

三七药性菌质正丁醇部位化学成分研究(II)

刘晓莉, 王新闻, 丁彩凤, 邱智东, 徐伟*
(长春中医药大学, 长春 130117)

[摘要] **目的:**通过生物转化技术发酵三七获得三七药性菌质,对正丁醇部位化学成分进行研究。**方法:**采用系统溶剂萃取、D101 大孔吸附树脂、硅胶柱色谱、开放式 ODS 柱色谱、半制备液相色谱等方法进行分离纯化,结合化合物理化性质和波谱数据鉴定其化合物结构。**结果:**从三七药性菌质正丁醇部位分离得到 6 个化合物,分别为 24(R)-假人参皂苷 RT₅(**1**),人参皂苷 SG₁(**2**),人参皂苷 Rh₁₂(**3**),人参皂苷 Rb₁(**4**),vina-ginsenoside R₈(**5**),vina-ginsenoside R₉(**6**)。**结论:**化合物 **1,2,5,6** 为首次从三七植物中分离得到,所有化合物均为首次从三七药性菌质中分离得到。

[关键词] 三七药性菌质; 正丁醇部位; 24 (R) -假人参皂苷 RT₅; 人参皂苷 SG₁; vina-ginsenoside R₈; vina-ginsenoside R₉。

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)07-0093-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016070093

Chemical Constituents of *n*-butanol Fraction of Notoginseng Medicinal Fungal Substance (II)

LIU Xiao-li, WANG Xin-wen, DING Cai-feng, QIU Zhi-dong, XU Wei*
(Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the chemical constituents of *n*-butanol fraction of notoginseng medicinal fungal substance which was obtained from notoginseng by biotransformation technology. **Method:** The compounds were isolated and purified through system solvent extraction, D101 macroporous adsorptive resin, silica gel column chromatography, open ODS column chromatography, and semi-preparative liquid chromatography. The structures of these isolated compounds were identified by means of chemical properties, spectroscopic analysis. **Result:** Six compounds were separated from *n*-butanol fraction of notoginseng medicinal fungal substance and identified as 24 (R) -pseudoginsenoside RT₅ (**1**), ginsenoside SG₁ (**2**), ginsenoside Rh₁₂ (**3**), ginsenoside Rb₁ (**4**), vina-ginsenoside R₈ (**5**), and vina-ginsenoside R₉ (**6**). **Conclusion:** Compounds **1, 2, 5** and **6** were isolated from this plant for the first time, and all compounds were isolated from notoginseng medicinal fungal substance for the first time.

[Key words] notoginseng medicinal fungal substance; *n*-butanol fraction; 24 (R) -pseudoginsenoside RT₅; ginsenoside SG₁; vina-ginsenoside R₈; vina-ginsenoside R₉。

三七是止血之要药,具有化瘀止血、活血定痛、滋补强壮的功效,是我国许多中成药的原料,以三七为主要成分的制剂已广泛应用于临床^[1-2]。

生物转化法是利用微生物体内的各种酶对底物进行结构修饰。刘廷强等^[3]利用三七自身含有的糖

苷酶,将三七中大量人参皂苷转化成稀有人参皂苷,这对于临床上疾病的治疗具有重要的研究意义。本课题利用酶系对三七药材进行生物转化得到三七药性菌质。三七经生物转化后,增加其药理作用的多样性,从而更好地发挥三七的药效作用^[4-6]。皂苷类成

[收稿日期] 20150720(008)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2012BAI29B00)

[第一作者] 刘晓莉,在读硕士,从事中药药效物质基础研究,Tel:0431-86172786,E-mail:liuxiaoli221@126.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

