

不同产地龙脑樟枝叶化学成分分析及体外抑菌研究

李思琪^{1,2}, 江 芊², 黄 英², 胡 璇², 王 凯², 官玲亮², 于福来^{2*}, 庞玉新^{1,3*}

1. 广东药科大学中药资源学院, 广东云浮 527300; 2. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业农村部中药材生物学与栽培重点实验室/海南省热带药用植物工程研究中心, 海南海口 571101; 3. 贵州中医药大学药学院, 贵州贵阳 550025

摘 要: 龙脑樟为目前国内提取天然冰片效益最高的植物, 为助力其道地产区的确定, 本研究根据龙脑樟的习性, 拟选取国内 8 个产地的龙脑樟枝叶为材料, 采用水蒸汽蒸馏法分别提取天然冰片; 通过气质联用法 (GC-MS) 测定其中化学成分的相对含量; 通过纸片法测定其对大肠杆菌、伤寒沙门氏菌以及肠炎沙门氏菌的抑菌圈直径; 运用 96 微量孔板测定最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC)。结果表明: 各个产地龙脑樟枝叶提取的天然冰片中化合物含量具有差异性, 其中以右旋龙脑、樟脑、*d*-柠檬烯、 α -葑草烯、4-萜烯醇、桉叶油醇、莰烯以及 *d*- α -蒎烯等为共有成分, 且以右旋龙脑含量最高, 樟脑次之, 各产地中以湖北远安的右旋龙脑含量最高 (82.47%), 以广东乳源的右旋龙脑含量最低 (41.63%); 各个产地提取的天然冰片对 3 个供试菌种均有一定抑菌作用, 且抑菌圈直径范围为 14.60~27.95 mm; 最低抑菌浓度 (MIC) 范围为 250~1250 μ g/mL; 最低杀菌浓度 (MBC) 范围为 0~1000 μ g/mL, 总体以湖北远安和江西吉水的综合抑菌效果最佳, 广东乳源最差。由此可见, 右旋龙脑含量最高的产地抑菌效果最佳, 反之抑菌效果欠佳, 因此, 龙脑樟枝叶提取物的抑菌活性与其主要成分含量有一定相关性, 本研究为龙脑樟枝叶提取物的品质评价及天然冰片的资源开发提供依据。

关键词: 龙脑樟; 右旋龙脑; 相对含量; 抑菌活性; 天然冰片

中图分类号: R284.1 文献标识码: A

Chemical Composition Analysis and *in vitro* Bacteriostasis Research of *Cinnamomum camphora* (L.) Presl Branches and Leaves From Different Habitats

LI Siqu^{1,2}, JIANG Qian², HUANG Ying², HU Xuan², WANG Kai², GUAN Lingliang², YU Fulai^{2*}, PANG Yuxin^{1,3*}

1. School of Chinese Materia Medica Resources, Guangdong Pharmaceutical University, Yunfu, Guangdong 527300, China; 2. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Biology and Cultivation of Herb Medicine (Haikou), Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Hainan Provincial Engineering Research Center for Tropical Medicinal Plants, Haikou, Hainan 571101, China; 3. School of Pharmacy, Guizhou University of Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550025, China

Abstract: *C. camphora* (L.) Presl is the most effective plant for extracting natural borneol in China. In order to help determine its proper habitat, this research plans to select branches and leaves of *C. camphora* (L.) Presl from eight habitats in China according to its habits, natural borneol of the leaves and branches of *C. camphora* (L.) Presl were extracted by steam distillation. The relative content of the chemical components in the extract was determined by GC-MS. The bacteriostatic circle diameter of *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Salmonella enteritidis* subsp was measured by the paper method, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined by 96 micro well plates. Chemical composition determination showed that the content of natural bor-

收稿日期 2022-10-11; 修回日期 2023-01-06

基金项目 广东省科研事业单位 (省实验室分中心) 重点领域研发计划项目 (No. 2021B0707010008); 广东省重点领域研发计划项目 (No. 2020B020221002)。

作者简介 李思琪 (1994—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药资源开发与品质评价。*通信作者 (Corresponding author): 庞玉新 (PANG Yuxin), E-mail: pyxmarx@126.com; 于福来 (YU Fulai), E-mail: fulai.yu@163.com。

neol extracted from the branches and leaves from different habitats was different, among them, *d*-borneol, camphor, *d*-limonene, eucalyptol, *d*- α -pinene, camphene, α -humulene and terpinen-4-ol were the common components, and the content of *d*-borneol was the highest, then camphor. The highest content of *d*-borneol was found from Yuan'an, Hubei, China (82.47%), and the lowest content was found from Ruyuan, Guangdong, China (41.63%). The natural borneol extracted from various habitats showed bacteriostatic effect on the three tested strains, and the diameter range of bacteriostatic ring was 14.60 to 27.95 mm, the minimum inhibitory concentration (MIC) ranged from 250 to 1250 $\mu\text{g/mL}$, the minimum bactericidal concentration (MBC) ranged from 0 to 1000 $\mu\text{g/mL}$. The natural borneol from Yuan'an and Jishui, Jiangxi had the best bacteriostatic effect, while that from Guangdong had the worst on the whole. In conclusion, the bacteriostatic activity of the extracts from the branches and leaves of *C. camphora* (L.) Presl is correlated with the content of its main components, and the habitat with the highest content of *d*-borneol has the best bacteriostatic effect, while the other has poor bacteriostatic effect. The data obtained in this research are accurate and reliable, and would provide a basis for the quality evaluation of the extracts of *C. camphora* (L.) Presl branches and leaves and the development of natural borneol resources.

Keywords: *C. camphora* (L.) Presl; *d*-borneol; relative content; bacteriostatic activity; natural borneol

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.05.016

龙脑樟 [*Cinnamomum camphora* (L.) Presl] 是樟科樟属樟的多种化学型^[1]之一, 通体以枝叶经阴干后提取的产物中右旋龙脑含量最高^[2]。天然冰片是近乎纯净的右旋龙脑^[3], 原为龙脑香科龙脑香的树干经水蒸气蒸馏而得的白色结晶^[4], 现为植物樟同法而得, 具有提神醒脑、清热止痛^[5]之功效, 可用于治疗热症神昏、惊痫痰迷、烧烫伤以及气闭耳聋等一系列五官闭症, 广泛应用于医药、美容以及食品等行业。由于其主要原产地苏门答腊已禁止伐树取脑^[6]导致产量下降, 进口价格上升, 而天然冰片过去在我国无本地出产, 鉴于此, 20 世纪末我国科研人员找到 3 种可高效提取天然冰片的樟科植物, 分别为龙脑樟、油樟以及阴香^[7], 研究发现这 3 种植物以龙脑樟提取的产物中天然冰片纯度最高, 右旋龙脑含量在 85% 以上, 因此可将其作为提取天然冰片的首选材料。

目前, 龙脑樟的相关研究主要集中在天然冰片提取、组织培养及质量评价等方面, 在产地方面的研究相对较少, 不同产地的生境条件不同, 生长的龙脑樟中化学成分含量具有一定差异, 作为提取天然冰片的最佳植物, 这种差异是影响天然冰片临床药效的重要因素。因此, 寻找龙脑樟的最佳产地是今后规范种植和实现天然冰片自产的基础。张宇思等^[8]对湖南、江西、浙江以及福建 4 个产地的龙脑樟进行成分分析, 而龙脑樟喜温喜湿, 南方大部分地区气候均适宜其种植; 在体外抑菌研究方面, 杨鹏飞等^[9]、丁雄等^[10]围绕多个菌种展开研究, 发现龙脑樟枝叶提取物对这些菌种均表现出不同程度的抑菌活性, 尤其对能

