

薄荷挥发油成分的气相色谱-质谱联用分析及抗衰老作用

俞浩, 辛华夏, 陈浩, 徐冬青, 王琮(安徽科技学院化学与材料工程学院, 安徽 凤阳 233100)

摘要: **目的** 采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法分析薄荷挥发油化学成分, 并观察薄荷挥发油的抗衰老作用。**方法** 采用水蒸气蒸馏法制备薄荷挥发油, 采用 GC-MS 法分析薄荷挥发油的主要成分。将 18 月龄昆明种小鼠随机分为模型组、维生素 E 组($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和薄荷挥发油高、中、低剂量组(0.004 、 0.002 、 $0.001 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$), 每组 10 只, 另取 10 只健康成年小鼠作为正常对照组; 每天 1 次灌胃给药, 连续 4 周。采用紫外-可见分光光度法测定各组小鼠的碳粒廓清指数和吞噬指数; 测定胸腺指数和脾脏指数; ELISA 法测定血清免疫球蛋白(Ig)G、IgM 水平; 检测血清、肝脏的超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性及丙二醛(MDA)含量。**结果** GC-MS 分析显示, 薄荷挥发油共含 32 种成分, 鉴定出其中 18 种成分, 占挥发油总量的 91.80%; 其中薄荷脑(33.25%)、二氢香芹酮(25.16%)、右旋香芹酮(15.47%)、二氢异丙维醇(6.17%)4 种成分占挥发油总量的 80.05%。与正常对照组比较, 模型组小鼠的碳粒廓清指数及吞噬指数、胸腺指数及脾脏指数、血清 IgG 及 IgM 水平、血清和肝脏的 SOD 及 GSH-Px 活性均明显降低($P < 0.01$), 血清和肝脏的 MDA 含量显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 薄荷挥发油各剂量组均能显著提高老年小鼠的碳粒廓清指数和吞噬指数($P < 0.05$, $P < 0.01$), 增加胸腺指数和脾脏指数($P < 0.01$), 升高血清 IgG 和 IgM 水平($P < 0.01$); 薄荷挥发油各剂量组的血清和肝脏 SOD 活性显著升高($P < 0.01$), 高、中剂量组血清和肝脏的 GSH-Px 活性显著增强($P < 0.01$), 各剂量组的血清和肝脏 MDA 水平均显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 薄荷挥发油主要含薄荷脑、二氢香芹酮、右旋香芹酮、二氢异丙维醇等成分, 其具有抗衰老作用, 可能与其增强老年小鼠免疫功能, 提高抗氧化能力有关。

关键词: 薄荷挥发油; 气相色谱-质谱联用; 化学成分; 老年小鼠; 抗衰老; 免疫功能; 抗氧化作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)01-0073-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.01.010

GC-MS Analysis of *Mentha haplocalyx* Oil and Its Anti-aging Effects

YU Hao, XIN Huaxia, CHEN Hao, XU Dongqing, WANG Cong (College of Chemistry and Materials, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100 Anhui, China)

Abstract: **Objective** To analyze the components of *Mentha haplocalyx* oil by GC-MS, and the effects of anti-aging of *Mentha haplocalyx* oil was observed in aged mice. **Methods** The *Mentha haplocalyx* oil was extracted by steam distillation, the components of *Mentha haplocalyx* oil were analyzed by GC-MS. Eighteen months old Kunming mice were randomly divided into model group, Vitamin E group($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), *Mentha haplocalyx* oil high, medium, and low groups(0.004 , 0.002 , $0.001 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$), 10 in each group; additionally, 10 healthy adult mice were used as control group. Mice were intragastric administrated with correspondent drugs once a day for 4 weeks. The carbon clearance index and phagocytosis index were measured by ultraviolet visible spectrophotometry; thymus index and spleen index were measured by weighing method; IgG and IgM levels in serum were measured by ELISA; activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), and contents of malondialdehyde (MDA) in serum and liver were also measured by ultraviolet visible spectrophotometry. **Results** The results of GC-MS showed that the *Mentha haplocalyx* oil contained 32 components, among them 18 compounds were identified and accounted

