

# 人参真菌菌质的乙酸乙酯部位化学成分研究<sup>Δ</sup>

常百金\*, 邱智东, 张涵雪, 关安琦, 刘莹莹, 徐 伟<sup>#</sup>(长春中医药大学药学院, 长春 130117)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)02-0202-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.02.12

**摘要** 目的:对生物转化得到的人参真菌菌质的乙酸乙酯部位化学成分进行研究,以期获得活性更好、毒性更低的化合物,为新药研发及人参药材的二次开发利用提供参考。方法:将代号为C-1的真菌种子液加至含有人参的培养基中,生物转化得到人参真菌菌质;称取干燥人参真菌菌质,以70%乙醇溶剂提取浓缩制得稠膏;稠膏加入水混悬,采用乙酸乙酯萃取,获得乙酸乙酯部位。采用薄层色谱、硅胶柱色谱、ODS柱色谱以及半制备液相对上述乙酸乙酯部位进行分离纯化,根据理化性质以及氢谱(<sup>1</sup>H-NMR)和碳谱(<sup>13</sup>C-NMR)数据鉴定化合物结构。结果:从人参真菌菌质的乙酸乙酯部位分离、鉴定得到8个化合物,分别为人参皂苷Rs<sub>7</sub>(1)、人参皂苷Rk<sub>3</sub>(2)、齐墩果酸-28-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(3)、人参皂苷Rs<sub>6</sub>(4)、20(R)-人参皂苷Rh<sub>1</sub>(5)、人参皂苷F<sub>1</sub>(6)、三七皂苷R<sub>2</sub>(7)、人参皂苷F<sub>4</sub>(8)。结论:上述化合物均在人参真菌菌质中发现,其中化合物3、5、6、7、8为经生物转化后得到的,证明生物转化技术能改变人参的化学成分。

**关键词** 人参;生物转化;乙酸乙酯部位;化学成分

## Study on the Chemical Constituents of Ethyl Acetate Fraction of *Panax ginseng* Fungal Substance

CHANG Baijin, QIU Zhidong, ZHANG Hanxue, GUAN Anqi, LIU Yingying, XU Wei (School of Pharmaceutical Sciences Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the chemical constituents of ethyl acetate fraction of *Panax ginseng* fungal substance obtained by biotransformation, in order to obtain compounds with better activity and lower toxicity, and to provide reference for new drug R&D and the second development and utilization of *P. ginseng*. METHODS: Fungus of Code Name C-1 seed solution was added into the culture medium containing *P. ginseng*, and *P. ginseng* fungal substance was obtained by biotransformation; the dried *P. ginseng* fungal substance were weighed, extracting with 70% ethanol solvent and concentrating to obtain thick paste. The thick paste was added with water suspension and extracted with ethyl acetate to obtain ethyl acetate fraction. TLC, silica gel column chromatography, ODS column chromatography and semi-prepared liquid phase were used to isolate and purify above ethyl acetate fraction, and the compound structure was identified according to physicochemical properties, hydrogen spectrum (<sup>1</sup>H-NMR) and carbon spectrum (<sup>13</sup>C-NMR) data. RESULTS: Eight compounds were isolated and identified from the ethyl acetate fraction of *P. ginseng* fungal substance and identified as ginsenoside Rs<sub>7</sub> (1), ginsenoside Rk<sub>3</sub> (2), oleanolic acid-28-O-β-D-glucopyranoside (3), ginsenoside Rs<sub>6</sub> (4), 20(R)-ginsenoside Rh<sub>1</sub> (5), ginsenoside F<sub>1</sub> (6), notoginsenoside R<sub>2</sub> (7) and ginsenoside F<sub>4</sub> (8). CONCLUSIONS: All the above compounds were found in *P. ginseng* fungal substance, which compounds 3, 5, 6, 7 and 8 were obtained after biotransformation, proving that biotransformation technology can change the chemical composition of ginseng.

**KEYWORDS** *Panax ginseng*; Biotransformation; Ethyl acetate fraction; Chemical constituents

人参为五加科人参属多年生草本植物人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)的干燥根<sup>[1]</sup>,有“百草之王”之称<sup>[2]</sup>,具有“补五脏、安精神、定魂魄、止惊悸、除邪气、开心益智、明目,久服轻身延年”的功效<sup>[3]</sup>。对中药材进行生物转化,可以改变其原有药性、降低药物毒性、增强或产生新的功效、扩大临床应用范围<sup>[4]</sup>。长春中医药大学邱智东教授课题组前期利用不同的菌种对人参、三七等药材进行生物转化,通过生物转化提高了药材中主要活性成分稀有皂苷的含量,并发现了一些新的化合物,药理试验

