

·化学成分研究·

斜叶黄檀香材挥发油成分及抗氧化活性研究

赵维波¹, 张丹雁¹, 徐展翅¹, 莫伟²(1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 广州市合赢医药科技有限公司, 广东 广州 510410)

摘要: 目的 测定斜叶黄檀香材挥发油含量, 鉴定挥发油组分, 并评价其抗氧化能力。方法 采用水蒸气蒸馏法提取斜叶黄檀香材挥发油, 并应用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术分析其组分, 峰面积归一化法计算各组分的相对含量。利用清除 DPPH 自由基、过氧化氢及还原潜力测定斜叶黄檀香材挥发油抗氧化活性。结果 斜叶黄檀香材挥发油含量为 $(1.31 \pm 0.12)\% (V/m)$, 挥发油中共分离鉴定出 33 个组分, 主要为榄香素(89.74%)、甲基丁香酚(2.67%)及去氢白菖烯(2.12%)等。斜叶黄檀香材挥发油对 DPPH 自由基及过氧化氢自由基均表现出较强的清除作用, 其清除能力与挥发油呈良好的量效关系。结论 榄香素为斜叶黄檀香材挥发油的主要成分, 其总挥发油有良好的抗氧化活性。

关键词: 斜叶黄檀; 挥发油; 化学成分; 抗氧化活性

中图分类号: R284.2 文献标志码 A 文章编号: 1003-9783(2017)04-

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2017.04.

Study on Composition and Antioxidant Activity of Volatile Oil from *Dalbergia pinnata* Fragrance Ingredient

ZHAO Wei-bo¹, ZHANG Dan-yan^{1*}, XU Zhan-chi¹, MO Wei² (1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangdong guangzhou 510006; 2. Guangzhou Heying Medical Technology Co., Ltd. Guangdong guangzhou 510410)

Abstract: Objective To measure the contents of *Dalbergia pinnata* fragrance ingredient, identify the components of the volatile oil and evaluate its antioxidant activity. Method The volatile oil was extracted from *Dalbergia pinnata* fragrance ingredient by using water distillation, the chemical components of the volatile oil were examined by GC-MS and the relative contents of these components were determined with peak area normalization method. Then, the antioxidant activity was assessed by their scavenging rate of DPPH and H₂O₂ and their reduction potential. Result The content of volatile oils from *Dalbergia pinnata* fragrance ingredient was $1.31 \pm 0.12\%$ (mL/g) and 33 components were separated, the main of them were Elemicin (89.74%), Methyl Eugenol (2.67%) and Calamenene (2.12%). The volatile oils from *Dalbergia pinnata* fragrance ingredient could better scavenge DPPH and H₂O₂, and the dose-effect relationship between scavenging activity and concentration showed well. Conclusion Elemicin is the main component of the volatile oil from *Dalbergia pinnata* fragrance ingredient and the total volatile oil appears better antioxidant activity.

Key words: *Dalbergia pinnata*; fragrance ingredient; volatile oil; antioxidant activity

斜叶黄檀 *Dalbergia pinnata* (Lour.) Prain 为豆科黄檀属植物, 又名斜叶檀^[1], 主产于我国海南、广西、云南、西藏及缅甸、印度尼西亚等地区。《中国植物

志》中记载其“全株可药用, 治风湿、跌打、扭挫伤, 有消肿止痛之效”^[2], 因其木质部富含芳香树脂, 古代宫廷达官贵族曾将富含芳香树脂的香材用

收稿日期: 2017-01-14

作者简介: 赵维波, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药鉴定、质量标准及 GAP 研究。Email: 971786445@qq.com。通信作者: 张丹雁, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药鉴定、质量标准及 GAP 研究。Email: danyan64@gzucm.edu.cn。

基金项目: 广州中医药大学“高水平大学建设”项目(A1-AFD018161Z1521)。

作熏香原料,并称之为香品降真香^[3],同时古战场亦将香材用作止血药^[4]。通过民间走访调查了解到我国海南、云南等民间将斜叶黄檀香材视为珍品,常用于泡酒或单方应用,辅助治疗心血管疾病、糖尿病、呼吸道疾病、风湿痛、急性肠胃炎及跌打损伤、烧伤烫伤、蛇虫叮咬等外伤,具有悠久的民间药用历史。近年来,人们将斜叶黄檀香材用于提炼精油^[4]及制作文玩品,因此其具有药香两用及文玩收藏价值。目前关于斜叶黄檀的研究报道极少^[3],缺乏化学成分、药理药效等相关研究,本文对斜叶黄檀香材挥发油含量及其组分进行测定分析,并评价其抗氧化活性。

