

杜虹花叶挥发油化学成分及抗氧化活性研究

林朝展, 祝晨蓀*, 张翠仙, 赵钟祥, 何文江,
李锦坤, 柴玲, 邓洁薇, 韦瑀龙

(广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

摘要: 采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)对杜虹花(*Callicarpa formosana* Rolfe)叶挥发油的化学成分进行分析,并用 DPPH 法测定其抗氧化活性。结果表明,从杜虹花叶挥发油中鉴定出 48 种成分,占总挥发油的 90.14%。其中(-)-斯巴醇(20.23%)、 β -石竹烯(17.22%)、大根香叶烯(8.06%)和 β -桉叶烯(5.52%)为其主要成分。此外, τ -榄香烯(4.18%)、马兜铃烯(3.78%)、异香橙烯氧化物(2.71%)及 4-松油醇(2.50%)的含量也较高。抗氧化实验中,3 种不同浓度的挥发油均对 DPPH 自由基有一定的清除能力,且有明显的量-效相关性。

关键词: 杜虹花; 挥发油; 气相色谱-质谱联用; (-)-斯巴醇; 抗氧化活性

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2009)04-0401-05

Chemical Constituents and Antioxidant Activity of the Essential Oils from the Leaves of *Callicarpa formosana* Rolfe

LIN Chao-zhan, ZHU Chen-chen*, ZHANG Cui-xian, ZHAO Zhong-xiang,
HE Wen-jiang, LI Jin-kun, CHAI Ling, DENG Jie-wei, WEI Yu-long

(College of Chinese Traditional Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The compositions of the essential oil from the leaves of *Callicarpa formosana* Rolfe in Guangdong Province were analyzed by means of GC-MS technique, and 48 chemical constituents, accounting for 90.14% of total content were identified. The main components were (-)-spathulenol (20.23%), β -caryophyllene (17.22%), germacrene D (8.06%) and β -eudesmene (5.52%). Besides, some sesquiterpenes and their oxides, such as τ -elemene (4.18%), aristolene (3.78%), isoaromadendrene oxide (2.71%) and 4-terpineol (2.50%) had also relatively high contents. The tested oils at three concentrations displayed ability to scavenge the stable free radical DPPH and showed a concentration-effect relationship.

Key words: *Callicarpa formosana* Rolfe; Essential oils; GC-MS; (-)-Spathulenol; Antioxidant activity

马鞭草科(Verbenaceae)紫珠属(*Callicarpa* L.)植物杜虹花(*Callicarpa formosana* Rolfe)为我国南方地区习用药,别名粗糠仔、老蟹眼等^[1],其入药部位为叶,也有以根、茎入药,味苦,性辛、温,具有散瘀消肿,止血镇痛,祛痰止咳的功效,民间常用来治疗咳血、吐血、鼻出血、创伤出血等出血症,此外还用于治疗风湿痛、扭挫伤、喉炎、结膜炎等^[2]。

有关杜虹花的化学成分,尤其是二萜类化合物,

近年来已开展了较为系统的研究^[3-4],但对其挥发油成分的研究却尚未见报道。有报道美洲紫珠(*C. americana*)^[5]、日本紫珠(*C. japonica* var. *luxurians*)^[6]和裸花紫珠(*C. nudiflora*)^[7]等的挥发油具有选择性植物毒性、抗菌活性。本文以广东从化产的杜虹花为材料,采用传统的水蒸气蒸馏法提取挥发油,通过 GC-MS 联用技术分析杜虹花挥发油的成分、相对百分含量及其抗氧化活性,为合理开发杜虹花的药用价值提供科

收稿日期: 2008-10-15

接受日期: 2008-12-19

基金项目: 国家中医药管理局重大专项攻关课题中药质量专论(国中医药科 2001 ZDZX005)资助

* 通讯作者 Corresponding author

学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

杜虹花(*Callicarpa formosana* Rolfe)叶采自广东从化流溪河,经广州中医药大学中药鉴定教研室黄海波副教授鉴定,原植物凭证标本(No. CFR071005)存于广州中医药大学药用植物标本室。采回后,用清水洗净,自然阴干,粉碎,过40目筛,备用。

1.2 挥发油的提取

取杜虹花叶干燥粗粉200 g,精密称定,按《中华人民共和国药典》2005版I部附录XD^[1]挥发油测定法的甲法操作。提取时间为4.0 h,油水先在提取器中粗分,再用乙醚萃取,无水硫酸钠脱水,过滤,得浅绿色挥发油,得率为0.17%。挥发油以正己烷稀释5倍,为供试品溶液。

