

金边黄杨叶、茎挥发油成分分析及抗肿瘤活性研究

卫强, 纪小影

(安徽新华学院药学院, 安徽合肥 230088)

摘要: 分析研究金边黄杨叶、茎挥发油的主要成分及其抗肿瘤活性。以超临界二氧化碳萃取金边黄杨叶、茎挥发油, 利用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS), 经过NIST08谱库检索对比, 从中分别, 叶挥发油鉴定31个化合物, 主要成分有: 棕榈油酸(17.11%)、苯甲醛(10.66%)、(Z)-3-己烯-1-醇(8.93%)、正十六烷酸(7.92%)、苯甲醇(6.99%)、肉豆蔻酸(6.13%)、正十五烷酸(6.06%)。茎挥发油鉴定33个化合物, 主要成分有: 丙二醇单甲醚(12.20%)、正十六烷酸(5.52%)、6,6-二甲基二环[3.1.1]庚-2-烯-2-甲醇(5.17%)、2,4-二叔丁基苯酚(5.08%)。应用四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测抗癌活性, 结果叶挥发油对肺癌细胞 A549 和胃癌细胞 SGC-7901 抑制最强, 其 IC₅₀ 值分别为 2.77 μg/mL、3.78 μg/mL, 对比研究表明正十五烷酸是叶挥发油中抑制两种癌细胞的主要活性成分。

关键词: 金边黄杨叶、茎; 挥发油; 气相色谱-质谱; 化学成分; 抗肿瘤活性

文章编号: 1673-9078(2015)12-42-48

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.12.007

Chemical Composition and Antitumor Activities of Volatile Oil from the Leaves and Stems of *Euonymus japonicus L. f. aureo-marginatus* Rehd.

WEI Qiang, JI Xiao-ying

(Pharmacy School, Anhui Xinhua University, Hefei 230088, China)

Abstract: The chemical composition and anti-tumor activity of the volatile oil from the leaves and stems of the *Euonymus japonicus L. f. aureo-marginatus* Rehd. were studied. The volatile oils from the leaves and stems of *Euonymus japonicus L. f. aureo-marginatus* Rehd. were extracted with CO₂ as the supercritical solvent. The resulting sample was separated and detected by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). Based on a comparison with the NIST08 mass spectral library, 31 components were identified in the volatile oil from the leaves. The main constituents included: *cis*-9-hexadecenoic acid (17.11%), benzaldehyde (10.66%), (Z)-3-hexen-1-ol (8.93%), *n*-hexadecanoic acid (7.92%), benzyl alcohol (6.99%), tetradecanoic acid (6.13%), and *n*-pentadecanoic acid (6.06%). Thirty-three components were identified from the volatile oil of the stems. The main constituents were 1-methoxy-2-propanol (12.20%), *n*-hexadecanoic acid (5.52%), 6,6-dimethyl-bicyclo [3.1.1]hept-2-ene-2-methanol (5.17%), and 4-di-*tert*-butylphenol (5.08%). The tetrazolium salt (MTT) assay was used to measure the anti-tumor activity, and showed that the leaf volatile oil exhibited the strongest anti-tumor activity against A549 lung cancer cells and SGC-7901 gastric carcinoma cells, with IC₅₀ values of 2.77 μg/mL and 3.78 μg/mL, respectively. This comparative study indicates that *n*-pentadecanoic acid is the major active ingredient of the leaf volatile oil in the 2 types of cancer cells.

Key words: leaf and stem from *Euonymus japonicus L. f. aureo-marginatus* Rehd.; volatile oil; gas chromatography-mass spectrometry; chemical composition; antitumor activity

1992年, 诱导肿瘤细胞凋亡可作为肿瘤治疗的主要手段由Hickman等首次提出, 使该理论成为国际肿瘤研究的热点。鉴于植物成分的副作用相对较少, 具有较强的生物活性, 故植物抗癌活性成分的研究与开发成为抗癌药物的一个重要方向。现代研究表明, 挥发油有脂溶性高, 易穿透生物膜的特点, 具有良好的

收稿日期: 2015-04-04

基金项目: 安徽省质量工程项目(2014zy078, 2014jyxm415); 安徽新华学院质量工程项目(2014jgkcx14); 安徽省大学生创新创业训练项目(AH201412216010)

