

人参药性菌质乙酸乙酯部位化学成分

刚婉娇,王明蛟,关升远,徐伟*
(长春中医药大学,长春 130117)

[摘要] 目的:按照优选的生物转化技术对人参进行生物转化,得到全新产物人参药性菌质,并对其乙酸乙酯部位化学成分进行研究,阐明其药效物质基础。方法:利用薄层色谱、硅胶柱色谱、Sephadex LH-20凝胶色谱、半制备液相等方法进行分离纯化,根据化合物的理化性质和波谱数据鉴定其结构。结果:分离得到6个化合物,分别为邻苯二甲酸二(2-乙基己酯)(1),邻苯二甲酸二丁酯(2),豆甾烷-5,22-二烯-3 β -醇(3), β -谷甾醇(4),豆甾烷-22-烯-3,6-二酮(5),豆甾烷-3,6-二酮(6)。结论:所有化合物均为首次从人参药性菌质中分离得到。

[关键词] 人参;生物转化;乙酸乙酯部位;化学成分

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)17-0114-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014170114

Chemical Constituents of Ethyl Acetate Fraction of Ginseng Radix et Rhizoma Medicinal Fungal Substance

GANG Wan-jiao, WANG Ming-jiao, GUAN Sheng-yuan, XU Wei*
(Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** The Ginseng Radix et Rhizoma was biotransformed under the optimal condition to obtain the new product medicinal fungal substance of ginseng. This study was conducted to investigate the chemical constituents of the ethyl acetate fraction of medicinal fungal substance ginseng, to clarify the substance basis of efficacy. **Method:** Thin-layer chromatography, column chromatography on silica gel, Sephadex LH-20 gel chromatography and semi-preparative liquid chromatography were used for isolation and purification of the compounds, and their structures were determined by comparison of their chromatographic and spectral data with those of the authentic samples and those reported in the literatures. **Result:** Six compounds were identified as phthalate acid bis (2-ethylhexyl) ester (1), dibutylphthalate (2), stigmasta-5, 22-dien-3-beta-ol (3), α -sitosterol (4), stigmast-22-ene-3, 6-dione (5), stigmasta-3, 6-dione (6). **Conclusion:** All compounds were isolated from the medicinal fungal substance of Ginseng Radix et Rhizoma for the first time.

[Key words] Ginseng Radix et Rhizoma; biotransformation; ethyl acetate fraction; chemical constituents

人参是五加科多年生草本植物人参的根,被称为“百草之王”,是一种名贵药材。经中医临床验证表明,人参具有大补元气、补脾益肺、生津安神益智

等功效^[1]。

中药的固体发酵工艺历史悠久,随着现代发酵技术的研究发展,在固体发酵的基础上,又拓展出了

[收稿日期] 20130906(009)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2012BAI29B05);吉林省中医药管理局中医药科技项目(2010-065);吉林省科技发展计划项目(20130522047JH)

[第一作者] 刚婉娇,硕士,从事中药药效物质基础研究,Tel:0431-86172786,E-mail:gangwanjiao-001@163.com

[通讯作者] *徐伟,副教授,从事中药药效物质基础研究,Tel:0431-86172786,E-mail:xuweil980_2006@126.com

药用真菌双向性固体发酵技术。双向固体发酵是采用具有一定活性成分的中药材或药渣作为药性基质来代替传统的营养型基质与发酵菌种构成发酵组合,其产品称药性菌质。药性基质在提供真菌所需营养的同时,还受到真菌的酶影响而改变自身的组织、成分,产生新的性味功能,因此具有双向性^[2-3]。

本课题在确定了人参药性菌质发酵工艺的基础上,研究其化学成分尚属首次,填补了这方面的空白。本文对人参药性菌质的乙酸乙酯萃取部位进行了系统的化学成分研究,分离得到6个化合物,分别为邻苯二甲酸二(2-乙基己酯)(**1**)、邻苯二甲酸二丁酯(**2**)、豆甾烷-5,22-二烯-3 β -醇(**3**)、 β -谷甾醇(**4**)、豆甾烷-22-烯-3,6-二酮(**5**)、豆甾烷-3,6-二酮(**6**)。

课题组前期药理实验研究表明,人参药性菌质抑制肿瘤增长方面较人参有显著提高,现代药理学研究表明化合物**3**~**6**具有抗肿瘤活性^[4],化合物**1,2**的药理活性有待进一步研究。

