

## 四川产肉桂挥发油化学成分分析及药效学研究

张小飞<sup>1,2,3</sup>, 冯玲玲<sup>1</sup>, 伍振峰<sup>2</sup>, 杨明<sup>2\*</sup>

(1. 成都中医药大学, 四川成都 611137; 2. 江西中医药大学, 江西南昌 330004; 3. 陕西中医药大学, 陕西咸阳 712000)

**摘要**: 应用水蒸气蒸馏法提取四川产肉桂挥发油, 采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析了其中的化学成分。分别采用纸片法及刃天青染色法测定四川产肉桂挥发油的抑菌圈及最小抑菌浓度(MIC), 并考察其对大鼠离体小肠平滑肌张力的影响。结果表明, 在肉桂挥发油中鉴定出21种成分, 其中桂皮醛和 $\alpha$ -蒎烯相对含量为72.54%和8.19%。肉桂挥发油对白色念珠菌、大肠埃希菌的抑菌作用最强, 对青霉菌、黑曲霉、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌作用次之, 对绿脓杆菌的抑菌作用最差。肉桂挥发油还具有抑制大鼠小肠平滑肌张力的作用。

**关键词**: 肉桂挥发油; 气相色谱-质谱联用(GC-MS); 化学成分分析; 抑菌; 抑制肠平滑肌

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1001-8255(2016)09-1183-05

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2016.09.011

## Chemical Component Analysis and Pharmacodynamics of Essential Oil of *Cinnamomum cassia* Presl from Sichuan Province

ZHANG Xiaofei<sup>1,2,3</sup>, FENG Lingling<sup>1</sup>, WU Zhenfeng<sup>2</sup>, YANG Ming<sup>2\*</sup>

(1. Chengdu University of TCM, Chengdu 611137; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004; 3. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712000)

**ABSTRACT**: The essential oil of *Cinnamomum cassia* Presl from Sichuan province was extracted by steam distillation, and the constituents were analyzed by GC-MS method. The filtering paper method and resazurin staining method were used for determining inhibition zone diameter and minimum inhibitory concentration (MIC) of essential oil against seven tested strains. Its effect on tension of *ex vivo* small intestine smooth muscle of rats was also investigated. The results showed that 21 chemical components in essential oil were identified, in which cinnamaldehyde and  $\alpha$ -pinene had relative high levels of 72.54% and 8.19%. Cinnamon essential oil showed a high inhibitory effect against *Escherichia coli* and *Candida albicans*, a mild inhibitory effect against *Penicillium*, *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*, and a weak effect against *Pseudomonas aeruginosa*. In addition, cinnamon essential oil had an inhibitory effect on tension of the small intestine smooth muscle of rats.

**Key Words**: cinnamon essential oil; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); chemical component analysis; antibacterial activity; inhibition of intestinal smooth muscle

收稿日期: 2016-08-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(81560657)、江西省卫生计生中医药科研计划项目(2013A071)、江西省青年科学基金项目(20142BAB215063)

作者简介: 张小飞(1982—), 男, 讲师, 博士研究生, 专业方向: 中药新技术与新剂型。

Tel: 029-38185175

E-mail: zhangxiaofei830@163.com

通信联系人: 杨明(1962—), 男, 博士生导师, 教授, 从事中药新制剂研究。

Tel: 0791-87119032

E-mail: yangming16@126.com

肉桂原名菌桂、牡桂, 是樟科植物肉桂(*Cinnamomum cassia* Presl)的干燥树皮, 主要分布于广西、广东、福建、台湾、云南等湿热地区, 其中尤以广西最多。肉桂药用始载于《神农本草经》, 列为上品, “味辛, 主百病, 养精神, 和颜色, 利关节, 补中益气, 为诸药先聘通使, 久服通神, 轻身不老”, 肉桂为“温里药”, 具有补火助阳, 引火归源, 散寒镇痛, 活血通经之功效<sup>[1]</sup>, 临床常用其治疗肾阳虚证、阴盛寒凝证、气血不足证、上热下寒等。肉桂也是重要的药食同源植物, 肉桂作为香料与药物