收稿日期: 2020-07-16

作者简介: 俞浩, 男, 博士, 教授, 研究方向: 中药药理学。Email: yhz_1230@163.com。

基金项目: 2017 年中央补助安徽省中医药公共卫生专项资金项目(卫秘办[2017]535 号)。

for 91.80% of *Mentha haplocalyx* oil. Menthol (33.25%), Dihydrocarvone (25.6%), D-carvone (15.47%) and Dihydroisopropanol (6.17%) accounted for 80.05% of *Mentha haplocalyx* oil. Compared with normal group, the carbon clearance index, phagocytosis index, spleen index and thymus index, the contents of IgG and IgM in serum, the activities of SOD and GSH-Px in serum and liver significantly decreased ($P < 0.01$), the contents of MDA in serum and liver significantly improved in the model group ($P < 0.01$). Compared with model group, the carbon clearance index, phagocytosis index, spleen index, thymus index, IgG and IgM in serum increased significantly in all dose groups of *Mentha haplocalyx* oil ($P < 0.05$, $P < 0.01$); the activities of SOD in serum and liver increased significantly in all dose groups of *Mentha haplocalyx* oil ($P < 0.01$), the activities of GSH-Px in serum and liver increased significantly in the high and medium dose groups of *Mentha haplocalyx* oil ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the contents of MDA in serum and liver reduced significantly in all dose groups of *Mentha haplocalyx* oil ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** The *Mentha haplocalyx* oil contained Menthol, Dihydrocarvone, D-carvone and Dihydroisopropanol, which had the effects of anti-aging; and its mechanism may be associated with enhancing the immune function, increasing the antioxidant activities in aged mice.

Keywords: *Mentha haplocalyx* oil; GC-MS; chemical components; aged mice; anti-aging; immune function; antioxidant effect

薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 为唇形科多年生药食两用草本植物, 味辛、性凉, 具有疏散风热、清利头目、利咽、透疹、疏肝行气之功效, 临床主要用于风热感冒、风温初起, 以及头痛、目赤等症^[1]。薄荷适应性强, 全国各地均可栽培, 其中以江苏、安徽产质量较好^[2]。薄荷用途非常广泛, 以其地上部分及提取物为原料的产品涉及医药、食品、化妆品、香料、烟草等。薄荷富含挥发油、黄酮、氨基酸等化学成分, 其中挥发油是其主要成分, 也是主要活性组分之一。药理研究^[3-7]表明, 薄荷挥发油具有抗疲劳及改善大鼠学习记忆能力的作用, 能够减轻内毒素致炎症模型小鼠的肺部炎症损伤, 抑制鸡蛋清引起的大鼠足跖肿胀和二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀。另外, 薄荷乙醇提取物能够降低四氧嘧啶性高血糖小鼠的空腹血糖, 具有抗过氧化损伤的作用^[8]。本研究拟采用水蒸气蒸馏法制备薄荷挥发油, 采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法分析其主要成分; 并以自然衰老小鼠为模型, 观察薄荷挥发油的抗衰老作用, 以期为其开发利用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物 健康雄性昆明种小鼠 150 只, SPF 级, 体质量(42 ± 2)g, 购自江苏大学实验动物中心, 动物质量合格证号: 201508865, 动物生产许可证号: SCXK(苏)2013-0011, 实验室饲养至 18 月龄供试验用。另取健康成年小鼠 30 只作为正常对照, 体质量

(20 ± 2)g, 动物质量合格证号: 201609869。

1.2 药品及主要试剂 薄荷, 采自安徽科技学院中药科技园, 经安徽科技学院中药学教研室刘汉珍教授鉴定为唇形科植物薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq.; 维生素 E 软胶囊, 安徽大东方药业有限公司, 批号: 20160312。中华墨汁, 上海精细文化用品有限公司, 批号: 120301, 临用时用生理盐水稀释 5 倍; 免疫球蛋白 G(IgG)试剂盒(批号: 20160827)、免疫球蛋白 M(IgM)试剂盒(批号: 20160827)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号: 20160824)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒(批号: 20160824)、丙二醛(MDA)试剂盒(批号: 20160824), 均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 7890B-5975C 型气相色谱-质谱联用仪, 美国安捷伦公司; FA2104B 型电子分析天平, 上海越平科学仪器有限公司; TU-1810 型紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; TG16-WS 型台式高速离心机, 长沙湘仪离心机仪器有限公司; HH-8 型数显恒温水浴锅, 常州国华电器有限公司; Multiskan FC 型酶标仪, 赛默飞世尔(上海)仪器有限公司。