1 材料与仪器

1.1 材料 斜叶黄檀采自海南陵水吊罗山,经广州中医药大学张丹雁教授鉴定,为豆科黄檀属植物斜叶黄檀 *Dalbergia pinnata* (Lour.) Prain 的藤茎,去除皮部,取其富含树脂的香材做为实验用品。

1.2 仪器 安捷伦 7890B-5977A 型 GC-MS 联用仪、7693 型自动进样器(美国安捷伦有限公司);挥发油提取器(北京玻璃仪器厂);DS-1500A 型分析天平(佛山市拓普域电子有限公司);TC-15 型电加热套(海宁市华星仪器厂);Tu-1810 紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)

1.3 试剂 石油醚(沸程 30~60 ℃)、铁氰化钾、30%过氧化氢及磷酸氢二钠(分析纯,天津市致远化学试剂有限公司);无水硫酸钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);磷酸二氢钠、硫酸亚铁(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);无水乙醇、抗坏血酸、三氯化铁(分析纯,广州化学试剂厂);2,2-联苯基-1-苦基肼基(DPPH)(上海阿拉丁试剂公司)。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取 参照 2015 年版《中国药典》(四部)通则 2204 挥发油测定法^[5]。取斜叶黄檀香材样品适量,粉碎。称取粉末 50 g,置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,加 500 mL 水浸泡 1 h,提取约 4 h,至测定器中油量不再增加,停止加热,静置冷却,读取挥发油量,计算供试品中挥发油的百分含量 $(V/m) \times 100\%$ 。

2.2 挥发油化学成分的分析鉴定

2.2.1 GC-MS 条件 色谱条件:HP-5ms UI 型毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);载气:高纯度氮气;流速:1 mL·min⁻¹;进样口温度:250 ℃;升温程序:初始温度 100 ℃,保持 3 min,以 10 ℃·min⁻¹ 把温度

升至 145 ℃,保持 10 min,再以 10 ℃·min⁻¹ 把温度升至 180 ℃。进样量:1 μL,分流比 30:1。MS 条件:离子源温度:230 ℃·min⁻¹;接口温度:280 ℃;扫描范围(*m/z*):50~550;溶剂延迟 3 min。

2.2.2 供试品溶液制备 精密吸取斜叶黄檀香材挥发油 20 μL,加入适量石油醚稀释,混匀,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤即得供试品溶液。

2.2.3 样品测定 取 2.2.2 项下斜叶黄檀香材挥发油样品,按 2.2.1 项下分析条件精密吸取 1 μL 进样。通过计算机自动检索与标准图谱(NIST14 标准谱库)对照,对挥发油化学组分进行鉴定,并用色谱峰面积归一化法计算各成分的相对百分含量。

2.3 挥发油抗氧化活性测定

2.3.1 清除 DPPH 自由基活性^[6] 取不同浓度挥发油(0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0 mg·mL⁻¹)溶液各 2.0 mL,分别加入 0.25 mmol·L⁻¹ DPPH 乙醇溶液 1.0 mL,振荡混合,室温静置 2 h 后,在波长为 517 nm 条件下测吸光度值(*A_s*),以 2.0 mL 无水乙醇代替挥发油溶液测(*A₀*)值,以 1.0 mL 无水乙醇代替 DPPH 溶液测(*A_b*)值。以抗坏血酸(*V_c*)为阳性药。按公式(1)计算 DPPH 自由基清除率:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_s - A_b}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

2.3.2 清除过氧化氢自由基活性^[7] 取不同浓度挥发油(0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg·mL⁻¹)溶液各 1.0 mL,分别加入 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(pH=7.4) 2.4 mL 及 40 mmol·L⁻¹ H₂O₂ 溶液 0.6 mL。混合均匀,室温静置 10 min 后于 230 nm 条件下测吸光度值 *A₁*,以 1.0 mL 无水乙醇代替挥发油溶液测吸光度值 *A₀*,以 0.6 mL 水代替 H₂O₂ 溶液吸光度值 *A₂*。以抗坏血酸(*V_c*)为阳性药。按公式(2)计算过氧化氢自由基清除率:

$$\text{过氧化氢清除率}(\%) = \frac{A_0 + A_1 + A_2}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

