

天竺桂挥发油化学成分及抑菌活性研究

蔡建秀*, 尤祖卿, 黄晓冬, 吴政声

(泉州师范学院生物系, 福建泉州 362000)

摘要: 用水蒸馏法提取天竺桂(*Cinnamomum japonicum* Sibe)挥发油,并用 GC-MS 分析化学成分,用滤纸片法测其抑菌活性。结果表明,从天竺桂挥发油中分离出 27 种化学成分,以冰片为主要成分,占 26.03%;抑菌实验中,挥发油对大肠杆菌、枯草杆菌和金黄色葡萄球菌都有明显的抑菌作用。

关键词: 天竺桂;挥发油;抑菌活性;气相色谱-质谱

中图分类号:Q946

文献标识码:A

文章编号:1005-3395(2006)05-0403-06

Bioactive Essential Oils from *Cinnamomum japonicum* Sibe

CAI Jian-xiu*, YOU Zu-qing, HUANG Xiao-dong, WU Zheng-sheng

(Department of Biology, Quanzhou Normal College, Quanzhou 362000, China)

Abstract: The essential oils were extracted from the aerial parts of *Cinnamomum japonicum* Sibe by steam distillation and determined by GC-MS. Twenty-seven chemicals were isolated. Borneol was the major component accounting for 26.03% of the total oil. The essential oils exhibited significant activity against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* in the filter paper assay.

Key words: *Cinnamomum japonicum* Sibe; Essential oils; Bioactivity; GC-MS

天竺桂(*Cinnamomum japonicum* Sibe)为樟科樟属植物,又名竺香、山肉桂、土肉桂、山桂皮。为常绿乔木,高达 15 m,树冠广卵形,树皮灰绿色、平滑,小枝无毛。叶革质,近对生,卵状长圆形或长圆状披针形,离基三出脉,中脉、侧脉两面凸起,叶背灰绿色,无毛,叶柄无毛,树皮和叶均有香味及辛辣味。花序腋生。果长圆形,紫黑色。花期 4-5 月;果期 7-9 月。天竺桂树姿蔚秀,树皮和叶散发怡人香味,为良好的观赏树、保健树以及营造混交林和隔离防护林的树种。产于我国江苏南部、安徽南部、浙江、湖北东南部、江西、福建和台湾等地。朝鲜、日本也有分布^[1]。目前有关于植物挥发油的研究报道比较多^[2-6],但对天竺桂挥发油的研究尚未见报道,本文用水蒸汽蒸馏的方法提取天竺桂枝、叶、花的挥发油,采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对其化学成分

进行鉴定分析,并对叶片中挥发油进行抑菌活性研究,以期为进一步开发利用这一丰富的野生植物资源提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

天竺桂(*Cinnamomum japonicum* Sibe)叶、花、枝条采自泉州师范学院校园绿化带,用清水洗净,自然阴干,磨成粉末,过筛,备用。原植物凭证标本存于泉州师范学院生物系植物标本室。所用试剂均是分析纯。

1.2 挥发油的提取

精确提取 50 g 样品(天竺桂枝、叶、花),以磨口挥发油提取装置,用水蒸汽蒸馏法提取^[7],蒸馏时

收稿日期:2006-03-30 接受日期:2006-06-26

基金项目:泉州市科技局基金项目(2004Z23);泉州师范学院生物化学与分子生物学重点学科资助

* 通讯作者 Corresponding author

间 4 h, 得黄色挥发油, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 供 GC-MS 分析。

1.3 GC-MS 仪器与分析条件

用美国 Finnigan TRACE DSQ GC/MS, 气相色谱四杆质谱联用仪。色谱柱: HP-5MS (0.25 mm × 30 mm × 0.25 μm) 及 HP FFAP (0.32 mm × 30 mm × 0.25 μm) 串联使用。程序升温条件: 初温 80°C (1 min), 以 8°C min^{-1} , 升温至 150°C, 保持 5 min, 再以 5°C min^{-1} , 升温至 250°C, 维持 50 min。载气: 氮气, 0.8 ml min^{-1} , 分流比 50:1, 进样量: 0.1–0.2 μl , EI 离子源, 电子能量 70 eV, 离子源温度: 250°C, 质量范围: 40–450 amu, 检索谱库: mainlibrary, 面积归一化法计算各成分相对含量。

1.4 抑菌试验

1.4.1 供试菌种

细菌: 大肠杆菌 (*Escherichia coli*), 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*), 枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*); 霉菌: 黑曲霉 (*Aspergillus niger*)。以上菌种均由泉州师范学院生物系微生物实验室提供。