作者简介: 卫强(1977-), 男, 副教授, 研究方向为天然产物活性成分

抗肿瘤作用^[1]。如何发现活性挥发油成分, 并在挥发油成分中阐明、分离更强的有效部位或单体是进一步研究的方向。

金边黄杨(*Euonymus japonicus L. f. aureo-marginatus* Rehd.)是大叶黄杨(*Euonymus japonicus L.*)的一个变种, 其叶片边缘能较长时间地呈现金黄色, 是园林绿化工程中的常用植物。目前, 金边黄杨的研究主要集中在园林栽培、光合生理特性方面^[2-6], 目前, 对金边黄杨叶和茎挥发油的化学成分研究未见报道。水蒸气蒸馏法作为一种常规的挥发油提取方法, 由于提取温度较高, 会使挥发油中的小分子热敏性成分由

于加热而造成结构破坏,使挥发油因化学性质不稳定而导致品质下降^[7]。超临界二氧化碳(supercritical fluid extraction of carbon dioxide, SFE-CO₂)萃取技术是20世纪70年代研究开发的一项新技术,具有常温提取、无毒、绿色环保、萃取效率高、产品品质好等优势。二氧化碳的临界温度为31℃,临界压力为7.48 MPa,可实现常温提取和保证热敏性成分不被热分解,特别适合于热不稳定性天然产物和生理活性物质的分离与精制^[8-9],在油脂及活性物质提取方面具有广阔的应用前景。本文首次以超临界二氧化碳萃取金边黄杨叶、茎中挥发油,以气相色谱-质谱技术(GC-MS)分析化学成分,以96孔板考察挥发油抗肿瘤活性和挥发油中主要活性成分,为研究该植物化学成分和寻找新的抗肿瘤药物提供了一定的研究基础。

1 材料与方法

1.1 原料

金边黄杨叶、茎于2013年5月采自安徽合肥大蜀山地区,经安徽新华学院李启照副教授鉴定为金边黄杨(*Euonymus japonicus L. f. aureo-marginatus* Rehd.)的叶和茎,样品保存于安徽新华学院药学院实验室。人肝癌细胞BEL-7402、胃癌细胞SGC-7901,乳腺癌细胞株Bcap-37、肺癌细胞A549购于中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所。棕榈油酸、苯甲醛、(Z)-3-己烯-1-醇、正十六烷酸、苯甲醇、肉豆蔻酸、正十五烷酸对照品(含量>98%)均购于(克拉玛尔)上海谱振生物科技有限公司,其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

HA221-50-01型超临界萃取设备,江苏南通华安超临界有限公司;5975B/6890N型气相色谱-质谱联用仪,美国安捷伦公司产品;XDS-1B倒置显微镜(重庆光学仪器厂);EPOCH全自动酶标仪(BioTek公司);CO₂培养箱(日本SANYO公司);FA1004型电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 挥发油的提取

取干燥粉碎后的金边黄杨叶、茎药材各250g粗粉,置超临界CO₂萃取釜,萃取条件为:萃取釜压力为30 MPa,温度为35℃,萃取时间为120 min;分离釜I压力为10 MPa,温度为20℃,分离釜II压力为5 MPa,温度为15℃。萃取物经减压蒸馏得到挥发油,

无水硫酸钠脱水,呈淡黄色,3次提取,以油重/样品重得叶、茎的平均收率分别为0.32%、0.18%。

1.3.2 色谱条件

色谱柱:Agilent DB-5MS(30 mm×0.25 mm×0.25 μm);载气为高纯氮,载气流量1.5 mL/min;进样量1 μL;分流比10:1;气化温度:280℃;GC-MS接口温度:280℃;GC升温程序:初始温度50℃,恒温5 min,以5℃/min升至280℃保持10 min。

