

# 岩须精油的化学成分及抗凝血活性研究

杨勇勋<sup>1\*</sup>, 祝雅庭<sup>1</sup>, 罗伦才<sup>2</sup>, 耿浩<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>西昌学院动物科学学院; <sup>2</sup>凉山州第二人民医院; <sup>3</sup>西昌学院理学院, 西昌 615000

**摘要:**为研究凉山彝药“史补”(岩须 *Cassiope selaginoides*)精油的化学成分及它的抗凝血作用。采用溶剂提取法,以石油醚(60~90℃)为溶剂提取岩须植物全草精油,再以GC-MS联用技术分析它的化学成分。最后,再以凝血酶原时间分析方法评价它的抗凝血作用。通过研究,从精油分离得到84个成分,鉴定了其中的47个成分,占总精油量的80.72%。其中齐墩果烷与乌苏烷型三萜类成分为最主要的成分类型,并以化合物friedoolean-8-en-3-yl acetate的含量最高,达17.85%,其次的成分类群为芳香族衍生物、脂肪族烷烃类、单萜、甾醇,及少量的倍半萜类等。另外,凝血酶原时间测试表明岩须挥发油具有有效的抗凝血作用。

**关键词:**岩须;精油;三萜;抗凝血作用

中图分类号:R284

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)Suppl-0059-05

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.S.007

## Study on chemical constituents of essential oil of *Cassiope selaginoides* and its anticoagulant activity

YANG Yong-xun<sup>1\*</sup>, ZHU Ya-ting<sup>1</sup>, LUO Lun-cai<sup>2</sup>, GENG Hao<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>School of Animal Sciences, Xichang University; <sup>2</sup>Second People's Hospital of Liangshan Yi Autonomous Prefecture;

<sup>3</sup>School of Sciences, Xichang University, Xichang 615000, China

**Abstract:** To study the chemical constituents of the essential oil of *Cassiope selaginoides* and its anticoagulant activity. The *C. selaginoides* essential oil (CSEO) was extracted by solvent extraction method using petroleum ether (60-90 °C) as the extracting solvent, and the chemical constituents were analyzed by GC-MS. The anticoagulant activity of CSEO was evaluated by prothrombin time assay *in vitro*. The results showed that the CSEO contained 84 compounds, and 47 components accounting for 80.72% of the total oil were identified. Among them, the principal components in CSEO were ursane- and oleanane-type triterpenoids, mainly friedoolean-8-en-3-yl acetate (17.85%), followed by aromatic compounds, aliphatic hydrocarbons, monoterpenoids, steroids, and rare sesquiterpenoids. In addition, prothrombin time test revealed that CSEO had an effective anticoagulant activity.

**Key words:** *Cassiope selaginoides*; essential oil; triterpenoids; anticoagulant effect

杜鹃花科岩须属(*Cassiope*)植物全世界有约20种,分布于北半球的环极地区,南经俄罗斯,延伸抵达至我国的南部,至喜马拉雅地区,形成特殊的亚高山矮灌丛。我国有11种,产四川、云南、西藏,常见于高海拔高山<sup>[1,2]</sup>。凉山彝药“史补”,为杜鹃花科岩须属岩须*C. selaginoides*植物全草,草药名又有“草灵芝”“灵芝草”“岩灵芝”等名,主治头昏目眩、神衰体虚、口干烦渴、风湿疼痛、肠胃气滞、肝气不舒、饮食无味等症<sup>[3]</sup>。到目前为止,对本彝药,甚至

对本属植物的药效物质研究都非常的薄弱, Xiao等<sup>[3]</sup>从本彝药中分离的四个结晶化合物分别鉴定为正二十六烷、蒲公英赛醇乙酸酯,蒲公英赛醇和齐墩果酸; Denford等<sup>[4]</sup>从本属的*C. tetragona*、*C. stellariana*、*C. lycopodioides*等植物叶中分得8个黄酮苷类化合物。

