

假益智果实挥发油成分分析及其抑菌活性

肖文琳, 宋小平, 陈光英, 陈文豪, 刘鹤, 高歌, 韩长日*

(海南师范大学热带药用植物化学教育部重点实验室, 海口 571127)

[摘要] **目的:**对假益智果实挥发油进行化学成分研究,并进行抗菌活性测试,为进一步研究开发假益智提供实验依据。**方法:**使用水蒸气蒸馏法从假益智的果实中提取出挥发油,运用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术进行分析;使用微量稀释法测试挥发油的抗菌活性。**结果:**假益智果实挥发油提取率为0.17%,检测到42个化合物,鉴定出31个,占挥发油总成分的94.18%。挥发油对四联球菌具有很好的抑菌作用,最小抑制浓度为 $12.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,对白色葡萄球菌、蜡状芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希菌细菌具有中等强度的抑制作用。**结论:**本文对假益智果实进行挥发油提取鉴定,其主要成分为萜类、长链烃类化合物。抗菌实验结果表明假益智果实挥发油对四联球菌具有较好的抗菌活性。

[关键词] 假益智; 挥发油; 化学成分; 抗菌活性

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)07-0047-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015070047

Chemical Composition and Antibacterial Activity of Volatile Oil from Fruits of *Alpinia maclurei*

XIAO Wen-lin, SONG Xiao-ping, CHEN Guang-ying, CHEN Wen-hao, LIU He, GAO Ge, HAN Chang-ri*
(Key Laboratory of Tropical Medicinal Plant Chemistry of Ministry of Education, Hainan Normal University, Haikou 571127, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents and antibacterial activity of volatile oil from the fruits of *Alpinia maclurei*. **Method:** The volatile oils were extracted from fruits of *A. maclurei* by steam distillation, and its ingredients were identified by GC-MS. The antibacterial activity of volatile oils was tested using microdilution method. **Result:** 42 chromatographic peaks were detected and 31 compounds were identified, which constituted about 94.18% of the total volatile oil. The volatile oil of *A. maclurei* showed inhibitory activity against staphylococcus albus, bacillus cereus, staphylococcus aureus, bacillus subtilis, escherichia coli and exhibited higher activity to inhibit pediococcus aureus, with minimum inhibitory concentration (MIC) value of $12.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. **Conclusion:** Volatile oil was extracted from *A. maclurei* and the compounds were identified for the first time, containing many reactive components. The oil was found to possess antimicrobial activity against *Pediococcus*.

[Key words] *Alpinia maclurei*; volatile oil; chemistry constituents; antibacterial activity

假益智产于我国广西、广东、海南等地区,一般生长于海拔240~1300 m的湿润疏林或密林下。其根茎与果实有行气功能,在民间常用于治疗腹胀、呕吐等^[1]。红豆蔻为山姜属植物大高良姜的果实,具有与假益智类似的散寒、燥湿、消食的功能^[2]。假益智的果实呈球形状,无毛,直径约1 cm。果实基本构造与红豆蔻相同,仅细胞的大小、形状、多寡有所不同,由于一些历史原因以及收购中存在的技

术问题,一些地区常将假益智的果实误当做红豆蔻使用,已有学者综述了红豆蔻与假益智果实等的性状鉴别和显微鉴别^[3]。崔兆杰等^[4]报道,红豆蔻挥发油主要成分为布黎烯、愈创烯、顺- γ -杜松烯和1,8-桉叶油素等;刘晓爽等^[5]报道,红豆蔻挥发油主要成分为1,8-桉叶油素。 β -石竹烯和 α -法尼烯;Rana等^[6]报道,红豆蔻挥发油成分为1,8-桉叶油素, α -松油醇和 β -蒎烯。而对于假益智果实挥发油的研究

[收稿日期] 20140310(012)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81160391,21362009,81360478);国家国际科技合作专项(2014DFA40850)