MS条件:电离方式EI,电子能量70 eV,扫描范围m/z 25-550,离子源温度220℃,接口温度280℃,全离子扫描。

GC-MS定性分析:通过面积归一化法测定鉴定的化合物的相对含量,检索为Nist08数据库和WILEY数据库。

1.3.3 PBS溶液配制

精密称量80 g NaCl, 2 g KCl, 14.4 g NaH₂PO₄和2.4 g KH₂PO₄以双蒸水溶解后定容于1000 mL容量瓶中,即得。

1.3.4 抗肿瘤活性测试

将挥发油以50% DMSO配制成浓度为10 mg/mL的储备液,使用时用PBS稀释。分别将肿瘤细胞以2×10⁴个/mL接种于96孔板中,每孔体积200 μL,在CO₂培养箱内培养8~12 h。待细胞贴壁后,每孔加入不同浓度药液20 μL,继续培养44 h。每孔加入50 μL MTT溶液(PBS稀释成1 mg/mL),继续培养4 h,吸取上清液倾去,每孔加入150 μL DMSO,振荡10 min后,使用酶联免疫检测仪于570 nm波长处测定各孔吸光度(A值)。同时设置对照组(仅加入不含细胞的培养液)和对照组(以培养液替代药物)。初筛以最大浓度检测其抑制率,计算公式如下:抑制率(%)=(A_{对照}-A_{给药组})/A_{对照}×100%。以金边黄杨叶挥发油中主要成分棕榈油酸、苯甲醛、(Z)-3-己烯-1-醇、正十六烷酸、苯甲醇、肉豆蔻酸、正十五烷酸同上操作,计算凋亡细胞与全部细胞数之比等于50%时所对应的浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)。

根据抗肿瘤药物疗效评价标准,植物粗提取物IC₅₀<20 μg/mL,有细胞毒性的剂量依赖关系,且最高抑制率达80%以上,可判定样品在体外对细胞有杀伤作用^[10]。根据MTT实验筛选所得到的数据,以浓度作横坐标,以抑制率作纵坐标,作回归曲线,进一步计算IC₅₀。

2 结果与讨论

2.1 金边黄杨叶、茎挥发油化学成分

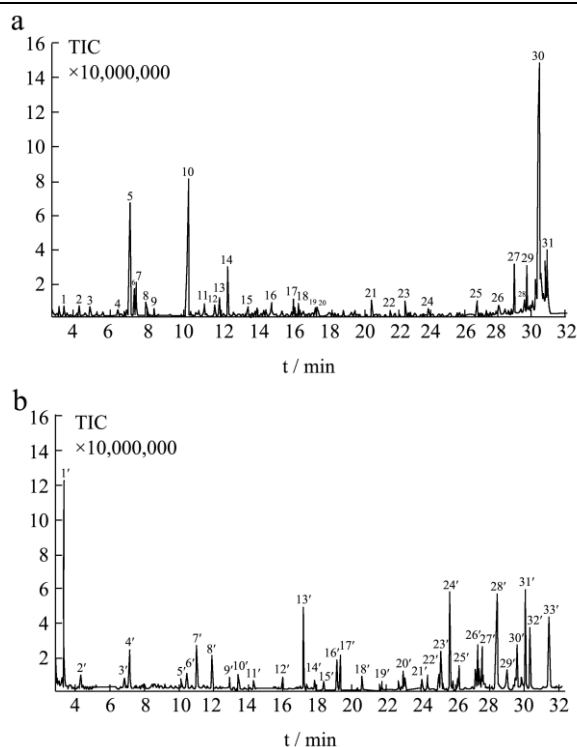


图1 金边黄杨叶 (a)、茎 (b) 挥发油的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatograms of volatile oil of the leaf (a) and stem (b) from *Euonymus japonicus L. f. aureo-marginatus Rehd.*

从金边黄杨叶挥发油中鉴定出 31 个化合物, 占

挥发油总量的 79.85%, 主要由脂肪族化合物、芳香族化合物、萜类化合物组成, 其中脂肪族成分有 19 种, 芳香族成分有 9 种, 萜类成分有 3 种, 相对含量分别占 59.55%、19.73%、0.57%。挥发油中相对含量在 5% 以上的化合物依次有: 棕榈油酸 (17.11%)、苯甲醛 (10.66%)、(Z)-3-己烯-1-醇 (8.93%)、正十六烷酸 (7.92%)、苯甲醇 (6.99%)、肉豆蔻酸 (6.13%)、正十五烷酸 (6.06%)。

从金边黄杨茎挥发油中鉴定出 33 个化合物, 占挥发油总量的 72.49%, 主要由萜类化合物、脂肪族化合物、芳香族化合物组成, 其中萜类成分有 13 种, 脂肪族成分有 19 种, 芳香族成分有 2 种, 相对含量分别占 22.38%、44.16%、5.95%。挥发油中相对含量在 5% 以上的化合物依次有: 丙二醇单甲醚 (12.20%)、正十六烷酸 (5.52%)、6,6-二甲基二环[3.1.1]庚-2-烯-2-甲醇 (5.17%)、2,4-二叔丁基苯酚 (5.08%)。