分主要存在于水饱和和正丁醇部分,因此研究三七药性菌质正丁醇部位的化学成分,阐明其物质基础,为三七药性菌质的进一步开发利用提供参考依据。

本课题对三七药性菌质的正丁醇部位进行了系统的化学成分研究,分离得到 6 个化合物,鉴定其结构分别为 24(*R*)-假人参皂苷 RT₅(**1**),人参皂苷 SG₁(**2**),人参皂苷 Rh₁₂(**3**),人参皂苷 Rb₁(**4**),vina-ginsenoside R₈(**5**),vina-ginsenoside R₉(**6**)。查阅文献表明,分离得到的皂苷类成分具有良好的抗肿瘤活性、免疫活性、改善心血管、调节中枢神经系统、抗衰老、降血脂等药理作用^[7-9]。

1 材料

AvanceIII-500 型傅立叶变换核磁共振仪(四甲基硅烷 TMS 为内标,德国 Bruker),Pack ODS-AM 型半制备色谱柱(日本 YMC),LC-2130 型高效液相色谱仪(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),D101 大孔吸附树脂(沧州宝恩树脂有限公司),柱色谱硅胶(青岛海洋化工有限公司),化学试剂均为分析纯。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、水饱和和正丁醇萃取,得石油醚浸膏 14 g,乙酸乙酯浸膏 50 g,水饱和和正丁醇浸膏 400 g。取正丁醇浸膏以水及不同体积分数的乙醇(30%,50%,70%,95%)经 D101 大孔吸附树脂梯度洗脱,将 50% 乙醇和 70% 乙醇流份合并;经硅胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇梯度洗脱,并利用开放式 ODS 柱色谱,得到 4 个流份(Fr. 1 ~ Fr. 4)。Fr. 1 经半制备液相(60% 甲醇)分离纯化得到化合物 **1**(41.1 mg),化合物 **2**(5.2 mg);Fr. 2 经半制备液相(70% 甲醇)分离纯化得到化合物 **3**(37.4 mg);Fr. 3 经半制备液相(80% 甲醇)分离纯化得到化合物 **4**(508.2 mg);Fr. 4 经半制备液相(65% 甲醇)分离纯化得到化合物 **5**(5.3 mg),化合物 **6**(33.4 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,推断为三萜皂苷类化合物。¹³C-NMR(CD₃OD,125 MHz) δ:39.9(C-1),27.3(C-2),77.4(C-3),40.2(C-4),61.6(C-5),78.8(C-6),45.0(C-7),41.5(C-8),51.1(C-9),40.0(C-

10),33.3(C-11),71.6(C-12),48.8(C-13),52.9(C-14),31.9(C-15),25.7(C-16),49.4(C-17),17.8(C-18),17.0(C-19),87.6(C-20),26.3(C-21),32.5(C-22),29.3(C-23),85.7(C-24),71.4(C-25),26.4(C-26),26.8(C-27),31.0(C-28),15.7(C-29),18.2(C-30);6-*O*-Glc:105.2(C-1),75.2(C-2),80.6(C-3),72.0(C-4),79.5(C-5),62.6(C-6);以上数据与文献[10]报道的基本一致,故鉴定化合物为 24(*R*)-假人参皂苷 RT₅。

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,推断为三萜皂苷类化合物。¹³C-NMR(CD₃OD,125 MHz) δ:40.1(C-1),28.9(C-2),78.9(C-3),40.3(C-4),61.7(C-5),79.7(C-6),46.1(C-7),41.9(C-8),51.2(C-9),40.4(C-10),29.3(C-11),71.8(C-12),50.9(C-13),51.7(C-14),32.2(C-15),27.5(C-16),51.2(C-17),17.6(C-18),17.4(C-19),73.8(C-20),23.3(C-21),46.0(C-22),23.9(C-23),125.8(C-24),140.0(C-25),71.0(C-26),12.7(C-27),31.2(C-28),15.9(C-29),16.8(C-30);6-*O*-Glc:105.4(C-1),75.4(C-2),77.5(C-3),71.5(C-4),79.6(C-5),62.7(C-6)。以上数据与文献[11]报道的基本一致,故鉴定化合物为人参皂苷 SG₁。

