

两种云南龙脑香属植物树脂精油的倍半萜成分 及其季节性变化

王锦亮 丁靖垵 程治英 杨崇仁

(中国科学院昆明植物研究所植物化学开放研究实验室, 昆明 650204)

Q949.758.6

摘要 应用 GC 和 GC/MS/DS 分析了羯布罗香 (*Dipterocarpus tubinatus* Gaertn. f.) 和云南龙脑香 (*D. retusus* Bl.) 两种龙脑香科植物树脂精油的倍半萜类成分。羯布罗树脂精油的主要成分为 δ -榄香烯、 α -古芸烯、 γ -木罗烯和 α -杜松烯, 其中 α -古芸烯的相对含量最高。云南龙脑香树脂精油中则以别芳萜烯和 α -蛇麻烯为主要成分, 别芳萜烯相对含量最高。羯布罗香树脂精油中 δ -榄香烯、 α -古芸烯、 γ -木罗烯、 α -杜松烯、 β -澄淑烯和 γ -榄香烯的相对含量有明显季节变化, 但是精油的倍半萜类成分的组成没有季节差异。这两种植物的树脂精油均有明显抗菌活性。

关键词 树脂精油; 倍半萜类化合物; 气相色谱-质谱分析; 龙脑香科; 羯布罗香; 云南龙脑香

倍半萜类; 龙脑香属

THE SESQUITERPENES AND THEIR SEASONAL VARIATIONS IN THE OLEORESIN ESSENTIAL OILS FROM TWO SPECIES OF DIPTEROCARPUS IN YUNNAN

WANG Jin-Liang, DING Jing-Kai, CHEN Zhi-Ying, YANG Chong-Ren

(Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming 650204)

Abstract The sesquiterpenes of the oleoresin essential oils of *Dipterocarpus tubinatus* Gaertn. f. and *D. retusus* Bl. were analyzed by GC and GC/MS/DS for relative contents and seasonal variations. The main compounds in the oleoresin essential oil of *D. tubinatus* are δ -elemene, α -gurjunene, γ -murolene, α -cadinene, and the α -gurjunene relative content is highest. Then, the main compounds in oleoresin essential oil of *D. retusus* are allo-aromadendrene and α -humulene, and the allo-aromadendrene relative content is highest. Seasonal variations were different at highly levels for δ -elemene, α -gurjunene, γ -murolene, α -cadinene, β -cubebene, γ -elemene between the oleoresin essential oil collected in dry season and the oleoresin essential oil collected in rain season of *D. tubinatus*. But the composition of the oleoresin essential oil of *D. tubinatus* was not affected by season. The oleoresin essential oil both *D. tubinatus* and *D.*

retusus had obvious activated in antibacterial test.

Key words Oleo-resin essential oil; Sesquiterpene; GC-MS; Dipterocarpaceae; *Dipterocarpus tubinatus*; *D. retusus*

龙脑香科植物共有 15 属约 580 种, 广布于亚洲、非洲及南美的热带地区, 其中大部分为东南亚热带雨林中最为繁茂, 最具代表性的上层建群树种⁽¹⁻³⁾。我国的云南、广东和广西为龙脑香科植物分布的北缘, 至今已发现有 5 属 14 种, 它们对我国热带植被和植物区系的研究有着重要价值。

羯布罗香 (*Dipterocarpus tubinatus* Gaertn. f.) 和云南龙脑香 (*D. retusus* Bl.) 均为高大乔木。羯布罗香是印缅热带雨林的主要树种, 在我国仅西双版纳景洪县、勐腊县有零星分布, 现已引种栽植于庙宇旁。由于得到保护逐步发展为小片林地。云南龙脑香的分布区从爪哇婆罗洲、马来西亚, 经中印半岛至我国云南西南部, 在云南主要分布于红河流域的河口、马关、屏边、金平、绿春、江城等县和西南部盈江县的大盈江流域⁽³⁾。这两种龙脑香科植物的树干分泌的树脂具芳香性、有防腐作用, 通常称为达马树脂 (damma resin)。龙脑香科植物树脂的化学成分虽已有不少研究, 但是羯布罗香和云南龙脑香树脂精油的成分尚未见报道, 本文报道这两种热带植物树脂的精油成分并讨论产脂量及精油成分与采收季节的关系。

