

三七药性菌质乙酸乙酯部分化学成分

丁彩凤, 王明蛟, 邱智东, 徐伟*

(长春中医药大学, 长春 130117)

[摘要] 目的:研究三七药性菌质的乙酸乙酯层化学成分。方法:采用系统溶剂萃取、薄层色谱、硅胶柱色谱、半制备型HPLC色谱等方法进行分离纯化,通过化学性质和波谱数据确定化合物的结构。结果:从三七药性菌质的乙酸乙酯层中分离得到6个化合物,分别为20(S)-人参皂苷Rh₁(**1**),20(R)-人参皂苷Rh₁(**2**),人参皂苷F₁(**3**),24(S)-拟人参皂苷F₁₁(**4**),22,23-二脱氢拟人参皂苷RT₄(**5**),5 α -麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5,6 β -三醇(**6**)。结论:化合物**5**为新化合物,命名为拟人参皂苷RT₇,化合物**4,6**为首次从三七中分离得到,化合物**1~6**均为首次从三七药性菌质中分离得到。

[关键词] 三七;生物转化;乙酸乙酯部位;化学成分;三萜皂苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)07-0043-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015070043

Chemical Composition of Ethyl Acetate Fraction of Notoginseng Radix et Rhizoma Medicinal Fungal

DING Cai-feng, WANG Ming-jiao, QIU Zhi-dong, XU Wei* (Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** Aim to study the chemical constituents of the ethyl acetate fraction of Notoginseng Radix et Rhizoma medicinal fungal. **Method:** The compounds were separated and purified by the system solvent extraction, thin-layer chromatography, column chromatography on silica gel, semi-preparative liquid chromatography. Their structures were determined by comparison of their chemical properties and spectral data with those of the authentic samples and those reported in the literatures. **Result:** Six compounds were separated and identified as 20 (S) -ginsenoside Rh₁ (**1**), 20 (R) -ginsenoside Rh₁ (**2**), ginsenoside F₁ (**3**), 24 (S) -pseudoginsenoside F₁₁ (**4**), 22, 23-didehydropseudoginsenoside RT₄ (**5**), 5 α -ergosta-7, 22-diene-3 β , 5, 6 β -triol (**6**). **Conclusion:** Compound **5** was a new compound, named pseudoginsenoside RT₇, and compounds **4** and **6** were isolated from Notoginseng for the first time, and all compounds were isolated from Notoginseng Radix et Rhizoma medicinal fungale for the first time.

[Key words] Notoginseng Radix et Rhizoma; biotransformation; ethyl acetate fraction; chemical constituents; triterpenoid saponin

三七生品能消肿止痛、散瘀止血,熟品能补血活血^[1-2]。用于治疗疾病已有悠久的历史,为我国常用的传统名贵药材之一。由于传统中医药理论与现代科学理论脱节、中药研究手段相对落后,使三七的药效资源开发较局限。随着中药现代化技术水平的不断提高,通过生物转化手段,利用微生物酶促使中药中复杂的化学成分经过结构修饰或改变,来获得活性更好、毒性更低、药用价值更大的先导化合物,

扩大了中药的药用资源^[3-4]。本课题以三七为原料,采用生物发酵手段获得三七药性菌质。并对三七药性菌质的初级、次级代谢产物进行研究,阐明其药效作用物质。最终从三七药性菌质的乙酸乙酯部位分离得到6个化合物,分别为20(S)-人参皂苷Rh₁(**1**),20(R)-人参皂苷Rh₁(**2**),人参皂苷F₁(**3**),24(S)-拟人参皂苷F₁₁(**4**),22,23-二脱氢拟人参皂苷RT₄(**5**),5 α -麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5,6 β -三

[收稿日期] 20140805(016)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2012BAI29B00)

[第一作者] 丁彩凤,在读硕士,从事中药药效物质基础研究,Tel:0431-86172786,E-mail:dingcaifeng@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

