

## 植物—内生真菌次生代谢产物的研究(I)

中国医学科学院 药用植物研究所(北京 100094) 于能江\* 郭顺星\*\*  
中国协和医科大学

我们从野生兰科植物金钗石斛 *Dendrobium nobile* Lindl. 的根中分得数百种植物内生真菌,其中一种经培养鉴定为头孢霉属 *Cephalosporium* Cost. 真菌,发现它对植物有促生作用,进一步的药理初筛还显示具有心血管方面的活性。为了阐明其生物及生理活性的物质基础,我们对其次生代谢产物进行了较系统的研究。

该内生真菌经液体摇瓶发酵后,经过滤分成发酵液和菌丝体两部分。发酵液丁醇萃取部分经柱层析分得5个单体化合物,经光谱(EI-MS,  $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ -NMR, IR)分析和物理方法鉴定为正丁基- $\beta$ -D-吡喃果糖苷(*n*-butyl- $\beta$ -D-fructopyranoside, I),琥珀酸(butanedioic acid, II),尿嘧啶(uracil, III),meso-赤醇(meso-erythritol, IV),甘露醇(D-mannitol, V),其中I首次在真菌中发现。

### 1 仪器和材料

X-4型显微熔点仪(温度计未校正),Pekin-Elmer 983 G型红外光谱测定仪(KBr压片),AEI MS-50型质谱仪,Bruck ARX 400型核磁共振光谱仪(TMS内标)。层析用硅胶(100~200目)由青岛海洋化工厂出品。

菌种由野生兰科植物金钗石斛 *Dendrobium nobile* Lindl. 的根中分离得到;经培养鉴定为头孢霉属(*Cephalosporium* Cost.)的真菌(有性时代尚未发现)。

### 2 发酵培养

采用平皿转摇瓶液体培养的方法。培养基:麦麸30g,葡萄糖20g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.75g,  $\text{MgSO}_4$  1.5g,加水至1000mL;温度:25℃;转速120r/min;共得发酵液约500L,浓缩成约5L。

### 3 提取和分离

于发酵浓缩液中加入95%乙醇醇沉,放置,取上清液(乙醇浓度大于80%),残渣用适量水分散后,如前处理。反复4次,合并上清液,浓缩后分配在水中,依次用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取。正丁醇萃取部分110g用粗孔硅胶1.5kg湿法

装柱,以氯仿至氯仿-甲醇(1:1)梯度洗脱,每份500mL,共收120流分。第22~28流分合并,丙酮重结晶得II 200mg,第44~47流分合并,甲醇重结晶得I 260mg,第66~82、98~104流分合并,甲醇-水重结晶得IV 3.1g、V 180mg。第29~42流分粗品10g用硅胶柱层析(200g),氯仿-甲醇(95:5至9:1)梯度洗脱,合并39~42流分,甲醇洗得粉末III 21mg。

### 4 结构鉴定

化合物I:  $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_6$ ,无色针状结晶,mp 152℃~154℃,易溶于甲醇和水,Molish反应阳性。 $\text{IR}_{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$ : 3425~3420(OH), 2954, 2875, 1374( $\text{CH}_3$ ), 2930, 2870, 1447( $\text{CH}_2$ ), 1372, 1334, 1260, 1191, 1120, 1056, 1016, 952, 908, 860, 772。EI-MS  $m/z$ (%): 205(65), 163(8), 149(65), 145(8), 133(15), 127(6), 115(8), 103(47), 85(45), 77(73), 73(82), 71(31), 69(21), 60(76), 57(100), 49(17), 45(37), 43(97), 41(78), 31(82)。 $^1\text{H}$ NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$ : 0.90(3H, m,  $\text{CH}_3$ ), 1.36(2H, m,  $\text{CH}_2$ -9), 1.55(2H, m,  $\text{CH}_2$ -8), 3.51(2H, m,  $\text{CH}_2$ -7), 3.71(1H, dd, Ha-6), 3.84(1H, dd, Hb-6), 3.78(2H, s, H-1), 3.91(2H, br. s, H-4, 5), 3.98(1H, br. s, H-3)。 $^{13}\text{C}$ NMR  $\delta$ : 60.9(C-1), 100.1(C-2), 67.9(C-3), 68.8(C-4), 69.3(C-5), 60.9(C-6), 60.5(C-7), 31.0(C-8), 18.5(C-9), 12.8(C-10)。以上数据与文献报道的正丁基- $\beta$ -D-吡喃果糖苷相符合<sup>[1]</sup>。

化合物II:无色针晶,mp 185℃~187℃,易溶于甲醇和水。IR, EIMS,  $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ NMR数据与文献<sup>[2]</sup>报道的琥珀酸相符合。

化合物III:淡黄色粉末,mp >320℃,溶于吡啶和DMSO。EIMS,  $^1\text{H}$ NMR与文献<sup>[3]</sup>报道的尿嘧啶相符合。

化合物IV:无色块状结晶,mp 119℃~121℃,微溶于甲醇,易溶于水。IR,  $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ NMR数据与文献<sup>[4]</sup>报道的meso-赤醇相符合。

化合物V:无色针晶,mp 166℃~168℃,与甘

\* 于能江 1997年毕业于同济医科大学,获理学学士学位。现为中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所博士研究生。

