

苏铁蕨中脂溶性成分的提取及 GC-MS 分析



FAN Ya-ming

樊亚鸣¹, 方雪辉¹, 陆慧宁², 陶文琴³, 高绍中¹, 陈永亨⁴

(1. 广州大学 化学化工学院, 广东 广州 510006; 2. 中山大学 测试中心, 广东 广州 510275;
3. 广州大学 生命科学学院, 广东 广州 510006;
4. 广州大学 环境科学与工程学院, 广东 广州 510006)

摘 要: 采用微波-乙醇工艺提取苏铁蕨的木质根上茎直立部分,经 GC-MS 分析,分离出 60 个峰,并确认了其中 55 个成分,所鉴定的组分占总峰面积的 97.88%。苏铁蕨中的脂溶性成分被划分为 4 类化合物:有机酸类、倍半萜类、烷烃类和环硅氧烷类。经结构分析,各类化合物内部的分子结构间存在高度的相关性,特别在烷烃类与环硅氧烷类中,相邻的化合物间具有相同的结构差。其中环硅氧烷的结构在蕨类植物研究中尚未见报道。

关键词: 苏铁蕨;环硅氧烷;微波-乙醇提取

中图分类号:TQ654.2;O657.71

文献标识码:A

文章编号:0253-2417(2008)02-0110-05

Extraction and Analysis of Lipophilic Components from *Brainia insignis* (Hook.) J. Sm. by GC-MS

FAN Ya-ming¹, FANG Xue-hui¹, LU Hui-ning², TAO Wen-qin³, GAO Shao-zhong¹, CHEN Yong-heng⁴

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China;
2. Instrumentation Analysis Research Center, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China;
3. School of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China;
4. School of Environmental Science and Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The upstanding part of xylem caudex of *Brainia insignis* (Hook.) J. Sm. was extracted by organic solvents under low temperature and mild microwave irradiation. The extract was analyzed by GC-MS, 60 peaks were separated and 55 compounds were identified, which accounted for 97.88% of total peak area. The volatile components in *B. insignis* were classified into four structure groups: organic acids, sesquiterpenes, alkanes and cyclosiloxanes. From structural analysis, there are close correlations among individual groups of compounds. Especially in alkane and cyclosiloxane groups, there are similar structural differences between the neighboring compounds. The cyclosiloxanes have not been reported hitherto in fern research.

Key words: *Brainia insignis*(Hook.) J. Sm.; cyclosiloxanes; low temperature-microwave extraction

苏铁蕨(*Brainia insignis*(Hook.) J. Sm.),别名赤蕨,是乌毛蕨科苏铁蕨属唯一的种,为古代泥盆纪时代孑遗植物^[1]。其在地球上出现大约四亿年,是活着的化石。地球上蕨类品种繁多,但是较大型、有直立主干的乔木蕨类只有桫欏和苏铁蕨。其中苏铁蕨主要分布在我国广东、广西、福建、台湾、贵州、云南一带,为罕见的野生植物资源,故被国家林业局正式定为重点二级保护植物^[2]。据报道^[3],大多数蕨类植物均有药用价值,药用蕨类植物含有黄酮类、甾类、生物碱等活性物质。有资料记载,苏铁蕨的根茎具有重要的药用价值^[4-5]。将其茎干去皮入药,有清热解毒、止血散瘀、抗菌治烫的作用。利用苏铁蕨根茎与其他中草药配伍而成的行军救急散,可通关消积,止痛止泻,常用于中暑伤风,发热恶寒、头眩身酸,心胃气痛等症^[6]。目前,国外尚无有关苏铁蕨的研究报道;国内对苏铁蕨的研究主要集中在

收稿日期:2007-04-23

基金项目:国家星火计划(2005EA780029);广东省自然科学基金(06300617);广东省科技计划(2006B20901006)

