

研究报告



新古尼异虫草石油醚提取物的成分分析

王文娟¹ 姚婷^{*1} 丁璐¹ 马桂芹¹ 汪勇¹ 韩燕峰^{*2}

1 黄山学院分析测试中心 安徽 黄山 245041

2 贵州大学生命科学学院生态系真菌资源研究所 贵州 贵阳 550025

摘要:【背景】新古尼异虫草具有多种药理作用，是一种具有开发潜力的新资源。但该虫草仍有很多活性物质值得探寻，目前对该虫草活性物质的研究多集中于大分子或极性物质，对小分子或弱极性物质的研究关注甚少。【目的】研究新古尼异虫草石油醚提取物中非极性/弱极性小分子化合物，以期完善该虫草中活性物质的化学指纹图谱库。【方法】利用石油醚对新古尼异虫草进行索氏提取，借助傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)和气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术鉴定分析石油醚萃取物中的物质组成。【结果】FTIR表明该虫草石油醚萃取物中含有C-H、C=O、C-O和C=C等官能团，经GC-MS进一步分析鉴定出109种化合物，主要包括烷烃、芳烃、烯烃、酸、酯、醇、胺等化合物，且首次检出甾类、芳烃类、烷烃类、酰胺类、烯烃类和酚类非极性/弱极性的小分子化合物，其中亚油酸及其同分异构体的相对含量最高(38.33%)。【结论】从新古尼异虫草中提取得到多种小分子活性成分，补充了该虫草中的物质组成，为其高附加值利用提供数据支撑。

关键词: 新古尼异虫草，石油醚萃取物，结构组成，分析鉴定

Active components of the petroleum ether extract from *Metacordyceps neogunnii*

WANG Wen-Juan¹ YAO Ting^{*1} DING Lu¹ MA Gui-Qin¹ WANG Yong¹ HAN Yan-Feng^{*2}

1 Analysis and Test Center, Huangshan University, Huangshan, Anhui 245041, China

2 Institute of Fungus Resources, Department of Ecosystem, College of Life Science, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China

Abstract: [Background] *Metacordyceps neogunnii* was a kind of new resource with the potential application value because it possessed multiple pharmacological functions. However, more active

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31460010); Natural Science Research Project of Huangshan University (2015xkj011); The First College Student Competition of Life Science of Anhui Province (2018); National College Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program Project (201810375008); Quality Engineering Project of Huangshan University (2017JPKF03); College Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program Project of Anhui Province (201710375045)

***Corresponding authors:** E-mail: YAO Ting: yting@hsu.edu.cn; HAN Yan-Feng: swallow1128@126.com

Received: 20-06-2018; **Accepted:** 12-09-2018; **Published online:** 29-09-2018

基金项目: 国家自然科学基金(31460010); 黄山学院自然科学研究项目(2015xkj011); 第一届安徽省大学生生命科学竞赛(2018); 国家级大学生创新创业训练计划项目(201810375008); 黄山学院质量工程项目(2017JPKF03); 安徽省大学生创新创业训练计划项目(201710375045)

***通信作者:** E-mail: 姚婷: yting@hsu.edu.cn; 韩燕峰: swallow1128@126.com

收稿日期: 2018-06-20; **接受日期:** 2018-09-12; **网络首发日期:** 2018-09-29

compounds were still worthy of exploring. The research of its active compounds mainly focused on macromolecular or polar compounds up to date, few studies were paid to micromolecular or weak-polar compounds. **[Objective]** The non-polar or weak-polar small molecular compounds of the petroleum ether extracts from *M. neogunnii* were researched in this study, in order to improve the chemical fingerprint database of the active substances in the *M. neogunnii*. **[Methods]** *M. neogunnii* were extracted with petroleum ether by soxhlet extraction. The substance components were identified and analyzed by fourier transform infrared spectrometry (FTIR) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **[Results]** According to FTIR, the analyses found that the components of extracts included the functional groups such as C-H, C=O, C-O and C=C; Through GC-MS method, 109 compounds including alkanes, arenes, olefins, acids, esters, alcohols, amines and others were identified. The non-polar or weak-polar small molecular compounds such as steroids, aromatics, alkanes, amides, olefins and phenols were discovered for the first time; And the relative contents of linoleic acid and its isomer were the highest, up to 38.33%. **[Conclusion]** Many small active components from *M. neogunnii* were obtained by petroleum ether extraction, which supplemented the chemical composition and provided scientific data for high value-added utilization of *M. neogunnii*.

Keywords: *Metacordyceps neogunnii*, Petroleum ether extract, Structural composition, Analysis and identification

虫草是一类重要的昆虫病原真菌，具有种类多、数量大、代谢产物多样性及多种药理作用等特点^[1]。由于天然冬虫夏草资源匮乏、价格昂贵且严重破坏青藏高原地区的生态环境，因此寻找有药用价值的新天然虫草资源成为研究的热点。新古尼异虫草 *Metacordyceps neogunnii* T.C. Wen & K.D. Hyde^[2]是早年在我国报道的古尼虫草，基于多基因分子分析将其修订为该名称，现逐渐成为继冬虫夏草和蛹虫草后又一种重要的虫草资源^[3]。该虫草及其无性型古尼拟青霉均含多种生理活性物质^[3]，具有镇痛^[4]、提高人体免疫^[5]、抗紫外辐射^[6]、抗肿瘤^[1]、抗衰老^[7]、促进睡眠及增强记忆力^[8]、对急性缺血性脑损伤有保护作用^[9]等功效。

目前国内外学者对新古尼异虫草中活性物质的研究主要集中在核苷类^[10]、多糖类^[11]、肽类^[12]、甘露醇^[13]、总黄酮^[14]等大分子或极性物质，在小分子或弱极性物质的研究上关注甚少，且没有进行系统的总结。鉴于此，本文采用索氏提取法对新古尼异虫草进行石油醚提取，运用红外光谱仪和气相色谱质谱联用仪对石油醚提取物进行化合物的鉴定，并对其检测出的化合物类型进行分析及其功能阐述。本研究为该虫草中活性物质的化学指纹图谱和开发具有应用价值的活性成分提供数据支撑，以期

提高其市场开发价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

新古尼异虫草由贵州大学贵州省生化工程中心文庭池教授提供。

1.1.2 主要试剂和仪器

研究中所用石油醚、溴化钾等试剂均为国产分析纯，且试剂全部经旋转蒸发后使用。气相色谱-质谱联用仪，Agilent 公司；傅里叶变换红外光谱仪，Nicolet 公司；压片机，齐益电子仪器有限公司；旋转蒸发仪，安泰仪器科技有限公司；多功能粉碎机，永康市小宝电器有限公司；索氏提取器，四川蜀玻集团有限责任公司。