1.4 薄荷挥发油提取及成分分析

1.4.1 薄荷挥发油提取 采用水蒸气蒸馏法提取薄荷挥发油。取薄荷适量, 加水($m/V=1:10$), 加入沸石防止暴沸, 蒸馏 6 h 至挥发油量不再显著增加, 取上层淡黄色液体, 加入少量无水 Na_2SO_4 充分干燥。测

定时采用无水 MgSO_4 脱水, 以色谱纯甲醇溶解后得薄荷挥发油检测样品。

1.4.2 薄荷挥发油成分分析 气相色谱条件: 色谱柱为 HP-5 MS(5% Phenyl Methyl Silox, 30 m×250 μm ×0.25 μm); 进样量为 1.0 μL , 分流比为 10:1, 载气为高纯氦气, 流速为 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 进样口温度为 250 $^{\circ}\text{C}$; 程序升温: 初始温度 60 $^{\circ}\text{C}$, 以 5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 速率升温至 220 $^{\circ}\text{C}$, 保留 10 min。

质谱条件: 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$, 四级杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$; 接口温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 电离方式为 EI 源, 电子能量 70 eV, 离子扫描范围 45~400 m/z , 溶剂延迟时间 4 min。

1.5 薄荷挥发油抗衰老药理作用

1.5.1 分组及给药 取老年小鼠 50 只(18 月龄), 随机分为模型组、维生素 E 组(200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)及薄荷挥发油高、中、低剂量组(0.004、0.002、0.001 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$), 每组 10 只, 另取 10 只健康成年小鼠作为正常对照组。各给药组小鼠在灌胃时采用葵花籽油稀释后给药, 以等容积不同浓度给药, 灌胃容积为 20 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ (每周称体质量 1 次, 根据体质量调整给药量), 每日 1 次, 连续给药 4 周, 正常对照组和模型组灌胃等体积的葵花籽油。因 1 批实验无法完成全部指标检测, 故本实验共取老年小鼠 150 只, 健康成年小鼠 30 只, 重复 3 次动物实验以完成全部指标检测。

1.5.2 炭粒廓清指数及吞噬指数测定 末次给药结束 24 h 后, 将小鼠以电子天平称体质量, 然后分别自尾静脉注射中华墨汁(10 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$), 分别于注射后 2、10 min 眼眶后静脉丛采血 20 μL ; 将血液立即滴入 2 mL 0.1% Na_2CO_3 溶液中, 采用紫外可见分光光度计在 680 nm 处测定吸光度值。另取未注射中华墨汁的正常小鼠血液 20 μL 作为空白对照。计算炭粒廓清指数 K 值和吞噬指数 α 值: $K=(\log A_1-\log A_2)/(t_2-t_1)$, 其中 A_1 、 A_2 为不同时间点血样测定的吸光度, t_2 、 t_1 为采血时间间隔; $\alpha=K^{1/3}\times\text{体质量}/(\text{肝质量}+\text{脾质量})$ 。

1.5.3 脾脏指数、胸腺指数测定 颈椎脱臼处死小鼠, 取肝脏、脾脏、胸腺, 分别称定质量后计算脏器系数。胸腺指数($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)=胸腺质量/小鼠体质量, 脾脏指数($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)=脾脏质量/小鼠体质量。

1.5.4 血清 IgG、IgM 检测 参照文献[9-10]方法, 末次给药结束 24 h 后, 小鼠摘眼球取血, 以 4 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取上清; 根据试剂盒说明书步骤操作, 采用 ELISA 法测定血清中 IgG、IgM 含量。

