和重现性也较差^[6]。有文献报道表明^[7],

一些地区所产牛至药材中含香芹酚和麝香草酚的总量高达 65%以上, 而有些地区却低到不足 20%^[8], 故本实验所选择的牛至药材为牛至主产区湖北省黄冈市团风县, 且采收时间适宜^[6] (每年 4~8 月, 牛至成熟开花后, 所含香芹酚和麝香草酚的量较高), 结果表明挥发油中所含香芹酚和麝香草酚的总量接近 50%, 符合实验要求。由于香芹酚和麝香草酚的总量可能决定牛至油的抗菌效果, 故亟需推广牛至药材的 GAP 种植, 建立原料药材的质量标准已刻

不容缓。

3.3 提取方法的选择

本实验所采用的提取方法为水蒸气蒸馏法,有文献报道^[9-11]还可采用超临界萃取法、同时蒸馏萃取法、微波辅助法等提取牛至油,考虑到实验条件及操作的限制,最终选择较为常用和简单的水蒸气蒸馏法。

4 结论

从各提取部位所含化学成分的种类和数量来看,牛至花和叶最多,牛至根其次,牛至茎最少,这与以往的文献报道(牛至油的化学成分主要集中在花、叶)是吻合的。本实验研究发现牛至花和叶中主要含有抗菌性较强的酚类、萜烯类及其衍生物(相对质量分数大于70%),但牛至根、茎中也含有同类有效成分,虽然量不高(相对质量分数小于23%),但并不能被完全忽略。最为关键的是在牛至根、茎中含有大量脂肪酸类化合物(棕榈酸、亚油酸、亚麻酸),有文献报道^[12-15]该类化合物有较强的抗氧化作用,甚至亚油酸还具有调节血脂、软化血管、降低血压、促进微循环等效果,该类化合物在牛至根、茎中量极高(相对质量分数大于60%),它们的存在对于评价牛至挥发油整体功效及验证牛至油抗氧化作用可能具有重要的意义,也存在一定的药用价值,故应予适当保留或开发。

牛至根、茎中所含化学成分的阐明也能为牛至药材药用多元化、药用部位的筛选及药材炮制等多方面的研究提供一定实验依据和参考。当然,牛至药材全草提取所得挥发油的化学成分及其相关药效的研究还有待进一步考察。

参考文献

- [1] Bayramoglu B, Sahin S, Sumnu G, *et al.* Solvent-free microwave extraction of essential oil from oregano [J]. *J Food Engin*, 2008, 88(4): 535-540.
- [2] Figiel A, Szumny A, Gutierrez A, *et al.* Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by

drying method [J]. *J Food Engin*, 2010, 98(2): 240-247.

- [3] De Souza E L, De Barros J C, De Oliveira C E, *et al.* Influence of *Origanum vulgare* L. essential oil on enterotoxin production, membrane permeability and surface characteristics of *Staphylococcus aureus* [J]. *Int J Food Microbiol*, 2010, 137(2/3): 308-311.
- [4] 蔡杰, 张文学. 新型饲料添加剂——牛至油的研究进展 [J]. 饲料博览, 2013(2): 38-42.
- [5] 孙丽娟. 牛至抗菌有效成分的研究 [D]. 武汉: 湖北中医学院, 2006.
- [6] 刘红兵, 孙丽娟, 许汉林, 等. 我国不同产地牛至中麝香草酚和香荆芥酚的分析 [J]. 中草药, 2006, 37(3): 471-478.
- [7] 咎俊峰, 陈艳霞, 陈平, 等. 不同产地牛至挥发性成分的 SPME/GC/MS 法分析 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(1): 37-39.
- [8] 张玉玉, 孙宝国, 祝钧. 牛至精油挥发性成分的 GC-MS 与 GC-O 分析 [J]. 食品科学, 2009, 30(16): 275-277.
- [9] 信秀灵, 王志祥, 余祥英, 等. 超临界 CO₂ 萃取牛至挥发油的工艺研究 [J]. 化工时刊, 2010, 24(1): 20-22.
- [10] 赵海伊, 卫飞, 周才琼. 3 种不同方法提取牛至挥发精油及体外抑菌作用研究 [J]. 食品科学, 2013, 34(2): 236-240.
- [11] Bendahoua M, Musellib A, Grianon-Duboisc M, *et al.* Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation [J]. *Food Chem*, 2008, 106(1): 132-139.
- [12] 高荫榆, 雷占兰, 谢何融, 等. L-抗坏血酸棕榈酸酯的抗氧化效果研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(11): 60-62.
- [13] 杨得坡, 李杰梅, 曾晓晖, 等. 共轭亚油酸的抗氧化活性及其抗氧化剂筛选 [J]. 中国食品添加剂, 2007, 11(2): 136-139.
- [14] 王明霞, 黄凤洪, 刘昌盛, 等. 天然抗氧化剂对 α -亚麻酸的抗氧化效果研究 [J]. 中国油料作物学报, 2007, 29(4): 466-469.
- [15] 邵芳芳, 尹卫平, 梁菊, 等. 重要的植物多酚及其抗氧化性能的研究概况 [J]. 西北药学杂志, 2010, 25(1): 66-68.