1 材料

PACK ODS-AM 型半制备型色谱柱(日本 YMC),上海天美高效液相色谱仪(上海天美科学仪器有限公司),DIF-6050 型真空干燥箱(上海一恒实验仪器总厂),TG328A(S)型分析天平(上海精科分析仪器厂),ROTAVAPOR R-220 型旋转蒸发器(BUCHI 公司),W201D 型旋转蒸发器(上海申顺生物科技有限公司)。半制备柱(北京绿百草科技发展有限公司),Sephadax LH-20(美国 GE 公司),柱层析硅胶(青岛海洋化工有限公司),硅胶 GF₂₅₄(青岛海洋化工有限公司),化学试剂均为分析纯。

人参药性菌质是人参经过生物转化技术发酵所获得的产物。

2 提取分离

人参药性菌质干燥药材 5.0 kg,分别以 70% 乙醇加热回流提取 4 次(3,2,2,2 h)。合并提取液,减压浓缩的乙醇提取物混悬于水中,依次用等体积石油醚、乙酸乙酯、水饱和正丁醇各萃取 5 次,得石油醚层浸膏 15 g,乙酸乙酯层浸膏 30 g,水饱和正丁醇层浸膏 90 g。取乙酸乙酯层浸膏用硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(100:0~100:5)梯度洗脱,得到 2 个流分(Fr. 1~Fr. 2)。Fr. 1 经半制备液相(90% 甲醇)分离纯化得到化合物 **1**(2.1 mg),化合物 **2**(1.8 mg),化合物 **3**(1.1 mg)和化合物 **4**(1.6 mg);Fr. 2 经半制备液相(90% 甲醇)分离纯化得到化合物 **5**(3.1 mg)和化合物 **6**(16.4 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 淡黄色油状液体(甲醇)。254 nm 紫外灯下,在硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上有暗斑。¹H-NMR(CD₃OD,400 MHz) δ :0.93(12H, m, H-6', H-2''), 1.35(12H, m, H-3', H-4', H-5'), 1.43(4H, m, H-1''), 1.72(2H, m, H-2'), 4.23(4H, m, H-1'), 7.62(2H, dd, $J = 3.5, 5.8$ Hz, H-4, H-5), 7.70(2H, dd, $J = 3.3, 5.8$ Hz, H-3, H-6)。¹³C-NMR(CD₃OD,100 MHz) δ :167.9(C-1),132.2(C-2),128.5(C-3),131.0(C-4),67.7(C-1'),38.8(C-2'),30.2(C-3'),28.7(C-4'),23.6(C-5'),12.6(C-6'),22.6(C-1''),10.0(C-2'')。以上数据与文献[5]报道的基本一致,故鉴定该化合物为邻苯二甲酸二(2-乙基己酯)。

化合物 **2** 白色结晶(甲醇)。254 nm 紫外灯下,在硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上有暗斑。¹H-NMR(CD₃OD,400 MHz) δ :7.71(2H, dd, $J = 3.3, 5.8$ Hz, H-3, H-6), 7.60(2H, dd, $J = 3.3, 5.8$ Hz, H-4, H-5), 4.29(4H, m, H-1'), 2.29(4H, m, H-2'), 1.29(12H, m, H-3', H-4', H-5'), 0.99(6H, m, H-6')。¹³C-NMR(CD₃OD,100 MHz) δ :167.9(C-1),132.2(C-2),128.5(C-3),130.9(C-4),65.3(C-1'),30.3(C-2'),29.2(C-3'),23.6(C-4'),18.9(C-5'),12.8(C-6')。以上数据与文献[6]报道的基本一致,故鉴定该化合物为邻苯二甲酸二丁酯。

化合物 **3** 白色针状结晶(甲醇)。¹H-NMR(CD₃OD,400 MHz) δ :5.34(1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 5.11(2H, dd, $J = 1.8, 7.8$ Hz, H-22), 4.84(1H, s, H-23), 3.57(1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-3)。¹³C-NMR(CD₃OD,100 MHz) δ :13.0(C-1),29.4(C-2),71.1(C-3),41.6(C-4),140.8(C-5),121.0(C-6),31.9(C-7),31.9(C-8),50.3(C-9),36.0(C-10),20.8(C-11),27.9(C-12),50.0(C-13),56.8(C-14),23.9(C-15),39.8(C-16),56.0(C-17),10.9(C-18),18.4(C-19),37.1(C-20),17.9(C-21),129.3(C-22),138.3(C-23),41.6(C-24),23.1(C-25),11.5(C-26),31.6(C-27),20.0(C-28),19.8(C-29)。以上数据与文献[7]报道基本一致,因此鉴定为豆甾烷-5,22-二烯-3 β -醇。