的应用已历史悠久,其临床应用已有2 000多年,目前在医药、化工、食品、化妆品等方面均有广泛的应用。现代研究表明,肉桂主要活性成分为挥发油中的桂皮醛,具有抗菌、抗病毒、抗氧化、促进小肠运动、扩张血管及抗血栓等广泛的药理作用<sup>[2]</sup>。已有研究表明肉桂挥发油具有较强的抑菌活性及广谱的抗菌和抗真菌活性<sup>[3]</sup>。因此研究肉桂挥发油的化学成分及其抑菌活性、针对肠道平滑肌张力活性的影响,对开发肉桂的相关产品具有重要的意义。

关于肉桂中挥发油化学成分的研究已有不少报道<sup>[4-5]</sup>,但主要针对的是广西产肉桂,对四川产肉桂的成分及其抑菌性的研究鲜有报道,尤其尚未见四川产肉桂挥发油对肠道平滑肌张力活性影响的研究。因此本试验采用水蒸气蒸馏法提取四川产肉桂的挥发油,应用气相色谱-质谱联用(GC-MS)对其化学成分进行分析,同时测定其抑菌活性及对小肠平滑肌张力活性的影响,为四川产肉桂挥发油的应用、产品开发及临床应用提供一定依据和参考。

## 1 仪器与试剂

6202型中药粉碎机(北京寰亚天元机械技术有限公司);重油挥发油提取器(自制);KDM型控温电热套(聊城华鲁电热仪器有限公司);BL-420S型生物机能实验系统和HW-400E型恒温平滑肌槽(成都泰盟科技有限公司);Agilent 7890 A/5975C型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司)。

四川产肉桂(购自江西樟树天齐堂中药饮片有限公司,批号20160122,经江西中医药大学杨明教授鉴定为樟科常绿乔木植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干皮和粗枝皮);台氏液(自制,1 L台氏液含:NaCl 8.0 g、KCl 0.2 g、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.26 g、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.065 g、NaHCO<sub>3</sub> 1.0 g、CaCl<sub>2</sub> 0.2 g和葡萄糖 1.0 g);营养琼脂培养基、玫红钠营养琼脂培养基和营养肉汤(青岛高科园海博生物技术有限公司);乙醚(西陇化工有限公司)、无水硫酸钠(西陇化工有限公司,分析纯)、双蒸水(自制)。

青霉菌(ATCC 16025)、金黄色葡萄球菌(ATCC6538)、大肠埃希菌(ATCC8739)、绿脓杆菌(ATCC9027)、枯草芽孢杆菌(ATCC6633)、黑曲霉(ATCC9643)、白色念珠菌(ATCC10231)均购自美国典型微生物菌种保存中心(American type culture collection, ATCC)。

SD大鼠[雄性,SPF级,220~250 g,湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号SCXK(湘)2013-0004]。

## 2 方法与结果

### 2.1 挥发油的提取及GC-MS分析

#### 2.1.1 挥发油提取

将四川产肉桂药材粉碎过1号筛后称取100 g,置2 L烧瓶中,加10倍量水,与玻璃珠数粒,振荡混合后,连接重油挥发油提取器与回流冷凝管,自冷凝管上端加水使其充满挥发油测定器的刻度部分,并溢流入烧瓶为止。将烧瓶放入到电热套内进行加热,进行水蒸气蒸馏提取,直至提取器测定器中的挥发油量不再增加为止,停止加热,收集所得肉桂挥发油,用无水硫酸钠脱水处理,即得肉桂挥发油样品。

#### 2.1.2 GC-MS条件分析

GC-MS测定条件参考文献<sup>[6]</sup>。色谱条件:色谱柱采用安捷伦HP-5 MS柱(0.25 mm×30 m×0.25 μm);进样口温度280 °C;升温程序初始70 °C,以10 °C/min升温至250 °C,保持5 min;载气高纯氦气;流速1 ml/min;进样量1 μl。质谱条件:离子源温度230 °C;电离源电轰击电离源(EI);电子能量70 eV;传输线温度250 °C;四极杆温度150 °C;扫描质量范围30~550。