材料和方法

云南龙脑香树脂取自云南勐仑西双版纳热带植物园一株大树 (树干离地面 1.2m 处的胸围为 161cm)。在树干离地面 61cm 处割取二条剖面, 其夹角为 40° 成 V 字形, 剖面长分别为 23cm 和 25.5cm, 剖面宽为 1.5cm, 在二条剖面的交点处收集树脂。每日上午在树干剖面刮取树脂一次, 每 7 日用胶刀刮净剖面一次, 按月统计树脂产量。采集树脂时间从 1986 年 12 月 1 日—1987 年 12 月 31 日。

羯布罗香树脂样品取自云南景洪县曼费寨, 分别于 1986 年 10 月和 1987 年 5 月取样于相同的四株多年栽培的羯布罗香大树 (离地面 1.5m 处植株胸围为 84-95cm)。在离地面 1.5m 处树干的一个直径约 10cm 深度为 5cm 的洞穴内收集自然分泌的树脂。

1. 树脂精油的制备⁽⁴⁾ 取云南龙脑香树脂 50g (1987 年 1 月采), 用 300ml 石油醚 (60-90℃) 提取, 离心弃残渣, 石油醚提取物加 150ml 水和 35g NaCl, 在油浴上蒸馏, 收集精油。羯布罗香油状树脂在油浴上直接蒸馏收集精油, 制得精油均为黄色液体。

2. 精油的分析 气相色谱: 岛津 GC-9A; SE-54 石英毛细管柱; 30m × 0.25mm (美国 J&W 公司); 柱温 80-200℃, 程序升温 3℃/min, 进样温度 230℃, 进样量 0.2-0.25μl; 检测器, FID。

色谱-质谱: 仪器为 Finnigan 4150GC/MS/DS; 色谱条件同上; EI; 电子能量 70eV, 灯丝电流 0.25mA; 倍增器电压 1200V。

数据处理使用 INCOS 系统, 各分离成分首先通过 NIH/EPA/MSDB 计算机谱库 (美国国家标准局 NBB LIBRARY 谱库) 进行检索, 并参照有关文献⁽⁵⁾, 对各质谱图进行解析。

3. 生物抗菌试验 在马铃薯培养基中分别接入黄曲霉 (*Aspergillus flavus*), 微紫青霉 (*Pericillium anthinellum*), 以及在西双版纳石灰岩森林群落中分离得到的 X-8 霉菌, X-3 霉菌,

X-6 霉菌和 X-9 霉菌, 倒成平板。在营养琼脂培养基中分别接入大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*), 倒成平板。用灭菌滤纸片沾取 2.5% 浓度的待测样品分别放入不同菌种的培养皿中, 在 28℃ 温度下培养 2-3 天。

结果观察: 以空白滤纸片作对照。测量抑菌圈大小 (以厘米为单位)。

结果与讨论

1. 云南龙脑香全年单株产树脂达 1970.2g, 年中树脂的产量随季节的变化有明显差异 (表 1)。显然, 树脂的分泌受温度、水分等气候因素的影响。西双版纳地区属季节性热带雨林气候, 全年可分为干热、干冷和雨季, 干冷季节气温较低, 尽管降雨量少, 但因浓雾的关系, 相对湿度仍然很大。云南龙脑香的树脂产量, 以雨季最高, 干冷季次之, 并与雨季相近, 干热季的产脂量最低。这说明, 在当地气候条件下, 与气温相比, 湿度是产脂量的主要限制因子。干热季产脂量的锐减, 也可能是生长在热带雨林中的云南龙脑香在其分布区的北缘对气候变化的一种生态适应。

表 1. 云南龙脑香不同季节的树脂产量

Table 1. The oleoresin yield of seasons from *D. retusus*

季 节 seasons	温 度	temperature (℃)	降水量 rainfall (mm)	对脂产量 oleoresin yields (g)
干热季(3—5月) dry hot season	20.6—27.0	75—80	24.6—114.8	317.4
雨季(6—10月) rain season	23.7—26.3	86—90	30.2—292.4	860.1
干冷季(11—2月) dry cold season	14.9—21.2	85—90	0.9—99.6	792.7