金边黄杨叶、茎挥发油中共有的成分有 3 种, 分别为: 3-戊烯-2-酮、(S)-3-乙基-4-甲基戊醇、正十六烷酸, 在叶中的含量分别为: 0.25%、1.44%、7.92%, 在茎中的含量分别为: 1.12%、2.95%、5.52%。可见正十六烷酸在金边黄杨叶、茎中含量均较高, 3-戊烯-2-酮含量均较低。

表1 金边黄杨叶挥发油化学成分

Table 1 Chemical constituents identified in the leaf volatile oil from *Euonymus japonicus L. f. aureo-marginatus Rehd.*

序号	保留时间/min	分子式	化合物	匹配率/%	相对含量/%t
脂肪族					
1	3.509	C ₇ H ₁₂ O ₃	4-羟基-3-甲基-2-丁烯基-乙酸酯	96	0.22
2	4.35	C ₅ H ₈ O	3-戊烯-2-酮	97	0.25
4	6.449	C ₅ H ₄ O ₂	呋喃甲醛	94	0.27
5	7.067	C ₆ H ₁₂ O	(Z)-3-己烯-1-醇	96	8.93
6	7.338	C ₆ H ₁₂ O	(E)-2-己烯-1-醇	98	3.21
7	7.436	C ₆ H ₁₄ O	正己醇	97	4.68
8	7.956	C ₆ H ₁₂ O	环己醇	98	0.46
9	8.401	C ₆ H ₁₄ O ₂	2-丁氧基乙醇	96	0.17
12	11.687	C ₇ H ₁₀ O	(E,E)-2,4-庚二烯醛	97	0.27
13	11.931	C ₈ H ₁₈ O	(S)-3-乙基-4-甲基戊醇	96	1.44
17	15.982	C ₉ H ₁₆ O	(E,Z)-3,6-壬二烯-1-醇	96	0.08
23	22.43	C ₁₃ H ₂₀ O	10-乙酰甲基-(+)-3-萜烯	97	0.77
24	23.835	C ₁₄ H ₂₀ O ₃	1-{2-[3-methyl-3-(5-methyl-furan-2-yl)-butyl]-oxiran-2-yl}-ethanone	97	0.14
25	26.752	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	月桂酸	95	0.75
27	28.998	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	肉豆蔻酸	98	6.13
28	29.643	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	油酸	96	0.69
29	29.74	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	正十五烷酸	97	6.06

转下页

接上页					
30	30.51	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	棕榈油酸	96	17.11
31	31.032	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	正十六烷酸	94	7.92
芳香族					
3	4.919	C ₇ H ₈	甲苯	97	0.31
10	10.228	C ₇ H ₆ O	苯甲醛	93	10.66
11	11.118	C ₉ H ₁₂	1,3,5-三甲苯	94	0.34
14	12.376	C ₇ H ₈ O	苯甲醇	98	6.99
16	14.773	C ₈ H ₁₀ O	苯乙醇	95	0.28
18	16.232	C ₈ H ₈ O ₂	邻羟基苯乙酮	96	0.11
19	17.143	C ₈ H ₈ O ₃	水杨酸甲酯	97	0.12
21	20.429	C ₉ H ₁₀ O ₂	2-甲氧基-4-烯苯酚	94	0.83
22	21.541	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	丁香酚	96	0.09
萜类					
15	13.488	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	α-甲基-α-[4-甲基-3-戊烯基]环氧丙醇	96	0.16
20	17.24	C ₁₀ H ₁₈ O	松油醇	95	0.1
26	28.086	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	异戊酸香叶酯	97	0.31

表2 金边黄杨茎挥发油化学成分

Table 2 Chemical constituents identified in the stem volatile oil from *Euonymus japonicus L. f. aureo-marginatus* Rehd.

