

不同栽培品种、不同加工方法的温莪术挥发油成分及体外抗肿瘤作用的差异探讨

蔡颖¹, 宋坤^{2*}, 徐杰³, 陈建伟², 崔小兵²

(1. 南京市白下区建中中医院, 南京 210004; 2. 南京中医药大学, 南京 210023;
3. 温州市天禾生物科技有限公司, 浙江温州 325608)

[摘要] **目的:**观察不同栽培品种、不同加工方法的温莪术挥发油的化学成分及其对肿瘤细胞的生长抑制作用的差异。**方法:**利用 MTT 法检测同一产地不同栽培品种、不同加工方法的温莪术的挥发油对胃癌肿瘤细胞 MGC-803 增殖的影响,并用 GC-MS 检测出挥发油中各成分的相对含量。**结果:**不同栽培品种、不同加工方法的温莪术挥发油对 MGC-803 的生长抑制作用存在着明显的差异,当温莪术提取的挥发油为高浓度时,组培品种鲜品对 MGC-803 的生长抑制最高,为 20.2%;当药液浓度为低浓度时,普通品种鲜品对 MGC-803 的生长抑制最高为 18.4%。其所含化学成分也差异明显,如 β -水芹烯、双环[3.1.1]庚烷,6,6-二甲基-2-亚甲基(1S)是传统鲜品的特征性成分,环己烷,1-乙烯基-1-甲基-2-(1-甲基乙烯基)-4-(1-甲基亚乙基)为普通鲜品的特征性成分;双环[3.1.0]六角-2-烯,4-甲基-1-(1-甲基乙基)-, β -蒎烯中,为组培鲜品其特征性成分。**结论:**不同栽培品种、不同加工方法对其挥发油类成分在含量和组成上的差异较大,对于抑制胃癌肿瘤细胞的增殖作用上也存在明显差异,以组培品种的鲜品与加工品的挥发油对 MGC-803 的抑制作用最强。

[关键词] 莪术油; MGC-803; MTT 比色法; 气相色谱-质谱联用

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)01-0082-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015010082

Research on Differences of Composition in Volatile Oil and Anti-Tumor Effect *in vitro* within Different Cultivated Species and Different Processing Products of *Curcuma wenyujin* CAI Ying¹, SONG Shen^{2*}, XU Jie³, CHEN Jian-wei², CUI Xiao-bing² (1. *Baixia District Jianzhong Hospital of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanjing 210004, China*; 2. *Nanjing University of TCM, Nanjing 210023, China*; 3. *Wenzhou Tianhe Biological Technology Co. Ltd., Wenzhou 325608, China*)

[Abstract] **Objective:** To observe the differences of composition in volatile oil and anti-tumor effect *in vitro* within the different cultivated species and different processing products of *Curcuma wenyujin*. **Method:** The volatile oil was extracted by steam distillation, identified by GC-MS, then compared the inhibitive effect on cell line MGC-803 *in vitro*. **Result:** Although coming from the same Area, the different cultivated species and different processing products of *C. wenyujin* have obvious different inhibition on the growth of MGC-803 and have significantly when the volatile oil of *C. wenyujin* for high concentration, breed of fresh products inhibiting growth of MGC-803 was the highest was 20.2%. When the volatile oil of *C. wenyujin* for low concentration, common varieties of fresh products inhibiting growth of MGC-803 was the highest was 18.4%. Different chemical compositions in volatile oil. The chemical components are also obvious differences. Such as is *beta*. -phellandrene bicyclo [3.1.1] heptane, 6, 6-dimethyl-2-methylene, (1S) -is a characteristic component of traditional fresh product, cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2- (1-methylethenyl) -4- (1-methylethylidene)- is the characteristics of chemical composition of common fresh product, bicyclo [3.1.0] hex-2-ene, 4-methyl-1- (1-methylethyl), *beta*-pinene is the tissue culture of fresh products for characteristic components. **Conclusion:** Although coming

[收稿日期] 20140304(002)

[第一作者] 蔡颖, 副主任药师, 从事临床药学研究, Tel:025-84464494-8034, E-mail: njcyworld@sina.com

[通讯作者] * 宋坤, 硕士, 副教授, 从事教学科研工作, Tel:025-85811513, E-mail: songseng@yeah.net

from the same origin, the cultivated species and the processing method of *C. wenyujin* have great effects on the content and antitumor activity of the volatile oil. The volatile oil of fresh and processed products breed the strongest inhibitory effect on MGC-803.