1.3 GC-MS 仪器与分析条件

美国菲尼根气相色谱-质谱联用仪(气相: Thermo Finnigan Trace GC ultra; 质谱: Thermo Finnigan Trace DSQ)。色谱柱: DB-5 石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, J&W Scientific)。升温程序: 初始温度75℃,保持2 min,以3℃ min⁻¹升至100℃,保持0 min,再以2℃ min⁻¹升至140℃,保持5 min,再以2℃ min⁻¹升至160℃,保持0 min,再以20℃ min⁻¹升至240℃,保持5 min。载气: 高纯氮气,1 mL min⁻¹,分流比为30:1,进样量0.2 μL,进样口温度: 250℃,质谱连接口温度: 250℃,EI离子源,电离电压70 eV,扫描质量范围为30~550 amu,扫描间隔0.5 s,扫描速度1 000 amu s⁻¹。检索谱库为NIST98.L标准谱库,面积归一化法计算各成分相对含量。

1.4 抗氧化实验

试剂 DPPH (2,2-Di(4-*tert*-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl)自由基,购于北京奇华生物科技有限公司; α-Tocopherol, 购于天津阿法埃沙化学有限公司; 其余所用试剂均是国产分析纯。

配置 DPPH 溶液和供试品溶液 精密称取一定量的DPPH和杜虹花挥发油,用无水乙醇分别配制成 1.0×10^{-4} mol/L和2.62 mg mL⁻¹的溶液,备用。

抗氧化活性测定 将50 μL样品溶液加入

1.95 mL上述DPPH溶液中,然后记录20 min时反应溶液在517 nm处的吸光度值,记为A₁。样品溶液用无水乙醇配制,样品在反应液中的浓度为16.5、32.8、65.5 μg mL⁻¹。每个样品均用溶剂做空白对照,空白对照的吸光度值记为A₀,每个样品测3次。对DPPH清除率按下式计算:清除率(%) = (A₀ - A₁) / A₀ × 100%

2 结果和分析

2.1 挥发油提取率及理化常数

用水蒸气蒸馏法提取杜虹花叶的挥发油,约4 h可基本提取完全,得油率为0.17% (v/w)。经无水硫酸钠脱水,过滤,得浅绿色挥发油,有浓郁香味且香味持久。比重=0.9408,折光率=1.4905。

2.2 杜虹花叶挥发油的化学成分

精密吸取杜虹花叶挥发油0.2 μL注入色谱仪,进行GC-MS分析,从杜虹花叶挥发油中共检出67个化学成分,所得组分谱图经计算机检索并参照标准谱图和质谱碎片的解离,鉴定了其中48种主要组分的化学结构与相对含量(表1),占总挥发油的90.14%。挥发油中烃类(含芳烃、烷烃及长链烷烃)占0.38%、烯炔类及其含氧化合物占61.39%、醇类占27.14%、醛酮类占0.42%、脂肪酸占0.81%。其中相对含量大于5%的有(-)-斯巴醇(20.23%)、β-石竹烯(17.22%)、大根香叶烯(8.06%)和β-桉叶烯(5.52%),为其主要成分;此外,τ-榄香烯(4.18%)、马兜铃烯(3.78%)、异香橙烯氧化物(2.71%)及4-松油醇(2.50%)的含量也较高。总离子流气相色谱图见图1。

2.3 杜虹花叶挥发油的抗氧化活性

杜虹花叶挥发油DPPH自由基清除活性测试结果表明,挥发油对DPPH自由基有一定的清除能力,浓度为16.5、32.8、65.5 μg mL⁻¹时的DPPH自由基清除率分别为12.3%、26.5%和49.2%,且表现出明显的量-效相关性。

3 讨论

杜虹花叶挥发油主要成分为烯、醇、酯、醛、酮、烷类化合物,其中含量最高的是(-)-斯巴醇(20.23%),其次是β-石竹烯(17.22%)、大根香叶烯(8.06%)和β-桉叶烯(5.52%)。此外,τ-榄香烯(4.18%)、

表1 杜虹花挥发油的化学成分

Table 1 The chemical components in the essential oil from the leaves of *Callicarpa formosana*

