

# 大西洋雪松精油的成分分析及其体外活性

朱玲<sup>1</sup>, 陆西星<sup>2</sup>, 薛楠楠<sup>1,2</sup>, 陈金虎<sup>2</sup>, 王梦如<sup>2</sup>, 辛文锋<sup>3\*</sup>

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏南京 210023; 2. 大理大学云南省昆虫生物医药研发重点实验室, 云南大理 671000; 3. 文山学院三七医药学院, 云南文山 663000)

**摘要:** 该文对大西洋雪松精油的组分、体外抗菌及抗炎活性进行研究。利用气相色谱-质谱联用技术(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)对其进行分析, 采用峰面积归一化法计算相对含量; 使用牛津杯法测定其对金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌及白色念珠菌的抑菌效果; 建立脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 RAW264.7 炎症模型, 测定细胞上清液中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的含量。结果表明, GC-MS 共检出 30 个峰, 鉴定出 18 种化合物, 占总峰面积的 87.58%, 萜烯类化合物占 83.26%, 其中含量较高的物质为 (+)-香橙烯(31.56%)、长叶环烯(20.29%)、(-)- $\alpha$ -古芸烯(12.90%); 大西洋雪松精油对金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、白色念珠菌均有一定的抑菌作用且该精油能在安全浓度下有效抑制 RAW264.7 细胞 iNOS mRNA 的表达, 且对 TNF- $\alpha$  mRNA 的表达及上清液中 TNF- $\alpha$  的分泌影响显著。大西洋雪松精油具有一定的抗菌和抑制氧化应激炎症相关酶 iNOS 的活力, GC-MS 可作为其快速、便捷的质量分析方法。

**关键词:** 大西洋雪松; 精油; 气相色谱-质谱联用(GC-MS); 抑菌; 抗炎

## Component Analysis and *in vitro* Activity of Essential Oils from *Cedrus atlantica*

ZHU Ling<sup>1</sup>, LU Xi-xing<sup>2</sup>, XUE Nan-nan<sup>1,2</sup>, CHEN Jin-hu<sup>2</sup>, WANG Meng-ru<sup>2</sup>, XIN Wen-feng<sup>3\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu, China;

2. Yunnan Provincial Key Laboratory of Entomological Biopharmaceutical R & D, Dali University, Dali 671000, Yunnan, China; 3. College of Notoginseng Medicine and Pharmacy, Wenshan University, Wenshan 663000, Yunnan, China)

**Abstract:** To study the components and *in vitro* antibacterial and anti-inflammatory activities of essential oils from *Cedrus atlantica*. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was performed to analyze the essential oils, and peak area normalization method was used to calculate the relative content. Oxford cup method was employed to determine the antibacterial effect of the essential oils on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. Then an LPS-induced RAW264.7 inflammation model was established to determine the content of tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) in the cell supernatant. Thirty peaks were detected by GC-MS, and 18 compounds were identified, accounting for 87.58% of the total peak area. Among them, terpenes accounted for 83.26%, of which (+)-aromadendrene (31.56%), longicyclene (20.29%) and (-)- $\alpha$ -gurjunene (12.90%) had higher content. *C. atlantica* essential oils had certain antibacterial effects on *S. aureus*, *E. coli*, and *C. albicans*. Moreover, the expression of iNOS mRNA in RAW264.7 cells was markedly inhibited at a safe concentration of the essential oils, and the mRNA expression of TNF- $\alpha$  and the secretion of TNF- $\alpha$  in supernatant were significantly affected. *C. atlantica* essential oils had certain antibacterial activities and can inhibit oxidative stress and inflammation-related enzyme iNOS, and GC-MS was a fast and convenient method for quality analysis of the essential oils.

**Key words:** *Cedrus atlantica*; essential oils; gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS); antibacterial; anti-inflammatory

基金项目: 云南省重大科技专项计划(202002AA100007)

作者简介: 朱玲(1993—), 女(汉), 硕士研究生, 研究方向: 中药资源。

\* 通信作者: 辛文锋(1978—), 男(汉), 副研究员, 博士, 研究方向: 中药资源。

引文格式:

朱玲,陆西星,薛楠楠,等.大西洋雪松精油的成分分析及其体外活性[J].食品研究与开发,2023,44(7):151-156,184.

ZHU Ling, LU Xixing, XUE Nannan, et al. Component Analysis and *in vitro* Activity of Essential Oils from *Cedrus atlantica*[J].

Food Research and Development, 2023, 44(7): 151-156, 184.