1.5.5 血清及肝脏 SOD、GSH-Px、MDA 水平测定 末次给药结束 24 h 后, 小鼠摘眼球取血, 以 4 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取上清, 于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。处死小鼠, 取肝脏, 剥离脂肪组织, 生理盐水洗净余血, 滤纸吸尽水分, 剪取适量肝脏, 电子天平称定质量后置于匀浆器中; 加冰冷的生理盐水 1:9(m/V)于冰浴中匀浆。取匀浆液, 以 4 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取上清, 于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待测^[11-12]。根据试剂盒说明书操作步骤, 分别测定小鼠血清和肝脏中 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量。

1.6 统计学处理方法 采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示; 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 两两比较用 LSD- t 检验; 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 薄荷挥发油 GC-MS 结果分析 结果见图 1、表 1。通过 GC-MS 分析, 薄荷挥发油共分离出 32 个色谱峰, 将所得峰通过计算机分析, 并检索相关文献, 共鉴定出 18 种成分。从相对丰度进行比较, 所鉴定出的 18 种成分占总色谱峰面积的 91.80%(相对百分含量以峰面积计算), 其中薄荷脑、二氢香芹酮、右旋香芹酮、二氢异丙维醇等 4 种成分含量相对较高, 占挥发油总量的 80.05%。

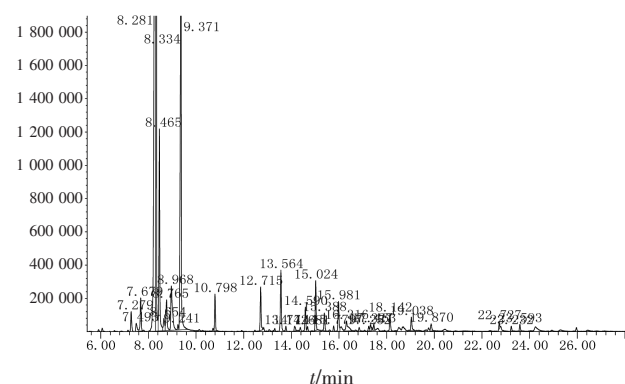


图 1 薄荷挥发油 GC-MS 总离子流图

Figure 1 Total ion current (TIC) GC-MS chromatograms of *Mentha haplocalyx* oil

2.2 薄荷挥发油的抗衰老作用

2.2.1 对老年小鼠炭粒廓清指数及吞噬指数的影响 结果见表 2。与正常对照组比较, 模型组小鼠的炭粒廓清指数及吞噬指数显著降低, 差异有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较, 薄荷挥发油高、中、低剂量均能显著提高老年小鼠的炭粒廓清指数及吞

表 1 薄荷挥发油 GC-MS 分析结果

Table 1 Component analysis in *Mentha haplocalyx* oil

序号	化合物名称	分子式	相对分子量	相对百分含量/%
1	呋喃	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.68
2	薄荷脑	C ₁₀ H ₂₀ O	156	33.25
3	二氢香芹酮	C ₁₀ H ₁₆ O	152	25.16
4	二氢异丙维醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	6.17
5	二氢香芹醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	2.62
6	胡薄荷酮	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.17
7	右旋香芹酮	C ₁₀ H ₁₄ O	150	15.47
8	4-乙基藜芦醇	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	166	1.12
9	β-波旁烯	C ₁₅ H ₂₄	204	1.40
10	1-石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	204	2.17
11	胡椒烯酮	C ₁₅ H ₂₄	204	0.19
12	香叶烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.19
13	倍半水芹烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.81
14	榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.60
15	α-摩勒烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.84
16	γ-摩勒烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.17
17	9, 10-脱氢异长叶烯	C ₁₅ H ₂₂	202	0.23
18	T-卡地诺	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.56
	合计	-	-	91.80