1.2 新古尼异虫草的索氏提取过程

称取粉碎后过 200 目筛子新古尼异虫草粉末 10 g (精确度到 0.000 1 g)，包在脱脂菊花滤纸内，置于索氏提取器中。提取瓶内加入 200 mL 石油醚 (30–60 °C)，以 90 °C 为提取温度，对样品进行萃取，待提取器内提取液为无色 (约 24 h) 时，停止加热，得到新古尼异虫草石油醚萃取物。在 45 °C 下，用旋转蒸发仪将其进行浓缩，烘干、称量后计算得到萃取率为 0.83%，再用 2 mL 丙酮溶解后供测试用。

1.3 FTIR 测试条件

采用 KBr 压片法, 分辨率 4 cm^{-1} , 对萃取物在 $4\ 000\text{--}500\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内进行扫描, 扫描次数为 32 次。

1.4 GC-MS 检测条件

1.4.1 色谱条件

色谱柱为 HP-5MS 弹性石英毛细管柱 ($30\text{ m}\times 250\text{ }\mu\text{m}\times 0.25\text{ }\mu\text{m}$), 载气为高纯氮气 (99.999%), 载气流量为 1.0 mL/min , 进样量为 $0.5\text{ }\mu\text{L}$, 进样口温度为 $290\text{ }^\circ\text{C}$, 分流比为 5:1, 柱箱程序为起始温度 $60\text{ }^\circ\text{C}$, 先以 $5\text{ }^\circ\text{C/min}$ 升至 $160\text{ }^\circ\text{C}$ 保持 1 min, 再以 $5\text{ }^\circ\text{C/min}$ 升至 $190\text{ }^\circ\text{C}$ 保持 1 min, 再以 $3\text{ }^\circ\text{C/min}$ 升至 $280\text{ }^\circ\text{C}$ 保持 9 min。运行时间为 67 min。

1.4.2 质谱条件

溶剂延迟 3.00 min, 电离方式为电子轰击 (EI), 离子源温度为 $230\text{ }^\circ\text{C}$, 电子能量为 70 eV, 四极杆温度为 $150\text{ }^\circ\text{C}$, 扫描质量数范围 m/z 为 50.0–500.0, 质谱数据库为 NIST08。

1.4.3 数据分析

通过谱库 (NIST08) 检索、质谱分析确定提取物的化学成分, 并用峰面积归一化法计算各组分的相对含量。

2 结果与分析

2.1 官能团分析

新古尼异虫草石油醚提取物的红外光谱图见图 1。由图 1 可知, 石油醚萃取物中含有 C-H、C=O、C-O 和 C=C 等官能团。2 958、2 926 和 $2\ 855\text{ cm}^{-1}$ 强而尖的峰是烷烃 C-H 伸缩振动的特有特征峰, $1\ 407\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\ 377\text{ cm}^{-1}$ 处是烷烃 C-H 的弯曲振动, 表明有非极性的烷烃类化合物; $1\ 736\text{ cm}^{-1}$ 处的强峰是饱和脂肪酸酯的 C=O 伸缩振动; $1\ 711\text{ cm}^{-1}$ 处 C=O 伸缩振动和 $1\ 261\text{ cm}^{-1}$ 处 C-O 伸缩振动显示有羧酸化合物的存在; $1\ 594\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\ 462\text{ cm}^{-1}$ 处是芳烃化合物中的 C=C 伸缩振动特征峰, 且 864、801 和 724 cm^{-1} 处 C-H 弯曲振动强吸收峰的出现可初步判定为芳烃的间位二取代化合物; 同时, 石油醚萃取物出现了弱极性的醇类及不饱和化合物, $1\ 097\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 016\text{ cm}^{-1}$ 处分别是仲醇和伯醇的 C-O 伸缩振动特征峰; 966 cm^{-1} 处为烯烃反式 -CH=CH- 中 C-H 面外弯曲振动, 且 924 cm^{-1} 出现了一个很弱且宽的吸收峰是烯烃的 C-H 弯曲振动^[15-16], 说明有不饱和化合物的存在。

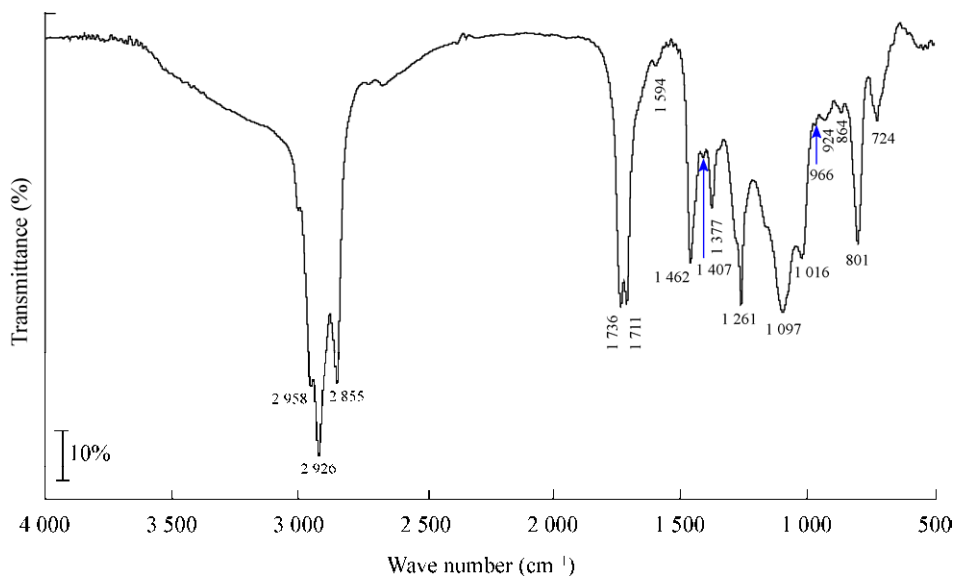


图 1 新古尼异虫草石油醚提取物的红外光谱图

Figure 1 Infrared spectrogram of petroleum ether extracts from *Metacordyceps neogunnii*

2.2 化合物鉴定与分析

2.2.1 新古尼异虫草石油醚提取物的成分分析

图2列出了新古尼异虫草石油醚提取物的总离子流图。从图2可知,共鉴定出109种化合物,其相关信息归纳于表1。由表1可知,所鉴定出的化合物包括酸类、酯类、甾类、芳烃类、烷烃类、酰胺类、烯炔类、酚类、醇类、酮类和醛类共11类,这与红外光谱图中官能团结果相吻合,其相对含量占总提取物的97.88%。其中,含量最高的成分为亚油酸及其同分异构体(峰65、66、67和72,38.33%),相对含量>2%的主要化学成分有邻苯二甲酸二异丁酯(峰52,18.20%)、油酸(峰68,9.78%)、棕榈酸(峰53,8.57%)、 β -谷甾醇(峰105,4.19%)、己二酸二异辛酯(峰80,3.80%),这6种化合物占提取物总量的82.75%。

