

[2] Pardhy R S, Bhattacharyya S C. Tetracyclic triterpene acids from the resin of *Boswellia serrata* Roxb. [J]. *Indian J Chem*, 1978, 16B: 174-175.

[3] Parhy R, Bhattacharyya S C. Structure of serratol, a new diterpene cembranoid alcohol from *Boswellia serrata* Roxb. [J]. *Indian J Chem*, 1978, 16B: 176-178.

密叶新木姜果实中的挥发油化学成分研究

欧阳胜¹, 谢 平¹, 杨世林², 冯育林^{1*}, 阎 彦^{1**}

(1. 江西中医学院 中药化学教研室, 江西 南昌 330004; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330077)

密叶新木姜 *Neolitsea confertifolia* (Hemsl.) Merr. 为樟科新木姜子属植物, 主要分布于江西、广东、湖北、贵州等地^[1]。具有散寒止痛、活血通络的功效。其叶或果实用于治疗脘腹冷痛、疮疡肿毒、跌打损伤、痛经及食积气胀等, 对该属其他种植物, 台湾省及国外曾分离得到了挥发油类、生物碱类、萜类、甾体类、黄酮类和有机酸类等化合物^[2-3], 但是到目前为止, 有关密叶新木姜果实中挥发油化学成分的研究尚未见报道, 在对密叶新木姜果实中活性及其质量标准研究中, 为进一步寻找和确证有效活性成分, 采用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)对密叶新木姜果实中挥发油进行了分析研究。

1 实验部分

1.1 实验材料: 密叶新木姜果实由崇义高山药材生物技术公司提供, 经江西中医学院中药鉴定教研室刘庆华老师鉴定为樟科新木姜子属植物密叶新木姜 *N. confertifolia* (Hemsl.) Merr. 的干燥果实。

1.2 密叶新木姜果实挥发油的提取: 取密叶新木姜果实1 000 g, 65 ℃恒温干燥箱中干燥后, 碾碎, 过20目筛, 分批于挥发油提取器中, 按《中国药典》2005年版挥发油测定法操作规定, 进行水蒸气蒸馏, 蒸馏时间12 h, 水层氯化钠饱和后, 用乙醚萃取。醚层经无水 Na_2SO_4 干燥后, 蒸去乙醚, 得到2.17 g 淡黄色油状液体, 得率为0.22%, 供分析用。

1.3 仪器与GC-MS工作条件: 美国Finnigan公司TRACE GC-MS气相色谱-质谱联用仪。色谱柱为HP(130 m×0.25 mm)弹性石英毛细管柱; 载气为高纯氮气; 柱前压: 60 kPa; 进样方式: 分流进样, 分流比70:1; 柱温: 初温60 ℃, 恒温3 min, 以5 ℃/min的速率升温到240 ℃, 然后保持5 min。GC-MS

接口温度280 ℃, EI离子流, 四极, 温度150 ℃, 离子源温度230 ℃, 倍增器电压1 500 V, 进样量0.5 μL; 标准质谱图库Wiley 275.1。

2 结果与讨论

2.1 结果: 通过计算机质谱库检索, 各成分的质谱图与标准图谱对照, 用色谱峰面积归一化法计算各组分的质量分数, 共分离鉴定了27个化合物, 测定结果如表1。

表1 密叶新木姜果实中挥发油成分的GC-MS分析检验结果

Table 1 GC-MS Analysis of volatile oil in fruit of *N. confertifolia*

序号	化学成分	质量分数/%	序号	化学成分	质量分数/%
1	崖柏烯	0.71	15	1-萜品醇	0.41
2	α -蒎烯	2.43	16	4-萜品醇	20.96
3	蒎烯	0.68	17	α -萜品醇	0.53
4	桉烯	29.44	18	四甲苯	0.10
5	β -蒎烯	5.07	19	苯乙醇	0.06
6	α -水芹烯	0.10	20	乙酸龙脑酯	0.23
7	α -萜品烯	3.14	21	橙花醇乙酸酯	0.07
8	顺-罗勒烯	10.68	22	辛酸香叶酯	0.16
9	反- β -罗勒烯	5.03	23	槐香烯	0.14
10	γ -萜品烯	5.09	24	β -石竹烯	0.11
11	反-桉烯	0.18	25	反- β -法尼烯	1.75
12	(+)-2-萜烯	2.87	26	大牻牛儿烯-D	0.45
13	顺-桉烯	0.15	27	橙花叔醇	0.18
14	2-环己基-1-醇	0.69			

2.2 讨论: 密叶新木姜果实挥发油中多数为单萜、倍半萜及其含氧衍生物。所鉴定出成分的量占挥发油总量的91.41%。质量分数较大的成分有桉烯(29.44%)、 β -蒎烯(5.07%)、顺-罗勒烯(10.68%)、反- β -罗勒烯(5.03%)、 γ -萜品烯(5.09%)、4-萜品醇(20.96%)。本实验首次用GC-MS法对密叶新木姜

收稿日期: 2007-03-18

基金项目: 江西省卫生厅中医药科研基金项目(2002A25)

作者简介: 欧阳胜(1968-), 女, 江西省南昌市人, 副教授, 硕士生导师, 长期从事中药化学的教学、科研工作。

Tel: (0791)7118992 E-mail: www.ouyangsheng2003@yahoo.com.cn

* 通讯作者 冯育林 江西省南昌市金盆路24号4-2-102信箱(330002), 2003级博士研究生

** 阎彦 2005级硕士研究生

挥发油成分进行研究,对深化其化学成分系统研究具有一定的意义。

References:

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edits. *Florae Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 31. Beijing: Science Press,

1999.

