

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201601038

引文格式: 孔德鑫, 李雁群, 邹蓉, 等. 黄花蒿与其近缘种化学成分的 FTIR 和 GC-MS 鉴定与分析 [J]. 广西植物, 2017, 37(2):234-241
KONG DX, LI YQ, ZOU R, et al. GC-MS and FTIR identification and analysis of chemical component in *Artemisia annua* and its closely related species [J]. *Guihaia*, 2017, 37(2):234-241

黄花蒿与其近缘种化学成分的 FTIR 和 GC-MS 鉴定与分析

孔德鑫¹, 李雁群², 邹蓉¹, 史艳财¹, 韦霄^{1*}

(1. 广西植物功能物质研究与利用重点实验室, 广西植物研究所, 广西 桂林 514006; 2. 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 华南农业大学, 广州 510642)

摘要: 黄花蒿是一种治疗痢疾的特效中药, 植物体中含有丰富的精油, 但其应用和生产中常有种类混杂现象, 严重影响了黄花蒿为原料的药材质量。为实现黄花蒿药材快速鉴定与评价, 该研究利用 FTIR 技术和 GC-MS 分别对黄花蒿及其近缘种叶片原药材及挥发油成分进行了检测和鉴定。结果表明: 挥发油以黄花蒿含量最高(1.86%), 其次是南牡蒿、茵陈蒿、青蒿、牡蒿和艾蒿。FTIR 分析结果表明, 黄花蒿及其近缘种一维图谱相似, 酰胺类、芳香类以及萜类化合物种类较多且含量丰富; 二阶导数图谱中, 黄花蒿青蒿素成分振动吸收明显增强, 可以明显将黄花蒿与其混淆中区分开。GC-MS 分析显示, 黄花蒿与其近缘种的挥发油成分中共检测出 17 个共有峰, 28 种化学成分, 均含有较高樟脑、 α -杜松烯、Crocetane、植烷、2,4-二叔丁基苯酚, 但不同种间成分含量差异很大, 植烷在黄花蒿中含量明显高于其它近缘种, 龙脑成分只能在黄花蒿叶片中检测出, 然而 α -雪松烯在青蒿、南牡蒿、茵陈蒿均较高, 而在黄花蒿、艾蒿、牡蒿中含量均较低。最后通过聚类分析探讨了黄花蒿与其近缘种挥发油成分差异性, 6 种材料明显聚为 2 类。其中, 黄花蒿与牡蒿、艾蒿聚为一类, 青蒿与茵陈蒿和南牡蒿聚为一类。该研究结果为黄花蒿药材的真伪鉴别及其药材质量评价提供了快速而有效的分析手段。

关键词: 黄花蒿, 挥发油, GC-MS, 红外图谱, 质量评价

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2017)02-0234-08

GC-MS and FTIR identification and analysis of chemical component in *Artemisia annua* and its closely related species

KONG De-Xin¹, LI Yan-Qun², ZOU Rong¹, SHI Yan-Cai¹, WEI Xiao^{1*}

(1. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China; 2. State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: *Artemisia annua* contains abundant essential oils. It is commonly used as traditional Chinese medicine for treating dysentery. The varietal complexity and vague provenance boundaries of the species of *A. annua* seriously affected the quality of medicinal materials. To investigate the rapid identification and evaluation of *A. annua* and sibling species leaves on the yields and compositions of essential oils, the volatile compounds were detected and identified by GC-MS and FTIR analysis. *A. annua* determined to have the highest yield (1.86%) of essential oil, followed by *A. eriopoda*, *A. cap-*

收稿日期: 2016-04-27 修回日期: 2016-07-18

基金项目: 国家自然科学基金(81260623); 广西科技成果转化与推广计划项目(桂科转 1346004-29); 广西植物所基本业务费项目(桂植业 14017) [Supported by the National Natural Science Foundation of China(81260623), Guangxi Scientific Research and Technological Development Plan(1346004-29); Fundamental Research Foundation of Guangxi Institute of Botany(14017)]。

作者简介: 孔德鑫(1980-), 男, 博士, 主要从事药用植物资源与利用研究, (E-mail) kdx411sw@163.com。

*通信作者: 韦霄, 博士, 研究员, 主要从事濒危植物保育生物学研究, (E-mail) weixiao@gxib.cn。

illarie, *A. apiacea*, *A. japonica* and *A. argyi*. FTIR results showed that one-dimensional spectrum was similarity of *A. annua* and sibling species and the species were abundant of amides, aromatics and terpenoids. Second derivative spectrum of *A. annua* component vibration absorption enhanced obviously to clearly demarcation of *A. annua* and confusion. GC-MS analysis showed that the volatile oil of *A. annua* and sibling species revealed the identification of 28 components and 17 common peaks. *A. annua* and sibling species leaf oils contained high amounts of camphor, α -Cadinene, crocetane, phytan, 2, 4-di-t-Butylphenol. The results indicated the apparent difference in the volatile compound compositions of essential oils between species. However, the content of phytane of *A. annua* was significantly higher than that of other species. Borneol was only detected in *A. annua*. In addition, *A. apiacea*, *A. eriopoda* and *A. capillaries* contained the highest α -Cedrene content, while *A. annua*, *A. argyi* and *A. japonica* contained the lowest content of α -cedrene. The oil components were analyzed using a hierarchical cluster for the six samples and samples were divided into two main clusters, *A. annua*, *A. japonica* and *A. argyi* was distinguished as a cluster, while *A. apiacea*, *A. eriopoda* and *A. capillaries* were classified as a cluster. These results provide an effective analysis methods for identifying the species, especially for the quality assessment for use in raw herbal medicines.