2.2.2 新古尼异虫草石油醚提取物的类型分析

石油醚属于弱极性有机溶剂,适合提取分离强亲脂性成分,如挥发油、脂肪油、蜡、甾醇类、脂溶性色素和某些苷元等。新古尼异虫草石油醚提取

物中所鉴定出的11类化合物的数目和相对含量见图3。由图3可知:该虫草石油醚提取物中含量最高的成分为酸类,共16种,相对含量高达59.26%;其次为酯类(25种,27.41%)、甾类(9种,7.38%)、芳烃类(17种,1.67%)、烷烃类(23种,0.76%)、酰胺类(2种,0.57%)、烯炔类(4种,0.46%)、酚类(5种,0.24%)、醇类(4种,0.09%)、酮类(2种,0.03%)、醛类(2种,0.02%);而且其主要成分酸类、酯类和甾类化合物的相对含量高达94.04%。

3 讨论

3.1 化合物的多样性

新古尼异虫草石油醚提取物中共检测出109种小分子量的化合物,包含酸类、酯类、甾类、芳烃类、烷烃类、酰胺类、烯炔类、酚类、醇类、酮类、醛类。目前尚未见有文献报道该虫草中检测到的甾类、芳烃类、烷烃类、酰胺类、烯炔类、酚类非极性/弱极性的小分子化合物。

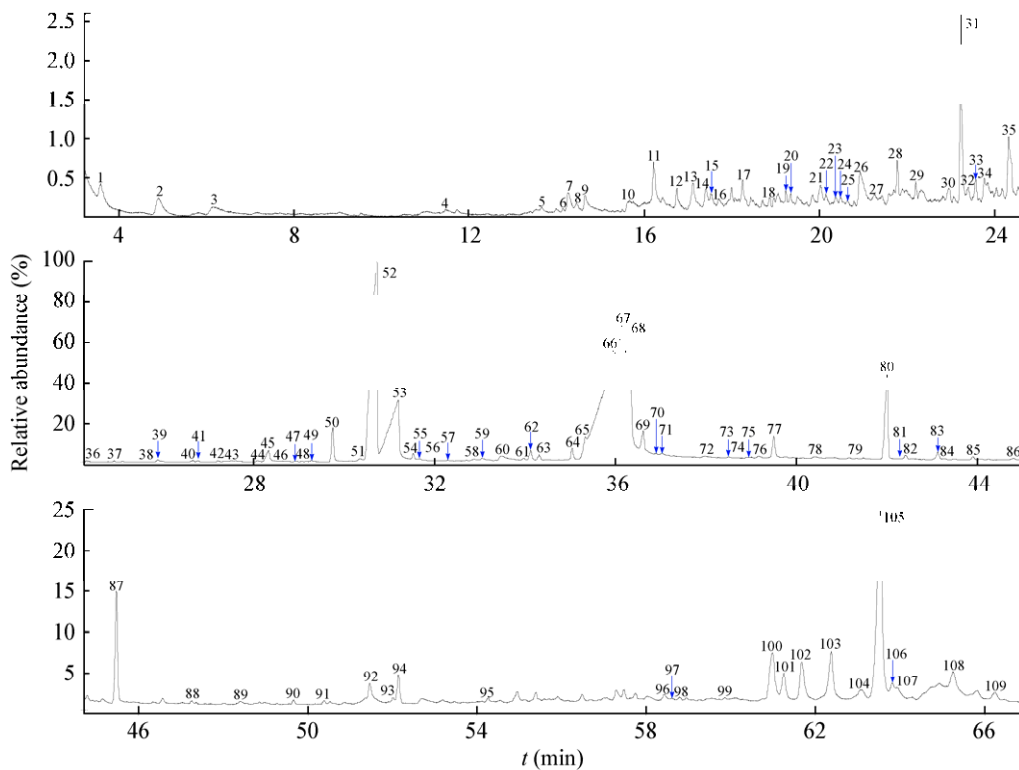


图2 新古尼异虫草石油醚提取物的总离子流图

Figure 2 The total ion chromatogram of petroleum ether extracts from *Metacordyceps neogunnii*

表 1 新古尼异虫草石油醚提取物的成分分析

Table 1 The chemical constituents of petroleum ether extracts from *Metacordyceps neogunnii*

编号 No.	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	匹配度 Matching degree	相对含量 Relative content (%)
1	3.58	2-甲基己烷-2-醇 2-Methylhexan-2-ol	C ₇ H ₁₆ O	80	0.05
2	4.90	枯烯 Cumene	C ₉ H ₁₂	87	0.04
3	6.18	庚酸 Heptanoic acid	C ₇ H ₁₄ O ₂	80	0.03
4	11.47	十二烷 Dodecane	C ₁₂ H ₂₆	81	0.01
5	13.66	1,2,3,4,5-五甲基苯 1,2,3,4,5-Pentamethylbenzene	C ₁₁ H ₁₆	81	0.02
6	14.14	十三烷 Tridecane	C ₁₃ H ₂₈	82	0.01
7	14.26	2-甲基萘 2-Methylnaphthalene	C ₁₁ H ₁₀	93	0.03
8	14.46	1,2,3-三甲氧基苯 1,2,3-Trimethoxybenzene	C ₉ H ₁₂ O ₃	83	0.01
9	14.65	1-甲基萘 1-Methylnaphthalene	C ₁₁ H ₁₀	94	0.02
10	15.67	2,6-二甲氧基苯酚 2,6-Dimethoxyphenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	81	0.02
11	16.22	苯酸丁酯 Butyl benzoate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	91	0.05
12	16.75	十四烷 Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	96	0.03
13	17.11	2,7-二甲基萘 2,7-Dimethylnaphthalene	C ₁₂ H ₁₂	91	0.05
14	17.41	1,6-二甲基萘 1,6-Dimethylnaphthalene	C ₁₂ H ₁₂	97	0.02
15	17.53	2,3-二甲基萘 2,3-Dimethylnaphthalene	C ₁₂ H ₁₂	93	0.02
16	17.69	二苯基甲烷 Diphenylmethane	C ₁₃ H ₁₂	91	0.01
17	18.25	2,6-二叔丁基对甲苯酚 2,6-Di- <i>tert</i> -butyl-4-methylphenol	C ₁₅ H ₂₄ O	95	0.03
18	18.96	(<i>E</i>)-5-甲基-2-苯基己-2-烯醛 (<i>E</i>)-5-Methyl-2-phenylhex-2-enal	C ₁₃ H ₁₆ O	98	0.01
19	19.24	十五烷 Pentadecane	C ₁₅ H ₃₂	94	0.01
20	19.34	2,4,6-三异丙基苯酚 2,4,6-Triisopropylphenol	C ₁₅ H ₂₄ O	83	0.01
21	20.03	2,3'-二甲基-1,1'-联苯基 2,3'-Dimethyl-1,1'-biphenyl	C ₁₄ H ₁₄	95	0.02
22	20.15	2,3,6-三甲基萘 2,3,6-Trimethylnaphthalene	C ₁₃ H ₁₄	82	0.01
23	20.38	2,2'-二甲基-1,1'-联苯基 2,2'-Dimethyl-1,1'-biphenyl	C ₁₄ H ₁₄	87	0.01
24	20.48	1,6,7-三甲基萘 1,6,7-Trimethylnaphthalene	C ₁₃ H ₁₄	87	0.01
25	20.64	1,4,6--三甲基萘 1,4,6-Trimethylnaphthalene	C ₁₃ H ₁₄	81	0.01
26	20.93	十二烷酸 Dodecanoic acid	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	94	0.07
27	21.26	1-(3,3,6a-三甲基-1a,2,3,5,6a,6b-六氢噁丙烯并[2,3-g]苯并呋喃-5-基)乙烷-1-酮 1-(3,3,6a-Trimethyl-1a,2,3,5,6a,6b-hexahydrooxireno[2,3-g]benzofuran-5-yl)ethan-1-one	C ₁₃ H ₁₈ O ₃	80	0.01
28	21.78	十六烷 Hexadecane	C ₁₆ H ₃₄	93	0.02
29	22.20	柏木脑 Cedrol	C ₁₅ H ₂₆ O	81	0.01
30	22.96	2,6,10,14-四甲基十六烷 2,6,10,14-Tetramethylhexadecane	C ₂₀ H ₄₂	86	0.02
31	23.23	三乙基 2-乙酰氧基丙烷-1,2,3-三羧酸酯 Triethyl 2-acetoxypropane-1,2,3-tricarboxylate	C ₁₄ H ₂₂ O ₈	83	0.16
32	23.40	2-甲基十六烷 2-Methylhexadecane	C ₁₇ H ₃₆	80	0.01
33	23.57	环己基甲基丙基草酸酯 Cyclohexylmethyl propyl oxalate	C ₁₂ H ₂₀ O ₄	80	0.02
34	23.77	1-(4-苯甲基苯基)乙烷-1-酮 1-(4-Benzylphenyl)ethan-1-one	C ₁₅ H ₁₄ O	83	0.02
35	24.33	十七烷 Heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	98	0.08
36	24.54	2,2',5,5'-四甲基-1,1'-联苯基 2,2',5,5'-Tetramethyl-1,1'-biphenyl	C ₁₆ H ₁₈	89	0.01

