

大头陈挥发油的化学成分分析及其抗菌活性

黄燕, 吴怀恩, 韦志英, 肖艳芬, 余晓玲
(广西中医学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 研究壮药大头陈挥发油的主要化学成分及其抗菌活性。方法: 采用水蒸气蒸馏法提取大头陈挥发油, 通过 GC-MS 技术对其进行分析, 面积归一化法测定计算各成分的质量分数; 并采用连续稀释法对大头陈挥发油进行最低抑菌浓度 (MIC)、最低杀菌浓度 (MBC) 的实验研究。结果: 水蒸气蒸馏法提取的挥发油共鉴定出 57 种成分, 占挥发油总成分的 92.19%, 其中主要含雪松醇 (26.02%)、柠檬烯 (13.46%)。大头陈挥发油在体外对金黄色葡萄球菌、金黄色葡萄球菌耐药株等均有一定的抗菌作用。结论: 实验结果可为大头陈的药效物质研究提供科学依据。

[关键词] 大头陈; 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(2011)12-0079-04

Chemical Constituents and Anti-bacterial Activity of Essential Oil from *Adenosma indianum*

HUANG Yan, WU Huai-en, WEI Zhi-ying, XIAO Yan-fen, YU Xiao-ling
(Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents and antibacterial activity of essential oil from *Adenosma indianum*. **Method:** The essential oils were extracted from *Adenosma indianum* by steam distillation. The amount of the constituents from the essential oil was determined by normalization method, and the constituents separated were identified by GC-MS. The antibacterial tests of MIC and MBC for the essential oil were studied by using tubes serial dilution method. **Result:** There were 57 constituents from *Adenosma indianum* by SD that composed of about 92.19% of the total essential oil were separated and identified. It mainly contained cedrol (26.02%) and limonene (13.46%). The essential oil showed some antibacterial effect to staphylococcus aureus and drug-resistant strains of staphylococcus aureus, etc. **Conclusion:** It can provide scientific basis for the effective substances of *A. indianum*.

[Key words] *Adenosma indianum*; essential oil; chemical constituents; antibacterial activity

大头陈为玄参科毛麝香属植物球花毛麝香 *Adenosma indianum* (Lour.) Merr. 的带花全草, 又名千锤草、乌头风、地松茶、土夏枯草, 主产于广东、广西、云南等地, 味辛、微苦, 性平, 具有疏风解表、化湿消滞、宣表和中之功效, 可用于治疗感冒头痛、发热、腹痛泄泻、消化不良等症^[1-2]。大头陈作为广西民间

常用中草药, 已收载入《中国壮药学》^[3]。本品以叶多、带花、香气浓者为佳, 文献报道^[4]也提示挥发油是其主要的药效成分。笔者采用水蒸气蒸馏法提取了广西产大头陈挥发油, 用气相色谱-质谱联用技术鉴定其中的化学成分, 并采用连续稀释法对大头陈挥发油进行最低抑菌浓度 (MIC)、最低杀菌浓度 (MBC) 的实验研究。

1 材料与方法

1.1 材料 大头陈于 2008 年 7 月购于南宁市国医药店, 经广西中医学院药用植物教研室刘寿养教授鉴定为玄参科植物球花毛麝香 *A. indianum* 的带

[收稿日期] 20101021(004)

[第一作者] 黄燕, 大学专科, 实验师, 从事中草药的抗菌及其对免疫功能影响的研究, Tel: 13707713331, E-mail: huangyan_5555@126.com

花全草。

1.2 仪器 Agilent 6890/5973 气相-质谱联用仪(美国安捷伦科技公司, HP-5MS 毛细管柱(0.25 $\mu\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$), METTLER AE100 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司), LG16-W 高速微量离心机(北京医用离心机厂), 无菌净化工作台(苏净集团苏州安泰空气技术有限公司), 电热恒温培养箱(上海医疗器械七厂), 压力蒸汽灭菌器(上海医用核子仪器厂), 电热蒸馏水器(北京市医疗设备厂), 电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械厂)。

