

· 热带植物 ·

DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20220110



主持人:徐 冉

石碌含笑花苞和叶片的精油化学成分分析及 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究

钱昌明¹, 吴文滔², 陈 健¹, 宋希强², 赵 莹²

(1. 海南大学 食品科学与工程学院, 海口 570228; 2. 海南大学 林学院/热带特色林木花卉遗传与种质创新教育部重点实验室/海南省热带特色花木资源生物学重点实验室, 海口 570228)

摘 要: 本研究以石碌含笑 (*Michelia shiluensis*) 为原材料, 利用水蒸气蒸馏法提取石碌含笑花苞和叶片的精油, 经过处理后利用气相色谱-质谱联用技术 (GC-MS) 测定其挥发油的组成成分。GC-MS 分析结果表明, 两种精油的主要成分均为倍半萜类化合物。从花苞中共鉴定出 39 个化学成分, 其中相对含量最高的 3 个分别为 β -红没药烯、 α -姜黄烯及 β -榄香烯。从叶片中共鉴定出 31 个化学成分, 主要有愈创木醇、异愈创木醇、(Z, Z, Z)-1, 8, 11, 14-十七碳四烯等。醇类和烯炔类成分的相对含量是区分石碌含笑花苞和叶片精油的重要指标。首次分析了石碌含笑精油成分并测定含笑属植物精油对 α -葡萄糖苷酶活性。当质量浓度为 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 叶片和花苞对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制率分别为 87.13%、72.27%, IC_{50} 分别为 $(0.73 \pm 0.04) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $(1.77 \pm 0.07) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。石碌含笑精油具有较强的抑制 α -葡萄糖苷酶活性的作用, 可作为降血糖功效因子加以开发利用, 同时为石碌含笑资源高值化利用提供理论依据。

关键词: 石碌含笑; 精油; 气相色谱-质谱联用技术; 化学成分

中图分类号: Q946.85 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-7054 (2024) 03-0290-09

钱昌明, 吴文滔, 陈健, 等. 石碌含笑花苞和叶片的精油化学成分分析及 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究 [J]. 热带生物学报, 2024, 15(3): 290-298. doi: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20220110

糖尿病是由胰岛素分泌缺陷或胰岛素作用障碍引起的高血糖为特征的代谢性疾病, 是三大慢性疾病之一^[1]。我国的糖尿病患者人数居世界首位, 其中 II 型糖尿病是糖尿病的主要类型, 人数约占总患者的 90%^[2-4]。 α -葡萄糖苷酶可以抑制糖苷酶活性和延缓餐后血糖浓度的上升, 在治疗 II 型糖尿病中具有显著优势^[5]。目前临床应用的 α -葡萄糖苷酶抑制剂药物如阿卡波糖、伏格列波糖等, 其对人体肠道和肝脏均具有副作用^[6]。因此, 开发安全价廉的天然辅助降血糖物质具有重要意义。常用的挥发油提取方法主要有水蒸气蒸馏法、溶剂浸取法、超临界 CO_2 萃取法等^[7]。超临界 CO_2 萃

取法出油率高, 设备昂贵, 且成本较高; 有机溶剂浸提法操作简单, 但耗时长, 挥发油品质不高, 易有溶剂或杂质存留; 而水蒸气蒸馏法成本低, 操作简便, 无污染, 且脂溶性组分损失少, 适合规模生产。石碌含笑 (*Michelia shiluensis*, *M. shiluensis*) 属木兰科 (Magnoliaceae) 含笑属 (*Michelia* Linn) 植物, 也是海南特有树种和国家 II 级濒危保护植物^[8-9], 主要分布于海南省的中部以及南部的山区, 其他地区也有少量分布, 是热带和亚热带地区极具发展前景的珍贵树种。精油是植物衍生的产品, 通常由数十至数百种挥发性化合物组成, 富含许多重要的活性成分, 已经应用于化妆品、食品、医药

收稿日期: 2022-12-10

修回日期: 2023-05-10

基金项目: 海南省重点研发项目 (ZDYF2020099、ZDYF2022XDNY179) 和中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金 (1630052021015)

第一作者: 钱昌明 (1997-), 男, 海南大学食品科学与工程学院 2020 级硕士研究生。E-mail: qianchangming163@163.com.

通信作者: 赵莹 (1984-), 女, 副教授, 研究方向: 热带花卉遗传改良。E-mail: zhaosummer@hainanu.edu.cn

以及生物科技等领域^[10-11]。木兰科含笑属植物的精油多具有芳香气味且具有抗氧化、抑菌等生物活性,如白兰(*Michelia alba*)和台湾含笑(*Michelia compressa*)精油的抗真菌活性^[12-13]。黄心夜合(*Michelia martini*)多个部位中的挥发油在体外和体内实验中都表现出较强的抗氧化和降血脂的活性^[14]。目前,有关石碌含笑的研究主要集中在繁育栽培、种群结构等,而关于石碌含笑精油与其相关活性的研究尚未见有报道^[15-16],故选用石碌含笑栽培种的花苞和叶片作为原料,用水蒸气蒸馏法提取精油,通过GC-MS分析精油中的挥发性成分,并探讨精油对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用,为石碌含笑资源高值化利用提供新思路,同时也为其在降血糖功能的深入研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 2021年4月于海南省海口市采集长势良好,树龄超10年的石碌含笑花蕾期的新鲜花苞和叶片。该植株花期为4月下旬至5月下旬,花蕾期为4月上旬至中旬。乙醚(分析纯):四川西陇科学有限公司;二甲基亚砜(DMSO):天津富宇精细化工有限公司;磷酸氢二钠:西陇科学股份有限公司;磷酸二氢钠:西陇科学股份有限公司; α -葡萄糖苷酶、对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷(PNPG):Sigma Chemical。