雪松[*Cedrus deodara*(Roxb.)Loud]又称喜马拉雅雪松、喜马拉雅杉、香柏,为松科(Pinaceae)雪松属(*Cedrus*)树种的泛称<sup>[1]</sup>。据文献记载,雪松具有清热利湿、散瘀止血的功效<sup>[2]</sup>,常被民间用于治疗抽搐、发烧、咳嗽、支气管炎、溃疡和肺结核等疾病<sup>[3]</sup>。雪松树皮也可作为治疗炎症、关节疼痛和皮肤病常用药<sup>[4]</sup>。现代药理学研究表明,以儿茶素、没食子酸、木脂素、雪松醇、雪松烯为主的雪松活性组分有显著的抗炎、镇痛、抗高血糖、抗溃疡、抗痉挛、抗菌、抗癌等活性<sup>[5-6]</sup>。

随着科技日益发展,以具有活性的天然产品的替代疗法在非器质性病变的疾病缓解治疗中应用广泛<sup>[7]</sup>。雪松精油是由雪松的木质部提取得到的无色透明或黄色油状液体,有似檀香的木质香,常用于解痉镇痛、缓解焦虑<sup>[8-10]</sup>。国内流通的雪松精油多为大西洋雪松(*Cedrus atlantica*)所产<sup>[11]</sup>。目前对雪松的研究主要局限于雪松松针及花序的挥发性成分研究,尚缺乏对雪松精油成分分析及生理活性的报道<sup>[12]</sup>。因此,本研究拟采用气相色谱-质谱联用(gas chromatograph-mass spectrometer, GC-MS)技术对大西洋雪松精油的化学成分进行分析,并测试其体外抗菌、抗炎等生理活性,以期雪松精油的合理利用及推广提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

大西洋雪松精油:英国 Aroma zone 公司;正己烷:天津市风船化学试剂科技有限公司;脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、沙氏琼脂培养基、青链霉素、0.25%胰蛋白酶、MTT 溶液:北京索莱宝科技有限公司;RP-MI-1640 培养基、胎牛血清、Trizol 液、iScript cDNA 合成试剂:赛默飞世尔科技(中国)有限公司;二甲基亚砜(dimethylsulfoxide, DMSO):上海源叶生物科技有限公司;磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS):武汉普诺赞生命有限公司;生理盐水:贵州天地药业责任有限公司;硫酸庆大霉素:国药荣生制药有限公司;克霉唑:白云山何济公制药厂;营养琼脂培养基:北京陆桥技术股份有限公司;小鼠细胞上清肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ):南京建成生物科技有限公司;RNA-easy Isolation Reagent 裂解液、逆转录试剂盒、sybr qPCR Ma-ster Mix:南京诺唯赞生物科技股份有限公司;试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器

HP7890A/5975C 型 GC-MS 联用仪:美国 Agilent Technologies 公司;SW-CJ-2FD 型双人单面净化工作台:苏州净化设备有限公司;HF160W 型水套式二氧化碳培养箱:上海力申科学仪器有限公司;GHP-9160 型隔水式恒温培养箱:上海一恒科技有限公司;201 型奥地利安图斯 2010 酶标仪:奥地利安图斯公司;qPCR 仪器:美国 Applied Biosystems Quant Studio 公司;BSA-124S 型精密分析天平:赛多利斯科学仪器有限公司;Gentier 96E 核酸检测仪:上海双旭电子有限公司。

### 1.3 菌株及细胞株

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, ATCC-6538)、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*, ATCC8739)、白色念珠菌(*Candida albicans*, ATCC10231):上海保藏生物技术中心;RAW264.7 细胞株:中国科学院昆明动物研究所。

### 1.4 菌悬液的配制

无菌条件下,用接种环挑取待测菌种 1~2 个单个菌落,制成菌悬液,并与 0.5 麦氏比浊液比浊(约含菌  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL)备用。

### 1.5 GC-MS 供试品的制备

精确称取大西洋雪松精油各 20.0 mg,加正己烷溶解,配制浓度为 20.0 mg/mL 的供试品溶液,用孔径为 0.22  $\mu\text{m}$  的聚醚砜针式过滤器过滤后直接进样。

### 1.6 方法

#### 1.6.1 GC-MS 分析条件

色谱柱为 Agilent 气相色谱柱(HP-5MS, 30 m  $\times$  250  $\mu\text{m}$   $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ );载气为高纯氦气;柱箱升温程序为起始柱温为 57  $^{\circ}\text{C}$ ,保留 1 min;程序升温 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  至 112  $^{\circ}\text{C}$ ;1  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  至 140  $^{\circ}\text{C}$ ;5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  至 160  $^{\circ}\text{C}$ ;15  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  至 220  $^{\circ}\text{C}$ ;220  $^{\circ}\text{C}$  后运行 3 min;进样量 0.2  $\mu\text{L}$ ,以分流比 10:1(体积比)分流进样;柱流量 1.0 mL/min;电子轰击离子源,离子源温度 230  $^{\circ}\text{C}$ ,电离能量 70 eV,质量扫描范围为  $m/z$  12~550。

#### 1.6.2 抑菌试验

采用牛津杯扩散法进行抑菌试验<sup>[13]</sup>。在琼脂培养基表面均匀地涂布细菌或真菌溶液,再将灭菌后的牛津杯平放至培养皿内,每个皿中放 3 个。配制不同浓度的硫酸庆大霉素溶液和克霉唑溶液为阳性对照组,以无菌生理盐水为阴性对照组。每个培养皿分别给以不

同浓度的硫酸庆大霉素溶液、克霉唑溶液及大西洋雪松精油各 200  $\mu\text{L}$ 。金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌于 37  $^{\circ}\text{C}$  培养箱中孵育 18 h~24 h,白色念珠菌 27  $^{\circ}\text{C}$  培养箱中孵育 48 h~72 h。试验结束后,用游标卡尺交叉法测量抑菌圈直径,每组设 3 个平行试验,结果取平均值。牛津杯抑菌直径敏感性判断标准为极敏:直径 $>20$  mm;高敏:15 mm $<$ 直径 $\leq 20$  mm;中敏:10 mm $\leq$ 直径 $\leq 15$  mm;低敏:直径 $<10$  mm。