肉桂挥发油的总离子流图谱见图1。

#### 2.1.3 肉桂挥发油的化学成分分析

以面积归一化法测定肉桂挥发油各组分的相对含量,经NIST14版质谱库检索及人工解析,共鉴定出21种成分,各成分匹配度均在94%以上,结果见表1。

由表1可知,本试验所用肉桂中鉴定出21种挥发油成分,其中肉桂挥发油的主要成分为桂皮醛,相对含量72.54%,其后依次为α-蒎烯(8.19%)、邻甲氧基肉桂醛(4.36%)、δ-荜澄茄烯(3.99%)等,其中含量不足1%的成分有15种,占挥发油总成分的6.37%。

## 2.2 肉桂挥发油抑菌活性研究

### 2.2.1 纸片法测定肉桂挥发油的抑菌活性

#### 2.2.1.1 培养基

本试验选用营养琼脂培养基(用于金黄色葡萄

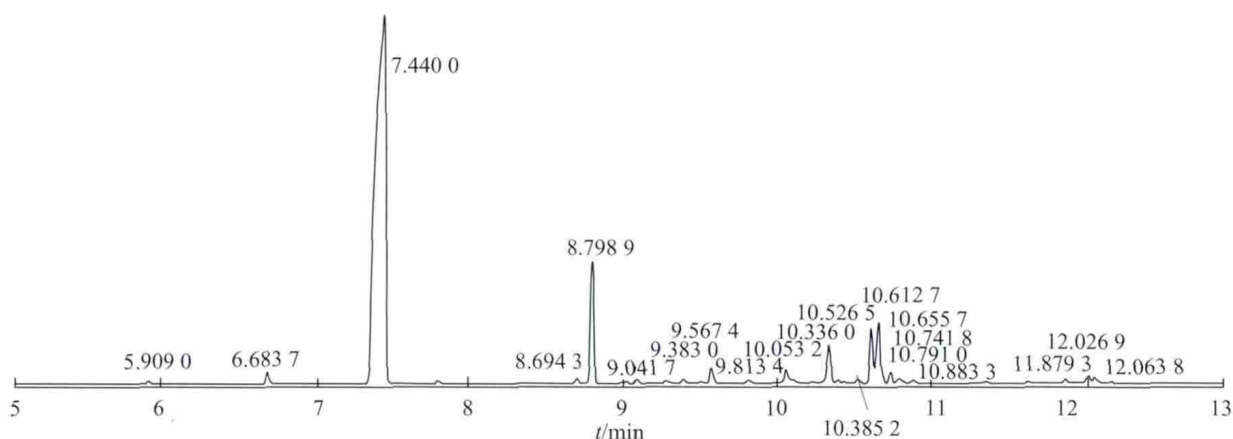


图 1 肉桂挥发油 GC-MS 总离子流图

Fig.1 Total Ion Chromatogram (TIC) of Cinnamon Essential Oil

表 1 肉桂挥发油化学成分及相对含量

Tab.1 Cinnamon Essential Oil Constituents Analysis and Their Relative Content

编号	保留时间/min	化合物	分子式	相对分子质量	相对含量/%
1	5.909 0	苯丙醛	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O	134.18	0.17
2	6.683 7	β-苯丙烯醛	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O	132.16	0.67
3	7.440 0	桂皮醛	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O	132.16	72.54
4	8.694 3	(+)-环苜蓿烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.48
5	8.798 9	α-蒎烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	8.19
6	9.081 7	(+)-苜蓿烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.30
7	9.383 0	石竹烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.29
8	9.567 4	香豆素	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	146.14	0.98
9	9.813 4	α-石竹烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.25
10	10.053 2	γ-依兰油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	1.41
11	10.336 0	α-衣兰油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	3.13
12	10.385 2	β-甜没药烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.24
13	10.526 6	依兰二烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.31
14	10.612 7	δ-萜澄茄烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	3.99
15	10.655 7	邻甲氧基肉桂醛	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	162.19	4.36
16	10.741 8	萜澄茄油宁烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.75
17	10.791 0	α-甜没药烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.35
18	10.883 3	α-白菖考烯	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub>	200.31	0.25
19	11.879 3	库贝醇	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.34
20	12.026 9	依兰油醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.36	0.61
21	12.063 8	蒎烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	0.38

