醉香含笑树皮挥发性成分 GC-MS 分析及其对 HepG2 细胞体外生长抑制作用

宋晓凯[1*]，陆春良[2]，胡 堃[1]，翁晓艳[1]，金海洋[1]，陈赛娟[1]

1. 淮海工学院化工学院，江苏 连云港 222005
2. 扬州大学 测试中心，江苏 扬州 225009

摘 要：目的 分析醉香含笑树皮乙醇总提取物（EBMM）的挥发性成分，并考察其对人肝肿瘤 HepG2 细胞的体外生长抑制作用。**方法** 水蒸气蒸馏法提取 EBMM 的挥发性成分，采用 GC-MS 分析，并用峰面积归一化法测定各成分相对质量分数。采用 MTT 方法检测 75、100、200、300、400 μg/mL EBMM 对 HepG2 细胞体外生长抑制作用。**结果** 共检出 54 个色谱峰，确定了其中 34 种化合物，占挥发性成分总量的 67.73%。EBMM 对 HepG2 细胞的抑制率呈浓度依赖关系。**结论** EBMM 的挥发性成分以棕榈酸及其衍生物、各种烯、不饱和醇、不饱和酸、不饱和酮、不饱和酯类为主，EBMM 能明显抑制 HepG2 细胞的生长。

关键词：醉香含笑树皮；挥发性成分；GC-MS 分析；HepG2 细胞；生长抑制

中图分类号：R284.14 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2011)11 - 2213 - 03

GC-MS analysis of volatile components from barks of *Michelia macclurei* and their inhibition on *in vitro* growth of HepG2 cells

SONG Xiao-kai[1], LU Chun-liang[2], HU Kun[1], WENG Xiao-yan[1], JIN Hai-yang[1], CHEN Sai-juan[1]

1. College of Chemical Technology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China
2. Analysis Center, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China

Key words: barks of *Michelia macclurei* Dandy; volatile components; GC-MS analysis; HepG-2 cell; growth inhibition

醉香含笑 *Michelia macclurei* Dandy，又称火力楠，是木兰科含笑属的常绿乔木。分布于我国福建、广西、广东及贵州等省。其花可提炼芳香油，树皮、根、叶可药用，有清热解毒之功效，种子可榨油，作燃料用油[1-2]。目前，有关醉香含笑的化学成分及生理活性研究，除黄儒珠等[3]关于醉香含笑叶挥发油化学成分的报道外，尚未见其他报道。为系统研究醉香含笑化学成分，探讨其药用物质基础，本实验采用水蒸气蒸馏法提取醉香含笑树皮的乙醇总提物（extract in the bark of *Michelia macclurei* Dandy，EBMM）的挥发性成分，并采用 GC-MS 对其进行成分分析。共鉴定出 34 种成分，用峰面积归一化法分析测定质量分数，采用 MTT 法[4]测定 EBMM 对体外人肝肿瘤细胞 HepG2 的生长抑制情况，为合理开发醉香含笑植物资源的药用价值提供了科学依据。

1 仪器与材料

Trace DSQ II 气质联用仪，TR—5 MS 石英毛细管柱（30 m×0.25 mm，0.25 μm）；甲醇（分析纯）。

醉香含笑于 2009 年 6 月采自浙江省金华市金西花木场，经淮海工学院宋晓凯教授鉴定为木兰科含笑属植物醉香含笑 *Michelia macclurei* Dandy。

2 方法

2.1 色谱条件

初始柱温 50 ℃，保持 2 min；以 5 ℃/min 升至 280 ℃，保持 15 min。进样量 1.0 μL，进样口温度 250 ℃，接口温度 280 ℃。载气 He（质量分数＞99.99%），体积流量 1.0 mL/min，分流比 20∶1。