引起肺曲霉病、皮肤感染以及食物发霉等的烟曲霉、白色念珠菌以及球毛壳霉的抑菌效果更为显著, 但未见对常见的食源性肠道传染性致病菌伤寒沙门氏菌和肠炎沙门氏菌的报道, 更无产地间的类比研究。

因此, 本研究拟采用 GC-MS 技术对国内 8 个产地龙脑樟枝叶提取物进行成分分析, 并分别对 3 株需氧菌伤寒沙门氏菌、肠炎沙门氏菌、大肠杆菌进行产地间体外抑菌活性比较研究, 旨在为龙脑樟枝叶提取物的品质评价及天然冰片的资源开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料与试剂 2~3 年生^[11]龙脑樟枝叶, 2021 年 11 月至 2022 年 2 月采自湖南新晃县鱼市镇 (湖南鱼市)、湖南新晃县波州镇 (湖南波州)、江西安福、江西吉水、江西都昌、广东乳源、浙江余杭以及湖北远安, 经广东药科大学庞玉新研究员鉴定为樟科樟属植物龙脑樟 [*Cinnamomum camphora* (L.) Presl] 的新鲜枝叶, 保存于中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所的 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内。肠炎沙门氏菌亚种 (*Salmonella enteritidis* subsp. G⁻), 伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*, G⁻), 肠道产毒素性的大肠杆菌 (*Escherichia coli*, G⁻) 均购自北京北纳创联生物技术研究院。

色谱纯甲醇, 北京百灵威科技有限公司; 氨苄青霉素 (AMP 70080200), Biosharp 生物公司; 100% 乙醇 (分析醇), 国药集团化学试剂有限公

司; 水为灭菌蒸馏水; 水解酪蛋白胨琼脂培养基 (MHA) 与水解酪蛋白胨肉汤培养基 (MHB) 购自青岛高科技工业园海博生物科技有限公司; 胰酪大豆胨琼脂培养基 (TSA) 与胰酪大豆胨液体培养基 (TSB) 购自广东环凯微生物科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备 手提式高速粉碎机 (YC-04A), 广州金本机械设备有限公司; 水蒸气蒸馏装置, 上海予申仪器有限公司; 气质联用仪 (7890A/5975C), 美国 Agilent 公司; 恒温振荡培养箱 (HZQ-X160), 太仓市豪诚实验仪器制造有限公司; 紫外可见分光光度计 (N4S), 上海仪电分析仪器有限公司; SpectraMax Plus384 酶标 (SpectraMax Plus384), 美国 Molecular Devices 公司; 电子天平 (BSA124S-CW), 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司; 立式蒸汽灭菌锅 (DGL-50GI), 江苏登冠医疗器械有限公司; 净化工作台 (SW-CJ-IF), 苏州广源净化科技有限公司; 电热恒温培养箱 (DNP-9052BS-III), 上海新苗医疗器械制造有限公司。

1.2 方法

1.2.1 天然冰片的提取 采用水蒸气蒸馏法提取龙脑樟提取物 (天然冰片), 用无菌蒸馏水清洗龙脑樟新鲜枝叶表面杂质, 然后用白色纱布吸干水分, 并于环境温度 (20 ± 2) °C 下通风、避光处阴干后^[12] 剪碎, 每个产地样品称取 400 g 置于 2000 mL 圆底烧瓶中, 加入适量无菌水与沸石, 料水比 1 : 12^[13], 连接蒸馏装置, 加热至沸腾后, 设置电热套额定温度为 160~169 °C, 保持微沸 3 h, 至不再有晶体析出, 再将提取物取出置于小棕瓶内称重, 并于 -4 °C 冰箱内保存。

1.2.2 供试品溶液的配制 将提取物用色谱纯甲醇配制成浓度为 1 mg/mL 的供试品溶液, 再经 0.22 μm 微孔滤膜过滤^[14] 后注入色谱瓶。

1.2.3 GC-MS 分析 色谱条件: 色谱柱为 CYCLOSIL-B (0.25 mm \times 30 m, 0.25 μm) 毛细管柱, 色谱柱流速 1 mL/min, 载气为高纯氮气 (99.999%), 载气流速 15 mL/min, 进样量 1 μL , 进样口温度 220 °C, 程序升温: 以 60 °C 为起始温度, 保持 2 min, 5 °C/min 升至 130 °C, 保持 5 min, 再以 5 °C/min 升至 175 °C, 后运行 1 min, 分流比 20 : 1。

质谱条件: EI 源, 溶剂延迟 6 min, 离子源温度 230 °C, 进样口温度 220 °C, 扫描范围 45~500 amu。

1.2.4 供试菌悬浮液的制备 在无菌操作条件下, 将低温保存的标准菌株大肠杆菌接种至灭菌后的 MHB 液体培养基内, 伤寒沙门氏菌和肠炎沙门氏菌接种至灭菌后的 TSB 液体培养基内, 并于 37 °C 培养 12 h, 再蘸取菌液于固体培养基中划线, 然后将接种板于 37 °C 培养 24 h, 使之能形成单菌落, 挑取典型单个菌落分别接种至灭菌后的 MHB 和 TSB 培养基中, 于 37 °C 培养 18~24 h, 用紫外分光光度计测定菌液浓度 OD_{600} 为 0.6~0.7, 检验纯度后用相应的培养液将菌液稀释成 1×10^7 CFU/mL 的菌悬液, 备用。

1.2.5 抑菌圈测定 在无菌操作条件下, 将高温高压灭菌后的 MHA/TSA 培养基倒入培养皿内, 待其凝固后将 60 μL 菌液均匀涂布在培养基表面, 静置 30 min, 吸取 20 μL 各产地药液分别滴在药敏纸片上, 静置 30 s 后, 放在已涂菌液的培养基上, 封口, 倒放, 恒温培养 12 h, 游标卡尺测量抑菌圈直径并记录。以直径大小作为判定抑菌敏感度的指标, 将游标卡尺测量结果取平均值, 并按《药理实验方法学》中的标准来判别^[15]: 直径均值小于 10 mm 为抗药, 等于 10 mm 为轻度敏感, 11~15 mm 之间为中度敏感, 16~20 mm 之间为高度敏感。将 20 μL 氨苄青霉素 (AMP) 与 100% 乙醇分别滴在药敏纸片上, 分别作为阴性对照组和阳性对照组。

1.2.6 最低抑菌浓度 (MIC) 测定 在无菌操作条件下, 取 96 孔微量板, 用移液枪向每排 1~11 孔各加入 100 μL 对应的灭菌培养基; 再吸取 100 μL 相应浓度的各产地药液至第 1 孔中, 以此孔为起始浓度, 对倍稀释至第 10 孔后, 吸取 100 μL 弃去; 然后吸取 100 μL 已配置的菌悬液依次加至第 1~11 孔中, 充分混匀^[16]。1~10 孔为试验组, 第 11 孔不加药液为对照组, 吸取 200 μL 培养基加至第 12 孔, 此为空白组。共 8 个产地 3 个菌种, 每个产地重复 3 次, 每个菌种重复 2 次。随后将 96 微量孔板置于 37 °C 培养, 12 h 后取出, 采用酶标仪测定 OD_{600} 值, 与阳性、阴性对照组比较计算, 抑菌率达到 80% 的样品浓度就为该受试菌种的最低抑菌浓度。将氨苄青霉素 (AMP) 和 100% 乙醇分别与菌液 1 : 1 (各 100 μL) 加入空余孔内, 分别作为阳性对照组和阴性对照组。

