

毛两面针挥发油化学成分

王恒山, 欧尚瑶, 潘英明, 向花俏

(广西师范大学 化学化工学院, 广西 桂林 541004)

摘要: 利用气相色谱-质谱联用技术对广西柳州地区大瑶山的毛两面针挥发油化学成分进行了研究, 共鉴定出 20 种成分, 占挥发油成分的 45.72%。其中主要成分为倍半萜。

关键词: 毛两面针; 挥发油; 气相色谱-质谱

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2006)01-0105-02

Essential oil from the hydrodistillation of *Zanthoxylum nitidum* var. *fastuosum*

WANG Heng-shan, OU Shang-yao, PAN Ying-ming, XIANG Hua-qiao

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: Chemical constituents of volatile oil from *Zanthoxylum nitidum* var. *fastuosum* originated from Yao Mountain in Liuzhou City were analyzed by GC/MS, and their relative contents determined by area normalization, 20 constituents were identified, which accounted for 45.72% of volatile oil, and sesquiterpenoids are the major chemical constituents.

Key words: *Zanthoxylum nitidum* var. *fastuosum*; essential oil; GC/MS

毛两面针 (*Zanthoxylum nitidum* var. *fastuosum*) 为芸香科 (Rutaceae) 花椒属 (*Zanthoxylum* L.) 植物, 此属植物全世界有 250 种, 广布世界各地, 我国有 39 种 14 变种, 南北各省均有分布 (中国科学院中国植物志编辑委员会, 1997), 据报道该属植物其果实、根、茎、叶均作药用, 具有镇痛、麻醉、抑菌、杀虫、抗癌等功效。毛两面针在很多方面与两面针有着相类似的功效 (温尚开, 1991), 到目前为止, 未见有报道对毛两面针挥发油研究的文献, 本文利用 GC/MS 联用技术对毛两面针的挥发油进行了研究。

1 实验部分

1.1 仪器和样品

气相色谱-质谱联用仪: 日本岛津 GL-9A 型气

相色谱仪; 30 m × 0.25 mm OV-101 弹性石英毛细管色谱柱。

毛两面针于 2003 年 12 月采于广西金秀大瑶山, 经广西师范大学生命科学学院唐绍清博士鉴定。

1.2 测试条件

色谱柱: 柱温为 50 °C (2 min) → 200 °C (5 min) → 220 °C (8 min), 进样量 0.3 μL, 分流比 15:1; 载气为高纯氮气; 柱前压 10 Psi。

质谱: EI-MS, 离子源温度 200 °C; 电子能量 70 eV, 电子倍增器电压 1.3 KV; 发射电流 0.5 mA; 扫描范围 35~450 amu。

1.3 样品处理

毛两面针按常法水蒸汽蒸馏, 馏出液用少量乙醚多次萃取, 经无水硫酸钠干燥, 旋转蒸发蒸去乙醚后, 得到无色的具有刺鼻气味的挥发油, 得油率 0.38%。

收稿日期: 2004-11-08 修回日期: 2005-05-20

基金项目: 国家自然科学基金(20361002); 广西青年基金(桂青科 0229023); 广西师范大学重点项目资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China(20361002); Science Foundation for Youth of Guangxi(0229023); Key Item of Guangxi Normal University].

作者简介: 王恒山(1965-), 男, 浙江温州人, 博士, 教授, 从事天然有机化学、有机合成和有机分析等研究。

2 结果与讨论

2.1 成分鉴定

数据处理用 LAB-BASE 系统,各分离组分峰的质谱数据,通过 NIH-MS-DC 计算机谱库进行检索,对各质谱图加以确定,通过对毛两面针挥发油的 GC-

MS 分析,将打出峰号的 20 种化合物进行归一化(近似计算),计算出这些化合物的相对含量(表 1),鉴定了其中的 20 种化学成分,占挥发油的 45.72%。并对未鉴定的峰所对应的化合物类型作出推测。

2.2 结果与讨论

对鉴定出来的 20 种成分进行归类分析,发现毛两面针挥发油中主要以倍半萜为主,占挥发油总量

表 1 毛两面针的挥发油成分

Table 1 The compound of volatile oil from the roots of *Zanthoxylum nitidum* var. *fastuosum*