由于岩须属*Cassiope*植物分布于北半球的环极地区,以及散点分布于亚洲、欧洲等地的高山地区,因此,环北极之外的本属植物被认为是冰期时期植物南迁的孑遗,故而它们也就成为了当前研究气候变化的一种重要模式植物<sup>[5,6]</sup>。由于高纬度地区植物的挥发性成分对气候变化有重要的影响作用,因此,当前有对环北极地区的岩须属*Cassiope*植物的

收稿日期:2023-08-29 接受日期:2023-10-31

基金项目:凉山州科学与技术带头人培养资金(2022、2023年);凉山州科技局重点研发项目(21ZDYF0019)

\*通信作者 Tel:86-834-2580034; E-mail: xcc03100032@xcc.edu.cn, genghao1709@163.com

挥发性成分的研究报道,如研究发现 *C. tetragona* 中富含倍半萜与单萜类挥发性成分,且分别占挥发性成分的 38% 与 15%。其中,单萜成分中又以柠檬烯为主,而倍半萜成分则以  $\gamma$ -桉叶醇为主<sup>[7-8]</sup>。因此,为阐明本凉山彝药的药效物质基础,尤其是本彝药治疗头昏目眩、神衰体虚的药效物质基础,以及为阐明岩须挥发性成分在气候变化、植物迁移中扮演的重要作用的研究奠定基础,本研究采用 GC-MS 联用技术对本彝药精油的化学成分及抗凝血作用进行了研究,现将研究结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与材料

HP6890GC/5973MS 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent Technologies 公司);TDZ5-WS 型高速离心机(长沙维尔康湘鹰离心机有限公司);SA1245-CW 分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);URIT-600A 半自动凝血分析仪(URIT-600A);凝血酶原时间试剂盒(冻干型,上海太阳生物技术有限公司);阿司匹林肠溶片(拜耳医药保健有限公司,100mg/片,批号 BJ60461)。

药材采集于四川省普格县螺髻山,并经本文作者罗伦才主任药师鉴定为杜鹃花科岩须属岩须 *Cassiope selaginoides* 植物全草。植物标本(20230701)现存于西昌学院动物科学学院。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 提取分离

取 100 g 岩须干品粗碎后用 10 倍量的 95% 乙醇室温冷浸,提取两次,每次 24 h,合并提取液,减压回收乙醇,得半固体浸膏。随后,用石油醚(60~90℃)萃取(浸泡)至提取液颜色变浅为止,合并萃取液,回收溶剂,得岩须精油。

#### 1.2.2 GC-MS 分析

GC 条件:HP-5 MS 石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25  $\mu$ m);柱温:起始温度 40℃,程序升温 3℃/min 至 80℃,再 5℃/min 升温至 280℃,保持 50 min;柱流量为 1.0 mL/min;进样口温度 250℃;柱前压 100 kPa;进样量 1.0  $\mu$ L;分流比 2:1;载气为高纯氦气。

MS 条件:电离方式 EI;电子能量 70;传输线温度 250℃;离子源温度 230℃;四极杆温度 150℃;质量范围 35~500;采用峰面积归一化法确定各组分的含量;采用 Wiley7n.1 和 NIST98 标准谱库计算机检索定性。

#### 1.2.3 抗凝血活性测试

采用半自动凝血分析仪对岩须精油的抗凝血活性进行分析。心脏取血法采集健康家兔的新鲜血 30 mL,置于含柠檬酸钠抗凝剂的 3 支采血管内。离心机离心(3 000 r/min,20 min)得上层的血清,用于活性测试。岩须精油用 0.5% 的羧甲基纤维素钠溶解,配制成高(1.0 mg/mL)、中(0.5 mg/mL)、低(0.25 mg/mL)浓度,以阿司匹林(1.0 mg/mL)作为阳性对照,按试剂盒操作流程操作,每个浓度测试四次。

实验数据采用 Prism 软件,选择单因素 ANOVA 分析方法,进行数据分析。所有数据均采用平均值  $\pm$  标准偏差( $\bar{x} \pm s$ )表示。在实验数据分析结果中, $P < 0.05$  表示有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 岩须精油的化学成分分析

