

离子 ESI-MS 给出 $m/z: 419[M-H]^-$, 提示相对分子质量为 420。UV 图谱 $[(CH_3OH)\lambda_{max}]$ 显示在 223、282 nm 处有吸收 ($lg\epsilon$ 分别为 4.58 和 4.71)。 1H -NMR (TMS/ $CDCl_3$) δ : 13.01 (1H, s, OH-5), 8.54 (1H, s, OH-4'), 8.00 (1H, s, H-2), 7.03 (1H, d, $J=8.6$ Hz), 6.75 (1H, d, $J=10.0$ Hz), 6.56 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-3'), 6.48 (1H, dd, $J=8.4$, 2.5 Hz, H-5'), 5.66 (1H, d, $J=10.0$ Hz, H-3''), 5.17 (1H, tt, $J=7.3, 1.3$ Hz, H-2''), 3.42 (2H, d, $J=7.3$ Hz, H-1'''), 1.81 (3H, s, Me-4''), 1.68 (3H, s, Me-5''), 1.47 (6H, s, Me-5'', 6''); ^{13}C -NMR (TMS/ $CDCl_3$) δ : 182.4 (C-4), 158.2 (C-6'), 157.8 (C-7), 157.4 (C-4'), 154.9 (C-2), 154.6 (C-9), 154.5 (C-5), 132.0 (C-3''), 130.7 (C-2'), 128.5 (C-3'), 122.8 (C-3), 121.6 (C-2''), 115.7 (C-4''), 112.6 (C-1'), 108.6 (C-3'), 107.7 (C-8), 106.4 (C-5'), 106.0 (C-6), 105.3 (C-10), 78.3 (C-2''), 28.3 (C-5'', 6''), 25.7 (C-5''), 21.3 (C-1''), 17.9 (C-4''), 氢谱和碳谱数据与文献值对照^[3], 确定化合物Ⅷ为 5, 2', 4'-三羟基-8-(3, 3-二甲基烯丙基)-2'', 2''-二甲基吡喃[5, 6: 6, 7]异黄酮。

化合物Ⅸ: 黄色针状结晶(甲醇-水), mp 200~201 °C。盐酸-镁粉反应呈阴性。 H_2SO_4 显黄色, $FeCl_3$ 反应显阳性。正离子 ESI-MS 给出 $m/z: 405[M+H]^+$, 负离子 ESI-MS 给出 $m/z: 403[M-H]^-$, 提

示相对分子质量为 404。UV 图谱 $[(CH_3OH)\lambda_{max}]$ 显示在 225、273、358 nm 处有吸收 ($lg\epsilon$ 分别为 4.42、4.83 和 3.52)。氢谱和碳谱数据与文献值对照^[3], 确定化合物Ⅹ为 5, 4'-二羟基-6-(3, 3-二甲基烯丙基)-2'', 2''-二甲基吡喃[5, 6: 7, 8]异黄酮。

致谢: 本课题在深圳中药及天然药物研究中心完成, 核磁数据由张雪测定, 质谱数据由高昊测定。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1997.
- [2] Tanaka H, Hirata M, Etoh H, et al. Eryvarins F and G, two 3-phenoxychromones from the roots of *Erythrina variegata* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62: 1243-1246.
- [3] Monache G A, Scurria R. Two Isoflavones and a Flavone from the fruits of *Maclura pomifera* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37: 893-898.
- [4] Hu X L, Zhu H, Liu C R, et al. Study on the chemical constituents of the flowers of *Impatiens balsaminal* L. [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2003, 25: 833-834.
- [5] Tanaka H, Doi M, Etoh H, et al. Revised structures for senegalensin and euchrenone b_{10} [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64: 1336-1340.
- [6] Richard B T, David G C. 2, 3-Dihydroauriculatin, a new prenylated isoflavanone from *Erythrina senegalensis*. application of the selective inept technique [J]. *J Nat Prod*, 1986, 49: 670-673.
- [7] Bohlmann F, Abraham W. Neue prenylflavanone aus *Heblchrysium hypocephalum* [J]. *Phytochemistry*, 1979, 18: 1851-1853.
- [8] Olivares E, Martinez L W, Monache F D. A pyranosioflavone from seeds of *Milletia thonningii* [J]. *Phytochemistry*, 1982, 21: 1763-1765.