1.2.7 最低杀菌浓度 (MBC) 测定 在无菌操作条件下, 将 MIC 浓度及上下各一个浓度组的上述混合液各取出 50 μL , 置于装有相应培养基的平

板内涂开,于 37 °C 培养 12 h,观察有无菌体生长。以无菌生长相应孔中的最低浓度即为龙脑樟粗体物对该受试菌种的最低杀菌浓度。

1.3 数据处理

结合质谱对龙脑樟枝叶提取物成分进行分析,质谱分析结果在 NIST 14.L 谱库进行检索,对比定性,采用峰面积归一化法检测出各化合物的相对含量,并计算重复实验数据均值。通过 SPSS 21.0 软件采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 对龙脑樟枝叶提取物的抑菌圈直径进行差异分析 ($P < 0.05$)。采用 Excel 2022 软件进行数据统计与分析。

2 结果与分析

2.1 8 个产地龙脑樟化学成分的相对含量分析

通过 GC-MS 分析,得到 8 个产地龙脑樟的总离子流叠加色谱图 (图 1)。各组分的质谱数据经计算机检索标准谱库,采用峰面积归一化法检测出了各个化合物的相对含量,所有产地数据归纳汇总见表 1,相对含量在 0.1% 以下的化合物未列出。结果表明,不同产地龙脑樟叶提取物在其组成和相对含量上均具有一定差异。8 个产地的共有化学成分有 8 种,分别为右旋龙脑、樟脑、*d*- α -蒎烯、*d*-柠檬烯、 α -葑草烯、桉叶油醇以及 4-萜烯醇。2020 版《中国药典》^[17]规定天然冰片中右旋龙脑的含量不得低于 96%,右旋龙脑也是影响天然冰片的临床药效的主要成分,其成分在 8 个产地中的相对含量由高到低依次为湖北远安 (82.47%)、江西安福 (82.23%)、江西都昌 (79.57%)、江西吉水 (78.55%)、湖南波州 (73.88%)、

湖南鱼市 (70.77%)、浙江余杭 (70.74%)、广东乳源 (41.63%)。结合其他共有成分可知,湖北远安的提取物中以右旋龙脑含量最高, α -葑草烯含量最低;广东乳源的提取物中以右旋龙脑含量最低,樟脑含量最高。此外,在其他组成成分中,相对含量较高的成分有樟脑、桉叶油醇、*d*-柠檬烯、 α -葑草烯、1-乙烯基-1-甲基-4-丙-2-亚基-2-丙-1-烯-2-基环己烷、(1,7,7-3 甲基降冰片烷-2-YL) 乙酸等。另外, α -葑草烯在浙江余杭龙脑樟中的含量明显高于其他 7 个产地,樟脑在广东乳源龙脑樟中的含量明显高于其他 7 个产地,对伞花烃仅在江西吉水样品中有检测出来, β -月桂烯仅在江西安福样品中未检出, β -月桂烯仅在湖南波州样品中未检出,桉烯和石竹烯仅在湖北远安样品中未检出。

2.2 龙脑樟枝叶提取物的体外抑菌活性

2.2.1 抑菌圈直径 8 个产地的龙脑樟枝叶提取物对 3 个受试菌种的抑菌圈直径见表 2,在 1000 mg/mL 浓度下,均呈现出不同程度的抑制敏感性,在 6 mm 药敏纸片周围均出现大小不同的清晰抑菌圈,且直径均大于 10 mm,表现为中高度敏感。由表 2 可知,8 个产地的龙脑樟枝叶提取物对肠炎沙门氏菌表现出的药敏性最强,其次为大肠杆菌,对伤寒沙门氏菌的药敏性相对较弱,所有产地提取物的抑菌圈与阳性对照氨苄青霉素比较均有显著性差异,而阴性对照 100% 乙醇并未表现出药敏性。江西吉水的龙脑樟枝叶提取物对大肠杆菌的抑菌敏感性高于江西都昌、广东乳源以及湖南波州 ($P < 0.05$);湖北远安的龙脑樟枝叶提取物对伤寒沙门氏菌的抑菌敏感性高于江西都

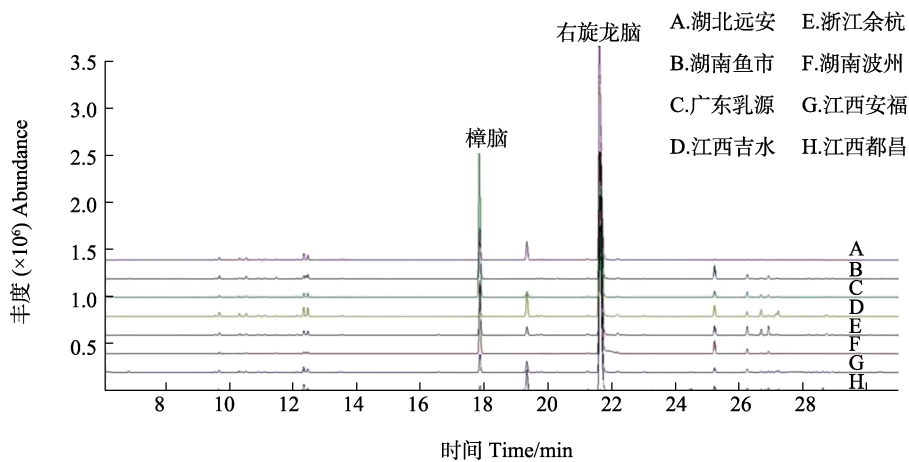


图 1 8 个产地龙脑樟枝叶提取物总离子流色谱图

Fig. 1 GC-MS total ionic current chromatograms of crude extract of *C. camphora* (L.) Presl branches and leaves from eight habitats

表 1 8 个产地龙脑樟枝叶提取物的化学成分

Tab. 1 Chemical constituents of the crude extract of *C. camphora* (L.) Presl branches and leaves from eight habitats