证实生物转化产物治疗效果有较大提高<sup>[5-9]</sup>。在前期的试验中发现,乙酸乙酯部位的活性成分及新化合物较多<sup>[5-7]</sup>,故本研究先采用中药化学方法研究人参真菌菌质乙酸乙酯部位的化学成分,后续会对其他部位进行研究,以期得到活性更好、毒性更低或药用价值更高的化合物,为新药研发及药材的二次开发利用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Rotavapor R-220 型旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司); R-201 型旋转蒸发仪(上海申顺生物科技有限公司); LSY-电热恒温水浴锅(江苏常熟医疗器械厂); LC-2130 型日立高效液相色谱仪(上海天美科学仪器有限公司); LC-15C 型高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司);

<sup>Δ</sup> 基金项目:吉林省科技发展计划项目(No.20160201001YY)

\* 硕士。研究方向:药物新剂型及药效物质基础。电话:0431-86172204。E-mail:894199850@qq.com

<sup>#</sup> 通信作者:副教授,博士。研究方向:中药药效物质基础及新药研发。电话:0431-86172204。E-mail:1272349594@qq.com

BP211D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司); KQz3200E 型超声波清洗机(天鹏电子新技术有限公司); AVANCE III 500 傅里叶变换核磁共振仪(德国 Bruker 公司); DNP-9082BS-III 电热恒温培养箱(上海新苗医疗器械制造有限公司); MD200-2 型氮吹仪(杭州奥盛仪器有限公司); DZF-6050 型真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

## 1.2 试剂

柱色谱硅胶(100~200 目,批号:0140027)、硅胶 G 薄层层析板(批号:20140520)均由青岛海洋化工有限公司提供; AM12S05-3010WT YMC-Pack ODS-AM 半制备色谱柱(300 mm×10 mm, 粒径:5 μm, 日本 YMC 公司); AM12S05-3010WT YMC-Pack ODS-AM 色谱柱(300 mm×10 mm, 粒径:5 μm, 批号:1030000103, 北京绿百草科技发展有限公司); 其他有机试剂均为分析纯; 水为纯化水。

## 1.3 菌株

代号为 C-1 的真菌菌株(中国工业微生物菌种保藏管理中心)。

## 1.4 药材

人参药材(批号:20150903)于 2015 年购自吉林省仙草医药药材有限公司,经长春中医药大学药学院翁丽丽教授鉴定为五加科植物人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.) 的干燥根及根茎。

## 2 实验方法

### 2.1 部位提取

根据优选出的适宜代号为 C-1 的真菌生长的最佳马铃薯葡萄糖琼脂培养基配方:取葡萄糖 2%, 磷酸二氢钾 0.3%, 硫酸镁 0.3%, 蛋白胨 1%, 酵母浸粉 1%, 维生素 B<sub>1</sub> 0.01%, 以上物质置于大烧杯中,加入适量的热水搅拌使溶化,待液体培养基冷却后,分装于 250 mL 锥形瓶中,每瓶 100 mL,包扎后置于压力蒸汽灭菌器中,于 121 °C 灭菌 30 min。取出,冷却后,置于无菌室中,紫外灭菌 40 min,日光灯照射 10 min 后,在无菌操作台中接入保存好的斜面菌种。将接有斜面菌种的液体培养基放入恒温振荡(150 r/min)培养箱中,在(26±1) °C 的条件下培养,待种子液变为浑浊黏稠呈淡黄色时,取出,备用。

将人参粉碎,过八号筛,得到人参粗粉 6.0 kg,加 1.5 倍水(倍量按 L/kg 计,下同),分装于 500 mL 锥形瓶中,于灭菌锅 121 °C 灭菌 1 h,室温冷却,加入经培养得到的代号为 C-1 的真菌种子液各 50 mL,于(26±1) °C、相对湿度为 65% 的培养箱中发酵 12 d,得到人参真菌菌质,干燥。称取干燥人参真菌菌质 4.0 kg,粉碎,以 7 倍量 70% 乙醇溶剂提取 3 次(2 h/次),提取液滤过、合并、减压浓缩得到稠膏。将稠膏加入适量的水混悬,采用等体积石油醚、乙酸乙酯及水饱和正丁醇溶液萃取各 3 次,