[Key words] *Curcuma wenyujin*; volatile oil; anti-tumor; GC-MS.

温莪术主产于浙江瑞安,为著名的“浙八味”之一,主要产地还有四川、福建、广西等地。莪术油是温莪术经蒸气蒸馏得到的挥发油^[1],其主要成分为倍半萜类,含有莪术醇、莪术酮、莪术双酮、 β -谷甾醇等 20 多种化学成分^[2-3]。近年来研究表明,莪术油具有抗肿瘤、抗病毒、抗菌、抗凝血、抗氧化和保肝等作用^[4-7]。莪术油已被制成莪术油软膏、莪术油滴眼液、莪术油葡萄糖注射液等多种剂型用于临床^[5]。温州地区所种植的温莪术均属于温莪术 *Curcuma wenyujin* 一个植物品种,但在产地有传统品种、普通品种、组培品种 3 个品种,其中普通品种是目前广泛使用的,组培品种是新培育的品种,而传统品种目前使用的较少。中药材的栽培品种及加工过程对药材及其提取物的质量有极大影响,为保证莪术油的质量,对温莪术的栽培品种及加工方法进行研究的必要^[8]。

本文先通过 MTT 比色法检测不同栽培品种和不同加工方法的温莪术中提取的挥发油对胃癌肿瘤细胞 MGC-803 的生长抑制作用,结合 GC-MS 测定不同栽培品种、不同加工方法的温莪术挥发油中相关成分的不同含量,为研究莪术油提取使用栽培品种、加工品种的选择提供理论依据。

1 材料

不同栽培品种的温莪术(产地浙江省乐清市垟垟村,品种为传统品种、组培品种、普通品种),均经南京中医药大学药学院陈建伟教授的严格鉴定为姜科植物温郁金 *Curcuma wenyujin* 的干燥块根。

胃癌肿瘤细胞 MGC-803(由南京中医药大学药理教研室提供),SW-CJ 型特净工作台(苏州净化设备厂),3111 型 CO₂ 培养箱(FORMA SCIENTIFIC 公司),IX50 型倒置显微镜(Olympus 公司),680 型酶标仪(美国伯乐),耐思 96 孔细胞培养板,无支原体新生牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司),DMEM 培养基(赛默飞世尔生物化学制品有限公司),青霉素、链霉素(美国 HyClone 公司)。

2 实验方法

2.1 莪术油的提取

2.1.1 加工方法 鲜品温莪术就是用直接从主产地购来的鲜品,晾干,去除霉败品;加工品为当年产

药材加适量清水煮至透心,滤去水液摊放、晾干;加工品经蒸至透心后,切薄片,于 50 °C 下恒温干燥 2 h,粉碎过 40 目筛,成为实验供试品^[10]。

2.1.2 样品供试溶液制备 准确称取各产地鲜品莪术、加工品莪术放入 1 000 mL 圆底烧瓶中,加入水 500 mL,参照 2010 年版《中国药典》一部(附录 X D)挥发油测定甲法进行总挥发油提取,无水硫酸钠脱水干燥,得挥发油。

2.2 细胞及其培养 将肿瘤细胞接种于含 10% 牛血清,100 U·mL⁻¹青、链霉素的 RPMI-1640 培养液中,放入 37 °C,5% CO₂ 培养箱培养,待细胞长满单层后用 0.25% 胰蛋白酶消化传代培养。

