

广西阴香叶挥发油化学成分及其抗氧化性研究

邓超澄^{1*}, 霍丽妮¹, 李培源¹, 陈睿², 邓艳红¹, 何春玲¹, 卢澄生¹
(1. 广西中医学院, 南宁 530001; 2. 广西粮油研究所, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 分析阴香叶 *Cinnamomum burmannii* (Nees) Bl. 挥发油的化学成分, 对挥发油的抗氧化能力进行研究。方法: 采用水蒸气蒸馏法提取阴香叶挥发油, 用气相色谱-质谱联用技术 (GC-MS) 分析鉴定其化学成分; 采用 DPPH· 法、ABTS⁺· 法和铁氰化钾还原法对其抗氧化能力进行研究。结果: 阴香叶分离出 137 个色谱峰, 共鉴定 61 个化合物, 占挥发油总量的 93.58%; DPPH· 清除率最高仅为 21.19%, 清除 ABTS⁺· 效率最高达 58.89%, 还原能力与 BHT 相比相差较大。结论: 阴香叶主要成分为石竹烯 (21.71%)、桉油精 (18.22%)、愈创醇 (7.52%)、(+)- α -萜品醇 (7.06%)、(-)- α -蒎烯 (3.57%)、 β -桉叶醇 (3.33%)、异愈创木醇 (3.16%)、(Z)-橙花叔醇 (3.16%)、榄香醇 (2.67%)、 β -石竹烯 (2.22%)、(1S)- α -蒎烯 (1.90%)、(-)-萜品烯-4-醇 (1.80%)、(+)-喇叭烯 (1.35%)、石竹烯氧化物 (1.29%)、 β -萜品烯 (1.05%) 等, 阴香叶挥发油具有较好 ABTS⁺· 清除能力, 但清除 DPPH· 能力及还原能力较弱, 其抗氧化能力均与其浓度有关。

[关键词] 阴香叶; 挥发油; 抗氧化性; 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(2010)17-0105-05

Chemical Constituents and Antioxidant Activity of Essential Oils from Leaves of *Cinnamomum burmannii* in Guangxi

DENG Chao-cheng^{1*}, HUO Li-ni¹, LI Pei-yuan¹, CHEN Rui²,
DENG Yan-hong¹, HE Chun-ling¹, LU Cheng-sheng¹

(1. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China;
2. Guangxi Grain and Oil Scientific Institute, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents and antioxidant activity of the essential oils from *Cinnamomum burmannii* in Guangxi. **Method:** The essential oils were extracted by steam distillation, and then the constituents were separated and identified by GC-MS. The scavenging activities on DPPH radical, ABTS⁺ radical and reducing power were detected by UV-Vis spectrophotometry. **Result:** 137 compounds were isolated and 61 compounds were identified in the leaves that composed about 93.58% of the total essential oils. The maximal scavenging rate on DPPH and ABTS⁺ radical reached to 21.71% and 58.89%, respectively. And these oils had weaker reductive capability than BHT. **Conclusion:** The principal chemical constituents of the essential oils are caryophyllene (21.71%), eucalyptol (18.22%), guaiol (7.52%), (+)- α -terpineol (7.06%), (-)- α -pinene (3.57%), β -eudesmol (3.33%), bulnesol (3.16%), (Z)-nerolidol (3.16%), elemol (2.67%), β -caryophyllene (2.22%), (1S)- α -pinene (1.9%), (-)-terpinen-4-ol (1.8%), (+)-ledene (1.35%), caryophyllene oxide (1.29%), and β -terpinen (1.05%). These oils possessed good scavenging activities on ABTS⁺ radical, but showed low activities on scavenging DPPH radical and reducing power. And the antioxidant activities of these oils were concentration-dependent.