分别获得石油醚部位 13 g、乙酸乙酯部位 35 g、水饱和正丁醇部位 303 g。

### 2.2 乙酸乙酯部位的分离纯化

取乙酸乙酯部位浸膏,经硅胶柱色谱,以二氯甲烷-甲醇(100:0、100:2、100:5、100:10、100:20、100:50, V/V) 梯度洗脱,得到 78 个流分,经薄层色谱检视后合并,得到 12 个流分。其中,第 6、8、11 个流分分别经开放式 ODS 柱,以水-甲醇(1:0、7:3、5:5、3:7、0:1, V/V) 梯度洗脱,经薄层色谱检视后合并,第 6、8、11 个流分分别得到 16 个流分(Fr.1~Fr.16)、11 个流分(Fr.17~Fr.27)以及 7 个流分(Fr.28~Fr.34)。Fr.12 经半制备液相色谱,以水-甲醇(2.3:7.7, V/V) 等度洗脱,经硅胶柱色谱纯化、薄层色谱检视,合并流分后得到化合物 1(4.6 mg)和化合物 2(23.7 mg); Fr.13 经半制备液相色谱,以水-甲醇(1.5:8.5, V/V) 等度洗脱,经硅胶柱色谱纯化、薄层色谱检视,合并流分后得到化合物 3(64.1 mg)和化合物 4(6.9 mg); Fr.22 经半制备液相色谱,以水-甲醇(3:7, V/V) 等度洗脱,经薄层色谱检视,合并流分后得到化合物 5(59.3 mg)和化合物 6(13.1 mg); Fr.33 经半制备液相色谱,以水-甲醇(3.3:6.7, V/V) 等度洗脱,经硅胶柱色谱纯化、薄层色谱检视,合并流分后得到化合物 7(4.8 mg); Fr.34 经半制备液相色谱,以水-甲醇(2.2:7.8, V/V) 等度洗脱,经硅胶柱色谱纯化、薄层色谱检视,合并流分后得到化合物 8(9.8 mg)。

### 2.3 波谱条件

<sup>1</sup>H-NMR 提供质子类型及其化学环境、氢分布(各官能团上 H 的相对数目)、核间关系。碳谱(<sup>13</sup>C-NMR)提供化合物中碳的个数和每个碳的化学位移,给出有特征的端基碳原子,判断伯仲叔季碳。通过 <sup>1</sup>H-NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 500 MHz) 谱中给出特征信号(甲基质子信号、连氧碳上氢的质子信号、烯氢质子信号以及糖的端基质子信号)和 <sup>13</sup>C-NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 150 MHz) 谱中给出特征信号(甲基碳信号、烯碳信号、葡萄糖端基碳信号)初步确定化合物类型及结构,然后检索相关参考文献,与参考文献中化合物数据基本一致时,即确定二者为同一物质。

### 3 结构鉴定

化合物 1~8 的结构见图 1。

化合物 1: 白色无定形粉末(甲醇),分子式为 C<sub>38</sub>H<sub>62</sub>O<sub>9</sub>,熔点 110~112 °C,三萜皂苷类特征性反应均显阳性。<sup>1</sup>H-NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 500 MHz) δ: 0.95(3H, s, H-30), 1.06(3H, s, H-19), 1.28(3H, s, H-18), 1.54(3H, s, H-29), 1.58(3H, s, H-27), 1.64(3H, s, H-26), 2.02(3H, s, H-28), 2.06(3H, s, 6'-COCH<sub>3</sub>), 3.51(1H, d, J=10.5 Hz, H-3), 3.92(1H, m, H-12), 4.41(1H, m, H-6), 4.91(1H, s, H-21a), 5.14(1H, s, H-21b), 5.28(1H, brt, J=7.0 Hz, H-24), 5.02(1H, d, J=8.0 Hz, H-1')。 <sup>13</sup>C-NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N,