2.3.3 还原力测定^[7] 取不同浓度挥发油(0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg·mL⁻¹)溶液各 1.0 mL,分别加入 0.2 mmol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(pH=6.6) 2.5 mL 和 1% 铁氰化钾溶液 2.5 mL,混匀。50 ℃ 恒温水浴 20 min,取出后迅速冰水冷却,再加入 10% 三氯乙酸溶液 2.5 mL,混匀。加入 0.1% 三氯化铁溶液 1.0 mL,混匀总体积,室温放置 10 min 后于波长 700 nm 条件下测吸光度值 *A₁*,以 1.0 mL 无水乙醇代替挥发油溶液测吸光度值 *A₂*。按公式(3)计算挥发油还原力:

$$\text{还原力} = A_1 - A_2 \quad (3)$$

2.4 斜叶黄檀香材挥发油含量及其组分 水蒸气蒸馏法法提取斜叶黄檀香材挥发油的含量为~~(1.31±0.12)% (V/m)~~_R GC-MS 法从斜叶黄檀香材挥发油中共鉴定出 33 种化学成分, 总离子流色谱图见图 1。

斜叶黄檀香材挥发油其主要成分共 18 种。经色谱峰面积归一化法计算得出各化学成分的相对百分含量, 见表 1。斜叶黄檀香材挥发油主要成分为榄香素, 含量高达 89.74 %。挥发油中含量较高还有甲基丁香酚(2.67 %)、去氢白菖烯(2.12 %)、β- 古巴烯(0.52 %)、双环吉马烯(0.51 %)等。

2.5 斜叶黄檀香材挥发油抗氧化活性测定

2.5.1 清除 DPPH 自由基活性 斜叶黄檀香材挥发油对 DPPH 自由基的清除率总体呈现明显的量效关系。当浓度高于 16 mg·mL⁻¹ 时, 其对 DPPH 自由基的清除作用与 VC 接近, 见图 2。

表 1 斜叶黄檀香材 GC-MS 分析挥发油主要组分及其相对含量

Table 1 The main components and relative content of the volatile oil from the aroma wood of *Dalbergia pinnata* (Lour.) Prain are analyzed by GC-MS

序号	保留时间 / min	化学成分	分子式	相对含量 /%
1	3.837	水杨醛(Salicylaldehyde)	C ₇ H ₆ O ₂	0.15
2	4.483	芳樟醇(Linalool)	C ₁₀ H ₁₈ O	0.10
3	7.172	桂皮醛(cinnamaldehyde)	C ₉ H ₈ O	0.13
4	7.422	威士忌内酯(Whisky lactone)	C ₉ H ₁₆ O ₂	0.41
5	8.574	卡拉烯(Calamenene)	C ₁₅ H ₂₄	0.17
6	9.295	甲基丁香酚(Methyleugenol)	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	2.67
7	9.398	4- 羟基 -3- 丙基 - 苯甲酸(Benzoic acid,4-hydroxy-3-propyl-)	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	0.29
8	9.707	β- 倍半水芹烯(β-Sesquiphellandrene)	C ₁₅ H ₂₄	0.19
9	10.148	萜澄茄油烯(Cubenene)	C ₁₅ H ₂₄	0.11
10	11.131	β- 古巴烯(β-Copaene)	C ₁₅ H ₂₄	0.52
11	11.357	双环吉马烯(Bicyclogermacrene)	C ₁₅ H ₂₄	0.51
12	12.391	α- 蛇床烯(α-Selinene)	C ₁₅ H ₂₄	0.13
13	12.804	去氢白菖烯(Calamenene)	C ₁₅ H ₂₂	2.12
14	13.655	榄香素(Elemicin)	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	89.74
15	13.715	2,3,4- 三甲氧基苯乙酮(2',3',4' Trimethoxyacetophenone)	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	0.46
16	15.584	(-)- 表雪松醇((-)-Epicedrol)	C ₁₅ H ₂₆ O	0.16
17	18.227	臭根醇(Intermedeol)	C ₁₅ H ₂₆ O	0.32
18	19.286	卡达蔡(Cadalin)	C ₁₅ H ₁₈	0.12

2.5.2 清除过氧化氢自由基活性 在浓度为 0.25~8 mg·mL⁻¹ 时, 挥发油对过氧化氢自由基的清除率随着浓度的升高而升高。但在同等浓度下, 过氧化氢自由基清除作用显著弱于 V_C。斜叶黄檀香材挥发油清除过氧化氢自由基的 IC₅₀=8.625 mg·mL⁻¹, 高于 VC (0.336 mg·mL⁻¹), 见图 3。