[Key words] *Cinnamomum burmannii*; essential oils; antioxidant activity; GC-MS

[收稿日期] 20100810(011)

[通讯作者] * 邓超澄, 讲师, 从事中药化学成分及质量标准研究, E-mail: nmhouyucheng@163.com, Tel: 13977197531

阴香叶 *Cinnamomum burmannii* (Nees) Bl. 为樟科植物阴香的叶片,用于治疗皮肤瘙痒、风湿骨痛、痢疾腹痛及外伤出血等,主要分布于福建、广西、广东等地^[1]。研究发现阴香叶具有防蛀^[2]、抑菌^[3]等生理活性,对于该植物精油的研究已有报道^[4],其主要挥发性成分为龙脑、-蒎烯、蒎烯、石竹烯等萜类物质。目前,尚未见有关阴香叶挥发油抗氧化性的报道。因此,本试验采用水蒸气蒸馏提取法对广西阴香叶挥发油进行提取,并用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对其化学成分进行分离鉴定;另外,以 DPPH·法、ABTS⁺·法和铁氰化钾还原法,从多方面评价阴香叶挥发油的抗氧化能力,寻找一种具有保健功能的新型天然抗氧化剂。

1 材料

美国 Agilent5973N 气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪;北京 Tu-1800 SPC 紫外-可见分光光度计;阴香叶采自广西德保县,经广西中医学院韦松基教授鉴定为 *C. burmannii*; DPPH·(二苯代苦味酰自由基), ABTS (2,2-联氨-双(3-乙基苯并咪唑-6-磺酸)), BHT (2,6-二叔丁基对甲酚) 购于美国 SIGMA 公司;无水乙醚、无水硫酸钠、三氯乙酸(TCA)、铁氰化钾、三氯化铁、购于广州西陇化学试剂公司;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取 新鲜阴香叶采集后晾干、剪碎,称取 91.10 g 置于挥发油测定器烧瓶中,加 500 mL 蒸馏水和数粒玻璃珠,连接挥发油测定器。自测定器上端加水使充满刻度加热回流 5 h 至测定器中油量不再增加,冷后分取油层。油层用无水乙醚萃取,取乙醚层用无水硫酸钠干燥过夜,挥去乙醚,得到有芳香气味的黄色透明液体,得率为 0.64%。

2.2 GC-MS 测定条件

2.2.1 气相色谱条件 色谱柱 HP-5MS 毛细管柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm);进样量 1.0 μL,载气氦气,流速 1.0 mL·min⁻¹;柱初温 70 °C,保持 2 min,以 10 °C·min⁻¹ 速率升温至 140 °C,保持 3 min,再以 8 °C·min⁻¹ 速率升温至 200 °C,保持 3 min,最后以 20 °C·min⁻¹ 速率升温至 280 °C,分流比 20:1;倍增器电压 1 294 V;接口温度 280 °C。

2.2.2 质谱条件 电离方式 EI,电子能量 70 eV;离子源温度 230 °C;扫描质量范围 *m/z* 40 ~ 550。

2.4 抗氧化能力测定

2.4.1 清除 DPPH 自由基的能力测定 参照 Kim 等^[5]的方法,略有改进。用 95% 乙醇将阴香叶挥发油配制成 0.5, 0.8, 1.2, 1.6 g·L⁻¹ 溶液,将 400 μL 上述药液加入 2 mL 0.004% DPPH 液中,室温放置,在最大吸收波长 517 nm 处测其吸光度(*A*₁),每隔 10 min 测 1 次,直到吸光度达平衡为止,各测 3 次取平均值。以不加提取液的 DPPH 为空白对照(*A*₀)。最后根据下列公式计算各种药液对 DPPH 自由基的清除率:

$$\text{清除率} = (1 - A_1 / A_0) \times 100\%$$

式中,*A*₁ 为加药液后 DPPH 溶液的吸光度;*A*₀ 为未加药液时 DPPH 溶液的吸光度。

2.4.2 清除 ABTS⁺ 自由基的能力测定 参照 Re 等^[6]的方法,略有改进。用蒸馏水将 ABTS 配制成 7 mmol·L⁻¹ 储备液。将上述储备溶液与 2.45 mmol·L⁻¹ K₂S₂O₈ 水溶液(最终浓度)混合均匀,于室温避光放置 2 d 备用,反应产生 ABTS⁺·。为了测定抗氧化性,将 ABTS⁺·溶液用 PBS 溶液稀释,使其在 732 nm 下测得吸光度在 0.700 ± 0.050,将 500 μL 不同浓度药液,混合 4 mL ABTS⁺·溶液,在室温下放置 10 min 后测其吸光度。所有测定平行进行 3 次,取平均值。

$$\text{SC}\% = (A_{\text{control}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{control}} \times 100\%$$