序号 No.	化合物名称 Compound name	分子式 Formula	相对含量 Relative content/%							
			江西 安福 Anfu, Jiangxi	湖南 波洲 Bozhou, Hunan	浙江 余杭 Yuhang, Zhejiang	江西 都昌 Duchang, Jiangxi	江西 吉水 Jishui, Jiangxi	广东 乳源 Ruyuan, Guangdong	湖南 鱼市 Yushi, Hunan	湖北 远安 Yuan'an, Hubei
1	右旋龙脑 <i>d</i> -borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	82.23	73.88	70.74	79.57	78.55	41.63	70.77	82.47
2	樟脑 camphor	C ₁₀ H ₁₆ O	5.00	16.90	12.09	1.39	1.60	46.65	15.84	5.41
3	<i>d</i> -柠檬烯 <i>d</i> -limonene	C ₁₀ H ₁₆	0.99	0.48	1.16	0.69	1.57	1.14	1.09	1.04
4	桉叶油醇 eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	1.26	0.34	0.91	1.66	1.46	0.89	0.69	1.35
5	<i>d</i> - α -蒎烯 <i>d</i> - α -pinene	C ₁₀ H ₁₆	0.87	0.25	0.84	0.13	0.70	0.30	0.93	0.61
6	莰烯 camphene	C ₁₀ H ₁₆	0.24	0.36	0.28	0.09	0.40	0.53	0.62	0.60
7	α -葎草烯 α -humulene	C ₁₅ H ₂₄	0.98	1.33	2.25	0.83	0.97	1.51	1.32	0.16
8	4-萜烯醇 terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.43	0.15	0.42	0.16	0.51	0.30	0.19	0.22
9	石竹烯 caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	1.36	3.44	2.51	1.60	2.20	1.87	4.09	—
10	β -月桂烯 β -myrcene	C ₁₀ H ₁₆	0.28	—	0.28	0.21	0.44	0.26	0.28	0.34
11	桉烯 sabinene	C ₁₀ H ₁₆	0.22	0.16	0.18	0.25	0.34	0.21	0.19	—
12	α -蒎烯 α -pinene	C ₁₀ H ₁₆	—	0.42	0.63	0.39	0.51	0.31	0.18	0.17
13	β -蒎烯 β -pinene	C ₁₀ H ₁₆	—	—	—	0.17	0.25	0.18	0.17	0.22
14	<i>l</i> -莰烯 <i>l</i> -camphene	C ₁₀ H ₁₆	0.37	—	—	0.26	0.57	0.09	—	0.13
15	萜品油烯 terpinolene	C ₁₀ H ₁₆	0.38	—	0.12	—	0.18	0.11	0.08	0.11
16	<i>l</i> -龙脑 <i>l</i> -borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	—	0.25	0.38	—	0.29	—	0.20	—
17	反式- β -罗勒烯 trans- β -ocimene	C ₁₀ H ₁₆	0.34	0.09	0.19	0.13	—	—	—	—
18	α -水芹烯 α -phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	0.11	0.26	—	—	—	—	0.34	0.13
19	<i>d</i> - β -芹子烯 <i>d</i> - β -selinene	C ₁₅ H ₂₄	0.54	—	—	—	1.16	—	—	—
20	α -芹子烯 α -selinene	C ₁₅ H ₂₄	—	—	0.08	0.73	0.50	0.23	0.26	—
21	γ -芹子烯 γ -selinene	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	—	—	—	0.13	—
22	δ -芹子烯 δ -selinene	C ₁₅ H ₂₄	0.17	—	—	0.75	—	—	—	—
23	3-萜烯 3-carene	C ₁₀ H ₁₆	0.10	—	—	—	—	—	0.27	0.15
24	2-萜烯 2-carene	C ₁₀ H ₁₆	—	—	—	—	0.60	—	—	—
25	δ -愈创木烯 δ -1(10),11-diene	C ₁₅ H ₂₄	0.13	—	—	—	—	—	—	—
26	(S)- <i>l</i> -柠檬烯(S)- <i>l</i> -limonene	C ₁₀ H ₁₆	—	—	—	—	—	—	—	0.17
27	3,7(11)-蛇床二烯 selina-3,7(11)-diene	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	—	—	—	0.10	—
28	异长叶烯 isolongifolene	C ₁₅ H ₂₄	—	0.10	—	0.24	—	—	—	—
29	α -葎澄茄油烯 α -cubebene	C ₁₅ H ₂₄	—	0.09	—	—	0.07	—	0.12	—
30	β -葎澄茄油烯 β -cubebene	C ₁₅ H ₂₄	—	—	1.45	—	—	—	—	0.08
31	香树烯 alloaromadendrene	C ₁₅ H ₂₄	—	—	0.11	0.71	—	—	—	—
32	δ -杜松烯 δ -cadinene	C ₁₅ H ₂₄	0.25	—	—	—	—	—	—	—
33	β -杜松烯 β -cadinene	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	0.66	—	—	—	—
34	α -侧柏烯 α -platycladene	C ₁₀ H ₁₆	—	—	—	—	0.14	—	—	—
35	二环大根香叶烯 bicyclgermacrene	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	—	0.23	—	0.96	—
36	大根香叶烯 D germacrene D	C ₁₅ H ₂₄	0.28	0.23	—	0.49	1.31	—	—	—
37	γ -松油烯 γ -terpinene	C ₁₀ H ₁₆	—	—	—	—	0.10	—	—	—
38	γ -榄香烯 γ -elemene	C ₁₅ H ₂₄	0.14	—	—	—	0.25	—	0.11	—
39	β -榄香烯 β -elemene	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	—	0.22	—	—	—

续表 1 8 个产地龙脑樟枝叶提取物的化学成分

Tab. 1 Chemical constituents of the crude extract of *C. camphora* (L.) Presl branches and leaves from eight habitats (continued)

序号 No.	化合物名称 Compound name	分子式 Formula	相对含量 Relative content/%							
			江西 安福 Jiangxi	湖南 波洲 Hunan	浙江 余杭 Zhejiang	江西 都昌 Jiangxi	江西 吉水 Jiangxi	广东 乳源 Guangdong	湖南 鱼市 Hunan	湖北 远安 Hubei
40	<i>d</i> -佛术烯 <i>d</i> -valencene	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	0.10	-
41	1,7,7-三甲双环[2.2.1]庚-2-烯 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-ene	C ₁₀ H ₁₆	0.09	-	-	-	0.19	-	-	-
42	(1E,4E)-大根香叶烯 (1E,4E)-germacren	C ₁₅ H ₂₄	-	-	0.41	0.20	0.34	-	-	-
43	3-甲基-6-(1-甲基乙亚基)环己烯 3-methyl-6-(1-methylethylidene)-cyclohexene	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.39	-	-	-	0.11	-
44	(R)-1-甲基-5-(1-甲基乙基)环己烯 (R)-cyclohexene-1-methyl-5-(1-methylethenyl)	C ₁₀ H ₁₆	-	-	-	-	-	-	-	0.40
45	1,5,5-三甲基-6-亚甲基环己烯 1,5,5-trimethyl-6-methylene-cyclohexene	C ₁₀ H ₁₆	-	0.81	-	-	-	-	-	-
46	反式- <i>Z</i> - α -环氧化红没药烯 trans- <i>Z</i> - α -bisabolene epoxide	C ₁₅ H ₂₄ O	-	0.12	-	-	-	-	-	-
47	对薄荷-1(7),3-二烯 4-methylene-1-(1-methylethyl)-cyclohexene	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.21	-	0.62	-	-	0.28
48	1,5,9,9-四甲基-1,4,7-环十一碳三烯 1,5,9,9-tetramethyl-1,4,7-cycloundecatriene	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	1.42	-
49	3-亚甲基-1,6-庚二烯 3-methylene-1,6-heptadiene	C ₈ H ₁₂	-	-	-	-	-	0.10	-	-
50	2,5-二甲基-3-亚甲基-1,5-庚二烯 2,5-dimethyl-3-methylene-1,5-heptadiene	C ₁₀ H ₁₆	0.22	-	-	-	-	-	-	-
51	3,7,7-三甲基-1,3,5-环庚三烯 3,7,7-trimethyl-1,3,5-cycloheptatriene	C ₁₀ H ₁₄	-	0.23	-	-	-	-	0.83	-
52	3,6,6-三甲基-双环[3.1.1]庚-2-烯 3,6,6-trimethyl-bicyclo[3.1.1]hept-2-ene	C ₁₀ H ₁₆	-	-	-	0.18	-	-	-	-
53	双环[10.1.0]十三-1-烯 bicyclo[10.1.0]tridec-1-ene	C ₁₃ H ₂₂	-	-	-	0.14	-	-	-	-
54	1,2,3,1',2',3'-六甲基-二环氯戊基-2,2'-二烯 1,2,3,1',2',3'-hexamethyl-bicyclopentyl-2,2'-diene	C ₁₆ H ₂₆	-	-	-	0.21	-	-	-	-
55	2,5-二甲基-1,3-己二烯 2,5-dimethyl-1,3-hexadiene	C ₈ H ₁₄	0.39	-	-	-	-	-	-	-
56	2-甲基-5,7-二甲基-1,8-正二烯 2-methyl-5,7-dimethylene-1,8-nonadiene	C ₁₂ H ₁₈	-	-	0.13	-	-	-	-	-
57	1,3-双(2-环丙基)-2-基)-2-丁烯-1-烯 1,3-bis-(2-cyclopropyl,2-methylcyclopropyl)-2-en-1-one	C ₁₈ H ₂₆ O	-	-	0.08	-	-	0.13	-	-
58	神圣亚麻三烯 santolina triene	C ₁₀ H ₁₆	-	0.28	-	-	-	-	0.12	-
59	芳樟醇 linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	0.19	-	0.16	-	-	-	-	-
60	α -松油醇 α -terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.46	0.44	0.63	0.54	-	0.38	-	0.51
61	1-甲基-4-(1-甲基乙基)环己醇 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-cyclohexanol	C ₁₀ H ₁₈ O	-	-	0.26	-	-	-	-	-