表 2 薄荷挥发油对老年小鼠炭粒廓清指数和吞噬指数的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 2 Effect of *Mentha haplocalyx* oil on carbon clearance index and phagocytic index in aged mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mL·kg ⁻¹)	廓清指数(K)/(×10 ²)	吞噬指数(α)
正常对照组	-	4.12 ± 0.41	7.02 ± 0.38
维生素 E 组	200 mg·kg ⁻¹	3.93 ± 0.51 [#]	6.79 ± 0.41 [#]
模型组	-	2.63 ± 0.38 ^{**}	5.16 ± 0.35 ^{**}
薄荷挥发油高剂量组	0.004	3.86 ± 0.55 [#]	6.75 ± 0.37 [#]
薄荷挥发油中剂量组	0.002	3.61 ± 0.81 [#]	6.60 ± 0.56 [#]
薄荷挥发油低剂量组	0.001	3.39 ± 0.70 [#]	6.43 ± 0.46 [#]

注: 与正常对照组比较, ^{**} $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$

噬指数, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结果表明, 薄荷挥发油能够增强老年小鼠的非特异性免疫功能。

2.2.2 对老年小鼠免疫器官指数的影响 结果见表 3。与正常对照组比较, 模型组小鼠的脾脏指数和胸腺指数显著降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, 薄荷挥发油高、中、低剂量均能显著提高老年小鼠的脾脏指数和胸腺指数, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。结果表明, 薄荷挥发油能促进老年小鼠的脾脏和胸腺发育, 具有增强机体免疫功能的作用。

表 3 薄荷挥发油对老年小鼠胸腺指数及脾脏指数的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 3 Effect of *Mentha haplocalyx* oil on thymus index and spleen index in aged mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mL·kg ⁻¹)	脾脏指数/(mg·g ⁻¹)	胸腺指数/(mg·g ⁻¹)
正常对照组	-	6.44 ± 1.03	2.46 ± 0.09
维生素 E 组	200 mg·kg ⁻¹	6.31 ± 0.37 [#]	2.39 ± 0.11 [#]
模型组	-	4.04 ± 0.43 ^{**}	1.68 ± 0.13 ^{**}
薄荷挥发油高剂量组	0.004	6.23 ± 0.93 [#]	2.38 ± 0.16 [#]
薄荷挥发油中剂量组	0.002	6.41 ± 1.07 [#]	2.33 ± 0.21 [#]
薄荷挥发油低剂量组	0.001	5.96 ± 0.94 [#]	2.16 ± 0.13 [#]

注: 与正常对照组比较, ^{**} $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.01$

2.2.3 对老年小鼠血清 IgG、IgM 水平的影响 结果见表 4。与正常对照组比较, 模型组小鼠的血清 IgG 和 IgM 水平显著降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, 薄荷挥发油高、中、低剂量均能显著升高老年小鼠的血清 IgG、IgM 水平, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。结果表明, 薄荷挥发油具有增强老年小鼠体液免疫功能的作用。

表 4 薄荷挥发油对老年小鼠血清 IgG 和 IgM 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 4 Effect of *Mentha haplocalyx* oil on IgG and IgM levels in serum of aged mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mL·kg ⁻¹)	IgG/(mg·L ⁻¹)	IgM/(mg·L ⁻¹)
正常对照组	-	468.44 ± 32.77	284.31 ± 33.25
维生素 E 组	200 mg·kg ⁻¹	452.32 ± 22.19 [#]	279.36 ± 28.47 [#]
模型组	-	263.42 ± 27.93 ^{**}	176.15 ± 33.45 ^{**}
薄荷挥发油高剂量组	0.004	476.42 ± 32.11 [#]	275.26 ± 36.38 [#]
薄荷挥发油中剂量组	0.002	471.28 ± 39.63 [#]	269.75 ± 34.72 [#]
薄荷挥发油低剂量组	0.001	374.28 ± 42.14 [#]	269.18 ± 30.17 [#]

注: 与正常对照组比较, ^{**} $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.01$

2.2.4 对老年小鼠血清 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量的影响 结果见表 5。与正常对照组比较, 模型组小鼠的血清 SOD、GSH-Px 活性显著降低, MDA 含量显著增加, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, 薄荷挥发油高、中、低剂量均能够显著提高老年小鼠的血清 SOD 活性, 显著降低老年小鼠的血清 MDA 含量, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$); 薄荷挥发油高、中剂量能够显著提高老年小鼠的血清 GSH-Px 活性, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2.5 对老年小鼠肝脏 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量的影响 结果见表 6。与正常对照组比较, 模型组小鼠的肝脏 SOD、GSH-Px 活性显著降低, MDA 含