*A*_{control} 为不加药液的 ABTS⁺·溶液的吸光度。

2.4.3 还原能力测定 采用铁氰化钾还原法^[7]。取 1 mL 药液加入试管中,再加入 2.5 mL PBS 溶液和 2.5 mL 1% 的 K₃Fe(CN)₆,混匀,于 50 °C 下恒温 20 min,加入 10% 三氯乙酸溶液 2.5 mL,离心 10 min,取上清液 2.5 mL,加入 2.5 mL 蒸馏水及 0.5 mL 0.1% FeCl₃,混匀,室温放置 10 min 后,在最大吸收波长 700 nm 下测吸光度。以与药液同样浓度的 BHT 做对比。所有测定平行 3 次,取平均值。

3 结果与讨论

3.1 化学成分分析 样品用重蒸乙醚稀释离心后进样,按上述测定条件进行 GC-MS 分析,所得色谱和质谱信息经计算机数据处理系统进行自动检索和人工检索、对照和解析,鉴定阴香叶挥发油中的化学成分,用面积归一化法确定了各成分的质量分数。从阴香叶挥发油中共分离出 137 个色谱峰,共鉴定 61 个化合物,占挥发油总量的 93.58%。见表 1。

表 1 阴香叶挥发油化学成分分析结果

No.	t_R /min	化合物	分子式	相对含量 / %
1	3.40	-侧柏烯 -thujene	$C_{10}H_{16}$	0.33
2	3.52	(1 <i>S</i>)-蒎烯 (1 <i>S</i>)-pinene	$C_{10}H_{16}$	1.90
3	3.75	莰烯 camphene	$C_{10}H_{16}$	0.28
4	3.96	苯甲醛 benzaldehyde	C_7H_6O	0.03
5	4.14	(-)-蒎烯 (-)-pinene	$C_{10}H_{16}$	3.57
6	4.40	-蒎烯 -pinene	$C_{10}H_{16}$	0.71
7	4.65	-水芹烯 -phellandrene	$C_{10}H_{16}$	0.21
8	4.74	3-萜烯 3-carene	$C_{10}H_{16}$	0.21
9	4.85	2-萜烯 2-carene	$C_{10}H_{16}$	0.59
10	5.20	桉油精 eucalyptol	$C_{10}H_{18}O$	18.22
11	5.38	-罗勒烯 -ocimene	$C_{10}H_{16}$	0.13
12	5.60	-萜品烯 -terpinen	$C_{10}H_{16}$	1.05
13	5.76	(<i>Z</i>)-萜品醇 (<i>Z</i>)-terpineol	$C_{10}H_{18}O$	0.06
14	6.12	异松油烯 terpinolene	$C_{10}H_{16}$	0.86
16	6.74	(<i>E</i>)-1-甲基-4-异丙基-2-环己烯-1-醇 (<i>E</i>)-4-(isopropyl)-1-methyl cyclohex-2-en-1-ol	$C_{10}H_{18}O$	0.10
17	7.80	(-)-萜品烯-4-醇 (-)-terpinen-4-ol	$C_{10}H_{18}O$	1.80
18	8.10	(+)-萜品醇 (+)-terpineol	$C_{10}H_{18}O$	7.06
19	8.23	癸醛 decanal	$C_{10}H_{20}O$	0.24
20	8.32	(<i>Z</i>)-辣薄荷醇 (<i>Z</i>)-piperitol	$C_{10}H_{18}O$	0.07
21	8.64	(<i>Z</i>)-香叶醇 (<i>Z</i>)-geraniol	$C_{10}H_{18}O$	0.05
22	9.10	(+/-)-3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇 1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, (+/-)-	$C_{10}H_{18}O$	0.24
23	9.39	柠檬醛 citral	$C_{10}H_{16}O$	0.20
24	9.67	乙酸冰片酯 acetic acid, bornyl ester	$C_{12}H_{20}O_2$	0.50
25	9.99	香芹酚 carvacrol	$C_{10}H_{14}O$	0.06
26	10.54	-萜品烯 -terpinen	$C_{10}H_{16}$	0.13
27	10.74	(+)-4-萜烯 (+)-4-carene	$C_{10}H_{16}$	0.08
28	11.16	依兰烯 ylangene	$C_{15}H_{24}$	0.79
29	11.24	毕澄茄烯 -cubebene	$C_{15}H_{24}$	0.32
30	11.41	-波旁烯 -bourbonene	$C_{15}H_{24}$	0.04
31	11.54	(-)-榄香烯 (-)-elemene	$C_{15}H_{24}$	0.23
32	11.88	4,11,11-三甲基-8-亚甲基-4-二环[7.2.0]癸烯 bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-	$C_{15}H_{24}$	0.16
33	12.30	石竹烯 caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	21.71
34	12.51	-愈创木烯 -guaiene	$C_{15}H_{24}$	0.10
35	12.63	-绿叶烯 -patchoulene	$C_{15}H_{24}$	0.16
36	12.95	-石竹烯 -caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	2.22
37	13.09	(-)-香橙烯 (-)-aromadendrene	$C_{15}H_{24}$	0.10