新月弯孢霉对重楼皂苷的生物转化

冯冰, 马百平*, 康利平, 熊呈琦, 王升启

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

摘要: 目的 寻找选择性水解甾体皂苷 C-3 位糖链末端糖基的微生物, 同时制备甾体皂苷的去糖基衍生物。方法 利用新月弯孢霉 (3.438 1) 培养, 对 C-3 位有双糖基结构的甾体皂苷类化合物重楼皂苷 V (化合物 I)、重楼皂苷 VI (化合物 II) 进行生物转化; 用反相 C_{18} 开放柱进行转化产物的分离纯化, 波谱方法鉴定其结构。结果 新月弯孢霉 (3.438 1) 均能将化合物 I 和化合物 II C-3 位糖链末端的鼠李糖水解, 转化为单糖基皂苷, 转化产物分别鉴定为薯蓣皂苷元-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷, 即延龄草苷 (trillin, 化合物 III) 和偏诺皂苷元-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (化合物 IV)。结论 首次发现新月弯孢霉 (3.438 1) 对重楼皂苷 V 和重楼皂苷 VI C-3 位糖链的末端鼠李糖具有较强的水解能力。

关键词: 新月弯孢霉; 重楼皂苷 V; 重楼皂苷 VI; 生物转化

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)07-0978-05

收稿日期: 2004-09-20

作者简介: 冯冰 (1961-), 女, 河南开封人, 现于军事医学科学院放射医学研究所攻读博士学位, 主要从事天然药物生物转化研究。

* 通讯作者 马百平 Tel: (010) 66930265 E-mail: ma_bp@sohu.com

Biotransformation of polyphyllins by *Curvularia lunata* fermentation

FENG Bing, MA Bai-ping, KANG Li-ping, XIONG Cheng-qi, WANG Sheng-qi

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: Objective To find the microorganisms which hydrolyze sugar residues of steroidal saponins at C-3 position and to obtain their glucosyl-derivatives. **Methods** The enzymes secreted by fermentation of *Curvularia lunata* (3.438 1) in the culture medium were employed to transform polyphyllin V (compound I) and polyphyllin VI (compound II). The products were separated by means of chromatography on C₁₈ column and their structures were elucidated on the basis of spectral analyses. **Results** Compounds I and II could be transformed by *C. lunata* (3.438 1) and the main products were identified as diosgenin-3-O-β-D-glucopyranoside, named trillin (compound III) and pennogenin-3-O-β-D-glucopyranoside (compound IV), respectively. **Conclusion** The terminal rhamnosyls of polyphyllin V and polyphyllin VI at C-3 position could be hydrolyzed selectively by *C. lunata* (3.438 1) for the first time.

Key words: *Curvularia lunata* (Wald.) Boed; polyphyllin V; polyphyllin VI; biotransformation

重楼为百合科植物云南重楼 *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz. 或七叶一枝花 *P. polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara 的干燥根茎,具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊等功效^[1],是著名中成药云南白药、季德胜蛇药片等的主要组成药物。近年研究表明该属植物具有止血、抗肿瘤、抗生育、免疫调节及心血管等多方面的生理活性^[2]。重楼皂苷 V (化合物 I) 和重楼皂苷 VI (化合物 II) 为重楼根茎中的甾体皂苷类化合物,分别由薯蓣皂苷元 (diosgenin) 和偏诺皂苷元 (pennogenin) 的 C-3 位与 1 分子葡萄糖相连,葡萄糖的 2 位再和一分子鼠李糖连接成苷,见图 1。

找选择性糖苷酶奠定了基础。

1 实验材料

1.1 实验材料及试剂:菌种:新月弯孢霉 *C. lunata*:3.438 1,购于中国科学院微生物研究所。培养基:A. 斜面固体培养基:马铃薯汁 100 mL、葡萄糖 2 g、琼脂 2 g;B. 发酵培养基:(1)马铃薯浸汁 100 mL、葡萄糖 2 g。(2)玉米浆 1.2 g、葡萄糖 1 g、酵母膏 0.2 g、硫酸铵 0.5 g、水 100 mL。底物:化合物 I 和 II 由重楼中提取分离得到(本实验室自制)。

