

# 木香挥发性成分气质联用分析及其抑制血小板聚集作用的研究

侯鹏飞<sup>1</sup>, 陈文星<sup>1</sup>, 赵新慧<sup>1</sup>, 宿树兰<sup>1,2</sup>, 刘汉清<sup>1</sup>, 陆茵<sup>1</sup>, 段金廛<sup>1\*</sup>  
(1. 南京中医药大学江苏省方剂研究重点实验室, 江苏 南京 210046;  
2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013)

[摘要] 目的: 分析鉴定木香挥发油中化学成分, 并探讨其抑制 ADP 诱导的血小板聚集作用的效应物质。方法: 采用水蒸气蒸馏法提取木香中挥发油, 采用毛细管气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对挥发油中化学成分进行分析鉴定, 并对挥发油及去氢木香内酯、木香烯内酯的体外抑制 ADP 诱导的家兔血小板聚集效应进行了评价。结果: GC-MS 法分析鉴定了木香挥发油中 59 个成分, 其主要成分为去氢木香内酯、木香烯内酯、雪松烯醇、 $\alpha$ -榄香烯、环辛二烯、桉叶(油)醇、 $\alpha$ -芹子烯、丁子香烯、长松叶烯、7-甲基-3,4-辛二烯等, 占挥发油总量的 72.91%; 首次发现木香挥发油及去氢木香内酯、木香烯内酯具有抑制 ADP 诱导的血小板聚集活性。结论: GC-MS 法分析鉴定了木香挥发油中 59 个组分; 活性评价结果表明木香挥发油及去氢木香内酯、木香烯内酯成分具有显著的抑制 ADP 诱导的血小板聚集作用, 其效应物质源于挥发油中萜内酯类及萜烯类成分。

[关键词] 气质联用; 木香; 挥发性成分; 血小板聚集; 去氢木香内酯; 木香烯内酯

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)07-0026-05

## Analysis of Chemical Composition of the Essential Oil from Radix Aucklandiae by GC-MS and the Effect on Platelet Aggregation

HOU Pengfei<sup>1</sup>, CHEN Wenxing<sup>1</sup>, ZHAO Xinhui<sup>1</sup>, SU Shulan<sup>1,2</sup>, LIU Hanqing<sup>1</sup>, LU Yin<sup>1</sup>, DUAN Jin-ao<sup>1\*</sup>  
(1. Jiangsu Key Laboratory for TCM Formulae Research, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;  
2. Pharmaceutical College of Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the chemical composition of the essential oil of Radix Aucklandiae and investigate its influence on platelet aggregation induced by ADP. **Methods:** The essential oil was extracted from Radix Aucklandiae by steam distillation, and then an analysis was conducted by applying GC-MS (capillary gas chromatography-mass spectrometer), and investigated for the inhibitory effects on rabbit platelet aggregation *in vitro*. **Results:** The experiments showed that 59 components were identified, accounting for 72.91 percent of the total essential oil. The essential oil was mainly composed of dehydrocostuslactone, costunolide, cedrenol,  $\alpha$ -elemene, 1,3-cyclooctadiene, eudesmol,  $\alpha$ -selinene,  $\beta$ -caryophyllene, (+)-longifolene, 3,4-octadiene, 7-methyl etc. Among them Lactones like Dehydrocostuslactone and costunolide are essential components. **Conclusions:** Fifty nine components were identified in essential oil of Radix Aucklandiae by GC-MS. Volatile oil of Radix Aucklandiae dehydrocostuslactone and costunolide

[收稿日期] 2008-01-07

[基金项目] 江苏省高校自然科学基金重大基础研究项目(06KJA36022); 江苏省“青蓝工程”科技创新团队建设(2006度)

[通讯作者] \* 段金廛, Tel/fax: (025) 85811116; E-mail: dja@njutcm.edu.cn

have obvious inhibiting effect on platelet aggregation induced by ADP. The bioactive components derived from terpenes and lanctones in oil of *Radix Aucklandiae*.