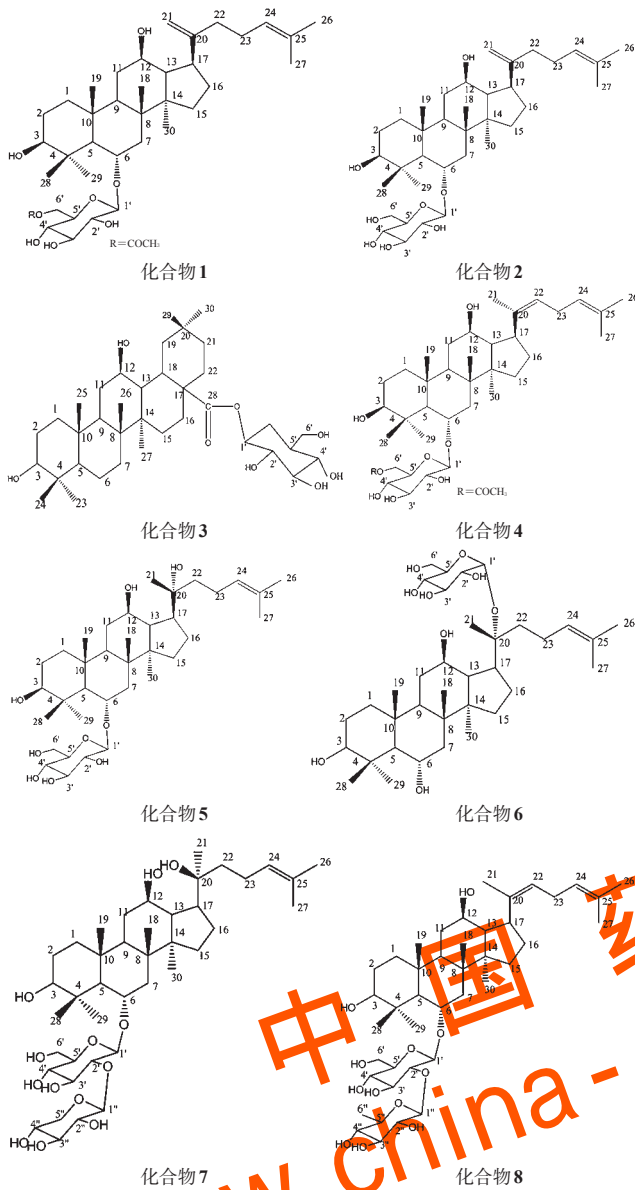


图1 化合物1-8的结构

Fig 1 Structure of compound 1-8

150 MHz)  $\delta$ : 39.9 (C-1), 28.3 (C-2), 79.0 (C-3), 40.7 (C-4), 61.8 (C-5), 80.1 (C-6), 46.0 (C-7), 41.8 (C-8), 51.1 (C-9), 40.2 (C-10), 33.1 (C-11), 72.8 (C-12), 52.6 (C-13), 51.6 (C-14), 31.9 (C-15), 30.4 (C-16), 48.6 (C-17), 17.3 (C-18), 17.8 (C-19), 55.8 (C-20), 108.6 (C-21), 33.2 (C-22), 27.5 (C-23), 125.7 (C-24), 131.7 (C-25), 26.1 (C-26), 18.2 (C-27), 31.1 (C-28), 16.9 (C-29), 18.2 (C-30), 106.3 (C-1'), 75.8 (C-2'), 79.6 (C-3'), 71.8 (C-4'), 75.5 (C-5'), 65.2 (C-6'), 171.3 (C-1''), 21.3 (C-2''). 结合氢谱和碳谱数据与相关文献<sup>[10]</sup>参考数据基本一致, 经过综合分析后, 鉴定此化合物为人参皂苷Rs<sub>7</sub>。

化合物2: 白色粉末(甲醇), 分子式为C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>O<sub>8</sub>, 熔点167~170 °C, 三萜皂苷类特征性反应均显阳性。<sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 500 MHz)  $\delta$ : 0.82 (3H, s, H-30), 1.03

(3H, s, H-19), 1.22 (3H, s, H-18), 1.57 (3H, s, H-29), 1.59 (3H, s, H-27), 1.65 (3H, s, H-26), 2.07 (3H, s, H-28), 3.58 (1H, m, H-3), 4.51 (1H, m, H-6), 3.94 (1H, m, H-12), 5.10 (1H, s, H-21), 4.88 (1H, s, H-21), 5.27 (1H, t,  $J=5.0$  Hz, H-24), 5.02 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-1')。 <sup>13</sup>C-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 150 MHz)  $\delta$ : 39.9 (C-1), 28.3 (C-2), 79.0 (C-3), 40.8 (C-4), 61.9 (C-5), 80.4 (C-6), 45.7 (C-7), 41.7 (C-8), 51.1 (C-9), 40.1 (C-10), 33.1 (C-11), 72.8 (C-12), 52.5 (C-13), 51.5 (C-14), 32.9 (C-15), 31.1 (C-16), 48.7 (C-17), 18.1 (C-18), 18.1 (C-19), 155.8 (C-20), 108.5 (C-21), 34.1 (C-22), 27.4 (C-23), 125.7 (C-24), 131.6 (C-25), 26.1 (C-26), 17.7 (C-27), 32.1 (C-28), 16.7 (C-29), 17.1 (C-30), 106.4 (C-1'), 75.9 (C-2'), 80.1 (C-3'), 72.2 (C-4'), 78.5 (C-5'), 63.5 (C-6')。 结合氢谱和碳谱数据与相关文献<sup>[11]</sup>参考数据基本一致, 经过综合分析后, 鉴定此化合物为人参皂苷Rk<sub>3</sub>。