醇(6)。其中化合物5为新化合物,命名为拟人参皂苷RT₇。

1 仪器与试剂

Bruker Avance III-500型NMR傅立叶变换核磁共振仪(TMS为内标),Q-Exactive Orbitrap型质谱仪,YMC-Pack ODS-AM半制备型色谱柱(10 mm × 300 mm, 5 μm),LC-2130型高效液相色谱仪(上海天美科学仪器有限公司生产),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),R201型旋转蒸发器(上海申顺生物科技有限公司),色谱用硅胶为青岛海洋化工有限公司生产,化学试剂均为分析纯。三七药性菌质是三七经过生物转化所获得的产物。

2 提取分离

取三七药性菌质干品5.0 kg,以70%乙醇加热回流提取4次,过滤,合并提取液,减压浓缩得稠膏。用适量水混悬,依次用等体积石油醚、乙酸乙酯、水饱和正丁醇萃取,得石油醚部分14 g,乙酸乙酯部分50 g,水饱和正丁醇部分400 g。取乙酸乙酯部分经硅胶柱色谱,以二氯甲烷-甲醇梯度洗脱,得到4个流分(Fr. 1~Fr. 4)。Fr. 1经半制备液相(流动相甲醇-水75:25)分离得到化合物1(29.5 mg),化合物2(114.6 mg);Fr. 2经半制备液相(流动相甲醇-水70:30)分离得到化合物3(1.7 mg);Fr. 3经半制备液相(流动相甲醇-水70:30)分离得到化合物4(4.1 mg),化合物5(1.8 mg);Fr. 4经半制备液相(流动相甲醇-水90:10)分离得到化合物6(13.9 mg)。

3 结构鉴定

化合物1 白色粉末(甲醇),10%硫酸乙醇溶液显紫红色,Molish反应阳性,Liebermann-Burchard反应阳性,推测其为三萜皂苷类化合物。¹H-NMR(CD₃OD, 600 MHz) δ: 0.94(3H, s, 30-CH₃), 0.99(3H, s, 19-CH₃), 1.00(3H, s, 18-CH₃), 1.09(3H, s, 26-CH₃), 1.15(3H, s, 27-CH₃), 1.33(3H, s, 29-CH₃), 1.62(3H, s, 28-CH₃), 1.69(3H, s, 21-CH₃), 3.26(1H, m, H-3), 3.27(1H, m, H-12), 4.10(1H, td, J = 6.0, 12.0 Hz, H-6), 4.37(1H, d, J = 6.0 Hz, H-1'), 5.16(1H, t, J = 9.0 Hz, H-22)。¹³C-NMR(CD₃OD, 150 MHz) δ: 39.9(C-1), 27.3(C-2), 78.8(C-3), 40.2(C-4), 61.5(C-5), 77.4(C-6), 45.1(C-7), 41.5(C-8), 50.6(C-9), 40.1(C-10), 31.7(C-11), 71.8(C-12), 48.3(C-13), 52.2(C-14), 31.1(C-15), 26.2(C-16), 54.8(C-17), 17.3(C-18), 17.4(C-19), 74.1(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), 17.6(C-27), 31.6(C-28), 15.8(C-29), 16.7(C-30), 105.3(C-1'), 75.2(C-2'), 80.6(C-3'), 71.4(C-4'), 79.6(C-5'), 62.6(C-6')。以上波谱数据与文献[5]报道的基本一致,故鉴定化合物1为20(S)-人参皂苷Rh₁。

化合物2 白色粉末(甲醇),10%硫酸乙醇溶液显紫红色,Molish反应阳性,Liebermann-Burchard反应阳性,推测其为三萜皂苷类化合物。¹H-NMR(CD₃OD, 600 MHz) δ: 0.95(3H, s, 30-CH₃), 1.00(3H, s, 18-CH₃), 1.01(3H, s, 19-CH₃), 1.10(3H, s, 29-CH₃), 1.11(3H, s, 28-CH₃), 1.33(3H, s, 27-CH₃), 1.62(3H, s, 26-CH₃), 1.67(3H, s, 21-CH₃), 3.26(2H, m, H-3, H-12), 4.09(1H, td, J = 6.0, 12.0 Hz, H-6), 4.35(1H, d, J = 6.0 Hz, H-1'), 5.11(1H, t, J = 9.0 Hz, H-22)。¹³C-NMR(CD₃OD, 150 MHz) δ: 39.9(C-1), 28.0(C-2), 78.8(C-3), 40.2(C-4), 61.5(C-5), 77.4(C-6), 45.1(C-7), 41.6(C-8), 50.5(C-9), 40.1(C-10), 31.6(C-11), 71.4(C-12), 48.9(C-13), 52.3(C-14), 31.1(C-15), 26.9(C-16), 50.6(C-17), 17.3(C-18), 17.5(C-19), 74.3(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), 17.4(C-27), 31.1(C-28), 15.8(C-29), 17.0(C-30), 105.3(C-1'), 75.2(C-2'), 80.6(C-3'), 71.6(C-4'), 79.6(C-5'), 62.6(C-6')。以上波谱数据与文献[6]报道的基本一致,故鉴定化合物2为20(R)-人参皂苷Rh₁。