Key words: *Artemisia annua*, essential oils, GC-MS, FTIR, quality assessment

黄花蒿 (*Artemisia annua*) 中药名青蒿, 菊科艾属一年生草本植物, 为中国传统中药、道地药材。青蒿素 (Artemisinin; arteannuin; qinghaosu; QHS) 是从黄花蒿中提取的一种分子内含有过氧桥结构的新型倍半萜内酯(屠呦呦等, 1981)。国内外研究人员在青蒿素化学结构基础上, 开发了一系列衍生物, 如蒿甲醚、蒿乙醚、双氢青蒿素、复方蒿甲醚和青蒿琥酯等。青蒿素类药物是与已知抗疟药作用方式完全不同的新型抗疟药, 其疗效比传统抗疟药奎宁强 16 倍, 而且高效、低毒、无抗药性, 具有重要的经济价值和发展前景。黄花蒿的活性成分研究显示其含有多种单萜、倍半萜、黄酮、香豆素及酯类成分 (Bhakuni et al, 2001, 2002), 但是, 黄花蒿的生产中存在着多种品种混杂的现象, 常有与青蒿 (*Artemisia apiacea* Hance)、牡蒿 (*A. japonica*)、茵陈蒿 (*A. capillaries*)、猪毛蒿 (*A. scoparia*)、南牡蒿 (*A. eriopoda*) 等混合使用现象, 极大地影响了正品黄花蒿药材的质量, 也严重制约了黄花蒿相关产业的发展。红外光谱测定中药材具有快速、无损伤的特点, 在“指纹区”能够反映药材化学成分的整体信息并具有专属性, 即使在相同的光谱条件下, 不同种、不同产地中药的色谱图也有其特定的红外吸收光谱 (李燕等, 2006; 时有明等, 2007; Liu et al, 2008; 孔德鑫等, 2010)。具有样品用量少, 灵敏度高, 操作简单等优点, 可实现对中药的快速、简单、高效、准确分析等优点 (Wu et al, 2008)。因此, FTIR 被广泛地应用于中药材分类鉴别及对植物油的判别分析和掺杂鉴定等研究当中 (Dupuy et al, 1996; Dobson et al, 2001; Tay et al,

2002; Yang et al, 2005)。

气相色谱-质谱联用仪 (GC-MS) 将气相色谱的高分辨率和质谱检测器的定性能力相结合, 采用该技术建立挥发油指纹图谱, 不仅具有 GC 的高分离效能, 还兼备 MS 测定的灵敏性和准确性, 从而拓宽 GC 的应用范围, 为中药质量标准的研究提供可靠的分析手段 (Xie et al, 2005)。目前, 有许多研究利用 GC-MS 鉴别不同种、产地、部位、采收季节的气相色谱-质谱联用分析 (Kaul et al, 2003; Cheng et al, 2004; Zhang & Wang, 2008; Li et al, 2013), 均能将他们进行质量评价和鉴别分类。所以, 运用高效灵敏的研究技术开展黄花蒿药材快速鉴定是控制以黄花蒿为原料中药质量的关键措施, 也是提高黄花蒿药材在国际市场竞争力的重要措施。为了确保黄花蒿药源安全可靠, 质量稳定, 本研究将以黄花蒿及其近缘种的叶片为研究对象, 运用 FTIR 及 GC-MS 技术实现黄花蒿药材的快速鉴别, 并比较分析黄花蒿与其近缘种化学成分的差异, 为黄花蒿药材的快速鉴定提供简单、灵敏的技术方法。

1 材料来源

黄花蒿 (*Artemisia annua*) 及其近缘种青蒿 (*Artemisia apiacea*)、牡蒿 (*A. japonica*)、茵陈蒿 (*A. capillaries*)、艾蒿 (*A. argyi*)、南牡蒿 (*A. eriopoda*) 均于 2013 年 6-7 月分别采自广西河池都安县、山东莱芜市、广西桂林阳朔县和恭城县, 分别经韦霄研究员鉴定为菊科艾属植物。样品分别采集黄花蒿及其近缘

种的叶片。

2 样品制备与方法

2.1 样品制备方法

将采集的黄花蒿及其近缘种植物叶片一部分实验样品在 55 °C 干燥 48 h, 粉碎过 200 目, 放干燥器内留作红外光谱测定。剩余部分阴干留作挥发油提取及测定。

2.2 红外光谱测定方法

每个样品 10 个重复, 各样品精密称取 1.0 mg 与 200 溴化钾(碎晶)混合研磨充分均匀, 压片成厚度约 1 mm 的透明锭片, 将锭片放入红外光谱仪测定, 每个片随机扫 3 个不同的点, 再取其平均谱图作为最后的样品谱图。测试条件: 光谱范围 4 000 ~ 400 cm^{-1} ; 光谱分辨率 4 cm^{-1} ; 扫描次数 64 次, 扫描时扣除 H_2O 和 CO_2 的干扰。

2.3 黄花蒿及其近缘种粉的制备与挥发油的提取

挥发油提取按照按中华人民共和国药典 2010 年版(国家药典委员会主编, 2010)挥发油测定法进行。将阴干叶片样品粉碎后过 60 目筛, 然后精密称取各样品粉末 15 g, 加入到 1 000 mL 的烧瓶中, 加入 300 mL 蒸馏水和几粒沸石, 浸泡 1 h, 提取 5 h, 蒸馏完毕后将含有精油的流出液移到 250 mL 分液漏斗中, 用适量的二氯甲烷萃取 3 次。弃去上层的水层将二氯甲烷移至 50 mL 锥形瓶中, 加少量无水硫酸钠, 干燥 30 min。过滤的液体在通风橱内用蒸气浴加热蒸去大部分溶剂, 然后将其浓缩液移入已经干燥的试管中, 继续在蒸气浴上蒸馏至完全除去二氯甲烷为止, 得到不同颜色油液, 称重, 4 °C 冰箱保存、备用。每样品重复测定三次, 最后挥发油含量取平均值, 挥发油含量百分比计算为挥发油的重量除以叶片样品的重量。