序号	保留时间/min	分子式	化合物	匹配率/%	相对含量/%
脂肪族					
1'	3.385	C ₄ H ₁₀ O ₂	丙二醇单甲醚	95	12.2
2'	4.35	C ₅ H ₈ O	3-戊烯-2-酮	98	1.12
4'	7.168	C ₇ H ₁₀ O	4-亚甲基环己酮	98	3.7
5'	10.201	C ₇ H ₁₀ O	(E,E)-2,4-庚二烯醛	94	0.26
6'	10.411	C ₉ H ₁₂ O	二环[3.2.2]壬-6-烯-3-酮	97	0.91
8'	11.931	C ₈ H ₁₈ O	(S)-3-乙基-4-甲基戊醇	95	2.95
10'	13.457	C ₈ H ₁₈ O	辛醇	94	0.84
11'	14.362	C ₉ H ₁₆ O	(Z)-2-壬烯醛	96	0.16
12'	16.077	C ₆ H ₁₀ O	(E)-2-己烯醛	98	0.2
18'	20.624	C ₁₃ H ₂₆ O	十三碳醛	96	0.25
20'	23.044	C ₁₅ H ₂₆ O	α-红没药醇	99	0.34
22'	24.401	C ₁₅ H ₂₄ O	2,10-二甲基-9-十一烯醛	94	0.24
26'	27.317	C ₁₆ H ₃₄	正十六烷	98	2.92
28'	28.428	C ₁₇ H ₃₆	正十七烷	96	3.26
30'	29.621	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	亚油酸甲酯	98	3.01
31'	30.061	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	正十六烷酸	99	5.52
32'	31.248	C ₂₆ H ₅₄	3-乙基-5-(2-甲基丁基)-十八烷	99	3.1
33'	31.579	C ₂₉ H ₆₀	二十九烷	95	3.18
芳香族					
3'	6.879	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	苯甲酸-2-环戊烯-1-醇酯	97	0.87
24'	25.738	C ₁₄ H ₂₂ O	2,4-二叔丁基苯酚	96	5.08
萜类					
7'	11.426	C ₁₀ H ₁₆	β-水芹烯	98	3.82

转下页

接上页

9'	12.926	C ₁₀ H ₁₈ O	α-松油醇	96	0.17
13'	17.219	C ₁₀ H ₁₆ O	6,6-二甲基二环[3.1.1]庚-2-烯-2-甲醇	97	5.17
14'	17.902	C ₁₀ H ₁₆	茨烯	97	0.13
15'	18.421	C ₁₅ H ₂₄	榄香烯	96	0.18
16'	19.193	C ₁₀ H ₁₈ O	反桃金娘烯醇	98	2.4
17'	19.366	C ₂₁ H ₄₄	2,6,10,15-四甲基-十七烷	95	2.73
19'	21.716	C ₁₅ H ₂₆ O	橙花叔醇	98	0.16
21'	24.112	C ₂₀ H ₄₂	2,6,10,14-四甲基-十六烷	92	0.19
23'	25.216	C ₁₅ H ₂₆ O	α-桉叶醇	95	3.11
25'	26.319	C ₁₅ H ₂₆ O	金合欢醇	96	0.66
27'	27.566	C ₁₈ H ₃₂ O	8-丙氧基-柏木烷	97	2.96
29'	29.124	C ₂₁ H ₄₄	2,6,10,15-四甲基-十七烷	96	0.7

表3 金边黄杨叶、茎挥发油对肿瘤细胞体外增殖抑制率 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Inhibition rate of tumor cell proliferation *in vitro* by leaf and stem volatile oils from *Euonymus japonicus* L. f. *aureo-marginatus* Rehd.