化合物 **4** 无色针状结晶(甲醇)。Liebemann-Burchard 反应阳性,提示为不饱和甾醇类化合物。其¹H-NMR,¹³C-NMR 与文献[8]报道的 β -谷甾醇一致。与 β -谷甾醇对照品共 TLC,Rf 值相同,混合熔点不下降。鉴定该化合物为 β -谷甾醇。

化合物5 无色针晶(甲醇)。¹H-NMR(CHCl₃, 400 MHz) δ: 5.16 (1H, m, H-22), 5.07 (1H, m, H-23), 1.03 (s, CH₃), 1.00 (d, CH₃), 0.93 (t, CH₃), 0.91 (d, CH₃), 0.89 (d, CH₃), 0.77 (s, CH₃)。¹³C-NMR(CHCl₃, 100 MHz) δ: 38.1 (C-1), 39.4 (C-2), 209.1 (C-3), 37.0 (C-4), 57.5 (C-5), 211.2 (C-6), 46.6 (C-7), 37.4 (C-8), 53.5 (C-9), 40.4 (C-10), 21.7 (C-11), 38.1 (C-12), 43.1 (C-13), 56.7 (C-14), 24.1 (C-15), 28.7 (C-16), 56.7 (C-17), 12.6 (C-18), 12.2 (C-19), 40.4 (C-20), 19.0 (C-21), 137.9 (C-22), 129.7 (C-23), 51.3 (C-24), 31.9 (C-25), 21.2 (C-26), 19.8 (C-27), 25.4 (C-28), 12.2 (C-29)。以上数据与文献[9]报道基本一致,因此鉴定为豆甾烷-22-烯-3,6-二酮。

化合物6 无色针状晶体(甲醇)。¹H-NMR(CHCl₃, 400 MHz) δ: 0.72 (3H, s, H-18), 0.98 (3H, s, H-19), 0.96 (3H, d, J = 5.7 Hz, H-21), 0.87 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-26), 0.85 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-27), 0.88 (3H, t, H-29)。¹³C-NMR(CHCl₃, 100 MHz) δ: 38.1 (C-1), 39.4 (C-2), 209.1 (C-3), 37.0 (C-4), 57.5 (C-5), 211.2 (C-6), 46.6 (C-7), 37.4 (C-8), 53.5 (C-9), 41.2 (C-10), 21.7 (C-11), 38.1 (C-12), 42.9 (C-13), 56.0 (C-14), 24.0 (C-15), 28.1 (C-16), 56.6 (C-17), 12.6 (C-18), 112.0 (C-19), 36.1 (C-20), 18.7 (C-21), 33.8 (C-22), 25.9 (C-23), 45.7 (C-24), 28.1 (C-25), 19.8 (C-26), 18.9 (C-27), 23.1 (C-28), 12.0

(C-29)。以上数据与文献[10]报道基本一致,因此鉴定为豆甾烷-3,6-二酮。

[参考文献]

- [1] 张前进. 人参的化学成分和药理活性[J]. 光明中医, 2011, 26(2): 368.
- [2] 庄毅, 洪净. 药用真菌双向性固体发酵工程与中成药药渣再开发[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(22): 1918.
- [3] 庄毅, 池玉梅, 陈慎宝, 等. 药用真菌新型固体发酵工程与槐芪菌质的研制[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(3): 175.
- [4] 崔建国, 曾陇梅, 苏镜娉, 等. 多羟基甾醇的合成及其结构与抗肿瘤细胞活性关系研究[J]. 高等学校化学学报, 2000, 21(9): 1399.
- [5] 王元国, 崔彬彬, 韩冰, 等. 光叶合欢中生物碱类和邻苯二甲酸二酯类抗癌活性成分[J]. 中国药物化学杂志, 2005, 15(2): 65.
- [6] 李艳茸, 李春, 王智民, 等. 藏药甘青乌头化学成分研究(Ⅲ)[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(7): 1163.
- [7] 阮金兰, 赵晓亚, John M C, 等. 黑草莓冻干粉化学成分研究[J]. 中药材, 2001, 24(9): 645.
- [8] 封士兰, 何兰, 王敏, 等. 百合花化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1994, 19(10): 559.
- [9] 屠鹏飞, 罗青, 郑俊华. 荔枝核的化学成分研究[J]. 中草药, 2002, 33(4): 300.
- [10] 徐静, 魏娉芝, 刘珍伶, 等. 白透骨消化学成分的研究[J]. 西北植物学报, 2009, 29(9): 1898.

[责任编辑 邹晓翠]