

露醇标准品测混合熔点不下降,IR 数据与文献^[5]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)[△]

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、¹H、¹³CNMR 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^[1]。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^[2]。

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。¹H、¹³CNMR 用 BRUKER AM-400 型仪测定,CDCl₃ 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 GF₂₅₄ 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% H₂SO₄ 显紫色。IR、¹H、¹³CNMR、EIMS 数据经与文献^[3]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、¹HNMR 数据经与文献^[4]报道一致,TLC 检查 R_f 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% H₂SO₄ 显紫色。与 β-谷甾醇对照品 CO-TLC, R_f 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_{ν_{max}} cm⁻¹: 2 980, 2 960, 2 930, 1 730 (C=O), 1 462, 1 360, 1 170, 980, 720。EI-MS m/z: 664 [M]⁺, 650 [M-CH₃]⁺, 409, 218, 203, 189, 175, 135, 121, 109, 95, 81, 69, 57, 43。¹³CNMR 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。

[△]云南省应用基础研究基金资助课题

质呈逐渐下降趋势;pH 值是不断降低的,说明在发酵中有酸类物质分泌到胞外,即灵芝酸。

2.3 胞外多糖的分离纯化:通过紫外分析可知,我们所得到的灵芝多糖在 260 nm 及 280 nm 处无吸收峰,也就是说无核酸及蛋白质存在,基本上证明多糖无其他杂质,且通过发酵得到的多糖提取率为 37.5 g/kg 干菌体,比文献报道^[2]34.4 g/kg 干菌体有提高。

2.4 胞外多糖组分的层析分析:通过凝胶层析所得到的洗脱曲线见图 2。

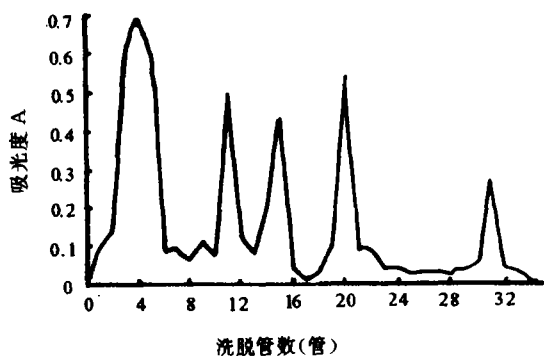


图 2 胞外多糖的洗脱曲线

从图 2 可以看出,胞外多糖的成分复杂,分子量大小不一,共有 5 个组分。

2.5 多糖的单糖组成分析:

2.5.1 纸层析:通过纸层析测定 Rf 值与已知单糖比较可知灵芝胞外多糖组分是由葡萄糖、甘露糖、果糖组成的。

2.5.2 胞外多糖红外分析:通过胞外多糖红外光谱看出 840 cm^{-1} 及 761 cm^{-1} 附近无吸收峰, 892 cm^{-1} 处有吸收峰,表明灵芝胞外多糖具有 β -D-糖苷键; 800 cm^{-1} 处有一微弱的吸收峰表明有甘露糖存在; 1110 cm^{-1} 处有吸收表明灵芝多糖的单糖为六元环结构; 3400 cm^{-1} 处的强吸收峰为糖分子中缔三羟

基的伸缩振动吸收峰。

2.5.3 气相色谱分析:将胞外多糖组分 1 的酸水解液乙酰化后作气相色谱,其结果如表 2 所示。乙酰化方法是:取 20 mg 灵芝多糖溶于 3 mL 5 mol/L 硫酸中,封管在沸水中水解 8 h,水解液加入适量 BaCO_3 中和,过滤。滤液中加入 15 mg NaBH_4 ,放置过夜,然后加入适量乙酸分解过量的 NaBH_4 ,重复 4 次。将上面得到的溶液在 $105\text{ }^\circ\text{C}$ 的烘箱中烘干,冷却后转入真空耳塞管,加入 1 mL 乙酸酐,0.5 mL 吡啶,然后在 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 下反应 2 h,反应液冷却后加入 1 mL 水,放入表面皿中蒸发至干。最后用 1 mL 氯甲烷提取,提取液可直接进行气相色谱分析(见表 2)。

表 2 胞外多糖的气相色谱分析

保留时间 (min)	峰面积	含量 (%)	校正因子
3.232	3973	5.214	1.000E+000
3.813	219	0.287	1.000E+000
4.250	615	0.807	1.000E+000
5.548	71389	93.691	1.000E+000
合计	76196	100.00	

从表 2 我们可以看出,灵芝胞外多糖组分 1 是由 3 种单糖组成的,结合纸层析的结果可知灵芝胞外多糖中含有甘露糖、果糖、葡萄糖,其中果糖是首次报道。

参考文献

- 1 黄为群,吴其威,黄瑞珊,等. 上海交通大学学报,1994,28(2):83
- 2 罗立新,姚汝华,周少奇. 食品工业科技,1998,(3):6
- 3 孙东平. 液体发酵红曲的应用研究. 南京大学硕士研究毕业论文,1997:19
- 4 袁玉荪,朱婉华,陈钧辉. 生物化学实验. 北京:高等教育出版社,1995:13
- 5 袁玉荪,朱婉华,陈钧辉. 生物化学实验. 北京:高等教育出版社,1995:65
- 6 张承圭,王传怀,袁玉荪,等. 生物化学仪器分析. 北京:高等教育出版社,1990:203

(1999-11-24 收稿)

(上接第 898 页)

醇棕榈酸酯一致^[5a]。由此,确证 IV 为 β -香树脂醇棕榈酸酯。

化合物 V:白色晶体,mp $200\text{ }^\circ\text{C}\sim 201\text{ }^\circ\text{C}$ 。IR ν_{max} cm^{-1} : 3 320 (-OH), 2 900, 2 800, 1 460, 1 384, 1 362, 1 050, 1 100。EI-MS m/z: 427 [$\text{M}^+ + 1$], 409 [$\text{M}-\text{OH}$]⁺。¹³CNMR 图谱显示有 8 个甲基 (28.42, 15.60, 15.51, 16.80, 26.25, 28.05, 33.32, 23.75), 10 个亚甲基 (38.85, 27.08, 18.40, 32.80, 23.61, 27.36, 26.25, 46.97, 34.85, 37.25), 5 个次甲基 (79.08, 55.35, 47.78, 121.65, 47.40), 7 个季碳 (38.75, 40.09, 37.25, 145.25, 42.01, 32.80,

31.06), 145.25 和 121.65 显示有一个双键存在,其¹³CNMR 与文献报道的 β -香树脂醇一致^[5b],故推测其结构为 β -香树脂醇。

致谢:云南大学生物系胡志浩教授鉴定植物样品,在此衷心感谢!

参考文献

- 1 Subarnas A, Tadano T. J Pharm Pharmacol, 1993,45(6):545
- 2 刘明生,谷黎红,陈英杰,等. 中国药物化学杂志,1993,3(1):42
- 3 Holland H, Diakow P R, Taylor G J, et al. Can J Chem, 1978, 56(24):3121
- 4 齐一萍,郭驿民,夏志林,等. 中国中药杂志,1996,21(4):234
- 5 龚运淮. 天然有机化合物的¹³C-核磁共振位移. 昆明:云南科技出版社,1986:131,129

(1999-11-02 收稿)