### 1.6.3 抗炎试验

#### 1.6.3.1 细胞培养与传代

RAW264.7 细胞复苏后,采用添加 1.0%青链霉素及含有 10.0%胎牛血清的 RPMI-1640 培养基,于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5.0%  $\text{CO}_2$  饱和湿度的培养箱中培养,细胞融合度达到 80.0%时,用 0.25%胰蛋白酶消化后进行传代,传代比例为 1:3。

#### 1.6.3.2 大西洋雪松精油对细胞活性的影响

取对数生长期的 RAW264.7 细胞,经 0.25%胰蛋白酶消化后,用 RPMI-1640 培养基重悬,以  $1\times 10^4$  个/孔接种于 96 孔板中,培养 24 h 后,设置正常组(PBS,有细胞)、空白组(无细胞)、试验组(有细胞)[添加不同浓度的大西洋雪松精油(30、60、120、240、480  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ] ,每组设置 3 个复孔。正常组加入含 PBS 的完全培养基 100  $\mu\text{L}$ ,空白组均加入完全培养基 100  $\mu\text{L}$ ,各试验组加入含相应雪松精油的完全培养基 100  $\mu\text{L}$ ,培养 48 h 后,弃去上清液,每孔加入 5 mg/mL MTT 溶液 20  $\mu\text{L}$ ,继续孵育 4 h,加入 150  $\mu\text{L}$  DMSO 后,使用酶标仪于 490 nm 波长处测定各孔的 OD 值,计算存活率<sup>[14]</sup>。

$$\text{存活率}/\%=[(\text{试验组平均 OD 值}-\text{正常组平均 OD 值})/(\text{正常组平均 OD 值}-\text{空白组平均 OD 值})]\times 100$$

#### 1.6.3.3 大西洋雪松精油对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞释放炎症因子的影响

取对数生长期的 RAW264.7 细胞,用 0.25%胰蛋白酶消化,用完全培养基重悬细胞,以  $1\times 10^4$  个/孔接种于 96 孔板中,每孔加入细胞悬液 90  $\mu\text{L}$ ,将细胞随机分为对照组(PBS)、模型组(LPS)、试验组(LPS+不同浓度雪松精油),每组设置 6 个复孔,放置培养箱培养 24 h 后,除对照组外,其余各组均加入浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS 刺激 4 h 后,对照组和模型组给予 PBS 缓冲溶液 10  $\mu\text{L}$ ,试验组分别给予浓度为 7.5、15.0、30.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的雪松精油各 10  $\mu\text{L}$ ,培养 24 h 后,收集细胞上清液采用酶联免疫吸附(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)<sup>[15]</sup>检测 TNF- $\alpha$  的含量,根据试剂盒说明书进行操作。收集下层细胞,用 Trizol 液提取各组待检测细胞的总 RNA,用核酸检测仪检测 RNA 的完整性和质量。使用 iScript cDNA 合成试剂快速将提取的 RNA 逆转录为 cDNA。将 cDNA+引物+sybr qPCR Master Mix 共同加入 8 连管制成 20  $\mu\text{L}$  溶液。实时荧光定量多聚核

苷酸链式反应(real time quantitative polymerase chain reaction, qPCR)条件为 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 15 min,94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,72  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 s,变性退火延伸 40 个循环,72  $^{\circ}\text{C}$  末端延伸 5 min,16  $^{\circ}\text{C}$  降温 2 min。引物由生工生物工程(上海)有限公司合成,引物序列:TNF- $\alpha$ , F,5'-AATGGCCTCCCTCTCATCAGTT-3';R5'-CGA-ATTTTGAGAAGATGATCTGAGTGT-3';iNOS,F,5'-C-CACCTTGAGTTTCACCCAGTTG-3';R5'-GCAAGAC-CAGAGGCAGCACATC-3'A;GAPDH,F,5'-ATACGG-CTACAGCAACAGGG-3',R5'-GCCTCTCTTGCTCAG-TGTCC-3'A。

### 1.7 数据处理

通过 GC-MS 对大西洋雪松精油进行定性和相对定量分析。其中定量过程采用峰面积归一化法<sup>[16]</sup>计算各组分的相对含量;定性过程利用计算机检索 NIST11.L 标准谱库对各组分的质谱数据进行检索<sup>[17]</sup>,并结合相关文献查阅确定其化学结构式。本文仅对相似度达 80%以上组分进行探讨。有效数据使用 SPSS 22.0 分析软件进行统计学处理,以平均值 $\pm$ 标准差表示,符合正态分布的数据采用 One-way ANOVA 分析。 $P<0.05$  及  $P<0.01$  为结果存在统计学差异,根据数据处理结果,使用 GraphPad Prism5 软件制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 大西洋雪松精油的分析与鉴定