2.3 MTT 比色法

2.3.1 药物配置 由于温莪术不同栽培品种和加工品种的药材折干率不同、挥发油提取率不同,为了让实验有比较性,在进行 MTT 实验时按表 1 所示的量称取相当于同质量鲜品药材所提取的不同栽培品种、不同加工方法的莪术油,加入 0.1 mL 二甲基亚砷(DMSO),摇匀作为母液,从母液中取 20 μ L 加入磷酸盐缓冲液(PBS)980 μ L 为药液①,从①中取 500 μ L 加入 PBS 500 μ L 为药液②,从②中取 500 μ L 加入 PBS 500 μ L 为药液③,从③中取 500 μ L 加入 PBS 500 μ L 为药液④。选取上述中②,④作为药液,以 PBS 作为空白对照组。

表 1 MTT 实验中莪术油取样量

品种	加工品	鲜品
组培	0.195 1	0.172 8
普通	0.214 6	0.210 0
普通	0.226 3	0.174 4

注:加工品及鲜品取样量均相当于 16 g 新鲜药材提取。

2.3.2 MTT 种板 参照文献[9]的 MTT 方法,首先用胰酶消化对数期细胞,制成细胞悬液,浓度为 $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 。将制成的细胞悬液加至 96 孔板上,每个孔 90 μ L,然后再按照设定好的方式加入原先配好的梯度浓度的药物,每孔 10 μ L,每个梯度 8 个复孔。在 5.0% CO₂,37 °C 分别孵育 48 h,倒置显微镜下观察药物的作用效果。培养的细胞在 48 h

取出,每孔加入 20 μL MTT 溶液 ($5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 即 0.5% MTT), 轻晃, 放回 5.0% CO_2 , 37 $^\circ\text{C}$ 的培养箱继续培养 4 h。4 h 后, 取出细胞板, 倒去上清液, 再用滤纸吸尽上清液, 以减少结果的损失。然后每孔加入 150 μL DMSO, 置摇床上低速震荡 10 min, 使结晶充分溶解。待充分溶解后在酶联免疫检测仪 490 nm 处测量各孔的吸光度, 记录所得数据。

2.3.3 抑制率 (IR) 和 t 检验 在波长 490 nm, 测定 DMSO 溶解后的吸光度 (A)。运用 SPSS 软件, 按下式计算药物对肿瘤细胞生长的抑制率^[10]: 肿瘤细胞生长抑制率 = $[1 - A_{490(\text{实验组})} / A_{490(\text{对照组})}] \times 100\%$ 。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间均数差异以 SPSS 统计软件进行 t 检验^[10]。

2.4 GC-MS 分析 HP-5MS 色谱柱 (0.25 mm \times 30 m, 0.25 μm), 载气为氦气, 电离方式 EI, 离子源温度 200 $^\circ\text{C}$, 电子能量 70 eV, 接口温度 250 $^\circ\text{C}$, 发射电流 150 μA , 质量范围 m/z 35 ~ 455, 扫描周期 0.4 s。数据处理系统 Xcalibur1.2, 图谱库 NISTVersion 1.7。程序升温 (起始温度 60 $^\circ\text{C}$, 保持 1 min; 然后以 4 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 100 $^\circ\text{C}$, 再以 2 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 120 $^\circ\text{C}$ 后, 以 1 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 180 $^\circ\text{C}$, 最后以 23 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 230 $^\circ\text{C}$, 保持 10 min), 柱压 53 kPa, 流量 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 进样量 0.2 μL , 分流比 20:1。

3 结果与分析

3.1 MTT 试验 抑制率和 t 检验 用 MTT 法检测不同栽培品种、不同加工品温莪术提取的挥发油对于胃癌肿瘤细胞 MGC-803 的生长抑制作用在不同给药浓度和作用时间下产生的抑制作用。实验测得各条件下的抑制率见表 2。

由表 2 可知, 在不同的梯度浓度和不同的作用时间下 3 种不同栽培品种及不同加工品对于 MGC-

表 2 不同栽培品种、不同加工品温莪术挥发油的 MTT

Table 2 Different cultivars and different processed products of volatile oil of curcuma wenyujin MTT results