1.4.2 配制菌悬液

采用平板菌落计数法^[9]。将受试菌在斜面培养基上活化 2–3 代后, 用接种环从斜面上轻刮菌苔一环, 分别收集到内盛 10 ml 无菌水的小三角瓶中, 配成终浓度为 10^6 个 ml^{-1} 的菌悬液, 备用。

1.4.3 抗菌活性的测定

挥发油和抗生素稀释液 挥发油因不溶于水, 以无水乙醚为溶剂。挥发油浓度依次设为 50%, 25%, 12.5%, 6.25%。相对应的含无水乙醚的浓度为 50%, 75%, 87.5%, 93.75%。抗生素中青霉素钠[福建汇天生物药业有限公司生产, 80×10^4 U (2 ml)⁻¹]; 乳糖酸红霉素[大连美罗药厂生产, 25×10^4 U (2 ml)⁻¹]; 硫酸庆大霉素[大连美罗药厂生产, 8×10^4 U (2 ml)⁻¹] 均用无菌水稀释成 50%、25%、12.5%、6.25%。不同浓度梯度的挥发油和抗生素混合液用上面所配的不同浓度梯度的挥发油溶液和相同浓度梯度的抗生素溶液等量混合而成。

抗菌活性测定 用吸水力较强而质地均匀的双层滤纸, 用打孔器打成直径 6 mm 的圆形滤纸片, 置洁净干燥的试管内, 120°C 干燥灭菌 2 h。各不同浓度的挥发油和挥发油与抗生素混合液稀释好后, 每张滤纸片加入 10 μl 的相对应的稀释液, 同时

制作含有相对应浓度乙醚液的圆形滤纸片作为对照^[9-11]。每张滤纸片中所含的抗生素 ($\times 10^4$ U) 和挥发油 (μl) 的含量见表 4。用无菌移液枪吸取菌液 0.2 ml, 将其均匀地涂布于平板表面^[10-11], 在每培养皿贴 1 片已含挥发油稀释液的滤纸片。细菌在 37°C 恒温倒置培养 24 h, 霉菌在 28°C 恒温倒置培养 48 h, 观察抑菌情况, 并用游标卡尺测量抑菌环直径, 每种菌重复实验 3 个平板, 计算其平均值。

2 结果和分析

2.1 挥发油提取率及理化常数

水蒸汽蒸馏法提取天竺桂叶挥发油, 约 4 h 可基本提取完全, 得油率 1.034%。经无水 Na_2SO_4 干燥后, 为黄色液体, 有浓郁香味且香味持久。同时, 用水蒸汽蒸馏法蒸馏枝和花, 结果枝条含油率 0.592% 左右; 花不含挥发油。天竺桂挥发油以叶的含量最高(表 1)。

表 1 天竺桂不同部位挥发油比较

Table 1 Essential oils from different parts of *Cinnamomum japonicum*

部位 Part	得油率 Yield (%)	密度 Density (g ml^{-1})	颜色 Color
叶片 Leaf	1.034	0.82	黄色 Yellow
枝条 Twig	0.592	0.85	淡黄色 Light yellow
花 Flower	—	—	—

2.2 天竺桂叶挥发油的化学成分分析

经 GC-MS 分析, 从挥发油中共检出了 27 个化学成分, 占总挥发油的 83.39%。其中以冰片 (Bornel) 为主要成分, 占 26.03%; 其次为 1H-Cycloprop(e)azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene, [1ar-(1 α ,4 α ,7 β ,7a β ,7b α)]-, 占 10.57%; 桉叶油素 (Cineole) 占 7.15%。3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methyl)- 占 5.64% (表 2)。总离子流气相色谱图见图 1。

2.3 天竺桂叶挥发油的抗菌活性

从抑菌实验结果看, 天竺桂叶挥发油对大肠杆菌、枯草杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径达 48 mm、46 mm、46 mm (表 3), 有很强的抑菌活性。且挥发油浓度越大, 抑菌作用越强。但对霉菌的黑曲霉无抑菌效果。从表 3、4 中我们可以看出青霉素