球菌、大肠埃希菌、绿脓杆菌和枯草芽孢杆菌的培养), 玫红钠营养琼脂培养基(用于白色念珠菌、青霉菌和黑曲霉的培养), 灭菌后备用。

2.2.1.2 菌悬液的制备

将受试菌稀释成浓度为 10<sup>11</sup> ~ 10<sup>12</sup> CFU/L 的菌(孢子)悬液。将灭菌后的培养基倒入无菌培养皿中并使其液面平整, 放冷 5 min, 待凝固后加入菌(孢子)悬液 0.1 ml, 将菌液用涂布棒涂匀后备用。

2.2.1.3 挥发油抑菌活性试验

向灭菌后直径为 6 mm 的 4 片小滤纸片中分别加入“2.1.1”项下所得的肉桂挥发油 2、4、6 和 8 μl, 分别将 4 片滤纸贴于“2.2.1.1”项下的培养皿上, 细菌在 37℃ 下培养 24 h, 真菌在 28℃ 下培养 48 ~ 72 h。试验后测定抑菌圈的直径, 同组平行 3 次试验。结果见表 2。

由表 2 可见, 肉桂挥发油对不同种属菌株的体外抑制活性强弱有一定的差异, 其中对白色念珠菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌均有较强的抑制作

表 2 肉桂挥发油的抑菌圈直径测定结果 <sup>1)</sup>/mm(n=3)

Tab.2 Measurement Values of Bacteriostatic Circle Diameter of Cinnamon Essential Oil/mm(n=3)

加入量/ $\mu\text{l}$	金黄色葡萄球菌	绿脓杆菌	大肠埃希菌	枯草芽孢杆菌	青霉菌	黑曲霉	白色念珠菌
2	2	1.3	3.2	3.4	3.1	2.6	3.6
4	4.6	1.5	3.8	3.8	4.5	3.6	4.6
6	过大	1.6	过大	4.2	过大	4.4	过大
8	过大	1.7	过大	4.6	过大	过大	过大

注：<sup>1)</sup>“过大”表示抑菌圈过大无法测定，提示抑菌作用强

用；对绿脓杆菌的抑制最小。

### 2.2.2 肉桂挥发油最小抑菌活性浓度 (MIC) 的测定

采用等量稀释法测定肉桂挥发油的 MIC。将营养肉汤 200  $\mu\text{l}$  加入 1 列孔做空白对照，将营养肉汤 180  $\mu\text{l}$  及“2.1.1”项下所得肉桂挥发油 20  $\mu\text{l}$  加入到第 2 列，将营养肉汤 100  $\mu\text{l}$  加入到 3 ~ 11 列。将第 2 列的肉桂油及营养肉汤进行混合吹打后，取其混悬液 100  $\mu\text{l}$  加入到第 3 孔，然后取第 3 列孔混合液 100  $\mu\text{l}$  加入第 4 列孔，按此法依次稀释到第 11 列，将第 11 列中取出的混悬液 100  $\mu\text{l}$  倒去，即得含肉桂挥发油浓度分别为 100.00、50.00、25.00、12.50、6.25、3.13、1.56、0.78、0.39 和 0.20  $\mu\text{l/ml}$  的培养液。将“2.2.1.2”项下菌悬液 100  $\mu\text{l}$  加入到第 2 ~ 11 列孔，其中第 4 行加营养肉汤 100  $\mu\text{l}$  做对照，第 12 列加菌悬液 200  $\mu\text{l}$ ，设为阴性对照组。向所有孔内加入 0.25 g/L 的刃天青溶液 20  $\mu\text{l}$ ，照“2.2.1.3”项下方法培养。结果见图 2。