组别	莪术挥发油浓度 / $\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$	抑制率/%
组培品种加工品	6.611	17.9
	1.653	8.1
组培品种鲜品	6.334	20.2
	1.584	9.6
普通品种加工品	6.820	17.7
	1.705	12.8
普通品种鲜品	6.774	19.9
	1.695	18.4
传统品种加工品	6.935	9.5
	1.734	8.1
传统品种鲜品	6.356	15.8
	1.589	9.7

803 细胞的生长抑制作用存在一定的差异; 当药液为高浓度时, 3 个栽培品种温莪术的加工品、鲜品中均以组培品种的抑制率为最高, 鲜品中也以组培品为最高; 当药液浓度为低浓度时, 3 个品种温莪术的加工品、鲜品中均以普通品种为最高, 3 个栽培品种的鲜品的抑制作用均优于加工品; 当药液浓度为高浓度和低浓度时, 鲜品与加工品对 MGC-803 的生长抑制作用均存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

3.2 GC-MS 试验 按上述条件对温莪术 3 种不同栽培品种和不同加工品的挥发油的 GC-MS 结果进行分析比较。经计算机对 NIST05 图谱库进行检索, 并与标准图谱对照, 结合人工谱图解析, 确认挥发油中主要成分, 用面积归一化法测得各成分的质量分数, 结果见表 3。

表 3 不同栽培品种、不同加工品温莪术的挥发油 GC-MS 分析

Table 3 GC-MS of volatile oil of different cultivars and different processed products of Rhizoma Curcumae analysis result

No.	t_R	中文名	英文名	传统		普通		组培	
				鲜品	加工品	鲜品	加工品	鲜品	加工品
1	8.531	2-庚醇	2-heptanol	0.045				0.059	
2	9.793	双环[3.1.0]六角-2-烯, 2-甲基-5-(1-甲基乙基)-	bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-						
3	10.12	1S- α -蒎烯	1S- α -pinene	0.101				0.184	
4	10.795	蒎烷	camphene	0.295	0.027			0.324	
5	11.895	β -水芹烯	β -phellandrene	0.065					
6	11.896	双环[3.1.0]六角-2-烯, 4-甲基-1-(1-甲基乙基)-	bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-					0.103	

续表 3

No.	t_R	中文名	英文名	传统	传统	普通	普通	组培	组培
				鲜品	加工品	鲜品	加工品	鲜品	加工品
				/%	/%	/%	/%	/%	/%
7	12.069	双环[3.1.1]庚烷,6,6-二甲基-2-亚甲基(1S)-	bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-(1S)-	0.054					
8	12.069	β -蒎烯	β -pinene					0.116	
9	12.645	β -月桂烯	β -myrcene	0.062				0.113	
10	14.506	D-柠檬烯	D-limonene	0.215	0.046				0.047
11	14.645	桉叶醇/桉树脑	eucalyptol	3.781	0.791	1.431	0.858	6.558	0.927
12	15.497	1,3,6-辛三烯,3,7-二甲基(Z)-	1,3,6-octatriene, 3,7-dimethyl-(Z)-	0.019					
13	16.163	1,4-环己二烯 1-甲基-4-(1-甲基乙基)-	1,4-cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	0.020					