1.2 仪器与设备 气相色谱-质谱联用仪(7820-5977):安捷伦公司,美国;全波长多功能酶标仪(Synergy H1):Bio-Tek,美国;电子秤(EN2062):上海民侨精密科学仪器有限公司;电热套(98-1B):天津泰斯特仪器有限公司。

1.3 石碌含笑精油的提取 将石碌含笑新鲜的花苞和叶片分别进行剪碎处理,将280.5 g花苞和589.5 g叶片分别放进圆底烧瓶中加入蒸馏水浸没进行水蒸气蒸馏提取,煮沸后连续提取8 h直至精油不再增加后转移出上层精油部分,利用乙醚萃取, $V_{\text{乙醚}}:V_{\text{精油}}=1:1$,萃取3次,放置样品至其中的乙醚完全挥发后,称取精油质量,获得花苞精油0.30 g,叶片精油0.28 g,提取率分别为0.11%和0.05%。将精油密封避光,置于冰箱4℃保存。

1.4 GC-MS分析条件 气相色谱条件:采用HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m)弹性石英毛细管柱;升温程序:柱温

50℃,以5℃ \cdot min⁻¹升温至310℃,保持10 min;汽化室温度为250℃;载气为高纯He(99.999%);柱前压43 kPa,载气(He)流速1.0 mL \cdot min⁻¹;进样量1.0 μ L,进样方式采用不分流进样,溶剂延迟时间为4 min。

质谱条件:电子轰击(EI)离子源,电子能量70 eV,接口温度280℃,离子源温度230℃,四级杆温度150℃,调谐方式为标准调谐,电子倍增电压1 718 kV,质量扫描范围为40~800 m/z。

1.5 α -葡萄糖苷酶抑制活性的测定 采用PNPG法对两个部位精油进行 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定^[17]。配制0.1 mol \cdot L⁻¹, pH6.8磷酸盐缓冲溶液(PBS);利用PBS溶解 α -葡萄糖苷酶配制0.2 U \cdot mL⁻¹ α -葡萄糖苷酶溶液;配制2.5 mmol \cdot L⁻¹的PNPG溶液;DMSO溶解配制1.5 mmol \cdot L⁻¹金雀异黄酮溶液作为阳性对照,溶解样品配制初始浓度为3 g \cdot L⁻¹。取450 μ L α -葡萄糖苷酶溶液与45 μ L待测样品溶液混合摇匀,空白对照和本底对照也是加入45 μ L待测样品溶液(3次重复),阴性对照为45 μ L DMSO溶液,阳性对照为45 μ L金雀异黄酮溶液,在96孔板反应15 min后,空白和本底对照中加入40 μ L PBS溶液,阴性对照、阳性对照以及其余待测样品溶液中加入40 μ L PNPG溶液,反应15 min后在405 nm波长下测定每孔的吸光度(OD)。计算公式如下:

$$\text{抑制率} = \frac{OD_{\text{阴}} - (OD_{\text{样}} - OD_{\text{本底}})}{(OD_{\text{阴}} - OD_{\text{空}})} \times 100\%$$

式中, $OD_{\text{阴}}$:阴性对照吸光度值; $OD_{\text{本底}}$:本底的吸光度值; $OD_{\text{样}}$:待测样品的吸光度值; $OD_{\text{空}}$:空白对照吸光度值。

1.6 数据统计与分析 所有试验重复进行3次,采用SPSS 26.0软件进行单因素分析(One-way ANOVA)和邓肯检验(Duncan's test)并进行均值比较($P < 0.05$),结果以均值 \pm 标准偏差来表示,采用Excel 2022软件对分析后的试验数据进行处理并作图。

2 结果与分析

2.1 两种精油的化学成分分析 按上述GC-MS条件对花苞和叶片的精油的化学成分进行分析,得到花苞和叶片的精油的总离子流色谱图(图1),用峰面积归一化法计算所鉴定化合物的相对百分含量,两个部位成分种类及含量分析结果见表1。

图1表明,在保留时间0~25 min内的离子流和峰面积差异不明显,在保留时间25~40 min内,花苞挥发油的离子流强度和峰面积均较大。花苞和叶片的挥发油的峰最高强度和峰面积最大值均出现在保留时间20 min左右,其化学成分分别为 β -红没药

烯和愈创木醇。保留时间在15~28 min的化合物主要为倍半萜类成分。从两种挥发油中鉴定出的化合物的总相对含量分别达到99.99%和100%,较为充分地实现分析两种挥发油的目的。

