

文章编号: 1000-3142(2000)02-0181-04

竹叶楠叶挥发油的化学成分与抗真菌活性研究

杨得坡¹, 王发松¹, 张宏达¹, 任三香² ✓

Q949.747.5

Q949.96

(1. 中山大学生命科学学院, 广东广州 510275; 2. 中山大学测试中心, 广东广州 510275)

摘要: 利用 GC-MS 联用技术从竹叶楠 (*Phoebe faberi*) 叶挥发油中鉴定了 26 个萜类化合物, 如 (Z)-(R)-(+) -3, 7, 11-三甲基-1, 6, 10-十二碳三烯-3-醇 (相对含量 39.34%), β -丁香烯 (29.18%), 姜烯 (5.16%) 和氧化丁香烯 (4.21%)。该挥发油具有一定的体外抗真菌活性, 在培养基油浓度小于 2.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 的情况下, 能够完全抑制新型隐球菌、申克氏孢子丝菌、羊毛状小孢子菌、石膏样小孢子菌和球毛壳霉等皮肤真菌的生长繁殖。

关键词: 竹叶楠; 挥发油; 气相色谱-质谱联用; 抗真菌活性; 化学成分; GC-MS
中图分类号: Q949.747.506 文献标识码: A

Chemical constituents and antifungal activities of essential oil from leaves of *Phoebe faberi*YANG De-po¹, WANG Fa-song¹, ZHANG Hong-da¹, REN San-xiang²

(1. School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China; 2. Instrumentation Analysis & Research Center, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The 26 terpenoids in the essential oil extracted from the leaves of *Phoebe faberi* have been identified by GC-MS technique, such as (Z)-S-(+) -3, 7, 11-trimethyl-1, 6, 10-dodecatrien-3-ol (39.34%), β -caryophyllene (29.18%), (-)-zingiberene (5.16%) and caryophyllene oxide (4.21%). *In vitro* this oil showed a better antifungal activities, under the concentration of 2.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ in media it could totally inhibit the growth of *Cryptococcus neoformans*, *Sporothrix schenckii*, *Microsporum lanosum*, *M. Gypseum* and *Chaetomium globosum*.

Key words: *Phoebe faberi*; essential oil; GC-MS; antifungal

竹叶楠 (*Phoebe faberi* Chun) 为樟科楠属常绿乔木, 主要分布于陕西、四川、湖北、贵州及云南, 多见于海拔 800~1 500 m 的阔叶林中, 目前仅用其木材供建筑或家具。现有文献除植物分类学记载外^[1], 没有其化学、药理或资源利用等方面的研究报告。为此, 我们进行了竹叶楠叶挥发油的成分分析与体外抗真菌研究, 该项工作对于筛选抗真菌新药以及开发利用我国丰富的芳香油植物资源等均具有重要的现实意义和理论价值。

收稿日期: 1999-02-11

作者简介: 杨得坡 (1962-), 男, 中山大学药理学系副教授, 法国药学博士, 生药学专业。

基金项目: 广东省自然科学基金《从植物中提取抗真菌药物的研究》(A831) 资助课题

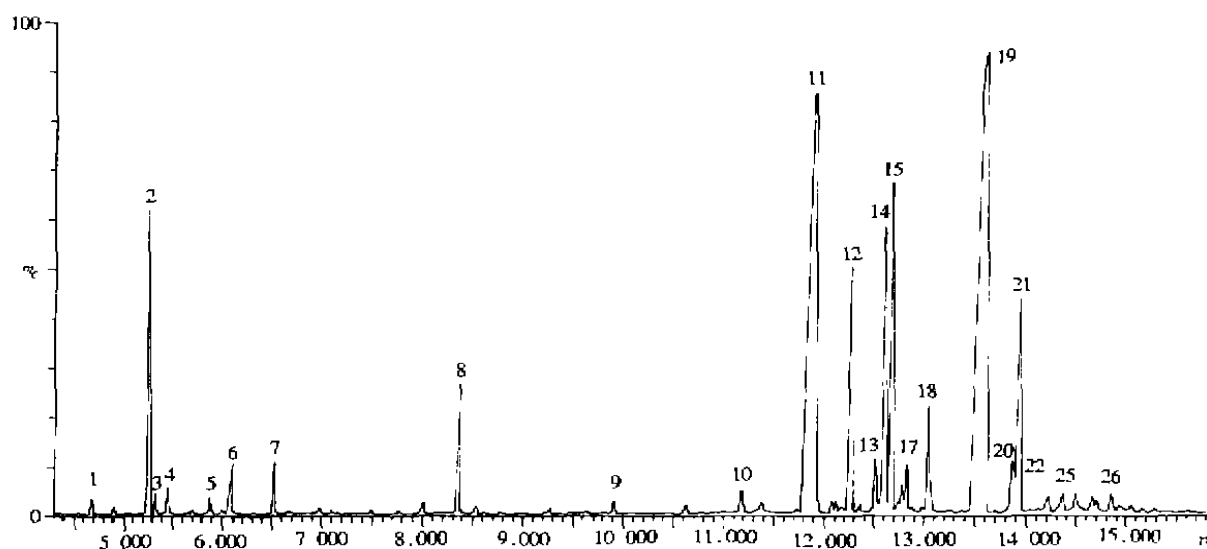


图1 竹叶楠叶挥发油化学成分的总离子流图

Fig. 1 Diagram of ion current of essential oil extracted from leaves of *Phoebe faberi*

