

鹰爪花挥发油 GC-MS 分析及抗肿瘤活性研究

王燕, 陈文豪, 陈光英*, 宋小平, 张大帅, 平媛媛

(海南师范大学省部共建-热带药用植物化学教育部重点实验室, 海口 571158)

[摘要] **目的:**分析鹰爪花新鲜叶挥发性成分,进行抗肿瘤活性测试,为进一步研究开发鹰爪花提供实验依据。**方法:**采用水蒸气蒸馏法制备鹰爪花叶挥发油,并结合 GC-MS 分析化学成分;用 MTT 比色法分别研究鹰爪花叶挥发油抗肿瘤活性。**结果:**水蒸气蒸馏法提取鹰爪花新鲜叶挥发油收率为 1.35%,得到 68 个化合物,鉴定出 53 个;鹰爪花叶挥发油浓度较高时对肝癌细胞(BEL-7402)具有较好抑制活性,IC₅₀ 12.07 mg·L⁻¹,对白血病细胞(K-562)、胃癌细胞(SGC-7901)、肺癌细胞(SPCA-1)的增殖抑制具有中等强度的抑制活性。**结论:**从鹰爪花叶中提取挥发油并鉴定化学成分主要为烯类、醇类、萜类、醛类和酯类化合物。

[关键词] 鹰爪花;挥发油;化学成分;活性研究

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0100-04

[doi] 10.11653/syjf2013170100

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130625.0944.002.html>

[网络出版时间] 2013-06-25 9:44

GC-MS Analysis and Bioactivity of Essential Oil from *Artabotrys hexapetalus*

WANG Yan, CHEN Wen-hao, CHEN Guang-ying*, SONG Xiao-ping, ZHANG Da-shuai, PING Yuan-yuan
(Key Laboratory of Tropical Medicinal Plant Chemistry of Ministry of Education,
Hainan Normal University, Haikou 571158, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents and bioactivity of essential oil from *Artabotrys hexapetalus*. **Method:** The essential oil was extracted by hydrodistillation and separated by capillary GC. The chemical constituents were determined by normalization and were identified by MS. **Result:** Sixty-eight chromatographic peaks were detected and 53 compounds were identified, which were 89.32% of the total essential oil. The essential oil from *A. hexapetalus* showed inhibitory activity against staphylococcus aureus rosenbach, escherichia coli, bacillus subtilis and exhibited higher activity to restrain liver cancer cells (BEL-7402), with IC₅₀ values of 12.07 mg·L⁻¹. **Conclusion:** Volatile oil has been extracted from *A. hexapetalus*. and the

[收稿日期] 20121227(031)

[基金项目] 国际科技合作项目(S2013ZR0211)

[第一作者] 王燕, 硕士, 助教, 从事天然药物化学研究, Tel:13647570915, E-mail:yanw0123@163.com

[通讯作者] * 陈光英, 教授, 博士, 从事天然药物化学研究, Tel:0898-65889422, E-mail:chgying123@163.com

[10] 陈旭冰, 刘晓宇, 陈光勇, 等. 大果大戟的二萜成分 [J]. 安徽农业科学, 2001, 39 (23):4025.
[11] 兰鸣生, 罗超, 谭昌恒, 等. 山风乙酸乙酯部位的化学成分研究 [J]. 中药材, 2012, 35 (2):229.
[12] Ikhlas A Khan, James W Rushing, Ilias Muhammad. New constituents from Noni (*Morinda citrifolia*) fruit juice [J]. J Agr Food Chemistry, 2006, 54:6398.

[13] 罗秀珍, 冯锦东. 中药益智化学成分的研究 [J]. 药学学报, 2000, 35 (3):204.
[14] Van Roekeghem P, Savelli-Boukhaled M P, Douillet O et al. Physicochemical properties of a novel series of amphiphilic sugar-based molecules: 1-O-n-alkyl-D, L-xylitol [J]. S T P Pharma Sciences, 1997, 7(5):354.

[责任编辑 邹晓翠]

compounds have been identified for the first time, containing many active ingredients. This study provides experimental evidence for the further research and exploitation of *A. hexapetalus*.

