

# 细叶亚菊挥发油中抑制垂穗披碱草的化合物的分离与鉴定

甄润德 张树源\* 白雪芳 顾立华 张宝琛

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

**提要** 用气相色谱-质谱联机光谱分析法, 分离、提纯, 鉴定细叶亚菊挥发油中抑制垂穗披碱草生长的化合物49种, 有 $\alpha$ -蒎烯、蒹烯、薷品-3-烯、桉叶油精、胡薄荷酮、樟脑、萜品烯-4-醇和乙酸萜烯酯8种主要化合物, 而占总细叶亚菊挥发油的82.80%。其中樟脑最多, 胡薄荷酮和桉叶油精为次。

**关键词:** 垂穗披碱草, 细叶亚菊挥发油, 樟脑, 相生相克

根据观测, 多年生垂穗披碱草人工草地的严重退化与杂类草细叶亚菊侵入的密度成正相关。也就是说, 细叶亚菊侵入垂穗披碱草人工草地的面积越大, 密度越高, 垂穗披碱草人工草地退化越严重(张宝琛等1989)。通过细叶亚菊各部位的提取液分别对垂穗披碱草种子萌发和幼苗生长的生物检测, 进一步证实了细叶亚菊提取物对垂穗披碱草有一定的生化相克作用(白雪芳等1991)。为确定相克物质的化学成份, 我们根据垂穗披碱草人工草地退化现象, 报告了细叶亚菊挥发油中抑制垂穗披碱草化合物的分离和鉴定的结果。

## 1 材料与 方法

采用中国科学院海北高寒草甸生态系统定位站西侧, 自然条件下, 严重退化的多年生垂穗披碱草(*Elymus nutans*)人工草地里花前期生长发育良好的细叶亚菊(*Ajania tenuifolia*)为材料。

**1.1 细叶亚菊挥发油的收集** 于1986年6~8月, 在海北站采集细叶亚菊的鲜草, 经过挑选, 取个体大小一致, 生长发育相似的地上部分, 洗净、晾干, 称取12.50 kg 为提取挥发油的样品。用水蒸汽蒸

馏法提取, 提取率为0.3%。液体呈淡绿色透明油状, 具极强刺激性臭味, 比重为0.9944, 折光率( $n_D^{20}$ )为1.4699, 比旋光度( $\alpha_D^{20}$ )为13.15°。该液体集于棕色玻璃瓶内, 低温保存备用。

**1.2 挥发油的分离、提纯和鉴定** 取上述收集的细叶亚菊挥发油6.4 ml, 上硅胶柱层析(柱内硅胶为青岛海洋化工厂生产, 粒度100~200目, 重172.5 g), 先用98:2的石油醚(30~60℃):乙酸乙酯为展开剂, 控制流速为2 ml/min, 洗脱液用1%香草醛硫酸溶液为显色剂的薄层层析法检查。薄层板喷洒显色剂后, 在105℃下烘烤, 即出现黄、红、蓝等不同色斑, 反复检查洗脱液, 直至薄层检查无色斑为止, 合并洗脱液为第一部分;再用95:5的石油醚(30~60℃):乙酸乙酯为展开剂, 条件、方法步骤同第一部分, 洗脱液为第二部分。最后单用乙酸乙酯为展开剂(条件、方法同上述两部分), 洗脱液为第三部分。这3部分洗脱液分别经过减压处理, 得细叶亚菊挥发油分离提纯的三个部分。并置-1~5℃冰箱中, 保存24 h后取出, 一、三部分无异样, 第二部分有无色结晶析出, 经低温快速过滤和溶剂减压清洗后, 获纯无色晶体。这些晶体经GC-MS联机鉴定, 并确定它们的化学结构式。

**1.3 仪器设备与工作条件** GC-MS联机。色谱柱:OV-101, 内径0.27 mm, 长28 m, 载气为He, 流速19 cm/s, 分流比50:1, 接口温度270℃, 起始柱温55℃, 终止柱温180℃, 温度升速35℃/m, 气化温度250℃, 扫描范围30~400 m/e。

质谱仪:VG 7070E。EI源70 eV, 捕集电流200  $\mu$ A, 加速电压6 kV, 倍增电压20 kV, 放大器增益 $10^{-5}$ , 扫速1.5 s, 离子源温度180℃, 分辨率2 000  $\text{cm}^{-1}$ , 离子源压 $9.9 \times 10^{-7}$  Pha。

**1.4 生物检测** 首先给每个密封培养箱内放入

1994-11-30收到, 1995-12-04接受。

国家自然科学基金和中国科学院海北高寒草甸生态系统定位站基金资助项目。

\* 执笔联系人。

盛有50粒垂穗披碱草种子的6个培养皿,然后将分离提纯后的挥发油,按每立方米3、1、0.5、0.1和0 ml(对照)放入5个同体积的密封培养箱内盛有10 ml蒸馏水的培养皿中。昼温28~30℃,夜温10~15℃,日用600 w 白炽灯光照10 h,种子分别在5种挥发油的浓度中熏蒸24 h后,再给5种浓度的每个培养皿中加入10 ml 蒸馏水。培养9 d后,观测种子萌发率和幼苗株高与根长。