续表 1

No.	t_R /min	化合物	分子式	相对含量 / %
38	13.43	-依兰油烯 -muurolene	$C_{15}H_{24}$	0.10
39	13.60	大香叶烯-D gemacrene D	$C_{15}H_{24}$	0.64
40	13.84	葎澄茄烯 cubenene	$C_{15}H_{24}$	0.14
41	14.03	(+) -喇叭烯 (+) -ledene	$C_{15}H_{24}$	1.35
42	14.24	-古芸烯 -gurjunene	$C_{15}H_{24}$	0.32
43	14.44	-葎澄茄烯 -cadinene	$C_{15}H_{24}$	0.14
44	15.36	榄香醇 elemol	$C_{15}H_{26}O$	2.67
45	15.66	(Z) -橙花叔醇 (Z) -nerolidol	$C_{15}H_{26}O$	3.16
46	16.00	斯巴醇(-) -spathulenol	$C_{15}H_{24}O$	0.49
47	16.11	石竹烯氧化物 caryophyllene oxide	$C_{15}H_{24}O$	1.29
48	16.48	愈创醇 guaicol	$C_{15}H_{26}O$	7.52
49	16.87	-马榄烯 -maaliene	$C_{15}H_{24}$	0.30
50	17.21	(+) -朱栾倍半萜 (+) -valencene	$C_{15}H_{24}$	0.53
51	17.54	-桉叶醇 -eudesmol	$C_{15}H_{26}O$	3.33
52	17.81	异愈创木醇 bulnesol	$C_{15}H_{26}O$	3.16
53	18.49	十四烷基环氧乙烷 oxirane, tetradecyl-	$C_{16}H_{32}O$	0.08
54	18.66	金合欢醇 farnesol	$C_{15}H_{26}O$	0.47
55	19.09	-蛇麻烯 -humulene	$C_{15}H_{24}$	0.04
56	19.59	(+) -香橙烯 (+) -aromadendrene	$C_{15}H_{24}$	0.03
57	20.52	(2E,6E) -乙酸金合欢酯 (2E,6E) -farnesyl acetate	$C_{17}H_{28}O_2$	0.33
58	21.71	棕榈酸甲酯 hexadecanoic acid, methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	0.02
59	22.33	棕榈酸 n-hexadecanoic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	0.11
60	24.87	8-十八烯酸甲酯 8-octadecenoic acid, methyl ester	$C_{19}H_{36}O_2$	0.03
61	25.07	叶绿醇 phytol	$C_{20}H_{40}O$	0.13