[Key words] *Artabotrys hexapetalus*; essential oil; chemical constituents; bioactivity

番荔枝科鹰爪花属 *Artabotrys* 植物因其富含抗肿瘤活性成分受到国内外学者的广泛关注,从该属多种植物的根、茎(皮)、叶和果实的化学成分分离得到生物碱类^[1]、新黄酮类^[2]、木脂素类^[3]和萜类^[4]等多种类型化合物。鹰爪花为该属植物,主要产广东和海南,其根具有抗疟作用^[5]。前期药理活性筛选发现鹰爪花具有很好的生物活性,查阅文献未见相关报道。为进一步开发利用该药用资源,本文通过水蒸气蒸馏法提取鹰爪花新鲜叶挥发油,采用 GC-MS-计算机检索及标准图谱对照进行分析,同时进行抗肿瘤活性测试,为鹰爪花的综合开发利用提供理论依据。

1 材料

鹰爪花新鲜叶于 2012 年 7 月采自海南昌江市霸王岭,由海南师范大学生命科学学院钟琼芯教授鉴定为鹰爪花 *Artabotrys hexapetalus* Bhandari,标本存放于海南师范大学热带药用植物化学省部共建教育部重点实验室。

5975B/6890N 型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司),肝癌细胞(BEL-7402)、白血病细胞(K-562)、胃癌细胞(SGC-7901)、肺癌细胞(SPCA-1)(中国科学院上海生物研究所),RPMI 1640 培养液(Gibco 公司),胰酶(Gibco 公司),四甲基偶氮唑蓝(MTT, Sigma 公司),超级新生牛血清(杭州四季青生物科技有限公司),二甲基亚砜(DMSO,天津市化学试剂二厂)。

2 方法

2.1 挥发油的制备 取鹰爪花新鲜叶 240 g,按 2010 年版《中国药典》一部附录 XD 挥发油测定法(不加二甲苯),水蒸气蒸馏法提取 8 h,用乙醚萃取 3 次,乙醚层用无水硫酸钠干燥后于 35 ℃ 水浴回收,计算提取率。

2.2 GC-MS 分析条件 进样条件:样品瓶温度 100 ℃,定量环(1.0 mL)温度 110 ℃,传输线温度 120 ℃,气相平衡时间 5.5 min,样品平衡时间 7.0 min,样品瓶加压时间 0.1 min,定量环增量时间 0.5 min,样品环平衡时间 0.05 min,进样时间 1.0 min。

GC 条件:石英毛细管柱 HP-FFAP(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm),起始温度 40 ℃,以 5 ℃·min⁻¹ 升温速率升温到 200 ℃ 维持 5 min,再以 8 ℃·min⁻¹ 升温

速率升温到 280 ℃ 维持至完成分析,载气为 He(99.99%),柱流量 1.0 mL·min⁻¹,进样口温度 250 ℃,分流比 50:1。EI 电离源 70 eV,离子源温度 230 ℃,四级杆温度 180 ℃,溶剂延迟 2.5 min,扫描质量范围 m/z 50 ~ 550。

质谱测试条件^[6]:接口温度 280 ℃,电离方式为 EI 源,电子能量 70 eV,离子源温度 250 ℃,四极杆温度 150 ℃,扫描范围 m/z 45 ~ 550,加速电压 1 247 eV,扫描间歇每秒 2.94 次,溶剂延时 3 min。

2.3 抗肿瘤活性测试 收集对数期细胞,用含 10% 新生小牛血清的 RPMI 1640 培养液配制细胞悬液,调整其细胞密度为 10 000 个/mL,于 96 孔板中每孔加入 180 μL 该密度细胞悬液,铺板。将孔板放入培养箱,37.0 ℃,5% CO₂ 饱和湿度条件下,培养 8 ~ 12 h。加入用 PBS 配制的浓度梯度的挥发油(1, 10, 100 mg·L⁻¹) 20 μL,继续培养 44 h。再加入 50 μL MTT 溶液(1 g·L⁻¹, PBS 配制),继续培养 4 h 后,终止培养,小心吸弃孔内培养上清液。每孔加入 150 μL DMSO,振荡 10 min,使甲瓚结晶物充分溶解,显出蓝紫色。在酶联免疫检测仪上选择 570 nm,调零,测定各孔的吸光值,记录结果,计算抑制率。

3 结果

3.1 挥发油化学成分 利用水蒸气蒸馏法制备鹰爪花挥发油得到特殊香气的浅黄色油状物 3.2 g,提取率 1.35%。用毛细管色谱法对挥发油样品进行测定,GC 共分离出 68 个组分,经色谱峰面积归一化法测得挥发油中各组分的相对百分含量,根据 GC-MS 联用所得的质谱信息,经用标准质谱检索库计算机检索,共鉴定出 53 个化学成分(表 1),占挥发油总质量的 89.32%。相对质量分数较高的组分大根香叶烯 D 16.97%,榄香醇 8.63%, α -石竹烯 6.58%, α -毕澄茄烯 5.28%,芳樟醇 4.78% 等。

