

蝴蝶果花、叶挥发油的化学成分

苏秀芳^{1,2}, 林强^{1*}, 梁振益¹

(1. 海南大学 理工学院, 海口 570228; 2. 南宁师范高等专科学校 化学与生物工程系, 广西 龙州 532400)

摘要: 采用水蒸汽蒸馏法从大戟科蝴蝶果花、叶中提取挥发油, 用气相色谱-质谱联用技术对挥发油化学成分进行分析, 并应用面积归一化法测定各成分的相对百分含量。从花中鉴定出 10 种化合物, 占总油量的 96.90%, 其主要成分为十六烷酸(59.89%)、(Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸(13.82%)、(Z,Z,Z)-9,12,15-十八碳三烯-1-醇(6.58%)及双(2-乙基)邻苯二甲酸酯(5.59%)。从叶中鉴定出 10 种化合物, 占总油量的 45.26%, 主要成分为邻苯二甲酸二乙酯(19.64%)、二丁基羟基甲苯(10.58%)、十六烷酸(3.70%)及苯甲酸(3.46%)。

关键词: 蝴蝶果; 挥发油; 气相色谱-质谱联用技术

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2008)03-0424-03

Chemical constituents of volatile oils from flower and leaf of *Cleidiocarpon cavaleriei*

SU Xiu-Fang^{1,2}, LIN Qiang^{1*}, LIANG Zhen-Yi¹

(1. College of Science and Technology, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Department of Chemistry and Biological Engineering, Nanning Normal High School, Longzhou 532400, China)

Abstract: The volatile oils extracted from the flower and leaf of *Cleidiocarpon cavaleriei* were analyzed by GC-MS for the first time. The relative contents were determined by area normalization. 10 compounds were identified, which accounted for over 96.90% of the volatile oil of the flowers. The major compositions were n-Hexadecanoic acid(59.89%), (Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid(13.82%), (Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrien-1-ol(6.58%), Bis(2-)phthalate(5.59%). 10 compounds were identified, which accounted for over 45.26% of the essential oil of the leaves. The major compositions were Diethyl phthalate(19.64%), Butylated hydroxytoluene(10.58%), n-Hexadecanoic acid(3.70%) and Benzoic acid(3.46%).

Key words: *Cleidiocarpon cavaleriei*; volatile oil; GC-MS

蝴蝶果(*Cleidiocarpon cavaleriei*)为大戟科蝴蝶果属植物,常绿乔木,高达15~30 m。本属有2种,分布于缅甸、泰国、越南和中国(傅立国等,2001)。中国1种,分布于广西西南、西部及西北部、贵州南部、云南东南部、生于海拔150~1000 m石灰岩山地常绿林中(傅立国等,2001)。蝴蝶果为稀有种,是一种粮油兼用的经济树木,由于具有较高的经济价值而被人们过度砍伐,导致种群急剧下降,资源近于枯竭,1987年被国家列为珍稀濒危三类保护

植物(傅立国,1991)。蝴蝶果生长快,产果量高,适应性广,无论土山、石灰岩地区都能栽植,由于其枝叶浓绿,树形美观,是城镇绿化的好树种(刘敏学等,2006)。其果实营养丰富,种子含油率高,达33%~39%,油中含有较多的不饱和酸,主要为油酸、亚油酸、亚麻酸等,为优质食用油,蝴蝶果已成为油料的补充来源(傅立国,1991;张大昕等,1981)。有关蝴蝶果花、叶的化学成分研究尚未见有报道,作者曾采用水蒸气蒸馏法从蝴蝶果茎中提取挥发油,发现其

收稿日期: 2006-12-21 修回日期: 2007-08-13

作者简介: 苏秀芳(1971-),女,广西扶绥县人,讲师,在读硕士,研究方向为天然产物的研究与开发。

* 通讯作者(Author for correspondence)

含有丰富的挥发性成分(苏秀芳等,2007)。为了开发稀有植物蝴蝶果的资源,促进其在工业等领域的充分利用,本文采用水蒸气蒸馏法从蝴蝶果花、叶中提取挥发油,利用气相色谱-质谱联用技术对其化学成分进行研究,并确定了各成分的相对百分含量。

