

4 讨论

从上述分析结果可以看出,根皮的脂肪酸量高达 83.65%,主要以棕榈酸、硬脂酸、油酸和亚油酸为主,其他 16 种非脂肪酸成分总量只有 8.29%,而且各个化合物量均未超过 1%。根芯中 7 种脂肪酸仅占总量的 23.21%,而且除邻苯二甲酸二丁酯和 1,2-苯二甲酸二异辛酯 2 种脂肪酸与根皮中的脂肪酸相同外,其余 5 种成分也完全不同;22 种非脂肪酸成分总量高达 51.60%,而且与根皮中的非脂肪酸成分完全不同,主要以烃类化合物和醇类为主。以上结果表明巴戟天根皮和根芯中的脂溶性成分差别较大。

医学研究表明,不饱和脂肪酸有明显降低血清胆固醇的作用,进而降低高血压、心脏病及中风等疾病的发病率^[9,10]。巴戟天根皮中含有较高的不饱和脂肪酸油酸和亚油酸,具有较高的医疗保健作用,但是根芯中却不含这些不饱和脂肪酸,这表明传统中药巴戟天的根皮部相对具有较高的应用前景和开发价值。因此,在巴戟天的开发和利用中,可根据所需成分考虑通过部位提取来提高提取效率。

References:

- [1] State Administration of Traditional Chinese Medicine Traditional Chinese Medicine Board *Traditional Chinese Medicine* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Press, 1999.
- [2] National Group prepared Chinese Traditional Herb Drug Medicine Series. *National Chinese Traditional Herb Drugs Series* (全国中草药汇编) [M]. Beijing: People's Medical Press, 1975.
- [3] Zhou F X. Studies on the chemical constituents of *Morinda officinalis* How. [J]. *Bull Chin Mater Med* (中药通报), 1986, 11(9): 554.
- [4] Wang Y F, Wu Z H, Zhou X Y, et al. Chemical constituents of *Morinda officinalis* How. [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1986, 28(5): 556.
- [5] Yoshikawa M, Yamaguchi S, Nishisaka H, et al. Chemical constituents of Chinese natural medicine, *Orindae Radix*, dried roots of *Morinda officinalis* How; structures of morindolide and morofficaloside [J]. *Chem Pharm Bull*, 1995, 43(9): 1462.
- [6] Cui C B, Yang M, Yao Z W, et al. Studies on the antidepressant active constituents in the roots of *Morinda officinalis* How. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1995, 20(1): 36.
- [7] Li S. Studies on the chemical constituents of Chinese medicine *Morinda officinalis* How. [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1988, 10(10): 33.
- [8] Liu W W, Gao Y Q, Liu J H, et al. Determination of chemical constituents of the volatile oil from *Radix Morindae Officinalis* [J]. *Biotechnology* (生物技术), 2005, 15(6): 59-61.
- [9] Wu G X, Li Y X, Chen M Y, et al. Determination of fatty acid composition in *Phyllanthus emblica* seed oil by GC-MS [J]. *J Chin Med Pharmacol* (中医学报), 2003, 31(6): 21-24.
- [10] Zheng J X. *The Production of Functional Food* (功能性食品) [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1995.

Fusarium sacchari 转化三七茎叶皂苷的稀有抗肿瘤成分

韩颖¹, 姜彬慧¹, 胡筱敏¹, 赵余庆^{2*}

(1. 东北大学资源与土木工程学院, 辽宁 沈阳 110004; 2. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016)

大量现代药理研究证实,五加科植物如人参、三七、西洋参等的摄入对抑制肿瘤的生长具有明显的作用,且这些植物的抗癌活性是通过其体内含有的特殊活性成分——达玛烷型三萜皂苷中的稀有次生皂苷成分实现的^[1,2],如人参皂苷 Rg₃、人参皂苷 Rh₂、人参皂苷 C-K 和原人参二醇等。利用生物转化技术对人参皂苷的结构进行转化,既可以保持原有皂苷母核的结构不变,又可以获得活性更高的次生皂苷。本研究已经从种植人参的土壤中分离、筛选出一种活性菌株,经鉴定为芽孢杆菌,三七叶皂苷经其转化后可生成人参皂苷 C-K 和少量的 20(S)-原人参