作者简介:樊亚鸣(1957-),女,贵州贵阳人,副教授,硕士生导师,研究领域:天然产物化学;E-mail:fanyaming@163.net。

其植物特征的领域,尚未涉及到其中的有效成分。即使对蕨类植物中挥发成分的研究,也仅有少量报道^[7-8],且所采用的提取工艺均为水蒸气蒸馏法配合溶剂萃取,因而难免受热时间较长破坏植物中的热敏成分,导致最终成分的改变。本研究通过微波-乙醇法在较低温度下提取苏铁蕨中的挥发成分,以尽量保存其中的热敏成分,GC-MS 测试试样;在分析图谱与确定结构时,结合 NIST 谱库检索、次生代谢产物间的生源关系及质谱图的人工分析,首次确定了苏铁蕨中有代表性的一系列化合物。研究苏铁蕨中的有效成分,对于深入了解其药理性质,探索新化合物的构效关系有重要意义;对于研究植物的物种进化、植物区系、古植物、古气候及植物界发展演化的过程等都有一定的借鉴与帮助。

1 实验

1.1 材料与仪器

Voyager GC-MS 型气相色谱-质谱联用仪,美国 Finnigan 公司;南京杰全 NJL07-3 型微波提取装置。材料:苏铁蕨,采于广东英德石门台省级自然保护区(因修建铁路,该区域有苏铁蕨根部受损,故采出)。

1.2 提取工艺

取苏铁蕨木质根上茎直立部分于 60 °C 烘干,粉碎过 188 μm 筛,称质量 50 g,微波照射下乙醇提取,抽滤,滤液在 58 °C 浓缩至无乙醇;正己烷多次萃取以上浓缩物至萃取液无色,萃取液在 58 °C 浓缩至无正己烷,得棕黄色黏稠状物,以此作为脂溶性成分供 GC-MS 分析。

1.3 GC-MS 测定条件

1.3.1 气相色谱条件 顶空固相微萃取,不分流进样;色谱柱:BPX5-MS(25 m × 0.22 mm × 0.25 μm)弹性石英毛细管柱,柱初温 60 °C(保持 3 min),程序升温 10 °C/min 至 130 °C,然后以 5 °C/min 升温至 250 °C(保持 3 min);载气为 He,流速 1 mL/min。

1.3.2 质谱条件 EI 离子源,温度 200 °C,界面温度 230 °C,电子能量 70 eV,倍增器电压 350 V,质量范围 m/z 28 ~ 510 u,标准质谱谱库:NIST 库。

1.4 GC-MS 图谱分析

结合 NIST 谱库检索、次生代谢产物间的生源关系及质谱图的人工分析,多角度推断并验证各成分的化学结构,以提供较为可靠的苏铁蕨中脂溶性化合物群体的结构特征;同时,按峰面积归一化法进行定量分析,分别求得各化合物在提取物中的 GC 含量。

2 结果与分析

2.1 提取条件分析

控制整个处理及提取过程在 60 °C 或以下进行:包括粉末样品在 60 °C 恒温干燥 1 h,提取及浓缩等均控制在 60 °C 以下;选择较低的微波功率(<187 W)进行提取,取微波强化加速提取之长,避其高功率破坏有效成分之短;尽量缩短样品受热时间,提取过程在 45 min 内完成;为充分提尽样品中的醇溶性成分,设计反复 3 次提取;己烷萃取醇提物中的脂溶性成分,也反复萃取以至完全。

微波-乙醇法提取苏铁蕨木质根上茎直立部分的提取条件如表 1 所示。

表 1 微波-乙醇法提取苏铁蕨中有效成分的条件

Table 1 Microwave-ethanol extraction condition of effective components in *B. insignis*

提取次数 extracting times	液固比(mL:g) liquid:solid	提取时间/min extracting time	提取温度/°C extracting temp.	微波功率/W microwave power
1	3:1	20	58	187
2	2:1	15	58	182
3	1:1	10	58	186

2.2 GC-MS 分析结果

按以上条件对苏铁蕨进行 GC-MS 分析,分离出 60 个组分,确定了其中 55 个组分的结构,结果见表 2。

表2 苏铁蕨中脂溶性化学成分及GC含量

Table 2 Chemical components and GC contents of volatile fraction from *B. insignis*