[第一作者] 肖文琳,硕士,从事天然产物研究,Tel:0898-65884995,E-mail:vivelin0642@gmail.com

[通讯作者] *韩长日,教授,从事天然产物研究,Tel:0898-65884995,E-mail:hchr116@hainnu.edu.cn

分析未见报道。本实验采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用方法分离并分析鉴定了假益智果实挥发油化学成分,并用气相色谱面积归一法确定相对含量,以期为区分红豆蔻与假益智提供依据。

1 材料

2013年7月于海南省尖峰岭采得,经海南师范大学生命科学院钟琼芯教授鉴定为姜科多年生草本假益智 *Alpinia maclurei* 的果实。其标本保存于海南师范大学热带药用植物化学教育部重点实验室。

5975B/6890N型气相色谱-质谱联用仪,7890A/5975C-GC-MSD型气质联用仪(美国安捷伦公司),Elx800型酶标仪(美国宝特公司)。白色葡萄球菌(*Staphylococcus*)、蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*)、四联球菌(*Pediococcus*)均购于中国科学院微生物研究所,RPMI1640培养液(美国Gibco公司),其他所用试剂均为市售分析纯,水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取 称取新鲜的假益智果实100g,捣碎,按2010年版《中国药典》一部附录XD挥发油测定法(不加二甲苯),水蒸气蒸馏法提取8h,用乙醚萃取3次,加无水硫酸钠干燥,水浴旋蒸回收乙醚,最后得到具有特殊香味的透明油状物,计算提取率,密封保存于冰箱中。

2.2 GC-MS条件 进样条件:样品瓶温度100℃,定量环(1.0 mL)温度110℃,传输线温度120℃,气相平衡时间5.5 min,样品平衡时间7.0 min,样品瓶加压时间0.1 min,定量环增量时间0.5 min,样品环平衡时间0.05 min,进样时间1.0 min。

GC条件^[7]: HP-FFAP石英毛细管柱(0.25 mm×30 m,0.25 μm),起始温度40℃,保持1 min,以5℃·min⁻¹升温到200℃,保持5 min,再以8℃·min⁻¹升温到280℃,保持至完成分析,载气He(99.99%),柱流量1.0 mL·min⁻¹,压力28.8 kPa,进样口温度250℃,分流比50:1。

MS条件^[8]: 电离方式EI,电子能量70 eV,接口温度280℃,离子源温度230℃,四级杆温度180℃,溶剂延迟2.5 min,全扫描(Scan)采集模式,质量范围 *m/z* 50~550,扫描间隔0.50 s,倍增器电压1200 V。

2.3 假益智挥发油抗菌活性测试 采用微量稀释法,测定微生物的最小抑菌浓度(MIC)。应用营养肉汤培养,先将样品进行粗筛,再将活性好的样品测

定(MIC)。将粗筛效果好的药液在96孔微量稀释板^[9]作2倍递减浓度稀释,分装于微量稀释板孔内或用微量加液器直接在稀释板孔内作2倍稀释,然后接种稀释菌液,其中留一列孔作为药液对照,另一孔仅加培养基和菌液作为菌对照,试验完毕后,用微量搅拌器震荡混匀后,置37℃培养24 h,用酶标仪630 nm测吸光度。能抑制试验菌生长的最低浓度,即为该微生物的最小抑菌浓度。结果发现其对四联球菌具有很好的抑菌作用,MIC为12.5 g·L⁻¹;而对白色葡萄球菌、蜡状芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希菌具有中等强度的抑菌作用,MIC均为25 g·L⁻¹。

2.4 挥发油化学成分 通过上述方法制取假益智果实挥发油,得到具有特殊香味无色透明油状物0.173 g,提取率0.17%。GC分离出42个组分,根据面积归一化法从总离子流图测得相对含量,见图1。通过(Nist08)质谱数据库检索,鉴定了31种化学成分,其相对含量占挥发油的94.18%,见表1。相对质量分数较高的成分为(-)-β-蒎烯(31.03%),正二十三烷(12.74%),α-水芹烯(9.75%),α-榄香醇(9.03%),[3S-(3α,5α,8α)]-1,2,3,4,5,6,7,8-八氢化-α,α-3,8-四甲基-5-奥甲醇(3.60%)等。