剂量 /(μg/mL)	体外增殖抑制率/%			
	人肝癌细胞 BEL-7402	胃癌细胞 SGC-7901	乳腺癌细胞 Bcap-37	肺癌细胞 A549
0.5	8.52±1.39 (叶)	6.47±0.36 (叶)	3.77±0.60 (叶)	17.24±1.48 (叶)
	5.16±0.92 (茎)	4.84±0.53 (茎)	2.26±0.80 (茎)	6.36±0.90 (茎)
1	25.45±0.56 (叶)	17.09±1.12 (叶)	20.18±0.77 (叶)	32.26±0.67 (叶)
	11.61±0.82 (茎)	10.12±0.79 (茎)	8.33±0.83 (茎)	17.19±0.72 (茎)
2	36.18±1.21 (叶)	40.72±0.36 (叶)	31.17±0.82 (叶)	55.26±1.22 (叶)
	26.23±1.05 (茎)	29.63±0.74 (茎)	21.92±0.94 (茎)	29.93±0.76 (茎)
4	52.05±0.90 (叶)	59.83±0.58 (叶)	40.22±2.02 (叶)	67.14±1.05 (叶)
	40.16±1.17 (茎)	38.22±0.82 (茎)	32.18±0.58 (茎)	40.09±0.62 (茎)
6	64.26±0.74 (叶)	77.86±1.35 (叶)	47.17±1.05 (叶)	82.16±1.02 (叶)
	46.73±0.66 (茎)	46.85±0.86 (茎)	40.43±0.42 (茎)	52.17±1.08 (茎)
8	71.49±1.47 (叶)	86.12±0.67 (叶)	55.13±1.43 (叶)	90.46±0.60 (叶)
	52.11±1.30 (茎)	53.58±1.54 (茎)	46.54±0.65 (茎)	65.12±1.16 (茎)
	Y=7.768X+15.155	Y=10.516X+10.334	Y=5.907X+11.774	Y=9.095X+24.830
回归方程	γ=0.961 (叶)	γ=0.968 (叶)	γ=0.935 (叶)	γ=0.950 (叶)
及相关系数	Y=6.161X+8.255	Y=6.284X+8.022	Y=5.734X+4.731	Y=7.216X+9.288
	γ=0.955 (茎)	γ=0.950 (茎)	γ=0.966 (茎)	γ=0.981 (茎)

2.2 抗肿瘤作用

2.2.1 金边黄杨叶和茎挥发油抗肿瘤作用

由表3可知,金边黄杨叶和茎挥发油具有明显的体外抑制肿瘤作用,随着浓度的增加,抑制率逐步提高。当剂量达到8 μg/mL时,金边黄杨叶挥发油对肺癌细胞 A549 和胃癌细胞 SGC-7901 抑制率分别达到90.46%、86.12%,具有明显抑制作用。由图2可知,金边黄杨叶挥发油抑制肺癌细胞 A549 的活性最强 (IC₅₀=2.77 μg/mL),抑制胃癌细胞 SGC-7901 的活性次之 (IC₅₀=3.78 μg/mL)。

2.2.2 金边黄杨叶挥发油抑制肺癌和胃癌细胞

成分研究

由表4可知,脂肪酸类(包括棕榈油酸、正十六烷酸、肉豆蔻酸、正十五烷酸)是抑制肺癌细胞 A549 和胃癌细胞 SGC-7901 的主要活性成分,其中正十五烷酸是抑制两种癌细胞的主要活性成分,其 IC₅₀ 分别为 15.62 μg/mL、16.22 μg/mL。

3 结论

3.1 1920年,Warburg^[11]提出“有氧糖酵解效应”,即无论是否有氧,肿瘤细胞特异性地表现出对葡萄糖摄取的狂热,通过糖酵解途径将葡萄糖转化为乳酸,为肿瘤细胞增殖提供能量,为合成脂质、蛋白、核酸等

关键大分子提供碳源。成年人正常组织和细胞多优先使用外源性脂肪酸合成脂质，而几乎各型肿瘤细胞均以内源性脂肪酸从头合成能力增强为表现，无论细胞外脂质是否可以利用。然而，内源性脂肪酸合成和分解平衡却受外源性脂肪酸的可用性制约，提示膳食脂肪对肿瘤生物学有潜在影响^[12]。现代研究表明，脂肪酸的游离羧基是抗肿瘤的活性基团，酯化后活性下降，在血浆中与蛋白结合后也会使之活性下降，但这种活性有饱和性，提高剂量可以发挥等效作用^[13-14]。饱和脂肪酸中链长对活性也有影响，C15 活性最强，C13、C15、C21 等含有奇数碳的脂肪酸比其相邻偶数碳的脂肪酸活性高。脂肪酸抗肿瘤机理^[15]主要是影响细胞膜的脂肪酸组成，改变细胞的生理功能；影响花生四烯酸代谢；影响脂质过氧化及自由基形成；影响免疫系统的反应性；以及作为恶性消耗脂肪能量的补充。