1 实验

1.1 样品、仪器与试剂

样品:蝴蝶果(*Cleidiocarpon cavaleriei*)花、叶的样品采自广西龙州县城的南宁师范高等专科学校校园内,并由该校植物分类学黄秋婵老师鉴定;仪器:毛细管气相色谱-质谱联用仪(HP5973MSD,美国 Hewlett-Packard 公司);试剂:无水乙醚、无水 Na_2SO_4 均为分析纯。

1.2 挥发油的提取

将阴干的蝴蝶果花及新鲜的蝴蝶果叶,各称取 8 g、100 g;水蒸气蒸馏 6 h,当馏出液由浑浊变为澄清时,说明挥发油已基本提取完全,得馏出液分别为 1 050 mL、905 mL,用 50 mL 无水乙醚萃取 3 次,合并萃取液,加入少量无水 Na_2SO_4 干燥 12 h。过滤,所得滤液减压蒸馏,浓缩液在室温挥发尽乙醚后,得淡黄色油状物,具有特殊香味,得油率分别为 0.80%、0.05%(卢艳花,2005)。

1.3 气相色谱-质谱联用条件

气相色谱条件:石英毛细管柱 HP-FFAP(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm),程序升温:从 50 $^{\circ}\text{C}$ 开始,以 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到 150 $^{\circ}\text{C}$,再以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到 250 $^{\circ}\text{C}$,载气为 He,柱流量 1.0 mL/min,进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$,分流 50:1。质谱条件:EI 源;电离电压 70 eV,离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$,扫描范围 40~500 aum,进样量 1.0 μL (梁振益等,2003)。

2 结果与讨论

按以上条件对蝴蝶果花、叶挥发油化学成分进行 GC-MS 分析。经计算机检索 KIST 98 和 WILEY 275 图谱库,并且与标准图谱对照,从中鉴定出多种挥发性成分,用面积归一化法测得各组分相对质量百分含量。蝴蝶果花、叶挥发性成分总离子流图分别见图 1、2,成分及相对含量分别见表 1、2。

蝴蝶果花挥发油含量很丰富,得油率 0.80%。从花中鉴定出 10 种成分,占总挥发油量的 96.90%,

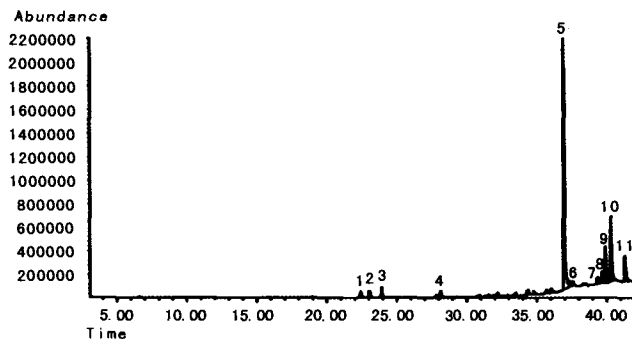


图 1 蝴蝶果花挥发油总离子流图
Fig. 1 The gas chromatogram of volatile oil from flower of *Cleidiocarpon cavaleriei*

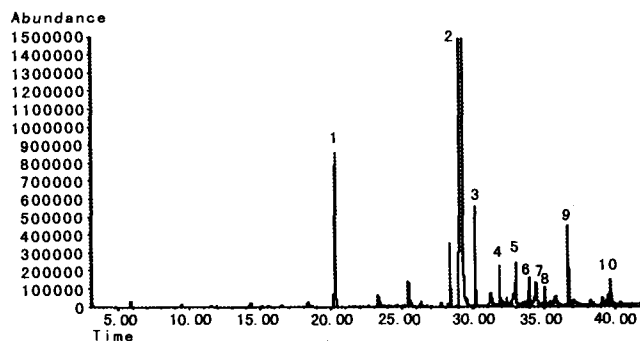


图 2 蝴蝶果叶挥发油总离子流图
Fig. 2 The gas chromatogram of volatile oil from leaf of *Cleidiocarpon cavaleriei*