化合物3 白色粉末(甲醇),10%硫酸乙醇溶液显紫红色,Molish反应阳性,Liebermann-Burchard反应阳性,推测其为三萜皂苷类化合物。¹H-NMR(CD₃OD, 600 MHz) δ: 0.96(9H, s, 18, 19, 30-CH₃), 1.09(3H, s, 29-CH₃), 1.29(3H, s, 28-CH₃), 1.35(3H, s, 27-CH₃), 1.63(3H, s, 26-CH₃), 1.68(3H, s, 21-CH₃), 3.10(1H, m, H-6), 3.21(2H, m, H-3, H-12), 4.61(1H, d, J = 12.0 Hz, H-1'), 5.11(1H, t, J = 9.0 Hz, H-24)。¹³C-NMR(CD₃OD, 150 MHz) δ: 39.8(C-1), 27.5(C-2), 78.0(C-3), 40.2(C-4), 61.8(C-5), 68.6(C-6), 46.9(C-7), 41.7(C-8), 52.1(C-9), 39.8(C-10), 31.1(C-11), 70.9(C-12), 49.6(C-13), 52.1(C-14), 30.6(C-15), 26.9(C-16), 52.8(C-17), 17.4(C-18), 16.9(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), 17.6 (C-27), 31.3 (C-28), 15.8 (C-29), 17.3 (C-30), 98.0 (C-1'), 75.1 (C-2'), 79.2 (C-3'), 71.5 (C-4'), 77.7 (C-5'), 62.3 (C-6')。以上波谱数据与文献[7]报道的基本一致,故鉴定化合物**3**为人参皂苷F₁。

化合物**4** 白色粉末(甲醇),10%硫酸乙醇溶液显紫红色,Molish反应阳性,Liebermann-Burchard反应阳性,推测其为三萜皂苷类化合物。FAB-MS: m/z 823.47 [M + Na]⁺,提示其分子式为C₄₂H₇₂O₁₄。¹H-NMR(CD₃OD,600 MHz) δ : 0.96 (6H, s, 18, 19-CH₃), 0.97 (3H, s, 30-CH₃), 1.11 (3H, s, 26-CH₃), 1.13 (3H, s, 27-CH₃), 1.18 (3H, s, 28-CH₃), 1.29 (3H, s, 21-CH₃), 3.20 (2H, m, H-3, H-12), 3.91 (1H, t, $J = 6.0$ Hz, H-24), 4.08 (1H, td, $J = 6.0, 12.0$ Hz, H-6), 4.65 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-1')。¹³C-NMR(CD₃OD, 150 MHz) δ : 40.0 (C-1), 29.2 (C-2), 78.9 (C-3), 40.0 (C-4), 61.2 (C-5), 73.7 (C-6), 45.8 (C-7), 41.6 (C-8), 50.5 (C-9), 40.0 (C-10), 30.4 (C-11), 71.8 (C-12), 49.9 (C-13), 53.0 (C-14), 32.8 (C-15), 27.3 (C-16), 49.6 (C-17), 17.9 (C-18), 16.8 (C-19), 88.2 (C-20), 26.2 (C-21), 33.2 (C-22), 30.4 (C-23), 88.7 (C-24), 71.6 (C-25), 25.8 (C-26), 28.8 (C-27), 31.6 (C-28), 16.0 (C-29), 17.6 (C-30), 101.3 (C-1'), 79.4 (C-2'), 78.8 (C-3'), 71.9 (C-4'), 77.8 (C-5'), 62.8 (C-6'), 101.3 (C-1''), 71.0 (C-2''), 72.2 (C-3''), 74.6 (C-4''), 69.4 (C-5''), 18.6 (C-6'')。以上波谱数据与文献[8]报道的基本一致,故鉴定化合物**4**为24(S)-拟人参皂苷F₁₁。