2. 根据总离子流图, 从云南龙脑香树脂精油中检出 20 个成分, 经色谱、质谱分析, 鉴定了 9 个化合物, 占相对含量的 73.61%。其中, 以别芳萜烯和 α -蛇麻烯为主要成分 (表 2)。从羯布罗香树脂精油中检索出 28 个成分, 鉴定了其中的 15 个化合物, 占相对含量的 92.25%, 而以 δ -榄香烯、 α -古芸烯、 γ -木罗烯、 α -杜松烯为主要成分 (表 3)。显然, 二者树脂精油的化学组成有明显的差异。已报道同属植物 *D. pilosus* 树脂精油的主要成分是石竹烯、蛇麻烯及其氧化物^[4], 也有别于云南龙脑香和羯布罗香。由此看来, 龙脑香属植物树脂精油的化学组成是随着种类而变化的, 这一化学特征, 可能具有分类学的意义。此外, 从离子流图和色谱质谱提供的数据, 云南龙脑香树脂精油中含氧倍半萜类化合物的含量占 18.45%, 已报道的 *D. pilosus* 树脂精油中也含有较多的含氧倍半萜类化合物^[4], 后者产于印度北部, 也属龙脑香科植物分布的北缘。联系到我们从云南龙脑香和羯布罗香树脂中发现一些多氧的三萜^[6]和倍半萜类化合物, 与已报道的龙脑香科植物的化学成分相比较, 很可能该科植物树脂的化学成分, 随着纬度的升高, 氧化程度有增加的趋势。这也可能是这一类典型的热带植物从其分布区的中心向北扩散过程中的一种生态-化学效应。

表 2. 云南龙脑香树脂精油的化学成分及其含量
Table 2 The chemical constituents and their content of
the essential oil from the oleoresins of *D. retusus*

峰号 peak No.	化合物 compounds	保留时间 retention times (min)	含量 contents (%)
1	丁酮-2 butanone-2	3.605	少量
2	6-甲基-5-庚烯-2-酮 6-methyl-5-hepten-2-one	6.750	0.062
3	2,4-二甲基-庚二烯醛 2,4-dimethyl-diene-heptaldehyde	17.395	少量
4	δ -榄香烯 δ -elemene	19.670	1.418
6	芳萜烯 aromadendrene	22.690	0.846
7	别芳萜烯 allo-aroma-dendrene	23.620	57.442
8	α -蛇麻烯 α -humulene	24.865	12.754
9	γ -木罗烯 γ -muurolene	25.780	0.917
20	邻苯二甲酸二丁酯 o-phthalic acid dibutyl ester	42.400	0.176

表 3. 羯布罗香树脂精油化学成分及含量
Table 3. The chemical constituents and their content of the
essential oil from the oleoresins of *D. tubinatus*

峰号 peak No.	化合物 compounds	保留时间 retention times (min)	含量 contents (%)	
			干季树脂 dry season resin	雨季树脂 rain season resin
1	δ -榄香烯 δ -elemene	18.617	6.9779	9.2280
2	α -澄淑烯 α -cubebene	19.000	1.1002	0.1137
5	α -胡椒烯 α -copaene	20.150	0.7439	0.7602
6	β -榄香烯 β -elemene	20.808	0.5906	0.5779
7	α -古芸烯 α -gurjunene	21.950	61.5367	58.0957
8	β -澄淑烯 β -cubebene	22.142	3.1575	2.2326
9	γ -榄香烯 γ -elemene	22.525	3.6426	2.0044
12	β -古芸烯 β -gurjuene	23.725	1.4257	1.9489
13	α -布勒烯 α -bulnesene	24.167	2.1787	2.9707
14	γ -木罗烯 γ -muurolene	24.625	2.6338	6.4645
16	α -杜松烯 α -cadinene	25.225	6.9209	1.2974
17	γ -杜松烯 γ -cadinene	25.817	0.5835	0.4339
18	δ -杜松烯 δ -cadinene	26.158	1.6927	1.4199
27	杜松烯 juniper camphor	32.150	0.0624	0.0791
28	邻苯二甲酸二丁酯 o-phthalic acid dibutylester	40.833	-	0.2430

