

粉背薯蓣挥发油的成分分析及生物活性的初步研究

邓明强^{1,2}, 张小平^{1,2*}, 王琼¹, 余红¹, 蒋继宏³

(1. 安徽师范大学生命科学学院, 安徽 芜湖 241000; 2. 安徽省重要生物资源保护与利用研究重点实验室, 安徽师范大学, 安徽 芜湖 241000; 3. 徐州师范大学江苏省药用植物生物技术重点实验室, 江苏 徐州 221116)

[摘要] 目的: 首次从粉背薯蓣的块状茎中提取出挥发油, 以检测其生物活性。方法: 采用水蒸汽蒸馏法从粉背薯蓣的块状茎中提取出挥发油, 再用气相色谱-质谱法对粉背薯蓣的挥发性成分进行研究, 并检测其抗肿瘤和抗菌生物活性。结果: 从挥发油中分离出7种物质, 其中主要成分有对二甲苯(7.601%), 邻苯二甲酸二异丁酯(31.348%), 联苯二甲酸丁醇辛醇酯(1.712%), 正十六烷酸(4.618%), 邻苯二甲酸二丁酯(5.891%), 2,4-双(1-甲基-1-苯乙基)苯酚(3.471%), 单(2-乙己基)邻苯二甲酸酯(43.875%), 并对挥发油的抗肿瘤活性和抑菌活性进行了检测, 发现其化学成分具有较好的抗肿瘤活性和抑菌活性。结论: 首次从挥发油的角度来研究粉背薯蓣的药理作用。

[关键词] 粉背薯蓣; 挥发油; 化学成分; 生物活性

[中图分类号] R284.1, R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)02-0006-0

Composition and Biological Activity of Volatile Oil from *Dioscorea hypoglauca* Palibin

DENG Ming-qiang^{1,2}, ZHANG Xiao-ping^{1,2*}, WANG Qiong¹, YU Hong¹, JIANG Ji-hong³

(1. Life College of Anhui Normal University, Wuhu 241000, China; 2. The Key Laboratory of Conservation and Employment of Biological Resources of Anhui, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China; 3. Key Laboratory of Biotechnology for Medicinal Plants of Jiangsu Province, Xuzhou Normal University, Xuzhou 221116, China)

[Abstract] **Objective:** The volatile oil was extracted from the stem of *Dioscorea hypoglauca* Palibin firstly and the biological Activity was tested. **Methods:** Extract volatile oil from the stem of *Dioscorea hypoglauca* Palibin by steam distillation and the chemical constituents were analyzed by GC-MS method. The anti-tumor and antibacterial activities of the volatile oil were tested. **Results:** Seven constituents were identified. The main compounds include p-Xylene (7.601%), 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester (31.348%), 1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester (1.712%), n-Hexadecanoic acid (4.618%), Dibutyl phthalate (5.891%), Phenol, 2,4-bis(1-methyl-1-phenylethyl)-(3.471%), 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester (43.875%). We found that the chemical components had activities of anti-tumor and anti-bacterial. **Conclusion:** The pharmacological effect of *Dioscorea hypoglauca* Palibin were related with volatile oil.

[Key words] *Dioscorea hypoglauca* Palibin; volatile oil; chemical components; biological activity

[收稿日期] 2007-07-02

[基金项目] 安徽省高校自然科学研究重点项目(2006KJ061A); 安徽省自然科学基金项目(050430501); 教育部高等学校博士点专项科研基金(20060370001)

[通讯作者] 张小平, Tel: (0553) 3883539; E-mail: pinghengxu@sina.com.cn

粉背薯蓣(*Dioscorea hypoglauca* Palibin), 多年生缠绕草本, 雌雄异株, 根状茎药用, 具祛风利湿功能^[1]。中药材粉萆薢为粉背薯蓣的干燥根茎^[2]。据李雪征、金光洙^[3]报道, 粉背薯蓣有抗心肌缺血、抗肿瘤、抗病原微生物、预防动脉粥样硬化、预防麻疹、抗炎、降血糖、降血脂和杀虫等作用。本文采用水蒸汽蒸馏法从粉背薯蓣的块状茎中提取出挥发油, 利用气相色谱-质谱联用技术对其化学成分进行了分析, 并对挥发油的生物活性进行检测, 发现其具有较好的生物活性, 为以后进一步开发利用此植物资源提供了科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料和仪器 材料: 采自安徽天堂寨, 经安徽师范大学张小平教授鉴定为粉背薯蓣。

仪器与试剂: 无水硫酸钠; 挥发油提取器(常规玻璃仪器); RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); 气-质联动分析仪为 6890/5973NGC/MS 联用仪(美国安捷伦公司); SpectroMax M2 荧光检测仪(Molecular devices 公司)。所用试剂均为分析纯。

