

钻地风挥发油化学成分及抗炎活性的研究

曾 光¹, 梁清华^{1*}, 刘 韶², 吴汉军¹, 游万辉¹

¹中南大学湘雅医院中西医结合研究所; ²中南大学湘雅医院药剂科, 长沙 410008

摘 要: 为了研究钻地风挥发油的化学成分及其抗炎药效, 我们采用水蒸气蒸馏法提取钻地风挥发油并用气相色谱-质谱 (GC-MS) 技术分析, 分别用佛波酯醇 (PMA) 或二甲苯 (xylene) 诱导小鼠耳肿胀, 在致炎部位外涂钻地风挥发油以观察疗效。从钻地风挥发油中分离并鉴定了 24 个组分, 占总峰面积含量的 96.01%, 主要由萜类、芳香烃类成分构成, 分别为 (E)-1, 2-亚甲二氧基-4-丙烯基苯 (23.47%), 桉树脑 (11.503%), 芳樟醇 (9.558%), β -松油醇 (9.201%), α -蒎烯 (7.185%) 等, 实验显示钻地风挥发油外用可以显著抑制佛波酯醇或二甲苯诱导的小鼠耳肿胀。

关键词: 钻地风; 挥发油; 气-质联用; 抗炎

中图分类号: R284.1; Q946

文献标识码: A

Chemical Constituents and Anti-inflammation Effect of the Essential Oil in *Schizophragma integrifolium*

ZENG Guang¹, LIANG Qing-hua^{1*}, LU Shao², WU Han-jun¹, YOU Wan-hui¹

¹ Institute of Integrative Medicine, Xiangya Hospital, Central South University;

² Department of Pharmaceutical Preparation Section, Xiangya Hospital, Changsha 410008, China

Abstract: To study the chemical components and the anti-inflammation effect of the essential oil from *Schizophragma integrifolium*, the essential oil was extracted by steam distillation and analyzed by GC-MS technique. Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) or xylene was used to induce inflammatory on the ear of mouse. 24 components were isolated and identified which accounted for 96.01% of the total contents of the essential oil. The essential oil significantly inhibited the inflammatory that caused by PMA or xylene. The essential oil from *Schizophragma integrifolium* was mainly consisted of terpenoid and aromatic hydrocarbon, and the oil has the effects of anti-inflammatory.

Key words: *Schizophragma integrifolium*; essential oil; GC/MS; anti-inflammatory

钻地风 (*Schizophragma integrifolium*) 为虎耳草科钻地风属植物钻地风的根皮, 产于湖南、湖北、浙江等地。味淡, 性凉, 具有舒筋活络, 祛风活血的功能。临床常用于治疗风湿筋骨痛, 四肢关节酸痛。目前国内外未见有关钻地风化学成分及其挥发油的报道, 本实验用水蒸气法从湖南产钻地风中提取挥发油, 采用 GC-MS 联用技术分析其化学成分, 并且初步研究了钻地风油的抗炎活性。

1 实验器材

1.1 药材

钻地风药材购于湘雅医院药剂科中药房, 经中

南大学生药教研室鉴定为虎耳草科钻地风属植物钻地风 (*Schizophragma integrifolium*) 的根皮。

1.2 实验动物

Balb/c 小鼠, 雄性, 6~8 周, 由中南大学动物学部提供。

1.3 仪器与试剂

HP5890GC-HP5973MS 型气相色谱-质谱联用仪 (美国惠普公司); 佛波酯醇 (phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA, Biovision 公司); 吡哆美辛 (Sigma 公司)。其他试剂均为国产分析纯。

2 实验方法

2.1 挥发油的提取

称取钻地风药材 300 g, 加入蒸馏水 2400 mL, 参照药典的方法^[1], 于挥发油提取器上提取 8 h, 将所得挥发油用少量乙醚溶解, 无水硫酸钠脱水, 挥去乙醚, 得

收稿日期: 2008-02-27 接受日期: 2008-04-02

基金项目: 国家自然科学基金 (30371833); 湖南省科学技术厅科技计划项目 (2007SK3030)

*通讯作者 Tel: 86-731-4327027; E-mail: lqhxy@126.com

到淡黄色钻地风挥发油 0.5 mL (出油率 0.167%)。

2.2 钻地风油的 GC-MS分析

2.2.1 气相色谱条件

HP-5MS色谱柱 (0.25 mm ×30 m, 0.25 μm), 进样口温度 250, 程序升温从 80 开始, 以 5.0 /min 升至 250, 保温 15 min, 载气为氦气, 进样量 0.4 μL。分流比为 30:1。