主要成分为十六烷酸、(Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸、(Z,Z,Z)-9,12,15-十八碳三烯-1-醇及双(2-乙基)邻苯二甲酸酯。其中十六烷酸含量最高,达 59.89%。十六烷酸俗称棕榈酸,是合成棕榈酸异丙酯、棕榈酸异辛酯的基本原料。棕榈酸异丙酯、棕榈酸异辛酯具有与皮肤相容性好、滋润皮肤、渗透能力强等优点,广泛用于各种人体护肤品中(刘学民,2004;殷树梅等,2001)。因此,化妆品行业对十六烷酸的需求量很大,可考虑从蝴蝶果花挥发油中提取。另外,十六烷酸具抗肿瘤活性,在高浓度时能将小鼠乳腺癌 tsFT210 细胞的细胞周期抑制在 G2/M 期并诱发 tsFT210 细胞发生凋亡(刘睿等,2005)。蝴蝶果花挥发油还含较高的不饱和脂肪酸,其营养价值较高。

从叶中鉴定出 10 种化合物,占总挥发油量的 45.26%,主要成分为邻苯二甲酸二乙酯、二丁基甲基苯及十六烷酸。邻苯二甲酸酯类是常用的增塑剂,在蝴蝶果叶挥发油中含量较高,达 22.21%;二丁基甲基苯俗称 BHT,是常用的食品抗氧化剂,

在蝴蝶果叶挥发油中含量也较丰富;蝴蝶果叶挥发油还含叶绿醇,是一种不饱和的高碳醇,是合成维生素E和维生素K的原料,在人体内易代谢,且具降低胆固醇的作用,能阻碍动物性胆固醇被人体吸收,

近年来被称作血管清道夫(朱俊洁等,2005)。四氢异喹啉类化合物具有抗真菌活性,在叶挥发油中少量存在。另外,蝴蝶果叶挥发油还含防腐剂苯甲酸及其酯类。

表1 蝴蝶果花挥发油成分及相对含量

Table 1 The constituents and relative contents in the volatile oil from the flower of *Cleidiocarpum cavaleriei*

峰号 Peak No.	化合物名称 Compounds	分子式 Molecular formula	分子量 M. W	相对含量 Relative content(%)	保留时间 Retention time(min)	匹配度 Matching degree(%)
1	2,4-Dimethyl-2,4-heptadienal 2,4-二甲基-2,4-庚二烯醛	C ₉ H ₁₄ O	138.10	1.70	22.43	92
2	3-Methyl-, (2-endo,3-exo)- bicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxaldehyde	C ₉ H ₁₄ O	138.10	2.68	23.05	96
3	[S-(Z)]-3,7,11-Trimethyl-, 1,6,10-dodecatrien-3-ol[S-(Z)]-3,7,11-三甲基-1,6,10-十二碳三烯-3-醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222.20	2.24	23.94	95
4	Hexadecanoic acid, ethyl ester 十六烷酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.27	1.24	28.14	85
5	n-Hexadecanoic acid 十六烷酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.24	59.89	36.97	98
6	1-(2-Methoxyethoxy)- butane 1-(2-甲氧基乙氧基)丁烷	C ₇ H ₁₆ O ₂	132.12	1.46	37.38	86
7	Octadecanoic acid 十八烷酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.27	1.69	39.36	90
8	Not identified			3.10	39.69	
9	Bis(2-ethylhexyl) phthalate 双(2-乙基)邻苯二甲酸酯	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390.28	5.59	39.94	95
10	(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid(Z,Z)- 9,12-十八碳二烯酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.24	13.82	40.34	98
11	(Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrien-1-ol(Z,Z,Z)-9,12,15-十八碳三烯-1-醇	C ₁₈ H ₃₂ O	264.25	6.58	41.33	96

表2 蝴蝶果叶挥发油成分及相对含量

Table 2 The constituents and relative contents in the volatile oil from the leaf of *C. cavaleriei*