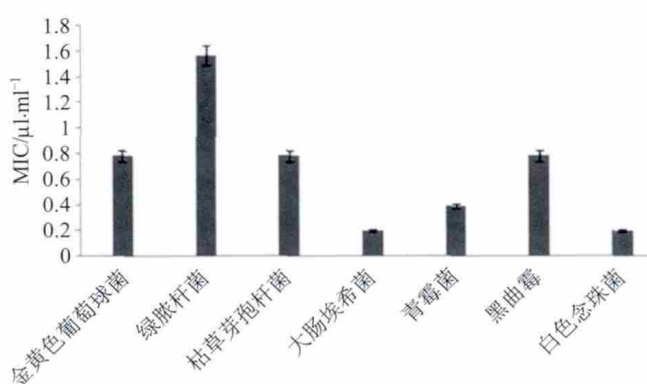


图 2 肉桂挥发油最小抑菌浓度 (n=3)

Fig.2 Minimum Inhibitory Concentration of Cinnamon Essential Oil (n=3)

由图 2 可知，肉桂挥发油对白色念珠菌、大肠埃希菌的抑菌作用最强，对青霉菌、黑曲霉、枯草

芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌作用次之，对绿脓杆菌的抑菌作用最差。基于上述研究结果，可见肉桂挥发油适于防腐、抗感染等疾病的治疗，提示其具有良好的应用前景。

### 2.3 肉桂挥发油对肠道平滑肌活性的研究

#### 2.3.1 大鼠肠蠕动模型

将禁食 24 h 的 SD 大鼠断头处死，快速解剖取出一段约 10 cm 小肠，在 4 台氏液中去内容物，采用生物机能实验系统对大鼠正常离体肠平滑肌进行测定。将长 3 cm 的小肠挂于平滑肌槽张力测定仪上并置台氏液 20 ml 中，每 1 min 通入 60 ~ 80 个气泡，负荷为 1 g，稳定 30 min 后进行测定。分别向恒温平滑肌浴槽中加入一定量不同浓度的 Tween-80 及肉桂挥发油水溶液，观察给药前后 3 min 的平滑肌波动曲线。

#### 2.3.2 不同浓度 Tween-80 对小肠平滑肌张力的影响

为了排除肉桂挥发油的增溶剂 (Tween-80) 对小肠平滑肌运动活性的影响，本试验首先考察不同浓度 Tween-80 对小肠平滑肌张力活性的影响。分别配制浓度为 0.2%、0.4%、1% 和 2% 的 Tween-80 水溶液，再分别向恒温平滑肌浴槽中加入 50、100、200、300、400 和 500  $\mu\text{l}$  不同浓度的 Tween-80 溶液，测定 Tween-80 对小肠平滑肌运动的影响。记录给药前后 3 min 的振幅和张力，并记录其曲线。结果见图 3。

从图 3 可知，Tween-80 浓度为 0.2%，剂量在 500  $\mu\text{l}$  以下时对大鼠小肠平滑肌张力无明显影响，因此增溶剂 Tween-80 的浓度选用 0.2%。

#### 2.3.3 不同剂量 0.1% 肉桂挥发油对小肠平滑肌张力的影响

用“2.3.2”项下筛选的 0.2% Tween-80 溶液作增溶剂配制肉桂挥发油含量为 0.1% 的溶液，测定

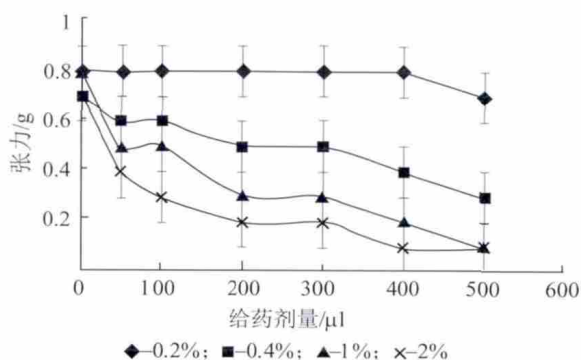


图3 不同浓度 Tween-80 对大鼠小肠平滑肌张力影响 (n=3)

Fig.3 Effect of Tween-80 Concentration on Tension of Small Intestine Smooth Muscle of Rats (n=3)