(待续)

(续表 1)

37	24.93	肉豆蔻酸甲酯 Methyl tetradecanoate	$C_{15}H_{30}O_2$	96	0.04
38	25.72	3,5-二-叔-丁基-4-羟基苯(甲)醛 3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxybenzaldehyde	$C_{15}H_{22}O_2$	93	0.01
39	25.89	肉豆蔻酸 Tetradecanoic acid	$C_{14}H_{28}O_2$	99	0.15
40	26.66	十八烷 Octadecane	$C_{18}H_{38}$	94	0.05
41	26.78	2,6,10,14-四甲基十六烷 2,6,10,14-Tetramethylhexadecane	$C_{20}H_{42}$	98	0.05
42	27.22	十四烷酸异丙酯 Isopropyl tetradecanoate	$C_{17}H_{34}O_2$	92	0.06
43	27.52	10-甲基十四烷酸 10-Methyltetradecanoic acid	$C_{15}H_{30}O_2$	87	0.04
44	28.09	(E)-己-3-烯-1-基异丁基邻苯二甲酸酯(E)-Hex-3-en-1-yl isobutyl phthalate	$C_{18}H_{24}O_4$	90	0.06
45	28.34	十五烷酸 Pentadecanoic acid	$C_{15}H_{30}O_2$	99	0.67
46	28.64	十七烷-1-醇 Heptadecan-1-ol	$C_{17}H_{36}O$	94	0.01
47	28.93	十五烷酸乙酯 Ethyl pentadecanoate	$C_{17}H_{34}O_2$	94	0.02
48	29.07	十九烷 Nonadecane	$C_{19}H_{40}$	91	0.01
49	29.29	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	$C_{16}H_{22}O_4$	95	0.06
50	29.76	棕榈酸甲酯 Methyl palmitate	$C_{17}H_{34}O_2$	99	1.05
51	30.37	(Z)-十六碳-9-烯酸(Z)-Hexadec-9-enoic acid	$C_{16}H_{30}O_2$	99	0.14
52	30.73	邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl phthalate	$C_{16}H_{22}O_4$	94	18.20
53	31.20	棕榈酸 Palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	99	8.57
54	31.54	棕榈酸乙酯 Ethyl palmitate	$C_{18}H_{36}O_2$	98	0.18
55	31.68	二十烷 Icosane	$C_{20}H_{42}$	93	0.05
56	32.29	香叶基芳樟醇 Geranyl linalool	$C_{20}H_{34}O$	91	0.02
57	32.38	十七烷酸甲酯 Methyl heptadecanoate	$C_{18}H_{36}O_2$	97	0.01
58	32.88	(Z)-十七碳-10-烯酸(Z)-Heptadec-10-enoic acid	$C_{17}H_{32}O_2$	98	0.09
59	33.06	58 的同分异构体 The isomer of 58	$C_{17}H_{32}O_2$	98	0.16
60	33.48	十七烷酸 Heptadecanoic acid	$C_{17}H_{34}O_2$	93	0.51
61	33.97	十九碳-1-烯 Nonadec-1-ene	$C_{19}H_{38}$	98	0.07
62	34.13	亚油酸甲酯 Methyl linoleate	$C_{19}H_{34}O_2$	99	0.37
63	34.32	(E)-甲基十八碳-7-烯酸酯(E)-Methyl octadec-7-enoate	$C_{19}H_{36}O_2$	99	0.19
64	35.05	硬脂酸甲酯 Methyl stearate	$C_{19}H_{38}O_2$	99	0.39
65	35.34	亚油酸 Linoleic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	98	1.08
66	35.95	65 的同分异构体 The isomer of 65	$C_{18}H_{32}O_2$	98	21.24
67	36.18	65 的同分异构体 The isomer of 65	$C_{18}H_{32}O_2$	98	15.88
68	36.32	油酸 Oleic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	99	9.79
69	36.62	硬脂酸 Stearic acid	$C_{18}H_{36}O_2$	99	0.72
70	36.90	硬脂酸乙酯 Ethyl stearate	$C_{20}H_{40}O_2$	91	0.02
71	37.03	二十二烷 Docosane	$C_{22}H_{46}$	92	0.05
72	37.98	65 的同分异构体 The isomer of 65	$C_{18}H_{32}O_2$	90	0.12
73	38.51	(11Z,14E)-二十烷二烯酸甲酯(11Z,14E)-Methyl icos-11,14-dienoate	$C_{21}H_{38}O_2$	86	0.03
74	38.89	62 的同分异构体 The isomer of 62	$C_{19}H_{34}O_2$	86	0.01
75	39.00	(3Z,12E)-十九碳-1,3,12-三烯(3Z,12E)-Nonadeca-1,3,12-triene	$C_{19}H_{34}$	93	0.03
76	39.17	(E)-十八碳-9-烯酸甲酯(E)-Methyl octadec-9-enoate	$C_{19}H_{36}O_2$	86	0.11
77	39.50	8-((2R,3S)-3-辛基噁丙环-2-基)辛酸甲酯 Methyl 8-((2R,3S)-3-octyloxiran-2-yl)octanoate	$C_{19}H_{36}O_3$	83	0.93