大西洋雪松精油的总离子流图见图 1。

所得各组分的相对百分含量采用峰面积归一化法计算,分析结果见表 1。

由图 1 和表 1 可知,大西洋雪松精油中共检出 30 个峰,鉴定出 18 种化合物,占总峰面积的 87.58%;其中萜烯类化合物占 83.26%。检出化合物中含量较高的物质为(+)-香橙烯(31.56%)、长叶环烯(20.29%)、(-)- $\alpha$ -古芸烯(12.90%)、乙基-四甲基环戊二烯(4.63%)、 $\delta$ -杜松烯(4.20%)、 $\alpha$ -雪松烯(2.89%)、3 $\alpha$ -甲基-3,3 $\alpha$ 、4,5-四氢-2H-环戊二烯并[a]萘-3-醇(2.03%)。

大西洋雪松精油中可鉴别的化学结构式见图 2。

### 2.2 大西洋雪松精油的体外抑菌活性

大西洋雪松精油对供试菌株的抑菌活性分析见表 2。

由表 2 可知,大西洋雪松精油对金黄色葡萄球菌[(10.40 $\pm$ 1.40) mm]、大肠埃希菌[(9.44 $\pm$ 0.45) mm]、白色念珠菌[(9.78 $\pm$ 0.52) mm]均有一定的抑菌作用,但仅对金黄色葡萄球菌的抑制效果达到中度敏感,对另外两株供试菌的抑菌效果均为低度敏感。

### 2.3 大西洋雪松精油对 RAW264.7 细胞活性的影响

大西洋雪松精油对 RAW264.7 细胞活性的作用结果见图 3。

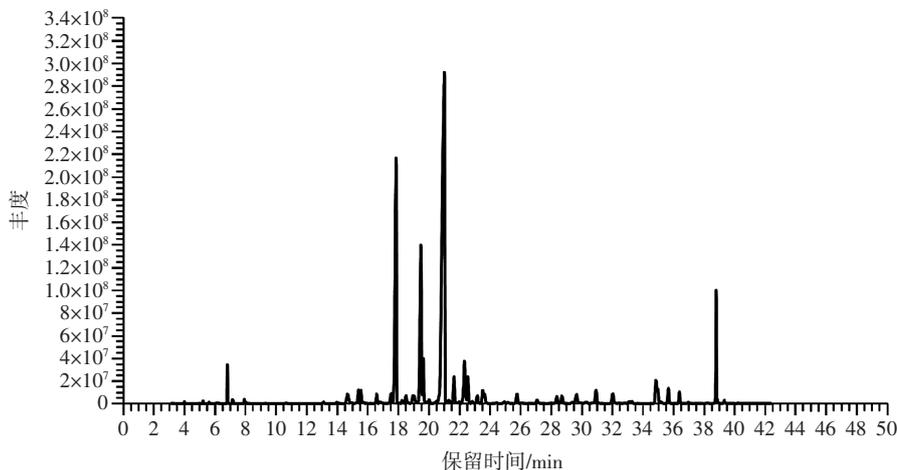


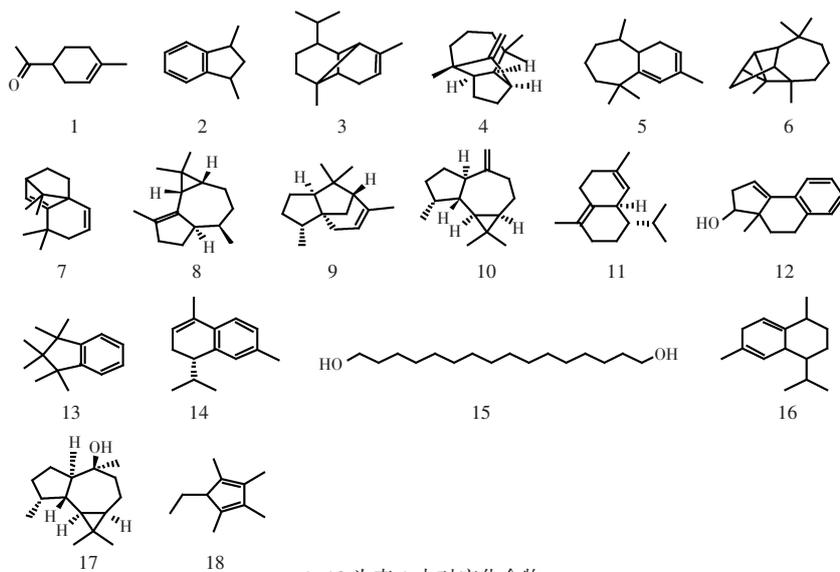
图1 大西洋雪松精油成分总离子流图

Fig.1 Total ion flow diagram of components in essential oils from *Cedrus atlantica*