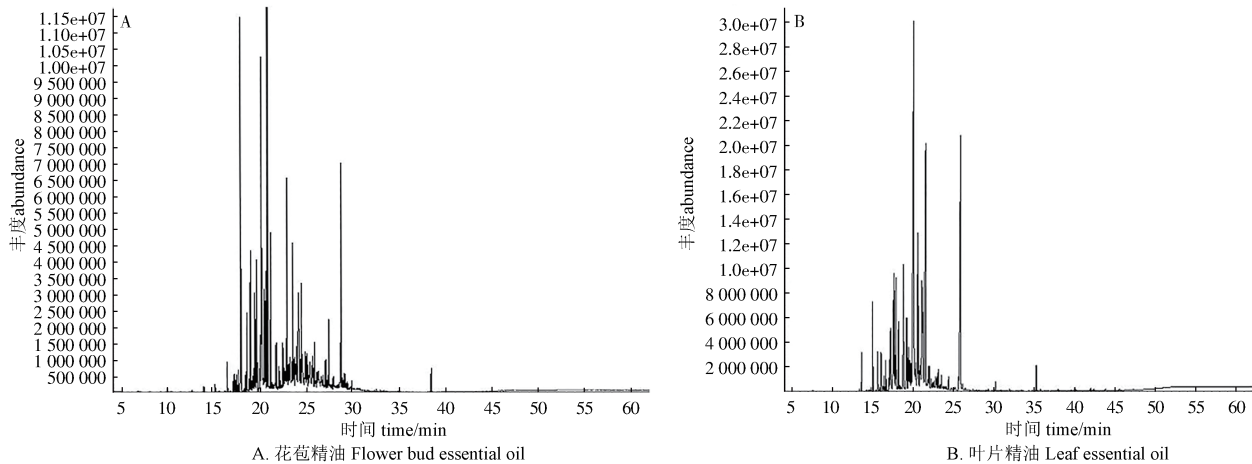


图1 石碌含笑精油气相色谱-质谱联用总离子流图(A)花苞精油(B)叶片精油

Fig. 1 GC-MS total ion flow diagram of the essential oil of *M. shiluensis* (A) Flower bud essential oil (B) Leaf essential oil

表1 石碌含笑花苞和叶片精油成分组成

Tab. 1 Composition of the essential oils from buds and leaves of *M. shiluensis*

编号 No.	化合物名称 Compound name	分子式 Molecular formula	保留时间/min Retention time/min		相对含量/% Relative content/%	
			花苞 Flower bud	叶片 Leaf	花苞 Flower bud	叶片 Leaf
			1	δ -Elemene δ -榄香烯	$C_{15}H_{24}$	16.432
2	β -Elemene β -榄香烯	$C_{15}H_{24}$	17.887	15.032	9.7	1.98
3	(-)- α -Santalene (-)- α -檀香烯	$C_{15}H_{24}$	18.557	-	2.12	-
4	γ -Elemene γ -榄香烯	$C_{15}H_{24}$	18.896	16.035	1.35	0.83
5	Trans- β -bergamotene 反式- β -波旁烯	$C_{15}H_{24}$	18.943	-	2.98	-
6	Guaia-6,9-diene 6,9-愈创二木烯	$C_{15}H_{24}$	19.151	-	0.58	-
7	(-)-Isolodene (-)-异喇叭烯	$C_{15}H_{24}$	19.299	-	0.8	-
8	(E)- β -Farnesene (Z)- β -金合欢烯	$C_{15}H_{24}$	19.43	-	2.07	-
9	(+)-Aromandendrene (+)-香橙烯	$C_{15}H_{24}$	19.62	-	3.06	-
10	γ -Cadinene γ -杜松烯	$C_{15}H_{24}$	19.982	-	1.38	-
11	α -Curcumene α -姜黄烯	$C_{15}H_{24}$	20.13	17.257	10.27	2.02
12	(Z)- β -Farnesene (Z)- β -金合欢烯	$C_{15}H_{24}$	20.189	-	3.48	-
13	Zingiberene α -姜油烯	$C_{15}H_{24}$	20.409	17.602	2.86	2.84
14	β -Maaliene β -马榄烯	$C_{15}H_{24}$	20.587	17.708	3.41	2.52
15	β -Bisabolene β -红没药烯	$C_{15}H_{24}$	20.771	17.898	10.64	2.7
16	Butylated hydroxytoluene 2,6-二叔丁基对甲酚	$C_{15}H_{24}O$	20.836	17.952	0.72	0.44