3. 从羯布罗香干季和雨季树脂精油的总离子流图, 可观察到西双版纳景洪地区干季和雨季气候变化并没有引起树脂精油组成的变化, 而只影响主要成分的相对含量, 特别是 α -古芸烯、 δ -榄香烯、 α -杜松烯、 γ -木罗烯、 β -澄淑烯和 γ -榄香烯的相对含量有明显的变化 (图 1)。Langenheim, J.H. 等^[7-10] 认为豆科的 *Hymenaea* 属和 *Copaifera* 属树脂成分的变化是受遗传基因型控制的, 光、温、季节等的变化并不能导致植物基因型的改变, 羯布罗香树脂精油成分的季节性变化与 *Hymenaea* 属和 *Copaifera* 属植物树脂有相同现象。

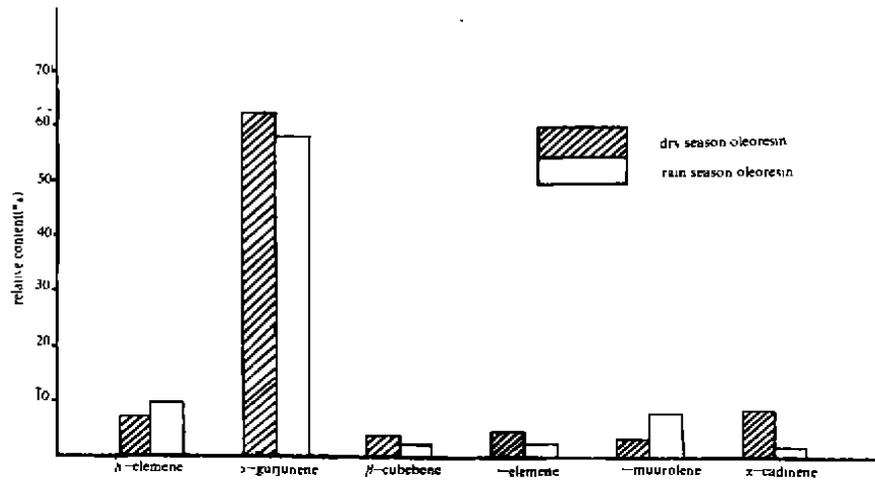


图 1. 羯布罗香树脂精油主要成分的季节变化

Fig. 2 Some sesquiterpenes contained in the oleoresin of dry season and in the oleoresin of rain season in *D. tubinatus*

4. 云南龙脑香树脂精油、羯布罗香的干季和雨季树脂精油对金黄色葡萄球菌、黄曲霉菌、微紫青霉、大肠杆菌等菌种有明显抑制作用, 其中云南龙脑香树脂精油对微紫青霉的抑制活性更为突出 (表 4)。羯布罗香的干季和雨季树脂精油的抑制活性没有明显差异, 西双版纳傣族群众采集干季树脂作为药用和涂于绒寺经书来防腐防虫, 可能由于习惯和气候的关系。

表 4. 羯布罗香和云南龙脑香树脂精油抗菌活性

Table 4. The antibacterial activity of the essential oil from oleoresin

样 品 sample	金黄色葡萄球菌 Staphylococcus aureus (cm)	大肠杆菌 Escherichia coli (cm)	黄曲霉菌 Aspargillus flavus (cm)	微紫青霉 Percillius aethiellum (cm)	X-8 霉菌 (cm)	X-3 霉菌 (cm)	X-6 霉菌 (cm)	X-9 霉菌 (cm)
羯布罗香干季树脂精油 The oleoresin essential oil in dry season from <i>D. tubinatus</i>	1.8	1.2	1.2	1.5	1.3	-	1.4	1.5
羯布罗香雨季树脂精油 The oleoresin essential oil in rain season from <i>D. tubinatus</i>	1.5	1.2	1.1	1.1	1.1	1.1	1.5	1.5
云南龙脑香树脂精油 The oleoresin essential oil from <i>D. returus</i>	1.5	1.2	1.0	1.8	1.2	-	1.1	