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,推断为三萜皂苷类化合物。¹³C-NMR(CD₃OD,125 MHz) δ:39.9(C-1),27.7(C-2),79.2(C-3),39.7(C-4),57.0(C-5),19.1(C-6),35.6(C-7),40.6(C-8),50.7(C-9),37.9(C-10),30.8(C-11),71.2(C-12),49.4(C-13),52.3(C-14),31.4(C-15),25.9(C-16),53.2(C-17),16.0(C-18),15.8(C-19),84.7(C-20),22.8(C-21),33.9(C-22),25.6(C-23),80.0(C-24),73.6(C-25),27.0(C-26),24.6(C-27),28.3(C-28),16.4(C-29),16.9(C-30);20-*O*-Glc:97.8(C-1),75.1(C-2),78.1(C-3),71.7(C-4),77.4(C-5),62.7(C-6)。以上数据与文献[12]报道的基本一致,故鉴定化合物为人参皂苷 Rh₁₂。

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,推断为三萜皂苷类化合物。¹³C-NMR(CD₃OD,125 MHz) δ:40.0(C-1),27.0(C-2),91.1(C-3),40.3(C-4),57.2(C-5),18.9(C-

6), 35.5 (C-7), 40.6 (C-8), 50.8 (C-9), 37.6 (C-10), 30.5 (C-11), 69.9 (C-12), 49.3 (C-13), 52.1 (C-14), 28.2 (C-15), 25.6 (C-16), 52.5 (C-17), 16.0 (C-18), 16.4 (C-19), 84.7 (C-20), 26.9 (C-21), 36.5 (C-22), 22.2 (C-23), 125.7 (C-24), 132.0 (C-25), 23.5 (C-26), 17.7 (C-27), 31.2 (C-28), 16.4 (C-29), 17.1 (C-30); 3-O-inner-Glc: 104.1 (C-1), 80.7 (C-2), 77.3 (C-3), 71.2 (C-4), 77.5 (C-5), 62.5 (C-6); 3-O-outer-Glc: 105.0 (C-1), 76.4 (C-2), 78.1 (C-3), 71.6 (C-4), 77.6 (C-5), 62.8 (C-6); 20-O-inner-Glc: 97.7 (C-1), 74.8 (C-2), 78.0 (C-3), 71.3 (C-4), 76.0 (C-5), 71.1 (C-6); 20-O-outer-Glc: 104.6 (C-1), 74.9 (C-2), 77.6 (C-3), 71.4 (C-4), 78.1 (C-5), 62.5 (C-6)。以上数据与文献[13]报道的基本一致,故鉴定化合物为人参皂苷 Rb₁。

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,推断为三萜皂苷类化合物。¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 40.0 (C-1), 27.0 (C-2), 91.0 (C-3), 40.3 (C-4), 57.3 (C-5), 19.0 (C-6), 35.6 (C-7), 40.7 (C-8), 50.8 (C-9), 37.6 (C-10), 31.1 (C-11), 71.4 (C-12), 49.6 (C-13), 52.2 (C-14), 30.7 (C-15), 26.7 (C-16), 52.9 (C-17), 16.4 (C-18), 16.4 (C-19), 81.0 (C-20), 23.1 (C-21), 39.8 (C-22), 123.5 (C-23), 141.7 (C-24), 69.9 (C-25), 29.9 (C-26), 29.6 (C-27), 28.1 (C-28), 15.9 (C-29), 17.0 (C-30); 3-O-inner-Glc: 104.3 (C-1), 82.2 (C-2), 77.6 (C-3), 71.4 (C-4), 78.2 (C-5), 62.6 (C-6); 3-O-outer-Glc: 105.1 (C-1), 76.1 (C-2), 78.0 (C-3), 71.5 (C-4), 77.7 (C-5), 62.8 (C-6); 20-O-Glc: 97.8 (C-1), 74.9 (C-2), 77.8 (C-3), 71.7 (C-4), 77.4 (C-5), 62.7 (C-6)。以上数据与文献[14]报道的基本一致,故鉴定化合物为 vina-ginsenoside R₈。