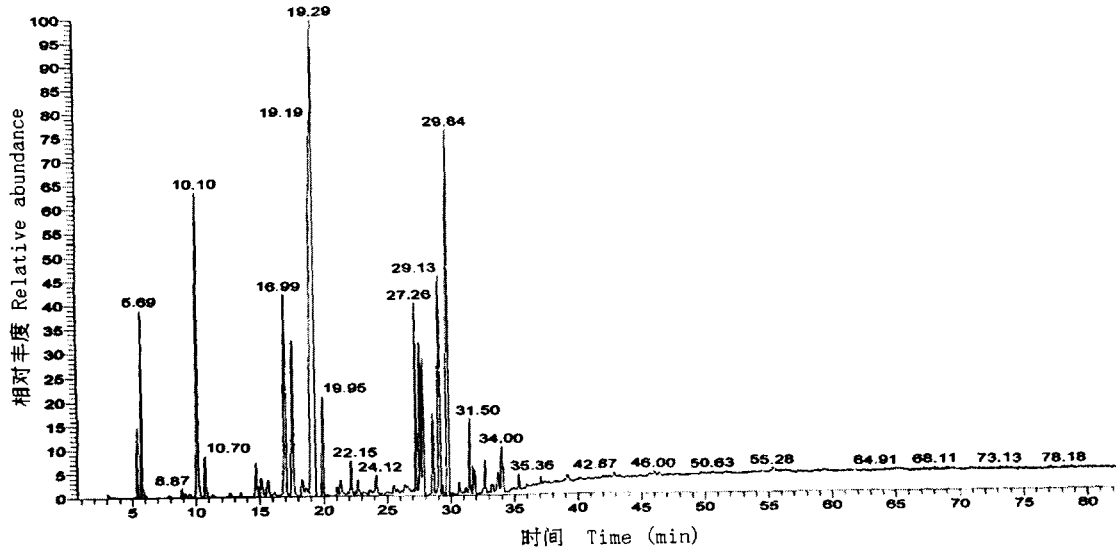


图 1 天竺桂叶挥发油总离子流相色谱图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of essential oils from leaves of *Cinnamomum japonicum* Sibe

表 2 天竺桂叶挥发油的主要化学成分与含量

Table 2 Major oils from *Cinnamomum japonicum* Sibe leaves and their contents

序号 No. of peaks	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compounds	与标准谱图的 匹配度 Similitile (%)	相对含量 Relative content (%)
1	8.87	2-Thujene	88	0.19
2	10.1	桉叶油素 Cineole	86	7.15
3	10.7	邻伞花烃 o-Cymene	90	0.87
4	14.58	苯甲醛 Benzaldehyde	86	0.81
5	14.7	β-里那醇 β-Linalool	89	
6	15.11	癸醛 n-Decaldehyde	84	0.65
7	15.53	Bicyclo(2.2.1)heptan-2-one,1,7,7-trimethyl	88	-
8	15.66	2-Cyclohexen-1-ol,1-methyl-4-(1-methylethyl)-	81	0.54
9	16.99	3-Cyclohexen-1-ol,4-methyl-1-(1-methyl)-	91	5.64
10	17.59	冰片醋酸酯 Bornyl acetate	91	4.8
11	19.29	冰片 Borneol	90	26.03
12	19.95	石竹烯 Caryophyllene	92	2.45
13	21.05	4-Hexen-1-ol,5-methyl-2-(1-methylethenyl)-,acetate	80	0.18
14	21.34	α-石竹烯 α-Caryophyllene	85	0.45
15	22.15	牻牛儿醇 cis-Geraniol	77	0.8
16	22.67	Cyclohexane,1-ethyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-	73	0.44
17	24.13	Bicyclo(4,1,0)heptane-7-methanol,1,5,5-trimethyl-2-methylene-(1α,6α,7α)-	73	0.56
18	27.26	肉桂醛 Cinnamaldehyde	91	2.79
19	27.84	氧化石竹烯 Caryophyllene oxide	89	3.26
20	28.6	3,7-Cyclodecadiene-1-methanol,α,α,4,8-tetramethyl-(s-(Z,Z))	88	1.69
21	29.13	愈创酚 Guaiol	91	5.9
22	29.80	1H-Cycloprop(e)azulen-7-ol,decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene,[1ar-(1aα,4aα,7β,7aβ,7bα)]-	92	10.57

续表 2(Continued)

序号 No. of peaks	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compounds	与标准谱图的 匹配度 Similitile (%)	相对含量 Relative content (%)
23	30.64	5-Azulenemethanol,1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro- α , α ,3,8-tetramethyl-	77	0.27
24	31.50	(-)-Spathulenol	79	1.67
25	32.72	Tetracyclo(6.3.2.0(1,8))tridecan-9-ol,4,4-dimethyl-	84	0.83
26	34.01	Isoaromadendrene epoxide	78	1.45
27	35.36	香豆素 Coumarin	84	0.32
28	-	其他未知物 Unknwed	-	19.69