由表 1 分析结果可知, 阴香叶挥发油其成分主要为萜类、醇类、酮类、酯类和烷烃类等物质, 其中含量较高的成分有石竹烯 (21.71%)、桉油精 (18.22%)、愈创醇 (7.52%)、(+)-萜品醇 (7.06%)、(-)-蒎烯 (3.57%)、-桉叶醇 (3.33%)、异愈创木醇 (3.16%)、(Z)-橙花叔醇 (3.16%)、榄香醇 (2.67%)、-石竹烯 (2.22%)、(1S)-蒎烯 (1.9%)、(-)-萜品烯-4-醇 (1.8%)、(+)-喇叭烯 (1.35%)、石竹烯氧化物 (1.29%)、-萜品烯 (1.05%) 等, 本研究中广西产的阴香叶挥发油的主要化学成分与文献 [4] 报道差别较大, 文献中含量最高的化学成分为龙脑 (19.68%), 这可能由于植物部位或者产地以及气候等不同因素造成其挥发油化学成分也有所差异。

3.2 清除 DPPH 自由基的能力 DPPH· 在有机溶剂中是一种稳定的自由基, 其结构中含有 3 个苯环,

1 个氮原子上有 1 个孤对电子, 呈紫色, 在 517 nm 有强吸收。有自由基清除剂存在时, DPPH· 的单电子被配对而使其颜色变浅, 在最大吸收波长处的吸光度变小, 而吸光度变小的程度与自由基被清除的程度呈定量关系, 因此可用于检测自由基的清除情况, 从而评价试验样品的抗氧化能力。不同浓度的阴香叶挥发油清除 DPPH 自由基的能力对比见图 1。从图 1 可看出, 阴香叶挥发油具有一定清除 DPPH· 自由基的能力, 并且清除效率与药液的浓度成正比, 但是其清除效率不高, 浓度为 $1.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, SC% 仅达到 21.19%, 随着时间和浓度增长, SC% 仅缓慢增加, 原因可能为其挥发油所含抗氧化性化学成分含量较低, SC% 变化不大。

3.3 ABTS⁺ 自由基清除能力 ABTS 在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的 ABTS⁺·, 在抗氧化物存在时 ABTS⁺· 的产生会被抑制, 在 414 nm 或 734 nm 测

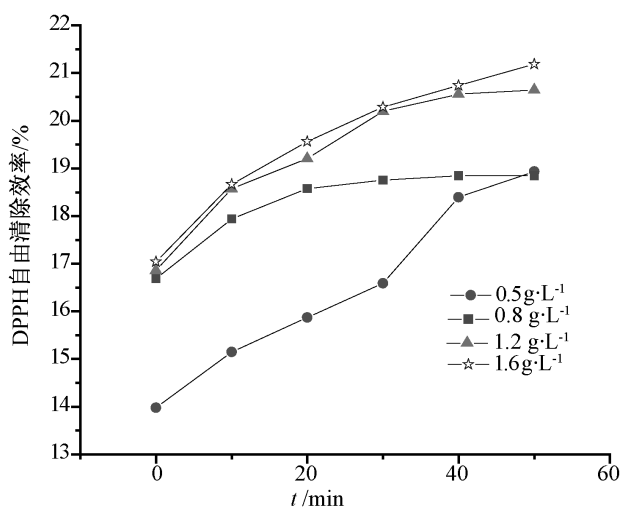


图 1 阴香叶挥发油清除 DPPH 自由基能力

定 $ABTS^+$ 的吸光度即可测定并计算出样品的总抗氧化能力。加入药液 10 min 后, $ABTS^+$ 迅速被清除, 不同浓度的阴香叶挥发油清除 $ABTS^+$ 的能力见图 2。从图 2 可看出, 阴香叶挥发油具有较好地清除 $ABTS^+$ 自由基的能力, 清除效率与药液的浓度成正比, 其清除效率在浓度为 $1.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 达到 58.89%。