1.3 菌种与培养基 金黄色葡萄球菌(ATCC26003)、金黄色葡萄球菌耐药株、大肠杆菌(ATCC44102)、绿脓杆菌(ATCC10104)、宋内氏痢疾杆菌(购自中国药品生物制品检定所); 水解酪蛋白(Mueller-Hinton, MH)肉汤(北京陆桥商检新技术公司, 批号 20080130)、营养肉汤(国药集团化学试剂有限公司, 批号 20080506)、营养琼脂(国药集团化学试剂有限公司, 批号 20080129)。

1.4 挥发油的提取 将大头陈粉碎, 过 40 目筛。称取 100 g 按《中国药典》2005 年版一部附录 XD 甲法^[5]提取挥发油, 经无水硫酸钠干燥后得到具有特殊浓郁香味的黄色透明油状液体, 得率 0.50%。

1.5 挥发油成分分析条件 气相色谱条件: 柱温 70 $^{\circ}\text{C}$ (保持 3 min), 以 3 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 95 $^{\circ}\text{C}$ (保持 4 min), 以 8 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 120 $^{\circ}\text{C}$ (保持 3 min), 以 2 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 130 $^{\circ}\text{C}$ (保持 15 min), 以 2 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 150 $^{\circ}\text{C}$ (保持 5 min), 再以 15 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 230 $^{\circ}\text{C}$, 保持至分析完成。气化室温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 载气为高纯 He(99.99%), 载气流量 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量 0.2 μL , 分流比 50:1。

质谱条件: 离子源为 EI 源; 离子源温度为 230 $^{\circ}\text{C}$; 四极杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$, 电子能量 70 eV; 加速电压 1 247 V; 接口温度 280 $^{\circ}\text{C}$; 质量扫描范围为 45 ~ 550 amu。

1.6 抗菌活性的测定^[5] 将大头陈挥发油用灭菌吐温-80 按 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 的比例稀释, 制成无菌样品。分别在不同浓度的样品溶液中加入 $10^6 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的细菌工作液, 各浓度分别留一管样品溶液不加细菌作为阴性对照管。另加肉汤培养基和细菌工作液于同一试管中作为阳性对照管。将上述样品管和对照管置于 35 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱内培养 18 h, 测定药物的最低抑菌浓度(MIC)。

分别取药物 MIC 以上未见细菌生长的各管培养物, 移种至不含药的营养琼脂平皿上, 置 35 $^{\circ}\text{C}$ 培养过夜, 将计数少于 5 个菌落者的浓度作为药物的最低杀菌浓度(MBC)。

2 结果

2.1 GC-MS 分析结果 通过 HP6890/5973(N) 化学工作站 Wiley275, NIST02.L, NIST98.L 标准质谱图库检索, 结合保留时间鉴定各组分峰, 并对色谱峰用面积归一法计算, 求取各组分的百分含量(图 1, 表 1)。

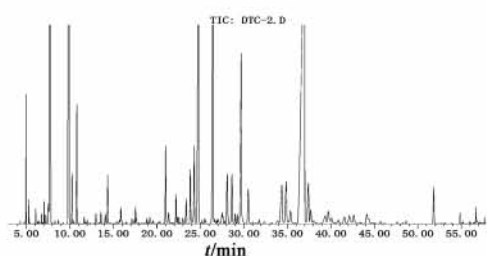


图 1 大头陈挥发油总离子流

表 1 大头陈挥发油的化学成分分析

t/min	化合物	分子式	相对分子质量	质量分数/%
4.96	1S- α -蒎烯 1S- α -pinene	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	0.98
5.29	7,7-二甲基-2-亚甲基二环[2.2.1]庚烷 7,7-dimethyl-2-methylene-bicyclo[2.2.1]heptane	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	0.20
7.05	3-蒎烯 3-carene	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	0.22
7.54	1-甲基-2-(1-甲基)-苯 1-methyl-2-(1-methylethyl)-benzene	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	134	0.34
7.77	柠檬烯 limonene	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	13.46
7.80	桉油精 eucalyptol	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	154	0.49
9.91	1,3,3-三甲基二环[2.2.1]-2-庚酮 1,3,3-trimethyl-bicyclo[2.2.1]heptan-2-one	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	152	11.70
10.25	3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇 3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	154	0.53
10.80	1,3,3-三甲基二环[2.2.1]-2-庚醇 1,3,3-trimethyl-bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	154	1.40