钠单独使用(0.4×10^4 U)时对枯草杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑菌圈直径分别是 48 mm、47 mm、48 mm, 天竺桂叶挥发油(100%)对这 3 种菌的抑菌圈直径是 46 mm、46 mm、48 mm, 而天竺桂叶挥发油与青霉素钠等量合用的抑菌圈直径分别

是 49 mm、48 mm、48 mm。乳糖酸红霉素和硫酸庆大霉素也是如此, 可见天竺桂叶挥发油与各类抗生素合用的抑菌圈大于同浓度挥发油和抗生素单独使用的抑菌圈。

表 3 天竺桂叶挥发油的抑菌圈直径(mm)

Table 3 Inhibition zone diameters (mm) at different concentrations of essential oils from *Cinnamomum japonicum* Sibe leaves

试验菌 Bacteria	挥发油稀释液 Concentration of essential oils (%)					
	100	50	25	12.5	6.25	0
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	48	42	33	30	26	13
枯草杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	46	40	34	30	25	12
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	46	43	32	28	25	12
黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>	—	—	—	—	—	—

“—”表示无抑菌环 No inhibition zone

表 4 天竺桂挥发油与几种抗生素抑菌效果比较

Table 4 Comparison of bioactivity between antibiotics and essential oils from *Cinnamomum japonicum* Sibe

抗生素 Antibiotics	抗生素含量 Antibiotic content ($\times 10^4$ U)	挥发油含量 Essential oil content (μ l)	抑菌圈直径 Inhibition zone diameters (mm)		
			大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	枯草杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>
青霉素钠 Penicillin Na	0.4		48	48	47
	0.2		44	43	43
	0.1		40	38	38
	0.05		36	34	33
	0.025		30	30	29
	0.2	5	48	49	48
	0.1	2.5	45	45	44
	0.05	1.25	42	42	40
	0.025	0.625	38	36	36
	0.125	0.3125	32	30	30
乳糖酸红霉素 Lactose sour erythromycin	0.1		45	44	45
	0.05		42	40	42

续表4 (Continued)

抗生素 Antibiotics	抗生素含量 Antibiotic content ($\times 10^4$ U)	挥发油含量 Essential oil content (μ l)	抑菌圈直径 Inhibition zone diameters (mm)		
			大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	枯草杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>
乳糖酸红霉素 Lactose sour erythromycin	0.025		38	36	37
	0.0125		33	32	32
	0.00625		28	29	28
	0.05	5	46	49	45
	0.025	2.5	42	40	40
	0.0125	1.25	38	37	36
	0.00625	0.625	34	34	32
	0.003125	0.3125	30	30	28
硫酸庆大霉素 Gentamycin sulfate	0.04		44	43	42
	0.02		41	40	38
	0.01		36	35	32
	0.005		30	30	28
	0.0025		26	25	25
	0.02	5	45	46	44
	0.01	2.5	42	42	41
	0.005	1.25	38	37	36
	0.0025	0.625	34	34	32
	0.00125	0.3125	30	30	28

3 讨论

天竺桂叶挥发油含量较高,接近于龙脑樟型樟树叶的含量 ($2.057 \pm 0.467\%$)^[12]。并从表1可以看出天竺桂挥发油以叶的含量最高,达1.034%。其挥发油含量还是相当可观的。

天竺桂叶挥发油化学成分以冰片(Bornel)为主要成分,占26.03%。这与龙脑樟型樟树所含主要成分相似^[12],其次为1H-Cycloprop(e)azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene [(1ar-(1 α , 4 α , 7 β , 7a β , 7b α)]-,占10.57%。桉叶油素(Cineole)占7.15%。3-Cyclohexen-1-ol,4-methyl-1-(1-methyl)-占5.64%。冰片是一种有效的透皮吸收促进剂。冰片具有开窍醒神,清热止痛。用于热病神昏、痉厥,中风痰厥,气郁暴厥,中恶昏迷,目赤,口疮,咽喉肿痛,耳道流脓,有很强的抗菌作用^[13,16]。桉叶油素是世界十大精油品种之一,用途非常广泛,可用于配制化妆品、牙膏、香皂、洗涤剂、口腔清洁剂、室内清洁剂、口香糖等的香精,还可以作驱风膏等的药用原料^[14-16]。这预示着天竺桂叶挥发油具有一定的应