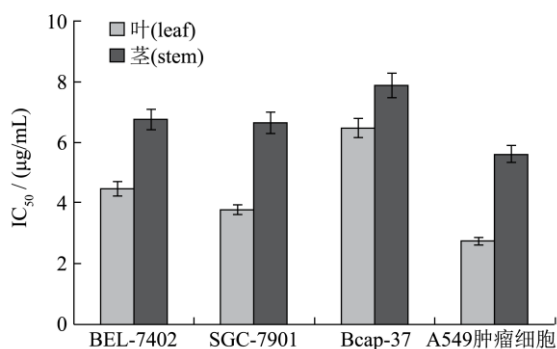


图2 金边黄杨叶、茎挥发油抑制肿瘤细胞 IC₅₀ 值比较

Fig.2 Comparison of IC₅₀ values for the inhibition of tumor cell proliferation by the leaf and stem essential oils from *Euonymus japonicus* L. f. *aureo-marginatus* Rehd.

表4 金边黄杨叶挥发油主要成分抑制肿瘤细胞 IC₅₀ 值 (µg/mL, $\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 IC₅₀ values in the inhibition of tumor cell proliferation based on the chemical constituents in the leaf volatile oil from *Euonymus japonicus* L. f. *aureo-marginatus* Rehd.

叶挥发油主要成分	肺癌细胞 A ₅₄₉	胃癌细胞 SGC-7901
棕榈油酸	31.15 ± 1.03	45.20 ± 1.46
苯甲醛	86.73 ± 0.96	100.92 ± 0.86
(Z)-3-己烯-1-醇	79.28 ± 1.15	94.16 ± 1.02
正十六烷酸	22.17 ± 1.20	30.33 ± 1.33
苯甲醇	99.12 ± 1.12	87.51 ± 1.09
肉豆蔻酸	32.18 ± 1.35	42.15 ± 1.11
正十五烷酸	15.62 ± 1.42	16.22 ± 1.00

3.2 本实验室从金边黄杨叶挥发油中鉴定出 31 个化合物，占挥发油总量的 79.85%；从金边黄杨茎挥发油中鉴定出 33 个化合物，占挥发油总量的 72.49%。金

边黄杨叶、茎挥发油中共有的成分有 3 种，分别为：3-戊烯-2-酮、(S)- 3-乙基-4-甲基戊醇、正十六烷酸。通过 MTT 法检测金边黄杨叶、茎挥发油抗肿瘤活性，结果表明叶挥发油对肺癌细胞 A549 和胃癌细胞 SGC-7901 抑制率分别达到 90.46%、86.12%，IC₅₀ 分别为 2.77 µg/mL、3.78 µg/mL。根据挥发油中成分对照实验，初步判断叶挥发油对肺癌细胞 A549、胃癌细胞 SGC-7901 的显著抑制作用与该挥发油中棕榈油酸、正十六烷酸、肉豆蔻酸、正十五烷酸成分有关。国内报道^[16]，特种五谷虫脂肪酸 FA2 对人白血病细胞、人肺癌细胞均有显著的抑制活性，其脂肪酸 FA2 组成中棕榈油酸、正十六烷酸、肉豆蔻酸与本研究结果相同，差别是还含有 C18 酸（9,12-亚油酸、9-油酸、10-油酸、硬脂酸、7,10-亚油酸）和 C20 酸（5,8,11,14-花生四烯酸）。

参考文献

[1] 王芳,徐勤.中药挥发油诱导肿瘤细胞凋亡作用机制的研究进展[J].中国药房,2014,25(15):1424-1426
WANG Fang, XU Qin. Advances of research on tumor cell apoptosis induced by the volatile oil of Traditional Chinese Medicine[J].China Pharmacy, 2014, 25(15):1424-1426

[2] 庄猛,姜卫兵,花国平等.金边黄杨与大叶黄杨光合特性的比较[J].植物生理学通讯,2006,42(1):39-42
ZHUANG Meng, JIANG Wei-bing, HUA Guo-ping, et al. Comparison of the Photosynthetic Characteristics of *Euonymus japonicus* L. f. *aureo-marginatus* Rehd. and *Euonymus japonicus* L. [J]. Plant Physiology Communications, 2006, 42(1): 39-42