2.4 气相-质谱测定

美国安捷伦公司生产的 Agilent 7890A GC/5975C MS 型气相-质谱联用仪, HP-5MS 毛细管色谱柱(0.25 mm × 30 m, 0.1 μm); 四极杆温度 150 °C, 进样口温度 200 °C, 初始柱温 100 °C, 维持 4 min, 然后以 5 °C · min^{-1} 升至 130 °C, 维持 20 min, 载气(高纯氮气)流速 1.2 mL · min^{-1} , 进样分流比 30 : 1, 离子源 EI, 离子源温度: 230 °C, 扫描质量范围为 30 ~ 550 AMU。各样品挥发油用二氯甲烷配制成 10 mg · mL^{-1} , 取 1.0 μL 进样分析。

2.5 数据处理

经 HP-MSD 化学工作站检索 NIST05 质谱图并结合有关文献, 对流出的色谱峰进行检索, 鉴定化合物。利用 GC-MS 峰面积归一化法计算各组分在黄花蒿及其近缘种挥发油中的相对百分含量。

3 结果与分析

3.1 黄花蒿与其近缘种叶片红外图谱比较分析

红外光谱不仅可以帮助判断分子中含有何种官能团, 确定其基本骨架, 也可以通过比较不同样品的红外光谱来反映样品在植化组成上的差异程度。所以种质、地域、加工方法、储存等外界因素对植物化学组成上的影响, 从红外光谱上也能够反映出各自的差异性。光谱归一化处理后黄花蒿及其近缘种叶片的典型红外光谱(图 1)。由图 1 可知, 不同样品 3 600 ~ 1 800 cm^{-1} 范围内光谱图振动特征相似, 但是, 1 800 ~ 600 cm^{-1} 图谱差异较大。利用这一性质, 可实现黄花蒿与其他药材的鉴别。图 1 中在 3 400 cm^{-1} 附近为羟基的伸缩振动, 2 900 cm^{-1} 附近为 CH_3 和 CH_2 的振动吸收, 1 740 cm^{-1} 左右为 $\text{C}=\text{O}$ 的振动吸收, 1 670 cm^{-1} 附近为 $\text{C}=\text{C}$ 伸缩振动, 在 1 600 ~ 1 450 cm^{-1} 范围内苯环骨架的伸缩振动峰, 1 162、1 114、1 076 和 1 028 cm^{-1} 等处为饱和脂肪醚、酯类、酸酐类 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 基团特征吸收, 以及多糖和苷类物质 $\text{C}-\text{O}$ 伸缩振动。说明, 黄花蒿及其近缘种叶片中酰胺类、芳香类以及萜类化合物种类较多且含量丰富。但是, 一维图谱各样品吸收特征比较相似, 很难区分各样品的差异。然而, 红外二阶导数图谱可以明显增加原始图谱的分辨率, 由图 2 可知, 二阶导数图谱中, 各样品特征吸收峰明显增多, 1 750 ~ 1 735 cm^{-1} 处的吸收峰为有机物中的青蒿素, 青蒿酸或挥发油中的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动, 在样品 A、B、E 中能够明显观察到, 尤其以样品 A 最强, 而 D 在此范围内则无吸收峰。1 600 ~ 1 450 cm^{-1} 范围内苯环骨架的伸缩振动峰, 在样品 A、B、D、E 中相对其它物质谱峰最多且强度较强; 1 162、1 114、1 076 和 1 028 cm^{-1} 等处饱和脂肪醚、酯类、酸酐类 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 基团特征吸收, 6 个样品中, A(黄花蒿)、D(青蒿)及 E 中的吸收峰明显高于其它物种、说明样品 A、D、E 中酰胺类、芳香类以及多糖类化合物种类较多且含量丰富。

3.2 黄花蒿及其近缘种挥发油含量比较分析

本研究用水蒸馏法提取黄花蒿及其近缘种挥发

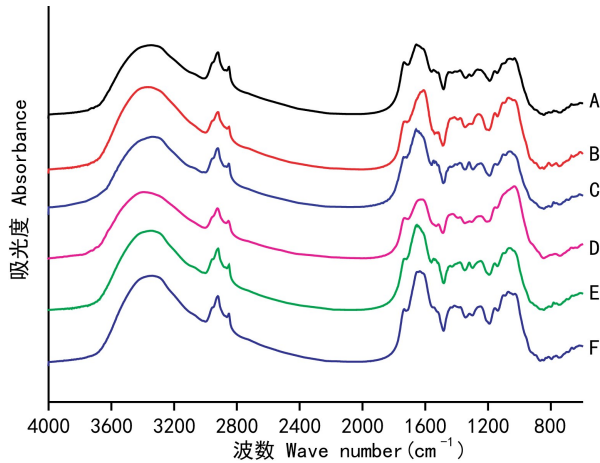


图 1 黄花蒿叶片及其近缘种红外图谱 A. 黄花蒿; B. 牡蒿; C. 南牡蒿; D. 青蒿; E. 艾蒿; F. 茵陈蒿。下同。

Fig. 1 FTIR spectra in leaves of *Artemisia annua* and its closely related species A. *Artemisia annua*; B. *A. japonica*; C. *A. eriopoda*; D. *A. apiacea*; E. *A. argyi*; F. *A. capillaries*. The same below.