二醇^[3]。在近期的实验中又获得一种稀有菌种和活性菌株,经中国科学院微生物研究所张向民研究员鉴定为 *Fusarium sacchari*,其对三七茎叶皂苷具有极强的转化作用。转化后的产物通过硅胶、凝胶及制备液相色谱进行分离,得到 4 个单体化合物,通过理化常数测定和光谱数据分析,分别鉴定为 20(S)-原人参二醇(PPD, I)、20(S)-原人参二醇-20-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(C-K, II)、20(S)-原人参二醇-20-O-β-D-吡喃木糖苷(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷(Mx, III)、20(S)-原人参二醇-20-O-α-L-呋喃阿拉伯糖基(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷(Mc, IV),均为达玛烷型

收稿日期:2007-01-26

基金项目:辽宁省自然科学基金资助项目(20062031,20062069)

* 通讯作者 赵余庆 Tel:(024)23986522 E-mail:zyq4885@126.com

二醇组稀有抗肿瘤皂苷^[4~6]。

1 材料与方法

1.1 菌株:从辽宁省新宾市人参栽培基地种植人参的土壤中分离获得,经中国科学院微生物研究所张向民研究员鉴定为甘蔗镰孢 *F. sacchari*。

1.2 药品及试剂:三七茎叶皂苷(质量分数>80%);薄层色谱硅胶 G 和柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂);Pharmadex LH-20 (Manufacture by Amersham Pharmacia Biotech);其他所用试剂均为分析纯。

1.3 转化产物的制备:250 mL 的三角瓶中加入 100 mL PDA 培养基,灭菌后接入 *F. sacchari*,于 160 r/min、28~30 °C 气浴振荡器中培养,3 d 后再加入 5 mL 150 mg/mL 无菌三七茎叶皂苷水溶液同样条件下继续培养,7 d 后取出培养液,滤过菌体,滤出液用水饱和正丁醇进行萃取,萃取液减压回收、浓缩,得到总转化产物。

1.4 转化产物的分离:在产物分离过程中,用薄层色谱法进行检测。将样品点于薄层板上用展开剂展开,挥干溶剂,喷 10% 硫酸乙醇溶液于 105 °C 显色。

将样品按上述方法先用硅胶柱色谱法进行分离。合并的 10~15 和 47~67 流份经硅胶及凝胶柱分离纯化后得到化合物 I 和 II;流份 36~60 经硅胶和凝胶分离纯化后,再用制备液相进行分离(检测波长:203 nm;体积流量:3.0 mL/min;流动相:甲醇-水 88:22),得到化合物 III 和 IV。

2 结构鉴定

化合物 I:白色针晶(EtOAc),醋酐-硫酸反应呈红色。mp 197~198 °C,¹³C-NMR (pyridine-*d*₅, 300 MHz)给出 30 个碳信号,3 个连羟基碳信号分别为 δ 78.0 (C-3)、71.0 (C-12) 和 73.0 (C-20)。¹³C-NMR 数据见表 1;与文献报道^[6]的 20(*S*)-原人参二醇数据一致。与原人参二醇对照品共薄层,Rf 值一致,混合熔点不下降,故确定化合物 I 为 20(*S*)-原人参二醇。

化合物 II:白色粉末状结晶(EtOH-H₂O),mp 177~178 °C,易溶于甲醇、乙醇、正丁醇、吡啶等,难溶于水。醋酐-硫酸反应呈红色。¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 300 MHz) δ : 0.87 (3H, s, CH₃-19), 0.91 (3H, s, CH₃-18), 0.93 (3H, s, CH₃-30), 0.99 (3H, s, CH₃-29), 1.58 (6H, s, CH₃-26, 27), 1.61 (3H, s, CH₃-21), 5.19 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1'-20-Glc)。¹³C-NMR 谱中在 δ 98.3 处观察到葡萄糖的 C-1 信号,并在 δ 79.5~62.5 处见到与甲基- β -D-葡萄糖吡喃糖一致的 5 个碳信号。¹³C-NMR 中除了葡萄糖信

号外,其余各峰与 20(*S*)-原人参二醇一致。

¹³C-NMR 中 C-20 位显著向低磁场位移至 δ 83.3,说明葡萄糖与 C-20 相接。¹³C-NMR 数据见表 1,与文献报道^[7]的人参皂苷 C-K 数据完全相同。与人参皂苷 C-K 对照品^[8]共薄层,Rf 值一致,混合熔点不下降。因此,确定化合物 II 为 20(*S*)-原人参二醇-20-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷,即 Compound-K (C-K),也有学者另称其为 IH-901 或 M₁。