1.2 实验仪器及试剂: Micromass Zabspec 高分辨磁质谱仪; Varian^{UNITY} INOVA 600 超导核磁共振谱仪 (¹³C-NMR 为 150.8 Hz, ¹H-NMR 599.8 Hz), 溶剂为氘代吡啶; Agilent 1100 高效液相色谱仪, 色谱: Alltech Apollo C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 检测器: Alltech ELSD 2000, 温度: 100 °C, 气流量: 2.4 L/min; 隔水式恒温培养箱 9080, 上海一恒科技有限公司; HZS-H 水浴振荡器, 哈尔滨东联电子技术开发有限公司; 高速冷冻离心机 3K18, Sigma 公司; 甲醇: 色谱纯, 正丁醇和丙酮: 分析纯, 均为北京化工厂产品; 玉米浆: 华北制药康欣有限公司产品; 制备 C₁₈ 柱填料为日本 YMC 公司产品, 批号: 5409; 薄层硅胶预制板 GF254 (厚度 0.2~0.25 mm, 规格 100 mm × 200 mm) 和薄层色谱硅胶均为青岛海洋化工厂生产。

2 实验方法

2.1 底物的制备: 重楼切片, 60% 乙醇溶液回流提取 3 次, 合并滤液, 减压浓缩。浓缩液用水饱和的正丁醇萃取 3 次, 合并萃取液, 真空浓缩干燥, 得重楼总皂苷。总皂苷用少量甲醇溶解后, 按总皂苷与硅胶质量比为 1:2 加入薄层硅胶, 拌匀蒸干, 按上样量

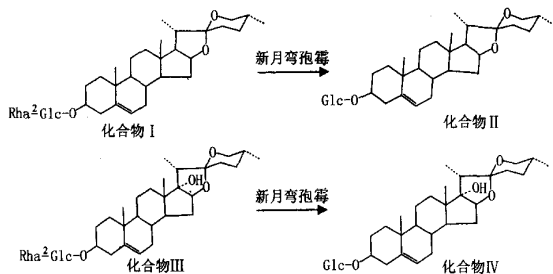


图1 化合物 I 和 II 的酶解生物转化途径

Fig. 1 Biotransformation pathway of compounds

I and II by *C. lunata*

新月弯孢霉 *Curvularia lunata* (Wald.) Boed 是具有很强的 11β-羟基化酶系, 被普遍用于甾体 11β-羟基化反应的生产, 生物合成皮质激素药物氢化可的松^[3~4]。但该菌株对皂苷糖基的水解能力目前尚未见研究报道。本实验采用新月弯孢霉 (3.438 1) 在培养过程中产生的酶系, 对化合物 I 和化合物 II C-3 位糖链进行了选择性水解研究, 得到两种单糖基甾体皂苷, 为拓宽该菌株的应用范围、寻

与硅胶质量比1:50采用硅胶干柱(20 cm×2 cm)色谱分离,氯仿-甲醇-水溶液梯度洗脱:收集45~48份和63~64份洗脱液分别合并,浓缩,得单体化合物I和II。

2.2 菌株的斜面培养:在无菌条件下,将新月弯孢霉接种于马铃薯琼脂斜面培养基上,(29±1)℃恒温培养箱中培养5~7 d。

2.3 转化培养方法

2.3.1 发酵培养:斜面培养菌株,以无菌水洗下孢子,孢子悬浮液按体积分数3%~5%接种量接种到液体培养液内,恒温摇床(29±1)℃,150~180 r/min振荡培养24 h。

2.3.2 转化培养:发酵培养液内按质量体积比投入0.05%~0.1%预处理的底物(添加0.1%聚山梨酯-80,3 min超声处理),恒温摇床(29±1)℃,150~180 r/min振荡培养72 h。

