

青枣核果木枝叶石油醚部位脂溶性成分 GC-MS 分析

孙玉婉, 刘平怀*, 蔡雯雯, 陈德力, 何沂飞

海南大学材料与化工学院, 海口 570228

摘要: 青枣核果木枝叶经溶剂提取法与硅胶柱层析法分离得到石油醚部位脂溶性成分 A 和 B, 采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术用对其化学成分进行分离、鉴定及分析。从提取物 A 中鉴定了 16 种化学成分, 主要为: 角鲨烯(72.51%)、三十三烷(3.08%)、二十四烷(2.06%)。从提取物 B 中鉴定了 16 种成分, 主要为: 角鲨烯(47.82%)、棕榈酸乙酯(11.69%)、硬脂酸乙酯(5.43%)、木焦油酸乙酯(3.17%)、棕榈酸甲酯(3.14%)。本研究首次对青枣核果木枝叶石油醚部位脂溶性成分进行分析, 表明青枣核果木枝叶中含有大量的活性成分角鲨烯。

关键词: 青枣核果木; 枝叶; 气相色谱-质谱联用; 脂溶性成分

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

Analysis of Liposoluble Constituents from Leaves and Stems of *Drypetes cumingii* Using Gas Chromatography-Mass Spectroscopy

SUN Yu-wan, LIU Ping-huai*, CAI Wen-wen, CHEN De-li, HE Yi-fei

College of Materials and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou 570228, China

Abstract: Two liposoluble constituents (extract A and extract B) from leaves and stems of *Drypetes cumingii*, isolated by solvent extraction method and silica column chromatography, were analyzed using gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS). 16 compounds were identified from the extract A, the major constituents were squalene (72.51%), tricosane (3.08%), tetracosane (2.06%); 16 compounds were identified from the extract B, the major constituents were squalene (47.82%), hexadecanoic acid, ethyl ester (11.69%), octadecanoic acid, ethyl ester (5.43%), ethyl tetracosanoate (3.17%), hexadecanoic acid, methyl ester (3.14%). This is the first report regarding the lipophilic chemical constituents of *D. cumingii*. The results showed that *D. cumingii* contained abundant active compound, squalene.

Key words: *Drypetes cumingii*; leaves and stems; GC-MS; liposoluble constituents

核果木属 (*Drypetes Vahl*) 植物属大戟科 (Euphorbiaceae)。该属植物约有 200 种, 分布于亚洲、非洲和美洲的热带及亚热带地区。我国产 13 种、2 变种, 分布于海南、台湾、广东、广西、贵州和云南等省区。核果木属植物是非洲重要的药用植物, 在非洲的中、西部已广泛应用于治疗多种疾病如传染疾病、鼻窦炎、肿瘤、疮、性传播疾病、痢疾以及支气管炎、发热、风湿病和肾痛等^[1-3]。

青枣核果木 [*Drypetes cumingii* (Baill.) Pax et Hoffm.] 属于核果木属 (*Drypetes*) 大戟科 (Euphorbiaceae), 在我国主要分布于海南、广西和云南。本文首次对青枣核果木枝叶石油醚部位脂溶性提取物进行成分分离, 并采用 GC-MS 进行分析、鉴定, 用面积

归一化法测定了各成分的相对含量, 从各色谱峰中鉴定出各成分, 为进一步研究和开发利用奠定了基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

GC7890A / MSD 5975C 毛细管气相色谱-质谱联用仪 (美国 Agilent Technologies 公司); DJ-10A 中药粉碎机 (上海淀久中药机械制造有限公司); KQ-250DE 型医用数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); BT224S 电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司); 柱层析硅胶 (青岛海洋化工厂产品); IKA® RV digital 数显型旋转蒸发仪 (IKA 公司)。

1.2 材料与试剂

青枣核果木枝叶于 2012 年 4 月采自海南省霸王岭自然保护区, 经海南大学材料与化工学院生物工程系刘平怀教授鉴定为 *Drypetes cumingii* (Baill.)

收稿日期: 2013-03-11 接受日期: 2013-06-24

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2011BAD14B01); 海南省中药现代化科技专项项目 (ZY201327); 国家科技型中小企业技术创新基金项目 (13C26244604892)

