

见血封喉乳汁脂溶性成分及其抗氧化活性研究

干玉娟, 梅文莉, 曾艳波, 韩壮, 戴好富*

(中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海口 571101)

摘要:首次采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对见血封喉(*Antiaris toxicaria* (Pers.) Lesch.)乳汁的脂溶性成分进行了分析,共鉴定了27个化学成分,占其总量的91.7%。用清除DPPH自由基能力的方法测定了见血封喉乳汁脂溶性部位的抗氧化活性,结果显示出一定的抗氧化活性,SC₅₀值为500 μg ml⁻¹。

关键词:见血封喉; GC-MS; DPPH; 抗氧化活性

中图分类号:Q946

文献标识码:A

文章编号:1005-3395(2008)02-0144-04

Study on the Liposoluble Components and Their Antioxidant Activities from *Antiaris toxicaria* Latex

GAN Yu-juan, MEI Wen-li, ZENG Yan-bo, HAN Zhuang, DAI Hao-fu*

(Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: Chemical constituents of the liposoluble fraction from *Antiaris toxicaria* latex were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry for the first time. Twenty-seven compounds were identified, amounting to 91.7% of the total detected constituents. Bioassay result showed the liposoluble fraction of *A. toxicaria* possessed antioxidant activity by DPPH free radical scavenging method, with SC₅₀ value of 500 μg ml⁻¹.

Key words: *Antiaris toxicaria*; GC-MS; DPPH; Antioxidant activity

见血封喉(*Antiaris toxicaria* (Pers.) Lesch.)为桑科(Moraceae)见血封喉属(*Antiaris*)植物^[1],别名:加布、剪刀树、箭毒木,是世界上木本植物中最毒的树种之一,在我国主要分布于海南、云南、广东和广西等地,已被列为三级珍稀保护植物^[2]。其鲜树汁乳白色,有剧毒,民间入药用于强心、催吐、泻下、麻醉等^[3]。在印度尼西亚、马来西亚、缅甸等国,以及我国的海南和云南等地,当地人用见血封喉的乳汁作箭毒,射杀野兽^[4-5]。国外学者在20世纪60年代对见血封喉的化学成分进行了较多研究,发现其乳汁和种子中均富含强心苷类化合物^[6-9]。国内对其化学成分尚未见研究报道。为有效开发见血封喉资源,寻找其中有药用价值的生物活性成分,我们对海南产见血封喉乳汁的脂溶性成分进行了

GC-MS分析和抗氧化活性测定。

1 材料和方法

1.1 材料

见血封喉[*Antiaris toxicaria* (Pers.) Lesch.]乳汁4 L于2005年11月采自海南省陵水县。见血封喉植物经中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所王祝年副研究员鉴定,凭证标本(AN200511)存放于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。样品用95%的乙醇室温浸提3次,减压回收乙醇至无醇味。将乙醇提取物分散于水中成悬浊液,经石油醚萃取后减压浓缩得到6.9 g黄色油状提取物。

1.2 仪器和试剂

美国惠普公司的HP6890/5973GC/MS联用仪,

收稿日期:2007-08-07

接受日期:2007-10-29

基金项目:海南省自然科学基金项目(30608);海南省自然科学基金指导性计划(80671)资助

* 通讯作者 Corresponding author

HP-Innowax Polyethylene Glycol (30.0 m × 320 μm × 0.25 μm)弹性石英毛细管色谱柱;Beckman DU-800型紫外/可见分光光度计;Sigma-Aldrich公司的2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (2,2-二苯基-1-苦肟基, DPPH);分析纯氯仿(天津市红岩化学试剂厂)。

1.3 分析条件

程序升温条件:初始温度 60℃,保留 2 min 后,以 4℃ min⁻¹的速率升温至 230℃并保持 20 min,气化室温度 250℃。载气为高纯 He (99.999%),柱前压 5.08 psi;载气流量 2.0 ml min⁻¹;进样量 1 μl (丙酮溶液);分流比 10:1。离子源为 EI 源,离子源温度 230℃;四级杆温度 150℃;电子能量 70 eV;发射电流 34.6 μA;倍增器电压 1 412 V;接口温度 280℃;质量扫描范围:10 ~ 550 amu。