量明显增加，差异均有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较，薄荷挥发油高、中、低剂量能够显著提高老年小鼠的肝脏 SOD 活性，显著降低其肝脏 MDA 含量，差异均有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)；薄

荷挥发油高、中剂量能够显著提高老年小鼠的肝脏 GSH-Px 活性，差异有统计学意义($P<0.01$)。结果表明，薄荷挥发油具有抗脂质过氧化损伤的作用。

表 5 薄荷挥发油对老年小鼠血清 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 5 Effect of *Mentha haplocalyx* oil on activities of SOD, GSH-Px and content of MDA of serum in aged mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mL·kg ⁻¹)	SOD/[(U·L ⁻¹)×10 ³]	GSH-Px/[(U·L ⁻¹)×10 ²]	MDA/[(nmol·L ⁻¹)×10 ³]
正常对照组	—	98.26 ± 4.68	15.64 ± 1.47	8.62 ± 1.34
维生素 E 组	200 mg·kg ⁻¹	93.24 ± 6.19 [#]	14.21 ± 2.18 [#]	9.10 ± 2.47 [#]
模型组	—	48.37 ± 6.54 ^{**}	9.78 ± 1.11 ^{**}	16.33 ± 4.23 ^{**}
薄荷挥发油高剂量组	0.004	96.34 ± 8.14 [#]	15.04 ± 1.29 [#]	9.38 ± 2.42 [#]
薄荷挥发油中剂量组	0.002	92.11 ± 7.33 [#]	14.96 ± 2.04 [#]	9.29 ± 3.33 [#]
薄荷挥发油低剂量组	0.001	89.34 ± 9.71 [#]	10.47 ± 3.32	10.21 ± 3.19 [#]

注：与正常对照组比较，^{**} $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ，[#] $P<0.01$

表 6 薄荷挥发油对老年小鼠肝脏 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 6 Effect of *Mentha haplocalyx* oil on activities of SOD, GSH-Px and content of MDA of liver of aged mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mL·kg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	GSH-Px/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)
正常对照组	—	158.33 ± 22.14	35.42 ± 6.34	19.42 ± 3.67
维生素 E 组	200 mg·kg ⁻¹	152.34 ± 19.66 [#]	33.28 ± 5.27 [#]	20.25 ± 2.65 [#]
模型组	—	104.56 ± 18.76 ^{**}	21.30 ± 4.21 ^{**}	34.76 ± 5.96 ^{**}
薄荷挥发油高剂量组	0.004	156.72 ± 21.78 [#]	36.24 ± 3.39 [#]	18.62 ± 4.32 [#]
薄荷挥发油中剂量组	0.002	153.85 ± 17.60 [#]	35.17 ± 4.48 [#]	17.69 ± 5.36 [#]
薄荷挥发油低剂量组	0.001	144.78 ± 21.34 [#]	30.19 ± 6.37	21.37 ± 6.95 [#]

注：与正常对照组比较，^{**} $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ，[#] $P<0.01$

3 讨论

本研究采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法从薄荷挥发油中分离出 32 个色谱峰，鉴定出其中 18 种相对含量较高的成分，占总量的 91.80%(以峰面积计)，其中薄荷脑、二氢香芹酮、右旋香芹酮、二氢异丙维醇等 4 种成分占挥发油总量的 80.05%。本研究结果显示，所用安徽凤阳产薄荷挥发油中含量相对较高的成分与青海野生薄荷、湖南永州薄荷及湖北经安县产薄荷提取的挥发油存在差异^[13-15]。

碳粒廓清指数的高低能够客观地反映机体非特异性免疫功能的强弱，进入老龄期后，机体各项功能均出现衰退，巨噬细胞的吞噬功能下降，对碳粒的廓清作用降低^[16]。本研究结果表明，薄荷挥发油能够提高衰老小鼠的碳粒廓清指数和吞噬指数，说明薄荷挥发油能够增强衰老小鼠的非特异性免疫功能。胸腺是 T 细胞发育、分化和成熟的场所，为中枢免疫器官，成熟的 T 细胞通过血液或淋巴液输送至外周免疫器官，进而发挥免疫作用。同时，胸腺还能够诱导胸腺细胞对自身抗原产生免疫耐受。脾脏是

