

H_zH-8), 6 45(1H, d, J= 2H_zH-6), 5 08(1H, d, J= 7H_zglc-1) 与木犀草素-7-葡萄糖苷标准品对照, 二者 Co-TLC 的 R_f值一致, 因此鉴定 VI 为木犀草素-7-葡萄糖苷。

化合物 VII: 黄色针状结晶; m_p 258 °C~ 260 °C (甲醇); ¹H NMR (DM SO-*d*₆) δ 12 37(1H, s, OH-5), 8 68(1H, s, B-OH 环), 6 64(1H, s, H-3), 7 98(2H, d, J= 7 4H_zH-2', 6'), 6 96(2H, d, J= 7 4H_zH-3', 5'), 6 83(1H, d, J= 2H_zH-8), 5 08(1H, d, J= 7H_zglc-1)。以上数据与文献^[2]中 4'-羟黄酮素-7-葡萄糖苷的数据完全一致, 故鉴定 VII 为黄酮素-7-葡萄糖苷 (scutellarin)。

化合物 VIII: 无色针晶; m_p 139 °C~ 141 °C (乙酸

乙酯), IR 与 β-谷甾醇的 IR 光谱一致, 与对照品 Co-TLC 的 R_f值一致, 因此确定 VIII 为 β-谷甾醇 (β-sitosterol)。

致谢: 原植物由兰州大学生物系张国梁教授鉴定。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M] 北京: 科学出版社, 1982
- [2] 中国科学院上海药物研究所植物化学研究室. 黄酮体化合物鉴定手册 [M] 北京: 科学出版社, 1981
- [3] Leticia J E I-N Aggar, Jack L B. Iridoids. A review [J] J Nat Prod, 1980, 43(6): 649-707
- [4] Jia Z J, Gao J J, Liu Z M. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Pedicularis plicata* Maxim [J] Indian J of Chem, 1994 33B(5): 460-464

头孢霉 AL031 真菌次生代谢产物的挥发性成分

毕韵梅¹, 汪汉卿^{1*}, 陈远腾³, 谢金伦^{2*}

(1 中国科学院兰州化学物理研究所 O SSO 国家重点实验室, 甘肃 兰州 730000 2 云南大学省工业微生物发酵工程重点实验室, 云南 昆明 650091)

中图分类号: R284 1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)12-1070-02

头孢霉 AL031 菌株是本课题组从云南省哀牢山箭竹上分离筛选到的一株丝状真菌。通过抗菌活性试验证明, 其次生代谢产物具有良好的抗细菌、真菌活性, 可望开发为药用真菌。该真菌为我们首次获得, 并且通过数年的引种驯化培育, 现已可通过液体发酵, 而在实验室中大量制备此真菌。经初步研究, 从该真菌的次生代谢产物中分离到 3, 4-二氢异香豆素类化合物 (另文报道)。异香豆素衍生物具有较高的生物活性, 是国内外学者们的重要研究课题^[1]。然而, 对产生异香豆素类化合物的头孢霉属真菌及其次生代谢产物的研究至今 8 尚未见报道。

本工作采用毛细管色谱-质谱联用法, 分离并分析鉴定了头孢霉 AL031 真菌次生代谢产物的挥发性化学成分的结构, 用气相色谱面积归一法测定了各成分的结构, 用气相色谱面积归一法测定了各成分的相对百分含量, 为该真菌的进一步研究和开发奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料的制备——真菌的液体发酵

1.1.1 菌种: 筛选自滇中哀牢山, 经云南大学生物系杨发蓉教授鉴定为丛梗孢科头孢霉属 *Cephalosporium Corde* 真菌。

1.1.2 培养基: 液体种子和摇瓶发酵培养基: 马铃薯 20% (取汁), 葡萄糖和蔗糖 (1: 2) 2%, 磷酸二氢钾 0.1%, 硫酸镁 0.05%, 维生素 B₁ 0.001%。

1.1.3 培养方法: 500 mL 摇瓶装入 200 mL 培养基, 接入 10% 的液体种子, 在往复式摇床上于 24 °C 培养 4 d。

1.2 样品制备: 培养 4 d 的发酵物经过滤分为发酵液和菌丝体两部分。取发酵液 10 L, 用乙酸乙酯萃取 6 次, 回收乙酸乙酯, 得浸膏 8 g 拌 16 g 硅胶, 用石油醚彻底洗脱, 减压浓缩洗脱液得淡黄色有香味的油状液体 0.3 g。菌丝体 1 kg 用工业丙酮浸泡 6 次, 回收溶剂。提取浸膏拌入硅胶后, 用石油醚彻底洗脱, 减压浓缩洗脱液得黄色有特殊气味的油状物

1.6 g

* 收稿日期: 2001-06-20

基金项目: 云南省工业微生物发酵工程重点实验室开放基金资助项目 (KF 200013)

作者简介: 毕韵梅, 博士, 云南师范大学副教授。

* 通讯联系人 Tel (0931) 8278319

1.3 GC-MS实验条件: 仪器: HP5890气相色谱-质谱联用仪。气相色谱条件: 石英毛细管柱(30 m× 0.25 mm), 程序升温 100℃~ 280℃ (6℃/min), 进样口温度 320℃, 进样量 0.2 μL, 载气 He, 分流比 50:1, 柱前压 50.92× 10³ Pa, 流速 1.0 mL/min, 质谱条件: EI源, 离子源温度 320℃, 电子能量 70 eV, 扫描质量范围: 50~ 450