其对小肠平滑肌张力的影响。给药剂量为 50、100、200、300、400 和 500 μl。结果见图 4。

从图 4 可知，与给药前相比，给药后肉桂挥发油使大鼠小肠平滑肌的张力降低，具有明显的抑制作用，且随剂量增大抑制作用逐渐增强。表明其对大鼠腹泻可能具有一定的止泻作用。

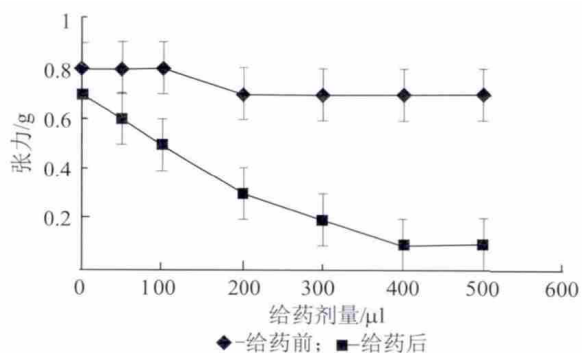


图4 不同剂量的肉桂挥发油对大鼠小肠平滑肌张力的影响 (n=3)

Fig.4 Effect of Dose of Cinnamon Essential Oil on Tension of Small Intestine Smooth Muscle of Rats (n=3)

### 3 结论

本试验通过 GC-MS 对提取得到的四川产肉桂挥发油进行化学成分分析，为四川产肉桂的药效学研究、进一步阐明其药效物质基础及作用机制提供帮助<sup>[6]</sup>。在四川产肉桂挥发油成分中，桂皮醛及

α-蒎烯是主要成分。有研究表明桂皮醛具有良好的抑菌、抗氧化、抗肿瘤等作用<sup>[7]</sup>。

近年来消费者对食品质量控制及安全性的关注日益增多，寻求开发天然的食品防腐剂已成为广大学者研究的热点<sup>[8]</sup>。本研究表明四川产肉桂挥发油对白色念珠菌、大肠埃希菌有较强的抑制作用，对其他菌也有一定的抑制作用，具有广谱抗菌作用，且对所试细菌或真菌的 MIC 值均较低。此外，四川产肉桂挥发油对大鼠肠道平滑肌的收缩有一定的抑制作用，这可能基于肉桂散寒止痛、温中降逆、补肾助阳等功效，临床常用于虚寒吐泻的经验，其作用机制有待进一步研究。

### 参考文献：

- [1] 吴凡, 贾汝汉. 肉桂提取物的药理作用研究进展 [J]. 医药导报, 2012, 31(7): 882—885.
- [2] 李唯佳, 王绪平, 俞忠明, 等. 肉桂挥发油对糖尿病大鼠血糖、血脂的影响 [J]. 中国中医药科技, 2012, 19(1): 37—38.
- [3] 蒲忠慧, 王雄清. 肉桂挥发油抗菌活性研究 [J]. 绵阳师范学院学报, 2013, 32(8): 39—43.
- [4] 苏青, 黄瑞松, 苏小川. 广西肉桂挥发油的 GC-MS 研究 [C]// 2005 全国首届壮医药学术会议暨全国民族医药经验交流会论文集. 全国首届壮医药学术会议暨全国民族医药经验交流会. 南宁: 中国民族医药学会、广西区卫生厅、广西中医学院, 2005.
- [5] 张桂芝, 张石楠, 孟庆华, 等. GC-MS 分析肉桂与桂皮挥发油的化学成分 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(8): 1256—1259.
- [6] 王波, 龚伟, 陈国宝, 等. 肉桂挥发性成分的气相色谱/质谱分析 [J]. 世界中西医结合杂志, 2014, 9(9): 941—943.
- [7] 陈立平, 张慧萍, 陈光, 等. 肉桂油成分分析及肉桂醛体外抗肿瘤活性研究 [J]. 中国微生态学杂志, 2012, 24(4): 50—60.
- [8] 刘晓艳, 白卫东. 肉桂油抑菌及抗氧化作用的研究进展 [J]. 食品与机械, 2010, 26(5): 169—172.