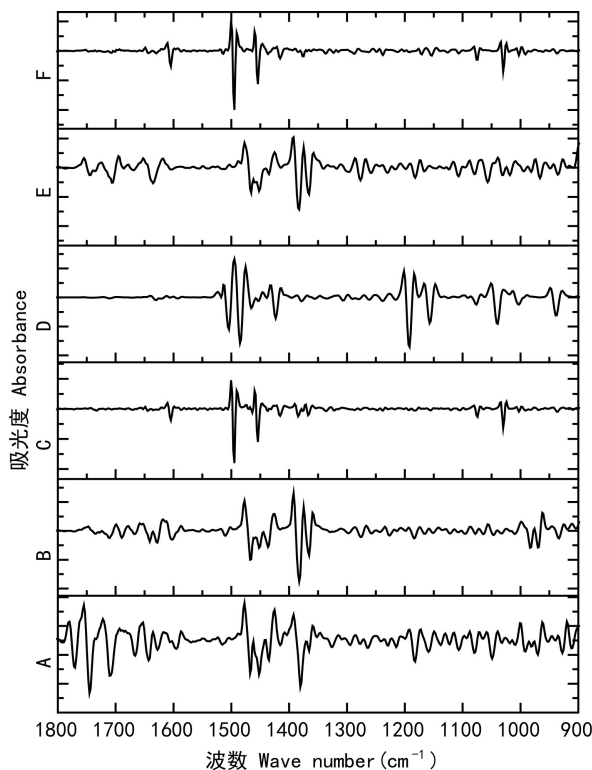


图 2 黄花蒿叶片及其近缘种二阶导数图谱

Fig. 2 Second derivative infrared spectra in leaves of *Artemisia annua* and its closely related species

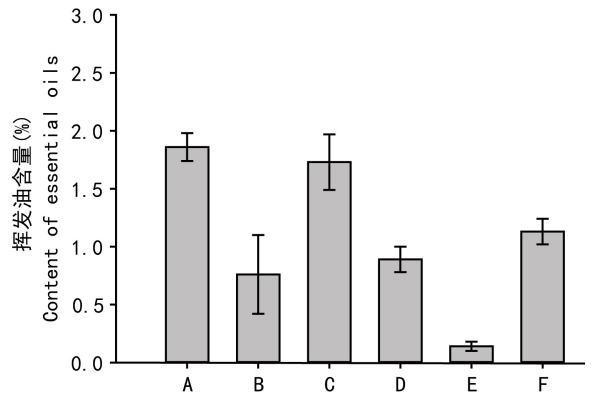


图 3 黄花蒿及其近缘种挥发油含量比较

Fig. 3 Comparison of essential oil in *Artemisia annua* and its closely related species

次是南牡蒿(1.73%),最低是艾蒿(0.14%),在颜色上以黄花蒿和南牡蒿的挥发油含量最正,为金黄色。艾蒿颜色最深,为棕绿色。挥发油含量和颜色的不同可能与其所含化学成分的种类及含量不同。

本研究利用 GC-MS 联用仪计算机对总离子流量图谱(图 4) 进行分析和处理,进行气相色谱—质谱分析,用 NIST 标准质谱检索库检索,并结合文献和人工解析,以面积归一化法测得挥发油各组分相对百分含量,峰面积作为相对含量,结果列于表 1。从表 1 中可知,共有 17 个共有峰,总共鉴定出 24 种组分,鉴定的成分占总色谱峰面积在 59.2%~84.4% 之间。从化学成分的种类来看,黄花蒿及近缘种叶片挥发油主要成分有萜类、脂肪族和芳香族化合物。比较黄花蒿及近缘种成分发现,黄花蒿叶片挥发油主要成分为 2,4-二叔丁基苯酚(16.77%)、樟脑(7.09%)、植烷(6.62%)、十六烷(6.18%)、Croctane(5.72%)、1,2,6,11-三甲基十二烷(4.80%)、 α -杜松烯(4.38%)、十四烷(2.38%)、石竹烯(2.70%)、古巴烯(1.91%)、 α -雪松烯(1.90%)、十二烷(1.87%)、2-乙基戊烷(1.76%)、Styrene 苯乙烯(1.67%)和 2-甲基十三烷(1.57%);牡蒿叶片挥发油主要成分为 2,4-二叔丁基苯酚(16.78%)、樟脑(7.61%)、Croctane(5.94%)、 α -杜松烯(4.81%)、1,2,6,11-三甲基十二烷(4.80%)、十六烷(4.34%)、植烷(3.71%)、Cyclobuta [de] naphthalene(3.45%)、石竹烯(2.61%)、十四烷(2.31%)、2-乙基戊烷(1.93%)、苯乙烯(1.87%)、古巴烯(1.89%)、 α -雪松烯(1.68%)和 2-甲基十三烷(1.55%);南牡蒿叶片挥发油主要成分为 α -雪松烯(28.74%)、2,4-二叔丁基

油,得出挥发油含量在 0.89%~1.86% ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$) 之间(图 3)。挥发油含量以黄花蒿最高(1.86%),其