3.2 活性测试结果 采用 MTT 比色法对挥发油进行抗肿瘤活性研究,发现其对肝癌细胞(BEL-7402)具有很好的抑制活性,IC₅₀ 12.07 mg·L⁻¹,而对白血病细胞(K-562, IC₅₀ 66.96 mg·L⁻¹)、胃癌细胞(SGC-7901, IC₅₀ 50.26 mg·L⁻¹)、肺癌细胞(SPCA-1, IC₅₀ 55.76 mg·L⁻¹)的增殖抑制具有中等强度的抑制活性。

表 1 鹰爪花叶挥发油化学成分及其相对含量

No.	t_R /min	化合物	英文名	分子式	相对分子质量	相对质量分数/%
1	4.192	反式-2-己烯醛	trans-2-hexenal	C ₆ H ₁₀ O	98	1.49
2	4.255	顺-3-己烯醇	cis-hex-3-en-1-ol	C ₆ H ₁₂ O	100	0.35
3	5.29	(<i>E,E</i>)-2,4-己二烯醛	(<i>E,E</i>)-2,4-hexadienal	C ₆ H ₈ O	96	1.01
4	5.811	左旋- α -蒎烯	(1 <i>S</i>)-(-)- α -pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.61
5	6.451	苯甲醛	benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	3.04
6	6.736	3-亚甲基-6-(1-甲基乙基)环己烯	2- <i>p</i> -menthadiene	C ₁₀ H ₁₆	136	2.06
7	6.826	左旋- β -蒎烯	(1 <i>S</i>)-(1)- β -pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	1.52
8	7.139	月桂烯	myrcene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.71
9	8.202	桉叶油醇	cineole	C ₁₀ H ₁₈ O	154	3.03
10	8.348	3 <i>E</i> -罗勒烯	(3 <i>E</i>)-cimene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.46
11	8.619	罗勒烯	cimene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.14
12	8.924	松油烯	<i>g</i> -terpinene	C ₁₀ H ₁₆	136	2.52
13	9.723	异松油烯	terpinolene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.19
14	10.092	芳樟醇	linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	154	4.78
15	10.675	顺-对-薄荷-2-烯-1-醇	cis- <i>p</i> -menth-2-en-1-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	2.27
16	11.759	2-甲基硫基苯酚	2-(methylthio)-phenol	C ₇ H ₈ OS	140	0.40
17	12.010	苯甲酸乙酯	benzoic acid ethyl ester	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	1.20
18	12.218	(-)-4-萜品醇	(-)-4-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.17
19	14.317	薄荷烯酮	<i>p</i> -menth-1-en-3-one	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.32
20	16.519	4-甲基-4-乙烯基-(2-丙基)-3-(1-丙烯基)-环己烯	4-ethenyl-4-methyl-1-(propan-2-yl)-3-(prop-1-en-2-yl)cyclohexene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.99
21	17.416	α -衣兰烯	α -ylangene	C ₁₅ H ₂₄	204	4.55
22	17.534	α -毕澄茄烯	α -cubebene	C ₁₅ H ₂₄	204	5.28
23	17.944	δ -榄香烯	δ -elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	2.87
24	18.340	β -石竹烯	4, 11, 11-trimethyl-8-methylene-bicyclo [7.2.0]undec-4-ene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.03
25	18.402	α -古芸烯	α -gurjunene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.03
26	18.694	α -石竹烯	α -caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	6.58
27	18.896	大根香叶烯 D	(-)-germacrene D	C ₁₅ H ₂₄	204	16.97
28	18.979	黏蒿三烯	artemisia triene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.37
29	19.236	β -愈创木烯	β -guaiene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.23
30	19.417	(+)- δ -古芸烯	(+)- δ -gurjunene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.65
31	20.362	(+)-香橙烯	(+)-aromadendrene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.44
32	20.480	马兜铃烯	aristolene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.22
33	21.203	δ -毕澄茄烯	δ -cadinene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.73
34	21.835	榄香醇	elemol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	8.63
35	21.918	旱麦草烯	eremophilene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.88
36	22.029	γ -榄香烯	γ -elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.23
37	22.113	顺式橙花叔醇	cis-nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.16
38	22.544	斯巴醇	espatulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1.92

