

顶空固相微萃取/气相色谱/质谱法分析 贵州产海金沙挥发性成分

康文艺^{1 2*} 姬志强^{1 2} 常星^{1 2}¹河南大学中药研究所; ²河南大学药学院, 开封 475004

摘要: 采用顶空固相微萃取和气质联用技术(HS-SPME-GC-MS), 首次分析了贵州产海金沙根和叶的挥发性成分。从根中鉴定 33 种组分, 从叶中鉴定了 51 种组分。其中有 18 种组分二者是相同的。海金沙根中的烷烃在植物生长的过程中被酶催化转变为多种挥发性化学成分。

关键词: 海金沙; 挥发性成分; 固相萃取

中图分类号: Q946.91; R248.2

文献标识码: A

Volatiles of *Lygodium japonicum* in Guizhou by SPME-GC-MS

KANG Wen-yi^{1 2*} JI Zhi-qiang^{1 2} CHANG Xing^{1 2}¹Institute of Chinese Materia Medica, Henan University;²Pharmaceutical College of Henan University, Kaifeng 475004, China

Abstract: To investigate the volatiles from the roots and leaves of *Lygodium japonicum* in Guizhou province. The volatiles were analyzed by head-space solid micro-extraction coupled with GC-MS for the first time. Thirty-three compounds were identified from the roots of *L. japonicum* and 51 compounds from the leaves. Eighteen compounds were mutual. Alkanes in the roots of *L. japonicum* may convert to a variety of the volatiles by all kinds of enzymes in the process of the growth of *L. japonicum*.

Key words: *Lygodium japonicum*; volatile constituents; SPME

海金沙科海金沙属海金沙(*Lygodium japonicum*) 分布于我国长江以南, 北达秦岭南坡, 以及日本、朝鲜、越南和澳大利亚, 其味甘淡, 性寒, 主治尿路感染、尿路结石、泌尿系统感染等症^[1 2]。另有文献报道海金沙还可治疗婴幼儿腹泻^[3], 其多糖成分具有抗氧化和抗菌活性^[4 5]。

关于海金沙化学成分的研究, 国内外已有文献报道^[6-11], 主要含有的黄酮、甾体苷、对香豆酸、酚类、多糖等多种化学成分是其药理作用的基础。目前仅有一篇文献报道了浙江产海金沙全草挥发油的 GC-MS 研究^[12], 其他不同产地海金沙挥发油及采用顶空固相微萃取进行提取, 特别是针对其不同部位的挥发性成分的研究还没有报道。本文采用顶空固相萃取技术与气相色谱-质谱联用对海金沙的根和叶的挥发性成分进行分析鉴定。首次鉴定了贵州产海金沙阴干根和叶的 66 个成分, 为进一步开发利用

海金沙植物资源提供理论依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

海金沙根和叶于 2007 年 7 月采集于贵阳, 由贵阳中医学院刘凡副教授鉴定, 标本存于河南大学天然药物研究所。

1.2 仪器

美国安捷伦公司 GC 6890 N GC/ 5975 MS 气相色谱-质谱联用仪, 美国 Supelco 公司手动固相微萃取(SPME) 装置, 萃取头为 65 μm 聚二甲基硅氧烷(PDMS-DVB), $\text{C}_6\text{-C}_{26}$ 正构烷烃(Alfa Aesar)。

2 实验方法

使用前先将 SPME 的萃取纤维头在气相色谱的进样口老化 10 min, 老化温度为 250 $^{\circ}\text{C}$, 载气体积流量为 1.0 mL/min。取阴干海金沙根和叶各 0.7 g, 置于 5 mL 的样品瓶中, 盖上盖子, 插入 65 μm PDMS 萃取纤维头, 于 80 $^{\circ}\text{C}$ 下顶空取样 30 min 后,

收稿日期: 2009-05-11 接受日期: 2009-09-21

基金项目: 河南省教育厅骨干教师资助计划(教高 2008-755)