峰号 Peak No.	化合物名称 Compounds	分子式 Molecular formula	分子量 M. W	相对含量 Relative content(%)	保留时间 Retention time(min)	匹配度 Matching degree(%)
1	Butylated hydroxytoluene 二丁基羟基甲苯	C ₁₅ H ₂₄ O	220.18	10.58	20.29	98
2	Diethyl phthalate 邻苯二甲酸二乙酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	222.09	9.64	29.09	98
3	Benzoic acid 苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₂	122.04	3.46	30.17	97
4	Dibutyl phthalate 邻苯二甲酸二丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.15	1.46	31.87	90
5	Phytol 叶绿醇	C ₂₀ H ₄₀ O	296.31	1.93	33.02	96
6	1,2-Benzenedicarboxylic acid, dipropyl ester 1,2-苯二羧酸二丙基酯	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	250.12	1.08	33.95	86
7	2-Methyl-, 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6,7-diol 2-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉-6,7-二醇	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	179.10	1.68	34.42	90
8	Benzoic acid, 2-hydroxy-, phenylmethyl ester 苯甲酸-2-羟基苯甲酯	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228.08	0.62	35.02	82
9	n-Hexadecanoic acid 十六烷酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.24	3.70	36.70	93
10	Bis(2-ethylhexyl) phthalate 双(2-乙基己基)邻苯二甲酸酯	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390.28	1.11	39.67	92

通过分析鉴定可知,蝴蝶果花、叶挥发油中含有丰富的工业原料和活性成分。虽然蝴蝶果物种资源量较少,但其具有生长快、产果量高、适应性广等特点,因此具有应用开发的潜力,应重视对该植物进行研究与开发。

参考文献:

- 卢艳花. 2005. 中药有效成分提取分离技术[M]. 北京:化学工业出版社:8
傅立国. 1991. 中国植物红皮书——稀有濒危植物(第1册)[M]. 北京:科学出版社:288
傅立国,陈潭青,郎楷永,等. 2001. 中国高等植物(第8册)[M]. 青岛:青岛出版社:87-88
Liang ZY(梁振益), Luo SX(罗盛旭), Feng YH(冯玉红). 2003.

Study of chemical constituents of the essential oil from *Camellia sinensis*(茶树挥发油化学成分的研究)[J]. *Nat Pro Res Develop*(天然产物研究与开发), 15(5):423-425

- Liu MX(刘敏学), Zhang HL(张海林), Zhang X(张祥). 2006. Technology of fertility on planting *Cleidiocarpum cavaleriei*(蝴蝶果栽培丰产技术)[J]. *Forest By-Product and Speciality in China*(中国林副特产), (4):70
Liu R(刘睿), Gu QQ(顾谦群), Cui CB(崔承彬). 2005. Chemical constituents of *Schefflera venulosa* and their antitumor activities(密脉鹅掌柴的化学成分及其抗肿瘤活性)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药), 36(3):328-332
Liu XM(刘学民). 2004. Synthesis of isopropyl palmitate(棕榈酸异丙酯的合成)[J]. *Flavour Fragrance Cosmetics*(香料香精化妆品), (6):14-16

(下转第389页 Continue on page 389)

Bank 同源性搜索获得的 18 种植物的 HMGR 氨基酸序列进行了系统发育分析, 通过 MEGA3.1 软件用 Neighbor-joining 方法构建系统发育树, 按自展法(bootstrap)运行 1 000 次, 结果显示播娘蒿和拟南芥(NP_177775)亲缘关系最近, 它们最先与萝卜(CAA48610)聚在一起, 然后与杜仲(AAV54051)、穿心莲(AAP14352)和胡黄连(ABC74565)聚类合并, 再与苜蓿(ABE88827)、万寿菊(AAC15475)、喜树(AAB69726)、野生烟草(AAO85554)、烟草(AAL54878)、美花烟草(CAA45181)、马铃薯(Q41437)、番茄(AAB62581)、龙胆草(BAE92730)、苹果(AAK95406)、陆地棉(AAC05089)及橡胶树(AAU08214)聚类。

3 讨论

本实验首次从播娘蒿中扩增出甲羟戊酸途径的关键酶基因 *hmgr* 的保守区序列, 通过同源性比较、保守性区域比较以及蛋白特征性位点分析, 发现与已报道的 HMGR 蛋白特性很相似, 因此可推断克隆得到的片段就是播娘蒿 HMGR 的 cDNA 片段。