(待续)

(续表 1)

78	40.41	18-甲基十九烷酸甲酯 Methyl 18-methylnonadecanoate	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	93	0.13
79	41.32	油酸酰胺 Oleamide	C ₁₈ H ₃₅ NO	90	0.02
80	42.00	己二酸二异辛酯 Bis(2-ethylhexyl) adipate	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	98	3.80
81	42.25	二十四烷 Tetracosane	C ₂₄ H ₅₀	87	0.01
82	42.41	6,6'-亚甲基二(2-叔-丁基-4-甲基苯酚) 6,6'-Methylenebis(2-tert-butyl-4-methylphenol)	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	94	0.15
83	43.12	3-(5-(5-己基四氢呋喃-2-基)戊基)噁丙环-2-羧酸乙酯 Ethyl 3-(5-(5-hexyltetrahydrofuran-2-yl)pentyl)oxirane-2-carboxylate	C ₂₀ H ₃₆ O ₄	87	0.30
84	43.27	(E)-2-庚亚基八氢-2H-硫代色烯 (E)-2-Heptylideneoctahydro-2H-thiochromene	C ₁₆ H ₂₈ S	90	0.04
85	43.90	83 的同分异构体 The isomer of 83	C ₂₀ H ₃₆ O ₄	87	0.10
86	44.80	二十五烷 Pentacosane	C ₂₅ H ₅₂	94	0.06
87	45.49	二(2-乙基己基)邻苯二甲酸酯 Bis(2-ethylhexyl) phthalate	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	98	1.12
88	47.27	二十六烷 Hexacosane	C ₂₆ H ₅₄	90	0.03
89	48.42	2,6,10,14-四甲基十五烷 2,6,10,14-Tetramethylpentadecane	C ₁₉ H ₄₀	86	0.06
90	49.67	二十七烷 Heptacosane	C ₂₇ H ₅₆	98	0.05
91	50.39	13-甲基二十七烷 13-Methylheptacosane	C ₂₈ H ₅₈	80	0.03
92	51.47	(Z)-二十二碳-13-烯酰胺(Z)-Docos-13-enamide	C ₂₂ H ₄₃ NO	93	0.55
93	52.02	二十八烷 Octacosane	C ₂₈ H ₅₈	95	0.04
94	52.15	反式角鲨烯(E,E,E,E)-Squalene	C ₃₀ H ₅₀	99	0.32
95	54.27	二十九烷 Nonacosane	C ₂₉ H ₆₀	93	0.04
96	58.43	胆固醇 Cholesterol	C ₂₇ H ₄₆ O	94	0.07
97	58.79	三十一烷 Hentriacontane	C ₃₁ H ₆₄	81	0.03
98	58.95	维生素 E Vitamin E	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	95	0.02
99	59.85	11-癸基二十二烷 11-Decyldocosane	C ₃₂ H ₆₆	80	0.02
100	60.98	(8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-((2R)-5,6-二甲基庚烷-2-基)-10,13-二甲基-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-3-酚 (8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-((2R)-5,6-Dimethylheptan-2-yl)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	C ₂₈ H ₄₈ O	99	1.11
101	61.25	1,4-二(3,4-二甲基苯氧基)-2,3,5,6-四氟苯 1,4-Bis(3,4-dimethylphenoxy)-2,3,5,6-tetrafluorobenzene	C ₂₂ H ₁₈ F ₄ O ₂	80	0.44
102	61.68	豆甾醇 Stigmasterol	C ₂₉ H ₄₈ O	99	0.69
103	62.38	2-异丁基-5,5,7,7,10,10,12,12-八甲基-1,2,3,4,4a,5,7,8,9,10,12,12a-十二氢四烯 2-Isobutyl-5,5,7,7,10,10,12,12-octamethyl-1,2,3,4,4a,5,7,8,9,10,12,12a-decahydrotetracene	C ₃₀ H ₄₈	88	0.97
104	63.09	羊毛甾-8,24-二烯-3-酮 Lanosta-8,24-dien-3-one	C ₃₀ H ₄₈ O	83	0.26
105	63.54	β-谷甾醇 β-Sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	99	4.19
106	63.82	豆甾烷醇 Stigmastanol	C ₂₉ H ₅₂ O	94	0.11
107	63.93	岩皂甾醇 Fucosterol	C ₂₉ H ₄₈ O	91	0.13
108	65.25	麦角甾-4,6,8(14),22-四烯-3-酮 Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one	C ₂₈ H ₄₀ O	90	0.68
109	66.23	豆甾-3,5-二烯-7-酮 Stigmasta-3,5-dien-7-one	C ₂₉ H ₄₆ O	91	0.14

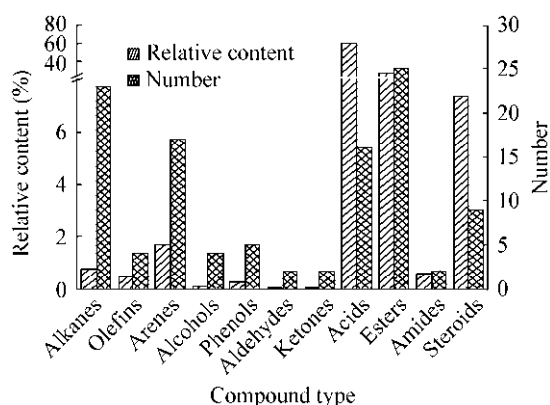


图3 新古尼异虫草石油醚提取物的类型分析
Figure 3 The type analysis of compound petroleum ether extracts from *Metacordyceps neogunnii*

甾类化合物是广泛存在于虫草类真菌的一类具有特殊生理功能的天然产物,如冬虫夏草和蛹虫草中都含有麦角甾醇、 β -谷甾醇等甾醇类化合物^[17]。

烷烃是存在于哺乳动物、植物、昆虫、鸟等高等真核生物中的一种有机化合物,具有防水、抗干燥、信号传递、神经保护和调节的功能^[18-19]。其中正构烷烃是真菌化合物中的一类生物标志物,从新古尼异虫草石油醚提取物的 m/z 57 的特征离子流图(图4)可知, nC_{17} 为主峰碳,低碳数烃类主要分布在 C_{14} - C_{20} ,高碳数烃类主要分布在 C_{28} - C_{30} ,明显不同于陆生植物^[20]。由表1可知正构烷烃的含量仅为0.57%,可能是由于蝙蝠蛾幼虫被该真菌侵蚀后神经错乱,导致细胞中合成烷烃的含量急剧下降^[21],从而转变成脂肪酸、酯类、甾类等化合物^[22-23],其中亚油酸及其同分异构体的含量最高,相对含量达

到38.33%。

3.2 化合物的功能分析

3.2.1 不饱和脂肪酸

研究得到的新古尼异虫草中的脂肪酸以不饱和脂肪酸(亚油酸和油酸)为主,与冬虫夏草、蛹虫草和蝉花中脂肪酸的分布情况相似^[24]。

亚油酸(其质谱图见图5A)是n-6系列多不饱和脂肪酸,是人体必需脂肪酸,具有降低血液胆固醇、预防动脉粥样硬化和心血管疾病的保健功效,在人体内可以转化为 γ -亚麻酸、花生四烯酸^[25],为以后开发新古尼异虫草中的亚油酸生产食品、保健品及药品等提供重要依据。