化合物3: 白色针晶(甲醇), 分子式为C<sub>36</sub>H<sub>58</sub>O<sub>8</sub>, 熔点180~183 °C, 三萜皂苷类特征性反应均显阳性。<sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 500 MHz)  $\delta$ : 1.07 (3H, s, H-27), 1.09 (3H, s, H-25), 1.10 (3H, s, H-26), 1.21 (3H, s, H-23), 1.32 (3H, s, H-30), 1.41 (3H, s, H-29), 1.43 (3H, s, H-24), 3.72 (1H, m, H-3), 5.64 (1H, s, H-12), 6.52 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-1')。 <sup>13</sup>C-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 150 MHz)  $\delta$ : 39.3 (C-1), 28.4 (C-2), 78.4 (C-3), 39.7 (C-4), 56.2 (C-5), 19.2 (C-6), 33.5 (C-7), 40.5 (C-8), 48.5 (C-9), 37.7 (C-10), 24.2 (C-11), 123.2 (C-12), 144.5 (C-13), 42.5 (C-14), 28.6 (C-15), 23.8 (C-16), 47.3 (C-17), 42.1 (C-18), 46.6 (C-19), 31.1 (C-20), 34.3 (C-21), 32.9 (C-22), 29.1 (C-23), 16.9 (C-24), 16.0 (C-25), 17.9 (C-26), 26.4 (C-27), 176.8 (C-28), 33.4 (C-29), 24.0 (C-30), 96.1 (C-1'), 74.4 (C-2'), 79.2 (C-3'), 71.4 (C-4'), 79.7 (C-5'), 62.5 (C-6')。 结合氢谱和碳谱数据与相关文献<sup>[12-13]</sup>参考数据基本一致, 经过综合分析后, 鉴定此化合物为齐墩果酸-28-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物4: 白色粉末(甲醇), 分子式为C<sub>38</sub>H<sub>62</sub>O<sub>9</sub>, 熔点165~166 °C, 三萜皂苷类特征性反应均显阳性。<sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 500 MHz)  $\delta$ : 0.95 (3H, s, H-30), 1.05 (3H, s, H-19), 1.28 (3H, s, H-18), 1.54 (3H, s, H-29), 1.56 (3H, s, H-27), 1.60 (3H, s, H-26), 1.83 (3H, s, H-21), 2.04 (3H, s, H-28), 2.05 (3H, s, 6'-COCH<sub>3</sub>), 3.50 (1H, m, H-3), 4.40 (1H, t,  $J=14.5$  Hz, H-6), 3.99 (1H, m, H-12), 5.07 (1H, d,  $J=6.5$  Hz, H-1')。 <sup>13</sup>C-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 150 MHz)  $\delta$ : 40.0 (C-1), 28.3 (C-2), 78.9 (C-3), 40.7 (C-4), 61.8 (C-5), 79.6 (C-6), 46.0 (C-7), 41.8 (C-8), 50.9 (C-9), 40.2 (C-10), 32.7 (C-11), 72.9 (C-12), 50.8 (C-13), 51.3 (C-14), 33.1 (C-15), 29.2 (C-16), 50.0 (C-17), 17.4 (C-18), 17.8 (C-19), 140.4 (C-20), 13.5 (C-21), 124.2

(C-22), 27.8 (C-23), 124.2 (C-24), 131.5 (C-25), 26.1 (C-26), 18.1 (C-27), 31.9 (C-28), 16.9 (C-29), 16.9 (C-30), 106.3 (C-1'), 75.5 (C-2'), 80.1 (C-3'), 71.8 (C-4'), 75.6 (C-5'), 65.5 (C-6'), 171.2 (C-1''), 21.3 (C-2'')。结合氢谱和碳谱数据与相关文献<sup>[14]</sup>参考数据基本一致,经过综合分析后,鉴定此化合物为人参皂苷  $Rs_6$ 。