化合物**5** 白色粉末(甲醇),10%硫酸乙醇溶液显紫红色,Molish反应阳性,Liebermann-Burchard反应阳性,推测其为三萜皂苷类化合物。FAB-MS: m/z 675.40 [M + Na]⁺, 687.33 [M + Cl]⁻,提示其分子式为C₃₆H₆₀O₁₀。在化合物的核磁共振图谱中,¹H-NMR(CD₃OD,600 MHz),¹³C-NMR(CD₃OD, 150 MHz)可以明显看到三萜皂苷类化合物的特征信号、一组葡萄糖的信号及其他信号,借助异核多量子相关试验(HMQC)及异核多键相关试验(HMBC),将信号归属如下: δ_{H} 0.91 (3H, s, 30-CH₃), 1.00 (3H, s, 29-CH₃), 1.02 (3H, s, 19-CH₃), 1.05 (3H, s, 21-CH₃), 1.16 (3H, s, 18-CH₃), 1.30 (6H, s, 26, 27-CH₃), 1.33 (3H, s, 28-CH₃), 3.07 (1H, m, H-12), 3.10 (1H, m, H-3), 3.21 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-2'), 3.28 (1H, m, H-5'), 3.30 (1H, m, H-

4'), 3.34 (1H, m, H-3'), 3.57 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-24), 3.65 (2H, m, H-6'), 4.09 (1H, td, $J = 6.0, 12.0$ Hz, H-6), 4.35 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-1'), 5.76 (1H, dd, $J = 12.0, 18.0$ Hz, H-23), 5.86 (1H, d, $J = 18.0$ Hz, H-22)。¹³C-NMR(CD₃OD, 150 MHz) δ : 40.2 (C-1), 28.5 (C-2), 79.5 (C-3), 40.6 (C-4), 61.7 (C-5), 80.6 (C-6), 46.2 (C-7), 42.7 (C-8), 49.6 (C-9), 40.2 (C-10), 32.5 (C-11), 70.9 (C-12), 49.6 (C-13), 49.3 (C-14), 27.3 (C-15), 22.1 (C-16), 52.0 (C-17), 17.9 (C-18), 17.8 (C-19), 77.9 (C-20), 23.9 (C-21), 143.6 (C-22), 123.6 (C-23), 86.7 (C-24), 72.8 (C-25), 29.4 (C-26), 29.5 (C-27), 31.1 (C-28), 15.9 (C-29), 17.1 (C-30), 105.3 (C-1'), 75.2 (C-2'), 78.8 (C-3'), 71.4 (C-4'), 77.4 (C-5'), 62.6 (C-6')。化合物**5**的波谱数据与拟人参皂苷RT₄[9]比较,确定化合物**5**的结构为22,23-二脱氢拟人参皂苷RT₄,通过检索无文献报道,确定为一新化合物,命名为拟人参皂苷RT₇。

化合物**6** 白色粉末(甲醇),香草醛-浓硫酸溶液显紫红色,Liebermann-Burchard反应呈绿色,推测其为甾醇类化合物。¹H-NMR(CD₃OD,600 MHz) δ : 0.65 (3H, s, 18-CH₃), 0.95 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-21), 1.05 (6H, d, $J = 12.0$ Hz, H-26, 27), 1.07 (3H, s, 19-CH₃), 3.98 (1H, m, H-3), 5.23 (2H, dd, $J = 6.0, 12.0$ Hz, H-22, 23), 5.27 (1H, m, H-7)。¹³C-NMR(CD₃OD, 150 MHz) δ : 31.5 (C-1), 33.6 (C-2), 68.1 (C-3), 40.4 (C-4), 76.7 (C-5), 73.9 (C-6), 118.8 (C-7), 143.5 (C-8), 44.1 (C-9), 37.9 (C-10), 22.7 (C-11), 40.2 (C-12), 44.4 (C-13), 55.6 (C-14), 23.7 (C-15), 28.9 (C-16), 57.1 (C-17), 12.5 (C-18), 18.6 (C-19), 41.5 (C-20), 21.4 (C-21), 136.7 (C-22), 133.0 (C-23), 44.1 (C-24), 34.1 (C-25), 19.8 (C-26), 20.2 (C-27), 17.9 (C-28)。以上波谱数据与文献[10]报道的基本一致,故鉴定化合物**6**为5 α -麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5,6 β -三醇。