序号 No.	化合物名称 Name of compounds	分子式 Formula	分子量 MW	百分含量 Content(%)	保留时间 RRT(min)
1	Hexanal(己醇)	C ₆ H ₁₂ O	100	0.60	5.11
2	1-Hexanol(1-己醇)	C ₆ H ₁₄ O	102	1.12	8.46
3	β-Elemene(β-榄香烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	2.07	9.91
4	α-Bergamotene(α-佛手柑油烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.98	11.15
5	4,11,11-Trimethyl-8-methyl, Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene (4.11.11-三甲基-8-甲基-二环[7.2.0]十一-4-烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.60	11.37
6	α-Caryophyllen(α-石竹烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.42	12.11
7	Germaxrene D(大根香叶烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	1.44	12.50
8	Unknown(推测为烯类化合物)			1.28	12.61
9	1-(1,5-Dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-Benzene(1-(1,5-二甲基-4-己烯基)-4-甲苯)	C ₁₅ H ₂₂	202	0.80	13.02
10	γ-Elemene(γ-榄香烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	1.75	13.67
11	Unknown(推测为烯类化合物)			1.12	14.04
12	Unknown(推测为烯类化合物)			1.54	14.92
13	Caryophyllene oxide(氧化石竹烯)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1.47	15.12
14	Isoaromadendrene epoxide(异香橙烯)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1.37	15.32
15	Elemol(橄榄醇)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	4.46	15.91
16	1,2,3,4,5,6,7,8-Octahydro-α,α,3,8-tetramethyl-5-azulenemethanol(1,2,3,4,5,6,7,8-八氢-α,α,3,8-四甲基-5-甘菊环甲醇)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	3.58	16.03
17	Decahydro-1,1,7-trimethyl-1H-Cycloprop[c]azulen-7-ol(1,1,7-三甲基-1H-十氢环丙[c]-甘菊环-7-醇)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	2.28	16.47
18	β-Bisabolol(比萨波醇)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	2.53	16.76
19	Unknown(推测为醇类化合物)			1.39	16.95
20	2-Methoxy-4-vinylphenol(2-甲氧基-4-乙烯苯酚)	C ₉ H ₁₀ O	150	2.07	17.44
21	1,2,3,3a,4,5,6,7,-Octahydro-α,α,3,8-tetramethyl-5-azulenemethanol(1,2,3,3a,4,5,6,7,-八氢-α,α,3,8-四甲基-5-甘菊环甲醇)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	1.58	17.59
22	β-Eudesmol(β-桉油醇)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	3.12	17.96
23	(-)-Spathulenol((-)-斯巴醇)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	12.53	18.37
24	α,α,4-Trimethyl-benzanemethanol(α,α,4-三甲基-苯甲醇)	C ₁₀ H ₁₄ O	150	1.05	19.01
25	Unknown(推测为含羟基类化合物)			1.52	19.84
26	Unknown(推测为含羟基类化合物)			1.97	20.44
27	Unknown(推测为含羟基类化合物)			3.06	20.95
28	Unknown(推测为含羟基类化合物)			2.86	24.83
29	Unknown(推测为含羟基类化合物)			1.60	26.00

的 21.34%。表 1 结果表明,毛两面针挥发油中主要成分是 (-)-spathulenol (斯巴醇, 相对含量 12.53%), (-)-spathulenol 有中等抗真菌活性(程永现等, 2002), 而 α-Caryophyllen(α-石竹烯, 0.42%)有一定的平喘作用, 是治疗老年慢性支气管炎的有效成分之一(国家医药管理局中草药情报中心站, 1986), γ-Elemene(γ-榄香烯, 1.75%)对肿瘤有抑制作用, 理学及临床研究证明, γ-Elemene 是一

种疗效确切的非细胞毒性抗肿瘤药物, 具有良好的抗癌活性, 且其抗癌作用还有一定的特异性(陈晓等, 2003)。另外, 石竹烯、大根香叶烯广泛应用于香料食品工业和药物合成的重要中间体(阎建辉等, 2003)。综上所述, 毛两面针是一种有多种用途的植物, 而且是一种资源丰富的植物, 可以进一步进行开发利用。

(下转第 87 页 Continue on page 87)

2 实验结果及讨论

2.1 CaM 在水稻花药中的定位

在花药的花粉壁(图 1)、花药壁(图 2)、花粉细胞核(图 3)等处均能见到有胶体金颗粒的分布,其中绒毡层细胞有较多的胶体金分布(图 2),绒毡层在花药的整个发育过程中处于非常活跃的状态,通过绒毡层的解体提供给花粉发育所需的大量物质(Pacini 等, 1985),估计绒毡层细胞中 CaM 分布较多与此有着密切的关系。在花粉发育的单核期花粉内壁没有形成,在花粉外壁及花粉的细胞质中也含有较多的胶体金(图 1)。图 4 为对照,不见胶体金的分布。