2.4 转化产物的提取分离及纯化

2.4.1 培养液与菌丝同时萃取:在培养完全的培养液中直接加入等量正丁醇进行萃取,同法操作4次,合并正丁醇溶液,真空浓缩干燥,得转化产物粗品。

2.4.2 菌丝、培养液超声萃取:培养液以12 000 r/min离心,分离菌丝、培养液。菌丝按质量体积比1:0.5加入正丁醇萃取,超声3 min;培养液中加入等量正丁醇萃取,同法操作4次。合并正丁醇溶液,减压浓缩干燥,得转化产物粗品。

2.4.3 菌丝、培养液萃取:培养液以12 000 r/min离心,分离菌丝、培养液。菌丝按质量体积比1:0.5加入正丁醇萃取;培养液中加入等量正丁醇萃取,同法操作4次。合并正丁醇溶液,减压浓缩干燥,得转化产物粗品。

2.4.4 转化产物的分离纯化:用C₁₈开放柱进行分离。50%丙酮溶解转化产物粗品,加入50%丙酮平衡好的C₁₈柱,依次用50%、60%、70%、85%丙酮溶液进行梯度洗脱,分步收集洗脱液,TLC和HPLC检测合并相同组分,得转化产物的单体化合物。

2.5 分析检测

2.5.1 TLC检测:分别将化合物I对照品、化合物II对照品、化合物I转化产物、化合物II转化产物和不加新月弯孢霉的空白对照样品点样于硅胶预制板,氯仿-甲醇-水(70:15:2)展开,挥干后喷10%硫酸乙醇溶液,110℃下加热显色。

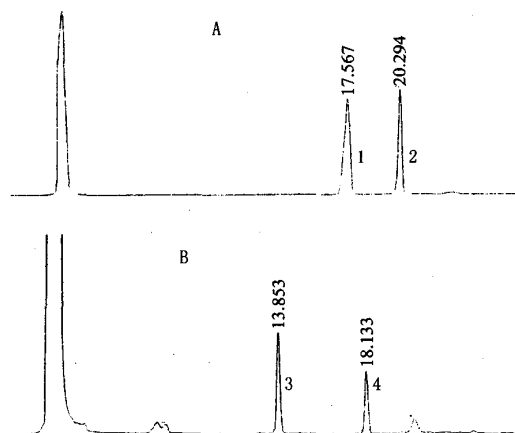
2.5.2 HPLC检测:将转化产物粗品用甲醇溶解后滤过,HPLC分析。流动相梯度洗脱,条件为:0~9 min,甲醇-水(80:20);9~16 min,甲醇-水(90:

10);16~20 min,甲醇-水(95:5);22 min以后,甲醇-水(80:20)。

3 结果与讨论

3.1 TLC分析结果:两种底物,即化合物I、化合物II的酶解反应均有新的斑点产生,而不加微生物的空白对照均没有新的斑点;结果显示,两种主要转化产物的极性小于底物,大于相应的皂苷元。说明化合物I和II在转化过程中发生了变化,有新的化合物产生。

3.2 HPLC分析结果:见图2。化合物I为底物时,化合物III为主要转化产物。化合物II为底物,化合物IV为主要转化产物。主要转化产物(化合物III和IV)的极性较底物小,说明可能是由新月弯孢霉选择性水解底物(化合物I和II)的糖基而产生的新化合物。



1-化合物I(重楼皂苷V) 2-化合物III(重楼皂苷V转化产物)
3-化合物II(重楼皂苷VI) 4-化合物IV(重楼皂苷VI转化产物)
1-compound I (polyphyllin V) 2-compound III
(products of polyphyllin V) 3-compound II (polyphyllin VI)
4-compound IV (products of polyphyllin VI)

图2 化合物I(A)和II(B)转化后的HPLC图谱
Fig. 2 HPLC of biotransformation of compounds
I (A) and II (B)

3.3 转化产物的分离:将两种转化产物粗品分别进行C₁₈开放柱柱色谱分离,用不同体积分数的丙酮水溶液梯度洗脱,其中化合物I转化产物的43~45份(70%丙酮部分)和化合物II转化产物的31~35份(60%丙酮部分)分别合并,减压浓缩,冰干,得单体化合物III和IV。