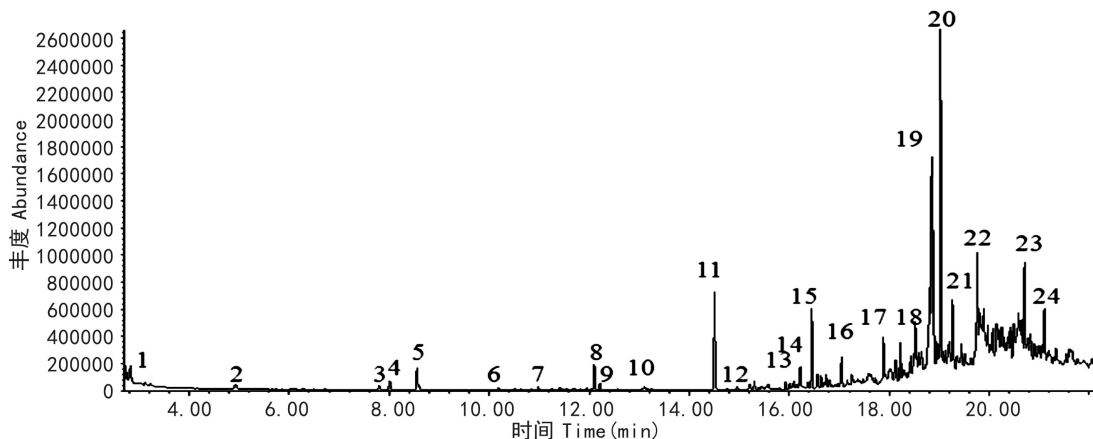


图4 黄花蒿及近缘种挥发油成分的 GC-MS/TIC 图

Fig. 4 GC-MS/TIC of *Artemisia annua* and its closely related species

苯酚 (10.93%)、十六烷 (8.45%)、石竹烯 (6.25%)、Cyclobuta [de] naphthalene (5.60%)、Croctane (4.48%)、樟脑 (4.15%)、1,2,6,11-三甲基十二烷 (3.89%)、 α -杜松烯 (3.33%)、植烷 (2.61%) 和十四烷 (1.54%)；青蒿叶片挥发油主要成分为 α -雪松烯 (20.84%)、2,4-二叔丁基苯酚 (13.34%)、十六烷 (8.07%)、樟脑 (5.81%)、Croctane (4.50%)、1,2,6,11-三甲基十二烷 (3.88%)、 α -杜松烯 (3.50%)、植烷 (2.80%)、石竹烯 (2.33%)、十四烷 (2.32%) 和十二烷 (1.04%)；艾蒿叶片挥发油主要成分为 2,4-二叔丁基苯酚 (16.16%)、十六烷 (8.24%)、樟脑 (6.15%)、Croctane (5.08%)、1,2,6,11-三甲基十二烷 (4.18%)、 α -杜松烯 (3.51%)、植烷 (3.19%)、十四烷 (2.05%)、苯乙烯 (1.81%)、古巴烯 (1.62%)、2-甲基十三烷 (1.47%)、十二烷 (1.45%) 和 α -雪松烯 (1.02%)；茵陈蒿叶片挥发油主要成分为 α -雪松烯 (19.21%)、2,4-二叔丁基苯酚 (14.68%)、樟脑 (5.81%)、十六烷 (5.81%)、Croctane (5.25%)、1,2,6,11-三甲基十二烷 (4.53%)、 α -杜松烯 (4.19%)、植烷 (3.36%)、十四烷 (2.26%)、石竹烯 (2.12%)、古巴烯 (1.82%)、2-甲基十三烷 (1.15%)、2-乙基戊烷 (1.11%) 和十二烷 (1.05%)。比较 6 个样品精油成分发现,多数成分在黄花蒿、牡蒿、艾蒿中的含量均明显高于青蒿、南牡蒿、茵陈蒿,而且苯甲醛,癸烷只在黄花蒿、牡蒿、艾蒿中检测出,其在青蒿,南牡蒿,茵陈蒿中没有检测出。龙脑成分只能在黄花蒿叶片中检测出,其它 5 种叶片均未检测出。Phytan 在黄花蒿中含量明显高于其它种。然而 α -雪松烯在青蒿、南牡蒿、茵陈蒿均较高,其中南牡蒿中含量最高

达 28%,而在黄花蒿、艾蒿、牡蒿中含量均较低。

3.3 黄花蒿及其近缘种挥发油 GC-MS 的聚类 and 相似性分析

为了更直观地观察不同种和产地之间的亲缘、遗传关系,我们采用系统聚类法对 6 个样品叶片挥发油进行聚类分析,结果见图 5。当遗传距离, $1 < d < 5$ 时,6 个样品分为 3 类,样品 C (南牡蒿) 单独聚为一类,样品 A (黄花蒿) 与 B (牡蒿) 及 E (艾蒿) 聚为一类,样品 D (青蒿) 与样品 F (茵陈蒿) 聚为一类,当遗传距离 $d \geq 6$ 时,6 个样品聚为 2 类,样品 A、B 及 E 仍然聚为一类,样品 C (南牡蒿) 与样品 D、F 聚为一类。通过聚类分析,可以比较直观看出黄花蒿与其近缘种间挥发油成分的差异。为了进一步验证聚类分析的结果,本研究对 6 个样品的特征图谱进行了相似度分析,以相关系数代表其相似度,得出的结果基本和聚类分析一致,其相关系数见表 2,从表 2 可知,A、B、E 间相似性系数均高于 0.96,C、D 及 F 间相似系数也较高,其中以 D 和 F 间相似系数最高 (0.988)。

4 讨论与结论

红外光谱技术由于其具有快速、简便,无损等优点,在中草药产地鉴定及质量评价中已经受到研究者广泛关注并广泛应用 (李燕等,2006; 时有明等,2007; Liu et al,2008; 孔德鑫等,2010,2016)。为了快速鉴定和评价黄花蒿及其近缘种药材质量差异,本研究利用 FTIR 技术对黄花蒿及其近缘种化学成分指纹图谱进行了指认,通过二阶导数图谱快速鉴

表 1 黄花蒿及其近缘种挥发油成分的 GC-MS 分析

Table 1 Chemical compositions analysis of essential oil based on GC-MS from *Artemisia annua* and its closely related species