* 通讯作者 Tel: 86-378-3880680; E-mail: kangweny@hotmai.com

立即取出,在气相色谱仪进样口(250 ℃),脱附 1 min。

3 GC/MS 分析条件

3.1 色谱条件

HP-5 MS 石英弹性毛细管柱(30.0 m × 250 μm × 0.25 μm);载气为高纯氦气(99.999%),流速为 1.0 mL/min;进样口温度为 250 ℃;色谱柱初始温度 50 ℃(保持 1.0 min),以 3 ℃/min 升温至 120 ℃(保持 2 min),最后以 4 ℃/min 升温至 210 ℃(保持 10 min)。不分流进样。

3.2 质谱条件

电离方式:EI 源,电离能量 70 eV;离子源温度为 250 ℃;四级杆温度 150 ℃;传输线温度为 280

℃;四级杆温度为 150 ℃;电子倍增器电压 1765 V。质量扫描范围为 30-440 amu,谱图检索:采用 RTLP-EST3.L 和 NIST05.L 进行检索。

4 保留指数测定

按照文献报道方法^[13-15]以色谱纯正构烷烃样品(C₆-C₂₆)为参比计算各组分的保留指数 KI。

5 结果与讨论

5.1 实验结果

按照上述实验条件对海金沙的根和叶进行测定,采用计算机检索和人工解析各峰相应的质谱图,共鉴定了 66 个化合物,定性结果和相对含量见表 1。

表 1 海金沙根和叶的挥发性成分

Table 1 The volatile constituents from the roots and leaves of *Lygodium japonicum*

化合物 Compound	KI 值 KI value	含量 Content (%)	
		根 Root	叶 Leaf
2-戊基-呋喃	990	-	1.31
壬醛	1104	4.16	3.25
(E)-2-壬醛	1160	-	0.48
癸醛	1205	-	0.6
2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-羧基醛	1220	-	0.53
(E)-2-癸醛	1263	-	1.58
十一醛	1306	-	0.72
2-甲氧基-4-乙烯基酚	1323	-	0.33
6S-2,3,8,8-四甲基-三环[5.2.2.0(1,6)]十一-2-烯	1376	-	0.62
氮,氮二甲基-2-苯并恶唑胺	1383	-	1.83
十四烷	1397	1.5	
6,10-二甲基-2-十一酮	1405	-	0.78
丁香烯	1417	-	0.33
(E)-4-(2,6,6-三甲基-2-环己烯-1-基)-3-丁烯-2-酮	1430	-	0.33
1,4-二氯-2,5-二甲氧基-苯	1443	1.07	-
1-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-乙酮	1451	0.86	0.86
(E)-6,10-二甲基-5,9-十一碳二烯-2-酮	1456	-	2.57
4,8-二甲基-十一烷	1462	-	1.38
3-氯代苯亚甲基丙酮	1480	1.17	-
1-(1,5-二甲基-4-己烯基)-4-甲基-苯	1484	-	0.3
(E)-4-(2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-基)-3-丁烯-2-酮	1488	-	3.53
十五烷	1498	2.77	0.97
十二醛	1512	-	0.45
丁基羟甲苯	1515	2.07	0.57
(1S-cis)-4,2,3,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)-萘	1524	1.47	-
5,6,7,7a-四氢-4,7a-三甲基-2(4H)-苯并呋喃酮	1538	-	1.84
1,2-二氢-1,1,6-三甲基-萘	1546	2.31	-