续表1 Tab. 1 continued

编号 No.	化合物名称 Compound name	分子式 Molecular formula	保留时间/min		相对含量/%	
			Retention time/min		Relative content/%	
			花苞 Flower bud	叶片 Leaf	花苞 Flower bud	叶片 Leaf
17	β -Sesquiphellandrene β -倍半水芹烯	C ₁₅ H ₂₄	21.104	18.225	3.22	1.67
18	Elemol 榄香醇	C ₁₅ H ₂₆ O	21.703	18.824	0.94	4.4
19	Spatulenol 桉油烯醇	C ₁₅ H ₂₄ O	22.403	19.436	1.37	1.71
20	Guaiol 愈创木醇	C ₁₅ H ₂₆ O	22.878	20.112	5.48	25.22
21	Eremophila-9,11(13)-dien-12-ol 艾里莫芬-9,11(13)-二烯-12醇	C ₁₅ H ₂₄ O	23.05	-	0.98	-
22	Zingiberenol 姜醇	C ₁₅ H ₂₆ O	23.181	21.934	2.63	0.44
23	γ -Eudesmol γ -桉叶油醇	C ₁₅ H ₂₆ O	23.383	20.706	0.7	3.12
24	(-)-Globulol (-)-蓝桉醇	C ₁₅ H ₂₆ O	23.513	19.578	3.59	1.56
25	—		23.733	-	0.65	-
26	Guaiol acetate 愈创木酚乙酸酯	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	23.798	-	1	-
27	Aristolol 马兜铃烯	C ₁₅ H ₂₄	23.935	-	1.39	-
28	β -Eudesmol β -桉叶醇	C ₁₅ H ₂₆ O	24.083	21.109	2.08	3.8
29	α -Eudesmol α -桉叶醇	C ₁₅ H ₂₆ O	24.13	21.181	3.5	2.79
30	Caryophyllene oxide 氧化石竹烯	C ₁₅ H ₂₄ O	24.326	25.65	2.4	0.39
31	Bulnesol 异愈创木醇	C ₁₅ H ₂₆ O	24.439	24.439	3	11.76
32	Trans-longipinocarveol 反式长叶香芹醇	C ₁₅ H ₂₄ O	25.015	-	0.9	-
33	6-Isopropenyl-4,8a-dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-naphthalen-2-ol 6-异丙烯基-4,8a-二甲基-1,2,3,5,6,7,8,8a-八氢萘-2-醇	C ₁₅ H ₂₄ O	25.318	-	0.89	-
34	3-Isopropyl-6,7-dimethyltricyclo[4.4.0.0(2,8)]decane-9,10-diol 3-异丙基-6,7-二甲基三环[4.4.0.0(2,8)]癸烷-9,10-二醇	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	25.632	-	0.81	-
35	4-(2,2,6-Trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]hept-4-en-1-yl)pent-3-en-2-one 4-[2,2,6-三甲基-7-氧杂二环[4.1.0]庚-1-基]-3-丁烯-2-酮	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	25.864	-	1.01	-
36	Valerenal 缬草烯醛	C ₁₅ H ₂₂ O	26.232	-	0.53	-
37	Isoaromadendrene epoxide 异香橙烯环氧化物	C ₁₅ H ₂₄ O	27.033	-	0.63	-
38	1,7-Dimethyl-4-(1-methylethyl)-Spiro[4.5]dec-6-en-8-one 1,7-二甲基-4-(1-甲基乙基)-螺[4.5]癸-6-烯-8-酮	C ₁₅ H ₂₄ O	28.612	-	0.63	-
39	(Z,Z,Z)-1,8,11,14-Heptadecatetraene (Z,Z,Z)-1,8,11,14-十七碳四烯	C ₁₇ H ₂₈	28.73	25.893	5.59	13.54
40	Bicycloelemene 双环榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	-	13.631	-	0.89
41	Caryophyllene 石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	-	15.649	-	0.9
42	Alloaromadendrene 香树烯	C ₁₅ H ₂₄	-	16.652	-	0.68
43	γ -Muurolene γ -衣兰油烯	C ₁₅ H ₂₄	-	17.05	-	0.38
44	Germacrene-D 大牛儿烯-D	C ₁₅ H ₂₄	-	17.151	-	1.45
45	Bicyclogermacrene 双环-大根老鹳草烯	C ₁₅ H ₂₄	-	17.542	-	1.46

续表 1 Tab. 1 continued

编号 No.	化合物名称 Compound name	分子式 Molecular formula	保留时间/min Retention time/min		相对含量/% Relative content/%	
			花苞 Flower bud	叶片 Leaf	花苞 Flower bud	叶片 Leaf
46	(<i>E</i>)-3,7,11-trimethyl-1,6,10-Dodecatrien-3-ol 反式-橙花叔醇	C ₁₅ H ₂₆ O	-	19.216	-	2.81
47	Viridiflorol 绿花白千层醇	C ₁₅ H ₂₆ O	-	19.756	-	5.71
48	2-Ethylbutyric acid, phenethyl ester 乙酸苯乙酯	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	-	20.949	-	0.57
49	(<i>E</i>)-1-(1,3-dimethyl-1,3-butadienyl)-2,2,6-trimethyl-7-oxabicyclo [4.1.0]heptane (<i>E</i>)-1-(1,3-二甲基-1,3-丁二烯基)-2,2,6-三甲基-7-氧杂双环[4.1.0]庚烷	C ₁₅ H ₂₄ O	-	23.121	-	0.48
50	(-)-Spathulenol (-)-斯巴醇	C ₁₅ H ₂₄ O	-	23.513	-	0.39
51	2,2'-Methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-phenol] 2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	-	35.265	-	0.56

注：“-”指未检测到该成分。

Note: “-” means the component is not detected.

石碌含笑花苞精油中共分离鉴定出 39 个化学成分(表 1),它们的化学结构包括 36 个倍半萜和 3 个其他类型物质。花苞精油中包含多种特征香气成分及生物活性成分,其中 β -红没药烯(10.64%)、 α -姜黄烯(10.27%)、 β -榄香烯(9.70%)、(*Z, Z, Z*)-1, 8, 11, 14-十七碳四烯(5.59%)、愈创木醇(5.48%)相对含量较高。C₁₅H₂₄的 17 种同分异构体都为倍半萜烯类化合物;C₁₅H₂₄O 的 8 种同分异构体有 4 种是倍半萜醇类,2 种倍半萜氧化物类,1 种倍半萜酚类、1 种倍半萜酮类;C₁₅H₂₆O 的 8 种同分异构体都为倍半萜醇类。石碌含笑叶片精油中共鉴定出 31 个化学成分(表 1),主要是倍半萜醇类化合物,主要成分有愈创木醇(25.22%)、异愈创木醇(11.76%)、(*Z, Z, Z*)-1, 8, 11, 14-十七碳四烯(13.54%)、[1aR-(1a α , 4 β , 4a β , 7 α , 7a β , 7b α)]-十氢-1, 1, 4, 7-四甲基-1H-环丙烷[e]天青-4-醇(5.71%)、 α -桉叶油醇(3.79%)、 β -桉叶油醇(3.8%)、

γ -桉叶油醇(3.12%)等。叶片精油中仅有 C₁₅H₂₄(13 种)、C₁₅H₂₄O (4 种)、C₁₅H₂₆O (10 种)3 类同分异构体,C₁₅H₂₄的 13 种同分异构体都为倍半萜烯类化合物;C₁₅H₂₄O 的同分异构体有 2 种是倍半萜醇类,1 种倍半萜氧化物类,1 种倍半萜酚类;C₁₅H₂₆O 的同分异构体都为倍半萜醇类。