化合物6 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,推断为三萜皂苷类化合物。¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 40.0 (C-1), 26.9 (C-2), 91.0 (C-3), 40.3 (C-4), 57.3 (C-5), 18.9 (C-6), 35.6 (C-7), 40.7 (C-8), 50.8 (C-9), 37.6 (C-10), 30.2 (C-11), 69.9 (C-12), 49.3 (C-13), 52.1 (C-14), 30.6 (C-15), 27.0 (C-16), 52.7 (C-17), 16.4 (C-18), 16.4 (C-19), 84.6 (C-20), 22.3 (C-

21), 32.5 (C-22), 31.2 (C-23), 74.9 (C-24), 148.8 (C-25), 111.0 (C-26), 17.9 (C-27), 28.1 (C-28), 16.0 (C-29), 17.1 (C-30); 3-O-inner-Glc: 104.6 (C-1), 80.7 (C-2), 77.7 (C-3), 71.4 (C-4), 77.4 (C-5), 62.5 (C-6); 3-O-outer-Glc: 105.1 (C-1), 76.8 (C-2), 77.6 (C-3), 71.6 (C-4), 78.2 (C-5), 62.5 (C-6); 20-O-Glc: 97.8 (C-1), 74.8 (C-2), 78.0 (C-3), 71.3 (C-4), 76.4 (C-5), 62.8 (C-6)。以上数据与文献[14]报道的基本一致,故鉴定化合物为 vina-ginsenoside R₉。

[参考文献]

[1] 夏鹏国,张顺仓,梁宗锁,等.三七化学成分的研究历程和概况[J].中草药,2014,45(17):2564-2570.
[2] 李芳芳,李冬冬,单远.注射用血栓通临床辅助应用研究进展[J].中成药,2015,37(3):618-622.
[3] 刘廷强,何璐璐,鱼红闪,等.三七提取中人参皂苷的转化[J].大连工业大学学报,2009,28(2):111-114.
[4] 牛红军,王芄,杨官娥.微生物转化技术在中药研究中的应用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(18):346-349.
[5] 高慧娟,郑林用,余梦瑶,等.微生物技术在中药开发中的应用[J].时珍国医国药,2011,22(3):728-730.
[6] 李国红,沈月毛,王启方,等.发酵三七中的皂苷成分研究[J].中草药,2005,36(4):499-500.
[7] 毛晶晶,张彤,王冰,等.20(S)-原人参二醇的药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(24):274-277.
[8] 国晶晶,李来来,朱会超,等.三七主要成分及其免疫调节作用的研究进展[J].天津中医药大学学报,2014,33(2):119-124.
[9] 郁相云,钟建华,张旭.中药三七对血液系统的药理活性研究[J].中国中医药现代远程教育,2010,8(12):249.
[10] 苏健,李海舟,杨崇仁.吉林产西洋参的皂苷成分研究[J].中国中药杂志,2003,28(9):830-833.
[11] Tung N H, Yang S Y, Kim J A, et al. Dammarane-type saponins from the black Ginseng[J]. B Korean Chem Soc, 2010, 31(11):3423-3426.
[12] Liu G Y, Li X W, Wang N B, et al. Three new dammarane-type triterpene saponins from the leaves of *Panax ginseng* C. A. Meyer[J]. J Asian Nat Prod Res, 2010, 12(10):865-873.
[13] 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.
[14] Duc N M, Kasai R, Ohtani K, et al. Saponins from vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* HA et GRUSHV. collected in central vietnam. II[J]. Chem Pharm Bull, 1994, 42(3):115-122.

[责任编辑 顾雪竹]