

人参药性菌质正丁醇部位化学成分(I)

王明蛟¹, 丁彩凤¹, 刚婉娇¹, 高航², 徐伟^{1*}

(1. 长春中医药大学, 长春 130117; 2. 吉林财经大学医院, 长春 130117)

[摘要] 目的: 对人参药性菌质中正丁醇部位化学成分进行研究, 阐明其药效物质基础。方法: 采用薄层色谱、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, 通过波谱数据和理化常数鉴定其化合物结构。结果: 从人参药性菌质正丁醇部位中分离并鉴定得到 5 个化合物, 分别为 20(S)-人参皂苷-Rg₂(**1**), 20(R)-人参皂苷-Rg₂(**2**), 人参皂苷 Rg₁(**3**), 20(S)-人参皂苷 Rf(**4**), 人参皂苷 Rb₁(**5**)。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] 人参皂苷; 正丁醇; 化学成分

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)03-0034-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015030034

Chemical Constituents of *n*-butanol Extract of Ginseng Medicinal Fungal Substance WANG Ming-jiao¹, DING Cai-feng¹, GANG Wan-jiao¹, GAO Hang², XU Wei^{1*} (1. Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2. Hospital of Jilin University of Finance and Economics, Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the chemical constituents of *n*-butanol extract of Ginseng medicinal fungal substance, which was to clarify the basis of its efficacy substance. **Method:** Thin-layer chromatography, column chromatography on silica gel, Sephadex LH-20 gel chromatography, semi-preparative liquid chromatography were used for the 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 literature. **Result:** Five compounds from *n*-butanol extract of ginseng medicinal fungal substance were identified as 20 (S) - ginsenosides-Rg₂ (**1**), 20 (R) -Ginsenosides-Rg₂ (**2**), Ginsenosides-Rg₁ (**3**), 20 (S) -Ginsenosides-Rf (**4**), ginsenosides-Rb₁ (**5**). **Conclusion:** All compounds are isolated from ginseng medicinal fungal substance for the first time.

[Key words] ginsenosides; *n*-butanol; chemical constituents

人参产于我国东北地区。人参的主要功效为“主补五脏、安神、定魂魄、止惊悸、除邪气、明目、开心、益智”。在《在神农本草经》中被称为上品, 是常用的滋补壮阳药^[1]。

目前, 人参皂苷是广为人知的人参主要效能成分, 主要含人参皂苷 Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₂, Rg₃, Rh, Ro 等。国内外学者先后对人参的根、根茎、茎、叶、花和果实的化学成分做了较为系统的研究^[2-8], 到目前为止, 已有 50 余种人参单体皂苷被分离出来, 随着科学技术的发展, 人们对人参的生物转化研究日趋增多。

区别于以往广大学者针对于人参皂苷进行生物

转化而得到的转化产物, 本课题直接采用人参药材干粉与大型担子菌进行固体“双向发酵”获得人参药性菌质, 此技术尚属首例。采用天然药物化学的方法研究人参药性菌质正丁醇部位的化学成分, 结果从中分离并鉴定得到 5 个化合物, 分别为 20(S)-人参皂苷-Rg₂(**1**), 20(R)-人参皂苷-Rg₂(**2**), 人参皂苷 Rg₁(**3**), 20(S)-人参皂苷 Rf(**4**), 人参皂苷 Rb₁(**5**)。根据文献报道, 所分得的人参皂苷在抗衰老、增强免疫力以及抑制肿瘤增长等方面具有非常好的作用^[9-10]。

1 材料

AVANCEIII-500 型 NMR 傅立叶变换核磁共振

[收稿日期] 20140609(032)

[基金项目] 吉林省科技发展计划项目(20130522047JH)

[第一作者] 王明蛟, 在读硕士, 从事中药药效物质基础研究, Tel:0431-86172786, E-mail:wangmingjiao0412@163.com

[通讯作者] * 徐伟, 博士, 副教授, 从事中药药效物质基础研究, Tel:0431-86172786, E-mail:xuwei1980_2006@126.com

仪(TMS为内标, BRUKER), 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), TG328A(S)型分析天平(上海精科分析仪器厂), ROTAVAPOR R-220型旋转蒸发仪(BUCHI 公司), W201D型旋转蒸发仪(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), 柱色谱硅胶(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 提取与分离

人参药性菌质干燥药材 5.0 kg, 用 70% 乙醇加热回流提取 4 次(3, 2, 2, 2 h)。提取液减压浓缩, 得相对密度 1.05(25 °C) 浓缩液, 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。