3.4 结构鉴定:化合物III:无色针状结晶(EtOH),易溶于吡啶,可溶于甲醇、乙醇。Liebermann-Burchard、Molish反应呈阳性,表明该化合物为甾体皂苷。FAB-MS(*m/z*):577.3(M+H)⁺,415.2(M+H-162),397.2(M+H-H₂O-162),表明化合物

Ⅲ只含有一个六碳糖; $^1\text{H-NMR}$ δ : 0.68(3H, d, $J=5.7$ Hz, CH_3 -27), 0.82(3H, s, CH_3 -18), 1.05(3H, s, CH_3 -19), 1.13(3H, d, $J=7.0$ Hz, CH_3 -21)为苷元上4个甲基质子的特征化学位移, δ : 5.23(1H, d, $J=7.7$ Hz)为糖的端基质子的化学位移, 且为 β -苷键连接, δ : 5.42(1H, br s, H-6)为5、6位双键中6位氢的化学位移; $^{13}\text{C-NMR}$ 的数据见表1。以上数据与文献报道的薯蓣皂苷元-3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷数据相同^[5]。

表1 化合物Ⅲ和Ⅳ的 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据Table 1 $^{13}\text{C-NMR}$ Spectral data of compounds Ⅲ and Ⅳ

碳位	薯蓣皂苷元 -3- O - β -D-吡喃 葡萄糖苷 ^[5]	化合物 Ⅲ	偏诺皂苷元 -3- O - β -D-吡喃 葡萄糖苷 ^[6]	化合物 Ⅳ
1	37.5	37.5	37.5	37.7
2	30.2	30.4	30.3	30.3
3	78.5	78.2	78.5	78.4
4	39.3	39.0	39.4	39.1
5	141.0	140.8	140.9	141.0
6	121.7	121.8	121.8	121.8
7	32.2	32.3	32.4	32.5
8	31.7	31.7	31.8	31.9
9	50.3	50.3	50.2	50.4
10	37.1	37.2	37.1	37.3
11	21.1	21.1	21.0	21.1
12	39.9	39.9	32.1	32.1
13	40.5	40.5	45.1	45.1
14	56.7	56.7	53.1	53.2
15	32.0	32.2	32.3	32.5
16	81.1	81.1	90.1	90.3
17	62.9	62.9	90.1	90.2
18	16.4	16.3	17.2	17.2
19	19.4	19.4	19.4	19.5
20	42.0	42.0	44.8	44.9
21	15.0	15.0	9.8	9.5
22	109.3	109.3	109.8	109.9
23	30.2	30.6	32.1	32.1
24	29.3	29.3	28.8	28.9
25	30.6	30.6	30.4	30.5
26	66.9	66.9	66.7	66.9
27	17.3	17.3	17.3	17.3
Glc-3				
1	102.6	102.5	102.4	102.6
2	75.3	75.5	75.2	75.4
3	78.4	78.2	78.5	78.4
4	71.7	71.8	71.7	71.7
5	78.1	78.2	78.0	78.1
6	62.9	62.7	62.8	62.9

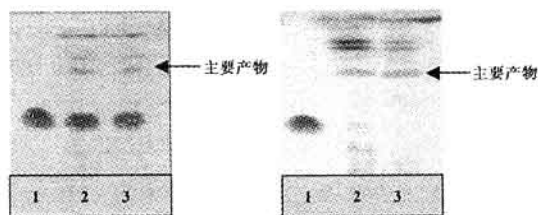
化合物Ⅳ: 无色针状结晶(EtOH), 易溶于吡啶, 可溶于甲醇、乙醇。Liebermann-Burchard、Molish反应呈阳性, 表明为甾体皂苷类化合物。FAB-MS(m/z): 593.2($M+H$)⁺, 575.2($M+H-H_2O$), 431.2($M+H-162$), 413.2($M+H-H_2O-162$),