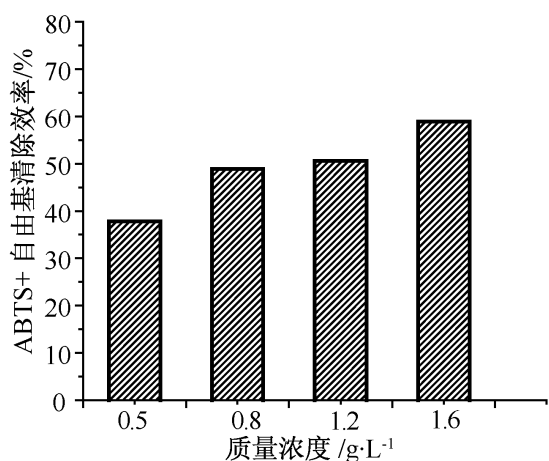
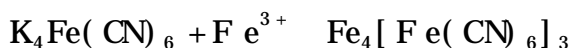


图 2 阴香叶挥发油清除 $ABTS^+$ 自由基能力

3.3 还原能力 还原能力法的原理为试样将赤血盐 $K_3Fe(CN)_6$ 还原成黄血盐 $K_4Fe(CN)_6$, 黄血盐再与 Fe^{3+} 作用, 生成普鲁士蓝, 在 700 nm 波长测定吸光值, 以检测鲁士蓝之生成量, 作为试样的还原力, 吸光值愈高, 表示试样还原能力愈强。



从图 3 中可以看出, 阴香叶挥发油还原能力与其药液浓度均成正比, 在最高浓度为 $1.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 还原能力最强, 但是在相同条件下, 其还原能力与 BHT 相差较大。

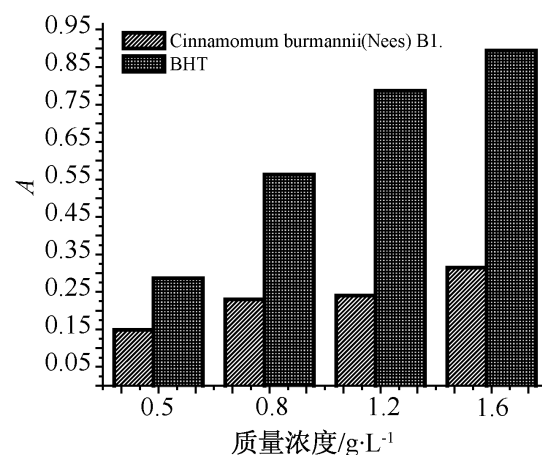


图 3 阴香叶挥发油还原能力

综上所述, 本文采用了 3 种国内外常用的体外抗氧化活性检测方法 ($DPPH \cdot$ 法、 $ABTS^+$ 法以及还原力法) 评价了阴香叶挥发油的抗氧化活性, 结果表明阴香叶挥发油具有一定抗氧化性, 其浓度与其抗氧化活性强弱顺序一致。阴香在我国广西资源丰富, 本身具有较高药用价值, 对其抗氧化作用进行进一步研究具有重要的科学意义。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 1616.
- [2] 南玉生, 柯治国, 易平炎, 等. 25 种植物精油对四纹豆象的防治效果 [J]. 粮食储藏, 2001, 30(6): 7.
- [3] 骆炎平, 郑服丛, 谢江. 阴香叶提取物的抑菌活性初步研究 [J]. 现代农药, 2005, 4(2): 31.
- [4] 衣晓明, 谷茂, 陈飞鹏. 阴香叶挥发性物质的 GC-MS 分析 [J]. 深圳职业技术学院学报, 2009, 8(3): 53.
- [5] Kim D, Lee K W, Lee H J, et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VcEAC) of phenolic phytochemicals [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(13): 3713.
- [6] Oyaizu M. Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine [J]. Japan J Nutri, 1986, 44: 307.
- [7] Re R, Pellegrini N, Anna P A. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. Free Rad Biol Med, 1999, 26(9/10): 1231.

[责任编辑 邹晓翠]