取正丁醇层浸膏以水及不同体积分数的乙醇(30%, 50%, 70%, 95%) 经 D101 大孔吸附树脂进行梯度洗脱; 将 50% 乙醇和 70% 乙醇洗脱部分合并, 采用硅胶柱色谱以三氯甲烷-甲醇(100:50) 梯度洗脱, 并利用开放式 ODS 柱色谱, 得到两个流分; Fr. 1 经半制备液相(65% 甲醇) 分离纯化得到化合物 1(7.9 mg), 化合物 2(3.9 mg), 化合物 3(13.9 mg) 和化合物 4(15.7 mg); Fr. 2 经半制备液相(75% 甲醇) 分离纯化得到化合物 5(22 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 白色结晶粉末(甲醇)。10% 硫酸乙醇溶液显紫红色, Molish 反应阳性, Liebermann-Burchard 反应阳性, 提示其为三萜皂苷类化合物。¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 40.0 (C-1), 27.2 (C-2), 77.8 (C-3), 40.1 (C-4), 61.1 (C-5), 74.1 (C-6), 45.8 (C-7), 39.9 (C-8), 50.3 (C-9), 41.6 (C-10), 31.7 (C-11), 71.6 (C-12), 49.6 (C-13), 52.2 (C-14), 31.6 (C-15), 26.2 (C-16), 56.8 (C-17), 17.4 (C-18), 17.0 (C-19), 73.7 (C-20), 27.1 (C-21), 36.0 (C-22), 23.0 (C-23), 125.9 (C-24), 131.7 (C-25), 25.6 (C-26), 17.4 (C-27), 31.8 (C-28), 17.1 (C-29), 16.8 (C-30); 6-O-inner-Glc: 101.3 (C-1), 79.5 (C-2), 78.9 (C-3), 71.9 (C-4), 78.9 (C-5), 62.8 (C-6); 6-O-outer-Rha: 101.3 (C-1), 72.2 (C-2), 71.8 (C-3), 74.6 (C-4), 69.4 (C-5), 17.7 (C-6)。以上数据与文献[11]报道的基本一致, 故鉴定该化合物为 20(S)-人参皂

苷-Rg₂。

化合物 2 白色结晶粉末(甲醇)。10% 硫酸乙醇溶液显紫红色, Molish 反应阳性, Liebermann-Burchard 反应阳性, 提示其为三萜皂苷类化合物。¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 39.9 (C-1), 27.2 (C-2), 78.9 (C-3), 40.1 (C-4), 61.1 (C-5), 74.3 (C-6), 45.8 (C-7), 39.9 (C-8), 50.5 (C-9), 41.7 (C-10), 31.8 (C-11), 71.6 (C-12), 50.2 (C-13), 52.3 (C-14), 31.6 (C-15), 26.9 (C-16), 49.6 (C-17), 17.4 (C-18), 17.4 (C-19), 73.7 (C-20), 22.5 (C-21), 43.0 (C-22), 22.0 (C-23), 125.6 (C-24), 131.7 (C-25), 25.6 (C-26), 17.1 (C-27), 31.7 (C-28), 17.0 (C-29), 17.1 (C-30); 6-O-inner-Glc: 101.3 (C-1), 79.5 (C-2), 78.8 (C-3), 71.6 (C-4), 77.8 (C-5), 62.8 (C-6); 6-O-outer-Rha: 101.3 (C-1), 72.2 (C-2), 71.9 (C-3), 74.6 (C-4), 69.4 (C-5), 17.7 (C-6)。以上数据与文献^[11]报道的基本一致, 故鉴定该化合物为 20(R)-人参皂苷-Rg₂。

化合物 3 白色结晶粉末(甲醇)。10% 硫酸乙醇溶液显紫红色, Molish 反应阳性, Liebermann-Burchard 反应阳性, 提示其为三萜皂苷类化合物。¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 39.9 (C-1), 27.3 (C-2), 77.9 (C-3), 40.2 (C-4), 61.5 (C-5), 80.6 (C-6), 45.0 (C-7), 41.6 (C-8), 50.3 (C-9), 41.0 (C-10), 31.1 (C-11), 70.9 (C-12), 49.2 (C-13), 52.1 (C-14), 30.7 (C-15), 26.9 (C-16), 52.8 (C-17), 17.3 (C-18), 17.5 (C-19), 84.6 (C-20), 22.5 (C-21), 36.3 (C-22), 23.9 (C-23), 125.6 (C-24), 132.0 (C-25), 25.6 (C-26), 17.7 (C-27), 31.2 (C-28), 15.8 (C-29), 16.8 (C-30); 6-O-Glc: 105.3 (C-1), 75.2 (C-2), 79.6 (C-3), 71.6 (C-4), 77.6 (C-5), 62.2 (C-6); 20-O-Glc: 98.0 (C-1), 75.1 (C-2), 78.8 (C-3), 71.4 (C-4), 77.4 (C-5), 62.6 (C-6)。以上数据与文献[12]报道的基本一致, 故鉴定该化合物为人参皂苷-Rg₁。

化合物 4 白色结晶粉末(甲醇)。10% 硫酸乙醇溶液显紫红色, Molish 反应阳性, Liebermann-Burchard 反应阳性, 提示其为三萜皂苷类化合物。¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 39.9 (C-1), 27.2 (C-2), 77.9 (C-3), 40.1 (C-4), 61.8 (C-5), 79.6 (C-6), 45.4 (C-7), 41.8 (C-8), 50.6 (C-9), 40.3 (C-10), 31.7 (C-11), 71.6 (C-12), 48.2 (C-13), 52.2 (C-14), 31.6 (C-15), 27.1 (C-16), 54.8 (C-17), 17.2 (C-18), 17.4 (C-19), 74.1 (C-20), 26.2