表1 大西洋雪松精油化学成分分析

Table 1 Chemical component analysis of essential oils from *Cedrus atlantica*

序号	保留时间/min	化合物	化学式	CAS号	相对含量/%
1	6.797	4-乙酰基-1-甲基-1-环己烯	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	006090-09-1	0.99
2	14.674	1,3-二甲基茛满	C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> BO	004175-53-5	1.17
3	15.374	α-古巴烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	003856-25-5	0.88
4	15.541	长叶烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	000475-20-7	0.73
5	16.574	3,5,5,9-四甲基-5,6,7,8,9,9a-六氢-1H-苯并[a]环庚烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	060909-27-5	0.66
6	17.840	(+)-长叶环烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	001137-12-8	20.29
7	18.951	8,9-脱氢新异叶长烯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	067517-14-0	0.62
8	19.463	(-)-α-古芸烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	000489-40-7	12.90
9	19.618	α-雪松烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	000469-61-4	2.89
10	21.007	(+)-香橙烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	000489-39-4	31.56
11	22.318	δ-杜松烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	000483-76-1	4.20
12	22.54	3a-甲基-3,3a,4,5-四氢-2H-环戊二烯并[a]萘-3-醇	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> O	071805-91-9	2.03
13	23.151	1,1,2,2,3,3,-六甲基茛满	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	091324-94-6	0.66
14	23.506	A-二去氢菖蒲烯	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub>	021391-99-1	1.08
15	27.073	[1R-(1α,3aβ,4α,8aβ,9S*)]-十氢-1,5,5,8a-四甲基-1,4-甲烷七氮烯-9-醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	000465-24-7	0.38
16	29.650	1,2,3,4,4a,7-六氢-1,6-二甲基-4-(1-甲基乙基)-萘	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	016728-99-7	0.88
17	32.016	(+)-白千层醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	000552-02-3	1.03
18	38.793	乙基-四甲基环戊二烯	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub>	057693-77-3	4.63



1~18 为表1中对应化合物。

图2 大西洋雪松精油中可鉴别的化学结构式

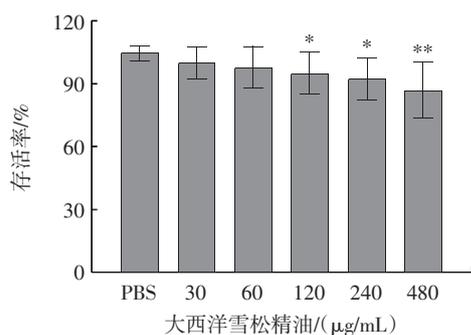
Fig.2 Identifiable chemical structure of essential oils from *Cedrus atlantica*

表2 大西洋雪松精油对供试菌株的抑菌活性分析

Table 2 Antibacterial activity of essential oils from *Cedrus atlantica*

组别	浓度/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	抑菌圈直径/mm		
		金黄色葡萄球菌	大肠埃希氏菌	白色念珠菌
硫酸庆大霉素	80	30.12 $\pm$ 0.32 <sup>###</sup>	26.23 $\pm$ 0.64 <sup>###</sup>	-
	40	27.62 $\pm$ 0.33 <sup>###</sup>	23.48 $\pm$ 0.78 <sup>###</sup>	-
	20	24.98 $\pm$ 0.51 <sup>###</sup>	20.31 $\pm$ 0.44 <sup>###</sup>	-
	10	19.45 $\pm$ 0.23 <sup>#</sup>	15.93 $\pm$ 0.28 <sup>#</sup>	-
	5	12.31 $\pm$ 0.20 <sup>#</sup>	11.47 $\pm$ 0.25 <sup>#</sup>	-
克霉唑	100	-	-	20.56 $\pm$ 0.20 <sup>###</sup>
	50	-	-	19.90 $\pm$ 0.51 <sup>###</sup>
	25	-	-	16.56 $\pm$ 0.32 <sup>###</sup>
	12.5	-	-	13.16 $\pm$ 0.78 <sup>#</sup>
大西洋雪松精油	-	10.40 $\pm$ 1.40 <sup>#</sup>	9.44 $\pm$ 0.45	9.78 $\pm$ 0.52
	生理盐水	-	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00

注:-表示未进行此项试验;#表示中敏;##表示高敏;###表示极敏。



\*表示与正常组(PBS)比较差异显著, $P<0.05$ ;\*\*表示与正常组(PBS)比较差异极显著, $P<0.01$ 。

图3 大西洋雪松精油对 RAW264.7 细胞存活率的影响

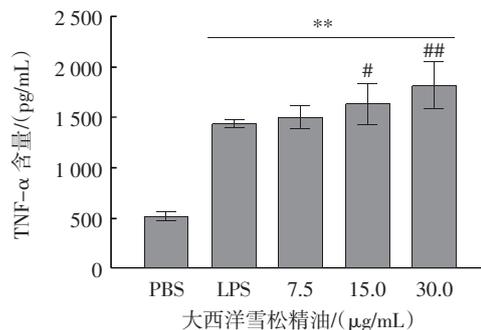
Fig.3 Effect of essential oils from *Cedrus atlantica* on the survival rate of RAW264.7 cells

由图3可知,大西洋雪松浓度高于120  $\mu\text{g/mL}$ 后会显著抑制 RAW264.7 细胞的增殖活性,因此低于60  $\mu\text{g/mL}$ 浓度的给药剂量相对安全。