续表 1 8 个产地龙脑樟枝叶提取物的化学成分

Tab. 1 Chemical constituents of the crude extract of *C. camphora* (L.) Presl branches and leaves from eight habitats (continued)

序号 No.	化合物名称 Compound name	分子式 Formula	相对含量 Relative content/%							
			江西 安福 Anfu, Jiangxi	湖南 波洲 Bozhou, Hunan	浙江 余杭 Yuhang, Zheji- ang	江西 都昌 Duchang, Jiangxi	江西 吉水 Jishui, Jiangxi	广东 乳源 Ruyuan, Guangdong	湖南 鱼市 Yushi, Hunan	湖北 远安 Yuan'an, Hubei
62	2-甲基-3-丁烯-2-醇 2-methyl-3-buten-2-ol	C ₅ H ₁₀ O	-	-	-	-	-	-	0.11	-
63	<i>l</i> -4-萜品醇 <i>l</i> -4-terpenol	C ₁₀ H ₁₈ O	-	-	-	-	-	-	0.12	-
64	(1 <i>S</i> ,8 <i>aR</i>)-1-异丙基-4,7-二甲基-1,2,3,5,6,8 <i>a</i> -六氢萘(1 <i>S</i> - <i>cis</i> -naphthlene, 1,2,3,5,6,8 <i>a</i> -hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-	C ₁₅ H ₂₄	0.21	0.10	0.10	-	-	-	0.14	-
65	1-亚甲基-4-(1-甲基乙烯基)环己烷 1-methylene-4-(1-methylethenyl)-cyclohexane	C ₁₀ H ₁₆	-	-	-	-	-	-	-	0.33
66	1-(1-乙基乙烯基)-1-(2-亚甲基-3-丁烯基)环丙烷 1-(2-methylene-3-butenyl)-1-(1-methylenepropyl)-cyclopropane	C ₁₂ H ₁₈	-	-	-	-	-	-	-	0.23
67	1-甲基-2-亚甲基-3,5-二乙烯基环己烷 1,5-diethenyl-3-methyl-2-methylene-,(1.alpha.,3.alpha.,5.alpha.)-cyclohexane	C ₁₂ H ₁₈	-	-	-	-	-	-	-	0.18
68	5,5-二甲基-1-乙烯基双环[2.1.1]己烷 5,5-dimethyl-1-vinylbicyclo[2.1.1]hexane	C ₁₀ H ₁₆	-	-	-	0.14	-	-	-	-
69	2-亚环丙基-1,7,7-三甲基双环[2.2.1]庚烷 2-cyclopropylidene-1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]heptane	C ₁₃ H ₂₀	0.10	-	-	-	-	-	-	-
70	1-甲基-4-亚甲基-2-(2-甲基-1-丙烯-1-基)-1-乙烯基环庚烷 1-methyl-4-methylene-2-(2-methyl-1-propen-1-yl)-1-vinyl-cycloheptane	C ₁₅ H ₂₄	-	0.10	0.19	-	-	-	-	-
71	7,7-二甲基-2-亚甲基-双环[2.2.1]庚烷 7,7-dimethyl-2-methylene-bicyclo[2.2.1]heptane	C ₁₀ H ₁₆	-	-	-	0.21	0.13	-	-	-
72	3,3,7,7-四甲基-5-(2-甲基-1-丙烯)三环[4.1.0.0 ^{2,4}]庚烷 3,3,7,7-tetramethyl-5-(2-methyl-1-propenyl)-tricyclo[4.1.0.0 ^(2,4)]heptane	C ₁₅ H ₂₄	-	-	0.20	-	-	-	-	-
73	3,3,6,6,9,9-六甲基四环[6.1.0.0 ^{2,4} .0 ^(5,7)]壬烷 3,3,6,6,9,9-hexamethyl-tetracyclo[6.1.0.0 ^(2,4) .0 ^(5,7)]nonane	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	0.20	-	-	-	-
74	1-乙烯基-1-甲基-4-丙-2-亚基-2-丙-1-烯-2-基环己烷 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethenylidene)-cyclohexane	C ₁₅ H ₂₄	-	-	2.33	-	-	0.14	-	-
75	甲基丁香酚 methyleugenol	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	0.14	-	-	-	-	-	-	-
76	(1 <i>S</i> ,2 <i>E</i> ,6 <i>E</i> ,10 <i>R</i>)-3,7,11,11-四甲基二环[8.1.0]十一-2,6-二烯(1 <i>S</i> ,2 <i>E</i> ,6 <i>E</i> ,10 <i>R</i>)-3,7,11,11-tetramethylbicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene	C ₁₅ H ₂₄	0.30	0.62	2.33	0.95	-	0.71	1.02	-
77	对伞花烃 p-cymene	C ₁₀ H ₁₄	-	-	-	-	0.15	-	-	-
78	邻伞花烃 o-cymene	C ₁₀ H ₁₄	-	0.39	-	-	0.15	0.14	0.73	-

续表 1 8 个产地龙脑樟枝叶提取物的化学成分

Tab. 1 Chemical constituents of the crude extract of *C. camphora* (L.) Presl branches and leaves from eight habitats (continued)

序号 No.	化合物名称 Compound name	分子式 Formula	相对含量 Relative content/%							
			江西 安福 Jiangxi	湖南 波洲 Hunan	浙江 余杭 Zhejiang	江西 都昌 Jiangxi	江西 吉水 Jiangxi	广东 乳源 Guangdong	湖南 鱼市 Hunan	湖北 远安 Hubei
79	乙酸龙脑酯 bornyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	-	-	2.44	7.29	5.24	1.71	-	5.69
80	甲酸芳樟酯 1,6-octadien-3-ol,3,7-dimethyl-, formate	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	-	-	-	-	-	-	-	0.13
81	N-(2,5-二甲基苯基)-2-[(2E)-2-(4-甲基亚苄基)胍基]-2-氧代乙酰胺 N-(2,5-dimethylphenyl)-N2-(4-methylbenzylideno)-oxalic acid, monoamide, monohydrazide	C ₁₈ H ₁₉ N ₃ O ₂	0.21	-	-	-	-	-	0.23	-
82	3,5-二甲基苯丙胺 3,5-dimethylamphetamine	C ₁₁ H ₁₇ N	-	-	0.11	-	-	-	-	0.10
83	N-(2-甲基-5-嘧啶基)六酰胺 N-5-caproamido-2-methyl pyrimidine	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O	0.14	-	-	-	-	-	-	-
84	N-甲基三氟乙酰胺 N-methyl-trifluoroacetamide	C ₃ H ₄ F ₃ NO	0.32	-	-	0.09	-	-	-	-
85	(1,7,7-三甲基降冰片烷-2-YL)乙酸 acetic acid,1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	3.69	-	2.36	-	-	1.81	-	-
86	(S)-d-10-樟脑磺啞嗪(S)-d-(10-camphorsulfonyl) oxaziridine	C ₁₀ H ₁₅ NO ₃ S	0.13	-	-	-	-	-	-	-
87	2-[(甲氨基)甲基]吡啶 2-pyridinemethanamine,N-methyl-	C ₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂	-	0.18	-	-	-	-	-	-
88	安息香 benzoin	C ₁₄ H ₁₂ O ₂	-	-	0.11	-	-	-	-	-
89	三甲基氢醌 2,3,5-trimethyl-1,4- benzenediol	C ₉ H ₁₂ O ₂	-	-	-	0.22	-	-	-	-
90	异龙脑 isborneol	C ₁₀ H ₁₈ O	-	-	-	-	-	-	-	0.32
91	1-丙基-喹诺酮 1-propyl-quinolinone	C ₁₂ H ₁₃ NO	-	-	-	0.15	-	-	-	-
92	1,2,3-三甲基-2-环戊烯-1-羧酸 1,2,3-trimethyl-2-cyclopentene-1-carboxylic acid	C ₉ H ₁₄ O ₂	-	-	-	0.27	-	-	-	-
93	环丙基 4-吡啶基甲基酮 1-cyclopropyl-2-(4-pyridinyl)-ethanone	C ₁₀ H ₁₁ NO	0.18	0.09	-	-	-	-	-	-
94	γ-阿吗啉 (1S,4aR,8aS)-1-isopropyl-7-methyl-4-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	0.24	-
95	5-羟基-[2.4]庚烷-5-甲醇 5-hydroxy-heptan-5-olspiro[2.4]heptane-5-methanol	C ₈ H ₁₄ O ₂	-	-	-	-	-	-	-	0.11
96	2,6,10,10-四甲基双环[7.2.0]十一-2,6-二烯 2,6,10,10-tetramethylbicyclo[7.2.0]undeca-2,6-diene	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	0.18	-	-
97	十甲基环戊硅氧烷 decamethyl-cyclopentasiloxane	C ₁₀ H ₃₀ O ₅ Si ₅	0.23	-	-	-	-	-	-	-
98	(4aR,8aR)-2-异亚丙基-4A,8-二甲基-1,2,3,4,4A,5,6,8A-8 氢萘 selina-3,7(11)-diene	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	0.10	-