编号 No.	化合物 Compound	保留时间 Retention time (min)	分子式 Formula	保留 指数 Retention index	相对百分含量 Relative percentage (%)					
					南牡蒿 <i>A. eriopoda</i>	青蒿 <i>A. apiacea</i>	茵陈蒿 <i>A. capillaries</i>	黄花蒿 <i>A. annua</i>	牡蒿 <i>A. japonica</i>	艾蒿 <i>A. argyi</i>
1	2-Ethylpentane (2-乙基戊烷)	2.825	C7H16	676	0.84	0.8	1.11	1.76	1.93	0.76
2	Toluene (甲苯)	4.916	C7H8	755	-	0.24	0.29	0.38	0.4	0.35
3	Ethylbenzene (乙苯)	7.804	C8H10	893	-	0.16	0.24	0.28	0.3	0.29
4	p-Xylene(对二甲苯)	8.02	C8H10	907	0.54	0.36	0.48	0.58	0.66	0.61
5	Styrene (苯乙烯)	8.55	C8H8	925	tr	0.7	0.93	1.67	1.87	1.81
6	Benzaldehyde(苯甲醛)	10.183	C7H6O	965	-	-	-	0.17	0.21	0.21
7	Decane(癸烷)	10.980	C10H22	1000	-	-	-	0.13	0.16	0.13
8	Dodecane(十二烷)	12.106	C12H26	1200	0.96	1.24	1.05	1.87	1.87	1.45
9	2,6-Dimethyldecane (2,6-二甲基癸烷)	12.216	C12H26	1121	0.27	0.26	0.3	0.36	0.37	0.31
10	1,2,4,6-Trimethyldecane (1,2,4,6-三甲基癸烷)	13.100	C13H28	1129	tr	0.16	0.16	0.2	0.23	0.19
11	Camphor(樟脑)	14.509	C10H16O	1132	4.15	5.05	5.81	7.09	7.61	6.15
12	Borneol (龙脑)	14.624	C10H18O	1138	-	-	tr	0.23	tr	-
13	2-Methyltridecane (2-甲基十三烷)	16.218	C14H30	1328	0.87	0.86	1.15	1.57	1.55	1.47
14	1,2,6,11-Trimethyldodecane (1,2,6,11-三甲基十二烷)	16.449	C15H32	1342	3.89	3.88	4.53	4.8	4.8	4.18
15	Cyclobuta [de]naphthalene	16.553	C11H8	1358	5.6	0.59	0.67	0.76	3.45	0.67
16	Copaene(古巴烯)	17.004	C15H24	1375	0.99	1.01	1.82	1.91	1.89	1.62
17	Tetradecane(十四烷)	17.882	C14H30	1400	1.54	2.32	2.26	2.38	2.31	2.05
18	Caryophyllene(石竹烯)	18.222	C15H24	1413	6.25	2.33	2.12	2.7	2.61	0.47
19	α-Cedrene(α-雪松烯)	18.939	C15H24	1449	28.74	20.84	19.21	1.90	1.68	1.02
20	2,4-di-t-Butylphenol (2,4-二叔丁基苯酚)	19.025	C14H22O	1519	10.93	13.34	14.68	16.77	16.78	16.16
21	α-Cadinene(α-杜松烯)	19.268	C15H24	1529	3.33	3.5	4.19	4.38	4.81	3.51
22	Hexadecane(十六烷)	19.759	C16H34	1600	8.45	8.07	5.81	6.18	4.34	8.24
23	Crocetane	20.706	C20H42	1753	4.48	4.5	5.25	5.72	5.94	5.08
24	Phytan(植烷)	21.104	C20H42	1814	2.61	2.8	3.36	6.62	3.71	3.19
总计 Total					84.44	73.01	75.42	70.41	69.48	59.92

别出黄花蒿与其近缘种化学成分的差异。黄花蒿叶片富含青蒿素,其红外图谱中在 $1\ 800\sim 1\ 700\ \text{cm}^{-1}$ 附近代表青蒿素中 $\text{C}=\text{O}$ 特征吸收峰明显强于其近缘种。植物挥发油含量及其化学成分往往受很多因素的影响,比如遗传因素、发育阶段、形成部位、环境因子等(Sangwan et al, 2001; Kim & Lee, 2004; Tung et al, 2008; Wang et al, 2011)。在蒿属植物种类繁多,不同种间挥发油成分的组成及含量也同样存在类似的现象。陈驰(2000)研究发现茵陈蒿、白莲蒿的挥发油含量差异很大,其中,白莲蒿主要为二环单萜类成分,如:樟脑、樟烯、桉油精等,而茵陈蒿主要为石竹萜烯、 α -石竹萜烯、橙花叔醇等。刘洪玲和董岩(2007)采用水蒸气蒸馏法对艾蒿和猪毛蒿进行

挥发油提取,运用 GC-MS 鉴定发现,艾蒿和猪毛蒿均含有较高的樟脑,但其含量有较大差异,艾蒿为 13.00%,猪毛蒿则只有 3.81%。挥发油成分也是黄花蒿药材中的重要药用成分,为了深入研究黄花蒿与其近缘种挥发油含量及其精油组成的差异,本研究利用水蒸馏法提取了各测试样品挥发油并利用气-质联用色谱对黄花蒿及其近缘种挥发油成分进行比较分析。结果发现蒿属几种植物不但挥发油颜色有很大差异,其含量也存在明显的差异,如黄花蒿挥发油含量达到 1.86%,南牡蒿挥发油含量也有 1.73%,黄花蒿和南牡蒿挥发油为金黄色,而艾蒿只有 0.14%,且颜色为棕绿色。进一步利用 GC-MS 方法对蒿属几种植物挥发油成分进行分析,共测试 6

表 2 黄花蒿及其近缘种叶片挥发油 GC-MS 相似性分析

Table 2 Coefficient of similarity analysis from the GC-MS data for *Artemisia annua* and its closely related species