RACE 技术是近年来发展较成熟的一种 cDNA 末端快速扩增技术, 其原理是利用全长 cDNA 中间部分已知序列通过 PCR 技术扩增出 cDNA 3' 端和 5' 端。它具有快捷, 方便和高效等特点。本实验已通过 RACE 试剂盒得到了播娘蒿叶的 5' RACE cDNA, 并通过兼并引物获得了播娘蒿 HMGR 的 cDNA 的保守区片段, 这为克隆播娘蒿 HMGR 的全长基因进而利用基因工程技术提高播娘蒿中的有效化学成分的研究和应用奠定了坚实的基础。

参考文献:

国家药典委员会. 2000. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学

工业出版社; 274

- Eisenreich W, Schwarz M, Cartayrade A, et al. 1998. The deoxyxylulose phosphate pathway of terpenoid biosynthesis in plants and microorganisms[J]. *Chem Biol*, **5**: R221
- Hulo N, Bairoch A, Bulliard V, et al. 2006. The PROSITE database[J]. *Nucleic Acids Res*, **34**: 227—230
- Jiang JH, Kai GY, Cao XY, et al. 2006. Molecular cloning of a HMG-CoA reductase gene from *Eucommia ulmoides* Oliver[J]. *Biosci Rep*, **62**(2): 171—181
- Kato-Emori S, Higashi K, Hosoya K, et al. 2001. Cloning and characterization of the gene encoding 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in melon (*Cucumis melo* L. reticulatus) [J]. *Mol Genet Genomics*, **265**: 135—142
- Kumar S, Tamura K, Nei M. 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment[J]. *Briefings in Bioinformatics*, **5**: 150—163
- Li R(李嵘), Wang ZZ(王喆之). 2006. A bioinformatics analysis on 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA Reductase, a key enzyme in plant Isoprenoid biosynthesis (植物萜类合成酶 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶的生物信息学分析)[J]. *Guihaia*(广西植物), **26**(5): 464—473
- Liao ZH, Tan QM, Chai YY, et al. 2004. Cloning and characterization of the gene encoding HMG-CoA reductase from *Taxus media* and its functional identification in yeast[J]. *Functional Plant Biol*, **31**: 73—81
- Lichtenthaler H K. 1999. The 1-deoxyxylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **50**: 47
- Newman JD, Chappell J. 1999. Isoprenoid biosynthesis in plants: carbon partitioning within the cytoplasmic pathway[J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, **34**: 95
- Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. *Nucleic Acids Res*, **24**: 4 876—4 882
- Wang XF(王新芳), Dong Y(董岩), Liu HL(刘洪玲). 2005. A study on chemical constituents of the essential oil from *Descurainia sophia* by GC-MS(播娘蒿挥发油化学成分的 GC-MS 研究)[J]. *Shandong J Trad Chin Med*(山东中医杂志), **24**(2): 112—114

(上接第 426 页 Continue from page 426)

- Su XF(苏秀芳), Lin Q(林强), Liang ZY(梁振益), et al. 2007. Study on the chemical constituents of essential oil from stems of *Cleidiocarpon cavaleriei*(蝴蝶果茎挥发油化学成分的研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **27**(5): 766—769
- Yin SM(殷树梅), Li ZF(李再峰), Yue BT(岳堡泰). 2001. Synthesis of iso-octyl palmitate(棕榈酸异辛酯的合成)[J]. *Chemical World*(化学世界), **42**(3): 146—147
- Zhang DX(张大昕), Jin GZ(金桂贞), Wang CR(王春荣). 1981.

- Study of wild plant oils-fatty acids compositions and acute toxicity trial(野生油料植物的调查和油的脂肪酸组成及其急性毒性实验)[J]. *Acta Nut Sin*(营养学报), **3**(4): 233—238
- Zhu JJ(朱俊洁), Meng XY(孟祥颖), Wu Y(乌垠). 2005. Analysis of the essential oils from fruits, stems, leaves, barks and trunk cores of *Prunus padns*(稠李果、茎、叶、皮及树干挥发油化学成分的分析)[J]. *Chin J Anal Chem*(分析化学研究简报), **33**(11): 1 615—1 618