### 2.4 大西洋雪松精油对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症的影响

大西洋雪松精油对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症的影响见图4~图6。

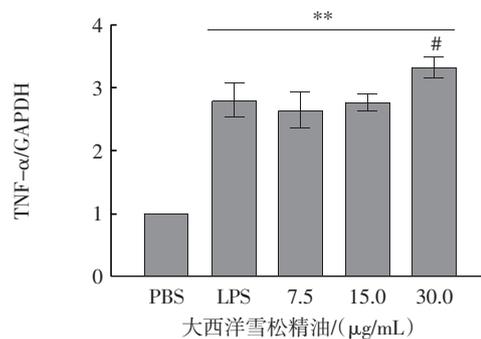
由图4~图6可知,与对照组比较,模型组上清液中 TNF- $\alpha$  含量和细胞中 TNF- $\alpha$ 、iNOS mRNA 表达量均极显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,大西洋雪松精油中、高剂量组 TNF- $\alpha$  的分泌水平和高剂量组 TNF- $\alpha$  mRNA 表达量明显上升( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ),而各剂量组的 iNOS mRNA 表达量呈剂量依赖性降低( $P<0.01$ )。



\*\*表示与对照组(PBS)比较差异极显著, $P<0.01$ ;#表示与模型组(LPS)比较差异显著, $P<0.05$ ,##表示与模型组(LPS)比较差异极显著, $P<0.01$ 。

图4 大西洋雪松精油对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞释放 TNF- $\alpha$  的影响

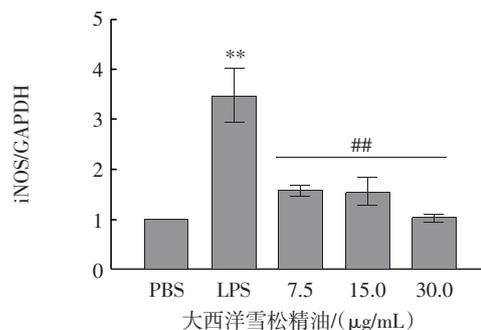
Fig.4 Effect of essential oils from *Cedrus atlantica* on the release of TNF- $\alpha$  in RAW264.7 cells induced by LPS



GAPDH 为甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)。\*\*表示与对照组(PBS)比较差异极显著, $P<0.01$ ;#表示与模型组(LPS)比较差异显著, $P<0.05$ 。

图5 大西洋雪松精油对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞 TNF- $\alpha$  mRNA 表达量的影响

Fig.5 Effect of essential oils from *Cedrus atlantica* on the expression of TNF- $\alpha$  mRNA in RAW264.7 cells induced by LPS



\*\*表示与对照组(PBS)比较差异极显著, $P<0.01$ ;##表示与模型组(LPS)比较差异显著, $P<0.01$ 。

图6 大西洋雪松精油对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞 iNOS mRNA 表达量的影响

Fig.6 Effect of essential oils from *Cedrus atlantica* on the expression of iNOS mRNA in RAW264.7 cells induced by LPS

### 3 讨论与结论

根据文献报道,雪松醇属于倍半萜烯醇,具有广泛的药理特性,包括镇静、抗菌、抗炎和细胞毒性活性,同时具有淡淡的木香,是一种安全的香料,可作为调味剂或佐剂,并已普遍用作化妆品、食品和药品中的调味成分<sup>[18]</sup>。此外,长叶环烯、(-)- $\alpha$ -古芸烯、 $\delta$ -杜松烯、(+)- $\alpha$ -长叶蒎烯、顺罗汉柏烯等成分具有一定的抗菌和抗氧化活性,可用于化妆品和口腔卫生用品的防腐剂和抗菌剂,以及天然药物的制备<sup>[19-20]</sup>。TNF- $\alpha$ 是由巨噬细胞分泌的促进炎症反应的关键细胞因子,可以诱导其自身及周围细胞损伤,形成促进炎症反应的“正反馈”,导致炎症加重<sup>[21]</sup>。而作为炎症反应中的重要信号传递分子,NO由活化巨噬细胞的iNOS基因异常表达产生。当LPS刺激巨噬细胞时iNOS mRNA表达上调,产生大量NO与过氧阴离子氧化形成氧化亚硝酸盐,引起组织损伤。

本研究通过GC-MS检测到大西洋雪松精油的主要成分为(+)-香橙烯(31.56%)、长叶环烯(20.29%)、(-)- $\alpha$ -古芸烯(12.90%)、乙基-四甲基环戊二烯(4.63%)、 $\delta$ -杜松烯(4.20%)、 $\alpha$ -雪松烯(2.89%)、3a-甲基-3,3a,4,5-四氢-2H-环戊二烯并[a]萘-3-醇(2.03%)等萜烯类化合物和醇类化合物;体外抗菌试验发现,大西洋雪松精油对金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、白色念珠菌均有抑制作用,但敏感度仅为中度或低度。在一定浓度下大西洋雪松精油对LPS诱导的炎症因子TNF- $\alpha$ 含量有明显影响,对于引起氧化损伤的氧化应激酶iNOS却有极显著的抑制作用,说明雪松精油发挥抗炎作用的机制有可能与抑制氧化酶的活性有关,但关键的抗炎作用机制还有待进一步验证。综上所述,大西洋雪松精油中含有多种生理活性成分,具有较大的开发、应用潜力。