4 讨论

所有化合物均为首次从三七药性菌质中分离得到,其中化合物**1**~**5**为稀有拟人参皂苷,大量文献研究证明稀有拟人参皂苷具有较强的抗肿瘤活性及提高机体免疫力、抗炎、抗血栓、抗疲劳等药理作用^[11-12]。化合物**6**为植物甾醇类物质,研究表明该类化学成分除了具有较强的抗肿瘤、调节机体免疫

力的作用外,还具有降血脂、抑制乳腺增生等作用^[13]。以上活性成分的分离研究表明,通过生物转化的方式,可从三七药材中得到更多的稀有人参皂苷等新的活性成分,为充分发挥三七药材的资源优势,开发具有自主知识产权的新药做出了贡献。

[参考文献]

[1] 李冠烈. 三七的现代研究与进展(一)[J]. 世界中西医结合杂志, 2008, 3(10): 619-623.
[2] 何科. 三七的药理作用研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2011, 20(155): 21-23.
[3] 孙静, 马琳, 吕斯琦, 等. 中药发酵技术研究进展[J]. 药物评价研究, 2011, 34(1): 49-52.
[4] 杜道辉, 刘亚明. 发酵技术在中药配伍中的应用概述[J]. 世界中西医结合杂志, 2008, 3(1): 55-57.
[5] Li H Z, Teng R W, Yang C R. A novel hexanordammarane glycoside from the Roots of *Panax notoginseng* [J]. Chin Chem Lett, 2001, 12(1): 59-62.
[6] 余河水, 张丽娟, 宋新波, 等. 三七炮制品化学成分分析研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(22): 3910-3917.

[7] 刘利民, 张晓琦, 汪豪, 等. 三七主根的微量皂苷类成分研究[J]. 中国药科大学学报, 2011, 42(2): 115-118.
[8] Duc N M, Nham N T, Kasai R, et al. Saponins from Vietnamese Ginseng *Panax vietnamensis* HA et Grushy collected in central vietnam. I [J]. Chem Pharm Bull, 1993, 41(11): 2010-2014.
[9] Tanaka O, Morita T, Kasai R, et al. Study on saponins of Rhizomes of *Panax pseudo-ginseng* subsp *himalaicus* collected at tzatogang and parila bhutan-himalaya [J]. Chem Pharm Bull, 1985, 33(6): 2323-2330.
[10] Iorizzi M, Minale L, Riccio R, et al. Polar steroids from the marine scallop *patinopecten yessoensis* [J]. J Nat Prod, 1988, 51(6): 1098-1103.
[11] 丁艳芳, 李江霞, 杨崇仁. 人参皂苷 Rh₁ 的药理作用研究进展[J]. 中国现代中药, 2013, 15(4): 282-284.
[12] 程慧, 宋新波, 张丽娟. 人参皂苷 Rg₃ 与 Rh₂ 的研究进展[J]. 药物评价研究, 2010, 33(4): 307-311.
[13] 韩军花. 植物甾醇的性质、功能及应用[J]. 国外医学: 卫生学分册, 2001, 28(5): 285-291.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国实验方剂学杂志》声明

本刊近期发现有某些网站使用类似本刊网站的域名, 冒用本刊名义, 收取高额审稿费及版面费。现本刊郑重声明: ①本刊不会以任何名义收取任何审稿费。

②<http://www.syfjxzz.com> 为本刊唯一域名。

对于假冒本刊名义、侵犯本刊权利的不正当行为, 本刊将通过法律程序进行维权。