2-甲基-十五烷	1563	0.91	-
4-(1-甲基丙基)-苯酚	1591	1.16	-
十六烷	1599	4.87	1.48
邻苯二甲酸二乙酯	1602	0.86	5.59
雪松醇	1608	0.91	-
十四醛	1615	0.79	-
5-甲基-2-十一碳烯	1648	-	0.83
2-溴-十二烷	1649	2.76	-
2-甲基-十六烷	1663	0.76	0.28
3-甲基-十六烷	1671	0.72	-
1,6-二甲基-4-(1-甲基乙基)-萘	1684	19.3	1.38
十七烷	1699	6.16	1.64
2,6-二甲基-十七烷	1705	5.13	1.94
十八醛	1717	1.94	0.74
2,6,10-三甲基-十二烷	1731	-	1.54
7-十四碳烯	1742	-	0.89
十四碳酸	1785	0.78	1.44
蒎	1789	-	1.04
十八烷	1800	2.88	1.09
2,6,10,14-四甲基-十六烷	1809	3.6	0.88
(1 α ,2 β ,5 α)-2,6,6-三甲基-二环[3.1.1]庚烷	1840	-	1.47
6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	1849	4.51	7.92
6-乙基-3-辛基-邻苯二甲酸异丁酯	1875	2.64	-
邻苯二甲酸二异丁酯	1875	-	1.27
9-十八炔	1882	-	1.47
正十九烷	1899	3.86	-
1-十九烯	1924	-	5.17
十六烷酸甲酯	1927	0.69	0.69
氧杂环十七烷-2-酮	1936	-	1.16
异植物醇	1951	-	0.32
9-十六烷酸	1962	-	0.93
邻苯二甲酸二正丁酯	1969	1.74	0.8
十六烷酸	1988	8.67	13.08
2-硫代苯基苯甲酰胺肟	2116	0.94	-
叶绿醇	2117	-	4.38
13-甲基-氧杂环十四烷-2,11-二酮	2133	-	1.18
(Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸	2152	-	0.73
(Z,Z,Z)-9,12,15-十八碳三烯-1-醇	2156	-	1.36
1-十六炔	2159	4.32	-
Total (%)		98.28	87.85

5.2 讨论

本研究鉴定了海金沙根的挥发性成分中 33 个化合物,占根中挥发油总量的 98.28%。其中含量

在 3% 以上的组分有: 1,6-二甲基-4-(1-甲基乙基)-萘(19.3%), 十六烷酸(8.67%), 十七烷(6.16%), 2,6-二甲基-十七烷(5.13%), 十六烷(4.87%), 6,

10,14-三甲基-2-十五烷酮(4.51%),1-十六炔(4.32%),壬醛(4.16%),2,6,10,14-四甲基-十六十九烷(3.86%),烷(3.60%)。

鉴定了叶的挥发性成分中51个化合物,占叶中挥发油总量的87.85%。其中含量在3%以上的有:十六烷酸(13.08%),6,10,14-三甲基-2-十五烷酮(7.92%),邻苯二甲酸二乙酯(5.59%),1-十九烯(5.17%),*(E)*-4-(2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-基)-3-丁烯-2-酮(3.53%),叶绿醇(4.38%),壬醛(3.25%)。

总体上,根的挥发性成分化合物类型少,大部分是烷烃,含量比较集中。而叶中挥发性化合物类型多样,含量分散。说明进行有氧呼吸比无氧呼吸更使植物体内的酶多样化,促使植物体发生多种化学反应,形成多种化合物。

烷烃在根中占35.92%,在叶中占12.67%,仅4,8-二甲基-十一烷和2,6,10-三甲基-十二烷在根中未检测到,而在叶中少量存在。其余根和叶中所共有的烷烃类化合物都是在根中的含量远大于叶中的含量,同时大多数在根中没有检测到的醇、醛、酮和有机酸类化合物在叶中却能检测到。说明烷烃由根到叶中逐渐被植物体内的酶催化转变成种类更多、结构更复杂的挥发性化学成分。

在海金沙挥发性成分中含量较大的化合物(例如1,6-二甲基-4-(1-甲基乙基)-萘、十六烷酸、6,10,14-三甲基-2-十五烷酮等)是否和海金沙药理作用有关,值得更深入的研究。

