

莪术油与药渣残油的化学成分 和抗菌活性比较

黄辉锋^{1,2,3}, 郑彩娟³, 陈光英^{3*}, 尹文清^{1,2*}, 莫峥嵘³, 张攀³, 黄娴⁴

(1. 广西师范大学化学与药学院, 广西桂林 541004;

2. 广西师范大学药用资源化学与药物分子工程教育部重点实验室, 广西桂林 541004;

3. 海南师范大学热带药用植物化学教育部重点实验室, 海口 570216;

4. 海南碧凯药业有限公司, 海口 571158)

[摘要] 目的:研究莪术油与药渣残油的化学成分和抗菌活性的差别,为充分利用温莪术药渣提供科学依据。方法:采用水蒸气提取法提取莪术油和药渣残油,采用气质联用方法分别对莪术油和药渣残油的化学成分进行研究,采用微量稀释法对莪术油和药渣残油进行了抗菌活性测试。结果:从莪术油中得到78个化合物,鉴定出29个,占总成分的86.68%;从药渣残油中得到78个化合物,鉴定出31个,占总成分的70.83%。温莪术油对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌有较好的活性, MIC值均为50.9 mg·L⁻¹;药渣残油对四联球菌,大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有较好的活性, MIC值均为44.4 mg·L⁻¹。结论:对莪术油和药渣残油进行化学成分和抗菌活性对比,化学成分分析表明它们的主要化学成分类似,含量较高的成分有榄香烯、吉马酮、莪术烯、莪术二酮、新莪术二酮。抗菌实验表明药渣残油抗菌活性总体上比莪术油的抗菌活性强。首次对药渣进行残油提取以及抗菌活性测试,为温莪术药渣的综合利用提供科学依据。

[关键词] 莪术油; 药渣残油; 抗菌活性; 水蒸气蒸馏法; 气相色谱-质谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)20-0067-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015200067

Comparison of Chemical Composition and Antibacterial Activity Between Zedoary Turmeric Oil and Dregs Residual Oil HUANG Hui-feng^{1,2,3}, ZHENG Cai-juan³, CHEN Guang-ying^{3*}, YIN Wen-qing^{1,2*}, MO Zheng-rong³, ZHANG Pan³, HUANG Xian⁴ (1. College of Chemistry and Pharmaceutical Science, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China; 2. Key Laboratory for the Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources of State Education Ministry, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China; 3. Key Laboratory of Tropical Medicinal Plant Chemistry of Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hainan Normal University, Haikou 570216, China; 4. Hainan Bikai Pharmaceutical Co. Ltd., Haikou 571158, China)

[Abstract] **Objective:** To study the differences of chemical composition and antibacterial activity between Zedoary Turmeric oil and dregs residual oil, and provide scientific basis for full use of *Curcuma wenyujin* dregs. **Method:** The Zedoary Turmeric oil and the dregs residual oil were extracted by hydrodistillation and separated by capillary GC-MS. The chemical compositions were determined by normalization and were identified by MS. Their antibacterial activity was determined by using micro-dilution method. **Result:** For Zedoary Turmeric oil, 78 chromatographic peaks were detected and 29 compounds were identified, accounting for 86.68% of the total composition. For dregs residual oil, 78 chromatographic peaks were detected and 31 compounds were identified, accounting for 70.83% of the total composition. Zedoary Turmeric oil showed inhibitory activity against *Escherichia*

[收稿日期] 20141129(007)

[基金项目] 海南省重点科技计划项目(ZDXM20130059);海南省自然科学基金项目(213020)

[第一作者] 黄辉锋, 硕士, 从事天然有机化学研究, Tel:13322071013, E-mail:386208304@qq.com

[通讯作者] * 陈光英, 博士, 教授, 从事天然药物化学研究, Tel/Fax:0898-65889422, E-mail:chgying123@163.com;

* 尹文清, 博士, 教授, 从事天然药物化学研究, E-mail:yinwq0000@aliyun.com

coli and *Staphylococcus aureus* with the same MIC value of $50.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; dregs residual oil showed inhibitory activity against *M. tetragenus*, *E. coli* and *S. aureus* with the same MIC value of $44.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. **Conclusion:** It is the first time to contrast the differences of chemical composition and antibacterial activity between Zedoary Turmeric oil and dregs residual oil. Chemical composition analysis shows that their main chemical ingredients are similar, including elemene, germacrone, curzerene, curdione, neocurdione etc. The antifungal activity shows that dregs residual oil is in general stronger than Zedoary Turmeric oil. The experiment scientific basis were provided for the further research and utilization of the *C. wenyujin* dregs.