注: -表示未检测出该成分。

Note: - indicates that the compound is not detected.

表 2 8 个产地龙脑樟提取物对 3 个菌种的抑菌圈直径
Tab. 2 Inhibition circle diameter of crude extract of *C. camphora* (L.) Presl from eight habitats to three strains

产地 Habitat	抑菌圈直径 Bacteriostatic circle diameter/mm		
	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	伤寒沙门氏菌 <i>S. typhi</i>	肠炎沙门氏菌 <i>S. enteritidis</i> subsp
江西都昌	18.23±2.09 ^{bcd}	14.6±0.18 ^d	19.81±2.12 ^d
湖南鱼市	23.53±0.73 ^{ab}	19.27±1.08 ^{ab}	25.41±2.02 ^{ab}
湖北远安	22.45±1.61 ^{abcd}	19.80±0.98 ^a	27.95±2.64 ^a
江西安福	23.27±3.06 ^{abc}	18.61±1.72 ^{abc}	24.07±1.31 ^{bc}
江西吉水	24.07±4.77 ^a	15.08±0.66 ^d	20.41±2.28 ^{cd}
广东乳源	17.79±0.33 ^{cd}	16.33±0.32 ^{cd}	19.81±1.61 ^d
浙江余杭	20.17±5.37 ^{abcd}	16.81±1.16 ^{cd}	22.56±3.19 ^{bcd}
湖南波州	17.01±0.53 ^d	17.46±2.36 ^{bc}	19.59±0.74 ^d
氨苄青霉素	50.98±3.20	60.28±2.29	69.32±1.09
100%乙醇	-	-	-

注：同列不同小写字母表示同一菌种不同产地间差异显著 ($P<0.05$)；-表示无抑制作用。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among different habitats of the same strain ($P<0.05$), - indicates no inhibitory effect.

昌、江西吉水、广东乳源、浙江余杭以及湖南波州 ($P<0.05$)；湖北远安的龙脑樟枝叶提取物对肠炎沙门氏菌的抑菌敏感性高于江西都昌、江西安福、江西吉水、广东乳源、浙江余杭以及湖南波州 ($P<0.05$)。因此，江西吉水和湖北远安 2 个产地的龙脑樟枝叶提取物分别对大肠杆菌、伤寒沙门氏菌以及肠炎沙门氏菌的抑菌敏感度高于其他产地，且湖北远安产龙脑樟同时对 2 种菌种均表现出较强的抑菌活性。抑菌圈直径大小在一定程度上直观地反映了抑菌活性敏感度的强弱，直径越大代表抑菌敏感度越强，而整体抑菌活性需结合其最低抑菌浓度和最低杀菌浓度来综合判断。

2.2.2 最低抑菌浓度 (MIC) 和最低杀菌浓度 (MBC) 8 个产地的龙脑樟枝叶提取物对 3 个菌种均呈现出不同的抑制作用，MIC 值在 250~1250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间。其中，江西安福的龙脑樟枝叶提取物抑菌效果最好 (MIC 值在 250~500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间)，以江西吉水的龙脑樟枝叶提取物对大肠杆菌和肠炎沙门氏菌，江西安福和湖北远安对伤寒沙门氏菌的抑制效果最好 (表 3)。8 个产地中，以湖南鱼市、广东乳源、浙江余杭以及湖南波州的龙脑樟枝叶提取物对 3 个受试菌种的杀菌效果最佳 (MBC 值均为 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，而江西安福的龙脑樟枝叶提取物对大肠杆菌的杀菌效果相对较

差，湖北远安和江西吉水的龙脑樟枝叶提取物对大肠杆菌，江西安福对伤寒沙门氏菌以及江西都昌和江西安福对肠炎沙门氏菌无杀菌效果 (表 4)。

表 3 8 个产地龙脑樟提取物对 3 个菌种的最小抑菌浓度 (MIC)

Tab. 3 MIC of crude extract of *C. camphora* (L.) Presl from eight habitats to three strains

产地 Habita	最小抑菌浓度 MIC/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$		
	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	伤寒沙门氏菌 <i>S. typhi</i>	肠炎沙门氏菌 <i>S. enteritidis</i> subsp
江西都昌	500	500	500
湖南鱼市	500	500	500
湖北远安	1000	250	500
江西安福	500	250	500
江西吉水	375	1000	250
广东乳源	500	1250	500
浙江余杭	500	1250	500
湖南波州	500	1000	1250

表 4 8 个产地龙脑樟提取物对 3 个菌种的最低杀菌浓度 (MBC)

Tab. 4 MBC of crude extract of *C. camphora* (L.) Presl from eight habitats to three strains

产地 Habitat	最低杀菌浓度 MBC/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$		
	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	伤寒沙门氏菌 <i>S. typhi</i>	肠炎沙门氏菌 <i>S. enteritidis</i> subsp
江西都昌	500	500	-
湖南鱼市	500	500	500
湖北远安	-	500	500
江西安福	1000	-	-
江西吉水	-	500	500
广东乳源	500	500	500
浙江余杭	500	500	500
湖南波州	500	500	500

注：-表示该产地药液无法杀灭该菌种。

Note: - indicates that liquid medicine from this habitat cannot kill the strain.