* 通讯作者 Tel: 86-898-66281892; E-mail: twlph@163.com

Pax et Hoffm. 的枝叶,标本存放于海南优势资源化工材料应用技术教育部重点实验,采后自然晒干,贮存备用。

石油醚、乙醇、乙酸乙酯、正丁醇(广州化学试剂厂,AR)。

2 实验方法

2.1 样品的制备

称取干燥并已粉碎的青枣核果木枝叶 19 kg,用 95% 乙醇常温浸泡提取 3 次,每次使用乙醇 60 L,合并提取液,减压浓缩得无醇味青枣核果木浸膏 1248 g。加适量水溶解成悬浊液,依次用石油醚、乙酸乙酯、饱和正丁醇水溶液萃取,减压浓缩后分别得石油醚萃取浸膏 130.9 g,乙酸乙酯萃取浸膏 177.0 g,正丁醇萃取浸膏 327.53 g。取石油醚萃取物进行硅胶柱层析,干法上样,石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,TLC 检测合并浓缩相同馏分,石油醚洗脱系统得两个馏分为深红色脂溶性提取物 A 和淡黄色脂溶性提取物 B。

2.2 GC-MS 分析条件

气相色谱条件:石英毛细管柱 HP-FFAP(30 mm

$\times 0.25$ mm, $0.25 \mu\text{m}$),程序升温:从 80 °C 开始,保持 3 min,以 6 °C/min 升温到 150 °C,再以 80 °C/min 升温到 250 °C,保持 5 min,载气为 He,柱流速 1.0 mL/min,进样口温度 250 °C,分流比为 80:1;质谱条件:EI 源,电离电压 70 eV,离子源温度 230 °C,扫描范围 10 ~ 550 amu,进样量 1.0 μL 。

3 结果与讨论

青枣核果木枝叶石油醚萃取物含大量色素,将其进行硅胶柱层析使石油醚萃取物色素和脂溶性成分分离,石油醚萃取物经石油醚洗脱系统洗脱得到脂溶性提取物 A 和 B。对提取物 A 和 B,按 2.2 实验条件进行 GC-MS 分析,得 GC-MS 总离子流图,见图 1。各组分的相对含量根据总离子流图由计算机采用峰面积归一化法计算而得,通过 GC-MS 联用技术进行检测,所得质谱图经计算机质谱数据库 NIST08 检索,依据相似度的概率,给出可能的分子结构,结合人工谱图解析,并按各峰的质谱裂片图与文献资料^[4,5]和标准图谱核对,确定了青枣核果木枝叶石油醚提取物 A 和 B 的化学成分。结果见表 1。

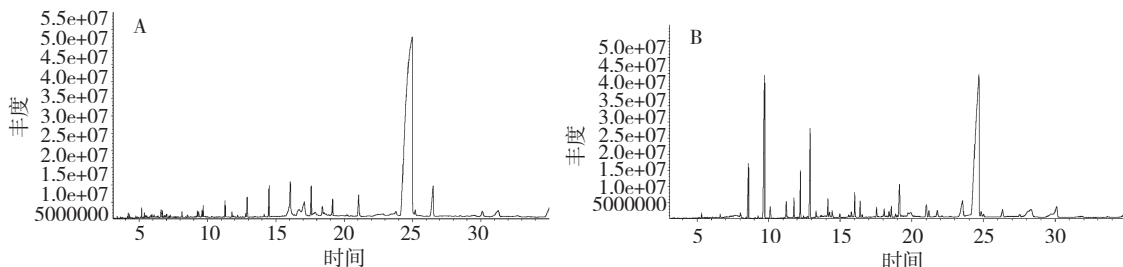


图 1 青枣核果木枝叶石油醚提取物 A、B 的 GC-MS 总离子流图

Fig. 1 GC-MS Total ion chromatograms of petroleum ether extract A and B of *D. cumingii* leaves and stems

表 1 青枣核果木枝叶石油醚提取物 A、B 的化学成分

Table 1 Chemical constituents of petroleum ether extract A and B of *D. cumingii* leaves and stems

| No. | 保留时间 Rt/min | 化合物名称 Name | 分子式 Molecular formula | 分子量 Molecular weight | 相对含量/% Relative content | |
|-----|----------------|---------------------------------------|--|----------------------------|-------------------------|-------|
| | | | | | 提取物 A | 提取物 B |
| 1 | 8.595 | Hexadecanoic acid, methyl ester 棕榈酸甲酯 | $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$ | 270.25 | - | 3.14 |
| 2 | 9.718 | Hexadecanoic acid, ethyl ester 棕榈酸乙酯 | $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ | 284.27 | - | 11.69 |
| 3 | 11.771 | Octadecanoic acid, methyl ester 硬脂酸甲酯 | $\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2$ | 298.28 | - | 0.90 |
| 4 | 12.224 | Citronellyl isobutyrate 异丁酸香茅酯 | $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_2$ | 226.19 | - | 2.20 |
| 5 | 12.896 | Octadecanoic acid, ethyl ester 硬脂酸乙酯 | $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$ | 312.30 | - | 5.43 |