油酸(其质谱图见图5B)是单不饱和脂肪酸,为植物油中的重要成分,可降低高血脂症患者血脂水平,预防心血管疾病,并具有降低血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇,但保持高密度脂蛋白胆固醇不降低的作用^[26]。

3.2.2 甾类化合物

β -谷甾醇(其质谱图见图6A)具有降低血清胆固醇、消炎解热、抗氧化、抗肿瘤等药理作用,其中 β -谷甾醇对结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、白血病等均具有较好的防治作用^[27-28];豆甾醇(其质谱图见图6B)具有抗肿瘤、降低血液胆固醇、抗骨关节炎等多种药理作用^[29];岩藻甾醇具有抗肿瘤作用,对心脑血管类疾病作用较为显著,还具有很强的抗氧化作用^[30];豆甾醇对人体具有重要的生理活性作用,是重要的甾体药物和维生素D₃的生产原料。

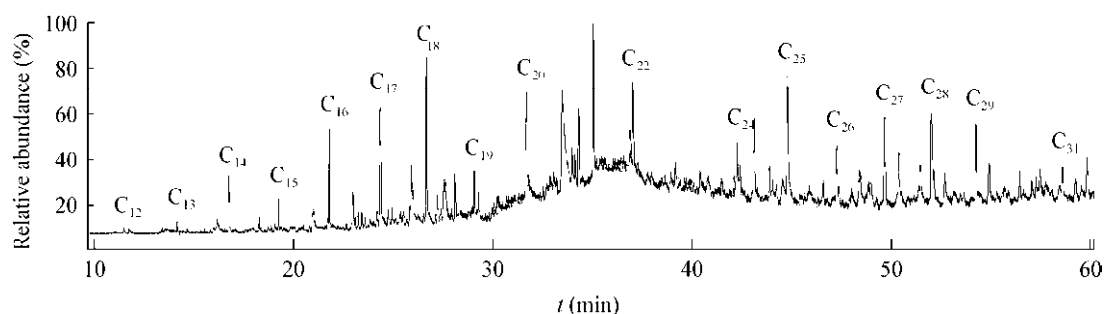


图4 新古尼异虫草石油醚提取物的 m/z 57 的特征离子流图
Figure 4 The characteristic ion chromatogram of m/z 57 of petroleum ether extracts from *Metacordyceps neogunnii*

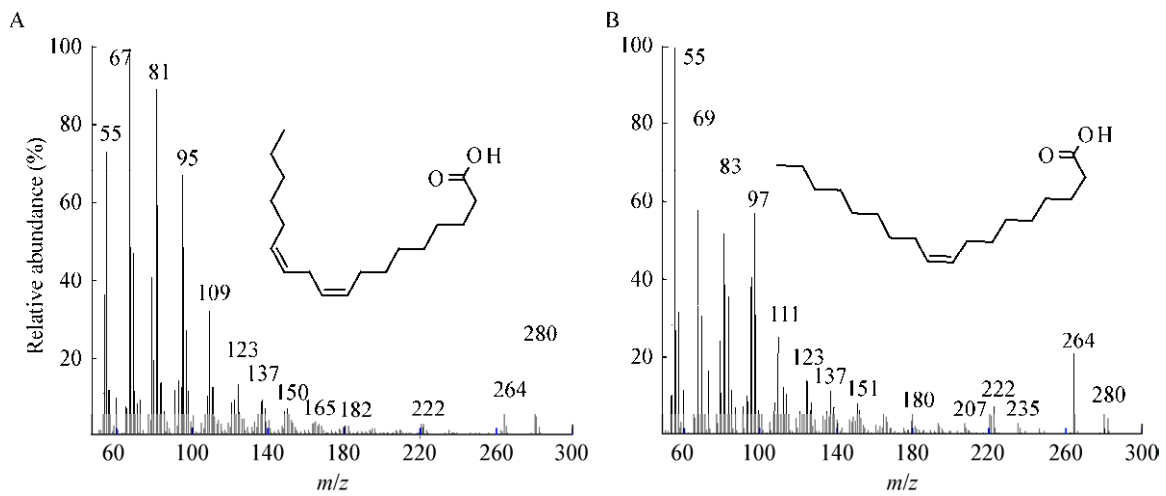
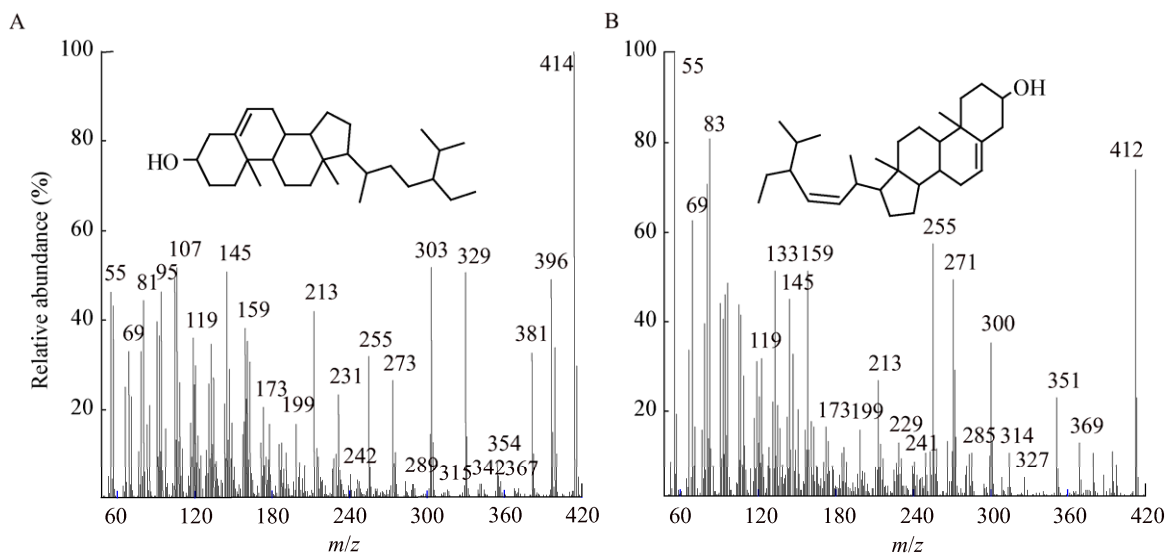


图5 亚油酸和油酸的质谱图

Figure 5 Mass spectra of linoleic acid and oleic acid

注: A: 亚油酸的质谱图; B: 油酸的质谱图.

Note: A: Mass spectra of linoleic acid; B: Mass spectra of oleic acid.

图6 β -谷甾醇和豆甾醇的质谱图Figure 6 Mass spectra of β -sitosterol and stigmasterol注: A: β -谷甾醇的质谱图; B: 豆甾醇的质谱图.Note: A: Mass spectra of β -sitosterol; B: Mass spectra of stigmasterol.