表明化合物Ⅳ只含有一个六碳糖, 且比化合物Ⅲ多一活泼羟基; $^1\text{H-NMR}$ δ : 0.67(3H, d, $J=5.7$ Hz, CH_3 -27), 0.93(3H, s, CH_3 -18), 0.95(3H, s, CH_3 -19), 1.22(3H, d, $J=7.14$ Hz, CH_3 -21)为苷元上4个甲基质子的特征化学位移, δ : 5.03(1H, d, $J=7.69$ Hz)为糖的端基质子的化学位移, 且为 β -苷键连接, δ : 5.29(1H, br s, H-6)为5、6位双键中6位氢的化学位移, $^{13}\text{C-NMR}$ 的数据见表1。数据与文献报道偏诺皂苷元-3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷数据相同^[6]。

通过结构鉴定确定, 两种主要转化产物分别为底物选择性去掉3-位末端鼠李糖基的薯蓣皂苷元-3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷和偏诺皂苷元-3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷。

3.5 转化条件及萃取方法的优化

3.5.1 不同液体培养基比较: 选用2种培养基, 即培养基(1)、培养基(2), 在相同培养条件下进行对比试验, TLC分析结果显示, 采用培养基(1)转化产物的转化率大约为底物的15%左右(图3), 而采用培养基(2), 底物几乎完全被转化(图3)。



1-化合物Ⅰ 2-化合物Ⅰ转化产物 3-化合物Ⅱ转化产物
1-compound Ⅰ 2-transformed products of compound Ⅰ
3-transformed products of compound Ⅰ

图3 培养基(1)和(2)转化的化合物Ⅰ和Ⅱ的TLC图谱

Fig. 3 TLC of transformed compounds Ⅰ and Ⅱ by media (1) and (2)

3.5.2 不同萃取方法比较: 同底物、同菌株、相同培养条件下平行实验, 分别采用萃取方法2.4项下提取转化产物, HPLC分析, 将转化产物与底物相比较, 以转化产物的转化率为指标, 结果3种方法的转化率分别为18.3%、2.3%、40.2%, 表明2.4.3项下方法所得产物转化率最高。

4 讨论

通过薄层色谱、液相色谱和结构鉴定结果可看出, 微生物新月弯孢霉(3.4381)能将化合物Ⅰ和ⅡC-3位末端的鼠李糖基水解掉, 转化为相应的单糖基皂苷, 即薯蓣皂苷元-3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷和偏诺皂苷元-3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷。同时, 通过对培养基、萃取方法的筛选、优化, 提高了转化率。

本实验室在此基础上, 同时又选择了3位末端

具有鼠李糖的3种甾体皂苷,即重楼皂苷Ⅰ、重楼皂苷Ⅱ、纤细薯蓣皂苷作为底物,采用新月弯孢霉(3.4381)进行生物转化研究,初步实验结果表明,该菌株具有水解末端鼠李糖的能力,且选择性较高。目前,进一步的研究工作正在进行。

本实验首次发现了 *C. lunata* (3.4381) 对甾体皂苷的 C-3 位糖链末端糖基的选择性水解活性,为甾体皂苷去糖基衍生物的制备提供了有力工具,也为拓宽该菌株的应用范围提供了依据。

References:

[1] Zheng H Z, Dong Z H, She J. *Modern Study and Application of Chinese Materia Medica* (中药现代研究与应用) [M]. Vol

4. Beijing: Xueyuan Press, 1998.

[2] Tang H F, Zhao Y P, Jiang Y P. Survey of studies on genus *Paris* (*Paris* L.) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(12): 839-842.

[3] Wilzmanska D, Milcazarek K, Rumijowska A, et al. Elimination of byproducts in 11 β -hydroxylation of substance S using *Curculatula lunata* clons regenerated from NTG-treated protoplasts [J]. *Appl Microbio Biotechnol*, 1992, 37(5): 626-630.

[4] Chen K C, Wey H C. 11 β -Hydroxylation of cortexolon by *Curculatula lunata*. [J]. *Enzyme Microb Technol*, 1990, 12(4): 305-308.

[5] Agrawal P K, Jain D C, Gupta R K, et al. Carbon-13-NMR spectroscopy of steroidal sapogenins and steroidal saponins [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(11): 2479-2496.

[6] Mahato S B, Niranjana P, Ganguly A N. Steroidal saponins from *Dioscorea floribunda*; structures of floribunda saponins A and B [J]. *Phytochemistry*, 1981, 20(8): 1943-1946.