T 细胞、B 细胞移居和接受抗原刺激后产生免疫应答的重要场所，也是人体最大的外周免疫器官^[17-19]。随着机体逐渐衰老，免疫器官会出现萎缩和功能减退，导致胸腺指数和脾脏指数降低。本研究结果显示，薄荷挥发油能够提高老年小鼠的胸腺指数和脾脏指数，说明薄荷挥发油能够增强衰老小鼠的免疫器官功能。

IgG 是由浆细胞合成和分泌的免疫球蛋白，是血清主要的抗体成分之一，在血液中含量较高，具有抗菌、抗病毒、中和毒素及抗肿瘤等作用。IgM 是一级免疫应答产物，相对分子量较大，在激活补体、中和毒素和抗病原体感染等方面的作用强于 IgG。随着机体的逐渐衰老，免疫球蛋白水平逐渐降低^[20-23]。本研究结果表明，薄荷挥发油能提高老年小鼠的血清 IgG、IgM 水平，说明薄荷挥发油能增强衰老小鼠的细胞免疫功能。SOD、GSH-Px 是抗氧化酶，能够阻断活性氧传递，抑制过氧化产物的生成，清除脂质过氧化产物，对抗自由基所造成的过氧化损伤，具有保护机体生物膜作用；MDA 是脂质过氧化产

物,其在组织或血清中的含量高低能够客观反映体内自由基代谢情况^[24-26]。本研究结果显示,薄荷挥发油能提高老年小鼠的血清及肝脏的SOD、GSH-Px活性,降低血清和肝脏的MDA水平,说明薄荷挥发油具有抗氧化功能,对衰老小鼠有保护作用。