[Key words] Zedoary Turmeric oil; dregs residual oil; antibacterial activity; hydrodistillation; GC-MS

莪术为姜科植物蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis*, 广西莪术 *C. kwangsiensis* 和温郁金(习称温莪术) *C. wenyujin* 的干燥根茎^[1]。我国对温莪术研究较多,温莪术挥发油(莪术油)从 1977 年就已经被收入到《中国药典》。温莪术为我国中药市场大宗药材,中医认为莪术具有行气破血、消积止痛的功效。温莪术中含有的挥发油,组成成分为多种倍半萜衍生物和桉油精,其中莪术醇为其抗癌有效成分^[2,3]。莪术油的主要活性成分为莪术醇、 β -榄香烯,吉马酮,莪术二酮,新莪术二酮等^[4],具有行气破血、消积止痛、抗炎、抗病毒、抗肿瘤、增强免疫功能和抑制血栓形成等作用^[5-7]。

温莪术药渣是温莪术提取了莪术油之后剩下的残渣,每年产生近千吨,目前对药渣主要的处理方法是简单废弃,这无疑对资源造成很大浪费。本文是以海南产温莪术以及其废弃药渣为研究对象,分别提取莪术油和温莪术药渣残油(药渣残油),并对化学成分和抗菌活性进行对比探讨,为加快废弃药渣资源的综合开发利用,提高温莪术产业综合利用具有重要实际意义和科学价值。

1 材料

温莪术粉末和温莪术药渣粉末都来源于海南碧凯药业有限公司。5975B/6890N 型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司),ELx808 型吸收光酶标仪(美国伯腾仪器有限公司),96 孔细胞培养板(Pore 公司);BS323S 型电子天平(Sartious 公司)。二甲基亚砜(DMSO,天津市化学试剂二厂);营养肉汤培养基(广东环凯微生物科技有限公司)。

2 方法和结果

2.1 莪术油及药渣残油的制备 采用水蒸气蒸馏法提取莪术油和药渣残油,分别将温莪术原药材粉末(20 ~ 40 目)100 g 和温莪术药渣粉末(20 ~ 40 目)250 g 加到两个圆底烧瓶中,加入 8 倍量蒸馏水,温度由调压器控制,保持沸腾,连续提取 6 h,得到带水的粗油用乙醚萃取 3 次,乙醚层用无水硫酸钠干

燥后于 35 °C 水浴回收后得到莪术油和药渣残油,并计算收率。

2.2 GC-MS 分析条件 样品瓶温度 100 °C,定量环(1.0 mL)温度 110 °C,传输线温度 120 °C,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。HP-FFAP 石英毛细管柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm),起始温度 40 °C,以 5 °C · min⁻¹ 升温到 200 °C 维持 5 min,再以 8 °C · min⁻¹ 升温到 280 °C 维持至完成分析,载气 He(99.99%),柱流量 1.0 mL · min⁻¹,进样口温度 250 °C,分流比 50:1。EI 电离源,70 eV,离子源温度 230 °C,四级杆温度 180 °C,溶剂延迟 2.5 min,扫描质量范围 m/z 50 ~ 550。

2.3 莪术油及药渣残油抗菌活性检测 对 7 种细菌菌株:藤黄八叠球菌(批号 ATCC 11001),大肠埃希菌(批号 ATCC 25922),金黄色葡萄球菌(批号 ATCC 27154),白色葡萄球菌(批号 ATCC 8799),蜡状芽孢杆菌(批号 ACCC 11077),四联球菌(批号 ATCC 13623)和枯草芽孢杆菌(批号 ACCC 11060),通过使用 96 孔微量滴定板和微量稀释技术来测定。将一定量的莪术油和药渣残油溶于 1 mL 的 DMSO 中,得到储备溶液。菌珠在 37 °C 条件下,在营养肉汤中培养过夜,使用时稀释至 $10^6 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。营养肉汤培养基作空白对照,DMSO 用作阴性对照,环丙沙星作阳性对照。