## 2 结果与讨论

### 2.1 细叶亚菊挥发油的化学成分与结构式

表1 细叶亚菊挥发油主要化学成分(经GC-MS鉴定)

Table 1 The major chemical constituents of volatile oil of *A. tenuifolia*

Peak number	Major compound	Retention time (min)	Content (%)
17	$\alpha$ -Pinene	9.868	4.905
18	Camphene	10.202	3.238
19	$\Delta^3$ -Caren	10.522	4.557
23	1,8-Cineole	11.730	12.843
32	Pulegone	13.522	15.263
34	Camphor	14.152	31.706
36	Terpinen-4-ol	14.647	2.265
43	Chrysanthenol acetyl	16.163	8.005

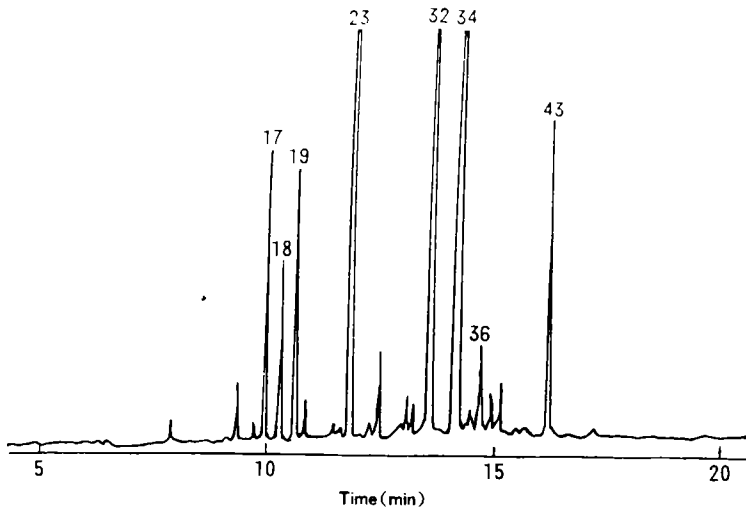


图1 细叶亚菊挥发油气相色谱图 OV-101(28 mm×0.27 mm)

Fig. 1 The gas chromatogram of volatile oil from *Ajmia tenuifolia*

将细叶亚菊挥发油分离提纯的样品,直接注入GC-MS联机后,经过调试和正常运转,在5、10、15、20 min内,即得49条大小不等的色谱峰值(图1)。其中17、18、19、23、32、34、36和43等8个峰值较大。按面积归一化法求出8个较大峰值各组分的含量。再将GC-MS总离子流出图与标准图谱及GC-MS手册相互比较,鉴定出细叶亚菊挥发油中8种主要化学成分(表1)及其化学结构式(图2,日本香料协会编1973,林正奎和华映芳1988)。

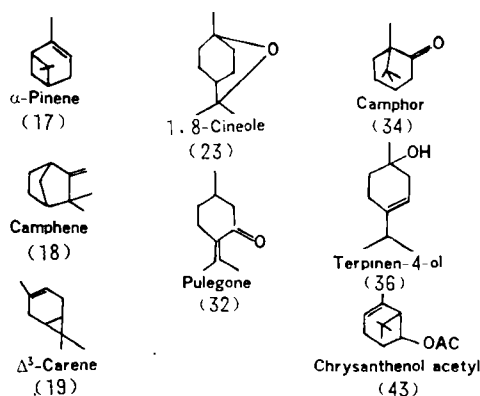


图2 细叶亚菊挥发油8种重要化合物的结构式  
Fig. 2 The structure of 8 important compounds in volatile oil of *A. tenuifolia*

图1表明,按整个峰值的大小依次排列为34、32、23、43、17、19、18和36,其相应含量在表1中也依次为31.71%、15.26%、12.84%、8.00%、4.91%、4.56%、3.24%和2.27%。其中34、32和23为3个主要峰值,以34樟脑含量最多。

在-1~5℃低温冰箱保存24 h的挥发油分离提纯的第二部分分析出无色晶体,经低温快速过滤和溶剂减压清洗所得纯品,用GC-MS联机鉴定主要为樟脑,这进而证明图1中的樟脑是细叶亚菊挥发油中的主要成分之一。