续表

<i>t</i> /min	化合物	分子式	相对分子质量	相对含量
14.35	(+)- α -松油醇 (+)- α -terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.81
17.55	5-甲基-2-异丙基-3-环己烯-1-酮 2-isopropyl-5-methyl-3-cyclohexen-1-one	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.20
21.01	3-甲基-6-(1-亚异丙基)-2-环己烯-1-酮 3-methyl-6-(1-methylethylidene)-2-cyclohexen-1-one	C ₁₀ H ₁₄ O	150	1.28
21.35	(3 <i>R</i> -trans)-4-甲基-4-乙烯基-3-(1-甲基乙烯基)-1-(1-甲基)-环己烯 (3 <i>R</i> -trans)-4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1-methylethyl)-cyclohexene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.27
23.38	[1 <i>S</i> -(1 α ,2 β ,4 β)]-1-甲基-1-乙烯基-2,4-二(1-甲基乙烯基)-环己烷 [1 <i>S</i> -(1 α ,2 β ,4 β)]-1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-cyclohexane	C ₁₅ H ₂₄	204	0.50
24.30	[3 <i>R</i> -(3 α ,3 $\alpha\beta$,7 β ,8 $\alpha\alpha$)]-2,3,4,7,8,8a-六氢-3,6,8,8-四甲基-1 <i>H</i> -3 <i>a</i> ,7-亚甲基萘 [3 <i>R</i> -(3 α ,3 $\alpha\beta$,7 β ,8 $\alpha\alpha$)]-2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-1 <i>H</i> -3 <i>a</i> ,7-methanoazulene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.47
24.79	石竹烯 caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	9.53
26.47	顺式,顺式,顺式-1,1,4,8-四甲基-4,7,10-环十一烷三烯 <i>cis</i> , <i>cis</i> , <i>cis</i> -1,1,4,8-tetramethyl-4,7,10-cycloundecatriene	C ₁₅ H ₂₄	204	8.20
27.51	4 <i>a</i> ,8-二甲基-2-异丙基-1,2,3,4,4 <i>a</i> ,5,6,7-八氢萘 2-isopropenyl-4 <i>a</i> ,8-dimethyl-1,2,3,4,4 <i>a</i> ,5,6,7-octahydronaphthalene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.28
28.09	[4 <i>aR</i> -(4 $\alpha\alpha$,7 α ,8 $\alpha\beta$)]-十氢-4 <i>a</i> -甲基-1-亚甲基-7-(1-甲基乙烯基)-萘 [4 <i>aR</i> -(4 $\alpha\alpha$,7 α ,8 $\alpha\beta$)]-decahydro-4 <i>a</i> -methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.36
28.64	(4 <i>aR</i> -反式)-十氢-4 <i>a</i> -甲基-1-亚甲基-7-(1-亚异丙基)-萘 (4 <i>aR</i> -trans)-decahydro-4 <i>a</i> -methyl-1-methylene-7-(1-methylethylidene)-naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.06
28.99	(1 α ,4 $\alpha\alpha$,8 $\alpha\alpha$)-1,2,4 <i>a</i> ,5,6,8 <i>a</i> -六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基)-萘 (1 α ,4 $\alpha\alpha$,8 $\alpha\alpha$)-1,2,4 <i>a</i> ,5,6,8 <i>a</i> -hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.22
29.24	(<i>R</i>)-1-甲基-4-(1,2,2-三甲基环戊基)-苯 (<i>R</i>)-1-methyl-4-(1,2,2-trimethylcyclopentyl)-benzene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.20
29.69	(<i>S</i>)-1-甲基-4-(5-甲基-1-亚甲基-4-己烯基)-环己烯 (<i>S</i>)-1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-cyclohexene	C ₁₅ H ₂₄	204	4.56
30.50	(1 <i>S</i> -顺式)-1,2,3,5,6,8 <i>a</i> -六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基)-萘 (1 <i>S</i> - <i>cis</i>)-1,2,3,5,6,8 <i>a</i> -hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.97
34.87	石竹烯氧化物 caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1.37
36.96	雪松醇 cedrol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	26.02
37.41	[1 <i>R</i> -(1 <i>R</i> ,3 <i>E</i> ,7 <i>E</i> ,11 <i>R</i>)]-1,5,5,8-四甲基-12-氧杂二环[9.1.0]-3,7-十二碳二烯 [1 <i>R</i> -(1 <i>R</i> ,3 <i>E</i> ,7 <i>E</i> ,11 <i>R</i>)]-1,5,5,8-tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1.22
42.13	[1 <i>S</i> -(1 α ,3 $\alpha\beta$,4 α ,8 $\alpha\beta$)]-十氢-4,8,8-三甲基-9-亚甲基-1,4-亚甲基萘 [1 <i>S</i> -(1.alpha.,3 α .beta.,4.alpha.,8 α .beta.)]-decahydro-4,8,8-trimethyl-9-methylene-1,4-methanoazulene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.36
51.83	雪松烯 cedrene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.83
56.69	<i>n</i> -棕榈酸 <i>n</i> -hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.21