2.4 莪术油和药渣残油化学成分分析 利用水蒸气蒸馏法制备莪术油和药渣残油,从莪术中得到特殊香气的浅黄色油状物 4.35 g,提取率为 4.35%;从药渣中得到特殊香气的浅紫色油状物 2.57 g,提取率为 1.03%。用毛细管色谱法对莪术油和药渣残油样品进行测定,从莪术油和药渣残油中 GC-MS 检测出组分都为 78 个,见图 1,2。经色谱峰面积归一化法从其总离子流图中计算莪术油和药渣残油中各组分的相对含量,根据 GC-

MS 联用所得的质谱信息, 经用标准质谱检索库 NIST 计算机检索, 从莪术油中鉴定出 29 个, 占总成分的 86.68%; 从药渣残油中鉴定出 31 个, 占总成分的 70.83%。

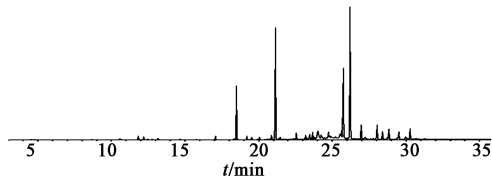


图 1 莪术油总离子流
Fig. 1 Total ions chromatogram of Zedoary Turmeric oil

从已鉴定的化学成分来看, 水蒸气蒸馏法提取出来的莪术油与药渣残油的化学成分基本相同, 但

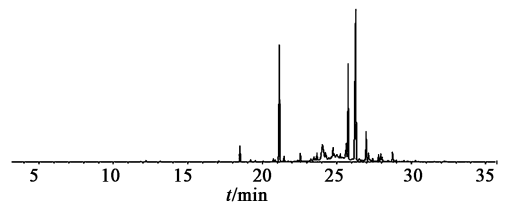


图 2 药渣残油的总离子流
Fig. 2 Total ions chromatogram of dregs residual oil

是各成分的含量有所不同, 药渣残油中难挥发性成分所占的比例比莪术油中大。莪术油以及药渣残油的化学成分与文献[9-10]大致相同, 含量较高的成分为有榄香烯、吉马酮、莪术烯、莪术二酮、新莪术二酮等。见表 1, 2。

表 1 莪术油化学成分及其相对含量

Table 1 Chemical constituents of Zedoary Turmeric oil and its relative content

No.	t_R /min	相对分子 质量	分子式	化合物	相似度 /%	峰面积比 /%
1	11.829	152.124	$C_{10}H_{16}O$	樟脑	98	0.657
2	12.204	154.249	$C_{10}H_{18}O$	异龙脑	96	0.544
3	13.165	154.249	$C_{10}H_{18}O$	α -松油醇	83	0.327
4	17.070	204.188	$C_{15}H_{24}$	δ -榄香烯	98	0.615
5	18.496	204.188	$C_{15}H_{24}$	β -榄香烯	93	8.596
6	19.206	204.188	$C_{15}H_{24}$	β -石竹烯	99	0.651
7	19.533	204.188	$C_{15}H_{24}$	香叶烯 B	95	0.440
8	20.060	204.188	$C_{15}H_{24}$	大根香叶烯 D	96	0.422
9	20.871	204.188	$C_{15}H_{24}$	β -桉叶烷	99	0.773
10	21.131	216.151	$C_{15}H_{20}O$	莪术烯	98	19.272
11	22.563	204.188	$C_{15}H_{24}$	α -榄香烯	91	1.093
12	23.194	220.183	$C_{15}H_{24}O$	氧化石竹烯	87	0.761
13	23.455	164.157	$C_9H_{12}O_2$	(1E,3 $\alpha\alpha$)-1-ethylideneoctahydro-7 $\alpha\beta$ -methyl-1H-indene	91	0.958
14	23.663	218.167	$C_{15}H_{22}O$	β -榄烯酮	97	1.257
15	23.800	138.104	$C_9H_{14}O$	1-醛-3,4-二甲基-3-环己烯	80	0.390
16	24.244	220.183	$C_{15}H_{24}O$	桉油烯醇	58	0.796
17	24.302	222.198	$C_{15}H_{26}O$	(+)-G-桉叶醇	99	0.437
18	24.733	222.198	$C_{15}H_{26}O$	β -桉叶醇	99	1.094
19	24.828	204.188	$C_{15}H_{24}$	β -桉叶烯	86	0.689
20	24.928	122.073	$C_8H_{10}O$	2,5-二甲基苯酚	42	0.197
21	25.511	108.094	C_8H_{12}	3-亚乙基-1-甲基-1-环戊烯	53	0.801
22	25.734	218.167	$C_{15}H_{20}O$	吉马酮	91	12.958
23	26.215	236.178	$C_{15}H_{24}O_2$	莪术二酮	91	24.139
24	26.960	236.178	$C_{15}H_{24}O_2$	新莪术二酮	95	2.643
25	27.229	174.141	$C_{13}H_{18}$	1,2,3,4-tetrahydro-1,5,7-trimethylnaphthalene	50	0.698
26	28.416	218.167	$C_{15}H_{22}O$	圆柚酮	53	1.488
27	28.839	124.125	C_9H_{16}	5-甲基-3-辛炔	47	2.008
28	29.424	122.073	$C_8H_{10}O$	对甲基苯甲酚	60	0.332
29	29.512	204.188	$C_{15}H_{24}$	γ -榄香烯	64	1.647