### 参考文献:

- [1] 马堪社,强周平.雪松在园林绿化中的应用[J].乡村科技,2020(20):45-46.  
MA Kanshe, QIANG Zhouping. Application of cedar in landscaping[J]. Rural Science and Technology, 2020(20): 45-46.
- [2] 胡文杰,罗辉,邹林海,等.雪松松针挥发油化学成分及抗氧化活性研究[J].植物研究,2017,37(4):621-627.  
HU Wenjie, LUO Hui, ZOU Linhai, et al. Chemical components and antioxidant activity of volatile oil from pine needles of *Cedrus deodara*[J]. Bulletin of Botanical Research, 2017, 37(4): 621-627.
- [3] 刘康柯,曹小燕.松针有效成分提取及药理活性研究进展[J].广州化工,2018,46(13):6-8.  
LIU Kangke, CAO Xiaoyan. Research progress on extraction and pharmacological activity of active constituents from pine needles[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2018, 46(13): 6-8.
- [4] 徐乾达,周志强,何强,等.雪松松针乙醇提取物的抗氧化活性及构效关系研究[J].食品工业科技,2020,41(20):295-302.  
XU Qianda, ZHOU Zhiqiang, HE Qiang, et al. Antioxidant activity

- and structure-activity relationship of ethanol extract from pine needle of *Cedrus deodara*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(20): 295-302.
- [5] 张国强,李运,鲁艳梅,等.雪松松针HPLC特征图谱及6个成分的含量测定[J].药物分析杂志,2021,41(3):525-532.  
ZHANG Guoqiang, LI Yun, LU Yanmei, et al. HPLC characteristic chromatogram and assay of six components for pine needles of *Cedrus deodara*[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2021, 41(3): 525-532.
  - [6] BISHT A, JAIN S, MISRA A, et al. *Cedrus deodara* (Roxb. ex D.Don) G.Don: A review of traditional use, phytochemical composition and pharmacology[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 279: 114361.
  - [7] 邢连喜,王萌,白娜.天然抗菌类功能食品产品研究与开发[A].中国食品科学技术学会.中国食品科学技术学会第十七届年会摘要集[C].中国食品科学技术学会第十七届年会摘要集,2020:573-574.  
XING Lianxi, WANG Meng, BAI Na. Research and development of natural antibacterial functional food products[A]. Chinese Society of Food Science and Technology. Summary Set of the 17th Annual Meeting of the Chinese Society of Food Science and Technology [C]. Abstract collection of 17th annual meeting of Chinese Society of Food Science and Technology, 2020:573-574.
  - [8] BEN BNINA E, HAJLAOUI H, CHAIEB I, et al. Chemical composition, antimicrobial and insecticidal activities of the Tunisian *Citrus aurantium* essential oils[J]. Czech Journal of Food Sciences, 2019, 37(2): 81-92.
  - [9] 陈淑霞,相佳瑶,冯阳,等.雪松精油的化学组成及乙酰胆碱酯酶抑制活性[J].中国药理学通报,2021,37(11):1627-1628.  
CHEN Shuxia, XIANG Jiayao, FENG Yang, et al. Chemical compositions of cedarwood oils and their inhibitory activity of acetylcholinesterase[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2021, 37(11): 1627-1628.
  - [10] ABEBE W, ZHANG W C, ZHANG S, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from *Justicia schimperiana*[J]. Journal of Pharmacognosy & Natural Products, 2018, 4(2): 154-156.
  - [11] 李林初.松科的核型和系统发育研究[J].植物分类学报,1995(5):417-432.  
LI Lingchu. Karyotype and phylogeny of Pinaceae[J]. Journal of Systematics and Evolution, 1995(5): 417-432.
  - [12] 贾晓妮,陈玉龙,张元媛,等.雪松花序挥发油的提取及GC-MS分析[J].中药材,2008,31(1):60-63.  
JIA Xiaoni, CHEN Yulong, ZHANG Yuanyuan, et al. Extraction and GC-MS analysis of volatile oil from *Cedrus deodara* flora[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2008, 31(1): 60-63.
  - [13] 郝湘妹,王宇航,王媛,等.几种检测乳酸菌抑制真菌性能的方法比较[J].食品研究与开发,2020,41(9):45-49.  
HAO Xiangmei, WANG Yuhang, WANG Yuan, et al. Comparison of several methods for the detection of antifungal activity of *Lactobacillus*[J]. Food Research and Development, 2020, 41(9): 45-49.
  - [14] 江红,黄艳丽,邢辉,等.miR-515-5p通过调控硫酸软骨素蛋白聚糖4表达对卵巢癌A2780细胞增殖和转移的影响及其机制[J].解剖学报,2022,53(1):42-49.  
JIANG Hong, HUANG Yanli, XING Hui, et al. Effects of miR-515-5p on the proliferation and metastasis of ovarian cancer cell A2780 by regulating the expression of chondroitin sulfate proteoglycan 4 and its mechanism[J]. Acta Anatomica Sinica, 2022, 53(1): 42-49.