描质量范围: 50~ 450

2 结果与讨论

2.1 对头孢霉 AL031 真菌发酵液和菌丝体两个样品进行了气相色谱-质谱联机分析, 共得到 31 个色谱峰, 鉴定了 28 个成分。用归一化法确定了各成分的相对百分含量。结果见表 1

表 1 头孢霉 AL031 真菌发酵液和菌丝体挥发性化学成分

发酵液			菌丝体		
峰号	化合物	相对含量 (%)	峰号	化合物	相对含量 (%)
1	苯乙酸	2.15	1	4-甲基-5-苯基咪唑	0.86
2	2,6-二叔丁基-4-甲基苯甲醛	2.33	2	6-[(2Z)-丁烯基]-1,4-环庚二烯	2.81
3	8-羟基-3-甲基-3,4-二氢异香豆素	63.66	3	十七烷	0.82
4	十四酸	2.09	4	庚烷	0.93
5	2-丁基-1-辛醇	0.83	5	1,7,7-三甲基-三环[5.4.0.0 ^{5,7}]-2-十一烯-4-酮	1.31
6	(Z,E)-2,5-庚二烯-1-醇	0.93	6	8-羟基-3-甲基-3,4-二氢异香豆素	12.34
7	2-甲基-3-甲基苯甲醛	1.44	7	1-甲基-1H-吡咯-2-乙腈	1.04
8	2-硝基-1,4-二甲苯	1.22	7	顺-4-(对硝基苯基)环己醇	2.09
9	三十六烷	1.01	9	(Z)-7-十六碳烯酸甲酯	1.31
10	十八酸甲酯	1.65	10	十六酸甲酯	49.28
11	2-羟基环十五碳酮	1.31	11	十四酸内酯	10.31
12	9-十六碳烯酸	15.81	12	2-十六烷醇	1.01
13	硫代硫酸-S-(2-氨基乙基)-乙酯	0.79	13	(Z)-9-十八烯酸	0.96
14	十八酸	1.06	14	十六酸	0.87

2.2 分析结果表明, 头孢霉 AL031 真菌发酵液和菌丝体中的挥发性化学成分, 除都含有 8-羟基-3-甲基-3,4-二氢异香豆素(蜂蜜曲菌素)外, 其余成分均不相同。蜂蜜曲菌素是发酵液挥发油的主要成分, 占其挥发油峰面积的 63.66%; 它在菌丝体挥发性成分中的相对百分含量也很高(12.34%), 仅次于十六酸甲酯(49.28%)。据文献报道, 8-羟基-3-甲基-3,4-二氢异香豆素具有抗真菌、杀虫和抗肿瘤活性^[2], 这与我们进行的头孢霉 AL031 真菌发酵液和菌丝体挥发性成分抗菌活性试验结果(另文报道)相符, 同时也表明, 头孢霉 AL031 真菌可望开发为药用真菌, 是一值得进步深入研究的微生物。

2.3 经反复试验证明, 采用传统的水蒸气蒸馏法不能提取出头孢霉 AL031 真菌发酵液和菌丝体中的挥发性成分, 而采用本文报道的方法则可成功的得到其挥发油。此外, 头孢霉 AL031 真菌的次生代谢产物中挥发性成分不复杂, 可能与发酵所采用的原料、发酵方式、发酵条件等因素有关。

参考文献:

- [1] 袁斌, 吕松, 磁晓辉. 二氢异香豆素类天然产物的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(2): 95-98
- [2] Raghao S M, Prakash G J, Shrikant R P, et al. NoverlA K_h catalysed syntheses of naturally occurring (±) 8-hydroxy-3-methyl-3,4-dihydroisocoumarins[J]. Chem Soc, Chem Commun, 1992, (12): 883-884

《中草药》杂志 2001 年增刊征订启事

为了促进中药现代化的研究进程, 加强中药新药研究与开发的信息交流, 商讨我国入关后中药产业的发展新对策, 推动西部药用植物资源的保护、开发和利用, 《中草药》杂志编辑部拟于 2001 年 10 月中旬在四川省成都市召开“第三届中药新药研究与开发信息交流会暨《中草药》杂志第七届编委会”。为了配合此次会议的召开, 经国家科技部国科财便字(2001)066 号文批准, 我们编辑出版了《中草药》杂志 2001 年第 32 卷增刊。本增刊共收载论文 150 篇, 特邀中国工程院院士和国内十多位知名专家和中青年学科带头人就中药新药研究的热点问题撰写综述文章(文题见《中草药》杂志 2001 年第 7 期)。另外, 还有反映国内近年来中药植化、药理、分析、制剂、药材及临床等方面的新理论、新方法和新成就的科研论文和综述性文章 140 余篇。

增刊为大 16 开本, 200 页(约 50 万字), 天津市报刊增刊特字准印证(2001)第 098 号, 定价 65 元, 另加包装费、邮费 5 元。凡订阅者请向我部索取订单: 300193 天津市鞍山西道 308 号《中草药》杂志编辑部。