[Key words] GC-MS; *Radix Aucklandiae*; volatile components; platelet aggregation; dehydrocostuslactone; costunolide

木香原产印度, 现在我国华南、华中等地引种栽培, 有行气止痛, 健脾消食的功效<sup>[1,2]</sup>。本课题组在对四物汤及其类方治疗不同证型妇科血瘀证痛经的研究过程中, 发现类方香附四物汤组方药材之一的木香挥发油具有显著的生理活性, 为进一步阐明其挥发性成分组成与生物效应间的关系, 本文采用气质联用技术(GC-MS)对木香挥发性成分进行了分析鉴定, 并评价了挥发油部位及其主要成分去氢木香内酯、木香烯内酯抑制 ADP 诱导的血小板聚集效应。

## 1 仪器与材料

**1.1 材料** 木香, 购于南京市药材公司(产地为云南丽江), 经南京中医药大学段金廛教授鉴定为菊科植物木香(*Aucklandia lappa* Decne)的干燥根。

对照品: 去氢木香内酯、木香烯内酯, 购于上海中药标准化中心(生产批号: 02-2002; 02-2001)。

**1.2 实验动物** 新西兰家兔, 由南京中医药大学动物实验中心提供, SPF 级。

**1.3 仪器** Agilent6890N 气质联用仪; 检测器: 5973 N; 自动进样器: 7683 Series; NIST 05 质谱库(Agilent 公司, 美国); JA 21203 上皿电子天平(上海天平仪器厂); PAPER-I 型血小板聚集及血凝测定仪(北京世帝科学仪器公司); LDZ 522 离心机(北京医用离心机厂); XSP 213 型光学显微镜(南京江南光学仪器厂)。

## 2 实验方法

**2.1 样品制备** 称取木香 100 g, 经粉碎至粒径为 40 目, 采用水蒸气蒸馏法提取得到挥发油, 经无水硫酸钠干燥, 得淡黄色挥发油, 得率为 0.64%, 4℃保存, 备用。

**2.2 GC-MS 分析条件** 色谱条件: DB-1701 毛细管色谱柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm); 程序升温: 初始温度 90℃, 持续 5 min, 然后以 2℃·min<sup>-1</sup>升到 175℃, 持续 5 min, 再以 1℃·min<sup>-1</sup>升温到 180℃, 持续 2 min, 再以 8℃·min<sup>-1</sup>升温到 210℃, 持续 10 min。载气为 N<sub>2</sub>(高纯氮, 含量 ≥99.999%), 载气流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 进样口温度为 200℃, 检测器温度为

250℃, 分流比为 100:1。

质谱条件: 接口温度为 250℃, 离子源选用 EI 源, 电离电压为 70 eV, 离子源温度为 250℃, 扫描范围为(33~1 000) aum, 进样量为 1 μL。

**2.3 血小板聚集实验**<sup>[3]</sup> 以二磷酸腺苷(ADP)为诱导剂, 按比浊法测定血小板聚集率。用 0.2% 的 DMSO 溶液溶解木香挥发油、木香烯内酯和去氢木香内酯, 制得一定浓度的受试样品溶液。将兔全血与抗凝剂(3.8% 枸橼酸钠)按 9:1 混匀, 以 1 000 r·min<sup>-1</sup>离心 8 min, 取得上层富血小板血浆(PRP), 余血再以 3 500 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min, 得贫血小板血浆(PPP)。取 350 μL PRP 置于比浊管内, 然后加入一定体积受试样品(做 4 个复管)溶液, 使受试样品的终浓度达到 100 μg·mL<sup>-1</sup>或 20 μg·mL<sup>-1</sup>, 37℃温育 5 min, 随后在 PRP 中加入一定体积的 ADP, 使其终浓度为 10 mmol·L<sup>-1</sup>, 在血小板聚集仪上检测最大聚集率, 观察药物对血小板聚集率的影响, 计算血小板聚集抑制率, 以生理盐水作空白对照, 采用 *t* 检验进行统计分析。血小板聚集抑制率(%) = (对照管最大聚集率 - 给药管最大聚集率) / 对照管最大聚集率 × 100%。

## 3 结果

**3.1 GC-MS 分析结果** 木香挥发油的 GC-MS 总离子流图见图 1, 图中各色谱峰经气质工作站 NIST 标准图库进行检索, 并参照相关文献<sup>[4-6]</sup>鉴定各化合物, 按色谱峰面积归一化法计算各组分的相对含量。结果见表 1。由表 1 可知, 从木香挥发油中鉴定了 59 个化合物, 占挥发油总量的 72.91%; 其中相对含量较高的组分包括去氢木香内酯(13.72%)等萜内酯类成分, 与其它产地木香挥发油的研究报道一致<sup>[4-6]</sup>; 此外, 本实验在木香挥发油中首次检测到萜品醇、龙脑、(E, Z)-3, 4-二甲基-2, 4-己二烯、丙烯基茴香醚、香附烯、桂皮醛、香芹酚、丁子香烯、1-十五碳烯 β-雪松烯、雅槛蓝油烯、去氢白菖(蒲)烯、土荆芥内脂等 28 个化合物。