表 1 和表 2 所示,花苞和叶片精油中含有相同的化学成分,但各成分相对含量有所差异,两种精油共有的成分 18 个,愈创木醇、异愈创木醇、 α -姜黄烯等主要成分含量有明显差异。两个部位精油的组成均以醇类和烯烃类为主,花苞中的烯烃类物质有 18 个(65.55%), β -红没药烯、 α -姜黄烯以及 β -榄香烯为主要成分,醇类物质有 14 个(27.82%),含量最高的是愈创木醇。 β -榄香烯具有抑制肿瘤生长,增强脾脏和胸腺免疫功能的功效,这与其结构中的三个不饱和双键密切相关^[18-19]。 β -红没药烯属于姜辣素,姜辣素可以显

表 2 石碌含笑花苞和叶片的主要成分

Tab. 2 Main compounds of the essential oils from buds and leaves of *M. shiluensis*

部位 Part	烯烃类/% Olefins/%	醇类/% Alcohols/%	酚类/% Phenolics/%	脂类/% Lipids/%	醛类/% Aldehydes/%	酮类/% Ketones/%	其他/% Others/%
花苞 Flower bud	65.55	27.82	0.72	-	0.53	1.64	3.68
叶片 Leaf	33.86	64.76	1.00	0.57	-	-	0.39

注：“-”指未检测到该类化合物。

Note: “-” means that no such compound is detected.

著降低小鼠的血糖值^[20]。 α -姜黄烯、 β -红没药烯及姜醇等存在的异戊烯基团可能对化合物提高 α -葡萄糖苷酶的抑制作用具有一定的影响。Zhang等^[21]通过构效关系研究发现1个额外的异戊烯基团可以提高 α -葡萄糖苷酶的抑制作用。叶片精油中主要烯烃类物质有14个(33.86%),含量最高的是 α -姜油烯,醇类物质有14个(64.76%),主要醇类物质是愈创木醇和异愈创木醇。愈创木醇和异愈创木醇是一类七元环偶联结构的倍半萜烯化合物,该类型的化合物多数具有乙酰胆碱酯酶抑制活性,且愈创木烷型倍半萜糖苷的C-10位羟基可能具有重要的抗炎活性^[22-23]。有研究表明,愈创木醇可以抑制M2巨噬细胞而达到抗肺癌的作用^[24]。

2.2 两种精油对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性 石碌含笑花苞和叶片的精油对 α -葡萄糖苷酶($0.2 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$)的抑制率见图2、图3。活性测试实验结果表明,以金雀异黄酮 $[\text{IC}_{50}=(20.55 \pm 2.66) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}]$ 为阳性对照,两种挥发油的质量浓度在 $0.75 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 后,其对 α -葡萄糖苷酶的抑制率均出现明显的增加。当浓度为 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,石碌含笑叶片挥发油对 α -葡萄糖苷酶的抑制率达到87.13%, $\text{IC}_{50}=(0.73 \pm 0.04) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;花苞挥发油对 α -葡萄糖苷酶的抑制率为72.27%,其 $\text{IC}_{50}=(1.77 \pm 0.07) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。这表明石碌含笑叶片和花苞中的一些成分可能具有一定的降血糖活性,且叶片中挥发油的抑制率较高于花苞挥发油的抑制率,这种抑制作用可能是由于石碌含笑叶片挥发油中存在大量倍半萜醇类^[25]。廖天柱^[26]对六种含笑属植物提取物进行 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 研究表明,醉香含笑(*Michelia macclurei*)的抑制活性最为显著, IC_{50} 为 $(0.69 \pm 0.06) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,其次是多花含笑(*Michelia floribunda*) $[\text{IC}_{50}=(1.33 \pm 0.12) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}]$ 、深山含笑(*Michelia maudia*) $[\text{IC}_{50}=(1.61 \pm 0.14) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}]$ 、乐昌含笑(*Michelia chapensis*) $[(3.15 \pm 0.31) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}]$ 、台湾含笑(*Michelia compressa*) $(\text{IC}_{50}=(5.33 \pm 0.34) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1})$ 和阔瓣含笑(*Michelia platy-petala*) $[\text{IC}_{50}=(6.26 \pm 0.43) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}]$ 。相较于乐昌含笑、阔瓣含笑和台湾含笑,石碌含笑挥发油对 α -葡萄糖苷酶表现出显著的抑制作用。尽管体外抑制酶活性表现一般,但不能完全否定石碌含笑提取物在医疗美容、降血糖药物研发等领域的开发潜力和应用价值。石碌含笑挥发油的降血糖活性表现一般,也可能是与植物的生长环境、提取溶剂以及提取方式

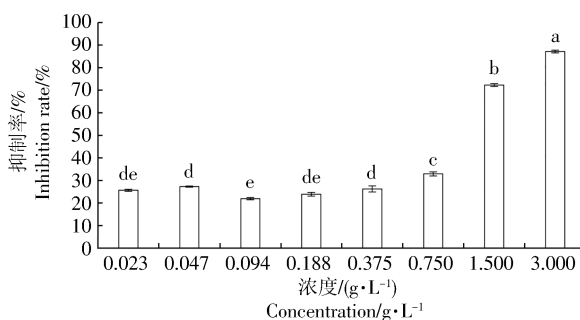


图2 叶片精油抑制率变化曲线

Fig. 2 Inhibitory rate variation curves of leaf essential oils

不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。

Different letters indicate differences between treatments

($P < 0.05$).