按上述 GC-MS 条件对岩须精油的化学成分进行分析,其分离得 84 个色谱峰,其总离子流图见图 1。

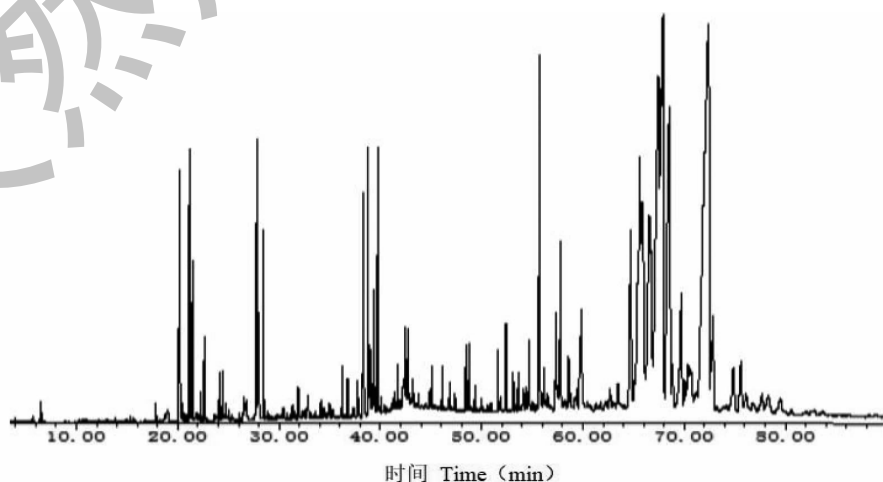


图 1 岩须精油的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of essential oil of *C. selaginoides*

利用 GC-MS 自带的 wiley 7n.1 和 NIST98 标准谱库进行成分检索,并辅以人工分析,鉴定它们的结构,并采用峰面积归一化法确定了它们的相对百分含量,具体见表 1。通过研究,鉴定了其中的 45 种成分,其总相对百分含量占总量的 80.72%。另外,若从另外一个角度来看本精油的总离子流图,可发现:本彝药石油醚部位的气-质谱也可看成是由三部分的成分峰组成(见图 1):挥发性的低沸点成分,即

保留时间在 30 min 以内的、分子量小于 200 的成分,为单萜及简单酚酸类成分;中等沸点成分(含少量的挥发性成分),即保留时间在 35 ~ 54 min 之间出峰的成分,分子量大多在 200 ~ 310 之间,主要为脂肪烃类成分,但含少量的倍半萜类成分;高沸点成分(非挥发性成分),即保留时间在 54 min 之后出峰的成分,它们的分子量大于 400,为三萜甙元与甙醇类成分。