用价值。

天竺桂叶挥发油具有较强的抗菌活性,对几种供试菌都表现较强的抗菌作用。其抑菌效果已接近于 40×10^4 U ml⁻¹的青霉素钠、 10×10^4 U ml⁻¹的乳糖酸红霉素和 4×10^4 U ml⁻¹的硫酸庆大霉素。与目前所检索到的资料进行比较,天竺桂叶挥发油抑菌效果属于很好的,且挥发油浓度越大,抑菌作用越强,对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都有较强的抑菌效果,说明具有广谱抗菌性。天竺桂叶挥发油对耐药性较强的金黄色葡萄球菌也具较好的抑菌效果,但对于黑曲霉的抑菌效果则不明显。天竺桂挥发油与抗生素合用的抑菌效果比单独使用挥发油或抗生素药物的效果会更好些,说明挥发油与抗生素之间可能存在协同作用。较强的抑菌效果可能与挥发油成分中具较高含量的冰片有关。

参考文献

- [1] 福建省科学技术委员会《福建植物志》编写组. 福建植物志 第2卷[M]. 福州:福建科学技术出版社,1982. 103-104.
- [2] Yang X W(杨秀伟), Liu Y F(刘玉峰), Tao H Y(陶海燕), et al. GC-MS analysis of essential oils from Radix Angelicae Pubescentis

- [J]. *Chin J Chin Mat Med* (中国中药杂志), 2006, 31(8):663-666.(in Chinese)
- [3] Liu Y(刘颖), Zhang Y H(张援虎), Shi R B(石任兵). Studies on the chemical constituents in herb of *Mentha haplocalyx* [J]. *Chin J Chin Mat Med* (中国中药杂志), 2005, 30(14):1086-1088.(in Chinese)
- [4] Tian G H(田光辉), Li B L(李宝林), Wang W(王伟), et al. Components of the essential oil in *Isodon henryi* (Hemsl) Kudo [J]. *Acta Bot Borea-Occid Sin*(西北植物学报), 2005, 25(12):2543-2548.(in Chinese)
- [5] Yuan D M(袁冬梅), Yang L J(杨玲娟), Yan S C(闫世才). Chemical components of volatile oil in the leaves of the Chinese medicinal herb *Pistacia chinensis* Bunge [J]. *Acta Bot Borea-Occid Sin* (西北植物学报), 2005, 25(12):2539-2542.(in Chinese)
- [6] 张海松, 岳宜峰, 张志琪. 猫爪草挥发油的提取及其化学成分的 GC-MS 分析 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(7):609-611.
- [7] 张永萍, 林亚平, 邱德文, 等. 大果木姜子挥发油的提取工艺研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(14):1120-1122.(in Chinese)
- [8] Fan X R(范秀容), Li G W(李广武), Shen P(沈萍). *Experiments in Microbiology* [M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 1989. 260.(in Chinese)
- [9] Zeng L B(曾令冰). Methods for measuring the effects of antibacterial medicines from aquatic products [J]. *Fish Sci Techn Inform*(水产科技情报), 1997, 24(1):23-24.(in Chinese)
- [10] Chen B H(陈炳华), Wang M C(王明慈), Liu J Q(刘剑秋). Chemical constituents of the volatile oil from the roots of *Peucedanum praeruptorum* and its antibacterial activities [J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报), 2002, 10(4):366-370.(in Chinese)
- [11] Huang X D(黄晓冬), Liu J Q(刘剑秋). Chemical composition and antibacterial activities of the essential oil from the leaves of *Syzygium buxifolium* [J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报), 2004, 12(3):233-236.(in Chinese)
- [12] Sun L F(孙凌峰), Zhou C J(周传军), Peng C Y(彭春耘). Synthesis of endo-isocamphanlylmethyl cyanide [J]. *J Jiangxi Norm Univ*(江西师范大学学报), 1995, 19(4):347-354.(in Chinese)
- [13] Tabanca N, Kirimer N, Demirci B, et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristata* subsp. *phyrgia* and the enantiomeric distribution of borneol [J]. *J Agri Food Chem*, 2001, 49:4300-4303.
- [14] Pattnaik S, Subramanyam V R, Bapaji M, et al. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils [J]. *Microbios*, 1997, 89:39-46.
- [15] Tzakou O, Pitarokili D, Chinou I B, et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Salvia ringens* [J]. *Planta Med*, 2001, 67:81-83.
- [16] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典第 1 部 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 化学工业出版社, 1985. 118-119, 239-240.