序号 No.	化合物 compounds	保留时间/min retention time	分子式 formula	相对分子质量 M_r	GC含量/% GC content
1	羟基乙酸 hydroxyacetic acid	3.10	C ₂ H ₄ O ₃	76	1.27
2	己酸 hexanoic acid	6.58	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	23.2
3	4-己烯酸 4-hexenoic acid	6.68	C ₆ H ₁₀ O ₂	114	0.73
4	十甲基环戊硅氧烷 decamethyl-cyclopentasiloxane	8.05	C ₁₀ H ₃₀ O ₅ Si ₅	370	0.23
5	2-(4-甲基-6-(2,6,6-三甲基环己-1-烯)己烷-1,3,5-三烯基)环己-1-烯-1-甲酰 2-(4-methyl-6-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)hexa-1,3,5-trienyl)cyclohex-1-en-1-carboxaldehyde	10.29	C ₂₃ H ₃₂ O	324	0.21
6	十二甲基环己硅氧烷 dodecamethyl-cyclohexasiloxane	10.49	C ₁₀ H ₃₆ O ₆ Si ₆	444	1.92
7	十三烷 tridecane	10.83	C ₁₃ H ₂₈	184	0.71
8	2-乙酸萘-6-羟基-6-甲基环十酯 2-yl-acetic acid-naphthalen-6-hydroxy-6-methyl-cyclodecyl ester	11.20	C ₂₃ H ₃₀ O ₃	354	0.08
9	2-苯甲酰-1,1,10-三甲基-6,9-对二氧萘烷 2-benzoyloxy-1,1,10-trimethyl-6,9-epidioxydecalin	11.60	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	330	0.05
10	9-己基十七烷 9-hexyl heptadecane	11.89	C ₂₃ H ₄₈	324	0.29
11	二十四烷 tetracosane	12.00	C ₂₄ H ₅₀	338	0.25
12	2-甲基-4-乙基-4-丙基癸烷 2-methyl-4-ethyl-4-propyl-decane	12.06	C ₁₆ H ₃₄	226	0.23
13	3,7,11-三甲基-1,6,10-十二碳三烯-3-乙烯基甲酸酯 3,7,11-trimethyl-1,6,10-dodecatrien-3-vinyl formate	12.31	C ₁₆ H ₂₆ O ₂	250	0.5
14	2-甲基-2-十三碳烯 2-methyl-2-tridecene	12.42	C ₁₄ H ₂₈	196	0.92
15	十四烷 tetradecane	12.54	C ₁₄ H ₃₀	198	1.84
16	三十烷 triacontane	12.66	C ₃₀ H ₆₂	422	0.26
17	油酸 oleic acid	12.83	C ₁₆ H ₂₆ O ₂	282	0.23
18	(Z,E)- α -金合欢烯 (Z,E)- α -farnesene	12.95	C ₁₅ H ₂₄	204	0.26
19	长叶烯 longifolene	13.05	C ₁₅ H ₂₄	204	3.28
20	β -石竹烯 β -caryophyllene	13.18	C ₁₅ H ₂₄	204	3.96
21	十四甲基环庚硅氧烷 tetradecamethyl-cycloheptasiloxane	13.28	C ₁₄ H ₄₂ O ₇ Si ₇	518	1.78
22	1-辛基-环己烷 1-octyl-cyclohexane	13.55	C ₁₄ H ₂₈	196	0.16
23	β -倍半水芹烯 β -sesquiphellandrene	13.60	C ₁₅ H ₂₄	204	1.14
24	3-甲基-6-丙基十二烷 3-methyl-6-propyl-dodecane	13.70	C ₁₆ H ₃₄	226	0.58
25	α -石竹烯 α -caryophyllene	13.87	C ₁₅ H ₂₄	204	1.83
26	1-十五烯 1-pentadecene	14.07	C ₁₅ H ₃₀	210	2.21
27	反-2-十六烯-1-醇 trans-2-hexadecene-1-ol	14.19	C ₁₆ H ₃₂ O	240	2.4
28	α -姜黄烯 α -curcumene	14.27	C ₁₅ H ₂₂	202	0.52
29	十五烷 pentadecane	14.42	C ₁₅ H ₃₂	212	11.53
30	α -香柠檬烯 α -bergamotene	14.51	C ₁₅ H ₂₄	204	1.47
31	β -马榄烯 β -maaliene	14.66	C ₁₅ H ₂₄	204	0.56
32	β -红没药烯 β -bisabolene	14.76	C ₁₅ H ₂₄	204	2.25
33	δ -杜松烯 δ -cadinene	15.02	C ₁₅ H ₂₄	204	0.44
34	桉叶烯-3,7(11)-二烯 eudesma-3,7(11)-diene	15.14	C ₁₅ H ₂₄	204	0.78
35	顺- α -红没药烯 cis- α -bisabolene	15.39	C ₁₅ H ₂₄	204	0.94
36	二十烷 icosane	15.64	C ₂₀ H ₄₂	282	0.57
37	二十八烷 octacosane	15.79	C ₂₈ H ₅₈	394	0.44
38	1-3-二聚环戊二烯 1,3-cyclopentadiene dimmer	16.21	C ₁₀ H ₁₂	132	0.59
39	1-十六烯 1-hexadecene	16.27	C ₁₆ H ₃₂	224	1.78
40	十六烷 hexadecane	16.39	C ₁₆ H ₃₄	226	3.27
41	3-二十三烯 3-tricosene	16.50	C ₁₃ H ₄₆	322	0.32
42	2,6,10-三甲基十五烷 2,6,10-trimethyl-pentadecane	17.26	C ₁₈ H ₃₈	254	1.41
43	三十二烷 dotriacontane	17.80	C ₃₂ H ₆₆	450	0.47
44	顺-3-十七烯 cis-3-heptadecene	18.00	C ₁₇ H ₃₄	238	2.80
45	反-8-十七烯 trans-8-heptadecene	18.16	C ₁₇ H ₃₄	238	4.83
46	十七烷 heptadecane	18.40	C ₁₇ H ₃₆	240	7.69
47	2-二十一烯 2-henicosene	20.29	C ₂₁ H ₄₂	294	0.56
48	二十二烷 docosane	20.40	C ₂₂ H ₄₆	310	0.51
49	3-乙基-5(2-乙基丁基)-十七烷 3-ethyl-5(2-ethylbutyl)-heptadecane	20.45	C ₂₆ H ₅₄	366	0.50
50	异丁基-4-辛基-邻苯二甲酸酯 isobutyl-4-octyl-phthalate	21.91	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	334	1.74
51	乙基-异甾烷酯 ethyl iso-allocholate	22.13	C ₂₆ H ₄₄ O ₅	436	0.30
52	二十九烷 nonacosane	22.35	C ₂₉ H ₆₀	408	0.25
53	丁基辛基邻苯二甲酸酯 butyl octyl phthalate	22.85	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	334	0.11
54	二丁基邻苯二甲酸酯 dibutyl-phthalate	23.77	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278	0.56
55	棕榈酸乙酯 ethyl-palmitate	24.24	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	0.17