14	18.821	1,6-辛二烯-3-醇,3,7-二甲基	1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-		0.298	0.439	0.274	0.635	0.330
15	22.716	双环[2.2.1]庚-2-酮,1,7,7-三甲基-(1R)-	bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-(1R)-	1.612	0.624	0.836	0.572	2.104	0.815
16	23.961	异龙脑	isoborneol	0.763	0.386				
17	23.985	冰片	borneol	11.60		0.440	0.360	0.930	0.544
18	24.882	双环[2.2.1]庚-2-醇,1,7,7-三甲基-(1S-endo)-	bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-(1S-endo)-	0.206	0.098				
19	26.068	3-环己烯-1-醇,4-甲基-1-(1-甲基乙基)-(R)-	3-cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-(R)-	0.157	0.068			0.304	0.149
20	27.413	p-menth-1-en-8-ol	p-menth-1-en-8-ol	0.360					
21	27.434	3-环己烯-1-甲醇, α 4-三甲基	3-cyclohexene-1-methanol, α 4-trimethyl-		0.168		0.167	0.647	0.380
22	34.414	异龙脑酯醋酸	isobornyl acetate	0.061	0.041			0.082	0.067
23	34.766	2-十一酮	2-undecanone	0.021					
24	35.185	2-十二醇	2-dodecanol	0.027					
25	37.17	环己烯,4-乙炔基-4-甲基-3-(1-甲基乙炔基)-1-(1-甲基乙基)-(3R-反式)-	cyclohexene, 4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1-methylethyl)-(3R-trans)-					0.426	
26	37.171	双环[4.1.0]庚-2-烯,3,7,7-三甲基	bicyclo[4.1.0]hept-2-ene, 3,7,7-trimethyl-		0.021				
27	37.323	环己烯,4-乙炔基-4-甲基-3-(1-甲基乙炔基)-1-(1-甲基乙基)-(3R-反式)	cyclohexene, 4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1-methylethyl)-(3R-trans)-	0.347	0.814	0.356	0.957		1.086
28	40.28	环己烷,1-乙炔基-1-甲基-2,4-二(1-甲基乙炔基)-[1S-(1 α ,2 β ,4 β)]-	cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-[1S-(1 α ,2 β ,4 β)]-	0.058	0.122		0.148	1.886	0.165
29	40.798	环己烷,1-乙炔基-1-甲基-2,4-二(1-甲基乙炔基)-	cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-	1.832	3.812	2.201	4.482		4.386
30	42.589	丁香油烯/石竹烯	caryophyllene	0.230	0.478	0.374	0.551	0.226	0.568
31	43.536	γ -榄香烯	γ -elemene	0.154	0.301		0.394	0.128	0.394