表 2 药渣残油化学成分及其相对含量

Table 2 Chemical constituents of dregs residual oil and its relative content

No.	t_R /min	相对分子质量	分子式	化合物	相似度/%	峰面积比/%
1	11.832	152.120	$C_{10}H_{16}O$	樟脑	98	0.072
2	12.201	154.136	$C_{10}H_{18}O$	异龙脑	95	0.167
3	13.164	154.136	$C_{10}H_{18}O$	α -松油醇	83	0.158
4	17.068	204.188	$C_{15}H_{24}$	δ -榄香烯	96	0.135
5	18.493	204.188	$C_{15}H_{24}$	β -榄香烯	93	1.627
6	19.206	204.188	$C_{15}H_{24}$	β -石竹烯	99	0.271
7	19.531	204.188	$C_{15}H_{24}$	香叶烯 B	97	0.157
8	20.059	204.188	$C_{15}H_{24}$	α -石竹烯	97	0.147
9	20.737	204.188	$C_{15}H_{24}$	大根香叶烯 D	98	0.341
10	20.869	204.188	$C_{15}H_{24}$	β -桉叶烷	99	0.246
11	21.146	216.151	$C_{15}H_{20}O$	莜术烯	99	13.945
12	21.732	204.188	$C_{15}H_{24}$	杜松烯	97	0.200
13	21.891	204.188	$C_{15}H_{24}$	β -愈创木烯	96	0.107
14	22.388	222.198	$C_{15}H_{26}O$	α -榄香油醇	76	0.249
15	22.561	204.188	$C_{15}H_{24}$	α -榄香烯	92	1.018
16	23.278	204.188	$C_{15}H_{24}$	异喇叭烯	86	0.494
17	23.453	164.157	$C_9H_{12}O_2$	(1 <i>E</i> ,3 <i>a</i> α)-1-ethylideneoctahydro-7 <i>a</i> β -methyl-1 <i>H</i> -indene	56	0.852
18	23.662	150.104	$C_{10}H_{14}O$	1-(6,6-dimethylbicyclo[3.1.0]hex-2-en-3-yl)-ethanone	62	1.314
19	23.795	216.151	$C_{15}H_{20}O$	6-乙基-4,5,6,7,-四氢化-3,6-二甲基-5-异丙烯基-苯并呋喃	94	0.383
20	24.304	222.198	$C_{15}H_{26}O$	(+)- <i>G</i> -桉叶油醇	97	0.856
21	24.738	222.198	$C_{15}H_{26}O$	β -桉叶醇	99	2.178
22	24.838	204.188	$C_{15}H_{24}$	(+)-sativene	53	1.978
23	25.131	236.152		3-[1-methyl-5-(4-morpholyl)-3-pentynoxy]-propanenitrile	91	0.785
24	25.585	236.178	$C_{15}H_{24}O_2$	(-)-neocardione	86	1.412
25	25.762	190.136	$C_{13}H_{18}O$	吉马酮	91	11.646
26	26.261	236.178	$C_{15}H_{24}O_2$	莜术二酮	99	24.958
27	26.973	236.178	$C_{15}H_{24}O_2$	新莜术二酮	94	3.537
28	27.140	138.068	$C_8H_{10}O_2$	2,3-二甲基氢醌	50	0.978
29	28.439	218.167	$C_{15}H_{22}O$	圆柚酮	55	0.187
30	30.279	204.188	$C_{15}H_{24}$	γ -榄香烯	83	0.257
31	32.230	210.104	$C_{15}H_{14}O$	4-甲氧基二苯乙烯	70	0.174