2.5.3 还原力测定 挥发油的还原能力与其浓度大小关系密切。随着挥发油浓度的升高, 吸光度值也逐

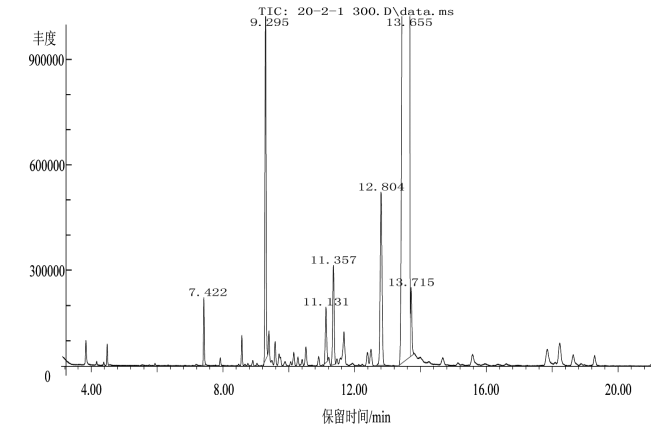


图 1 斜叶黄檀香材挥发油GC-MS 总离子流图
Figure 1 GC-MS total ion flow chart of volatile oil from the aroma wood of *Dalbergia pinnata*(Lour.) Prain

渐升高, 表明其还原能力与浓度呈量效关系, 见图 4。说明斜叶黄檀香材挥发油具有良好的还原能力。

3 讨论

本文首次对斜叶黄檀香材挥发油化学组分及其抗氧化活性进行了报道, 其挥发油经 GC-MS 法测定, 榄香素为其主要成分, 相对百分含量为 89.74 %, 其次为甲基丁香酚(2.67 %)和去氢白菖烯(2.12

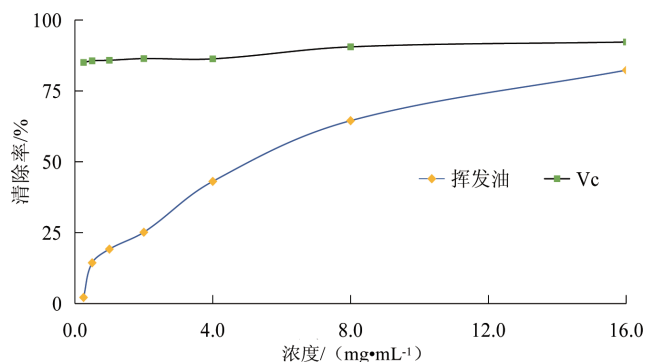


图 2 斜叶黄檀香材挥发油对 DPPH 自由基清除能力

Figure 2 The energy of the volatile oil from the aroma wood of *Dalbergia pinnata*(Lour.) Prain to the DPPH free radicals

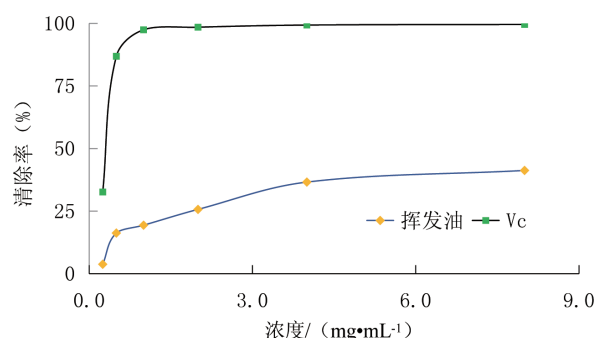


图 3 斜叶黄檀香材挥发油对过氧化氢自由基清除能力

Figure 3 The ability of the volatile oil from the aroma wood of *Dalbergia pinnata*(Lour.) Prain to clean up hydrogen peroxide

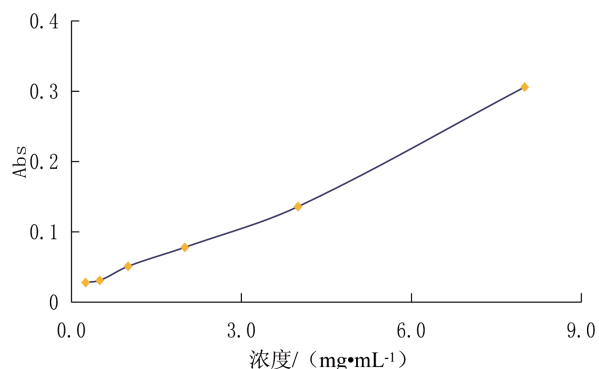


图 4 斜叶黄檀香材挥发油还原能力

Figure 4 The reducing power of the volatile oil from the aroma wood of *Dalbergia pinnata*(Lour.) Prain

%)。通过经典体外抗氧化实验方法测定斜叶黄檀挥发油的抗氧化活性,均提示斜叶黄檀香材挥发油具有良好的抗氧化活性。而多种提取方法提取的斜叶黄檀香材挥发油化学组分及其抗氧化活性未见报道,有待进一步研究。