注:表中所示成分的相对含量均大于0.20。

从大头陈挥发油中共鉴定出 57 个化学,含量占挥发油总成分的 92.19%。其中含量最高的为雪松醇(26.02%)、较高的为柠檬烯(13.46%)、1,3,3-三甲基二环[2.2.1]-2-庚酮(11.70%)、石竹烯

(9.53%)、顺式,顺式,顺式-1,1,4,8-四甲基-4,7,10-环十一烷三烯(8.20%)、(*S*)-1-甲基-4-(5-甲基-1-亚甲基-4-己烯基)-环己烯(4.56%)等。

2.2 抗菌活性测定 大头陈挥发油对试验所用 5

种菌株均有不同程度的抑制作用,其中金黄色葡萄球菌及金黄色葡萄球菌耐药株的 MIC 和 MBC 相当,并且均比其他菌株的 MIC 和 MBC 小,说明大头陈挥发油对这两种菌株的抑制作用较好;而大肠杆菌的 MIC 和 MBC 较大,说明药物对其抗菌活性较小(表 2)。

表 2 大头陈挥发油抗菌活性 $g \cdot L^{-1}$

菌种	MIC	MBC
金黄色葡萄球菌	3.125	6.25
金黄色葡萄球菌耐药株	3.125	6.25
大肠杆菌	12.5	25
绿脓杆菌	6.25	12.5
宋内氏痢疾杆菌	6.25	12.5

3 讨论

根据 GC-MS 结果分析,大头陈挥发油的主要成分为萜类化合物中的倍半萜及其醇、单萜,多数具有较强的香气和生理活性。如雪松醇有镇静、抗菌作用;柠檬烯有镇咳、祛痰、抗菌的作用;石竹烯具有平喘、抗菌活性^[7-8]。挥发油化学成分分析结果与文献报道^[4]有较大差异,推测与药材的产地、采摘季节及储藏方式等有关。

针对大头陈临床上主要是用于治疗感冒、咳嗽及腹泻等症,本实验选择了腹泻致病菌(宋内氏痢疾杆菌、大肠杆菌),咽喉部致病菌(金黄色葡萄球菌、

金黄色葡萄球菌耐药株)等菌株。结果表明,大头陈挥发油对实验用的菌株均有不同程度的抑制作用,此抗菌活性与其化学成分分析结果基本一致。

目前金黄色葡萄球菌仍是细菌性感染的主要病原菌之一,而此类细菌中的耐药菌株对多种抗菌药物呈现耐药性。大头陈挥发油对金黄色葡萄球菌耐药株有抑制作用,提示其极具深入研究的价值。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 2 册[M]. 上海:上海科学技术出版社,2002:325.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1997:159.
- [3] 梁启成,钟鸣. 中国壮药学[M]. 南宁:广西民族出版社,2005:188.
- [4] 纪晓多,濮全龙. 球花毛麝香挥发油的成分研究[J]. 植物学报,1985,27(1):80.
- [5] 中国药典. 一部[S]. 2005:附录 XD57.
- [6] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:651.
- [7] 孙文基. 天然活性成分简明手册[M]. 北京:中国医药科技出版社,1998.
- [8] 许硕. 用行为药理学方法评价吸入雪松醇的镇静作用及机理[J]. 国外医药·植物药分册,2004,19(6):256.

[责任编辑 蔡仲德]

欢迎订阅 2011 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、药理、临床、综述、学术交流、基层园地、消息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊为半月刊,16 开本,290 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。2011 年每期定价 25 元,全年 24 期定价为 600 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:BM4655。欢迎订阅。本编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:czd@vip.sina.com,网址:www.syfjxzz.com