综上所述,薄荷挥发油具有明显的抗衰老作用,可能与其增强老年小鼠免疫功能,提高抗氧化能力有关。但有毒理学研究^[27-30]显示,大剂量的薄荷挥发油对肝、肾组织等有明显的毒性,且随给药时间延长、剂量增加呈增强趋势。因此,有关薄荷挥发油抗衰老的物质基础、作用机制及“量-时-毒”关系还有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2015: 377-378.
- [2] 邵扬, 叶丹, 欧阳臻, 等. 薄荷的生境适宜性区划及品质区划研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(17): 3169-3175.
- [3] 梁浩明, 龙晓英, 卢耀文, 等. 鼻吸入薄荷油对小鼠精神疲劳行为及脑内氨基酸类神经递质的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(5): 649-654.
- [4] 刘莉茵, 方文恒, 陈君, 等. 薄荷醇吸嗅对大鼠学习记忆及海马区乙酰胆碱酯酶及谷氨酸受体1表达的影响[J]. 国际药学研究杂志, 2012, 39(3): 238-241, 260.
- [5] 王风, 温桃群, 徐锋, 等. 薄荷酮对内毒素致炎症模型小鼠的保护作用研究[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(2): 227-234.
- [6] 吴论, 梅全喜, 钟希文, 等. 浓薄荷水对鸡蛋清致大鼠足跖肿胀影响的实验研究[J]. 当代医学, 2010, 16(21): 1-2.
- [7] 苑如, 王结, 宋小莉, 等. 薄荷油乳剂经皮给药对小鼠耳肿胀的保护作用[J]. 山东中医杂志, 2014, 33(4): 296-298.
- [8] 韦邱梦, 梁寻杰, 黄小夏, 等. 薄荷提取物对小鼠血糖影响的实验研究[J]. 现代预防医学, 2017, 44(24): 4489-4492.
- [9] 衡衍, 李德魁, 马淑然, 等. 极端气候变化对金黄地鼠血清褪黑素、免疫球蛋白G、免疫球蛋白M的影响[J]. 环球中医药, 2016, 9(5): 563-567.
- [10] 朱立国, 陈忻, 于杰, 等. 利水渗湿法对髓核自身免疫模型大鼠血清IgG、IgM及IL-1 β 、IL-8的影响[J]. 中国骨伤, 2011, 24(4): 327-331.
- [11] 张清峰, 付莹娟, 黄占旺, 等. 土茯苓黄酮对高脂小鼠脂肪代谢及抗氧化水平的影响[J]. 现代食品科技, 2016, 32(11): 8-15.
- [12] 武雪玲, 李筱筱, 贾世亮, 等. 黑果枸杞花青素对A β 42致痴呆模型大鼠记忆力及抗氧化活性研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(3): 29-34.
- [13] 靳有才, 庆易薇, 郭珍. 青海野生薄荷挥发油成分GC-MS分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(23): 143-146.
- [14] 徐玉婷. 湖北栽培薄荷挥发油化学成分气相色谱-质谱分析[J]. 湖北中医药大学学报, 2011, 13(1): 26-29.
- [15] 田祁颖, 姚婷, 黄光文. 湖南永州薄荷挥发油化学成分[J]. 山东化工, 2018, 47(15): 96-97.
- [16] 王志华, 江阳阳, 余晓华, 等. 壳聚糖及其水溶性衍生物对小鼠免疫功能的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(1): 198-202.
- [17] LIU X, ZHAO X H. Immune potentials of the Mucor-fermented Mao-tofu and especially its soluble extracts for the normal mice[J]. Food and Agricultural Immunology, 2017, 28(5): 859-875.
- [18] OH M J, CHOI H D, HA S K, et al. Immunomodulatory effects of polysaccharide fraction isolated from Fagopyrum esculentum on innate immune system[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2018, 496(4): 1210-1216.
- [19] 雷思敏, 肖榕, 章莹, 等. 铁皮石解中性多糖分离纯化及其体内免疫调节作用研究[J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(6): 748-753.
- [20] CHALAMAIAH M, HEMALATHA R, JYOTHIRMAYI T, et al. Chemical composition and immunomodulatory effects of enzymatic protein hydrolysates from common carp (Cyprinus carpio) egg[J]. Nutrition, 2014, 31(2): 388-398.
- [21] MISHRA K P, YADAV A P, SHWETA, et al. Serum levels of immunoglobulins(IgG, IgA, IgM) in antarctic summer expeditioners and their relationship with seasickness[J]. Cellular Immunology, 2011, 271(1): 29-35.
- [22] AITORO R, SIMEOLI R, AMOROSO A, et al. Extensively hydrolyzed casein formula alone or with L. rhamnosus GG reduces β -lactoglobulin sensitization in mice[J]. Pediatric Allergy and Immunology, 2017, 28(3): 230-237.
- [23] MA Y, WU X Z, GIOVANNI V, et al. Effect of soybean oligosaccharides on intestinal microbial communities and immune modulation in mice[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2017, 24(1): 114-121.
- [24] FORMAN H J, ZHANG H Q, RINNA A. Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis[J]. Molecular Aspects of Medicine, 2009, 30(1-2): 0-12.
- [25] 高璐, 王滢, 饶胜其, 等. 葡萄籽原花青素提取物对衰老模型小鼠抗氧化作用[J]. 食品科学, 2014, 35(23): 253-256.
- [26] HOMMA T, FUJII J. Application of glutathione as anti-oxidative and anti-aging drugs[J]. Current Drug Metabolism, 2015, 16(7): 560-571.
- [27] 李晓宇, 孙蓉. 薄荷不同组分单次给药对小鼠肝毒性“量-时-毒”关系比较研究[J]. 中国药物警戒, 2012, 9(3): 129-133.
- [28] 李晓宇, 孙蓉. 薄荷不同组分对小鼠急性毒性实验比较研究[J]. 中国药物警戒, 2012, 9(2): 65-68.
- [29] 李枝, 李进, 李世开, 等. 薄荷油对小鼠肝肾损伤的动物实验研究[J]. 大理学院学报, 2012, 11(12): 6-9.
- [30] 刘红杰, 金若敏, 齐双岩, 等. 薄荷油致大鼠肝毒性机制研究[J]. 毒理学杂志, 2007, 21(4): 329.

(编辑: 邹元平)