表 1 岩须精油的化学成分

Table 1 Chemical constituents of essential oil of *C. selaginoides*

序号 No.	保留时间 $t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	相对含量 Relative content(%)
1	20.221	苯丙醇 3-Phenyl-1-propanol	$C_9H_{12}O$	2.14
2	20.515	香芹酮 Carvone	$C_{10}H_{14}O$	0.08
3	21.156	烯丙基苯酚 <i>p</i> -Allylphenol	$C_9H_{10}O$	1.72
4	21.461	肉桂醛 Cinnamaldehyde	$C_9H_8O$	0.98
5	22.273	百里香酚 Thymol	$C_{10}H_{14}O$	0.13
6	22.631	肉桂醇 Cinnamyl alcohol	$C_9H_{10}O$	0.45
7	24.110	丁香酚 Eugenol	$C_{10}H_{12}O_2$	0.17
8	24.426	甲氧基苯乙醇 4-Methoxyphenethyl alcohol	$C_9H_{12}O_2$	0.26
9	26.493	羟基-4-甲氧基苯乙酮 1-(2-Hydroxy-4-methoxyphenyl) propan-2-one	$C_{10}H_{12}O_3$	0.10
10	26.771	肉桂酸 Cinnamic acid	$C_9H_8O_2$	0.20
11	27.818	甲氧基苯丙醇 3-(4-Methoxyphenyl)-1-propanol	$C_{10}H_{14}O_2$	2.11
12	28.480	2,4-叔丁基苯酚 2,4-Di-tert-butylphenol	$C_{14}H_{22}O$	0.66
13	34.127	6-(1,5-二甲基-4-己烯基)-3-甲基-2-环己烯-1-酮 6-(1',5'-Dimethylhex-4'-enyl)-3-methylcyclohexen-2-enone	$C_{15}H_{24}O$	0.08
14	36.221	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone	$C_{18}H_{36}O$	0.18
15	39.015	十六烷酸 Palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	0.60
16	39.352	十六烷酸乙酯 Palmitic acid ethyl ester	$C_{18}H_{36}O_2$	0.47
17	41.702	植醇 Phytol	$C_{20}H_{40}O$	0.19
18	42.450	十八碳二烯酸(亚油酸) Linoleic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	0.50
19	42.616	十八碳二烯酸乙酯 Ethyl linoleate	$C_{20}H_{36}O_2$	0.14
20	42.733	十八碳烯酸乙酯 Ethyl oleate	$C_{20}H_{38}O_2$	0.25
21	44.897	十八烷酸乙酯(硬脂酸乙酯) Ethyl stearate	$C_{20}H_{40}O_2$	0.10
22	45.079	二十三烷 Tricosane	$C_{23}H_{48}$	0.15
23	46.104	4,8,12,16-四甲基十七烷-4-交酯 4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide	$C_{21}H_{40}O_2$	0.18
24	46.836	己二酸二(2-乙基己基)酯 Di(2-ethylhexyl) adipate	$C_{22}H_{42}O_4$	0.11
25	48.375	二十二碳烯 1-Docosene	$C_{22}H_{44}$	0.18
26	48.487	二十五烷 Pentacosane	$C_{25}H_{52}$	0.24
27	48.754	二十二烷醇 2-Docosanol	$C_{22}H_{44}O$	0.32
28	49.342	二十七烷 Heptacosane	$C_{27}H_{56}$	0.09
29	53.610	角鲨烯 Squalene	$C_{30}H_{50}$	0.14

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	保留时间 $t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	相对含量 Relative content( % )
30	54. 689	二十九烷 Nonacosane	$C_{29}H_{60}$	0. 39
31	57. 793	$\beta$ -生育酚 $\beta$ -Tocopherol	$C_{28}H_{48}O_2$	1. 30
32	58. 595	三十一烷 Hentriacontane	$C_{31}H_{64}$	0. 34
33	59. 850	维生素 E Vitamin E	$C_{29}H_{50}O_2$	1. 57
34	64. 744	D-Friedoolean-14-en-3-one	$C_{30}H_{48}O$	2. 50
35	65. 646	$\beta$ -谷甾醇 $\beta$ -Sitosterol	$C_{29}H_{50}O$	5. 46
36	65. 849	蒲公英赛醇 Taraxerol	$C_{30}H_{50}O$	4. 34
37	66. 549	Friedoolean-8-en-3-one	$C_{30}H_{48}O$	3. 09
38	67. 409	3-Keto-urs-12-ene	$C_{30}H_{48}O$	9. 45
39	67. 901	Friedoolean-8-en-3 $\beta$ -ol	$C_{30}H_{50}O$	9. 34
40	68. 537	$\alpha$ -香树脂醇 $\alpha$ -Amyrin	$C_{30}H_{50}O$	6. 87
41	69. 717	蒲公英萜醇乙酸酯 Friedoolean-14-en-3-yl acetate	$C_{32}H_{52}O_2$	2. 19
42	70. 401	香树脂醇乙酸酯 Olean-12-en-3-yl acetate	$C_{32}H_{52}O_2$	0. 73
43	70. 652	豆甾-4-烯-3-酮 Stigmast-4-en-3-one	$C_{29}H_{48}O$	0. 78
44	72. 346	Friedoolean-8-en-3-yl acetate	$C_{30}H_{50}O$	17. 85
45	72. 864	Lanosteryl acetate (lanosta-8,24-dien-3-ol acetate)	$C_{32}H_{52}O_2$	1. 60