化合物5:白色粉末(甲醇),分子式为 $C_{36}H_{62}O_9$ ,熔点 $192\sim 194\text{ }^\circ\text{C}$ ,三萜皂苷类特征性反应均显阳性。 $^1\text{H-NMR}$  ( $C_5D_5N$ , 600 MHz)  $\delta$ : 0.85 (3H, s, H-30), 1.04 (3H, s, H-19), 1.22 (3H, s, H-18), 1.37 (3H, s, H-21), 1.60 (3H, s, H-29), 1.62 (3H, s, H-27), 1.67 (3H, s, H-26), 2.06 (3H, s, H-28), 2.02 (1H, m, H-3), 3.91 (1H, m, H-12), 4.43 (1H, td,  $J=10.2, 3.0\text{ Hz}$ , H-6), 5.03 (1H, d,  $J=7.8\text{ Hz}$ , H-1'), 5.28 (1H, brt,  $J=7.2\text{ Hz}$ , H-24)。 $^{13}\text{C-NMR}$  ( $C_5D_5N$ , 150 MHz)  $\delta$ : 39.7 (C-1), 28.3 (C-2), 78.9 (C-3), 40.7 (C-4), 61.8 (C-5), 78.5 (C-6), 45.5 (C-7), 41.4 (C-8), 50.5 (C-9), 40.0 (C-10), 32.5 (C-11), 71.3 (C-12), 49.2 (C-13), 52.0 (C-14), 31.7 (C-15), 26.9 (C-16), 50.9 (C-17), 17.7 (C-18), 18.0 (C-19), 73.4 (C-20), 22.9 (C-21), 43.5 (C-22), 23.0 (C-23), 126.4 (C-24), 131.1 (C-25), 26.2 (C-26), 18.0 (C-27), 32.1 (C-28), 16.7 (C-29), 17.4 (C-30), 106.3 (C-1'), 75.8 (C-2'), 80.4 (C-3'), 72.2 (C-4'), 80.0 (C-5'), 63.4 (C-6')。结合氢谱和碳谱数据与相关文献<sup>[15-16]</sup>参考数据基本一致,经过综合分析后,鉴定此化合物为20(R)-人参皂苷  $Rh_1$ 。

化合物6:白色无定形粉末(甲醇),分子式为 $C_{36}H_{62}O_9$ ,熔点 $175\sim 177\text{ }^\circ\text{C}$ ,三萜皂苷类特征性反应均显阳性。 $^1\text{H-NMR}$  ( $C_5D_5N$ , 600 MHz)  $\delta$ : 0.95 (3H, s, H-30), 0.99 (3H, s, H-19), 1.07 (3H, s, H-29), 1.43 (3H, s, H-18), 1.57 (3H, s, H-26), 1.57 (3H, s, H-27), 1.60 (3H, s, H-21), 1.97 (3H, s, H-28), 3.52 (1H, d,  $J=7.2\text{ Hz}$ , H-3), 4.00 (1H, t,  $J=7.8, 4.2\text{ Hz}$ , H-6), 3.91 (1H, m, H-12), 5.18 (1H, d,  $J=7.2\text{ Hz}$ , H-1'), 5.22 (1H, s, H-24)。 $^{13}\text{C-NMR}$  ( $C_5D_5N$ , 150 MHz)  $\delta$ : 39.7 (C-1), 29.4 (C-2), 78.8 (C-3), 40.6 (C-4), 62.0 (C-5), 68.0 (C-6), 47.7 (C-7), 41.5 (C-8), 50.2 (C-9), 40.6 (C-10), 31.1 (C-11), 70.6 (C-12), 49.4 (C-13), 51.7 (C-14), 31.2 (C-15), 26.9 (C-16), 52.0 (C-17), 18.1 (C-18), 17.9 (C-19), 83.6 (C-20), 22.7 (C-21), 36.4 (C-22), 23.6 (C-23), 126.2 (C-24), 131.3 (C-25), 26.1 (C-26), 18.1 (C-27), 32.3 (C-28), 16.8 (C-29), 17.7 (C-30), 98.6 (C-1'), 75.5 (C-2'), 79.6 (C-3'), 71.9 (C-4'), 78.6 (C-5'), 63.1 (C-6')。结合氢谱和碳谱数据与相关文献<sup>[17-18]</sup>参考数据基本一致,经过综合分析后,鉴定此化合物为人参皂苷  $F_1$ 。

化合物7:白色粉末(甲醇),分子式为 $C_{41}H_{70}O_{13}$ ,熔点 $200\sim 202\text{ }^\circ\text{C}$ ,三萜皂苷类特征性反应均显阳性。