研究结果表明，不同产地龙脑樟对不同菌种的抑菌活性具有一定差异，其中，对大肠杆菌的抑菌效果表现为：江西吉水>江西都昌=湖南鱼市=江西安福=广东乳源=浙江余杭=湖南波州>湖北远安；对伤寒沙门氏菌的抑菌效果表现为：湖北远安=江西安福>江西都昌=湖南鱼市>江西吉水=湖南波州>广东乳源=浙江余杭；对肠炎沙门氏菌的抑菌效果表现为：江西吉水>江西都昌=湖南鱼市=湖北远安=江西安福=广东乳源=浙江余杭>湖

南波州。杀菌效果方面,除湖北远安和江西吉水的龙脑樟枝叶提取物对大肠杆菌无杀菌效果外,其余产地表现为:江西都昌=湖南鱼市=广东乳源=浙江余杭=湖南波州>江西安福;除江西安福的龙脑樟枝叶提取物对伤寒沙门氏菌无杀菌效果外,其余产地杀菌效果良好且无明显差异;除江西都昌和江西安福的龙脑樟枝叶提取物对肠炎沙门氏菌无杀菌效果外,其余产地杀菌效果良好且无明显差异。

3 讨论

本研究采用水蒸气蒸馏法提取龙脑樟枝叶提取物,简单有效,所提取的天然冰片化学成分种类多样,其中绝大多数为萜类化合物,其中以单萜和倍半萜为主,与张宇思等^[8]、付宇新等^[18]的研究结果一致,但在含量上存在差异,这可能与不同产地的海拔、光温水气等生长环境、种植方式以及采集方法有关。在产地研究方面,除湖南新晃和江西吉安 2 个传统产地外,新增了湖北远安、江西都昌、浙江余杭以及广东乳源等地,进一步研究发现这 8 个产地中,右旋龙脑的相对含量超过 80%的仅有湖北远安(82.47%)和江西安福(82.23%),超过 70%的有江西都昌(79.57%)、江西吉水(78.55%)、湖南波州(73.88%)、湖南鱼市(70.77%)以及浙江余杭(70.74%),仅广东乳源(41.63%)低于 55%。其中,仅湖北远安含有异龙脑(0.32%),含有樟脑成分分别为湖北远安(5.41%)、江西安福(5.00%)、江西都昌(1.39%)、江西吉水(1.60%)、湖南波州(16.90%)、湖南鱼市(15.84%)、浙江余杭(12.09%)以及广东乳源(46.65%),其他共有成分的相对含量无明显差异。

在抑菌活性方面,与其他产地相比,江西吉水的龙脑樟枝叶提取物对大肠杆菌抑菌效果最好,其中抑菌圈直径与杨鹏飞等^[9]的研究结果基本一致,最低抑菌浓度(MIC)与杨鹏飞等^[9]、丁雄等^[10]的研究结果基本一致,并在此基础上进一步研究了最低杀菌浓度(MBC),发现江西都昌、湖南鱼市、浙江余杭以及湖南波州的龙脑樟枝叶提取物在 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度均下有杀菌作用;此外新增伤寒沙门氏菌与肠炎沙门氏菌 2 个常见致病菌,研究结果显示,江西安福和湖北远安的龙脑樟枝叶提取物对伤寒沙门氏菌抑菌效果最佳,江西都昌、湖北远安、湖南鱼市、江西吉水、

浙江余杭以及湖南波州的龙脑樟枝叶提取物在 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下可杀灭伤寒沙门氏菌,湖北远安的龙脑樟枝叶提取物综合抑菌效果最好;对于肠炎沙门氏菌,以湖北远安的龙脑樟枝叶提取物抑菌敏感性最高,以江西吉水的抑菌效果最好,湖北远安、湖南鱼市、江西吉水、浙江余杭以及湖南波州在 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下均有杀菌作用,湖北远安和江西吉水的综合抑菌效果最好。不同产地的龙脑樟枝叶提取物对不同菌种的抑菌效果不同,这可能与生境条件、种植方式以及菌力强弱等因素有关,如生长在云南、广西、海南^[19]等地的穿心莲抑菌效果最好,是由于这些地区的生境条件温暖湿润,适宜穿心莲的生长发育。

综上所述,8 个产地龙脑樟枝叶提取物对大肠杆菌、伤寒沙门氏菌以及肠炎沙门氏菌均有抑制作用,其中对大肠杆菌的研究结果与前人基本一致。而 8 个产地龙脑樟枝叶提取物的抑菌活性差异可能与右旋龙脑和樟脑的相对含量和配比有关,湖北远安、江西安福以及江西吉水的抑菌活性优于其他产地,这几个产地的龙脑樟枝叶中右旋龙脑相对含量较高,分别达 82.47%、82.23%、78.55%,而樟脑含量较低,分别为 5.41%、5.00%、1.60%。

伤寒沙门氏菌和肠炎沙门氏菌均属于革兰氏阴性菌。前者的内毒素注射可引起发热、白细胞减少,大量注射可引起死亡;后者是可引起急性胃肠炎^[20]的人畜共患病原体,由此菌引起的急性胃肠炎在世界各国增加的有增加的趋势,有调查表明,这与食用含此致病菌的鸡蛋和家禽有关^[21]。鸡蛋和家禽是人类常用食物,从鸡蛋中检测出的沙门氏菌多种多样,其中肠炎沙门氏菌的检出率最高,为最主要的血清型^[22]。因此本研究有助于降低肠炎沙门氏菌、伤寒沙门氏菌以及大肠杆菌的感染风险。

天然冰片在其原产地印尼、菲律宾以及马来西亚等东南亚地区的产量非常有限,并且随着欧盟及美国宣布禁用进口以合成冰片为原料药品^[23],天然冰片自主产业化发展已成为必然趋势,而自主产业化发展是建立在确定道地产区、规范化种植的基础上的,目前尚未确定龙脑樟的道地产区。本研究在前人的研究基础上扩大了龙脑樟产地的范围,并且探究了不同产地间龙脑樟提取物的抑菌活性差异。据悉,国内关于龙脑樟的栽培有确切产地的有贵州、江苏、福建以及台湾等^[24]。本