1.4 抗氧化活性测定

采用清除 DPPH 自由基能力的方法^[10-12]测定:将 DPPH 配制成 6.5 × 10⁻⁴ mol/L 母液保存,使用时浓度稀释为 6.5 × 10⁻⁵ mol/L。在试管中依次加入 2.5 ml 6.5 × 10⁻⁵ mol/L DPPH 溶液和 0.5 ml 试样的溶剂(氯仿),总体积为 3 ml,混匀后,用 1 cm 比色皿在 517 nm 波长处测 A 值,记为 A₀;加入 2.5 ml 6.5 × 10⁻⁵ mol/L DPPH 溶液和 0.5 ml 试样混匀后测 A 值,记为 A_i;加入 2.5 ml DPPH 溶液的溶剂(氯仿)和 0.5 ml 试样混匀,测定值记为 A_j。样品浓度设置 6 个梯度:1 000 μg ml⁻¹,500 μg ml⁻¹,250 μg ml⁻¹,

125 μg ml⁻¹,64 μg ml⁻¹,32 μg ml⁻¹。每一吸光度平行测 3 次,取其平均值,按下式计算清除率。

$$\text{清除率}\% = \left(1 - \frac{\overline{A_i - A_j}}{A_0}\right) \times 100\%$$

以样品浓度为横坐标,以清除率为纵坐标,作图并求出清除率为 50% 时样品的浓度(SC₅₀),样品活性结果即以半数清除浓度(SC₅₀)表示。

2 结果和分析

2.1 脂溶性成分的组成及含量

按上述条件对见血封喉乳汁的脂溶性成分进行 GC-MS 分析,分离出 34 个峰,总离子流图见图 1。通过 HPMSD 化学工作站,结合 Nist2005 标准质谱图库和 WILEY275 质谱图库进行鉴定,确认了其中的 27 个成分,占总量的 91.7%。用峰面积归一化法计算出各成分的相对含量,结果见表 1。在已鉴定的 27 个化学成分中,相对含量大于 1% 的有 21 个,其中含量较高的成分依次为:油酸(Oleic acid 12.77%),亚油酸(Linoleic acid 11.06%),棕榈酸(Palmitic acid 9.49%),甲基丁二酸二-1-甲基丙酯(Di-sec-butyl 2-Methylsuccinate 7.68%),油酸乙酯(Ethyl oleate 6.58%),硬脂酸(Stearic acid 4.61%)等。另外,从表 1 中看出,鉴定的化合物中有较多的酯类化合物,可能是提取过程中使用的乙醇和少量甲醇与脂肪酸发生酯化反应的产物^[13]。

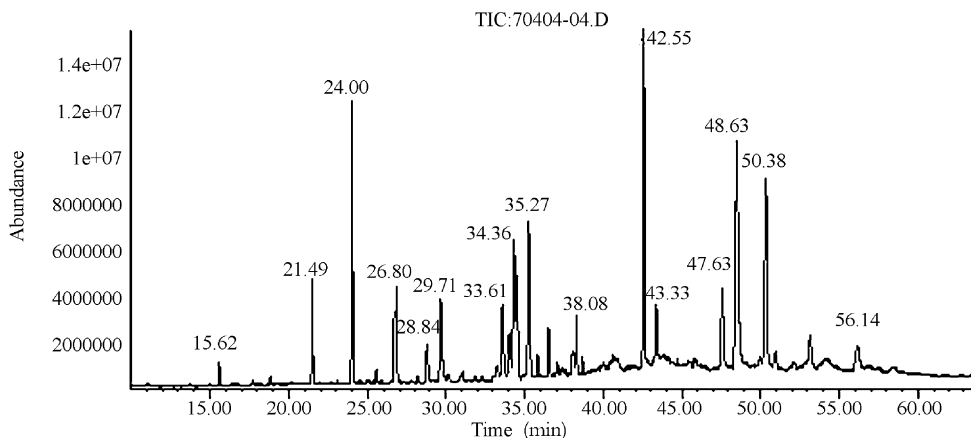


图1 见血封喉乳汁脂溶性成分的气相色谱-质谱总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of the liposoluble components from *A. toxicaria* latex

表 1 见血封喉乳汁脂溶性部分的化学成分

Table 1 Chemical constituents of the liposoluble components from *A. toxicaria* latex