2.2 质谱条件

EI 离子源，电子能量 70 eV，电子倍增器电压 1 140 V，质量数范围 50～500 amu。

2.3 挥发性成分提取

取醉香含笑树皮 1.5 kg，自然晾干后，剪碎，过 20 目筛，分批于挥发油提取器中，按《中国药典》2010 年版一部附录 XD 挥发油测定法，进行水蒸气

收稿日期：2011-01-08

基金项目：国家自然科学基金资助项目（20872110）

*通讯作者 宋晓凯 Tel: 13338983657 E-mail: sxk581214@163.com

蒸馏，得到2.33 g淡黄色油状液体，提取率为0.16%。

2.4　EBMM 细胞毒活性测试

人肝肿瘤细胞 HepG2 培养于 RPMI 1640 培养基（含有 10% *L*-谷氨酰胺的胎牛血清，100 U/mL 青霉素，100 U/mL 链霉素）中。细胞清洗后重新悬浮于上述介质中，浓度为 5×10^4 个/mL；96 孔板中每孔加入 100 μL 细胞悬液（每孔 5×10^3 个细胞）；5% CO_2、37 ℃条件下培养 24 h。设立各 EBMM 浓度组（75、100、200、300、400 μg/mL）、阴性对照组，完全培养基稀释 EBMM 至所需浓度，每孔加入 100 μL 相应的含药培养基。分别将含有 EBMM 的 20 μL 乙醇-水(1∶9)溶液加入平板中。阴性对照组中加入 20 μL 的乙醇-水(1∶9)溶液。细胞再培养 72 h 后，采用改良的 MTT 法[4]测定细胞的生长情况。计算各浓度 EBMM 对 HepG2 细胞的生长抑制率。

3　结果与讨论

3.1　EBMM 挥发性成分的 GC-MS 分析结果

按照上述色谱条件进行分析，得到醉香含笑树皮挥发性成分的总离子流图（图 1）。可知，在所用的 GC 条件下共分离 54 个色谱峰，通过对总离子流图进行质谱扫描并在 NIST 02 谱库中检索，对基峰、质荷比、相对丰度等方面进行比较，用色谱峰面积归一化法计算各组分的相对质量分数，初步鉴定出 34 个化合物（表 1），其量占挥发油总量的 67.73%。由表 1 可知，质量分数较高的是 *N*, *N*′-二苯甲酰基-庚二胺（9.55%）、全反式鲨烯（5.81%）、棕榈酸（5.62%）、亚油酸乙酯（5.25%）、*Z*-5-甲基-6-二十一烯-11-酮（4.54%）等。棕榈酸及其一系列衍生物占 16.83%，其他各种烯、烯醇、烯酸、烯酮、烯酯类占 22.9%。

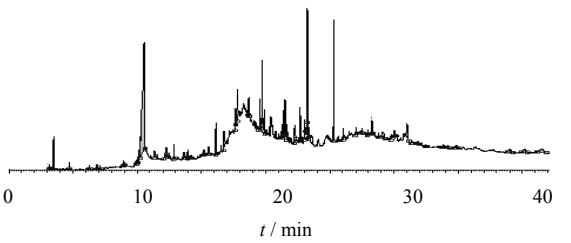

图 1 醉香含笑地上部位的挥发性成分总离子流色谱图

Fig. 1　Total ions current chromatogram of volatile components from aerial parts of *M. macclurei*

3.2　EBMM 对 HepG2 细胞生长抑制作用

由表 2 可见，EBMM 在一定质量浓度范围内对 HepG2 细胞的体外生长抑制率呈质量浓度依赖关

表 1　醉香含笑树皮的挥发性化学成分

Table 1　Volatile components in barks of *M. macclurei*

编号	名称	*t* / min	质量分数/%	编号	名称	*t* / min	质量分数/%
1	*N*, *N*′-二苯甲酰基-庚二胺	10.24	9.55	18	全反式-鲨烯	26.67	5.81
2	棕榈油酸十六烷基酯	13.48	0.66	19	4, 6-二烯胆甾-3-醇	27.51	0.92
3	叔-十六烷硫醇	13.77	0.34	20	1, 54-二溴-五十四烷	28.44	0.37
4	17-三十五碳烯	15.84	0.71	21	9-甲基-*Z*-10-十四烯-1-醇-乙酸酯	28.59	0.67
5	细辛脑	16.50	1.05	22	14-二十七酮	28.81	1.09
6	肉豆蔻酸	17.70	2.41	23	9-十六烯酸十八酯	29.38	0.97
7	邻苯二甲酸二丁酯	18.50	1.82	24	1, 1′-(2-十三烷基-1, 3-丙二基)-二环己烷	29.58	1.49
8	十五烷酸	18.74	0.79	25	棕榈酸乙烯基酯	29.83	0.98
9	*N*-十五烷腈	19.14	0.51	26	1, 1′-十二烷基-二-4-甲基-二环己烷	30.45	0.79
10	11-十六烯酸	19.60	2.78	27	*Z*-5-甲基-6-二十一烯-11-酮	30.75	4.54
11	棕榈酸	19.79	5.62	28	双十五基酮	31.04	2.91
12	棕榈酸乙酯	19.94	3.08	29	3-乙基-5-(2′-乙基丁基)-十八烷	32.48	0.43
13	亚油酸乙酯	21.55	5.25	30	*E*, *E*, *Z*-1, 3, 12-十九碳三烯-5, 14-二醇	33.42	0.72
14	亚麻酸乙酯	21.62	1.45	31	18-三十五烷基酮	34.24	1.20
15	异香橙烯氧化物	23.24	1.12	32	棕榈酸十八烷醇酯	35.78	0.71
16	己二酸二-(2-乙基己基)酯	23.49	3.79	33	2-顺-9-十八烯基-氧代乙醇	38.92	0.76
17	双-(2-乙基己基)邻苯二甲酸酯	24.73	2.09	34	棕榈酸环己基酯	41.17	0.35