\*\* 联系人

露醇标准品测混合熔点不下降,IR数据与文献<sup>[5]</sup>报道的甘露醇相符合。

### 参考文献

- 1 宋治中,贾忠建. 中草药,1990,21(12):4
- 2 国家医药管理局中草药情报中心站编. 植物药有效成分手册,北京:人民卫生出版社,1986:1003

- 3 赵余庆,袁昌鲁. 中国中药杂志,1991,16(7):421
- 4 Ritchie R G, Cyr Natsuko, Rorsch Brian, et al. Can J Chem, 1975,53:1424
- 5 国家医药管理局中草药情报中心站编. 植物药有效成分手册,北京:人民卫生出版社,1986:697

(1999-10-27 收稿)

## 大将军化学成分研究(I)<sup>△</sup>

云南大学化学系(昆明 650091)  
云南省烟草科学研究院

杨靖华\* 马妮 李良  
汪云松

大将军 *Lobelia clavata* E. Wimm. 是半边莲科半边莲属植物,民间用于治疗腮腺炎、跌打损伤、风湿痛、痧症,全草或根、叶(有毒)药用,分布于云南西南部至南部,其化学成分的研究尚未见报道。为了明确该植物的活性成分及其在该属植物中的化学分类学意义,我们从云南省西双版纳采集大将军全草,预试验显示有生物碱、萜类、糖、皂苷、有机酸和挥发油等。从该属植物乙醇提取物中分离到5个化合物,经IR、MS、<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>CNMR 光谱数据和理化性质的解析,分别鉴定为豆甾醇(I)、齐墩果酸(II)、β-谷甾醇(III)、β-香树脂醇棕榈酸酯(IV)、β-香树脂醇(V)。这5个化合物均为首次从该种植物中分到。β-香树脂醇棕榈酸酯通过对老鼠中枢神经系统的药理研究表明,该化合物是一种新的重要替代物,具有类似 mianserin 作用类型的抗抑郁活性<sup>[1]</sup>。从该种植物中分到的齐墩果酸,存在于许多中草药中,生理活性较为广泛,对其结构修饰后合成的齐墩果酸磷酸酯单钠,经体外药理实验证实,其抗肿瘤活性比齐墩果酸高出5倍<sup>[2]</sup>。

### 1 材料与仪器

实验所用植物大将军 *Lobelia clavata* E. Wimm. 采自云南省西双版纳。熔点仪未校正。IR用Shamzdu IR-408型仪测定,KBr压片。<sup>1</sup>H、<sup>13</sup>CNMR用BRUKER AM-400型仪测定,CDCl<sub>3</sub>作溶剂,TMS作内标。HR、EI-MS用VG Autospec质谱仪测定(70 eV)。薄层层析用GF<sub>254</sub>硅胶板,柱层析用100~200目硅胶,青岛海洋化工厂生产。

### 2 提取与分离

大将军全草3.0 kg,经粉碎后于室温下用80%

工业乙醇渗漉,得浸膏500 g。浸膏用30% HCl水溶液分散,调节pH=2,用氯仿萃取,得提取物25 g。然后用氨水调节pH=10,氯仿萃取,得粗生物碱12 g。20 g非生物碱部分用硅胶柱层析,依次用石油醚、乙醚、乙酸乙酯、甲醇梯度洗脱,得F1~F10部分。F4部分经石油醚(3:1)洗脱,得化合物I 30 mg。F5、F6部分经石油醚、乙酸乙酯多次柱层析得化合物II 46 mg、III 67 mg。F8部分以苯-乙酸乙酯(8:1)为洗脱剂多次柱层析,得化合物IV 105 mg、V 82 mg。

### 3 鉴定

化合物I:无色针晶(丙酮),mp 165 °C~168 °C, Liebermann反应呈阳性,10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>显紫色。IR、<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>CNMR、EIMS数据经与文献<sup>[3]</sup>对照,鉴定化合物I为豆甾醇。

化合物II:白色针晶,mp 280 °C~282 °C, Liebermann-Burchard反应呈阳性。IR、<sup>1</sup>HNMR数据经与文献<sup>[4]</sup>报道一致,TLC检查Rf值与标准品一致,由此确证为齐墩果酸。

化合物III:白色针晶(丙酮),mp 133 °C~135 °C, Liebermann反应呈阳性,10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>显紫色。与β-谷甾醇对照品CO-TLC,Rf值一致,因此确证III为β-谷甾醇。

化合物IV:白色固体,mp 77 °C~79 °C。IR<sub>vmax</sub> cm<sup>-1</sup>: 2 980, 2 960, 2 930, 1 730 (C=O), 1 462, 1 360, 1 170, 980, 720。EI-MS m/z: 664[M]<sup>+</sup>, 650[M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 409, 218, 203, 189, 175, 135, 121, 109, 95, 81, 69, 57, 43。<sup>13</sup>CNMR与文献报道的β-香树脂

(下转第943页)

\* 杨靖华 女,29岁,副教授。1996年毕业于云南大学化学系,获硕士学位。主持完成一项云南省应用基础研究基金资助项目,作为主要完成人,先后参与完成了两项云南省应用基础研究基金资助项目,1999年破格晋升为副教授。主要从事活性天然产物的提取分离、合成转化工作,在国内外学术刊物发表论文10余篇,申请中国发明专利1项。

<sup>△</sup>云南省应用基础研究基金资助课题