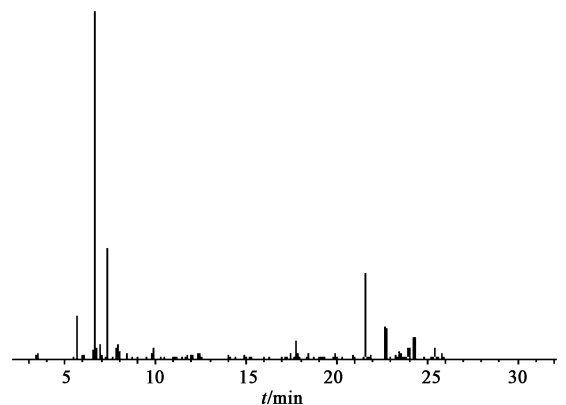


图1 假益智果实挥发油总离子流
Fig. 1 Total ion chromatogram of the volatile oil from fruits of *Alpinia maclurei*

3 讨论

本实验对假益智果实进行挥发油提取并鉴定出31个化学成分,占挥发油总量的94.18%,主要成分为萜类、长链烃类化合物。其中含量最高的β-蒎烯是香料工业的重要原料,高纯度的β-蒎烯价格不亚于黄金价^[10]。α-水芹烯化学性质活泼,可以直接用于加工香料或生物活性杀虫剂,通过化学反应,合成高档香料、生理活性物质和材料等^[11]。据文献

表1 假益智果实挥发油成分分析

Table 1 Chemical constituents in volatile oil from fruits of *Alpinia maclurei*

No.	t_R /min	化合物	相对分子质量	相对含量/%
1	5.65	(1R)-(+) - α 蒎烯	136	3.52
2	6.00	蒎烯	136	0.40
3	6.57	柏烯	136	0.75
4	6.66	(-) - β -蒎烯	136	31.03
5	6.97	月桂烯	136	1.38
6	7.32	α -水芹烯	136	9.75
7	7.84	间异丙基甲苯	134	0.97
8	7.95	未鉴定	136	1.70
9	8.44	(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-十八烷三烯	136	0.51
10	9.86	芳樟醇	154	1.06
11	11.72	未鉴定	154	0.39
12	12.01	4-蒎烯醇	154	0.47
13	12.39	α -松油醇	154	0.58
14	14.93	乙酸冰片酯	196	0.50
15	17.77	未鉴定	132	2.07
16	18.41	1-石竹烯	204	0.57
17	19.08	3-苯基-2-丙烯-1-醇乙酸酯	176	0.64
18	19.94	大根香叶烯	204	0.56
19	20.92	杜松烯	204	0.45
20	21.59	α -榄香醇	222	9.03
21	21.85	S-(Z)-3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷三烯-3-醇	222	0.37
22	22.71	[3S-(3 α ,5 α ,8 α)]-1,2,3,4,5,6,7,8-八氢化- α , α -3,8-四甲基-5-奥甲醇	222	3.59
23	23.50	凤蝶醇	222	0.93
24	23.93	β -桉叶醇	222	1.08
25	23.99	α -桉叶醇	222	1.45
26	24.29	[3S-(3 α ,3A β ,5 α)]-1,2,3,3A,4,5,6,7-八氢化- α , α -3,8-四甲基-5-奥甲醇	222	2.63
27	25.41	3,7,11-三甲基-2,6,10-十二烷三烯-1-醇	222	2.05
28	25.84	(2E,6E)-金合欢醛	220	0.72
29	36.16	正二十三烷	324	0.50
30	41.84	正二十三烷	324	12.24
31	42.26	二十烷	282	1.28
32	42.30	二十烷	282	0.89
33	44.15	1-二十六烯	364	0.12