2.2.2 质谱条件

离子源为 EI 源, 电离能量 70 eV, 离子源温度 230, 电子倍增管电压 1684 V, 扫描质量 m/z 29~550。

2.3 钻地风挥发油的抗炎作用研究

2.3.1 钻地风挥发油对佛波酯醇 (phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA) 诱导小鼠耳肿胀的影响

参照 Bemej^[2] 的方法, 将小鼠分为 4 组, PMA 用丙酮溶解, 浓度为 100 μg/mL, 用移液器吸取 20 μL, 在小鼠右耳内外侧各涂 10 μL, 左耳涂丙酮作为对照。钻地风挥发油用丙酮稀释, 在涂 PMA 前涂在小鼠右耳, 吲哚美辛组作为阳性对照。在 PMA 造模 4 h 后处死小鼠, 用直径 8 mm 的打孔器

取下左右耳片, 电子天平称重。以 (右耳重量 - 左耳重量) 作为肿胀度, 计算抑制率。以组间 t 检验比较药效有无显著性。

2.3.2 钻地风油对二甲苯 (xylene) 诱导小鼠耳肿胀的影响

参考文献^[3], 将小鼠分为 4 组, 按上述同样方法进行分组、给药。给药后, 立即在每只小鼠右耳廓两面均匀涂抹二甲苯 30 μL 致炎, 左耳不涂作对照。4 h 后处死动物, 用直径 8 mm 的打孔器取下左右耳片, 分别称重。以 (右耳重量 - 左耳重量) 作为肿胀度, 计算抑制率。以组间 t 检验比较药效有无显著性。

3 实验结果

3.1 钻地风挥发油化学成分分析

按上述 GC-MS 条件对钻地风挥发油进行分析, 对总离子流图中的各峰经质谱扫描后得到质谱图, 通过 Xcalibur 工作站数据处理系统, 初步鉴定出 24 个化学成分, 并按峰面积归一法定量测出它们的相对含量, 占总成分的 96.01%, 结果见表 1。

表 1 钻地风挥发油成分鉴定表

Table 1 Components of the essential oil from *Schizophragma integrifolium*

编号 No.	保留时间 t_R (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	分子量 M	相对含量 Relative content
1	4.54	alpha -Pinene α 蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136.13	7.19%
2	4.885	Camphene 樟脑萜	C ₁₀ H ₁₆	136.13	3.55%
3	5.52	beta -Pinene β 蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136.13	6.65%
4	5.924	beta -Myrcene β 月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	136.13	0.87%
5	6.375	3-Carene 3 薹烯	C ₁₀ H ₁₆	136.13	3.50%
6	6.63	Bicyclo[4.1.0]hept-2-ene, 3,7,7-trimethyl-2 薹烯	C ₁₀ H ₁₆	136.13	0.40%
7	7.01	Eucalyptol 桉树脑	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14	11.50%
8	7.925	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-1-甲基-4-(1-甲基乙基)-1,4-环己二烯	C ₁₀ H ₁₆	136.13	0.60%
9	9.326	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl 芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14	9.56%
10	9.707	Fenchol 小茴香醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14	1.46%
11	10.627	Camphor 樟脑	C ₁₀ H ₁₆ O	152.12	5.13%
12	11.06	Isoborneol 异冰片	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14	0.28%
13	11.393	Borneol 冰片	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14	0.98%
14	11.803	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-(R)-L-4 松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14	3.58%
15	12.391	β -menth-1-en-8-ol β 松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14	9.20%
16	12.408	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha., .alpha. 4-trimethyl- α 松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14	1.20%
17	15.235	Bomyl acetate 乙酸龙脑酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196.15	0.85%
18	15.698	Benzene, 1,2-(methylenedioxy)-4-propenyl-, (E)-(E)-1,2-二甲氧基-4-丙烯基 苯	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	162.07	23.48%
19	18.02	Copaene 古巴烯	C ₁₅ H ₂₄	204.19	0.37%