2.2 标记过程对 CaM 标记的影响

钙调素是一种热稳定性蛋白,因此用 Epon812 包埋样品可以获得较好的特异性标记物,这曾被李家旭等人(1989)证实。我们主要对标记过程中的温度及时间的选择上做了一些比较研究,结果表明:(1)10% H₂O₂ 的处理时间:比较不同的样品处理时间和 H₂O₂ 浓度,发现用 10% 的 H₂O₂ 处理 5~10 min 即能得到较好的效果,H₂O₂ 处理时间过长或浓度过高会影响细胞的超微结构。(2)抗体标记过程中标记的温度、时间直接影响抗体标记的特异性与标记效果:我们比较了 30、37 °C 下分别标记 1、2、2.5、4 h 抗体标记特异性,30 °C 下标记 1~2 h 即可达到较好的特异性标记,标记温度不宜太高,标记时间超过 2 h 后标记密度基本没有增加,故标记时间达到 2 h 即可。(3)在胶体金免疫标记之前于 30 °C 用阻断液阻断 30~60 min 可有效的防止非特异性的标记。(4)染色时间:我们通过多次的实验发现 2% 的醋酸双氧铀染色 60 min,及 6% 的柠檬酸铅染

色 10 min 能够达到较好的细胞染色效果,细胞结构反差适度且不影响胶体金颗粒的观察。

参考文献:

- Fu Y(傅 纛),Chen YF(陈以峰),Liang SP(梁世平),*et al.* 1998. Immuno-localization of calmodulin in unfertilized and fertilized embryo sacs in *Nicotiana tabacum* var. *macrophylla*(烟草受精前后胚囊中钙调素的免疫细胞化学定位)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报),**40**(8):683-687.
- Li JX(李家旭),Liu JW(刘杰文),Sun DY(孙大业). 1989. Localization of calmodulin in corn root tip cells by protein A-Gold immunoelectron microscopy(玉米根尖细胞内钙调素的胶体金免疫电镜研究)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通报),**6**:44-45.
- Li JX(李家旭),Liu JW(刘杰文),Sun DY(孙大业). 1992. The protein A-Gold labelling technique of calmodulin in plant cells(植物钙调素的免疫金标记电镜技术)[J]. *J Chinese Electron Microscopy Societ*(电子显微学报),**11**(2):100-103.
- Pacini E, Franchi GG. 1985. The tapetum; its form, foundation, and possible phylogeny in Embryophyta[J]. *Plant Syst Evol*,**149**:155-185.
- Raymond EZ. 1998. Calmodulin and calmodulin-binding proteins in plants[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*,**49**:697-725.
- Wayne AS, Hillel F. 1998. Calmodulin, calmodulin-related proteins and plant responses to the environment[J]. *Trends in Plant Science*,**3**(8):298-303.
- Yang J(杨 军),Zhao J(赵 洁),Liang SP(梁世平),*et al.* 2002. Changes of calmodulin distribution in the embryo sac *Oryza sativa* before and after fertilization; an immunogold electron microscope study(水稻受精前后胚囊内钙调素分布的变化:免疫金电镜观察)[J]. *Act Bot Sin*(植物学报),**44**:246-272.
- Zhao J(赵 洁),Zhou C(周 嫦),Yang HY(杨弘远). 1998. Distribution of membrane-bound calcium and actived calmodulin in isolated zygotes and young embryos of *Triticum aestivum*(小麦分离合子与幼胚中膜钙和钙调素的分布)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报),**40**(1):28-32.

(上接第 106 页 Continue from page 106)

参考文献:

- 中国科学院中国植物志编辑委员会. 1997. 《中国植物志》第四十三卷第二分册[M]. 北京:科学出版社,第 1 版,16.
- 国家医药管理局中草药情报中心站. 1986. 植物有效成分手册[M]. 北京:人民卫生出版社,182-183.
- 温尚开. 1991. 两面针及其伪品的比较鉴别[J]. *时珍国药研究*,**2**(1):20-22.
- Cheng YX(程永现),Lei ML(雷茂林),Zhou J(周 俊). 2002. Sesquiterpenoids from *Michelia lacei* and their chemotaxonomic significanxe(壮丽含笑中的倍半萜成分及其化学分类学意义)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究),**24**

(1):129-132.

- Chen X(陈 晓),Wei FX(魏福祥),Qu YH(瞿延辉). 2003. Development in the study of elemenc-the active of principle of *Rhizoma curcumae*(莪术中有效成分——榄香烯的研究进展)[J]. *Hebei Chemical Engineering and Industry*(河北化工),**(6)**:9-13.
- Yan JH(阎建辉),Tang KW(唐课文),Xu Y(许 友),*et al.* 2003. Analysis of chemical component of volatile oil from *Zanthoxylum bugeanum* Maxim by GC/MS(GC/MS 法分析花椒挥发油的化学成分)[J]. *J Chin Mass Spectrometry Society*(质谱学报),**24**(2):326-331.