## 2.2 抗凝血活性测试结果

采用凝血四项中的凝血酶原时间测定,对岩须精油的抗凝血作用进行了研究,结果见表 2。研究结果发现,岩须精油能增加凝血酶原时间,显示出抗

凝血作用,而且随浓度增高,抗凝血作用增强。但阳性对照药的抗凝血活性与精油的抗凝血活性显示出统计学上的差异,显示岩须精油的抗凝血作用不及阳性对照药的抗凝血作用。

表 2 岩须精油的凝血酶原时间 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )Table 2 Prothrombin time of essential oil of *C. selaginoides* ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

样品 Sample	凝血酶原时间 Prothrombin time (s)
空白对照 Control	10. 10 $\pm$ 0. 20
阳性对照 Positive control (1.0 mg/mL)	13. 98 $\pm$ 0. 42 <sup>###</sup>
精油 Essential oil (0. 25 mg/mL)	10. 65 $\pm$ 0. 25 <sup>****</sup>
精油 Essential oil (0. 5 mg/mL)	11. 20 $\pm$ 0. 20 <sup>****</sup>
精油 Essential oil (1. 0 mg/mL)	12. 42 $\pm$ 0. 38 <sup>****</sup>

注:与空白对照组比较,<sup>###</sup> $P < 0. 001$ ,<sup>\*\*\*\*</sup> $P < 0. 001$ ;与阳性对照组对比,<sup>\*\*\*</sup> $P < 0. 001$ 。

Note:<sup>##</sup> $P < 0. 01$ ,<sup>###</sup> $P < 0. 001$  vs control group;<sup>\*\*\*</sup> $P < 0. 001$  vs positive control group.

## 3 讨论与结论

本研究采用 GC-MS 联用技术首次对凉山彝药“史补”(岩须 *C. selaginoides*) 的精油成分及其抗凝血作用进行了研究。研究发现:本植物精油含 84 个成分,鉴定出其中的 45 个成分,其百分含量总占比为 80. 72%;本植物精油主要是齐墩果烷与乌苏烷型三萜类成分,其次为芳香族化合物、脂肪烷烃、甾体、单萜,以及少量的倍半萜、维生素等类成分;本植

物精油中相对百分含量大于 5% 的成分是:friedoolean-8-en-3-yl acetate (17. 85%)、3-keto-urs-12-ene (9. 45%)、friedoolean-8-en-3 $\beta$ -ol (9. 34%)、 $\alpha$ -香树脂醇 (6. 87%)、 $\beta$ -谷甾醇 (5. 46%);岩须精油中的挥发性成分以芳香族酚酸类成分为主,稀含单萜与倍半萜类成分,主要成分为:苯丙醇 (2. 14%)、烯丙基苯酚 (1. 72%)、肉桂醛 (0. 98%)、甲氧基苯丙醇 (2. 11%)、百里香酚 (0. 13%)、香芹酮 (0. 08%)、

6-(1,5-二甲基-4-己烯基)-3-甲基-2-环己烯-1-酮(0.08%);岩须精油具有有效的抗凝血作用。以上研究结果揭示了本植物中丰富的三萜类脂类成分可能是岩须植物生长于高海拔高山地区抗寒防冻的主要防御物质。另外,研究显示本彝药挥发性成分中主要以芳香族的酚酸类成分为主,稀含单萜与倍半萜成分,此与环北极地区的岩须属植物挥发性成分的主成分相异<sup>[7,8]</sup>,因此,对凉山地区岩须植物的挥发性成分,以及它们在气候变化与植物迁移中扮演的作用值得深入研究。同时,鉴于岩须药材具有的抗凝血作用,此与中医药学采用“活血化瘀”之法防治失眠、头晕目眩、神衰体虚等的治法治则相符<sup>[9]</sup>,此外,现代研究发现乌苏烷型与齐墩果烷型三萜类成分,如乌苏酸与齐墩果酸具有神经保护活性<sup>[10]</sup>,因此,岩须药材中丰富的三萜类成分,尤其是主成分 friedoolean-8-en-3-yl acetate 具有的防治失眠、头晕目眩、神衰体虚的药用潜力值得深入研究。