	A	B	C	D	E	F
A	1	0.967 **	0.215	0.529 **	0.965 **	0.604 **
B	0.967 **	1	0.210	0.498 *	0.946 **	0.585 **
C	0.215	0.210	1	0.941 **	0.212	0.903 **
D	0.529 **	0.498 *	0.941 **	1	0.525 **	0.988 **
E	0.965 **	0.946 **	0.212	0.525 **	1	0.582 **
F	0.604 **	0.585 **	0.903 **	0.988 **	0.582 **	1

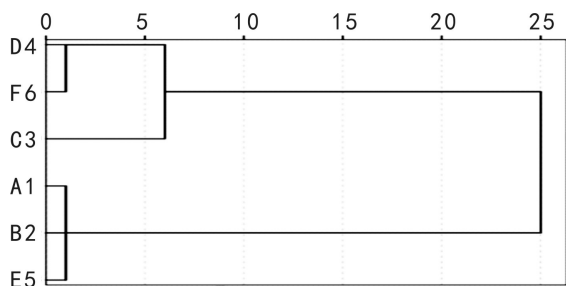


图 5 黄花蒿及其近缘种挥发油 GC-MS 的聚类分析

Fig. 5 Cluster dendrogram constructed from the GC-MS data for *Artemisia annua* and its closely related species

个样品共分析了 28 种化学成分。通过分析表明,多数成分均以黄花蒿、牡蒿、艾蒿中较高,而且癸烷只在黄花蒿、牡蒿、艾蒿中检测出,而在青蒿,南牡蒿,茵陈蒿中没有检测出,龙脑成分只能在黄花蒿叶片中检测出,其它 5 种叶片均未检测出。植烷在黄花蒿中的含量也明显高于其它种。然而 α -雪松烯在青蒿、南牡蒿、茵陈蒿均较高,其中南牡蒿中含量最高(28%),而其在黄花蒿,艾蒿,牡蒿中含量均较低。最后,通过聚类分析探讨了黄花蒿与其近缘种挥发油成分差异性,结果显示黄花蒿与牡蒿、艾蒿挥发油成分相似。本研究结果为黄花蒿药材质量快速评价和精油质量分析研究提供了重要参考。

参考文献:

BHAKUNI RS, JAIN DC, SHARMA RP, 2002. Phytochemistry of *Artemisia annua* and the development of artemisinin derived antimalarial agents [M]//WRIGHT CW. *Artemisia*. London: Taylor & Francis; 211-248.

BHAKUNI RS, JAIN DC, SHARMA RP, et al, 2001. Secondary metabolites of *Artemisia annua* and their biological activity [J]. *Curr Sci*, 80(1): 35-48.

CHEN C, 2000. The constituents comparison study of volatile oil in *Artemisia capillaris* Thunb. and *Artemisia sacrorum* L. [J]. *Lish-*

izhen Med Mat Med Res, 5: 1. [陈驰,2000.茵陈蒿和白莲蒿挥发油成分比较研究[J].*时珍国医国药*,5: 1.]

CHENG SS, LIU JY, TSAI KH, 2004. Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances [J]. *J Agric Food Chem*, 52(14): 395-400.

CHINA PHARMACOPEIA COMMISSION, 2010. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2010 [M] Vol. 1. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press; 63-127. [国家药典委员会,2010.中华人民共和国药典 2010 版 [M]. 第一部.北京:中国医药科技出版社; 63-127.]

DOBSON G, 2001. Spectroscopy and spectrometry of lipids-Part 1 [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 103: 815-840.

DONG Y, WANG XF, WEI XG, 2005. Studies on the GC-MS of chemical component of *Artemisia argyi* in Shandong Province [J]. *Chin Trad Patent Med*, (27)3: 326-328. [董岩,王新芳,魏兴国,2005.山东艾蒿挥发油化学成分的 GC-MS 研 [J]. *中成药*, (27)3: 326-328.]

DUPUY N, DUPONCHEL L, HUVENNE JP, et al, 1996. Classification of edible fats and oils by principal component analysis of Fourier transform infrared spectra [J]. *Food Chem*, 57(2), 245-251.

KAUL PN, BHATTACHARYA AK, RAJESWARA BR, et al, 2003. Volatile constituents of essential oils isolated from different parts of *Cinnamon* (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) [J]. *J Sci Food Agric*: 53-55.

KIM NS, LEE DS. 2004. Headspace solid-phase microextraction for characterization of fragrances of *lemon verbena* (*Aloysia triphylla*) by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 27: 96-100.

KING DX, WEI JQ, ZOU R, et al. 2010. Comparison analysis of FTIR characterization of chemical constituents and artemisinin contents in cultivated and wild *artemisia annua* [J]. *Genom Appl Biol*, 29(2): 349-354. [孔德鑫,韦记青,邹蓉等,2010.栽培与野生黄花蒿化学组分的 FTIR 表征及青蒿素含量比较分析 [J]. *基因组学与用生物学* 29(2): 349-354.]

KONG DX, TANG H, WANG ML, et al, 2016. Comparison research on FTIR fingerprint of *Salvia priontis* based on fourier transform infrared spectroscopy combined with multistatistical analysis [J]. *Guihaia*, 36(8): 937-942. [孔德鑫,唐辉,王满莲,等.红外光谱结合多元统计方法的不同产地红根草红外指纹图谱比较研究 [J]. *广西植物*, 36(8): 937-942.]

LAI YW, KEMSLEY EK, WILSON RH, 1994. Potential of Fourier transform infrared pectroscopy for the authentication of vegetable oils [J]. *J Agr Food Chem*, 42: 154-159.

LI YQ, KONG DX, WU H, 2013. Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy [J]. *Ind Crops Prod*, 41: 269-278.