1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2 EBMM 对 HepG2 细胞的体外生长抑制率

Table 2 Inhibitiory rates of EBMM on growth of HepG2 cell lines *in vitro*

组别	ρ/(μg·mL^{-1})	A 值	抑制率/%
EBMMD	400	0.214±0.010**	69.31
	300	0.288±0.035**	58.71
	200	0.346±0.024**	50.49
	100	0.613±0.043**	12.21
	75	0.673±0.029	3.52
空白对照	—	0.698±0.026	0.00

与对照组比较：**P<0.01

**P < 0.01 *vs* control group

系。与阴性对照组比较，100～400 μg/mL EBMM 对 HepG2 细胞的体外生长均产生明显抑制作用。在倒置显微镜下可见，阴性对照组 HepG2 细胞多且饱满，呈圆形，透光性好，结构清晰，说明增殖能力强。而当 EBMM 质量浓度为 75 μg/mL 时，HepG2 细胞的形态既已发生损伤性变化，细胞结构模糊，许多细胞胞膜破裂、萎缩并发生崩解，形成碎片。实验结果表明，在质量浓度 75 μg/mL 下，BEMM 明显抑制 HepG2 细胞的生长。

EBMM 的挥发性成分以棕榈酸及其衍生物、其他各种烯、不饱和醇、不饱和酸、不饱和酮、不饱和酯类为主。采用 MTT 方法检测 75、100、200、300、400 μg/mL EBMM 对 HepG2 细胞体外生长抑制作用。EBMM 能明显抑制 HepG2 细胞的生长，且呈质量浓度依赖关系。醉香含笑树皮乙醇总提物抑制 HepG2 细胞生长的作用机制正在研究中。本实验为进一步合理开发醉香含笑植物资源的药用价值提供了科学依据。

参考文献

[1] 钟永红. 火力楠的栽培技术 [J]. 广西林业, 2005, 4: 42-43.

[2] 明 军, 顾万春. 中国含笑属植物研究进展 [J]. 中南林学院学报, 2004, 24(5): 147-152.

[3] 黄儒珠, 檀东飞, 郑娅珊, 等. 醉香含笑叶挥发油化学成分 [J]. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(4): 406-408.

[4] Sargent J M, Taylor C G. Appraisal of the MTT assay as a rapid test of chemosensitivity in acute myeloid leukaemia [J]. *Br J Cancer*, 1989, 60(2): 206-210.

《中国药学杂志》2012 年征订启事

《中国药学杂志》是我国药学界创刊最早、发行量较大、反映我国药学各学科进展和动态的最具权威性和影响的综合性学术核心期刊之一。读者群为高、中级药学工作者以及其他医药卫生人员。内容包括药学各学科，辟有院士笔谈、专家笔谈、综述、论著（内容包括：重大新药创制、生物技术、中药及天然药物、药理、药剂、临床药学、药品质量及检验、药物化学）、药物与临床、新药述评、药学史、药学人物、药事管理、学术讨论、科研简报等栏目。创刊 58 年来在医药卫生界享有很高声誉。连续三次荣获国家期刊奖，三次荣获中国科协优秀科技期刊一等奖。2007 年获“百种杰出学术期刊”称号。2006—2011 年连续 6 年被评为“中国科协精品期刊工程项目资助期刊”。被美国《化学文摘》（CA）、荷兰《医学文摘》(EM)、《国际药学文摘》（IPA）收录，加入中国学术期刊光盘版，进入北大中文科技期刊目录（核心版，排名第 2）。欢迎广大医药工作者积极订阅。

本刊为半月刊，每期 30 元，全年 720 元，邮发代号：2-232。

地　　址：北京市朝阳区建外大街四号建外 SOHO 九号楼 1803 室（100022）

电　　话：010-58699280/75/76/78/79

传　　真：010-58699295

网　　址：www.zgyxzz.com.cn

电子信箱：zgyxzz@cpa.org.cn