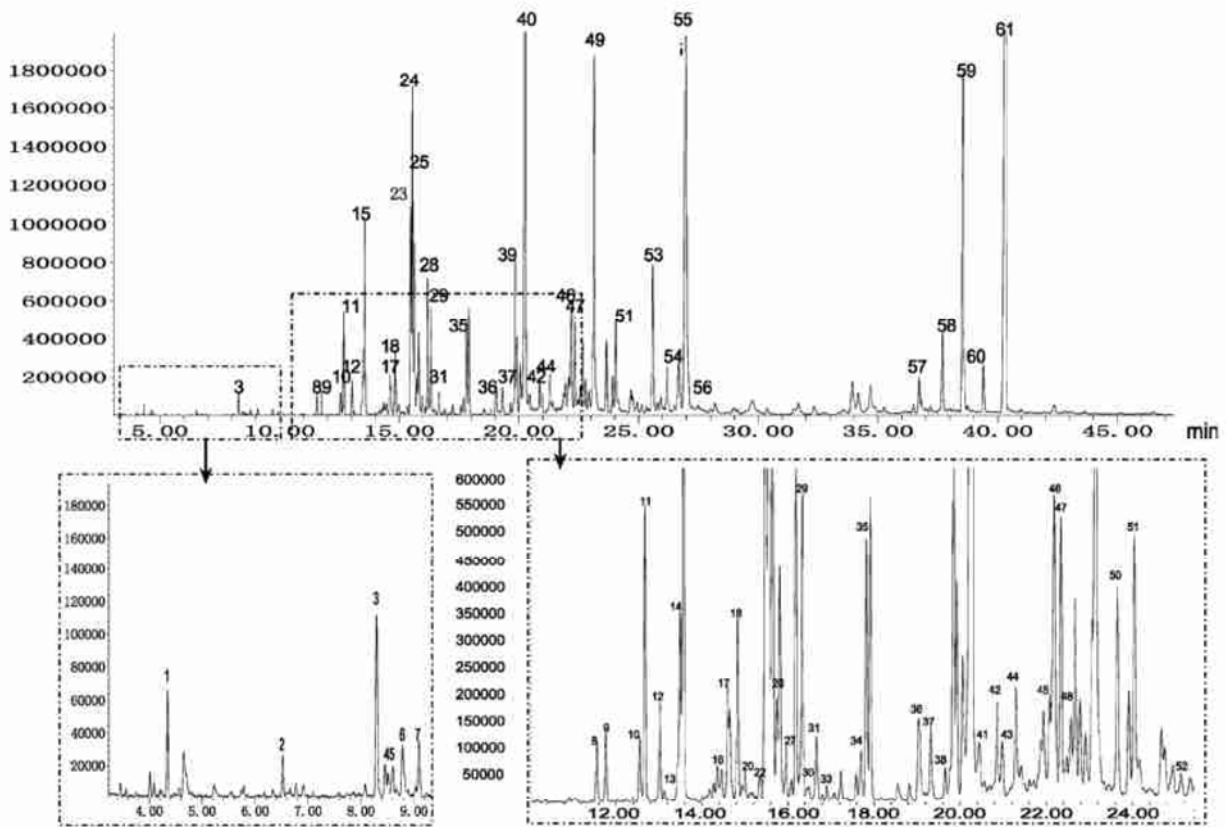


图 1 木香挥发油的 GC-MS 总离子流图

表 1 木香挥发油 GC-MS 化学成分分析结果

序号	保留时间	化合物名称	分子式	分子量	相对含量%
1	4.35	p-cymene 伞花烃	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134.22	0.06
2	6.53	β-linalool β-芳樟醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.25	0.03
3	8.29	(-)-4-terpineol 萜品醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.25	0.15
4	8.51	cyclohexene, 1,2-dimethyl 1,2-二甲基环己烯	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub>	110.20	0.02
5	8.60	2,4-hexadiene, 3,4-dimethyl, (E,Z)-(E,Z)-3,4-二甲基-2,4-己二烯	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub>	110.20	0.03
6	8.79	(-)-borneol 龙脑	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.25	0.07
7	9.10	α-terpineol α-松油醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.25	0.05
8	11.56	p-propenyl Anisole 丙烯基茴香醚	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	148.20	0.19
9	11.77	α-cubebene α-葎澄茄苦素	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.20
10	12.56	cyperene 香附烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.21
11	12.68	β-elemene β-榄香烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.86
12	13.03	(+)-aromadendrene 香橙烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.33
13	13.13	(E)-cinnamaldehyde 桂皮醛	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O	132.16	0.04
14	13.49	α-bergamotene 佛手柑油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.64
15	13.57	β-caryophyllene 丁子香烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	1.73
16	14.46	carvacrol 香芹酚	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	150.22	0.13
17	14.60	1-pentadecene 1-十五碳烯	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210.40	0.64
18	14.83	α-selinene α-芹子烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.60
19	14.93	γ-muurolene γ-依兰油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.06
20	15.01	β-himachalene β-雪松烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.12
21	15.18	beta-caryophyllene β-丁香油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.05