20	20. 134	Benzene, 1, 2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-1, 2-二甲氧基-4-(2-丙烯基)苯	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178. 1	1. 65%
21	22. 634	Naphthalene, 1, 2, 3, 5, 6, 8a-hexahydro-4, 7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-(1S顺式)-1, 2, 3, 5, 6, 8a-六氢-4, 7-二甲基-1-(1-甲基乙基)萘	C ₁₅ H ₂₄	204. 19	0. 55%
22	25. 853	Naphthalene, 1, 2, 3, 4, 4a, 7-hexahydro-1, 6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-1, 2, 3, 4, 4a, 7-六氢-1, 6-二甲基-4-(1-甲基乙基)萘	C ₁₅ H ₂₄	204. 19	0. 20%
23	26. 281	tau-Muuuolol T萘醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222. 2	1. 01%
24	26. 542	Bicyclo[4. 4. 0]dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene-2-异丙基-5-甲基-9-亚甲基-二环[4. 4. 0]癸烯-1	C ₁₅ H ₂₄	204. 19	2. 26%

3. 2 钻地风挥发油对 PMA 诱导的小鼠耳肿胀的影响

小鼠耳朵在涂抹 PMA 4 h 后发生了显著的肿胀,钻地风油在剂量为 1~2 μL/只时显著抑制了耳肿胀,结果见表 2。

表 2 钻地风挥发油与吲哚美辛对 PMA 诱导的小鼠耳肿胀的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of indomethacin and the essential oil from *Schizophragma integrifolium* on the PMA induced mouse ear edema ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别 Group	剂量 (耳) Dosage	肿胀度 (mg) Edema level	抑制率 (%) Inhibition rate
模型组	—	5. 12 ±1. 21	—
吲哚美辛	1 mg	2. 50 ±1. 34 *	51. 17
钻地风油	1 μL	3. 14 ±1. 03 *	38. 67
钻地风油	2 μL	2. 84 ±1. 22 *	44. 53

注:与模型组比较, * $P<0. 01$ 。 Note: Compare with the control group * $P<0. 01$.

表 3 钻地风挥发油与吲哚美辛对二甲苯诱导的小鼠耳肿胀的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effect of indomethacin and the essential oil from *Schizophragma integrifolium* on the xylene induced mouse ear edema ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别 Group	剂量 (耳) Dosage	肿胀度 (mg) Edema level	抑制率 (%) Inhibition rate
模型组	-	6. 16 ±1. 01	-
吲哚美辛	1 mg	3. 53 ±1. 14 *	42. 69
钻地风油	1 μL	4. 14 ±1. 06 *	32. 79
钻地风油	2 μL	3. 72 ±0. 63 *	39. 61

注:与模型组比较, * $P<0. 01$ 。 Note: Compare with the control group * $P<0. 01$.

3. 3 钻地风挥发油对二甲苯诱导的小鼠耳肿胀的影响

小鼠耳朵在涂抹二甲苯 4 h 后发生了显著的肿胀,钻地风油在剂量为 1~2 μL/只时显著抑制了耳

肿胀,见表 3。

4 讨论

4. 1 本研究采用水蒸法从中药饮片钻地风中提取挥发性成分,经 GC-MS 分析,鉴定出 24 个成分,主要由萜类、芳香烃类组成,其中 (E)-1, 2-亚甲二氧基-4-丙烯基苯 (23. 47%)、桉树脑 (11. 503%)、芳樟醇 (9. 558%)、β松油醇 (9. 201%)、α蒎烯 (7. 185%)等为主要成分。

4. 2 钻地风能驱风活血,治筋骨,去风湿,止痛。中药复方痹肿消汤中使用钻地风与其他祛风湿药配伍,临床应用于治疗类风湿性关节炎,取得了良好的效果^[4]。在两种致炎剂造成的急性炎症动物模型上,实验组动物的炎症程度均显著低于模型组,提示钻地风挥发油对急性炎症具有良好的抑制作用。这也许是钻地风能治疗风湿筋骨痛,四肢关节酸痛的物质基础之一。而钻地风非挥发性化学成分及其药理活性还有待进一步的研究。

参考文献

- 1 The Pharmacopoeia Commission of PRC (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中国药典). Beijing: Chemical Industry Press, 2005. 128
- 2 Bermejo BP, Abad MM, Silvan SA, et al In vivo and in vitro antiinflammatory activity of saikosaponins *Life Sci*, 1998, 63: 1147-1156
- 3 Xu SY (徐叔云), Bian RL (卞如廉), Chen X (陈修). The methodology of pharmacology experiments (药理实验方法学), 2nd Ed Beijing: People's Medical Publishing House, 1994. 719-722
- 4 Liang JH (梁静华), Tang T (唐涛), Zhang HX (张花先), Clinical investigation of effects of bizhongxiao decoction (BZX) on rheumatoid arthritis on active phase *Bull Hunan Med Univ* (湖南医科大学学报), 2000, 25: 449-452