本研究从海金沙叶中所检测到的邻苯二甲酸二乙酯、十六烷酸、6,10,14-三甲基-2-十五烷酮等化合物,在倪士峰^[12]等对海金沙地上部分挥发性成分的研究中没有报道,说明不同产地的海金沙在化学成分上存在着差异。倪士峰认为,氧杂乙烷基-异辛烷、10,12-十八碳二炔酸、2,4-二癸醛、5-环亚丙基-1-戊醇和二环[2.2.0]己烷-1-醛等化合物有可能作为海金沙原植物药材挥发性物质的指纹性成分^[12],但在本研究中没有检测到,说明不同产地海金沙在挥发性成分上存在一定差异,是否可以作为原植物挥发性物质的指纹性成分还需要对不同产地海金沙进行系统研究。

参考文献

1 Jiangsu New Medical College(江苏新医学院). Dictionary

of Traditional Chinese Drugs(中药大辞典). Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1978: 1259.

- Lou Y(楼英). Analysis of treatment for five cases of herpes zoster of *Lygodium japonicum*. *Zhejiang Clin Med J*(浙江临床医学) 2002 4: 265.
- Chen JL(陈建龙), Yu YC(余育承). *Lygodium japonicum*. treatment of infantile diarrhea. *New J Tradit Chin Med*(新中医) 2002 34(9): 77.
- Su YC(苏育才). Isolation, Purification and Antimicrobial Activities of the Polysaccharides from *Lygodium japonicum*. *J Fujian Normal Univ, Nat Sci Edi.* (福建师范大学学报, 自科版) 2005 21(4): 76-79.
- Li XL, Zhou AG, Han Y. Anti-oxidation and anti-microorganism activities of purification polysaccharide from *Lygodium japonicum in vitro*. *Carbohydr Polym* 2006 66(15): 34-42.
- Zhang LH(张雷红), Yin ZQ(殷志琦), Fan CL(范春林), et al. Chemical Constituents from *Lygodium japonicum*. *Chin J Nat Med*(中国天然药物) 2006 4: 154-155.
- Zhang LH(张雷红), Yin ZQ(殷志琦), et al. Studies on the chemical constituents in herb of *Lygodium japonicum*. *China J Chin Mat Med*(中国中药杂志) 2005 30: 1522-1524.
- Zhang LH(张雷红), Fan CL(范春林), et al. A new steroidal glycoside from *Lygodium japonicum*. *J Chin Pharm Univ*(中国药科大学学报) 2006 37: 491-493.
- Zhu LX(朱邻遐), Zhang GG(张国刚), Wang SC(王胜超), et al. Chemical constituents from the root of *Lygodium japonicum*(Thunb.) Sw. *Chin J Med Chem*(中国药物化学杂志) 2008 18: 291-293.
- Ye WC, Fan CL, et al. A new phenolic glycoside from the roots of *Lygodium japonicum*. *Fitoterapia* 2007 78: 600-601.
- Zhang LH, Yin ZQ, Ye WC. Flavonoids from *Lygodium japonicum*. *Biochem System Ecol* 2006 34: 885-886.
- Ni SF(倪士峰), Pang YJ(潘远江), Wu P(吴平), et al. Analysis of volatile oil from *Lygodium japonicum* by GC-MS. *Chin Pharm J*(中国药学杂志) 2004 39: 99-100.
- Wang JM(王金梅), Kang WY(康文艺). Analysis of the volatile constituents of the buds and flowers of *Syringa oblata* Lindl. Henan by HS-SPME/GC/MS. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发) 2008 20: 1022-1026.
- Wang JM(王金梅), Xu QT(许启泰), Kang WY(康文艺). The volatile oil from different parts of *Lonicera japonica* Thunb. *Fine Chem*(精细化工) 2008 25: 1075-1078.
- Kang WY(康文艺), Wang JM(王金梅), Ji ZQ(姬志强), et al. Analysis of the volatile constituents from *Jasminum nudiflorum* Lindl. by HS-SPME-GC-MS. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发) 2009 21: 84-86.