供试菌株: 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*), 大肠杆菌(*Escherichia coli*), 红酵母(*Rhodotorula sp.*) 由江苏省药用植物生物技术重点实验室提供。

肿瘤细胞株: 肺癌细胞 NCF-H460 由江苏省药用植物生物技术重点实验室提供。

1.2 样品的制备 取新鲜粉背薯蓣的块状茎 128.1 g, 用水蒸汽常压蒸馏 8 h, 蒸馏出的液体用乙醚萃取 3 次, 旋转蒸发器常压浓缩后合并, 无水硫酸钠干燥, 得到淡黄色透明油状物 1.493 4 g, 挥发油得率为 1.17%, 具有特殊香味。低温保存备用。

1.3 气相色谱质谱条件^[4]

1.3.1 气相色谱 色谱条件: 6890 型气相色谱仪(美国安捷伦公司 Agilent), HP-5MS 弹性石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), 载气为高纯氮气, 柱流量 60 mL/min, 气化室温度: 280 °C, 毛细管柱程序升温从 70 °C 开始, 保持 2 min, 以 10 °C/min 的速度升到 255 °C 并保持 25 min, 再以 10 °C/min 的速度升到 270 °C 并保持 5 min。

1.3.2 质谱条件 质谱条件: 5973N 质谱仪(美国安捷伦公司 Agilent), EI 离子源(电子轰击源), 电离电压为 70 eV, 离子源温度为 230 °C, 相对分子质量扫描范围 30~ 550 AMU, 进样量 1.0 μL, 分流比 50: 1,

扫描周期 1 s。

1.4 生物活性测定

1.4.1 抑菌实验 挥发油用丙酮稀释, 使其浓度为 50 mg/mL, 并以丙酮做对照。采用管碟法^[4,6], 分别进行了抑金黄色葡萄球菌、抑大肠杆菌、抑红酵母的实验。

1.4.2 抗肿瘤实验 抗肿瘤采用 Alamar blue 法^[6,7]。Alamar blue 贮存液用培养基以 1: 10 比例稀释, 每孔加 200 μL, Alamar blue 为 10%, 4 h 后用 SpectroMax M2 荧光检测仪检测, 将培养板放于 570 nm 的激发波长和 590 nm 的发射波长下, 以加入不含细胞的培养基的孔做空白值, 加细胞液不加药的孔做对照值, 以细胞培养孔的值减去空白值为实际值。按照公式计算细胞存活率:

$$\text{细胞存活率} = (\text{对照} - \text{样品}) / \text{对照} \times 100\%$$

2 结果

2.1 粉背薯蓣挥发油成分及相对含量 经 GC-MS 对粉背薯蓣挥发油的化学成分进行分析, 共检测出 8 个峰, 对总离子流图中的各峰经质谱扫描后得到质谱图, 经计算机质谱数据库检索按各色谱峰的质谱裂片图并结合有关文献^[8-10], 对基峰质荷比和相对丰度等进行直观比较, 分别对各色谱峰加以确认, 鉴定了粉背薯蓣挥发油中的化学成分, 按面积归一法确定各组分相对含量, 分析结果见表 1。

2.2 粉背薯蓣挥发油的生物活性初步分析

2.2.1 粉背薯蓣挥发油的抑菌活性 将粉背薯蓣的挥发油用丙酮稀释至 50 mg/mL, 并以丙酮作空白对照, 发现其对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和红酵母有很好的抑制作用, 抑菌圈直径依次为 (cm) 4.0 ± 0.2, 3.5 ± 0.2, 3.2 ± 0.2。

2.2.2 粉背薯蓣挥发油对 NCF-H460(人非小细胞肺癌)增殖的影响 粉背薯蓣挥发油有较好的抗肿瘤活性, 当浓度为 100 μg/mL 时, 抑制率为 86.86%; 浓度为 50 μg/mL 时, 抑制率为 27.70%; 浓度为 25 μg/mL 时, 抑制率为 6.08%。随着挥发油浓度减少, 活性减弱, 最佳抗肿瘤活性在 100 μg/mL 以上。

3 讨论

薯蓣科植物的挥发油研究较少, 本文对粉背薯蓣的挥发油进行了分析研究, 对进一步完善粉背薯蓣的药理学作用有一定的参考价值。粉背薯蓣挥发油的主要成分是酯类, 有 4 种物质, 分别是邻苯二甲酸二异丁酯、联苯二甲酸丁醇辛醇酯、邻苯二甲酸二