- NI A G, et al. Structuration, elastic properties scaling, and mechanical reversibility of candelilla wax oleogels with and without emulsifiers[J]. Food Research International, 2019, 122: 471–478.
- [40] 刘勇, 周永丰, 颜德岳. 同步辐射在分子自组装研究中的应用[J]. 化学进展, 2010, 22(6): 1177–1184.
- LIU Yong, ZHOU Yongfeng, YAN Deyue. Application of synchrotron radiation in supramolecule self-assembly[J]. Progress in Chemistry, 2010, 22(6): 1177–1184.
- [41] SATO K, UENO S. Polymorphism in fats and oils[M]//Shahidi F. Bailey's industrial oil and fat products. 6th ed.: Edible oil and fat products: Chemistry, properties, and health effects (vol. 1). New Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 2005.
- [42] 张华. 现代有机波谱分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- ZHANG Hua. Modern organic spectral analysis[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [43] PERNETTI M, VAN MALSEN K, KALNIN D, et al. Structuring edible oil with lecithin and sorbitan tri-stearate[J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21(5/6): 855–861.
- [44] GRAVELLE A J, DAVIDOVICH-PINHAS M, ZETZL A K, et al. Influence of solvent quality on the mechanical strength of ethylcellulose oleogels[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 135: 169–179.
- [45] VALOPPI F, CALLIGARIS S, MARANGONI A G. Structure and physical properties of oleogels containing peanut oil and saturated fatty alcohols[J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2017, 119(5): 1600252.
- [46] LE BOTLAN D J, OUGUERRAM L. Spin-spin relaxation time determination of intermediate states in heterogeneous products from free induction decay NMR signals[J]. Analytica Chimica Acta, 1997, 349(1/3): 339–347.
- [47] RYE G G, LITWINENKO J W, MARANGONI A G. Fat crystal networks[M]//Shahidi F. Bailey's industrial oil and fat products. 6th ed.: Edible oil and fat products: Chemistry, properties, and health effects (vol. 1). New Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 2005.
- [48] 仝桐, 杨国龙, 刘伟, 等. 蔗糖酯对蜂蜡基油茶籽油凝胶等温结晶动力学的影响[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2019, 40(1): 8–13.
- TONG Tong, YANG Guolong, LIU Wei, et al. Effect of sucrose ester on isothermal crystallization kinetics of bee wax-based *Camellia* oil oleogels[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2019, 40(1): 8–13.
- [49] LI L L, LIU G Q. Corn oil-based oleogels with different gelation mechanisms as novel cocoa butter alternatives in dark chocolate[J]. Journal of Food Engineering, 2019, 263: 114–122.
- [50] WIJARNPRECHA K, ARYUSUK K, SANTIWATTANA P, et al. Structure and rheology of oleogels made from rice bran wax and rice bran oil[J]. Food Research International, 2018, 112: 199–208.
- [51] SCHARFE M, AHMANE Y, SEILERT J, et al. On the effect of minor oil components on  $\beta$ -sitosterol/ $\gamma$ -oryzanol oleogels[J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2019, 121(8): 1800487.
- [52] PALLA C, DE VICENTE J, ELENA CARRÍN M, et al. Effects of cooling temperature profiles on the monoglycerides oleogel properties: A rheo-microscopy study[J]. Food Research International, 2019, 125: 108613.

加工编辑:张璐  
收稿日期:2022-04-18

(上接第 156 页)

- [15] 张宜君. 放免法、ELISA 法检测慢性肾炎血清因子及 T 淋巴细胞亚群的意义分析[J]. 中国医疗器械信息, 2021, 27(16): 59, 179.
- ZHANG Yijun. Significance of ELISA and radioimmunoassay in detecting serum factors and lymphocyte subsets in chronic nephritis[J]. China Medical Device Information, 2021, 27(16): 59, 179.
- [16] 欧少沛, 李海燕, 周春海, 等. 外标法与峰面积归一法测定果葡糖浆组分的对比研究[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(7): 209–212.
- OU Shaopei, LI Haiyan, ZHOU Chunhai, et al. Comparative study on the detection of fructose content by external standard method and peak area normalization method[J]. China Food Additives, 2019, 30(7): 209–212.
- [17] 陈家宝, 王乾, 齐琳琳, 等. 基于柱前衍生化 GC-MS 技术比较紫苏子与白苏子的化学成分差异[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(23): 6185–6195.
- CHEN Jiabao, WANG Qian, QI Linlin, et al. Comparative analysis of chemical compositions of fruits of *Perilla frutescens* var. *arguta* and *P. frutescens* var. *frutescens* by pre-column derivatization with GC-MS[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2021, 46(23): 6185–6195.
- [18] ZHOU Z Q, ZENG W C, SUN Q, et al. Pine needle extract from *Cedrus deodara*: Potential applications on hazardous chemicals and quality of smoked bacon and its mechanism[J]. Food Control, 2021, 130: 108368.
- [19] 韩金龙, 董梅, 王琴, 等. 天然食品防腐剂研究进展[J]. 中国食品, 2021(23): 104–105.
- HAN Jinlong, DONG Mei, WANG Qin, et al. Research progress of natural food preservatives[J]. China Food, 2021(23): 104–105.
- [20] 徐晨家, 张卓旻. 食品防腐剂高效分离富集及快检技术研究进展[J]. 食品科技, 2021, 46(5): 224–230.
- XU Chenjia, ZHANG Zhuomin. Research progress on efficient separation-enrichment and rapid analytical technologies of food preservatives[J]. Food Science and Technology, 2021, 46(5): 224–230.
- [21] UDSEN M, TAGMOSE C, GARRED P, et al. Complement activation by RPE cells preexposed to TNF $\alpha$  and IFN $\gamma$ [J]. Experimental Eye Research, 2022, 218: 108982.

加工编辑:张璐  
收稿日期:2022-02-18