研究中的 8 个产地虽涵盖了大部分的龙脑樟种植地, 但尚不全面, 今后将开展更深入全面的研究, 以为龙脑樟的种植发展和临床应用提供有力支撑。

参考文献

- [1] 肖祖飞, 李凤, 张北红, 王颜波, 金志农. 樟组 8 种常见香料用树种的化学型订名[J]. 江西科学, 2022, 40(1): 45-50.
XIAO Z F, LI F, ZHANG B H, WANG Y B, JIN Z N. Camphor group 8 kinds of common spices with the chemical type of tree species order name[J]. Jiangxi Science, 2022, 40(1): 45-50. (in Chinese)
- [2] 杨海宽, 温世钊, 章挺, 李江. GC-MS 结合保留指数研究龙脑樟不同部位精油成分[J]. 中南林业科技大学学报, 2019, 39(7): 130-135.
YANG H K, WEN S F, ZHANG T, LI J. research on the components of essential oil from different parts of *Cinnamomum camphora* by GC-MS and retention indices[J]. Journal of Central South University of Forestry and Technology, 2019, 39(7): 130-135. (in Chinese)
- [3] 谢丽娟, 崔蕾, 王炜, 龚力民, 刘塔斯, 周小江. 天然冰片和冰片的研究现状及其发展前景[C]//第三届中国中药商品学术年会暨首届中药葛根国际产业发展研讨会论文集, 2012: 284-287.
XIE L J, CUI L, WANG W, GONG L M, LIU T S, ZHOU X J. Research status and development prospect of natural borneol and borneol[C]//Proceedings of the Third Academic Annual Conference of Chinese Traditional Medicine Commodity and the First International Industrial Development Seminar of Chinese Traditional Medicine Kuden, 2012: 284-287. (in Chinese)
- [4] 陈楚阳, 毕亚凡, 王本俊. 龙脑樟提取天然冰片的清洁生产工艺[J]. 化工进展, 2017, 36(6): 2270-2274.
CHEN C Y, BI Y F, WANG B J. Clean production technology of natural borneol extracted from *C. camphora* (L.) Presl[J]. Chemical Progress, 2017, 36(6): 2270-2274. (in Chinese)
- [5] 查英, 官玲亮, 白琳, 舒雪纯, 庞玉新, 陈松笔. 天然冰片研究进展[J]. 热带农业科学, 2019, 39(3): 97-104.
ZHA Y, GUAN L L, BAI L, SHU X C, PANG Y X, CHEN S B. Research progress of natural borneol[J]. Science of Tropical Agriculture, 2019, 39(3): 97-104. (in Chinese)
- [6] 李建民, 胡世霞, 李华擎. 中药冰片的商品种类及其历史源流[J]. 中国现代中药, 2013, 15(6): 531-534.
LI J M, HU S X, LI H Q. The commodity types of Chinese herbal borneol and its historical origin[J]. Modern Chinese Medicine, 2013, 15(6): 531-534. (in Chinese)
- [7] 崔露, 曾庆钱, 刘翠红, 黄勇, 王坤, 吴锋锋. 龙脑樟 GAP 生产技术[J]. 园艺与种苗, 2022, 42(2): 69-71.
CUI L, ZENG Q Q, LIU C H, HUANG Y, WANG K, WU D F. GAP production technology of *C. camphora* (L.) Presl[J]. Gardening and Seedlings, 2022, 42(2): 69-71. (in Chinese)
- [8] 张宇思, 王成章, 周昊, 陈虹霞, 叶建中, 陶冉. 不同产地龙脑樟叶挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(10): 57-61.
ZHANG Y S, WANG C Z, ZHOU H, CHEN H X, YE J Z, TAO R. GC-MS analysis of volatile oil from camphor leaves of borneol from different habitats[J]. Chinese Journal of Experimental Pharmacology, 2014, 20(10): 57-61. (in Chinese)
- [9] 杨鹏飞, 卢慧, 王新峰, 陈芝飞, 席高磊, 万帅, 马飞, 王正伟. 龙脑樟挥发油化学成分、抗烟草花叶病毒及抑菌活性研究[J]. 化学试剂, 2021, 43(8): 1090-1094.
YANG P F, LU H, WANG X F, CHEN Z F, XI G L, WAN S, MA F, WANG Z W. Chemical constituents, Tobacco mosaic virus and antimicrobial activities of volatile oil from borneol camphor[J]. Chemical Reagent, 2021, 43(8): 1090-1094. (in Chinese)
- [10] 丁雄, 苏健裕, 石磊, 李琳. 龙脑樟鲜叶挥发油成分及其抗菌活性的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(18): 167-171.
DING X, SU J Y, SHI L, LI L. Studies on the constituents and antibacterial activity of essential oil from fresh leaves of borneol camphor[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(18): 167-171. (in Chinese)
- [11] 熊科元, 胡志文, 邵峰, 陈兰英, 唐芳瑞, 欧阳少林, 刘荣华. 不同采收期龙脑樟挥发油的得率及质量分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(20): 45-49.
XIONG K Y, HU Z W, SHAO F, CHEN L Y, TANG F R, OUYANG S L, LIU R H. Yield and quality analysis of volatile oil from branches and leaves of *Cinnamomum camphora* during different harvest periods[J]. Chinese Journal of Experimental Formulations, 2018, 24(20): 45-49. (in Chinese)
- [12] 刘塔斯, 龚力民, 郭英, 任守利, 杨丽, 肖冰梅, 潘清平. GC-MS 测定龙脑樟植物不同部位右旋龙脑的含量[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(13): 1692-1694.
LIU T S, GONG L M, GUO Y, REN S L, YANG L, XIAO B M, PAN Q P. Determination of d-borneol content in different parts of *C. camphora* (L.) Presl by GC-MS[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2009, 34(13): 1692-1694. (in Chinese)
- [13] 唐莉, 陈紫娟, 郭庆, 彭晓赟, 李建文. 龙脑樟叶片中天然冰片的提取及其清除 DPPH 自由基作用的研究[J]. 湖南城市学院学报(自然科学版), 2018, 27(3): 64-68.
TANG L, CHEN Z J, GUO Q, PENG X Y, LI J W. Research on separation and DPPH radical scavenging activities of d-borneol from leaves of *C. camphora* (L.) Presl[J]. Journal of Hunan City University (Natural Science Edition), 2018,

- 27(3): 64-68. (in Chinese)
- [14] 刘宝全, 钟美玲, 李柏龙, 李晓波, 刘剑刚, 范圣第. 龙脑樟枝叶的龙脑组成特点研究[J]. 大连民族大学学报, 2017, 19(1): 28-31. (in Chinese)
- LIU B Q, ZHONG M L, LI B L, LI X B, LIU J G, FAN S D. Research on the characteristics of borneol composition in the branches and leaves of *C. camphora* (L.) Presl[J]. Journal of Dalian Nationalities University, 2017, 19(1): 28-31. (in Chinese)
- [15] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1647-1662.
- XU S Y, BIAN R L, CHEN X. Methodology of pharmacological experiments[M]. Version 3. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 1647-1662. (in Chinese)
- [16] 胡璇, 王凯, 于福来, 王丹, 谢小丽, 庞玉新, 陈鸿发. 艾纳香不同提取物 GC-MS 分析及其抑菌活性[J]. 福建农业学报, 2021, 36(10): 1131-1138.
- HU X, WANG K, YU F L, WANG D, XIE X L, PANG Y X, CHEN H F. GC-MS analysis and antibacterial activity of different extracts of *Blumea balsamifera*[J]. Fujian Agricultural Journal, 2021, 36(10): 1131-1138. (in Chinese)
- [17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- National Pharmacopoeia Board. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Part One[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020. (in Chinese)
- [18] 付宇新, 江香梅, 罗丽萍, 章挺, 郭夏丽, 贺义昌. 不同化学类型樟树叶挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 林业工程学报, 2016, 1(2): 72-76.
- FU Y X, JIANG X M, LUO L P, ZHANG T, GUO X L, HE Y C. GC-MS analysis of volatile oil from different types of *Cinnamomum camphora* leaves[J]. Journal of Forestry Engineering, 2016, 1(2): 72-76. (in Chinese)
- [19] 王艳辉, 王伽伯, 郝庆秀, 张雅铭, 赵艳玲, 格小光, 郭兰萍, 黄璐琦, 肖小河. 不同产地穿心莲的含量测定、化学指纹图谱及抑菌活性评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(9): 77-82.
- WANG Y H, WANG J B, HAO Q X, ZHANG Y M, ZHAO Y L, GE X G, GUO L P, HUANG L Q, XIAO X H. Determination of *Andrographis paniculata* from different habitats, chemical fingerprint and antibacterial activity evaluation[J]. Chinese Journal of Experimental Pharmaceutics, 2014, 20(9): 77-82. (in Chinese)
- [20] 邵琳. 肠炎沙门氏菌适配体筛选及其应用研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2020.
- SHAO L. Screening and application of adapters for *Salmonella enteritidis*[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2020. (in Chinese)
- [21] RODRIGUE D C, TAUXE R V, ROWE B. International increase in *Salmonella enteritidis*: a new pandemic?[J]. Epidemiology & Infection, 1990, 105(1): 21-27.
- [22] 李嘉铭, 董庆利, 杨昌颖, 王翔, 马悦, 秦晓杰. 肠炎沙门氏菌在蛋清中的存活机制及其生物防控研究进展[J/OL]. 食品科学: 1-14[2023-02-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20230206.1725.013.html>.
- LI J M, DONG Q L, YANG C Y, WANG X, MA Y, QIN X J. Research progress on survival mechanisms and control measures of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in egg white[J/OL]. Food Science: 1-14[2023-02-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20230206.1725.013.html>. (in Chinese)
- [23] 李刘泽木, 何洪城. 龙脑樟资源利用研究现状与发展趋势[J]. 湖南林业科技, 2017, 44(3): 90-96.
- LILIU Z M, HE H C. Research status and development trend of borneol camphor resource utilization[J]. Hunan Forestry Science and Technology, 2017, 44(3): 90-96. (in Chinese)
- [24] 马青, 马蕊, 靳保龙, 崔光红. 天然冰片资源研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(1): 57-61.
- MA Q, MA R, JIN B L, CUI G H. Research progress on natural borneol resources[J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2021, 46(1): 57-61. (in Chinese)