2.3 测定结果分析

从苏铁蕨的脂溶性成分中鉴定出 55 个化合物。按大类分别为有机酸、倍半萜、烷烃、环硅氧烷 4 大类物质。由表 2 可知,已鉴定的成分占色谱总出峰面积的 97.88 %。

在检出化合物中,GC 含量最高的成分为己酸,达 23.2 %,加上羟基乙酸、4-己烯酸及油酸,酸性脂溶性成分所占 GC 含量达 25.43 %,说明苏铁蕨是一种处于酸性状态的植物;其次是烷烃的总 GC 含量最高,达 30.38 %,所对应的烷烃类化合物有 17 个之多,其中 GC 含量最高的为十五烷(11.53 %),且直链烷烃占 12 个;第三是倍半萜类,其对应的化合物有 13 个,其中 GC 含量较高的有长叶烯(3.28 %)、 β -石竹烯(3.96 %)及 β -红没药烯(2.25 %)等,总 GC 含量达 19.64 %,资料^[9]表明倍半萜类成分具有挥发性,并有多种生物活性;第四是环硅氧烷化合物,也是苏铁蕨中最具代表性的化合物,其中包括十四甲基环庚硅氧烷(1.78 %)等 3 个化合物,总 GC 含量为 3.93 %,这类化合物在蕨类植物中首次发现。