- [2] Lee S S, Wang P H. Isoquinoline alkaloids from *Litsea garci-ae* and *Neolitsea villosa* [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 1995, 47(1): 69-75.
- [3] Gunatilaka A A L, Sotheeswaran S. Isoboline and lupenone from *Neolitsea fuscata* [J]. *Planta Med*, 1981, 43(3): 309-310.

黄柏酮微生物转化研究

杨若林^{1,2}, 郑桂兰¹, 张荣庆¹

(1. 清华大学 生物系 海洋生物技术研究所, 北京 100084; 2. 上海第二医科大学 化学教研室, 上海 200025)

微生物转化是指利用微生物代谢过程中产生的酶催化底物发生化学反应, 又称为微生物酶法转化, 可直接应用微生物, 也可用从微生物中提取的酶作为催化剂。目前微生物转化已应用于多种药物如抗生素、维生素、甾体激素、氨基酸、芳基丙酸和前列腺素等的合成^[1]。用微生物转化可以催化底物与氧气、水等发生化学反应。与传统的有机反应相比, 微生物转化具有底物特异性高, 产物立体选择性强, 反应条件温和、无污染等特点。近年来, 对天然产物进行微生物转化成为结构修饰的辅助手段, 也是获取新化合物从而筛选具有生物活性化合物的一种方法^[2~4]。

柠檬苦素类化合物(limonoids)是三萜类植物次生代谢产物, 主要分布于芸香科和楝科植物中, 尤其在柑橘属植物中的量较为丰富。同时, 柠檬苦素类化合物也是多种中药如白鲜皮、吴茱萸、川黄柏等的活性成分。黄柏酮(obacunone)是白鲜皮中量较高的一个柠檬苦素类化合物, 可使昆虫产生拒食行为^[5], 并能增强具有抑制微管作用的抗肿瘤药(如长春新碱)的活性^[6]。为了研究微生物对柠檬苦素类化合物的转化作用, 本研究应用黑曲霉等真菌对黄柏酮进行了转化试验。结果表明雅致小克银汉霉在培养温度低于30℃时可以催化黄柏酮的结构转化, 使其C-11位被羟基化, 见表1。含有转化产物的发酵液经醋酸乙酯萃取, 再经硅胶柱色谱分离, 得到化合物I。

1 实验部分

1.1 仪器与材料: 白鲜皮购于北京同仁堂药店清华大学分店; 微生物转化所用真菌购于中国科学院微生物所菌种保藏中心; 熔点用X-4型显微熔点仪测定; 质谱用Esquire-LC 00136测定; 红外用Perkin-Elmer Spectrum GX测定; 核磁用ARX 400

表1 用于黄柏酮微生物转化初筛的真菌

Table 1 Fungi used for preliminary screening for microbial transformation of obacunone

微生物	代谢产物
黑曲霉(<i>Aspergillus niger</i> AS 3.421)	—
雅致小克银汉霉(<i>Cunninghamella elegans</i> AS 3.156)	+
黄色镰孢(<i>Fusarium culmorum</i> AS 3.4595)	—
梨形毛霉(<i>Mucor piriformis</i> AS 3.3442)	—
产黄青霉(<i>Penicillium chrysogenum</i> AS 3.3871)	—
常见青霉(<i>Penicillium frequentans</i> AS 3.2556)	—
少根根霉(<i>Rhizopus arrhizus</i> AS 3.3457)	—

核磁仪测定(TMS为内标); 色谱硅胶为青岛海洋化工厂生产, 其他试剂均为分析纯。

1.2 黄柏酮的分离: 白鲜皮药材(3 kg)用醋酸乙酯回流提取3次, 提取液减压蒸除溶剂, 浸膏(90 g)经硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱, 在石油醚-醋酸乙酯(1:1)洗脱时得到化合物黄柏酮。

1.3 培养基配制: 去皮马铃薯200 g切成小块, 加蒸馏水1 000 mL, 煮沸30 min, 滤去马铃薯块, 将滤液补足至1 000 mL, 加20 g葡萄糖。

1.4 转化过程: 将真菌从斜面接种到盛有100 mL无菌培养基的250 mL锥形瓶中, 振荡48 h(180 r/min)后加入黄柏酮(278 mg)的DMSO溶液, 每瓶7.6 mg(0.2 mL)。培养4 d后, 滤过菌体, 滤液用醋酸乙酯萃取3次, 合并滤液, 减压蒸除溶剂, 得到浸膏约100 mg。

1.5 转化产物分离: 将浸膏用硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱, 在石油醚-醋酸乙酯(2:1)洗脱时得到化合物I。

2 化合物鉴定

化合物I: 无色晶体, mp 270~271℃。将该化合物与黄柏酮的NMR谱(DMSO-d₆为溶剂)相比