

多花黄精挥发油 GC-MS 分析及其生物活性研究

余红^{1,2}, 张小平^{1,2*}, 邓明强¹, 叶红翠¹, 蒋继宏³

- (1. 安徽省重要生物资源保护与利用研究重点实验室, 安徽 芜湖 241000;
2. 生物环境与生态安全安徽省高校重点实验室, 安徽 芜湖 241000;
3. 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: 分析多花黄精根状茎挥发油成分及检测其抑菌和抗肿瘤生物活性。方法: 采用水蒸汽蒸馏法(SD)提取挥发油, 用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术分析多花黄精根状茎精油的成分, 生物活性检测采用杯碟法和 Alamar blue 法。结果: 共鉴定出 16 个化合物, 占总挥发油的 95.97%, 该挥发油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、红酵母均有较强的抑制能力; 对人肺癌细胞(NCFH460)有显著的抑制作用, 当浓度达到 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 抑制率达到 98.08%。结论: 实验结果表明多花黄精挥发油成分具有较强的生物活性, 为进一步研究其药理作用提供了科学依据。

[关键词] 多花黄精; 挥发油; 气相色谱-质谱联用; 生物活性

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)05-0004-03

Study on Constituents and Biological Activity of Volatile Oil From Tubers of *Polygonatum cyrtonema* Hua

YU Hong^{1,2}, ZHANG Xiao-ping^{1,2*}, DENG Ming-qiang¹, YE Hong-cui¹, JIANG Ji-hong³

- (1. Key Laboratory of Conservation and Employment of Biological Resources of Anhui Province Normal University, Wuhu 241000, China;
2. The Key Laboratory of Biotic Environment and Ecological Safety of College in Anhui Province, Wuhu 241000, China;
3. The Key Laboratory of Biotechnology for Medical Plant of Jiangsu Province, Xuzhou 221116, China)

[Abstract] **Objective:** To analyse the constituents and determine the biological activity of volatile oil from the tubers of *Polygonatum cyrtonema*. **Methods:** The volatile oil was obtained by steam distillation. And its chemical constituents were analyzed by GC-MS. Biological activity of the volatile oil was screened with microbiological method and Alamar Blue method. **Results:** 16 compounds were identified, making up 95.97% of the total contents; The volatile oil could inhibit the growth of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Rhodotorula glutinis*. The volatile oil could obviously inhibit the growth of cultured tumor cells, and the inhibitory rate was 98.08% at the volatile oil concentration of 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. **Conclusion:** The results indicated that the biological activity of volatile oil of *Polygonatum cyrtonema* was strong, and it provided the scientific basis for further development of *Polygonatum cyrtonema*.

[Key words] *Polygonatum cyrtonema* Hua; volatile oil; GC-MS; biological activity

多花黄精主要分布在河南以南及长江流域各

省。多花黄精含有黄精皂苷、烟酸、糖类、醌类、氨基酸及微量元素, 具有免疫激发、增强免疫、延缓衰老、抗病毒等作用^[1]。本文采用水蒸汽蒸馏法提取了采自安徽九华山地区多花黄精的挥发油, 利用气相色谱-质谱联用技术对其化学成分进行了分析, 以期为进一步开发利用提供实验依据。

1 材料和方法

[收稿日期] 2007-10-19

[基金项目] 教育部科学技术研究重点项目(206066); 安徽省自然科学基金项目资助项目(050430501); 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

1.1 材料和仪器 多花黄精于 2006 年 8 月采自安徽九华山, 经安徽师范大学张小平教授鉴定为百合科植物多花黄精 *Polygonatum cyrtonema* Hua 的根茎; 供试菌株: 金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*)、大肠杆菌 (*E. coli*) 和红酵母 (*R. glutinis*) 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 NCI-H460 购于美国 ATCC; 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)。所用试剂均为分析纯。

1.2 样品的制备 取新鲜多花黄精的块状根茎 150 g, 用水蒸气常压蒸馏 8 h, 蒸馏出的液体用无水乙醚萃取 3 次, 旋转蒸发器常压浓缩后合并, 无水硫酸钠干燥, 得到浅黄色透明油状物, 具有特殊气味。低温保存备用。

1.3 气相色谱质谱条件^[2]

1.3.1 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 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), 载气为高纯氦气, 柱流量 60 mL · min⁻¹, 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⁻¹ 的速度升到 255 °C 并保持 25 min, 再以 10 °C · min⁻¹ 的速度升到 270 °C 并保持 5 min。

1.3.2 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 1 s。

1.4 生物活性测定 挥发油用丙酮稀释, 使其浓度为 100 mg · mL⁻¹。同时以此混合溶剂做对比。抑细菌、抑红酵母采用杯碟法^[3,4], 抗肿瘤采用 Alamar blue 法^[5,6]。细胞存活率计算公式: 细胞存活率 = (对照 - 样品) / 对照 × 100%。

2 结果

2.1 多花黄精挥发油成分及相对含量 经 GC-MS 对多花黄精水提物的化学成分进行分析, 共检测出 22 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^[7-9], 对基峰质荷比和相对丰度等进行直观比较, 同时还对一些主要组分采用标准物质对照, 分别对各色谱峰加以确认, 鉴定了多花黄精水提物组分中的 16 个化学成分, 按面积归一法确定各组分相对含量, 分析结果见表 1。