3.2.3 其他类化合物

抗氧化剂 2246 (其质谱图见图 7A)和 BHT (其质谱图见图 7B)属于抗氧化剂,有广泛的用途。其中,抗氧化剂 2246 是一种用于塑料橡胶制品中的的酚类抗氧化剂; BHT 作为食品添加剂主要用于动植物油脂及含动植物油脂的食品中,此外还可应用于化工、

化妆品和医药等行业中。

角鲨烯(其质谱图见图 7C),是一种开链三萜类化合物,是胆固醇生物合成中间体之一,是所有类固醇类物质的生物合成前体。具有抗氧化、调节胆固醇代谢、降血脂、降血糖、抑菌、抗菌、抗肿瘤、保护细胞、提高动物繁殖性能等功效,广泛应用于

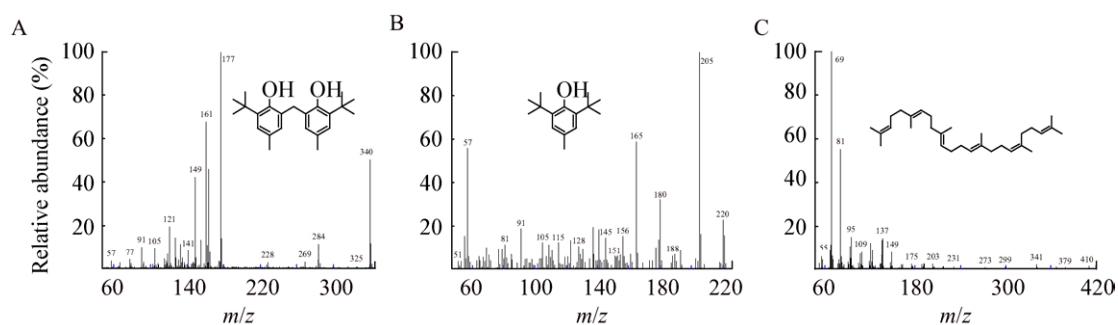


图7 抗氧化剂 2246、抗氧化剂 BHT 和角鲨烯的质谱图

Figure 7 Mass spectra of antioxidant 2246, butylated hydroxytoluene and squalene

注: A: 抗氧化剂 2246 的质谱图; B: 抗氧化剂 BHT 的质谱图; C: 角鲨烯的质谱图。

Note: A: Mass spectra of antioxidant 2246; B: Mass spectra of butylated hydroxytoluene; C: Mass spectra of squalene.

食品、医药和化妆品行业中^[31]。

4 结论

本文采用索氏提取法提取新古尼异虫草中的活性成分,并运用 FTIR 和 GC-MS 两种方法分析提取物的化学成分,共检测出 109 种成分,包含酸类、酯类、甾类、芳烃类、烷烃类、酰胺类、烯烃类、酚类、醇类、酮类、醛类等类型,其中甾类、芳烃类、烷烃类、酰胺类、烯烃类和酚类在该虫草中首次检测到。

新古尼异虫草石油醚提取物中检测出很多具有特殊生理功能的功效成分,如亚油酸、油酸等不饱和脂肪酸,β-谷甾醇、豆甾醇、岩藻甾醇、豆甾烷醇等甾类化合物,抗氧化剂 2246 和 BHT,角鲨烯等。正构烷烃的含量较低(0.57%),原因可能为蝙蝠蛾幼虫被该真菌侵蚀后神经错乱,导致细胞中合成烷烃的含量急剧下降,从而转变成脂肪酸(59.26%)、酯类(27.41%)、甾类(7.38%)等化合物。

本研究虽鉴定出多种化合物,但后期工作仍需进一步采用硅胶或凝胶柱层析对提取物进行分离与纯化,并借助多种表征方法确定化合物的成分,进而完善该虫草中活性物质的化学指纹图谱,以期能较全面掌握该虫草所含的活性物质,为其深入开发利用提供数据支撑。

REFERENCES

[1] Zhu ZY, Chen X, Zhou JP, et al. Extraction and purification and activity analysis of antitumor-active components from *Cordyceps*

gunnii (Berk.) Berk[J]. Food Science, 2009, 30(9): 200-203 (in Chinese)

朱振元, 陈熙, 周家萍, 等. 古尼虫草抗肿瘤活性成分的提取分离及活性测定[J]. 食品科学, 2009, 30(9): 200-203

[2] Wen TC, Xiao YP, Han YF, et al. Multigene phylogeny and morphology reveal that the Chinese medicinal mushroom '*Cordyceps gunnii*' is *Metacordyceps neogunnii* sp. nov.[J]. Phytotaxa, 2017, 302(1): 27-39

[3] Zhang YM, Zhang Q, Liang ZQ. Research situation and development trends of *Cordyceps gunnii*[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2006, 34(2): 121-123 (in Chinese)

张永明, 张倩, 梁宗琦. 古尼虫草的研究现状与发展动态[J]. 贵州农业科学, 2006, 34(2): 121-123

[4] Liang ZQ, Chang SJ, Liu AY. Analgesic substance from the anamorph of *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk[J]. Journal of Huazhong Agricultural, 2004, 23(1): 40-43

[5] Xiao JH, Fang N, Xiao Y, et al. Immunosuppressive activity of exopolysaccharide from *Paecilomyces gunnii*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2004, 27(3): 192-195 (in Chinese)

肖建辉, 方宁, 肖瑜, 等. 古尼拟青霉胞外多糖的免疫抑制活性[J]. 中药材, 2004, 27(3): 192-195

[6] Meng XX, Zhang ZG, Chen ZH. Protection of the *Cordyceps Gunnii* to antiultraviolet radiation in *Bacillus thuringiensis*[J]. Journal of Natural Science of Hunan Normal University, 2001, 24(1): 66-68 (in Chinese)

孟祥贤, 张志光, 陈作红. 古尼虫草对苏云金杆菌抗紫外辐射的保护作用[J]. 湖南师范大学: 自然科学学报, 2001, 24(1): 66-68

[7] Li SF, Bao SJ, Sun GC. Experimental study on antiaging effect of *Penicillium guricillium*[J]. Guizhou Medical Journal, 1996, 20(1): 25-26 (in Chinese)

李淑芳, 鲍淑娟, 孙光春. 古尼拟青霉抗衰老作用的实验研究[J]. 贵州医药, 1996, 20(1): 25-26

[8] Zhang Q, Zhang YM, Lu WQ, et al. Study of polysacchrides of *Cordyceps Gunnii* Berks on learning and memory ability of mice[J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2007, 29(4): 393-395,400 (in Chinese)