#### 参考文献

- 1 Flora of China Editorial Committee of Chinese Academy of Science. Flora of China(中国植物志)[M]. Beijing: Science Press, 1991, 57: 1.
- 2 Li SZ. Classification and geographical distribution of *Cassiope* in China[D]. Kunming: Southwest Forestry University(西南林业大学), 2016.
- 3 Xiao CH, Liu YP. Studies on the chemical constituents of

*Cassiope selaginoides* H. F. et Thoms [J]. West China J Pharm Sci(华西药理学杂志), 1989, 4: 137-139.

- 4 Denford KE, Karas I. A study of the flavonoids of certain species of *Cassiope*(Ericaceae) [J]. Can J Bot, 1975, 53: 1192-1195.
- 5 Liang E, Liu W, Ren P, et al. The alpine dwarf shrub *Cassiope fastigiata* in the Himalayas; does it reflect site-specific climatic signals in its annual growth rings? [J]. Trees, 2014, 29: 79-86.
- 6 Milner JM, Stien A, Wal R, et al. Retrospective growth analysis of the dwarf shrub *Cassiope tetragona* allows local estimation of vascular plant productivity in high arctic Svalbard [J]. J Veg Sci, 2018, 29: 943-951.
- 7 Schollert M, Burchard S, Faubert P, et al. Biogenic volatile organic compound emissions in four vegetation types in high arctic Greenland [J]. Polar Biol, 2013, 37: 237-249.
- 8 Rinnan R, Rinnan S, Faubert P, et al. Few long-term effects of simulated climate change on volatile organic compound emissions and leaf chemistry of three subarctic dwarf shrubs [J]. Environ Exp Bot, 2011, 72: 377-386.
- 9 Ma J, Li F, Ren QJ, et al. Application research of high altitude insomnia in promoting blood circulation and removing stasis method [J]. Forum Tradit Chin Med(国医论坛), 2012, 27: 14-16.
- 10 Gudoityte E, Arandarcikaite O, Mazeikiene I, et al. Ursolic and oleanolic acids: plant metabolites with neuroprotective potential [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22: 4599.

(上接第 146 页)

- 18 Jiang XY, Ma C, Yu K, et al. Interaction between juglone and peptidyl-prolyl *cis-trans* isomerase NIMA-interacting 1 by spectroscopic combined with computational simulation [J]. Mod. Food Sci Technol(现代食品科技), 2021, 37: 135-141.
- 19 Liu T, Zhang Y, Liu J, et al. Evaluation of the acute and sub-acute oral toxicity of jaranol in kunming mice [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 903232.
- 20 Adhikari B, Marasini BP, Rayamajhee B, et al. Potential roles of medicinal plants for the treatment of viral diseases focusing on COVID-19: a review [J]. Phytother Res, 2021, 35: 1298-

1312.

- 21 Anka AU, Tahir MI, Abubakar SD, et al. Coronavirus disease 2019(COVID-19): an overview of the immunopathology, serological diagnosis and management [J]. Scand J Immunol, 2021, 93: e12998.
- 22 Kimmig LM, Wu D, Gold M, et al. IL-6 inhibition in critically ill COVID-19 patients is associated with increased secondary infections [J]. Front Med(Lausanne), 2020, 7: 583897.
- 23 Steenblock C, Hassanein M, Khan EG, et al. Diabetes and COVID-19: short-and long-term consequences [J]. Horm Metab Res, 2022, 54: 503-509.