| | | | | | | |
|----|---------|--|-----------------------|---------|--------|--------|
| 6 | 12. 907 | Docosane 二十二烷 | $C_{22}H_{46}$ | 310. 36 | 0. 64 | - |
| 7 | 14. 147 | Hexasiloxane, tetradecamethyl-十四甲基六硅氧烷 | $C_{14}H_{42}O_5Si_6$ | 458. 16 | - | 1. 05 |
| 8 | 14. 509 | Heptadecane 十七烷 | $C_{18}H_{38}$ | 240. 28 | 1. 00 | - |
| 9 | 15. 982 | Farnesol isomer A 异金合欢醇 A | $C_{15}H_{26}O$ | 222. 19 | 1. 01 | - |
| 10 | 16. 021 | Heptadecanoic acid, ethyl ester 珠光脂酸乙酯 | $C_{19}H_{38}O_2$ | 298. 87 | - | 1. 34 |
| 11 | 16. 066 | Tetracosane 二十四烷 | $C_{24}H_{50}$ | 338. 39 | 2. 06 | - |
| 12 | 16. 715 | 1, 6, 10, 14-Hexadecatetraen-3-ol, 3, 7, 11, 15-tetramethyl-, (E, E)-香叶基芳樟醇 | $C_{20}H_{34}O$ | 290. 26 | 1. 59 | - |
| 13 | 17. 091 | Hexadeca-2, 6, 10, 14-tetraen-1-ol, 3, 7, 11, 16-tetramethyl-, (E, E, E)-(E, E, E)-3, 7, 11, 16-四甲基-2, 6, 10, 14-十六碳四烯-1-醇 | $C_{20}H_{34}O$ | 290. 26 | 2. 45 | - |
| 14 | 17. 595 | Octacosane 二十八烷 | $C_{28}H_{58}$ | 394. 45 | 1. 17 | - |
| 15 | 17. 882 | Cyclohexane, 1, 1, 3, 5-tetramethyl-, cis-顺-1, 1, 3, 5 四甲基环己烷 | $C_{10}H_{20}$ | 140. 15 | 0. 65 | - |
| 16 | 18. 414 | 1, 2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester 单(2-乙基己基)-1, 2 笨二羧酸酯 | $C_{16}H_{22}O_4$ | 278. 15 | 0. 68 | - |
| 17 | 19. 137 | Nonadecanoic acid, ethyl ester 十九烷酸乙酯 | $C_{21}H_{42}O_2$ | 326. 31 | - | 1. 93 |
| 18 | 19. 159 | Hexacosane 二十六烷 | $C_{26}H_{54}$ | 336. 42 | 1. 06 | - |
| 19 | 21. 012 | Eicosanoic acid, ethyl ester 二十酸乙酯 | $C_{22}H_{44}O_2$ | 340. 33 | - | 0. 95 |
| 20 | 21. 072 | Heneicosane 二十一烷 | $C_{21}H_{44}$ | 296. 34 | 1. 42 | - |
| 21 | 23. 546 | Ethyl tetracosanoate 木焦油酸乙酯 | $C_{26}H_{52}O_2$ | 396. 39 | - | 3. 17 |
| 22 | 23. 797 | Octadecane 十八烷 | $CH_3(CH_2)_{16}CH_3$ | 254. 29 | 0. 88 | - |
| 23 | 24. 689 | Squalene 角鲨烯 | $C_{30}H_{50}$ | 410. 39 | - | 47. 82 |
| 24 | 24. 994 | Squalene 角鲨烯 | $C_{30}H_{50}$ | 410. 39 | 72. 51 | - |
| 25 | 26. 330 | Tetracosanoic acid, 2, 9-dimethyl-, methyl ester, 2, 9-二甲基-二十四酸甲酯 | $C_{27}H_{54}O_2$ | 410. 41 | - | 0. 82 |
| 26 | 26. 517 | Tricosane 三十三烷 | $C_{33}H_{68}$ | 324. 37 | 3. 08 | - |
| 27 | 28. 112 | Nonacosane 二十九烷 | $C_{29}H_{60}$ | 408. 47 | - | 1. 13 |
| 28 | 28. 305 | Eicosane 二十烷 | $C_{20}H_{42}$ | 282. 32 | - | 2. 20 |
| 29 | 29. 703 | Cyclononasiloxane, octadecamethyl-十八甲基环壬硅氧烷 | $C_{18}H_{54}O_9Si_9$ | 666. 16 | - | 0. 85 |
| 30 | 30. 114 | Pentacosanoic acid, 2, 10-dimethyl-, methyl ester, 2, 10-二甲基-二十五酸甲酯 | $C_{28}H_{56}O_2$ | 424. 42 | - | 2. 43 |
| 31 | 30. 131 | Triacontane 蜂花烷 | $CH_3(CH_2)_{28}CH_3$ | 422. 48 | 0. 66 | - |
| 32 | 31. 365 | Cholestan-7-one-3-(acetyloxy)-(3. beta., 5. alpha.)-(3. beta., 5. alpha.)-3-(乙酰氧基)-胆甾烷-7 酮 | $C_{29}H_{48}O_3$ | 444. 36 | 0. 957 | - |