相生相克物质是植物分泌到外界环境中的次生代谢产物。一般分子量较小,结构简单。目前已知的生克物质大致可归纳为14类,其中最常见的是酚类和类萜化合物(Rice 1984)。由图2中细叶亚菊挥发油8种主要化学结构式可见,它们是含有10个或10个以上碳原子的萜类脂肪族环状碳氢化合物,其通式多数为 $C_{10}H_{16}$ ,或分子式为 $C_5H_8$ 倍数的烃类及其含氧衍生物,难溶于水,但可溶于具有一定气味的有机溶剂物质。表1表明, $\alpha$ -蒎烯、桉烯、樟脑、乙酸菊烯醇酯和萹品-3-烯是由两个异戊二烯结构单位头尾相连而成的、含有两个碳环的双

环单萜类。而胡薄荷酮、桉叶油精和萹品烯-4-醇也是由两个异戊二烯结构单位头尾相连而成的,只含有一个碳环的单环单萜类。它们既是细叶亚菊挥发油的主要化学成分,又是目前发现的14类生克物质中,最常见的类萜化合物。

## 2.2 细叶亚菊挥发油对抑制垂穗披碱草生长的生理效应

不同浓度的细叶亚菊挥发油对垂穗披碱草种子的萌发率、株高和根长都有不同程度的抑制作用。细叶亚菊挥发油的浓度愈大,抑制垂穗披碱草种子的萌发率、株高和根长就愈严重(图3)。根长除有上述总趋

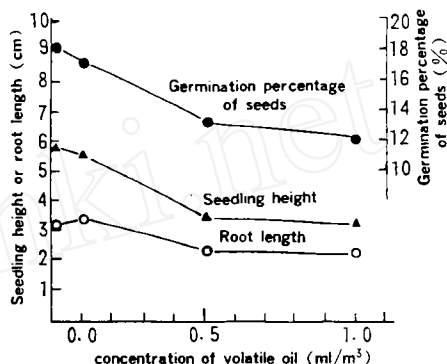


图3 细叶亚菊挥发油对垂穗披碱草种子萌发率、株高和根长的影响

Fig. 3 The effects of volatile oil of *Ajama tenuifolia* on the germination percentage of seeds, seedling height and root length of *Elymus nutans*

Each value is the average of 50 grain seeds in 6 repeats.

势外,它浓度小,并有一定刺激生长的作用。浓度大抑制愈严重的情况,与Muller等(1964)在美国加州南部发现银叶鼠尾草(*Salvia leucophylla*)和加利福尼亚蒿(*Artemisia californica*)分泌出来的桉树脑(cineole)、樟脑(camphor)和 $\alpha$ -蒎烯( $\alpha$ -pinene)等类萜物质,在近地面形成“萜云”,不仅能够抑制周围植物的生长发育,而且也造成了大片草地的自然退化的研究结果相一致。事实

上,目前由我们所鉴定过的占细叶亚菊挥发油总含量82.80%的8种主要化合物(表1),它们均为单环或双环单萜类化合物。根据我们的细叶亚菊挥发油对垂穗披碱草种子萌发率、株高和根长影响的研究,它们也很可能是抑制垂穗披碱草的生长发育和促进多年生垂穗披碱草人工草地自然退化现象发生的主要相克物质。

### 参考文献

白雪芳,张宝琛,甄润德等(1991).生化他感作用与高寒草甸人工草场自然退化现象的研究——细叶亚菊挥发油对垂穗披碱草种子萌发

和幼苗酶活性的影响.高寒草甸生态系统, 3: 63

林正奎,华映芳(1988).野菊精油化学成分的研究.植物学报, 30: 220

张宝琛,顾立华,甄润德等(1989).细叶亚菊入侵与高寒草甸垂穗披碱草人工草场自然退化现象相关性调查.中国草地, 6: 21

日本香料协会编(1973).テルパンスペワトル集成.东京:广川书店,24,26,28,48,180,192,208

Muller CH, Muller WH, Haines BL (1964). Volatile growth inhibitors produced by aromatic shrubs. Science, 143:3605

Rice EL (1984). Allelopathy. 2nd Ed, Academic Orlando, FL

## Isolation and Identification of Allelopathic Compounds in the Volatile Oil from *Ajania tenuifolia* Inhibiting *Elymus nutans*

ZHEN Run-De, ZHANG Shu-Yuan\*, BAI-Xue-Fang, GU Li-Hua and ZHANG Bao-Chen

(Northwest Plateau Institute of Biology, The Chinese Academy of Sciences, Xining 810001)

The volatile oil from leaves and stems of *Ajania tenuifolia* was analysed by GC, GC/MS and column chromatography. About 49 compounds were identified in the volatile oil of *A. tenuifolia* (Fig. 1), most of which were terpenes. 8 major compounds account for 82.80% of the total (Table 1). Camphor, pulegone and 1, 8-cineole being the major ones. Accounting for

31.71%, 15.26% and 12.84% respectively of the total volatile oil. The growth and development of *E. nutans* were inhibited by the volatile oil from *A. tenuifolia* (Fig. 3).

**Key words:** *Elymus nutans*, the volatile oil of *Ajania tenuifolia*, camphor, allelopathy.

\* Author for correspondence.