$^1\text{H-NMR}$  ( $C_5D_5N$ , 600 MHz)  $\delta$ : 0.81 (3H, s, H-30), 0.97 (3H, s, H-19), 1.16 (3H, s, H-18), 1.40 (3H, s, H-21), 1.46 (3H, s, H-29), 1.63 (3H, s, H-27), 1.66 (3H, s, H-26), 2.08 (3H, s, H-28), 3.50 (1H, dd,  $J=11.4, 4.2\text{ Hz}$ , H-3), 4.31 (1H, m, H-6), 3.89 (1H, m, H-12), 4.95 (1H, d,  $J=7.8\text{ Hz}$ , H-1'), 5.77 (1H, d,  $J=6.6\text{ Hz}$ , H-1''), 5.34 (1H, t,  $J=7.2\text{ Hz}$ , H-24)。 $^{13}\text{C-NMR}$  ( $C_5D_5N$ , 150 MHz)  $\delta$ : 39.8 (C-1), 28.2 (C-2), 79.2 (C-3), 40.6 (C-4), 61.7 (C-5), 80.6 (C-6), 45.4 (C-7), 41.5 (C-8), 50.5 (C-9), 40.0 (C-10), 32.5 (C-11), 71.4 (C-12), 48.6 (C-13), 52.0 (C-14), 31.6 (C-15), 27.4 (C-16), 55.1 (C-17), 18.0 (C-18), 18.0 (C-19), 73.3 (C-20), 26.2 (C-21), 36.2 (C-22), 23.4 (C-23), 126.7 (C-24), 131.1 (C-25), 27.2 (C-26), 17.7 (C-27), 32.1 (C-28), 17.1 (C-29), 17.2 (C-30), 103.9 (C-1'), 80.3 (C-2'), 78.4 (C-3'), 72.1 (C-4'), 79.8 (C-5'), 63.3 (C-6'), 105.3 (C-1''), 76.2 (C-2''), 79.2 (C-3''), 71.6 (C-4''), 67.6 (C-5'')。结合氢谱和碳谱数据与相关文献<sup>[19-20]</sup>参考数据基本一致,经过综合分析后,鉴定此化合物为三七皂苷  $R_2$ 。

化合物8:白色粉末(甲醇),分子式为 $C_{42}H_{70}O_{12}$ ,熔点 $177\sim 180\text{ }^\circ\text{C}$ ,三萜皂苷类特征性反应均显阳性。 $^1\text{H-NMR}$  ( $C_5D_5N$ , 600 MHz)  $\delta$ : 0.95 (3H, s, H-30), 0.96 (3H, s, H-19), 1.23 (3H, s, H-18), 1.23 (3H, s, H-29), 1.35 (3H, s, H-27), 1.60 (3H, s, H-26), 1.77 (3H, s, H-21), 2.10 (3H, s, H-28), 3.45 (1H, dd,  $J=11.4, 4.2\text{ Hz}$ , H-3), 4.52 (1H, m, H-6), 3.97 (1H, brs, H-12), 5.26 (1H, d,  $J=6.6\text{ Hz}$ , H-1')。 $^{13}\text{C-NMR}$  ( $C_5D_5N$ , 150 MHz)  $\delta$ : 39.9 (C-1), 28.2 (C-2), 78.7 (C-3), 40.4 (C-4), 61.2 (C-5), 74.8 (C-6), 46.6 (C-7), 41.8 (C-8), 50.5 (C-9), 40.0 (C-10), 32.6 (C-11), 69.8 (C-12), 50.7 (C-13), 51.3 (C-14), 32.6 (C-15), 27.8 (C-16), 51.1 (C-17), 18.1 (C-18), 18.1 (C-19), 140.3 (C-20), 28.2 (C-21), 123.8 (C-22), 30.4 (C-23), 126.0 (C-24), 131.1 (C-25), 26.1 (C-26), 18.0 (C-27), 33.0 (C-28), 17.3 (C-29), 17.6 (C-30), 102.2 (C-1'), 79.8 (C-2'), 78.9 (C-3'), 72.9 (C-4'), 78.8 (C-5'), 63.5 (C-6'), 102.3 (C-1''), 72.7 (C-2''), 72.8 (C-3''), 74.6 (C-4''), 69.8 (C-5''), 19.1 (C-6'')。结合氢谱和碳谱数据与相关文献<sup>[21-22]</sup>参考数据基本一致,经过综合分析后,鉴定此化合物为人参皂苷  $F_4$ 。

#### 4 讨论

通过试验从人参真菌菌质中分离得到8个化合物,经鉴定分别为人参皂苷  $Rs_7$  (1)、人参皂苷  $Rk_3$  (2)、齐墩果酸-28-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 (3)、人参皂苷  $Rs_6$  (4)、20(R)-人参皂苷  $Rh_1$  (5)、人参皂苷  $F_1$  (6)、三七皂苷  $R_2$  (7)、人参皂苷  $F_4$  (8)。其中,化合物3、5、6、7、8为生物转化后得到的,证明生物转化技术能改变人参的化学成分。中药生物转化技术结合微生物学、生物化学、细胞学和生

物工程手段形成的新技术,是药物开发创新的新途径和新手段,通过生物转化技术能提高生物活性成分含量。根据文献报道,所分离得到的化合物在抗疲劳、提高免疫力以及抗肿瘤方面具有良好疗效<sup>[23-27]</sup>。本研究对人参以及传统中药生物转化的开发利用具有借鉴意义。