张倩, 张永明, 陆卫群, 等. 古尼虫草多糖改善小鼠学习记忆作用的研究[J]. 营养学报, 2007, 29(4): 393-395,400

- [9] Xiong ZM, Li SF, Bao SJ, et al. Protective effects of paecilomyces gunnii on acute cerebral ischemia injury in rats and its mechanisms[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2001, 36(4): 248-251 (in Chinese)
熊正梅, 李淑芳, 鲍淑娟, 等. 古尼拟青霉对大鼠急性缺血性脑损伤的保护作用及机制研究[J]. 中国药理学杂志, 2001, 36(4): 248-251
- [10] Chen ZH, Tian XR, Meng XX, et al. Determination of nucleosides in *Cordyceps gunnii* by HPLC[J]. Mycosystema, 2003, 22(3): 489-493 (in Chinese)
陈作红, 田向荣, 孟祥贤, 等. 古尼虫草核苷类成分的高效液相色谱分析[J]. 菌物系统, 2003, 22(3): 489-493
- [11] Zhu ZY, Dong HY, Wang TY. Degradation of *Cordyceps gunnii* polysaccharide and antioxidation of its degraded products[J]. Food Research and Development, 2017, 38(10): 1-5 (in Chinese)
朱振元, 董海燕, 王腾月. 古尼虫草菌丝体多糖降解及体外抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(10): 1-5
- [12] Zhu ZY, Liang ZQ, Chang SJ, et al. Bioactive substances from *Cordyceps gunnii* I. separation, purification and properties of analgesic substance[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2002, 42(6): 732-736 (in Chinese)
朱振元, 梁宗琦, 常胜军, 等. 古尼虫草的生物活性物质 I. 含肽镇痛组分的分离及性质[J]. 微生物学报, 2002, 42(6): 732-736
- [13] Lei BX, Gao HB, Shui XB, et al. Determination of mannitol in fermented mycelia of *Cordyceps gunnii*[J]. Journal of Fungal Research, 2004, 2(1): 40-44 (in Chinese)
雷帮星, 高海波, 税小波, 等. 人工发酵古尼虫草中甘露醇的测定[J]. 菌物研究, 2004, 2(1): 40-44
- [14] Zhang YM, Zhang Q, Yang Q, et al. Comparison of modern and traditional extraction methods for flavonoids from *Cordyceps gunnii*[J]. Food Research and Development, 2007, 28(1): 136-140 (in Chinese)
张永明, 张倩, 杨青, 等. 现代技术与传统方法萃取古尼虫草总黄酮的比较[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(1): 136-140
- [15] Dong HR. Instrumental Analysis[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000: 177-185 (in Chinese)
董慧茹. 仪器分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 177-185
- [16] Liu ZG. Instrumental Analysis[M]. Beijing: Higher Education Press, 2007: 287-289 (in Chinese)
刘志广. 仪器分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007: 287-289
- [17] Hu FL, Li ZZ. Secondary metabolites and their bioactivities of *Cordyceps* and its related fungi[J]. Mycosystema, 2007, 26(4): 607-632 (in Chinese)
胡丰林, 李增智. 虫草及相关真菌的次生代谢产物及其活性[J]. 菌物学报, 2007, 26(4): 607-632
- [18] Warui DM, Li N, Nørgaard H, et al. Detection of formate, rather than carbon monoxide, as the stoichiometric coproduct in conversion of fatty aldehydes to alkanes by a cyanobacterial aldehyde decarbonylase[J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(10): 3316-3319
- [19] Schirmer A, Rude MA, Li XZ, et al. Microbial biosynthesis of alkanes[J]. Science, 2010, 329(5991): 559-562
- [20] Zhang HZ, Sheng GY, Wang KF, et al. A preliminary study on biomarker characteristics and thermal simulation experiments of fungi spore-*Artemaria*[J]. Geochimica, 1997, 26(3): 37-44 (in Chinese)
张惠之, 盛国英, 王开发, 等. 真菌孢子烷烃生物标志物特征及其热演化试验的初步研究[J]. 地球化学, 1997, 26(3): 37-44
- [21] Dennis M, Kolattukudy PE. A cobalt-porphyrin enzyme converts a fatty aldehyde to a hydrocarbon and CO[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1992, 89(12): 5306-5310
- [22] Su SJ, Guo HW, Chen HW, et al. Research progress in microbial production of alkanes[J]. Industrial Microbiology, 2017, 47(1): 56-64 (in Chinese)
苏绍洁, 郭洪伟, 陈宏文, 等. 微生物法生产烷烃研究进展[J]. 工业微生物, 2017, 47(1): 56-64
- [23] Kalacheva GS, Zhila NO, Volova TG. Lipid and hydrocarbon compositions of a collection strain and a wild sample of the green microalga *Botryococcus*[J]. Aquatic Ecology, 2002, 36(2): 317-331
- [24] Bian ZH, Yu RL, Wei SM, et al. Comparative study on the contents of fatty acids in *Isaria cicadae*, *Cordyceps militaris* and *Cordyceps sinensis*[J]. China Pharmacy, 2017, 28(30): 4252-4256 (in Chinese)
卞智慧, 于瑞莲, 魏思敏, 等. 蝉花、蛹虫草和冬虫夏草药材中脂肪酸含量的比较研究[J]. 中国药房, 2017, 28(30): 4252-4256
- [25] Wang JY, Zhu SG, Xu CF. Biochemistry. Vol. 1[M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 2004: 88-89 (in Chinese)
王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学·上册[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2004: 88-89
- [26] Zheng C, Yang M, Zhou Q, et al. Contents of fatty acid and minor component and oxidative stability of high-oleic peanut oil and normal-oleic peanut oil[J]. China Oils and Fats, 2014, 39(11): 40-43 (in Chinese)
郑畅, 杨湄, 周琦, 等. 高油酸花生油与普通油酸花生油的脂肪酸、微量成分含量和氧化稳定性[J]. 中国油脂, 2014, 39(11): 40-43
- [27] Zhang Q, Zhao XH. Phytosterols and its anticancer effect[J]. China Oils and Fats, 2006, 31(10): 57-60 (in Chinese)
张强, 赵新淮. 植物甾醇及其抗癌作用[J]. 中国油脂, 2006, 31(10): 57-60
- [28] Awad AB, Chinnam M, Fink CS, et al. β -Sitosterol activates Fas signaling in human breast cancer cells[J]. Phytomedicine, 2007, 14(11): 747-754
- [29] Zhou ZY, Lu Q, Liu Y, et al. Research and development progress of stigmaterol[J]. China Modern Medicine, 2015, 22(24): 15-17 (in Chinese)
周志远, 卢群, 刘洋, 等. 豆甾醇的研究及开发进展[J]. 中国当代医药, 2015, 22(24): 15-17
- [30] Lee S, Lee YS, Jung SH. Anti-oxidant activities of fucosterol from the marine algae *Pelvetia siliquosa*[J]. Archives of Pharmacal Research, 2003, 26(9): 719-722
- [31] Zhang GJ, Yang LL, Yuan C, et al. Research progress on development and application of squalene[J]. Cereals & Oils, 2017, 30(12): 7-10 (in Chinese)
张光杰, 杨利玲, 袁超, 等. 角鲨烯开发及应用研究进展[J]. 粮食与油脂, 2017, 30(12): 7-10