*: X-8, X-3, X-6, X-9 霉菌系勐仑石灰岩热带雨林中分离到的菌种, 待定名。

*: X-8, X-3, X-6, X-9 mycella isolated from tropical rain forest with calcareous stone in Menglun, China

致谢 本项工作一直得到周俊研究员的指导和帮助, 本文全部 GC 和 GC/MS/DS 数据由本室物理分析仪器组测定, 生物抗菌活性试验由云南省微生物研究所马萃同志测定。

参考文献

- (1) Richards P W. 热带雨林 (张宏达等译). 北京: 科学出版社, 1959.
- (2) Ashton P S. Flora malesians, Vol part 2, Martinus Nijhoff Publishers, 1982.
- (3) 王达明, 杨绍坛, 朱荣兴. 云南的龙脑香林. 植物生态学与地植物学丛刊. 1985; 19 (1): 32—44
- (4) Gupta A S, Sukh Dev. Studies in sesquiterpenes XLVI sesquiterpenes from the oleoresin of *Dipterocarpus pilosus* humulene epoxide-III, caryophyllenol-I and caryophyllenol-II. *Tetrahedron* 1971; 27 (3): 635—644
- (5) Heller S R, George W A. EPI/NIH mass spectral data base, Vol 1—4, Sup. 1, Usqpo, Wangshington, 1980.
- (6) 王锦亮, 李兴从, 熊江等. 云南翔布罗香树脂的化学成分. 云南植物研究 1991; 13 (3): 335—340
- (7) Langenheim J H. The roles of plant secondary chemicals in wet tropical ecosystems. In: *Physiological Ecology of Plants in the Wet Tropics*, ed. E. Medina, H. A. Mooney, and C. Vasouez-Yanes Junk, 1984; 189—208
- (8) Langenheim J H, Convis C L, Macedo C A, et al. *Hymenaea* and *Copaifera* leaf sesquiterpenes in relation lepidopteran herbivory in southeastern. *Brazil Syst Ecol* 1986; 14: 41—49
- (9) Langeheim J H. Plant resins. *American Scientist* 1990; January—February; 16—24
- (10) 王锦亮, Langenheim J H. *Hymenaea*和*Copaifera* 幼树叶内倍半萜类化合物昼夜季节性变化. 云南植物研究 1990; 12 (1): 85—91

* * * * *

(上接 336 页)

pisiferic acid (2) 为无色块状结晶, mp 153—158°C; $C_{20}H_{28}O_3$; $IR_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3500 (OH), 2960, 2900, 1680 (C=O), 1610, 1570, 1495, 1450, 1250, 1160, 760. $UV_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm(log ϵ): 209.5 (4.3), 286 (3.4); EI-MS (70eV) M/Z: 317 ($M^+ + 1$) (25), 316 (M^+) (43), 271 ($M^+ - CO_2H$) (base peak), 255 (8), 229 (11), 201 (20), 189 (32), 175 (29), 69 (40), 43 (25), 41 (22). 1H NMR (400MHz, C_5D_5N) δ : 7.51 and 7.18 (each 1H, s, 11- and 14-H); 3.65 (1H, sep., $J=6.8\text{Hz}$, 15-H), 1.38 and 1.34 (each, 3H, d, $J=6.8\text{Hz}$, 16- and 17- CH_3), 1.11 and 1.00 (each 3H, s, 18- and 19- CH_3); 以上数据与文献报道的 pisiferic acid (2) 一致⁽³⁾; 文献中未见报道的 pisiferic acid (2) 的 ^{13}C NMR 数据亦见表 1。

参考文献

- 1 云南植物研究所. 云南植物志, 第一卷, 北京. 科学出版社, 1977; 788
- 2 孙汉董, 林中文, 沈佩琼. 胶粘香茶菜素的化学结构 云南植物研究 1987; 9 (2): 247—252
- 3 Fukui H, Koshimizu K, Egawa H. A new diterpene with antimicrobial activity from *Chamaecyparis pisifera* Endle. *Agr Bio Chem* 1978; 42 (7): 149