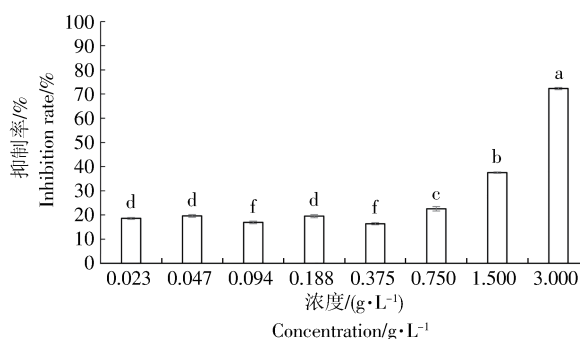


图3 花苞精油抑制率变化曲线

Fig. 3 Inhibitory rate variation curves of bud essential oils

不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。

Different letters indicate differences between treatments ($P < 0.05$).

有关^[27-28]。

3 讨论

α -葡萄糖苷酶将低聚糖或二糖水解为可吸收的单糖,从而促进人体对碳水化合物的吸收。当其活性被抑制时,能有效降低对碳水化合物的消化速率,从而达到降低餐后血糖的目的^[29]。天然来源的 α -葡萄糖苷酶抑制剂具有安全疗效、副作用小等优点,天然酶抑制剂的研发成为现在医药研究领域的研究热点^[30-31]。目前尚未见有关于石碌含笑挥发油的成分分析和含笑属植物挥发油对 α -葡萄糖苷酶抑制活性的报道。

本研究通过GC-MS对石碌含笑花苞和叶片的精油进行化学成分分析以及测定了两个部位精油的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。研究表明,在花苞和叶片的精油的组分分析中分别得到39个和31个化学成分,两个部位精油的组成都是以倍半萜醇类和倍半萜烯烃类为主,这与文献^[32]报导

的相似,且醇类和烯炔类相对含量的差异是区别两种精油的重要指标。花苞的挥发油成分较为丰富,可能与组织结构里有利于释放挥发油的栅栏组织和海绵组织类型有关,而且细胞排列方式、释放挥发油成分的分泌细胞也有影响^[33]。两个部位挥发油化学组成有一定的相似性,有18种成分一致,分别占叶片精油的58.06%、花苞精油的46.15%,花苞的烯炔类物质有18种,以 β -红没药烯、 α -姜黄烯、 α -桉叶油醇以及 β -榄香烯为主要成分;醇类物质有14种,含量最高的是愈创木醇;其中 β -榄香烯存在于大多数含笑属植物挥发油中^[34-35]。桉叶油醇能诱导人肝癌细胞的凋亡,对肝癌细胞具有抗增殖活性;可利用桉叶油醇抑制肿瘤血管的生成和肿瘤的增殖达到治疗的效果;桉叶油醇是未来治疗胆管癌的潜在药物^[36-38]。 β -榄香烯和姜烯作为植物精油中常见的主要成分,已被报道具有一定的抗癌活性^[39-41]。 β -榄香烯能抑制肺癌细胞生长,为治疗肺癌细胞提供了一种新的方法^[42]。汪洪武等^[43]的研究表明含笑花的主要成分为倍半萜醇类和倍半萜烯炔类物质,主要包括 β -榄香烯、愈创木醇等成分,其中大牻牛儿烯B、长蠕孢吉码烯、丁香烯和 β -榄香烯等构成了含笑特有香味。叶片主要烯炔类物质有14种,主要醇类物质有14种,主要醇类物质是愈创木醇和异愈创木醇。愈创木醇能够直接作用于寄生虫,同时对于非小细胞肺癌也具有明显的抑制作用^[44]。

石碌含笑叶片和花苞的挥发油对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 值分别为 $(0.73\pm 0.04)g\cdot L^{-1}$ 和 $(1.77\pm 0.07)g\cdot L^{-1}$,叶片挥发油高于花苞挥发油可能是因为叶片挥发油中存在大量倍半萜醇类,这与祁悦等^[45]对喙花姜的块茎和根中的挥发油的研究一致,块茎和根的挥发油主要为单萜和倍半萜,且表现出一定的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。同时,陆廷亚等^[46]通过实验证明大高良姜地下根茎挥发油对 α -葡萄糖苷酶表现出一定的抑制作用,其中的挥发油成分也主要为倍半萜等。植物精油中成分较为复杂,虽然许多木兰科植物的精油能够表现出 α -葡萄糖苷酶抑制作用,但具体与 α -葡萄糖苷酶发生结合的组分以及结合的强度尚不清晰。后续试验可以通过体内实验验证这些具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性的组分在体内的降血糖作用及机制。由于精油对酶抑制作用的强弱以及体外实验的局限性,精油是否能够降低人体血糖或者作为降血糖药物的辅助剂,

这仍需要通过进一步的实验验证。

4 结论

从水蒸气蒸馏法提取的石碌含笑花苞和叶片的精油中分别检测到39个和31个化学成分,都以倍半萜醇类和倍半萜烯炔类为主。两种精油共有的成分18个,其中愈创木醇、异愈创木醇、 α -姜黄烯等主要成分含量有明显差异,且醇类和烯炔类相对含量的差异是区别两种精油的重要指标。研究表明,石碌含笑叶片挥发油对 α -葡萄糖苷酶的抑制率达到87.13%, IC_{50} 为 $(0.73\pm 0.04)g\cdot L^{-1}$;花苞挥发油对 α -葡萄糖苷酶的抑制率为72.27%,其 IC_{50} 为 $(1.77\pm 0.07)g\cdot L^{-1}$ 。石碌含笑的花苞和叶片的精油具有良好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,为石碌含笑资源的综合利用及高值化加工提供新思路,也为其在降血糖等方面的研究提供理论依据。