由图 1 和表 1 表明,利用 GC-MS 技术,从石油醚提取物 A 中分离出 51 种成分,鉴定了 16 种主要

化学成分,占总含量的 91. 82%,其含量较多的成分为角鲨烯(结构见图 3)(72. 51%)、三十三烷

(3.08%)、(E,E,E)-3,7,11,16-四甲基-2,6,10,14-十六碳四烯-1-醇(2.45%)和十四烷(2.06%)。从石油醚提取物 B 中分离出 47 中成分,鉴定了 16 种主要化学成分,占总含量的 87.05%,其含量较多的成分为角鲨烯(47.82%)、棕榈酸乙酯(11.69%)、硬脂酸乙酯(5.43%)、棕榈酸甲酯(3.14%)和木焦油酸乙酯(3.17%)。

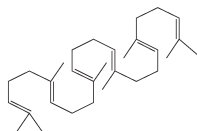


图 2 角鲨烯结构

Fig. 2 Chemical structure of squalene

由图 3 可知,角鲨烯化学结构属开链三萜,是一种高度不饱和烃类化合物,具有强抗氧化能力和多样的生物活性,参与生物体内的多种生理活动,具有提高体内超氧化物歧化酶(SOD)活性、增强机体免疫能力、改善性功能、抗衰老、抗疲劳、抗肿瘤,用于各种缺氧性疾病、心脏病、肝炎和癌症的防治,是一种无毒性的具有防病治病作用的海洋生物活性物质,也是各类药物和保健食品的重要组成成分^[6]。角鲨烯最初从鲨鱼肝油中提取,如铠鲨肝油中角鲨烯含量为 40%~74%,小刺鲨肝油中含 49%~89%,扁鲨、翅鲨等含量小于 1.5%^[7],随着对海洋生物保护的重要性,仅仅靠动物油脂提取角鲨烯的传统方法面临着严峻的资源性限制。从植物中提取角鲨烯逐在发展,主要从橄榄油和棕榈油中提取^[8],但橄榄油和棕榈油均是食用油,用于提取角鲨烯也具有一定的限制。

4 结论

青枣核果木枝叶石油醚提取物脂溶性成分中角鲨烯含量较高,而提取物 A 和 B 除了角鲨烯成分相同,其它成分均不同,其中提取物 A 含七种长链烷烃化合物:十七烷、二十一烷、二十二烷、二十六烷、

二十八烷、三十烷、三十三烷。提取物 B 其它成分主要为脂肪酸酯类。

本实验从青枣核果木枝叶石油醚部位的脂溶性成分 A、B 中得到角鲨烯含量分别为 72.51% 和 47.82%,说明青枣核果木具有潜在的抗氧化等药理活性和研究价值,而与青枣核果木同属植物海南核果木已被研究表明具有较强的抗氧化活性^[9],因此进一步探索研究青枣核果木具有重要的意义。

参考文献

- 1 Dalziel MJ. The useful plants of west tropical Africa. London: The Crown Agents for the Colonies, 1937. 140-141.
- 2 Irvine FR. Woody Plants of Ghana. London: Oxford University Press, 1961. 223-226.
- 3 Walker AR, Sillans R, Trochain JL. Les Plantes utiles du Gabon Ed. Paris: Paul Lechevalier 12-Rue de Tounron, 1961. 165-166.
- 4 Lai PH(赖普辉), Tian GH(田光辉), Gao YN(高艳妮). GC-MS analysis of the composition of petroleum extraction from stem of *Panax japonicus*. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2008, 36: 10026-10027.
- 5 Zhou B(周波), Zhou J(周静). GC-MS study on volatile oil composition of *Glycosmis citrifolia* (Willd.) Lindl. *J Chin Med Mater* (中药材), 2004, 27: 640-645.
- 6 Li H(李和), Ruan DL(阮栋梁), Li YG(李玉帼). Separation and identification of squalene in liver oil from *Mustelus griseus*. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物), 2004, 3: 34-35.
- 7 Dai YH(戴宇航). Research on technology of separation and purification of squalene from olive oil. Tianjin: Tianjin University (天津大学), MSc. 2009.
- 8 Zhao ZD(赵振东), Sun Z(孙震). Research progress on natural resources and application of the bioactive substance-squalene. *Chem Ind Forest Prod* (林产化学与工业), 2004, 24: 107-112.
- 9 Chen DL(陈德力), Xiao M(肖曼), Liu PH(刘平怀). Antioxidant activity of extracts from *Drypetes Hainanensis* Merr. *Fine Chem* (精细化工), 2011, 28: 1103-1106.