LIU D, LI YG, XU H, et al, 2008. Differentiation of the root of cultivated *Ginseng*, Mountain cultivated *Ginseng* and Mountain wild *Ginseng* using FT-IR and two-dimensional correlation IR spectroscopy [J]. *J Mol Struct* (88-3884): 228-233.

LIU HL, DONG Y. 2007. Comparison analysis of the chemical composition of volatile oil extracted from *Artemisia argyi* and *Artemisia scoparia* [J]. *Med Mat Med Res*, 18(4): 832-833. [刘洪玲,董岩,艾蒿和猪毛蒿挥发油化学成分对比研究

- [J]. 时珍国医国药, 18(4): 832-833.]
- LIU XQ, NI N, CHEN SZ, et al, 2006. GC-MS analysis of volatile constituents from *Artemisia apiacea* Hance and *Artemisia annua* L. grow in Hunan Province [J]. NW Pharmac J, (21)3: 107-109. [刘向前,倪,陈素珍,刘建寨,湖南产青蒿和黄花蒿挥发油 GC-MS 分析 [J]. 西北药学杂志, (21)3: 107-109.]
- LI Y, WU RR, YU BH, et al, 2006. A review on applications of infrared spectroscopy to the study of traditional Chinese medicine [J]. Spectrosc Spectr Anal, 26(10): 1846-1847. [李燕,吴然然,于佰华,红外光谱在中药定性定量分析中的应用 [J]. 光谱学与光谱分析 26(10): 1846-1847.]
- SANGWAN NS, FAROOQI AHA, SHABIH F, et al, 2001. Regulation of essential oil production in plants [J]. Plant Growth Regul, 34: 3-21.
- SHI YM, LIU G, LIU JH, et al, 2007. Identification of *Auricularia auricula* from different regions by fourier transform infrared spectroscopy [J]. Acta Optica Sin, 27(1): 129-132. [时有明,刘刚,刘剑虹等,2007. 不同产地黑木耳的傅里叶变换红外光谱鉴别 [J]. 光学学报,27(1): 129-132.]
- TAY A, SINGH RK, KRISHNAN SS, et al, 2002. Authentication of olive oil adulterated with vegetable oils using fourier transform infrared spectroscopy [J]. Lebensm-Wiss. u.-Technol, 35: 99-103.
- TU YY, NI MY, ZHONG YL, et al, 1981. Study on the chemical constituents of *Artemisia annua* L. [J]. Acta Pharmac Sin, 16(5): 366-370. [屠呦呦,倪慕云,钟裕亮,1981. 中药青蒿化学成分研究 [J]. 药学报,16(5): 366-370.]
- TUNG YT, CHUA MT, WANG SY, et al, 2008. Anti-inflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous *Cinnamon* (*Cinnamomum osmophloeum*) twigs [J]. Bioresour Technol, 99: 3908-3913.
- WANG R, WANG RJ, YANG B, 2011. Comparison of volatile compound composition of *Cinnamon*(*Cinnamomum cassia* Prest) bark prepared by hydrodistillation and headspace solidphase microextraction [J]. J Food Proc Eng, 34: 175-185.
- WONG SP, 2005. Traditional Chinese medicine fingerprints [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 239-262. [翁诗谱,2005. 傅里叶变换红外光谱仪 [M]. 北京: 化学工业出版社: 239-262.]
- WU D, HE Y, FENG SJ, et al, 2008. Application of infrared spectra technique based on LS-Support Vector Machines to the non-destructive measurement of fat content in milk powder [J]. J Infr Mill Waves,27(3): 180-184.
- YANG H, IRUDAYARAJJ, PARADKAR MM, 2005. Discriminant analysis of edible oils and fats by FTIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy [J]. Food Chem, 93(1): 25-32.
- ZHANG Y, WANG ZZ, 2008. Comparative analysis of essential oil components of three *Phlomis* species in Qinling Mountains of China [J]. J Pharmaceut Biomed, 47: 213-217.

(上接第 247 页 Continue from page 247)

- 毅,王晨晨,周旭,等,2015. 根瘤农杆菌介导的地衣型真菌 *Cladonia metacorallifera* 的转化 [J]. 菌物学报, 34(2): 246-251.]
- WEI JC, WANG XY, WU JL, et al, 1982. Medicinal lichens in Chinese [M]. Beijing: Science Press: 1-65. [魏江春,王先业,吴金陵. 1982. 中国药用地衣 [M]. 北京:科学出版社:1-65.]
- XU M, HEIDMARSSON S, OLAFSDOTTIR ES, et al, 2016. Secondary metabolites from cetrarioid lichens: chemotaxonomy, biological activities and pharmaceutical potential [J]. Phytomedicine, 23(5): 441-459.
- ZHANG JH, ZHAO JZ, HAO ZB, 2002. Submerged culture of edible and medicinal fungi [J]. For Sci Technol, 27(4): 61-63. [张建辉,赵经周,郝再彬. 2002. 食药菌的液体培养 [J]. 林业科技, 27(4): 61-63.]
- ZHOU W, ZHANG XW, ZHUANG YB, et al, 2015. Biosynthetic gene cluster of heterologous expression in *Streptomyces bottropensis* neomycin and improve yield [J]. J Huazhong Agric Univ, 34(1): 49-58. [周威,张学文,庄以彬,等,2015. 波卓霉素生物合成基因簇的异源表达及产量提高 [J]. 华中农业大学学报, 34(1): 49-58.]
- ZHOU Y, 2008. Studies on the submerged fermentation conditions of three kinds of domestic fungus and its bioaemulation of Zine, Ferrum [D]. Changchun: Jilin Agricultural University. [周勇, 2008. 三种食用菌液体培养条件及其富集锌铁的初步研究 [D]. 长春:吉林农业大学.]