2.5 莜术油及药渣残油抗菌活性检测结果分析

莜术油及药渣残油抗菌活性结果表明,总体上药渣残油抗菌活性比莜术油的抗菌活性强;莜术油对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌有较好的活性,对白色葡萄球菌,蜡状芽孢杆菌和四联球菌有中等强度的活性;药渣残油对四联球菌,大肠埃希菌和金黄色葡

萄球菌有较好的活性,对藤黄八叠球菌和枯草芽孢杆菌有中等强度的活性,结果见表 3。造成莜术油及药渣残油抗菌活性不同的原因主要是由于各成分的含量不同,还有可能是一些没有被鉴定出来的活性相对较好的成分在这两种油中所占的比例不一样所造成,有待于进一步的研究。

表 3 莪术油和药渣残油抑菌活性

Table 3 Antimicrobial activity of Zedoary Turmeric oil and dreg residual oil

mg·L⁻¹

样品	MIC						
	白色葡萄球菌	大肠埃希菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	蜡状芽孢杆菌	四联球菌	藤黄八叠球菌
莪术油	101.9	50.9	50.9	407.5	101.9	101.9	203.9
药渣残油	177.5	44.4	44.4	88.8	44.4	44.4	88.8
环丙沙星	0.6	0.3	0.16	0.6	0.6	0.3	0.3

3 结论

本研究采用水蒸气蒸馏法从温莪术和温莪术药渣中提取挥发性成分,经气质联用仪分析并鉴定了温莪术油中的 29 个成分,药渣残油中的 31 个成分。两者间没有明显的差异。

药渣残油的抗菌活性总体上要比莪术油的活性好,莪术油对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌有较好的活性,药渣残油对四联球菌,大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有较好的活性。各成分的含量不同造成了它们的抗菌活性强弱不同。

首次对温莪术药渣进行残油提取,与莪术油进行成分和抗菌实验比较,为温莪术药渣的综合利用提供科学依据。

[参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 下册[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1998.

[2] 李勇, 林爱花. 莪术油的最新研究进展[J]. 中国实用医药, 2012, 7(5):243-244.

[3] 廖华军. 莪术-三棱药对配伍挥发油成分 GC-MS 分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(8):74-78.

[4] Hu J J, An Y W, Hu G, et al. Simultaneous determination of multiple sesquiterpenes in *Curcuma wenyujin* herbal medicines and related products with one single reference standard Chinese Traditional Patent Medicine[J]. *Molecules*, 2013, 18(2):2110-2121.

[5] 宋爱莉, 殷玉琨. 莪术油干预治疗肿瘤的研究及应用概况[J]. 山东中医药大学学报, 2008, 32(2):172-174.

[6] 陈家源, 钟正贤, 卢文杰, 等. 抗血栓药材醇提取物的筛选研究[J]. 广西医药, 2009, 31(8):1067-1069.

[7] 徐建私, 孙爱华. 莪术油滴眼液体外抗菌和抗病毒作用的药效学研究[J]. 微生物学杂志, 2008, 28(2):77-81.

[8] Pierce C G, Uppuluri P, Tristan A R, et al. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing[J]. *Nat Protoc*, 2008, 3(9):1494-1500.

[9] 李爱群, 胡学军, 邓远辉, 等. 温莪术挥发油的成分[J]. 中草药, 2001, 32(9):782-783.

[10] 罗春兰, 吴爱琴. 不同品种莪术挥发油成分 GC-MS 分析[J]. 广东药学, 2005, 15(2):10-11.

[责任编辑 顾雪竹]