报道,红豆蔻挥发油的化学成分主要为布黎烯,顺- γ -杜松烯,愈创烯, α -松油醇, β -蒎烯,1,8-桉叶油素, β -石竹烯和 α -法尼烯,显然与假益智果实挥发油主要成分 β -蒎烯,正二十三烷, α -水芹烯和 α -榄香醇存在明显差异。本实验结果可为更准确地区分红豆蔻与假益智果实提供理论依据,为进一步开发利用该植物资源提供科学依据。

【参考文献】

[1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第16卷[M]. 北京:科学出版社,1981.
[2] 毕培曦,江润祥,吴德邻. 姜科药用植物的化学、药理和经济用途(三) 红豆蔻[J]. 中药材,1987(3): 49-52.

- [3] 陈毓亨,童玉懿,段华,等. 我国姜科药用植物研究——Ⅲ. 红豆蔻的原植物和生药鉴别[J]. 中药材科技,1984(2):24-31.
- [4] 崔兆杰,邱琴,董冰,等. 红豆蔻挥发油化学成分的GC-MS法分析[J]. 山东大学学报:理学版,2003,38(3):104-107.
- [5] 刘晓爽,赵岩,张连学. 红豆蔻挥发油化学成分的比较分析[J]. 安徽农业科学,2009,37(36):7967-7969.
- [6] Rana V S, Verdeguer M, Blazquez M A. GC and GC-MS analysis of the volatile constituents of the oils of *Alpinia Galanga* (L.) Willd and *A. Officinarum* Hance Rhizomes[J]. J Essent Oil Res, 2010, 22(6):521-524.
- [7] 王燕,陈文豪,陈光英,等. 鹰爪花挥发油GC-MS分析及抗肿瘤活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(17):100-103.
- [8] 沈卓豪,刘磊,韩姣姣,等. 南美蟛蜞菊花挥发油GC-MS分析及抗菌活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(7):54-58.
- [9] Zheng Q H, Jing P, Zhou X L. Analysis of active ingredients of geranium oil extracted from fresh leaves of *Pelargonium Graveolens* L for relieving cough[J]. Biom Chem Eng, 2011, 45(1):37-40.
- [10] 栾国颜,阎丽萍,高维平. 松节油中提取 α -蒎烯与 β -蒎烯的分离研究[J]. 吉林化工学院学报,1998,15(2):11-16.
- [11] 焦燕,朱岳麟,冯利利,等. 水芹烯的来源与精细化学应用[J]. 生物质化学工程,2008,42(3):59-63.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国实验方剂学杂志》入选“2015—2016 RCCSE 中国核心学术期刊”

由武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)、武汉大学图书馆、中国科教评价网(www.nseac.com)共同研制的第4版《RCCSE中国学术期刊评价研究报告——权威、核心学术期刊排行榜(2015—2016)》已于2015年1月13日公布,《中国实验方剂学杂志》被评定为“RCCSE中国核心学术期刊(A)”,在参评的112本中医学与中药学类期刊中综合排名第15名。

本次学术期刊评价在重点突出期刊学术影响力的同时,也注重了对期刊网络传播效率和期刊即时反应速率的考察,主要评价指标有:总被引频次、2年影响因子、即年指标、基金论文比、Web即年下载率、二次文献转载量(或国外重要数据库收录情况)和专家定性评价。参评期刊共6201种,排名前5%的“RCCSE中国权威学术期刊”(A⁺)316种,排名前5%~20%的“RCCSE中国核心学术期刊”(A)和排名前20%~30%的“RCCSE中国核心学术期刊(扩展版)”(A⁻)共1572种,准核心的学术期刊1848种(B⁺),一般期刊1828(B)种,较差期刊637种(C)。

“RCCSE中国核心学术期刊”是继“中文核心期刊(北大)”和“中国科技核心期刊”之后国内推出的又一核心期刊评价体系。