续表 1

序号	保留时间	化合物名称	分子式	分子量	相对含量%
22	15.35	Eremophilene 雅槛蓝油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.11
23	15.48	β-eudesmene 桉叶烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.94
24	15.55	α-curcumene α-姜黄烯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	202.34	2.79
25	15.64	γ-selinene γ-芹子烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	1.57
26	15.74	β-bisabolene (甜) 没药烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.30
27	16.08	Gemacrene 大根香叶烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.09
28	16.18	trans-α-ionone 反-α-罗兰酮	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O	192.30	1.22
29	16.33	Geranyl acetone 袪牛儿基丙酮	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O	194.31	0.95
30	16.48	β-sesquiphellandrene β-倍半水芹烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.09
31	16.66	α-longipinene α-长叶松烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.25
32	16.80	3,7(11)-selinadiene 蛇床二烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.02
33	16.90	(-)-calamenene 去氢白菖(蒲)烯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	202.34	0.05
34	17.69	Butylated hydroxytoluene 丁羟甲苯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220.35	0.19
35	17.82	β-ionone β-紫罗兰酮	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O	192.30	0.79
36	19.04	β-farnesene β-金合欢烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.42
37	19.32	Elemol 榄香醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.37	0.32
38	19.65	2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-phenol 2,4-表(1,1-二甲基甲烷)苯酚	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	206.32	0.13
39	19.84	3,4-octadiene, 7-methyl 7-甲基-3,4-辛二烯	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub>	124.22	1.47
40	20.28	1,3-cyclooctadiene 环辛二烯	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub>	108.18	19.17
41	20.68	Thujopsene 罗汉柏烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.09
42	20.87	α-patchoulene α-藿香萜烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.44
43	20.98	α-guaiene α-愈创木烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.26
44	21.30	γ-eudesmol γ-桉叶醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.37	0.59
45	22.08	10,10-dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo[7.2.0]undecan-5-ol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.4
46	22.19	Eudesmol 桉叶(油)醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.37	1.47
47	22.34	(+)-longifolene 长松叶烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	1.01
48	22.57	(-)-alloaromadendrene 别香橙烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.36
49	23.15	α-elemene α-榄香烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220.35	4.66
50	23.65	unknow			0.90
51	24.04	Z-α-trans-Bergamotol 香柠檬醇	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220.35	1.09
52	25.13	n-butylidene phthalide 正丁烯基苯酞	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	188	0.15
53	25.59	unknow			1.98
54	26.50	α-cyperone α-香附酮	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	218.34	0.14
55	26.97	Cedrenol 雪松烯醇	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220.35	9.88
56	27.50	Tetradecanoic acid 十四烷酸	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	228.37	0.24
57	36.72	unknow			0.47
58	37.70	11H-benzo[a]carbazole	C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> N	217	1.03
59	38.55	unknow			4.51
60	39.41	unknow			0.60
61	40.33	Dehydrocostuslactone 去氢木香内酯	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	230.32	13.72
62	40.52	Ambrosin 土荆芥内脂	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	246.32	0.05
63	40.97	Dihydrocostunolide 二氢木香烯内酯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	234.34	0.07
64	42.36	Costunolide 木香烯内酯	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	232.33	0.18

**3.2 血小板聚集实验结果** 在临床用药有效剂量的基础上, 本实验设置了高、低浓度组以探求其量效趋势及成分间相互关系。以生理盐水组作空白对照, 以 0.2% 的 DMSO 溶剂作为溶剂对照组。实验结果表明, DMSO 溶剂对实验未见明显影响。与 DMSO 组比, 木香挥发油和木香烯内酯和去氢木香内酯的两个终浓度对 ADP 诱导的血小板聚集均具有显著的抑制作用( $P < 0.01$ ), 而在同等剂量下, 木香挥发油的作用优于其它两个化合物, 实验结果见表 2。

表 2 木香挥发油、木香烯内酯、去氢木香内酯对 ADP 诱导的血小板聚集的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