### 参考文献

- [1] 邹昆,何正有,王欣荣,等.人参皂苷的微生物转化研究进展[J].国外医药抗生素分册,2012,33(3):104-108.
- [2] 刚婉娇,王明蛟,关升远,等.人参药性菌质乙酸乙酯部位化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(17):114-116.
- [3] 张春枝,安利佳,金凤燮.人参皂苷生理活性的研究进展[J].食品与发酵工业,2002,28(4):70-74.
- [4] 于荣敏.天然药物活性成分的生物合成与生物转化[J].中草药,2006,37(9):1281-1288.
- [5] 丁彩凤,王明蛟,邱智东,等.三七药性菌质乙酸乙酯部分化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(7):43-46.
- [6] XU W, DING CF, WANG XW, et al. Two new triterpenoid saponins from notoginseng medicinal fungal substance[J]. *Chinese Chem Lett*, 2015. DOI:10.1016/j.ccl.2015.07.014.
- [7] XU W, DING CF, LIU XL, et al. Chemical constituents of the notoginseng medicinal fungal substance[J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2017, 53(3):483-485.
- [8] 朱凯,贾艾玲,徐瑶,等.人参药性菌质对小鼠 Lewis 肺癌的作用[J].中国老年学杂志,2013,33(23):5882-5883.
- [9] 朱莹莹,刘鑫,贾艾玲,等.HPLC同时测定人参药性菌质中8种皂苷含量[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(7):96-99.
- [10] 贾继明,王宗权.西洋参总皂苷乙酸水解产物的化学成分研究: I [J].中草药,2009,40(8):1204-1207.
- [11] 潘小玲,李振麟,钱士辉,等.中国人参花化学成分研究[J].中国野生植物资源,2014,33(2):13-15.
- [12] 徐金中,王贤亲,黄可新,等.中华雪胆中的三萜皂苷类化学成分研究[J].中国药学杂志,2008,43(23):1770-1773.
- [13] NIE RL, MORITA T, KASAI R, et al. Saponins from Chinese medicinal plants ( I ) isolation and structures of hemslosides[J]. *Planta Med*, 1984, 50(4):322-327.
- [14] PARK IH, HAN SB, KIM JM, et al. Four new acetylated ginsenosides from processed ginseng (sun ginseng) [J]. *Arch Pharm Res*, 2002, 25(6):837-841.
- [15] 王红燕,裴玉萍,陈英杰.人参花蕾化学成分研究[J].中国药物化学杂志,1992,2(2):31-35.
- [16] TEN LN, CHAE SM, YOO SA. Biotransformation of ginsenosides Re and Rg<sub>1</sub> by the bacterium *microbacterium* sp.GT35[J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2015, 51(1):81-86.
- [17] 马丽媛,杨秀伟.人参茎叶总皂苷碱水解产物中的新人参皂苷 20(R)-人参皂苷 Rh<sub>10</sub>[J].中草药,2016,47(1):6-14.
- [18] 郭娜,付锐,窦德强.加拿大产西洋参的化学成分研究[J].中国药物化学杂志,2006,16(3):172-175.
- [19] TENG RW, LI HZ, CHEN JT, et al. Complete assignment of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data for nine protopanaxatriol glycosides[J]. *Magn Reson Chem*, 2002, 40(7):483-488.
- [20] 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.
- [21] RYU JH, PARK JH, EUN JH, et al. A dammarane glycoside from Korean red ginseng[J]. *Phytochemistry*, 1997, 44(5):931-933.
- [22] ZHANG SL, TAKEDA T, ZHU T, et al. A new minor saponin from the leaves of panax ginseng[J]. *Planta Med*, 1990, 56(3):298-300.
- [23] 张彩,史磊.人参化学成分和药理作用研究进展[J].食品与药品,2016,18(4):300-304.
- [24] 曾露露,丁传波,刘文丛,等.人参稀有皂苷药理活性的研究进展[J].时珍国医国药,2018,29(3):680-682.
- [25] 方进波,刘焱文,张彦文,等.空心莲子草抗病毒活性成分研究[J].中草药,2007,38(7):976-979.
- [26] 张福康,陆再华,杨妍华.三七总皂苷对细胞免疫炎症因子作用的研究进展[J].中国药师,2011,14(9):1349-1350.
- [27] 吕青远.三七叶苷的化学成分及药理作用[J].时珍国医国药,2006,17(10):2065-2066.

(收稿日期:2018-06-08 修回日期:2018-11-12)

(编辑:余庆华)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊, 欢迎投稿、订阅