续表 1

No	t_R /min	化合物	英文名	分子式	相对分子质量	相对质量分数/%
39	23.343	3,9-愈创木二烯	guaia-3,9-diene	$C_{15}H_{22}$	204	0.28
40	23.614	白菖油萜	calarene	$C_{15}H_{24}$	204	0.14
41	24.267	1- α -毕橙茄醇	1- α -cadinol	$C_{15}H_{26}O$	222	1.21
42	24.594	β -律草烯	β -humulene	$C_{15}H_{24}$	204	0.43
43	26.623	苯甲酸苄酯	benzyl benzoate	$C_{14}H_{12}O_2$	212	3.68
44	28.52	8,9-去氢-环异长叶烯	8,9-dehydro-cycloisolongifolene	$C_{15}H_{24}$	202	0.11
45	28.756	水杨酸苄酯	benzyl salicylate	$C_{14}H_{12}O_3$	228	1.10
46	30.528	邻苯二甲酸二丁酯	dibutyl phthalate	$C_{16}H_{22}O_4$	278	0.26
47	33.293	叶绿醇	plant alcohol	$C_{20}H_{40}O$	296	0.23
48	36.469	正二十三烷	tricosan	$C_{23}H_{48}$	324	0.53
49	38.102	二十烷	eicosane	$C_{20}H_{42}$	282	0.93
50	39.665	二十五烷	pentacosane	$C_{25}H_{52}$	352	0.46
51	40.492	邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯	2-ethylhexyl hydrogen phthalate	$C_{16}H_{22}O_4$	278	0.54
52	43.244	正十八烷	octadecane	$C_{18}H_{38}$	254	0.18
53	45.669	二十烷	eicosane	$C_{20}H_{42}$	282	0.21

4 讨论

对鹰爪花叶挥发油成分进行了鉴定,经过 GC-MS 分析鹰爪花叶挥发油得到 68 个化合物,鉴定了 53 个化合物,占总含量的 89.32%,主要成分为萜类化合物。鹰爪花叶挥发油中含有很多活性成分,榄香烯能有效抑制多种肿瘤细胞的增殖,抑制肿瘤细胞核酸合成,诱导肿瘤细胞凋亡和分化,而且能增强肿瘤的免疫原性^[7]。相对含量较高的 β -石竹烯可强烈诱导小鼠肝和小肠中的解毒酶谷胱甘肽 S-转移酶活性而对化学致癌起抑制作用^[8],在质量浓度 $32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对人乳腺癌细胞系 MCF-7 增殖抑制率为 50%^[9]。芳樟醇具有典型的花香香气,有淡弱的柑橘类果香,可用作香料、除臭剂、抗龋齿剂、杀虫剂等方面,临床上也起到催化、抗菌、镇静等作用^[10]。

[参考文献]

- [1] Hsieh T T, Chen C Y, Kuo R Y, et al. Two new alkaloids from *Artabotrys uncinatus* [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62(8):1192.
- [2] Yu J G. Study of chemical constituent of *A. hainanensis* [J]. *Acta Pharm Sin*, 1998, 37(8):591.
- [3] Jain P, Sing H N, Meththa B K, et al. Chemical examination of *Artabotrys odoratissimus* [J]. *Indian J Chem Sect B; Org Chem Incl Med Chem*, 1998, 37B

(11):618.

- [4] Forunier G, Hadjiakhoondi A, Roblot F, et al. Volatile constituents of the essential oil from five *Artabotrys* species [J]. *J Essen Oil Res*, 1997, 9(2):145.
- [5] Wu Deling. Coastal islands plant list of Hainan and guangdong [M]. Haikou: Science Press, 1994:7.
- [6] 刘雪梅,杨秀芬,刘耀泉,等.超临界 CO_2 提取桂郁金挥发油的化学成分 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(19):114.
- [7] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. *J Immunol Methods*, 1983, 65:55.
- [8] Zheng G Q, Kenney P M, Lam L K T. Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agents [J]. *J Nat Prod*, 1992, 55(7):999.
- [9] Legault J, Pichette A. Potentiating effect of β -caryophyllene on anticancer activity of α -humulene, is β -caryophyllene and paclitaxel [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2007, 59(12):1643.
- [10] 张龙,郑锡任,陈勇,等.山绿茶茎和叶中挥发油成分 GC-MS 比较分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(1):70.

[责任编辑 邹晓翠]