2.4 化合物内分子间的相互关系

2.4.1 环硅氧烷类 在图谱分析中,21 号峰对应的未知物与十四甲基环庚硅氧烷的标准质谱图最为相似,两者的分子离子峰及其碎片基本相同(见图 1),因而可确认 21 号峰的结构是十四甲基环庚硅氧烷。

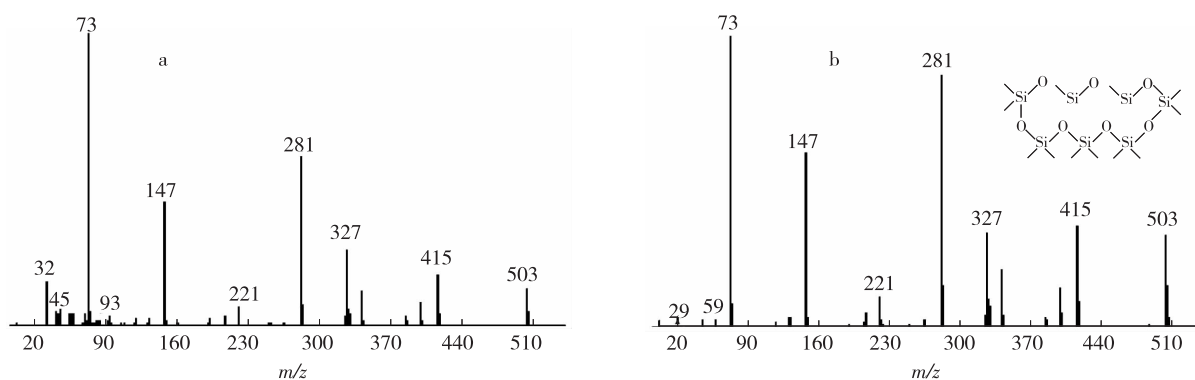


图 1 21 号峰未知物的质谱图(a)与标准质谱图(b)间的比较

Fig. 1 Comparison of mass spectra between unknown compound 21 (a) and cyclosiloxane as standard (b)

确认 21 号峰的结构为 4、6 号峰对应的化合物结构提供了佐证。因相似的代谢途径与酶的催化作用,使存在于同一天然产物中的化合物之间在结构上具有一定的相关性。4、6 号峰对应的环硅氧烷结构,既是 NIST 谱库检出的首选结构,也是类似物中相似度最高的结构。作者有理由认为 4、6 号峰的相似度是较高的,可以作为 21 号峰的同系物而确认其结构。苏铁蕨脂溶成分中 3 个典型结构的相关性还可从环上硅原子数依次递增(5、6 与 7 个硅原子)方面找到明确的证据。3 个环硅氧烷同系物的结构见图 2。

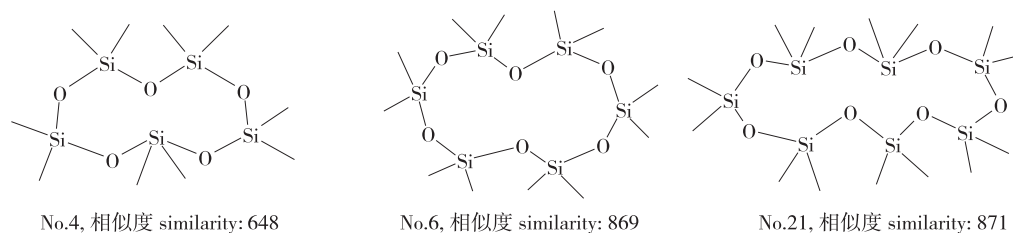
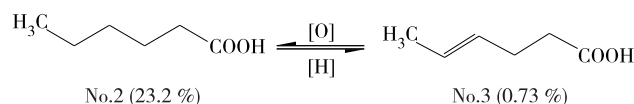


图 2 苏铁蕨中 3 个环硅氧烷结构的比较

Fig. 2 Comparison of the structures for three cyclosiloxanes in *B. insignis*

2.4.2 有机酸类 检出的 4 个酸性化合物中,两个结构是相互关联的,它们彼此映证了对方的存在。



2.4.3 烷烃类 天然产物的脂溶性挥发成分中含有烷烃是比较常见的。但在苏铁蕨中部分烷烃系列不分奇偶以一个碳为系差非常有规律的递增是比较少见的:十三烷(0.71%)、十四烷(1.84%)、十五烷(11.53%)、十六烷(3.27%)及十七烷(7.69%)。