文献资料表明,榄香素具一定的抗细菌及真菌活性^[8-9]、潜在的抗肺炎及舒张血管作用^[10-11];甲基丁香酚具镇静、镇痛、降压、抑菌、抗氧化、杀虫^[12]作

用;去氢白菖烯具强效的抗菌及抗肿瘤作用^[13],威士忌内酯^[14]、芳樟醇^[15]及桂皮醛^[16]亦具较强的抗菌、抗炎、抗氧化及抗病毒作用。基于上述油中各组分的药理活性报道,笔者认为斜叶黄檀香材在民间被单方用于辅助治疗心血管疾病可能与榄香素、甲基丁香酚等化学成分的舒张血管、镇静、镇痛及降压药理活性有关,而民间用于治疗呼吸道疾病、急性肠胃炎、风湿痹痛、跌打损伤、烧烫伤等疾病可能与上述多种成分具有抗菌、抗炎、抗氧化及抗病毒等药理活性有关联。而油中尚未找到与治疗糖尿病相关的可能性组分,霍丽妮等^[17]研究发现与斜叶黄檀同科属的两粤黄檀中黄酮类化合物具有优异的抗氧化能力及 α -葡萄糖苷酶抑制活性,因此有必要对斜叶黄檀的黄酮类、多糖等成分做进一步研究,以期探索斜叶黄檀更多有效的活性物质成分,为深入开发药用植物新资源奠定基础。

参考文献:

- [1] 陈焕镛. 中国科学院华南植物研究所. 海南植物志(第2卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1965: 287.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第40卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 101.
- [3] 张丹雁, 高世军, 张雷, 等. 海南民族习用香药两用降真香的原植物品种鉴定[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(29): 147-150.
- [4] 梁居红, 杜丽敏, 麦有专, 等. 海南霸王岭的斜叶檀野生资源调查[J]. 热带林业, 2015, 43(3): 34-35.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 附录 203.
- [6] 张婷婷, 郭夏丽, 黄学勇, 等. 辛夷挥发油 GC-MS 分析及其抗氧化、抗菌活性[J]. 食品科学, 2016, 37(10): 144-150.
- [7] 陈建平, 苏健裕, 陈玲, 等. 梅片树叶挥发油的抗氧化活性研究[C]. 中国农业工程学会农产品加工及贮藏工程分会学术年会暨华南地区农产品加工产学研研讨会. 2010: 149-151.
- [8] ROSSI P G, BAO L, ANNE LUCIANI A, et al. (E)-Methylisoeugenol and Elemicin: ? Antibacterial Components of *Daucus carota* L. Essential Oil against *Campylobacter jejuni* [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2007, 55 (18): 7332-7336.
- [9] JAYASINGHE L, KUMARIHAMY B M M, JAYARATHNA K H R N, et al. Antifungal constituents of the stem bark of *Bridelia retusa* [J]. Phytochemistry, 2003, 62(4): 637-641.
- [10] GRICE I D, ROGERS K L, GRIFFITHS L R. Isolation of bioactive compounds that relate to the anti-platelet activity of *Cymbopogon ambiguus*[J]. Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM, 2011, 2011(11): 467134.
- [11] JAI L H, WAN W K, RO L K, et al. Inhibition of Proinflammatory Cytokine Generation in Lung Inflammation by the Leaves of *Perilla frutescens* and Its Constituents [J]. Biomolecules & Therapeutics, 2014, 22(1): 62-67.

- [12] 周慧秋, 于滨, 乔婉红, 等. 甲基丁香酚药理作用研究[J]. 中医药学报, 2000(2): 79-80.
- [13] LIN J, DOU J, XU J, et al. Chemical composition, antimicrobial and antitumor activities of the essential oils and crude extracts of *Euphorbia macrorrhiza*[J]. *Molecules*, 2012, 17(5): 5030-5039.
- [14] 林翔云. 天然芳樟醇与合成芳樟醇[J]. 化学工程与装备, 2008(7): 23-28.
- [15] MASSON E, BAUMES R, GUERNEV é C L, et al. Identification of a Precursor of β -Methyl- γ -octalactone in the Wood of Sessile Oak (*Quercus petraea* (Matt.)Liebl.) [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2000, 48(9): 4306-4309.
- [16] 张利青, 张占刚, 付岩, 等. 桂皮醛药理作用的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(23): 4568-4572.
- [17] 霍丽妮, 刘华钢, 廖艳芳, 等. 两粤黄檀体外抗氧化及 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 242-244.

(编辑: 梁进权)