编号 No.	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	相对含量 Relative content (%)
1	5.31	(1R)-(+)- α -蒎烯 1R- α -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.36
2	6.47	聚伞花素 <i>P</i> -Cymene	C ₁₀ H ₁₄	134	0.38
3	6.64	桉叶油 Cineole	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.17
4	8.76	β -芳樟醇 β -Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.23
5	9.56	顺-1-甲基-4-异丙基-2-环己烯-1-醇 <i>cis</i> -1-methyl-4-(1-methylethyl)-2-Cyclohexen-1-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.16
6	10.19	反式松香芹醇 Pinocarveol	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.50
7	10.78	香桉酮 Ketone	C ₉ H ₁₄ O	138	0.25
8	11.65	4-松油醇 4-Terpeneol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	2.50
9	12.45	2-蒎烯-10-醇 2-Pinen-10-ol	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.34
10	14.23	枯桉醛 Cuminal	C ₁₀ H ₁₂ O	148	0.17
11	18.30	紫罗烯 Ionene	C ₁₃ H ₈	174	1.11
12	18.78	榄香烯 Elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.59
13	19.43	α -橙椒烯 α -Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.10
14	20.81	古巴烯 Copaene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.71
15	21.27	β -波旁烯 β -Bourbonene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.48
16	21.71	β -榄香烯 β -Elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.90
17	22.01	香附烯 Cyperene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.28
18	23.24	β -石竹烯 β -Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	17.22
19	23.54	2,6,6-三甲基-1-(3-甲基-1,3-丁间二烯基)-1,3-环己二烯 2,6,6-trimethyl-1-(3-methyl-1,3-butadienyl)-1,3-Cyclohexadiene	C ₁₄ H ₂₀	188	0.82
20	23.88	δ -榄香烯 δ -Elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.18
21	24.14	(-)-别香橙烯 (-)-Alloaromadendrene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.15
22	24.40	马兜铃烯 Aristolene	C ₁₅ H ₂₄	204	3.78
23	24.65	(+)-巴伦西亚桉烯 (+)-Valencene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.34
24	24.93	α -Vatirenene	C ₁₅ H ₂₂	202	2.41
25	25.29	香木兰烯 Aromadendrene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.44
26	25.94	异长叶烯 Isolongifolene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.88
27	26.11	α -古芸烯 α -Gurjunene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.77
28	26.29	τ -依兰油烯 τ -Muurolene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.60
29	26.53	大根香叶烯 Germacrene D	C ₁₅ H ₂₄	204	8.06
30	26.83	β -桉叶烯 β -Eudesmene	C ₁₅ H ₂₄	204	5.52
31	27.31	τ -榄香烯 τ -Elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	4.18
32	27.45	塞瑟尔烯 Seychellene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.28
33	28.28	τ -杜松烯 τ -Cadinene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.42
34	28.81	(+)- δ -杜松烯 (+)- δ -Cadinene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.76
35	31.31	喇叭烯氧化物(II) Ledene oxide-(II)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.43
36	32.20	(-)-斯巴醇 (-)-Sparhulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	20.23
37	32.48	异香橙烯氧化物 Isoaromadendrene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220	2.71
38	33.37	愈创(木)醇 Guaiol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	1.32
39	34.43	τ -雪松烯 τ -Himachalene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.87
40	36.57	τ -杜松醇 τ -Cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.73
41	37.11	β -桉叶醇 β -Eudesmol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.96
42	37.44	别香橙烯氧化物 Alloaromadendrene oxide-(2)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	2.55
43	38.82	石竹烯氧化物 Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.49
44	48.32	棕榈酸甲酯 Hexadecanoic acid, methyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	0.22
45	48.97	6,9,12,15-二十二碳四烯酸甲酯 6,9,12,15-Docosatetraenoic acid, methyl ester	C ₂₃ H ₃₈ O ₂	346	0.25
46	49.97	10-十八烯酸甲酯 10-Octadecenoic acid, methyl ester	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	0.07
47	50.14	7-Methyl-Z-tetradecen-1-ol acetate	C ₃₇ H ₇₆ O	536	0.10
48	50.37	1-三十七烷醇 1-Heptatriacontanol	C ₃₇ H ₇₆ O	536	0.17