续表 3

No.	t_R	中文名	英文名	传统	传统	普通	普通	组培	组培
				鲜品	加工品	鲜品	加工品	鲜品	加工品
				/%	/%	/%	/%	/%	/%
32	44.639	萸, 1, 2, 3, 31, 4, 5, 6, 7-八氢-1, 4-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)-, [1R-(1 \dot{a} , 3a \acute{a} , 4 \grave{a} , 7 \acute{a})]-	azulene, 1, 2, 3, 3a, 4, 5, 6, 7-octahydro-1, 4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1 \dot{a} , 3a \acute{a} , 4 \grave{a} , 7 \acute{a})]-				0.176		0.198
33	44.625	1H-cycloprop [E] 萸, 十氢-1, 1, 7-甲基-4-亚甲基 [1aR (1 α , 4 α , 7 α , 7a β , 7b α)]	1H-cycloprop [E] azulene, decahydro-1, 1, 7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(1 α , 4 α , 7 α , 7a β , 7b α)]	0.067	0.159				
34	44.976	\dot{a} -石竹烯	\dot{a} -caryophyllene			0.336	0.541	0.188	0.477
35	44.978	1, 4, 7, cycloundecatriene, 1, 5, 9, 9-四甲基, Z, Z, Z	1, 4, 7, -cycloundecatriene, 1, 5, 9, 9-tetramethyl-, Z, Z, Z	0.267	0.519				
36	46.597	萘, 十氢-4a-甲基-1-甲基-7-(1-甲基亚乙基)-(4aR 反式)-	naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethylidene)-(4aR-trans)-		0.080				
37	46.62	2-丙烯-4a, 8 二甲基-1, 8-1, 2, 3, 4, 4a-4, 5, 6, 7-octahydronaphthalene	2-isopropenyl-4a, 8-dimethyl-1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 7-octahydronaphthalene						0.117
38	47.011	1H-环戊并[1, 3] cyclopropa[1, 2] 苯, 八氢-7-甲基-3-甲基-4-(1-甲基乙基)-[3aS (3a \grave{a} , 3b \acute{a} , 4 \acute{a} , 7 \grave{a} , 7aS*)-]	1H-cyclopenta [1, 3] cyclopropa [1, 2] benzene, octahydro-7-methyl-3-methylene-4-(1-methylethyl)-, [3aS-(3a \grave{a} , 3b \acute{a} , 4 \acute{a} , 7 \grave{a} , 7aS*)-]			1.056	2.314	1.008	2.611
39	47.033	1, 6-cyclodecadiene, 1-甲基-5-甲基-8-(1-甲基乙基)-[S-(戊, 戊类)]-	1, 6-cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [S-(E, E)]-	0.958	2.099				
40	47.422	eudesma-4(14), 11-二烯	eudesma-4(14), 11-diene					0.121	
41	47.404	萘, 十氢-4a-甲基-1-甲基-7-(1-甲基乙基)-[4aR (4 α , 7 α , 8a β)]	naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-[4aR-(4 α , 7 α , 8a β)]	0.241		0.243			0.326
42	47.406	萘, 1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 8a-八氢-4a, 8-二甲基-2-(1-甲基乙基)-, [2R-(2 α , 4a. α , 8a β)]-	naphthalene, 1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 8a-octahydro-4a, 8-dimethyl-2-(1-methylethenyl)-, [2R-(2 α , 4a α , 8a β)]-	0.105					
43	48.103	二甲基呋喃, 6-乙基-4, 4, 5, 6, 7-四氢-3, 6-5-丙烯, 反式	benzofuran, 6-ethenyl-4, 5, 6, 7-tetrahydro-3, 6-5-dimethyl-isopropenyl-, trans-	11.842	17.786	14.363	20.798	11.966	19.563
44	48.917	环己烷, 1-乙基-1-二甲基-2, 4-二(1-甲基乙基)-	cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2, 4-bis(1-methylethenyl)-	0.339					
45	48.996	8 丙烯-1, 5-二甲基-cyclodeca-1, 5-二烯	8-isopropenyl-1, 5-dimethyl-cyclodeca-1, 5-diene	0.556		0.480			
46	49.178	萸, 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 8-八氢-1, 4-二甲基-7-(1-甲基乙基)-[1S-(1 \dot{a} , 7 \grave{a} , 8a \acute{a})]-	azulene, 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 8a-octahydro-1, 4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1 \dot{a} , 7 \grave{a} , 8a \acute{a})]-						0.679