表 1 粉背薯蓣挥发性化学成分的 GC/MS 分析结果

峰号	保留时间 (min)	分子式	化合物名称	相对含量 (%)
1	3.174	C ₈ H ₁₀	对二甲苯 p-Xylene	7.601
3	4.842	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	邻苯二甲酸二异丁酯 1, 2-Benzenedicarboxylic acid, bis (2-methylpropyl) ester	31.348
4	15.316	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	联苯二甲酸丁醇辛醇酯 1, 2-Benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester	1.712
5	15.690	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	正十六烷酸 n-Hexadecanoic acid	4.168
6	15.758	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	5.891
7	21.287	C ₂₄ H ₂₆ O	2, 4-双(1-甲基-1-苯乙基)苯酚 Phenol, 2, 4-bis (1-methyl-1-phenylethyl)-	3.471
8	21.625	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	单(2-乙己基)邻苯二甲酸酯 1, 2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester	43.875

丁酯、单(2-乙己基)邻苯二甲酸酯, 占到总成分的 82.826%; 酸类仅一种, 是正十六烷酸, 占 4.618%; 其中有苯环的化合物有六种, 分别是对二甲苯、邻苯二甲酸二异丁酯、联苯二甲酸丁醇辛醇酯、邻苯二甲酸二丁酯、2, 4-双(1-甲基-1-苯乙基)苯酚、单(2-乙己基)邻苯二甲酸酯, 占 93.898%。邻苯二甲酸二异丁酯和邻苯二甲酸二丁酯都为较常见的化工原料, 市场都有销售, 目前多用化学合成方法生产。邻苯二甲酸二异丁酯可作为纤维素树脂、乙烯树脂、丁腈橡胶、氯化橡胶等的增韧剂。邻苯二甲酸二丁酯是纤维素树脂和聚氯乙烯的主增塑剂, 特别适用于硝酸纤维素涂料, 具有优良的溶解性、分散性、粘着性, 漆膜的柔软性和稳定性皆佳。刘睿, 顾谦群^[11]等从密脉鹅掌柴中分离到正十六烷酸, 并验证了正十六烷酸具有抗肿瘤活性。李雪征, 李金洙等报道^[2], 粉背薯蓣有抗肿瘤和抗病原微生物的作用。从挥发油的生物活性来看, 正好验证了这点。

从粉背薯蓣的抑菌活性可以看出, 其对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和红酵母都具有较好的抑制作用。从体外抗肿瘤实验可以看出, 其浓度在 100 μg·mL⁻¹时, 具有较好的抑制作用, 这说明了其活性可能与其中的正十六烷酸有关。从天然植物中检测到正十六烷酸, 且具有抗肿瘤活性, 为进一步研究粉背薯蓣的药理作用, 提供了很好的实验依据。目前, 对粉背薯蓣的挥发油的抗肿瘤活性和抗病原微生物活性研究较少, 有进一步研究的价值, 可以更好的开发粉背薯蓣这一宝贵的植物资源。

[参考文献]

- [1] 安徽植物志协作组. 安徽植物志第五卷[M]. 合肥: 安徽科学出版社, 1992. 116-123.
- [2] 李雪征, 李金洙. 葶苈的研究进展. 中国野生植物资源[J], 2002, 21(5): 8-10.
- [3] 高甜惠, 李晓储, 何冬宁, 等. 云南拟单性木兰挥发物质及其抗肿瘤和抑菌活性初步研究[J]. 中国野生植物资源, 2006, 25(4): 44-46.
- [4] 马绪荣, 苏德模. 药品微生物学检验手册[M]. 北京: 科学出版社, 2000. 206-209.
- [5] 刘冬梅, 李理, 杨晓泉, 等. 用牛津杯法测定益生菌的抑菌活力. 食品研究与开发[J], 2006, 27(3): 110-111.
- [6] Pagé B, Pagé M, Noël C. A new fluorimetric assay for cytotoxicity measurements in vitro[J]. International Journal of Oncology, 1993, 3: 473-676.
- [7] Hamid R, Rotshteyn Y, Rabadi L, et al. Comparison of alamar blue and MTT assays for high throughput screening [J]. Toxicology in vitro, 2004, 88: 703-710.
- [8] 中国质谱学会有机专业委员会. 香料质谱图集[M]. 北京: 科学出版社, 1992. 34.
- [9] 从浦珠, 苏克曼. 分析化学手册(质谱分册)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 840.
- [10] 孙文基, 绳金房. 天然活性成分简明手册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998. 226, 350, 429.
- [11] 刘睿, 顾谦群, 崔承彬, 等. 密脉鹅掌柴的化学成分及抗肿瘤活性[J]. 中草药, 2005, 3(36): 328-332.