编号 No.	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	相对含量 Relative content (%)
1	13.76	苯甲酸甲酯 Methyl benzoate	C ₈ H ₈ O ₂	0.09
2	15.62	Z-环癸烯 Z-Cyclodecene	C ₁₀ H ₁₈	0.63
3	17.71	E,Z-2,4-癸二烯醛 E,Z-2,4-Decadienal	C ₁₀ H ₁₆ O	0.14
4	18.80	E,E-2,4-癸二烯醛 E,E-2,4-Decadienal	C ₁₀ H ₁₆ O	0.17
5	21.49	琥珀酸异丁酯 Disobutyl succinate	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	2.68
6	24.00	甲基丁二酸二-1-甲基丙酯 Di-sec-butyl 2-methylsuccinate	C ₁₃ H ₂₄ O ₄	7.68
7	26.80	己二酸二异丁酯 Disobutyl adipate	C ₁₄ H ₂₆ O ₄	3.15
8	28.84	棕榈酸甲酯 Methyl palmitate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	1.92
9	29.71	棕榈酸乙酯 Ethyl palmitate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	4.45
10	31.09	3,5-二叔丁基苯酚 3,5-Di-tert-butylphenol	C ₁₄ H ₂₂ O	0.38
11	33.27	硬脂酸甲酯 Methyl stearate	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	0.91
12	33.61	油酸甲酯 Methyl oleate	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	3.99
13	34.06	硬脂酸乙酯 Ethyl stearate	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	2.73
14	34.36	油酸乙酯 Ethyl oleate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	6.58
15	34.55	十八碳 8,11-二烯酸甲酯 Methyl 8,11-octadecadienoate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	4.54
16	35.27	亚油酸乙酯 Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	3.63
17	35.85	亚麻酸甲酯 Methyl linolenate	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	0.77
18	36.51	亚麻酸乙酯 Ethyl linolenate	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	1.90
19	37.08	香子兰酸乙酯 Ethyl vanillate	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	0.48
20	38.08	花生酸乙酯 Eicosanoic acid, ethyl ester	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	1.35
21	38.67	肉豆蔻酸 Myristic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	0.39
22	42.55	棕榈酸 Palmitic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	9.49
23	43.33	4,8,12,16-四甲基-十七烷-4-内酯 4,8,12,16-Tetramethyl heptadecan-4-olide	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	2.72
24	47.63	硬脂酸 Stearic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	4.61
25	48.53	油酸 Oleic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	12.77
26	50.38	亚油酸 Linoleic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	11.06
27	56.14	二十烷酸 Arachidic acid	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	2.49

2.2 抗氧化活性测定结果

用清除 DPPH 自由基能力的方法对见血封喉乳汁的脂溶性成分进行了抗氧化活性测定, 结果表现出一定的抗氧化活性, 在测定浓度范围内呈现良好的剂量依赖性, 其 SC₅₀ 值为 500 μg ml⁻¹ (图 2)。根据清除 DPPH 自由基能力的方法测定抗氧化活性的原理, 凡是可以与自由基进行反应, 使自由基形成稳定状态的成分都有可能起到清除 DPPH 自由基的作用。由表 1 中的鉴定结果可知, 见血封喉乳汁脂溶性成分表现出来的抗氧化活性应该是其中的油酸和油酸酯、亚油酸和亚油酸酯以及癸烯等成分中的不饱和键清除 DPPH 自由基活性的加和

作用结果^[14]。

3 结论

前人研究发现见血封喉的毒性主要是其强心苷类成分作用的结果^[6-7]。强心苷因带有糖基, 通常极性较高。我们用强心苷显色剂 (Kedde 试剂) 分别对见血封喉乳汁的石油醚提取物、乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物进行强心苷检测, 结果发现强心苷主要集中在乙酸乙酯和正丁醇萃取部分, 而经石油醚萃取得到的脂溶性成分中未检测到强心苷存在。本次研究发现见血封喉乳汁石油醚萃取得到的脂溶性成分具有抗氧化活性, 通过 GC-MS 技