参考文献:

- [1] 孙晶,魏静,杨洋,等.茄皮提取物对糖尿病小鼠的降血糖作用[J].现代食品科技,2022,38(9):10-17.
- [2] 李文娟,吴伟,万敏,等.木姜叶柯降血糖作用研究进展[J].现代食品科技,2022,38(4):292-297.
- [3] 杨玉洁,刘静宜,谭艳,等.多糖降血糖活性构效关系及作用机制研究进展[J].食品科学,2021,42(23):355-363.
- [4] 石嘉烽,张冉,梁富强,等.谷物植物化学物中 α -葡萄糖苷酶抑制剂的筛选及其分子机制[J].食品科学,2021,42(5):9-16.
- [5] 鄧丽超,张琳依,梁馨元,等.天然活性成分对 α -葡萄糖苷酶抑制作用的研究进展[J].食品安全质量检测学报,2021,12(6):2276-2282.
- [6] AJMAL SHAH M, KHALIL R, UL-HAQ Z, et al. α -Glucosidase inhibitory effect of rhinacanthins-rich extract from *Rhinacanthus nasutus* leaf and synergistic effect in combination with acarbose [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 36: 325-331.
- [7] 李潮俊,何鑫柱,陈凯,等.花椒挥发油的生物活性及提取方法研究进展[J].农产品加工,2022(17):102-106.
- [8] 于永福.中国野生植物保护工作的里程碑:《国家重点保护野生植物名录(第一批)》出台[J].植物杂志,1999(5):3.
- [9] XIONG J, WANG L J, QIAN J, et al. Structurally diverse sesquiterpenoids from the endangered ornamental plant *Michelia shiluensis* [J]. Journal of Natural Products, 2018, 81(10): 2195-2204.
- [10] LIN T K, ZHONG L, SANTIAGO J L. Anti-inflammatory and skin barrier repair effects of topical application of

- some plant oils [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 19(1): 70.
- [11] 张玉龙, 张伟, 敬思群, 等. 油茶树嫩枝精油抗氧化性及抑菌性研究 [J]. 食品工业, 2021, 42(10): 197-201.
- [12] SONGSAMOE S, MATAN N, MATAN N. Antifungal activity of *Michelia alba* oil in the vapor phase and the synergistic effect of major essential oil components against *Aspergillus flavus* on brown rice [J]. Food Control, 2017, 77: 150-157.
- [13] WU C C, WU C L, HUANG S L, et al. Antifungal activity of Liriodenine from *Michelia formosana* heartwood against wood-rotting fungi [J]. Wood Science and Technology, 2012, 46(4): 737-747.
- [14] LEI L H, HOU J, LIU H Y, et al. Hypolipidemic and antioxidant activities of volatile oils from fresh leaves of *Michelia martini* Levl [J]. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 2019, 32(1): 383-389.
- [15] 魏亚情, 宋希强, 赵莹, 等. 吊罗山石碌含笑群落木本植物种间联结性研究 [J]. 热带作物学报, 2022, 43(12): 2606-2613.
- [16] 魏亚情, 洪峰, 袁浪兴, 等. 海南特有濒危植物石碌含笑分布现状与种群年龄结构特征 [J]. 热带作物学报, 2017, 38(12): 2280-2284.
- [17] 段玉书, 胡永, 杨万霞, 等. 黔产青钱柳化学成分及 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(6): 940-945.
- [18] 杨婧, 赵鹏, 刘冬, 等. β -榄香烯对肺癌小鼠模型肿瘤生长及组织IGFBP1和VEGF表达的影响 [J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(23): 2465-2468.
- [19] ZHAI B, ZENG Y, ZENG Z, et al. Drug delivery systems for elemene, its main active ingredient β -elemene, and its derivatives in cancer therapy [J]. International Journal of Nanomedicine, 2018, 13: 6279-6296.
- [20] 王丽媛, 周宁, 宁月宝. 固态发酵黑姜挥发性物质的GC-MS测定 [J]. 中国调味品, 2022, 47(7): 177-181.
- [21] ZHANG Y L, LUO J G, WAN C X, et al. Four new flavonoids with α -glucosidase inhibitory activities from *Morus albar*. *tatarica* [J]. Chemistry & Biodiversity, 2015, 12(11): 1768-1776.
- [22] 王云云, 侯文成, 魏建和, 等. 沉香中倍半萜类化合物与生物活性研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(4): 1191-1209.
- [23] 王艺萌, 王知斌, 孙延平, 等. 苍术属植物中倍半萜类化合物化学结构和生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 299-309.
- [24] 曹亚娟. 扶正祛邪方及其有效组分愈创醇通过抑制M2型巨噬细胞阻抑肺癌上皮间质转化的分子机制研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2019.
- [25] ADEFEFGHA S A, OLASEHINDE T A, OBOH G. Essential oil composition, antioxidant, antidiabetic and antihypertensive properties of two *Fromomum* species [J]. Journal of Oleo Science, 2017, 66(1): 51-63.
- [26] 廖天柱. 六种含笑属植物提取物的多酚成分及生物活性研究 [D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2022.
- [27] VENKATADRI B, KHUSRO A, AARTI C, et al. *In vitro* assessment on medicinal properties and chemical composition of *Michelia nilagirica* bark [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2017, 7(9): 782-790.
- [28] 谭青云, 袁永俊, 王丹, 等. 不同提取方式对铁皮石斛多糖及体外降血糖的影响 [J]. 食品科技, 2019, 44(6): 202-206.
- [29] 李琳, 连树林, 楚云杰, 等. β -榄香烯对非小细胞肺癌A549细胞凋亡及氧化应激的影响 [J]. 肿瘤, 2020, 40(9): 625-632.
- [30] 麻杰, 陈娟, 赵冰洁, 等. 抗癌药物 β -榄香烯及其衍生物的研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(5): 1184-1191.
- [31] ZHANG Y, WANG J, QU Y, et al. 6-shogaol suppresses the progression of liver cancer via the inactivation of Wnt/ β -catenin signaling by regulating TLR4 [J]. The American Journal of Chinese Medicine, 2021, 49(8): 2033-2048.
- [32] 郑怀舟, 汪滢, 黄儒珠. 含笑叶、花挥发油成分的GC-MS分析 [J]. 福建林业科技, 2011, 38(1): 53-56.
- [33] 雷凌华, 朱强根, 夏更寿, 等. 黄心夜合不同组织挥发油成分分析 [J]. 浙江农林大学学报, 2019, 36(1): 193-199.
- [34] 典灵辉, 龚先玲, 蔡春, 等. 含笑化学成分分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(10): 1250-1251.
- [35] 马惠芬, 司马永康, 郝佳波, 等. 3种含笑属植物叶片挥发油化学成分的比较研究 [J]. 西部林业科学, 2012, 41(2): 77-81.
- [36] ASAKURA K, MATSUO Y, OSHIMA T, et al. ω -Agatoxin IVA-sensitive Ca^{2+} channel blocker, α -eudesmol, protects against brain injury after focal ischemia in rats [J]. European Journal of Pharmacology, 2000, 394(1): 57-65.
- [37] MA E L, LI Y C, TSUNEKI H, et al. β -Eudesmol suppresses tumour growth through inhibition of tumour neovascularisation and tumour cell proliferation [J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2008, 10(2): 159-167.
- [38] ZHENG Y F, REN F, LIU X M, et al. Comparative analysis of essential oil composition from flower and leaf of *Magnolia kwangsiensis* Figlar & Noot [J]. Natural Product Research, 2016, 30(13): 1552-1556.
- [39] 张露, 刘鹏飞, 涂宗财, 等. 香榧不同部位提取物的抗氧化和酶抑制活性比较分析 [J]. 食品科学, 2018, 39(10): 78-83.
- [40] MAHDAVI A, BAGHERNIYA M, MIRENAYAT M S, et al. Medicinal plants and phytochemicals regulating insulin resistance and glucose homeostasis in type 2 diabetic patients: a clinical review [J]. Advances in Experimental Medicine and Biology, 2021, 1308: 161-183.
- [41] 张俊焱, 李成慧, 左文明, 等. 金露梅中一种 α -葡萄糖苷酶抑制剂的提取富集及活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(3): 460-466.
- [42] LEE Y. Cytotoxicity evaluation of essential oil and its