2.2 多花黄精挥发油的生物活性

2.2.1 多花黄精挥发油的抑菌活性 将挥发油用丙酮稀释至 10 mg · mL⁻¹, 发现其对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌有很好的抑制作用, 见表 2。

表 1 多花黄精挥发性化学成分的 GC/MS 分析结果

Table 1 The determination results of volatile chemical components of *Polygonatum cyrtonema* Hua by GC-MS

峰号	保留时间 (min)	分子式	化合物名称	相对含量 (%)
1	3.613	C ₁₀ H ₂₂	正癸烷 Deane	1.825
2	3.702	C ₇ H ₁₄ O ₃	乳酸正丁酯 Butyl lactate	2.556
3	5.409	C ₁₂ H ₂₆	正十二烷 Dodecane	3.202
4	7.283	C ₁₅ H ₂₄	β-榄香烯 bete.-Elemem	8.611
5	7.585	C ₁₅ H ₂₄	β-石竹烯 bete.-Caryophyllene	11.251
6	8.154	C ₁₅ H ₂₄	β-芹子烯 bete.-Selinene	6.142
7	8.220	C ₁₅ H ₂₄	α-芹子烯 alpha.-Selinene	4.668
8	8.261	C ₁₅ H ₂₄ O	2, 6-二叔丁基对甲基苯酚 Butylhydroxytoluene	1.554
9	8.967	C ₁₅ H ₂₄ O	环氧丁香烯 Caryophyllene oxide	4.137
10	10.917	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	3.203
11	11.113	C ₁₉ H ₂₈	2, 4b-二甲基-8-甲叉-2-乙烷基-1, 2, 3, 4, 4a, 4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9-十二氢化菲 2, 4b-Dimethyl-8-methylene-2-vinyf-1, 2, 3, 4, 4a, 4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9-dodecahydrophenanthrene	1.170
12	12.897	C ₂₀ H ₃₀ O	7, 15-二烯-3-酮-海松酸 Pimarar 7, 15-dien-3-one	5.136
13	12.980	C ₂₇ H ₅₆	正二十七烷 Heptacosane	4.218
14	13.478	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	3-(2-[5-(羟甲基)-5, 8a-二甲基-2-二甲叉-1-萘戊基]乙基-3-丁烯-1-醇 3-(2-[5-(Hydroxymethyl)-5, 8a-dimethyl-2-methylenedecahydror-1-naphthalenyl]-3-butyl-1-ol	26.672
15	13.876	C ₃₇ H ₇₆ O	1-三十七烷醇 1-Heptatriacotanol	4.967
16	16.419	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	邻苯二甲酸二异辛酯 Diisooctyl phthalate	6.655

表 2 多花黄精挥发油对病原菌的抑菌直径

Table 2 Antimicrobial activity of volatile oil from *P. cyrtonema* Hua

供试菌株	抑菌圈直径 (cm)
金黄色葡萄球菌	6.0 ± 0.2
大肠杆菌	3.0 ± 0.2
红酵母	3.5 ± 0.2

2.2.2 多花黄精挥发油对 NCI-H460 (人非小细胞肺癌) 增殖的影响 体外抗肿瘤试验表明, 该挥发油对

人非小细胞肺癌有显著的抑制作用,当浓度为 $25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,抑制率达到 90% 以上,当浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,抑制率达到 98.08%。

3 讨论

体外抗肿瘤试验表明,多花黄精根状茎挥发油对肺癌细胞有较高的抑制作用,当浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,抑制率在 98% 以上。分析其原因可能是挥发油成分中含有较高的抗肿瘤活性成分,如已报道的抗肿瘤活性物质 β -榄香烯^[10],或挥发油成分之间具有协同抗肿瘤作用。笔者所做的多花黄精挥发油的抗肿瘤试验只停留在单细胞株水平上,对其他细胞株的作用,以及动物体内的抑癌作用及机制,值得进一步深入研究。

抑菌试验表明,该挥发油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和红酵母作用十分明显。因此,初步推测多花黄精挥发油具有广泛的抗革兰氏阳性菌、阴性菌和真核微生物的抗菌谱。已报道的 β -石竹烯、 α -芹子烯、 β -芹子烯等都有较强的解热、抗炎、祛痰、抗菌作用;醇类、酯类及萜类化合物,均为很好的天然活性抑菌成分,多花黄精挥发油成分中均含有这几类化学物质。本文的实验结果为进一步开发利用这种传统中药提供了一定的科学依据。

[参考文献]

- [1] 娄 帅,李永红,张普玉.黄精研究进展[J].中华实用中西医杂志,2005, 18(10): 1526-1528.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 刘冬梅,李 理,杨晓泉,等.用牛津杯法测定益生菌的抑菌活力[J].食品研究与开发,2006, 27(3): 110-111.
- [5] Pagé B, Pagé M, Noël C. A new fluorimetric assay for cytotoxicity measurements in vitro[J]. International Journal of Oncology, 1993, 3: 473-676.
- [6] R. Hamid, Y. Rotshteyn, L. Rabadi, *et al.* Bullock Comparison of alamar blue and Mtt assays for high throughput screenin[J]. Toxicology in vitro, 2004, 88: 703-710.
- [7] 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.
- [8] 从浦珠,苏克曼.分析化学手册[M].质谱分册,北京:化学工业出版社,2000. 840.
- [9] 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.
- [10] 师国强.榄香烯胸腔内注射治疗恶性胸腔积液的疗效观察[J].实用诊断与治疗杂志,2007, (05): 26-28.