化合物 III:白色结晶状粉末(EtOAc),mp 162.5~165 °C;¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 300 MHz) δ : 3.58 (1H, t, J = 10.5, 5.1 Hz, H-3), 0.80 (1H, d, J = 11.0 Hz, H-5), 3.99 (1H, ddd-like, H-12), 5.30 (1H, t, J = 7.1 Hz, H-24), 0.94 (3H, s, H-18), 0.87 (3H, s, H-19), 1.64 (3H, s, H-21), 1.67 (3H, s, H-26), 1.67 (3H, s, H-27), 1.21 (3H, s, H-28), 1.02 (3H, s, H-29), 0.98 (3H, s, H-30), 5.11 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1'), 5.61 (1H, J = 1.7 Hz, H-1'');¹³C-NMR (pyridine-*d*₅, 300 MHz) δ : 98.1 和 105.9 处观察到吡喃葡萄糖和吡喃木糖的端基信号,其余的糖基信号分别为 δ 74.9 (C-2'), 79.4 (C-3'), 71.6 (C-4'), 77.0 (C-5'), 70.2 (C-6'), 74.2 (C-2''), 77.0 (C-3''), 71.1 (C-4''), 67.0 (C-5'')。其余各峰与 20(*S*)-原人参二醇一致。¹³C-NMR 数据见表 1,与文献报道^[4]的 Compound-Mx (C-Mx) 数据一致,故确定化合物 III 为 20(*S*)-原人参二醇-20-*O*- β -D-吡喃木糖苷(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷,即 Compound-Mx。

化合物 IV:白色结晶状粉末(EtOAc),mp 181~183 °C。¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 300 MHz) δ : 0.87 (3H, s, CH₃-19), 0.92 (3H, s, CH₃-18), 0.98 (3H, s, CH₃-30), 1.02 (3H, s, CH₃-29), 1.21 (3H, s, CH₃-28), 1.60 (3H, s, CH₃-26), 1.62 (3H, s, CH₃-27), 1.65 (3H, s, CH₃-21), 5.12 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1'-20-Glc), 5.65 (1H, d, J = 1.7 Hz, H-1''-6'-Araf)。¹³C-NMR 中在 δ 98.1 和 110.2 处两个糖的端基信号分别为吡喃葡萄糖和呋喃阿拉伯糖 C-1 的信号。在 δ 86.1~62.7 处见到与三七皂苷-Fe 中相同的 C-20-*O*- α -L-吡喃葡萄糖(6 $\rightarrow$ 1)- α -L-呋喃阿拉伯糖信号。其余各峰与 20(*S*)-原人参二醇一致。¹³C-NMR 中 C-20 位显著向低磁场位移至 δ 83.4,说明葡萄糖与 C-20 相接。¹³C-NMR 数据见表 1,与文献报道^[5]的人参皂苷 Mc 数据完全相同。与人参皂苷 Mc 对照品共薄层,Rf 值一致,混合熔点不下降。因此,化合物 IV 被确定为 20(*S*)-原人参二醇-20-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖基(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷(人

参皂苷 Mc)。

表 1 三七茎叶皂苷 *F. sacchari* 转化产物的 ^{13}C -NMR

Table 1 ^{13}C -NMR of transformation products from saponin of *P. notoginseng* stems and leaves by *F. sacchari*

碳位	I	II	III	IV
Aglycon moiety				
1	39.4	39.4	39.5	39.4
2	28.3	28.3	28.3	28.3
3	78.0	78.3	78.2	78.1
4	39.6	39.6	39.6	39.6
5	56.4	56.4	56.5	56.4
6	18.8	18.8	18.0	18.8
7	35.2	35.2	35.3	35.2
8	40.0	40.1	40.1	40.1
9	50.5	50.3	50.4	50.3
10	36.4	37.4	36.3	37.4
11	31.0	30.8	30.8	30.9
12	71.0	70.2	70.2	70.3
13	48.6	49.5	49.5	49.5
14	51.7	51.5	51.5	51.4
15	31.4	31.0	30.8	30.9
16	26.9	26.7	26.7	26.7
17	51.7	51.6	51.7	51.7
18	16.5	16.4	16.1	16.3
19	16.3	16.1	16.1	16.1
20	73.0	83.3	83.6	83.4
21	23.0	22.4	22.3	22.4
22	35.9	36.2	36.3	36.2
23	23.0	23.2	23.2	23.2
24	126.3	125.9	126.1	126.1
25	130.7	130.9	131.1	131.0
26	25.8	25.8	25.9	25.8
27	17.7	17.8	17.5	17.9
28	28.7	28.7	28.3	28.7
29	16.1	16.4	16.4	16.4
30	17.1	17.4	17.5	17.5
20-sugar moieties				
1'		98.3	98.1	98.1
2'		75.2	74.9	75.1
3'		79.4	79.4	79.3
4'		71.7	71.6	72.2
5'		78.1	77.0	76.6
6'		62.9	70.2	68.6
1''			105.9	110.2
2''			74.2	83.4
3''			77.0	78.9
4''			71.1	86.1
5''			67.0	62.7