表1 竹叶楠叶挥发油的化学成分

Table 1 The chemical constituents in the essential oil extracted from the leaves of *Phoebe faberi*

峰号 No. of peak	化合物 Compound	分子式 Molecular for mula	分子量 Molecular weight	相对含量 Relative content
1	3,6,6-trimethyl-2-norpiene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.24
2	β -phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	136	3.77
3	β -pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.25
4	β -myrcene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.33
5	α -terpinen	C ₁₀ H ₁₄	136	0.24
6	α -phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	136	1.89
7	δ -terpinen	C ₁₀ H ₁₆	136	0.68
8	(R)-(-)-p-menth-1-en-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.84
9	isobornyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	0.20
10	copaene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.31
11	β -caryophyllene + isocaryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	29.18
12	α -caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	3.21
13	2-methyl-6-p-tyl-2-heptene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.81
14	octahydro-7-methyl-3-methylene-4-(1-methylethyl)-1H-cyclopenta[1,3] cyclopropa[1,2]benzene	C ₁₅ H ₂₄	204	3.92
15	(-)-zingiberene	C ₁₅ H ₂₄	204	5.16
16	germacrene B	C ₁₅ H ₂₄	204	0.33
17	(S)-(-)-6-methyl-2-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl)-1,5-heptadiene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.57
18	(Z)- α -farnesene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.76
19	(Z)-S-(+)-3,7,11-trimethyl-1,6,10-dodecatrien-3-ol + n-trans-nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	35.34
20	1 α R-(1 $\alpha\alpha$, 4 $\alpha\alpha$, 7 β)-decahydro-1,1,7-trimethylene-1H-cycloprop[ϵ]azulen-7-ol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1.04
21	caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1.21
22	1R-(1R, 3E, 7E, 11R)-1,5,5,8-tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3, 7-diene	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.29
23	4,4-dimethyltricyclo[6.3.2.0(2,5)]trideca-8-en-1-ol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.34
24	6-(3-methyl-3-cyclohexenyl)-2-methyl-2,6-heptadienol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.56
25	1 α -cadin-4-en-10-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.22
26	1 α R-(1 α R, 4 β , 4 $\alpha\beta$, 7 α)-decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-1H-cycloprop[ϵ] azulen-4-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.32

1 实验材料与分析条件

1.1 样品来源及挥发油的提取

竹叶楠 (*Ph. faberi*) 叶于1998年8月采自湖北巴东。阴干后粉碎,用水蒸气蒸馏法得橙黄色挥发油,出油率0.4% (v/w)。

1.2 仪器及条件

分析在美国 Finnigan Voyager GC-MS 仪上进行,色谱柱 SE-54 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm),载气为氮气,流速1 mL/min;柱初温60 °C,程序升温10 °C/min,终温280 °C;电离方式 EI,电离能70 eV,离子源温度220 °C,扫描范围35~450 u;进样量0.2 μL,分流比10:1,标准谱库为美国 LIBTX 和 NIST 谱库,相对含量(%)的确定为面积归一化法。

1.3 供试真菌菌株与药物敏感实验

5种皮肤真菌为从患者身上直接分离的野生菌株,5种霉菌为保存的标准菌株,这些菌株多为皮肤真菌病的致病菌或为条件致病菌,其敏感性对筛选新药或天然防霉剂有重要指导意义^[2]。所有菌种培养于含0.05%氯霉素的萨氏培养基,在该培养基上,能够完全抑制真菌生长的最小药物(挥发油)浓度为该真菌的最小抑制浓度(Minimum Inhibitory Concentration,简称 MIC),其测定方法依据参考文献[3],其实验条件(时间、温度)、结果以及供试真菌的名称和编号如表2所示。