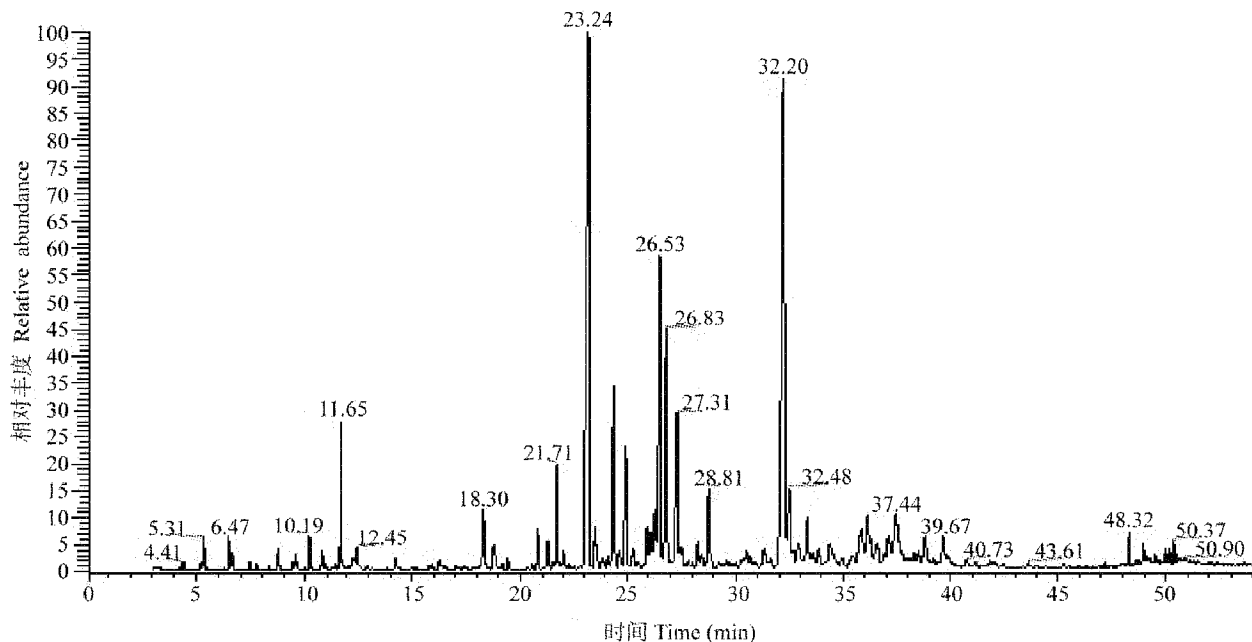


图 1 杜虹花挥发油的总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of essential oil from leaves of *Callicarpa formosana*

马兜铃烯(3.78%)、异香橙烯氧化物(2.71%)及 4-松油醇(2.50%)的含量也较高。以上 8 种化合物占挥发油总量的 64.20%。这些化合物在紫珠属其它植物^[5-7]的挥发油中均有检出,只是含量上存在差异,这为传统上用不同来源的紫珠属植物作为紫珠药材使用提供了科学依据。

有研究报道^[5-7]紫珠属植物挥发油中所含萜类化合物结构多样,多具有抗菌或抗肿瘤活性,尤其是倍半萜类化合物。杜虹花叶挥发油含量最高的(-)-斯巴醇属聚炔醇类化合物,是五加科植物中较常见的成分,已从该科植物人参(*Panax ginseng*)、三七(*P. notoginseng*)中分离得到,具有很强的抗肿瘤活性,可抑制血管紧张素 II 诱导的血管收缩,降低自发性高血压大鼠平均动脉压^[9],同时还具有抗炎及抗血小板凝集活性^[10]。在活性评价实验中^[11],相同剂量的条件下,人参脂溶性成分(含聚醇类)具明显促进神经细胞生长的活性,可降低血压、降血脂及对冠心病患者有食疗作用。杜虹花叶挥发油较强的抗氧化活性可能与其具有较高含量的(-)-斯巴醇有关。

致谢 中山大学药学院朱龙军老师在气相-质谱实验过程中给予指导和帮助,广州中医药大学中药学院潘超美教授在样品采集和基源鉴定过程中给予指导和帮助,特此致谢!

参考文献

[1] Wang Z H(王振华), Du Q(杜勤). Research survey of the

chemical constituent studies and clinical application of *Callicarpa* genus [J]. Guangdong Pharm(广东药学), 1998, 8(3): 5-8. (in Chinese)

[2] Pei J(裴鉴), Chen S L(陈守良), Fang W Z(方文哲), et al. Flora Republicae Popularis Sinicae Tomus 65(1) [M]. Beijing: Science Press, 2004: 43-44. (in Chinese)

[3] Hu Y M, Shen Y M, Gan F Y, et al. Four diterpenes from *Callicarpa pedunculata* [J]. Biochem Syst Ecol, 2002, 30: 999-1001.

[4] Liu H Y, He H P, Gao S, et al. Two new diterpenoids from *Callicarpa pedunculata* [J]. Helvet Chim Acta, 2006, 89: 1017-1022.