南板蓝根的化学成分研究

吴煜秋, 钱斌, 张荣平*, 邹澄, 刘光

(昆明医学院药学院, 云南 昆明 650031)

南板蓝根为中国华南和西南地区的常用中药,来源于爵床科马蓝属植物马蓝 *Strobilanthes cusia* (Nels) Bremk. 的根及根茎(茎)。《中国药典》自1995年版起将其作为新增中药品种收载。南板蓝根性寒、味苦,归心、胃经,具有清热解毒凉血的功效,用于温病发斑,丹毒,流感,流脑等。南板蓝根的化学成分报道有白桦脂醇、羽扇豆醇、羽扇烯酮和大黄酚等^[1,2]。笔者目前从石油醚部分得到3个甾醇类化合物和1个三萜类化合物,分别鉴定为豆甾醇-5,22-二烯-2 β -3 β ,7 β -二醇(I)、豆甾醇-5,22-3 β ,7 α -二烯-2 β -3 β ,7 β -二醇(II)、 β -谷甾醇(III)和羽扇烯酮(IV)。其中前两个化合物系首次从南板蓝根中得到,也未见其在南板蓝根来源植物马蓝中报道过。有关文献报道这两个化合物具有一定的抗肿瘤活性^[3]。

化合物 I: 白色粉末,在 Liebermann-Burchard 反应中呈现红 $\rightarrow$ 紫 $\rightarrow$ 蓝 $\rightarrow$ 绿等颜色变化,示为甾体类化合物, TLC 显蓝色斑点(15%硫酸)。¹³C-NMR 谱中显示有 29 个碳信号, DEPT 谱表明它们为 6 个甲基(δ 12.3, 19.4, 21.5, 21.5, 20.2 和 12.6), 8 个亚甲基, 12 个次甲基(包括两个羟基碳 δ 72.1 和 73.8 和 3 个双键碳 δ 127.4, 139.8, 130.6) 和 3 个季碳(包括一个双键碳 δ 144.1)。结合 EI-MS 所提供的相对分子质量 428, 可推断化合物 I 分子式为

C₂₉H₄₈O₂, 6 个不饱和度分别被 2 个双键和甾醇的 4 个骨架环所承担。¹H-NMR 谱特征的 δ 0.71 和 1.05 归属为 C-18 和 C-19 两个角甲基的氢信号, δ 0.85 (3H, d, J =6.6 Hz) 和 0.81 (3H, d, J =6.6 Hz) 归属为 C-26 和 C-27 两个偕甲基的氢信号, 同时 δ 5.29 (1H, t, J =2.0 Hz, H-6) 及 δ 5.03 (1H, dd J_1 =15, J_2 =8.5 Hz, H-23) 和 δ 5.17 (J_1 =15, J_2 =8.5 Hz) 确认了两组双键的存在, 并提示有 1 组双键为反式结构。对照文献报道^[4,5], 进一步确认化合物 I 为豆甾醇-5,22-二烯-3 β ,7 β -二醇。

化合物 II: 白色粉末, Liebermann-Burchard 反应呈现与化合物 I 类似的颜色变化, 在 TLC 中与化合物 I 蓝色斑点成对出现, R_f 值仅相距 0.03。EI-MS 给出与化合物 I 相同的相对分子质量 428。将化合物 II 的光谱数据与化合物 I 进行比较发现, 两者结构类型十分相似, 可能互为异构体。在 ¹³C-NMR 谱中观察到 C-7 向高场位移 Δ 7.9, 推断两者不同之处在于 C-7 位的羟基构型。C-6、C-8、C-9 分别向高场位移 Δ 2.4, 2.7, 4.1 也证实了 C₇-OH 立体构型的改变。对照文献报道^[4,5], 进一步确认化合物 II 为豆甾醇-5,22-二烯-3 β ,7 α -二醇, 它和化合物 I 互为对映异构体。

1 仪器和材料

收稿日期: 2004-10-28

作者简介: 吴煜秋(1979—), 女, 江苏南京人, 硕士研究生, 主要方向为中药的化学成分研究。

* 通讯作者 张荣平 Tel: (0871)5338784 Fax: (0871)5338894