[3] 张开明,王珂,祝亚军,等.金边黄杨和大叶黄杨的光能吸收分配特征及其机制分析[J].河南农业大学学报,2014,48(4):429-434
ZHANG Kai-ming, WANG Ke, ZHU Ya-jun, et al. Mechanism in light energy absorption and distribution between *Euonymus japonica* cv. *Aureo-ma* and *Euonymus japonica* [J]. Journal of Henan Agricultural University, 2014, 48(4): 429-434

[4] 李国禄.金边黄杨栽培方法[J].现代园艺,2013,6:44-45
LI Guo-lu. Cultivation method on *Euonymus japonicus* L. f. *aureo-marginatus* Rehd [J]. Xiandai Horticulture, 2013, 6: 44-45

[5] 黄河,雷兴华,秦海英,等.黄杨叶色特性初步研究[J].南方农业,2012,10(6):11-13
HUANG He, LEI Xing-hua, QIN Hai-ying, et al. The preliminary study on the character of leaf coloration in

- Euonymus japonicus[J]. South China Agriculture, 2012, 10(6):11-13
- [6] 李映雪,谢晓金,李永秀,等.3种彩叶植物光合生理特性的差异[J].东北林业大学学报,2009,37(5):64-66
LI Ying-xue, XIE Xiao-jin, LI Yong-xiu, et al. Difference in photosynthetic physiological characteristics of three species of colorful plants [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2009, 37(5): 64-66
- [7] 魏鹏程,赵铭钦,刘鹏飞,等.不同蒸馏方法提取辛夷挥发油的比较分析.现代食品科技,2013,29(2):358-361
WEI Peng-cheng, ZHAO Ming-qin, LIU Peng-fei, et al. Comparative analysis of different distillation extraction of flos magnoliae volatile oil [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(2): 358-361
- [8] 黄景晟,张帅,刘飞,等.超临界 CO₂ 萃取陈皮挥发油及其化学成分分析[J].现代食品科技,2013,29(8):1961-1966
HUANG Jing-sheng, ZHANG Shuai, LIU Fei, et al. Extraction of volatile oil from tangerine peel by supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) and analysis of its chemical constituents [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(8): 1961-1966
- [9] DAINTREE L S, KORDIKOWSKI A, YORK P. Separation process for organic molecules using SCF technologies [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2008, 60: 351-372
- [10] 于长江,宋小平,张鑫,等.海南山苍子挥发油 GC-MS 分析及抗肿瘤活性研究[J].天然产物研究与开发,2014,26(11): 1849-1852
YU Chang-jiang, SONG Xiao-ping, ZHANG Xin, et al. Chemical components and antitumor activity of essential oil of Litsea cubeba seed from Hainan [J]. Natural Product Research and Development, 2014, 26(11): 1849-1852
- [11] Warburg O. On the origin of cancer cells [J]. Science, 1956, 123(319):309-314
- [12] Zaidi N, Royaux I, Swinnen JV, et al. ATP citrate lyase knockdown induces growth arrest and apoptosis through different cell- and environment-dependent mechanisms [J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2012, 11(9):1925-1935.
- [13] Zhu YP, Su ZW, Li CH. Growth-inhibition effects of oleic acid, linoleic acid and their methyl esters on transplanted tumors in mice [J]. Journal of National Cancer Institute, 1989, 81(17): 1302-1306
- [14] Charles DB, Lea MA. Effects of C18 fatty acid isomers on DNA synthesis in hepatoma and breast cancer cells [J]. Anti-cancer Research, 1995, 15(5B): 2017-2021
- [15] 晏四平,苏德森.不饱和脂肪酸抗肿瘤作用研究进展[J].辽宁药物与临床,2000,3(1):36-39
YAN Si-ping, SU De-sen. Advances of research on anti-tumor effect of unsaturated fatty acid [J]. Liaoning Pharmacy and Clinical Remedies, 2000, 3(1): 36-39
- [16] 华允芬,吴江林,钱俊青.特种五谷虫脂肪酸的体外抗肿瘤、抗 HIV-1 整合酶活性及组成分析[J].昆虫学报,2008,51(2): 137-142
HUA Yun-fen, WU Jiang-lin, QIAN Jun-qing. Inhibitory effect of fatty acids from specifically-cultivated *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera:Calliphoridae) larvae on tumor cells and HIV-1 integrase in vitro and their ingredient analysis [J]. Acta Entomologica Sinica, 2008, 51(2): 137-142