2.4.4 倍半萜类 13个倍半萜类化合物结构本身就是特征性很强的脂溶性挥发成分。

3 结论

3.1 采用温和的条件提取苏铁蕨中的脂溶性成分,以保留化合物的原始结构;通过GC-MS进行测试分析。提取条件:苏铁蕨木质根上茎直立部分的粉末50g,温度60℃,微波功率低于187W,提取时间45min;共检出60个成分,并鉴定出其中55个化合物的结构。

3.2 采用NIST谱库检索、次生代谢产物间的生源关系及质谱图的人工分析,首次确定了苏铁蕨中有代表性一个化合物群——环硅氧烷系列的3个同系物的化学结构。

3.3 通过分析,将苏铁蕨中的脂溶性挥发成分划分为4类化合物:有机酸类、烷烃类、倍半萜类与环硅氧烷类。此4类化合物使苏铁蕨这种珍稀植物具有以下特征:酸性植物;已检测的次生代谢产物的结构的稳定性都较高。这是否与其四亿年的存在状况有关还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 黄宝琼. 石门山的苏铁蕨群落[J]. 植物杂志, 2001(4): 5.
- [2] 黄宝琼. 我国植物中的国宝——苏铁蕨[J]. 传统医药, 2000(7): 49-50,30.
- [3] 程存归, 毛姣艳. 三种蕨类植物挥发油的化学成分研究[J]. 林产化学与工业, 2005, 25(2): 107-110.
- [4] 王长禄. 珍稀蕨类——苏铁蕨[J]. 中国花卉盆景, 2003(10): 14.
- [5] 孔维民. 苏铁与苏铁蕨的差异比较[J]. 林业调查规划, 2006, 31(1): 88-90.
- [6] 黄诺嘉, 杨文红, 萧树雄. 救急行军散的质量标准研究[J]. 中成药, 2003, 25(11): 874-877.
- [7] 任立云, 曾玲, 张茂新, 等. 华南毛蕨挥发油对美洲斑潜蝇成虫的行为干扰作用[J]. 华南农业大学学报, 2004, 25(4): 36-37.
- [8] 孙翠荣, 程存归. 江南星蕨挥发油的提取与化学成分的GC-MS分析[J]. 林产化学与工业, 2004, 24(2): 87-88.

本刊信息

《林产化学与工业》征订启事

《林产化学与工业》(双月刊)是中国林业科学研究院林产化学工业研究所和中国林学会林产化学化工分会共同主办的学术类刊物。报道范围是可再生的木质和非木质生物质资源的化学加工与利用,包括生物质能源、生物质化学品和生物质材料等,主要包括植物资源的热转化、热化学转化和活性炭,木材化学和制浆造纸,生物质原料水解,松脂及松香、松节油、植物多酚、林产香料、油脂、药物和生物活性物质,木工胶黏剂,树木寄生产物以及其他森林天然产物等方面的最新研究成果。

本刊自1981年创刊以来即先后被美国《CA》、英国《CAB Abstracts》、英国《FPA》、俄罗斯《PЖ》、日本《科学技术文献速报》、“中国期刊全文数据库”、“中国科学引文数据库”、“中国学术期刊综合评价数据库”、“万方数据——数字化期刊群”、“中文科技期刊数据库”、“中国科技核心期刊”、“中国核心期刊(遴选)数据库”、《中国农业核心期刊概览2006》等10多种大型刊库收录。

本刊2007年起改为双月刊,逢双月月末出版,大16开,定价:15.00元,全年90.00元。本刊刊号:ISSN 0253-2417, CN 32-1149/S。国内外公开发售,国内邮发代号:28-59;国外发行代号:Q5941。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。地址:210042 南京市锁金五村16号 林化所内。电话:(025)85482493;传真:(025)85482493;E-mail:lchx@chinajournal.net.cn; http://www.cifp.ac.cn。