3 讨论

本研究首次利用从种植人參的土壤中分离出的稀有菌种 *F. sacchari* 对三七茎叶皂苷稀有抗肿瘤成分进行生物转化。镰刀霉属的菌株具有如此强的转化植物皂苷的活性尚属首次发现,也是首次在三七茎叶皂苷抗肿瘤有效活性成分的转化中应用。文献报道人參皂苷 Mx、Mc 和 C-K 都具有显著的抗肿瘤作用,均为天然存在极少或没有的达玛烷型次生皂苷。本研究通过利用 *F. sacchari* 转化三七茎叶皂苷的稀有抗肿瘤皂苷,可为三七茎叶皂苷的综合利用和抗肿瘤新药的研究提供依据,而且 *F. sacchari* 是一种极具开发价值的稀有活性菌株。

References:

- [1] Feng Y L. Panax saponin and tumor [J]. *Foreign Med Sci Oncol*, 2005, 32(9): 665-667.
- [2] Lee J Y, Shin J W, Chun K S. Antitumor promotional effects of a novel intestinal bacterial metabolite (IH-901) derived from the protopanaxadiol-type ginsenosides in mouse skin [J]. *Carcinogenesis*, 2005, 26(2): 359-367.
- [3] Han Y, Zhao Y Q, Jang B H, *et al.* Selection of the microbe for preparing the anticancer constituent C-K by the transformation of microbe [J]. *Res Inf Tradit Chin Med* (中药研究与信息), 2005, 7(2): 17-19.
- [4] He K J, Liu Y, Yang Y, *et al.* A dammarane glycoside derived from ginsenoside Rb₃[J]. *Chem Pharm Bull*, 2005, 53(2): 177-179.
- [5] Chen Y, Zhan E, Chen H. Saponins with low sugar chain from the leaves of *Panax notoginseng* (Burk.) FH Chen [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(3): 176-178.
- [6] Li X W, Jin Y R, Gui M Y, *et al.* Preparation of antitumor compound-20(S)-protopanaxadiol by the method of alkali catalyzing degradation [J]. *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 2006, 27(3): 478-481.
- [7] Hasegawa H, Sung J H, Matsumiya S, *et al.* Main ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria [J]. *Planta Med*, 1996, 62: 453-457.
- [8] Jiang B H, Zhao Y Q, Wang C Z, *et al.* Isolation and Identification of minor bioactive saponins from the leaves of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2004, 27(7): 489-491.

本刊重要启事

承蒙广大作者、读者的厚爱和大力支持,本刊稿源十分丰富,为了进一步缩短稿件刊出周期,增加信息量,本刊由 A4 开本每期 120 页扩版为 160 页,现定价为 19.80 元。

衷心感谢广大读者、作者、编委和协办单位对本刊的关心和支持,编辑部将不辜负大家的期望,与时俱进,开拓创新,为把《中草药》杂志办成知名的精品期刊而努力奋斗!

《中草药》杂志编辑部

Fusarium sacchari转化三七茎叶皂苷的稀有抗肿瘤成分

作者：[韩颖](#)，[姜彬慧](#)，[胡筱敏](#)，[赵余庆](#)
作者单位：[韩颖, 姜彬慧, 胡筱敏 \(东北大学资源与土木工程学院, 辽宁, 沈阳, 110004\)](#)，[赵余庆 \(沈阳药科大学, 辽宁, 沈阳, 110016\)](#)
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2007, 38 (6)
被引用次数：5次

参考文献(8条)