[5] Mario R T, Franck E D, Kevin K, et al. Composition and some biological activities of the essential oil of *Callicarpa americana* (L.) [J]. J Agri Food Chem, 2000, 48(7): 3008-3012.

[6] Mozaina K, Mario R T, Franck E D, et al. Phytotoxicity and volatile constituents from leaves of *Callicarpa japonica* Thunb [J]. Phytochemistry, 2002, 61: 37-40.

[7] Wang Z P(王治平), Fan H(樊化), Yang K(杨珂), et al. GC-MS analysis of essential oils in *Callicarpae nudiflora* [J]. Lishizhen Med Mat Med Res(时珍国医国药), 2007, 18(5): 1126-1128. (in Chinese)

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录 XD.

[9] Takai S, Jin D, Kirimura K, et al. Effects of a lipoxygenase inhibitor, Panaxynol, on vascular contraction induced by angiotensin II [J]. Japn J Pharmacol, 1999, 80(1): 89-92.

[10] Fujimoto Y, Sakuma S, Komatsu S, et al. Inhibition of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase activity in rabbit gastric mucosa by panaxynol isolated from oriental

medicines [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1998, 50(9): 1075-1078.

activity [J]. *J Chin Three Gorges Univ*(三峡大学学报), 2005,

[11] Zou K(邹坤), Katsuko Komatsu(小松佳子). HPLC/UV analysis of lipid extract from *Panax ginseng* roots with neural outgrowth

27(5): 446-448.(in Chinese)

“国际木兰科植物学术讨论会”在广州召开

全世界有木兰科植物 16 属 300 多种。目前我国有 11 属 160 余种,占属总数的 69%,种总数的 53%,是木兰科植物资源丰富的国家,是名符其实的木兰王国。但由于生态环境恶化和人为的破坏,木兰科植物不少种类已趋濒危,有 30 多种被列入我国重点保护的珍稀濒危植物名录。为了更好地保护木兰科植物,抢救珍稀濒危种类,大力进行多学科研究和合理开发利用,2009 年 5 月 5~8 日,中国科学院华南植物园、广东省植物学会、广东省植物学会木兰分会、国际植物园保护联盟(BGCI)、国际木兰协会(MSI)、深圳市仙湖植物园、广东省徐闻县神州木兰园、中国科学院昆明植物研究所、广东棕榈园林股份有限公司等单位联合于广州市华南植物园举办了“第二届国际木兰科植物学术讨论会”。

来自美国、英国、日本、荷兰、韩国、加拿大、泰国、印度、古巴、哥伦比亚等 22 个国家、地区和国内各省市科研单位、高等院校的专家、科技工作者 150 余名代表出席了会议。研讨会的主题是:加强各国木兰科植物学术交流,促进木兰科植物资源的保护和可持续利用。

出席会议开幕式的有原副省长范希贤;国际植物园保护联盟秘书长 Sara OLDFIELD 女士、国际木兰协会主席 Susan P. TREADWAY 女士、中国科学院华南植物园主任黄宏文、副主任傅声雷、任海;广东省科学技术协会科技交流部部长郑德胜;广东省植物学会理事长梁承邨、秘书长毛荣森;木兰分会主任夏念和、名誉主任吴七根、陈忠毅;木兰分会副主任朱开甫、曾庆文、徐凤霞、孙卫邦等负责人出席了大会。

5 月 5 日上午,中科院华南植物园与国际植物园保护联盟、国际木兰协会共同签订了“世界木兰中心”(World Magnolia Center)的合作协议,协议承诺共同开展全世界木兰科植物种质资源的迁地保护研究,通过与亚洲、美洲和大洋洲的植物园、农场、苗圃进行种苗交换,开展引种栽培试验和迁地保育研究等。黄宏文主任、Sara OLDFIELD 女士、Susan P. TREADWAY 女士等共同为“世界木兰中心”的牌匾揭幕,这标志着该中心从此落户中国科学院华南植物园。

研讨会以报告、分组讨论和墙报展示等形式进行交流。会议围绕着木兰科植物的系统分类学与地理学、细胞学与形态解剖学、分子生物学与植物化学、种质保存与保护生物学、生理学与生态学、栽培繁殖与新品种培育、木兰科植物在园林景观中的应用等问题展开学术研讨。会议期间,代表们还参观了中科院华南植物园木兰园和展览温室群,并赴广东省惠州市南昆山自然保护区考察野生木兰科植物。

广东省植物学会 毛荣森 郭丽秀