2 结果与讨论

从竹叶楠叶挥发油中鉴定了26个相对含量大于2.0%的化学成分,见图1和表1,这些化合物均为萜类或其衍生物,包括了单萜类9种,占总含量8.4%,倍半萜类17种,占91.6%。其中比较重要的依次是:S-(Z)-3,7,11-三甲基-1,6,10-十二碳三烯-3-醇(S-(Z)-3,7,11-trimethyl-1,6,10-dodecatrien-3-ol,峰19,39.34%),β-丁香烯(caryophyllene,峰11,29.18%),姜烯((-)-zingiberene,峰15,5.16%),氧化丁香烯(caryophyllene oxide,峰21,4.21%),β-水芹烯(β-phellandrene,峰2,3.77%)和α-丁香烯(α-caryophyllene,峰12,3.21%)等。另外,峰11和峰19分别为两种异构体的混合峰,它们是β-丁香烯与异丁香烯(isocaryophyllene),以及S-(Z)-(+)3,7,11-三甲基-1,6,10-十二碳三烯-3-醇与正-反式-橙花椒醇(n-trans-nerolidol)。

2.2 抗真菌活性

由表2可以看出,竹叶楠叶挥发油在培养基油浓度小于2.0 μL/mL的情况下,对两种深部真菌(新型隐球菌、申克氏孢子丝菌)、2种浅表层皮肤真菌(羊毛状小孢子菌、石膏样小孢

表2 竹叶楠叶挥发油对十种供试真菌的最低抑制浓度
Table 2 The MICs of the essential oil from *Phoebe faberi* against ten fungi

菌种名称 Species	培养条件(°C,d) Culture conditans	MIC (μL mL)
皮肤真菌		
新型隐球菌 <i>Cryptococcus neoformans</i>	17 °C, 2 d	0.5
申克氏孢子丝菌 <i>Sporothrix schenckii</i>	28 °C, 3 d	1.5
白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>	28 °C, 2d	2.0
羊毛状小孢子菌 <i>Microsporum lanosum</i>	28 °C, 6 d	2.0
石膏样小孢子菌 <i>M. gypsum</i>	28 °C, 6 d	1.5
污染霉菌(或条件致病菌)		
黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i> , AS3. 3928	37 °C, 1 d	2.0
黄曲霉 <i>A. flavus</i> , AS3. 3950	37 °C, 1 d	2.0
黑根霉 <i>Rhizopus nigraans</i> , AS3. 31	28 °C, 1 d	2.0
球抱毛霉 <i>Mucor globosus</i> , AS3. 3423	28 °C, 2 d	2.0
球毛壳霉 <i>Chaetomium globosum</i> , AS3. 963	28 °C, 2 d	0.9

子菌)和球毛壳霉可以完全抑制其生长与繁殖,而该挥发油对其它供试菌株在培养基油浓度为2.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 时仅表现出部分抑制或不完全抑制。

一般来讲,挥发油中的倍半萜含氧化合物是其主要的抗真菌功效因子,因此,我们推测竹叶楠叶挥发油的抗真菌活性可能是与其主要成分S-(Z)-(+) -3,7,11-三甲基-1,6,10-十二碳三烯-3-醇(39.34%)和氧化丁香烯(4.21%)有关。

3 结 论

竹叶楠叶挥发油具有一定的体外抗皮肤真菌作用,且具浓郁香气,有必要在抗真菌药理指标的指引下,进一步分离纯化活性化合物,筛选治疗皮肤真菌病的中药现代化新药。另外,该植物叶油含有丰富的(α -/ β -)丁香烯或氧化丁香烯(总相对含量35.51%),高于国外大多数用于提取丁香烯的植物^[1]。丁香烯或氧化丁香烯是一种非常重要的工业原材料,具有明显的抗过敏、消炎、抗诱癌物、驱虫等作用,有很高的安全性和很好的皮肤耐药性。该化合物可人工合成或提取分离于许多植物的挥发油,但天然品的活性和安全性均优于合成品^[2,4,5],目前我国尚不能生产该化合物,只能依靠进口用于食品、化妆品或医疗等领域。我们认为竹叶楠可作为丁香烯类化合物的重要天然植物来源,采用现代有机化学制备工艺从竹叶楠叶中提取,满足我国日益增长的对天然原料的需求。

参考文献:

- [1] 李锡文. 中国植物志第31卷 [M], 北京: 科学出版社, 1982: 99
- [2] Opdyke DLJ, Letizia C. Monographs on fragrance raw materials, Caryophyllene oxide [J]. *Food Chem Toxicol*, 1983, 21 (5): 661~662
- [3] 杨得坡, 王发松, 任三香等. 香叶树叶精油的 GC-MS 分析与抑菌活性 [J]. *中药材*, 1999, 22 (3): 129~131
- [4] Yang DP (杨得坡). Propriétés antifongiques *in vitro* de neuf plantes monarques utilisées en Médecine traditionnelle chinoise-Etude plus spécifique de l'activité de trois Lamiacées sur la microflore cutanée [J]. These Université de Franche-Comte, 1996, BeCanson
- [5] Zheng G Q, Patrick M K, Luke K T L. Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential antitumorogenic agents [J]. *J Natur Prod*, 1992, 55 (7): 999~1003