续表 3

No.	t_R	中文名	英文名	传统	传统	普通	普通	组培	组培
				鲜品	加工品	鲜品	加工品	鲜品	加工品
				/%	/%	/%	/%	/%	/%
47	49.211	1H-Cycloprop [E] 萹, 1a, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 7 b-八氢-1, 1, 4, 7-四甲基 [1aR(1a α , 4a α , 4a β , 7b α)]-	1H-cycloprop [E] azulene, 1a, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 7b-octahydro-1, 1, 4, 7-tetramethyl-, [1aR-(1a α , 4a α , 4a β , 7b α)]-		0.315				
48	49.221	α -guaiene	$\acute{\alpha}$ -guaiene				0.356	0.156	0.328
49	50.315	萘, 1, 2, 3, 5, 6, 8, 六氢-4, 7-二甲基-1-(1-甲基乙基)-(1S-顺)-	naphthalene, 1, 2, 3, 5, 6, 8a-hexahydro-4, 7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	0.257					
50	50.709	1H-cycloprop [E] 萹, 1a, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 7 b-八氢-1, 1, 4, 7-四甲基 [1aR(1a α , 4a α , 4a β , 7b α)]-	1H-cycloprop [E] azulene, 1a, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 7b-octahydro-1, 1, 4, 7-tetramethyl-, [1aR-(1a α , 4a α , 4a β , 7b α)]-	0.479					
51	50.69	二甲基呋喃, 乙烯基-6-4-4, 5, 6, 7-四氢-3, 6-5-丙烯, 反	benzofuran, 6-ethenyl-4, 5, 6, 7-tetrahydro-3, 6-dimethyl-5-isopropenyl-, trans-	0.266	0.112				
52	50.724	萘, 1, 2, 3, 4, 4 a, 5, 6, 8 A-八氢-4a-1, 8-二甲基-2-(1-甲基亚乙基)-(4aR 反式)-	naphthalene, 1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 8a-octahydro-4a, 8-dimethyl-2-(1-methylethylidene)-, (4aR-trans)-			0.404		0.485	
53	52.959	γ -榄香烯	γ -elemene	1.506	2.802		2.647	1.238	3.100
54	52.968	环己烷, 1-乙烯基-1-甲基-2-(1-甲基乙基)-4-(1-甲基亚乙基)-	cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-			1.465			
55	55.444	$\acute{\alpha}$ -guaiene	$\acute{\alpha}$ -guaiene				0.394	0.341	0.436
56	56.887	3, 7-cyclodecadien-1, 3, 7-二甲基-10-(1-甲基亚乙基)-, (戊, 戊类)-	3, 7-cyclodecadien-1-one, 3, 7-dimethyl-10-(1-methylethylidene)-, (E, E)-			0.579	0.774	0.724	0.819
57	60.76	2-naphthalenemethanol 的, 十氢- $\acute{\alpha}$, $\acute{\alpha}$, 4a-甲基-8-亚甲基, [2R-(2 $\acute{\alpha}$, 4a $\acute{\alpha}$, 8a $\acute{\alpha}$)]-	2-naphthalenemethanol, decahydro- $\acute{\alpha}$, $\acute{\alpha}$, 4a-trimethyl-8-methylene-, [2R-(2 $\acute{\alpha}$, 4a $\acute{\alpha}$, 8a $\acute{\alpha}$)]-			0.672	0.764	0.698	
58	60.823	1H-茛, 1 ethylideneoctahydro 的-7a-甲基, 顺	1H-indene, 1-ethylideneoctahydro-7a-methyl-, cis-	0.790					
59	65.073	3, 7-cyclodecadien-1-酮, 3, 7-二甲基-10-(1-甲基亚乙基)-, (戊, 戊类)-	3, 7-cyclodecadien-1-one, 3, 7-dimethyl-10-(1-methylethylidene)-, (E, E)-	15.831	9.648	11.707	15.270	14.696	8.540
60	67.367	新莪术酮	neocurdione	4.430	22.991				
61	67.035	6, 10-二甲基-3-(1-甲基乙基)-6-cyclodecene-1, 4-二酮	6, 10-dimethyl-3-(1-methylethyl)-6-cyclodecene-1, 4-dione		3.396	34.706	24.884	28.607	19.200
62	70.52	ledene 氧化物 (二)	ledene oxide-(II)			1.273	0.986	0.973	0.914
63	73.862	lanceol, 顺	lanceol, cis				0.249		0.236
64	74.262	丁烷, 四(1-甲基亚乙基)-	cyclobutane, tetrakis (1-methylethylidene)-					0.275	

4 结果与讨论

由上述各数据表可知, 不同栽培品种的加工品

和鲜品的抑制率存在显著差异; 3 种栽培品种的加工品和鲜品中所含化学成分也存在明显差异:

如表2,经GC-MS分析鉴定出64个成分,以鲜品为例,传统鲜品的温莪术挥发油35个;普通鲜品的温莪术挥发油16个;组培鲜品的温莪术挥发油30个。上述鉴定的64个成分中,3个不同栽培品种共有成分6个;传统鲜品和普通鲜品共有成分8个;传统鲜品和组培鲜品中共有成分15个;普通鲜品和组培鲜品共有成分14个。传统鲜品中含量比较高的成分有冰片(11.600%),二甲基呋喃,乙炔基-6-4-4,5,6,7-四氢-3,6-5-丙烯,反(11.842%),3,7-cyclodecadien-1,3,7-二甲基-10-(1-甲基亚乙基)-, (戊,戊类)-(15.831%)等;普通鲜品中含量比较高的成分有二甲基呋喃,乙炔基-6-4-4,5,6,7-四氢-3,6-5-丙烯,反(14.363%), (E,E)-3,7-cyclodecadien-1,3,7-二甲基-10-(1-甲基亚乙基)-(11.707%),6,10-二甲基-3-(1-甲基乙基)-6-cyclodecene-1,4-二酮(34.706%)等;组培鲜品中含量比较高的成分有二甲基呋喃,乙炔基-6-4-4,5,6,7-四氢-3,6-5-丙烯,反(11.966%),3,7-cyclodecadien-1, (E,E)3,7-二甲基-10-(1-甲基亚乙基)-(14.696%),6,10-二甲基-3-(1-甲基乙基)-6-cyclodecene-1,4-二酮(28.607%)等。本文选取相对百分含量达1%的主要挥发性成分,重点比较3种不同栽培品种鲜品挥发油中共有的桉叶醇/桉树脑、双环[2.2.1]庚-2-,1,7,7-三甲基-(1R)-、冰片、二甲基呋喃,乙炔基-6-4-4,5,6,7-四氢-3,6-5-丙烯,反、(E,E)3,7-cyclodecadien-1,3,7-二甲基-10-(1-甲基亚乙基)-等5个成分,虽为共有成分,但各成分在不同栽培品种中的含量差异还是比较悬殊,如桉叶醇/桉树脑在组培鲜品中含量为6.558%,而在传统鲜品和普通鲜品中含量分别为3.781%和1.431%;冰片在传统鲜品中含量达10%以上,而在普通鲜品和组培鲜品中含量中有0.440%和0.930%。除上述共有性成分和两两共有成分以外,也存在各自的特征性,如 β -水芹烯、双环[3.1.1]庚烷,6,6-二甲基-2-亚甲基(1S)-只存在传统鲜品中,而在普通鲜品和组培鲜品中未检测到,所以是传统鲜品的特征性成分;环己烷,1-乙炔基-1-甲基-2-(1-甲基乙炔基)-4-(1-甲基亚乙基)-只存在普通鲜品中,所以为普通鲜品的特

征性成分;双环[3.1.0]六角-2-烯,4-甲基-1-(1-甲基乙基)- β -蒎烯只存在组培鲜品中,为其特征性成分。从体外抗肿瘤实验的结果看:组培品种的鲜品与加工品的挥发油对MGC-803的抑制作用最强,这与其含有的成分之间的关系需要进一步阐明。综合化学与药效实验,组培品种的温莪术品质最好,普通品种次之,传统品种最次。这一结果可为温莪术种植前的选种提供理论依据。

[参考文献]

[1] 向春燕. 莪术油及其制剂药理研究及临床应用进展[J]. 湖南中医药导报, 2004, 10(8): 48-49.

[2] 王浴生, 邓文龙, 薛春生. 中药药理与应用[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 895.

[3] 丁玉玲, 徐爱秀. 莪术油及其有效组分抗肿瘤研究[J]. 中药材, 2005, 28(2): 152-156.

[4] 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.

[5] 李宝红, 梁念慈. 莪术油制剂的临床应用及实验研究进展[J]. 中药材, 2003, 26(1): 68-71.

[6] Zhang L, Zhang Y C, Zhang L Y, et al. Lupeol, a dietary triterpene, inhibited growth, and induced apoptosis through down-regulation of DR3 in SMMC7721 cells[J]. Cancer Invest, 2009, 27(2): 163-170.

[7] Ming Y L, Song G, Chen L H, et al. Anti-proliferation and apoptosis induced by a novel intestinal metabolite of ginseng saponin in human hepatocellular carcinoma cells[J]. Cell Bio Int, 2007, 31(10): 1265-1273.

[8] 成晓静, 刘华钢, 赖茂祥. 莪术的化学及药理作用研究概况[J]. 广西中医学院学报, 2007, 10(1): 7982.

[9] Gomez L A, Alekseev A E, Aleksandrova L A, et al. Use of the MTT assay in adult ventricular cardiomyocytes to assess viability: effects of adenosine and potassium on cellular survival[J]. J Mol Cell Cardiol, 1997, 29(4): 1255-1266.

[10] 梁洁, 甄汉深, 王新盛, 等. 美味猕猴桃根中三萜类化合物的体外抗肿瘤实验研究[J]. 中药材, 2009, 32(6): 959-962.

[责任编辑 顾雪竹]