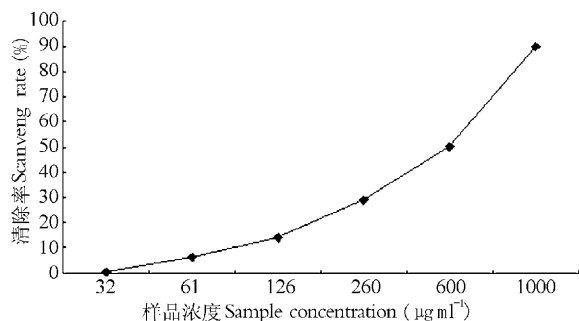


图2 见血封喉乳汁脂溶性成分对 DPPH 自由基的清除能力
Fig.2 Scavenging DPPH free radical of the liposoluble components from the *A. toxicaria* latex

术对其化学成分进行了分析,结果表明其主要由脂肪酸及其酯类化合物组成。

参考文献

- [1] Chen H Y(陈焕镛). Flora Hainanica Vol. 2 [M]. Beijing: Science Press, 1965: 384.(in Chinese)
- [2] Yi G L(易观路), Xu F H(许方宏), Luo J H(罗建华), et al. Study on rare and endangered plant *Antiaris toxicaria* [J]. Trop For(热带林业), 2004, 32: 20.(in Chinese)
- [3] Dai H F(戴好富), Mei W L(梅文莉). Modern Research on Medicinal Plants in Hainan [M]. Beijing: China Science and Technology Press, 2007: 29.(in Chinese)
- [4] State Administration of Traditional Chinese Medicine(国家中医药管理局). Chinese Materia Medica Vol. II [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999: 464.(in Chinese)
- [5] Kopp B, Bauer W P, Bernkop-Schnurch. Analysis of some Malaysian dart poisons [J]. J Ethnopharmacol, 1992, 36: 57-62.
- [6] Wehrli W, Schindler O, Reichstein T. Die glykoside des milchsafte

von *Antiaris toxicaria* Lesch. aus Malaya sowie von *Antiaris atricana* Engl. aus Kenya. isolierungen [J]. Helv Chim Acta, 1962, 45: 1183-1205.

- [7] Muhrad P, Weiss E, Reichstein T. Die cardenolide der samen von *Antiaris toxicaria* Lesch. Mitteilung: Isolierungen und identifizierungen [J]. Helv Chim Acta, 1964, 47: 2164-2185.
- [8] Christine A, Robert W, Elizabeth A, et al. Toxicarioside A. A new cardenolide isolated from *Antiaris toxicaria* latex — Derived dart poison. Assignment of the ¹H- and ¹³C-NMR shifts for an antiarigenin aglycone [J]. Tetrahedron, 1997, 53: 13557-13566.
- [9] Christine A, Elizabeth A, Tanya L, et al. Toxicarioside B and Toxicarioside C. New cardenolides isolated from *Antiaris toxicaria* Latex — Derived dart poison [J]. Tetrahedron, 1997, 53: 16959-16968.
- [10] Xu S H(许申鸿), Hang H(杭湖). A simple method for the screening of free radical scavenger [J]. Chin Trad Herb Drugs(中草药), 2000, 31(2): 96-97.(in Chinese)
- [11] Xu S H(许申鸿), Hang H(杭湖). Preliminary study on DPPH assay by spectrophotometry and its application [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 1999, 35(6): 472-477.(in Chinese)
- [12] Chen C J(陈丛瑾), Huang K Y(黄克瀛), Sun C L(孙崇鲁). Study on DPPH free radicals scavenging activity of *Solanum lyratum* Thumb fruit extractives [J]. Food Res Develop(食品研究与开发), 2006, 27(10): 45-48.(in Chinese)
- [13] Dai H F(戴好富), Mei W L(梅文莉), Zeng Y B(曾艳波), et al. Study on chemical constituents and cytotoxic activity of mangrove plant *Xylocarpus grantum* [J]. Nat Prod Res Develop(天然产物研究与开发), 2007, 19: 74-76.(in Chinese)
- [14] Lu Z G(陆占国), Guo H Z(郭红转), Feng D(封丹). Study on chemical constituents of coriander leaf essential oil and scavenging capacity against the DPPH radical [J]. Food Ferment Ind(食品与发酵工业), 2006, 32(6): 24-27.(in Chinese)