样品	终浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	最大聚集率(%)
生理盐水	-	41.3 ± 3.4
DMSO	-	55.2 ± 6.3
木香挥发油	100	1.7 ± 2.1 <sup>1)</sup>
	20	14.0 ± 2.6 <sup>1)</sup>
木香烯内酯	100	23.8 ± 2.5 <sup>1)</sup>
	20	33.8 ± 3.9 <sup>1)</sup>
去氢木香内酯	100	23.8 ± 1.2 <sup>1)</sup>
	20	33.3 ± 3.0 <sup>1)</sup>

注: 与 DMSO 组比, <sup>1)</sup>  $P < 0.01$

#### 4 讨论

木香挥发油 GC-MS 分析鉴定结果表明, 低沸程化学信号较少, 主要为少量单萜类化合物; 中沸程化学信号比较集中, 主要为萜烯类成分, 包括雪松烯醇、 $\alpha$ -榄香烯、 $\beta$ -榄香烯、环辛二烯、桉叶(油)醇、 $\alpha$ -芹子烯、丁子香烯、长松叶烯等化合物; 较高沸程化学信号主要源于倍半萜内酯类成分, 主要包括去氢木香内酯、木香烯内酯等化合物。由本实验结果及文献分析可知, 中沸程、较高沸程化学成分为木香挥发油的主要活性成分, 尤其是较高沸程的倍半萜内酯成分<sup>[7~11]</sup>, 生物活性广泛, 是一类值得深入研究的化合物。

去氢木香内酯是木香中含量较为丰富的化合物, 由 GC-MS 法测定出其在木香挥发油中的含量占了 13.72%。为了研究木香挥发油中单体成分效应和总体效应之间的关系, 对木香挥发油、去氢木香内酯和木香烯内酯抑制血小板聚集活性进行了评价。结果表明木香挥发油、去氢木香内酯、木香烯内酯均有抑制 ADP 诱导的血小板聚集的活性, 在同等剂量

条件下, 木香挥发油活性优于木香烯内酯、去氢木香内酯单体化合物的活性; 且文献[12]报道  $\beta$ -榄香烯对血小板聚集也有一定的抑制作用。因此, 提示木香挥发油抑制 ADP 诱导的血小板聚集活性可能源于挥发油中内酯类、萜烯类等多种活性成分的综合效应, 挥发油中各成分间的协同作用及作用机制有待进一步深入研究。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 41-42.
- [2] 中国医学科学院药物研究所. 中药志[M]. (I), 北京: 人民卫生出版社, 1961. 107-114.
- [3] 徐叔云, 卞如濂, 陈修, 等. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 934-936.
- [4] 邱琴, 崔兆杰, 刘廷礼, 等. GC/MS 法测定木香挥发油化学成分[J]. 理化检验-化学分册, 2001, 37(8): 346-348.
- [5] 雷正杰, 张忠义, 王鹏, 等. 木香超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物化合物成分分析[J]. 中药材, 2002, 25(9): 642-643.
- [6] 何方奕, 张福维, 李铁纯, 等. 辽宁木香挥发油成分分析[J]. 辽宁农业科学, 1997, (1): 16-17.
- [7] 扬辉, 谢金伦. 云木香化学成分及药理作用研究概况[J]. 天然产物研究与开发, 1998, 10(2): 92-96.
- [8] Damre AA, Damre AS, Saraf MN. Evaluation of sesquiterpene lactone fraction of *Saussurea lappa* on transudative, exudative and proliferative phases of inflammation[J]. J. Phytother. Res, 2003, 17(7): 722-725.
- [9] Sun CM, Syu WJ, Don MJ, et al. Cytotoxic sesquiterpene lactones from the root of *Saussurea lappa*[J]. J. Nat. Prod, 2003, 66(9): 1175-80.
- [10] Lunar-Herrera J, Costa MC, Gonzalez HG, et al. Synergistic antimycobacterial activities of sesquiterpene lactones from *Laurus spp*[J]. J. Antimicrob. Chemother, 2007, 59(3): 548-52.
- [11] Jeong SJ, Itokawa T, Shibuya M, et al. Costunolide, a sesquiterpene lactone from *Saussurea lappa*, inhibits the VEGFR KDR/Flk-1 signaling pathway[J]. J. Cancer Lett, 2002, 187: 129-33.
- [12] 陆群, 朱路佳, 谢梅林, 等.  $\beta$ -榄香烯抑制大鼠血栓形成及其机理研究[J]. 中国现代应用药学志, 1999, 16(4): 13-15.