- component from *Zingiber officinale* roscoe [J]. *Toxicological Research*, 2016, 32(3): 225–230.
- [43] 汪洪武, 刘艳清, 鲁湘鄂, 等. 不同方法提取含笑茎、叶和花挥发油化学成分的GC-MS分析[J]. *精细化工*, 2007, 24(5): 477–479.
- [44] BOMFIM D S, FERRAZ R P C, CARVALHO N C, et al. Eudesmol isomers induce caspase-mediated apoptosis in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells [J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2013, 113(5): 300–306.
- [45] 祁悦, 梅文莉, 王雅丽, 等. 喙花姜块茎和根中挥发油成分分析及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(8): 160–166.
- [46] 陆廷亚, 陈琪, 赵晓歌, 等. 大高良姜地下根茎挥发油化学成分及体外药理活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(11): 1866–1875.

Analysis of the chemical composition of the essential oils from floral buds and leaves of *Michelia shiluensis* and their inhibitory activity against α -glucosidase

QIAN Changing¹, WU Wentao², CHEN Jian¹, SONG Xiqiang², ZHAO Ying²

(1. School of Food Science and Engineering, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Key Laboratory of Ministry of Education for Genetics and Germplasm Innovation of Tropical Special Trees and Ornamental Plants/Hainan Key Laboratory for Biology of Germplasm Resources of Tropical Special Ornamental Plants, School of Forestry, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: Essential oil was extracted from floral buds and leaves of *Michelia shiluensis* (*M. shiluensis*) by steam distillation. After treatment, the components of the essential oil were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The GC-MS analysis showed that the main components of the two essential oils were sesquiterpenes. A total of 39 chemical components were identified from the essential oil of floral buds, of which three, β -bisabolene, α -curcumene and β -elemene, were the highest in relative content. A total of 31 chemical constituents were identified from the essential oil of leaves, including guaiacol, isoguaiacol, (*Z, Z, Z*)-1,8,11,14-heptadecatetraene, and so on. The relative content of alcohols and olefins is an important index to distinguish between the essential oils of the floral buds and the leaves. The components of *M. shiluensis* essential oil were analyzed for the first time, and the inhibitory activity of *M. shiluensis* essential oil on α -glucosidase was determined. When the mass concentration was $3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, the essential oils of the leaves and floral buds had an inhibition rate of 87.13% and 72.27% against α -glucosidase activity, and their IC_{50} was $0.73 \pm 0.04 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $1.77 \pm 0.07 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. *M. shiluensis* essential oil has a strong inhibitory effect on α -glucosidase activity, and can be developed and used as a hypoglycemic efficacy factor, which provides a theoretical basis for value-added utilization of *M. shiluensis* resources.

Keywords: *Michelia shiluensis*; Essential oil; Gas chromatography-mass spectrometry; Chemical composition

(责任编辑:叶 静)