(C-21), 36.0 (C-22), 23.0 (C-23), 125.9 (C-24), 131.7 (C-25), 25.6 (C-26), 17.5 (C-27), 31.6 (C-28), 16.4 (C-29), 16.8 (C-30); 6-*O*-inner-Glc: 102.3 (C-1), 79.5 (C-2), 81.1 (C-3), 71.8 (C-4), 77.6 (C-5), 62.7 (C-6); 6-*O*-outer-Glc: 104.2 (C-1), 75.2 (C-2), 77.8 (C-3), 71.9 (C-4), 77.3 (C-5), 63.2 (C-6)。以上数据与文献[13]报道的基本一致,故鉴定该化合物为20(*S*)-人参皂苷-Rf。

化合物5 白色结晶粉末(甲醇)。10%硫酸乙醇溶液显紫红色, Molish 反应阳性, Liebermann-Burchard 反应阳性, 提示其为三萜皂苷类化合物。¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 40.0 (C-1), 27.0 (C-2), 90.8 (C-3), 40.3 (C-4), 57.2 (C-5), 19.0 (C-6), 35.6 (C-7), 40.7 (C-8), 50.7 (C-9), 37.6 (C-10), 30.7 (C-11), 70.9 (C-12), 49.6 (C-13), 52.2 (C-14), 28.1 (C-15), 25.6 (C-16), 52.8 (C-17), 16.0 (C-18), 16.5 (C-19), 84.6 (C-20), 26.9 (C-21), 36.4 (C-22), 22.6 (C-23), 125.6 (C-24), 132.0 (C-25), 23.9 (C-26), 17.7 (C-27), 31.3 (C-28), 16.5 (C-29), 16.9 (C-30); 3-*O*-inner-Glc: 102.5 (C-1), 81.3 (C-2), 77.6 (C-3), 71.3 (C-4), 77.3 (C-5), 62.4 (C-6); 3-*O*-outer-Glc: 105.1 (C-1), 76.8 (C-2), 81.1 (C-3), 71.6 (C-4), 77.3 (C-5), 62.5 (C-6); 20-*O*-inner-Glc: 98.0 (C-1), 74.7 (C-2), 77.9 (C-3), 73.8 (C-4), 75.7 (C-5), 71.2 (C-6); 20-*O*-outer-Glc: 104.4 (C-1), 75.1 (C-2), 77.6 (C-3), 74.5 (C-4), 78.1 (C-5), 62.2 (C-6)。以上数据与文献[14]报道的基本一致,故鉴定该化合物为人参皂苷-Rb₁。

[参考文献]

[1] 张萍,王金东,肖新月,等. 人参化学成分分析方法的研究进展[J]. 中草药, 2004, 35(12): 112-115.

[2] 王洪平,杨鑫宝,杨秀伟,等. 吉林人参根和根茎的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(17): 2807-2817.

[3] 申书昌,孙秀佳,唐晓慧,等. 人参茎叶的化学成分研究[J]. 齐齐哈尔大学学报, 2008, 24(3): 43-46.

[4] 李珂珂,杨秀伟. 人参茎叶化学成分的研究进展[J]. 中国现代中药, 2012, 14(1): 47-50.

[5] 邱峰,马忠泽,裴玉萍,等. 人参花蕾化学成分的研究[J]. 中国药物化学杂志, 1998, 8(3): 31-35.

[6] 徐绥绪,张国刚,陈英杰等. 人参果肉类皂苷类成分研究[J]. 沈阳药学院学报, 1988, 5(1): 59.

[7] 李青,方赤光,刘思洁. 人参中化学成分分析技术研究进展[J]. 人参研究, 2011(3): 31-34.

[8] 杨鑫宝,杨秀伟,刘建勋. 人参中皂苷类化学成分的研究[J]. 中国现代中药, 2013, 15(5): 349-358.

[9] 何道同,王兵,陈珺明. 人参皂苷药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(7): 118-121.

[10] 唐斌,程绪菊,刘江,等. 人参皂苷药理作用研究进展[J]. 西南军医, 2005, 7(3): 45-47.

[11] Jia J M, Wang Z Q, Wu L J. Two new acetylated ginsenosides from the roots of *Panax quinquefolium* [J]. *Chin Chem Lett*, 2008, 19(9): 1099-1102.

[12] Teng R W, Li H Z, Chen J T, et al. Complete assignment of ¹H and ¹³C NMR data for nine protopanaxatriol glycosides [J]. *Magn Reson Chem*, 2002, 40(7): 483-488.

[13] Sang M L, Seok Chang Kim, Joonseok Oh, et al. 20 (R)-Ginsenoside Rf: A new ginsenoside from red ginseng extract [J]. *Phytochemistry Letters*, 2013, 6(4): 620-624.

[14] Zhao X S, Wang J, Li J, et al. Highly selective biotransformation of ginsenoside Rb₁ to Rd by the phytopathogenic fungus *Cladosporium fulvum* [J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2009, 36(5): 721-726.

[责任编辑 顾雪竹]