1. [Feng Y L](#) [Panax saponin and tumor](#) 2005(09)
2. [Lee J Y;Shin J W;Chun K S](#) [Antitumor promotional effects of a novel intestinal bacterial metabolite \(IH-901\) derived from the protopanaxadiol-type ginsenosides in mouse skin](#)[外文期刊] 2005(02)
3. [Han Y;Zhao Y Q;Jang B H](#) [Seleition of the microbe for preparing the anticancer constituent C-K by the transformation of microbe](#)[期刊论文]-[中药研究与信息](#) 2005(02)
4. [He K J;Liu Y;Yang Y A](#) [dammarane glycoside derived from ginsenoside Rb3](#)[外文期刊] 2005(02)
5. [Chen Y;Zhan E;Chen H](#) [Saponins with low sugar chain from the leaves of Panax notogiseng \(Burk.\) FH Chen](#) 2002(03)
6. [Li X W;Jin Y R;Gui M Y](#) [Preparation of antitumor compound-20 \(S\)-protopanaxidiol by the method of alkali catalyzing degradation](#)[期刊论文]-[高等学校化学学报](#) 2006(03)
7. [Hasegawa H;Sung J H;Matsumiya S](#) [Main ginseng sponin metabolites formed by intestinal bacteria](#) 1996
8. [Jiang B H;Zhao Y Q;Wang C Z](#) [Isolation and Identification of minor bioactive saponins from the leaves of Panax notoginseng \(Burk.\) F. H. Chen](#)[期刊论文]-[中药材](#) 2004(07)

本文读者也读过(10条)

1. [韩颖](#), [胡筱敏](#), [姜彬慧](#), [赵余庆](#), [HAN Ying](#), [HU Xiao-min](#), [JIANG Bin-hui](#), [ZHAO Yu-qing](#) [Fusarium sacchari对三七茎叶中有效成分生物转化条件的优化](#)[期刊论文]-[应用生态学报](#)2007, 18(12)
2. [丁之恩](#), [严平](#), [Ding Zhien](#), [Yan Ping](#) [西洋参茎叶总皂甙的提取分离研究](#)[期刊论文]-[经济林研究](#)2000, 18(1)
3. [马晓宁](#), [赵余庆](#) [西洋参地上部分化学成分与综合利用研究进展](#)[会议论文]-2007
4. [梁伟](#), [孙铁民](#), [金雨](#), [李春玲](#), [周波](#) [西洋参茎叶总皂苷制取人参皂苷Rh2的应用研究](#)[期刊论文]-[中医药学刊](#) 2004, 22(5)
5. [柴瑞华](#), [姜彬慧](#), [赵余庆](#), [Chai Ruihua](#), [Jiang Binhui](#), [Zhao Yuqing](#) [三七茎叶总皂苷酶转化产物和C-K的抗肿瘤作用](#)[期刊论文]-[中国现代中药](#)2007, 9(12)
6. [彭义交](#), [刘宗林](#) [西洋参茎叶功能成分的提取及均方分析](#)[会议论文]-2003
7. [韩颖](#) [土壤微生物转化三七茎叶资源化利用的研究](#)[学位论文]2008
8. [许传莲](#), [郑毅男](#), [崔淑玉](#), [胡洪来](#), [李想](#) [RP-HPLC法测定西洋参茎叶中6种人参皂苷的含量](#)[期刊论文]-[吉林农业大学学报](#)2002, 24(3)
9. [卢丹](#), [刘金平](#), [赵莹](#), [李平亚](#) [热分析方法研究人参皂苷Rg3对映异构体的热特征](#)[期刊论文]-[中草药](#)2005, 36(5)
10. [赵术卓](#) [西洋参茎叶的有效成分是西洋参根中含量的两倍, 请关注西洋参茎叶的开发利用](#)[期刊论文]-[北京农业](#) 2001(4)

引证文献(5条)

1. [Fusarium sacchari转化三七茎叶皂苷中新化合物的分离和鉴定](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2009(12)

2. [王青](#), [袁萍](#), [茅仁刚](#), [王菊勇](#), [郑展](#) [转化三七提取物为人参皂苷Rg3的真菌分离鉴定](#)[期刊论文]-[华东师范大学学报\(自然科学版\)](#) 2011(6)
3. [徐晓军](#), [石淑文](#), [汤永民](#), [沈红强](#), [钱柏芹](#) [人参皂苷Rh2抗白血病多药耐药细胞K562/VCR作用研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2010(7)
4. [刘慧敏](#), [陈道金](#), [杨静](#), [朴香兰](#) [皂苷类微生物转化研究进展](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2013(7)
5. [赵方允](#), [陈自宏](#), [虞泓](#), [曾文波](#) [微生物转化人参皂苷研究进展](#)[期刊论文]-[中国医药生物技术](#) 2010(3)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706013.aspx