人工蛹虫草中核苷类化学成分的研究

麻兵继[1],阮　元[1],刘吉开[2]

(1. 河南农业大学农学院中药材系,河南郑州 450002; 2. 中国科学院昆明植物研究所,云南昆明 650204)

摘要　目的:研究人工蛹虫草 *Cordyceps militaris*中核苷类化学成分。方法:建立人工蛹虫草中核苷类化合物的提取方法并用色谱水法分离各个核苷类化合物。结果:分离鉴定了 4个化合物,分别是尿嘧啶核苷 (1)、腺嘌呤核苷 (2)、鸟嘌呤核苷 (3)和酪氨酸 (4)。结论:从核苷类物质分析来看,该人工蛹虫草菌丝体中核苷类物质含量丰富,主要为化合物 1、2、3,三者总和约占菌丝体干重的 1.3%。

关键词　人工蛹虫草;菌丝体;核苷

中图分类号: R284.1/R284.2　**文献标识码**: A　**文章编号**: 1001-4454(2007)08-0957-02

Chemical Study of Nucleosides on *Cordyceps militaris*

MA Bing-ji[1], RUAN Yuan[1], LIU Ji-kai[2]

(1. Department of Traditional Chinese Medicine, Agronomy College of Henan Agriculture University, Zhengzhou 450002, China; 2. Kunming Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract　Objective: To investigate the nucleosides of *Cordyceps militaris*. Methods: The primary extract technique of nucleosides from *Cordyceps militaris* was founded, the nucleosides were isolated by chromatography. Results: Four compounds were isolated from the mycelium of *Cordyceps militaris*. They were identified as uridine (1), adenosine (2), guanosine (3) and p-tyrosine (4), respectively. Conclusion: Compounds 1, 2 and 3 are the main nucleosides in *Cordyceps militaris*.

Key words　*Cordyceps militaris*; Mycelium; Nucleosides

虫草是我国珍贵药材,对生长环境要求严格,主要分布在四川、青海、西藏、云南、贵州等地海拔 3000-4000 m以上的高山上。蛹虫草 (*Cordyceps militaris*)与冬虫夏草同属麦角菌科虫草属,我国北方民间把蛹虫草当冬虫夏草应用。核苷类物质是其主要活性成分之一,主要包括虫草素、腺苷、鸟苷、尿苷、次黄嘌呤苷及腺嘌呤等化合物。蛹虫草中核苷类物质具有舒张血管、降低血压、减慢心率、抑制血小板聚集等多种生理活性。目前,对蛹虫草中核苷类物质已经建立了薄层色谱法、高效液相色谱法和高效毛细管电泳法等多种定性定量分析方法[1,2]。本实验针对蛹虫草 (*Cordyceps militaris*)的一种人工培养菌丝体,初步研究其核苷类物质化学成分及其提取工艺,为今后的深入研究打下基础。

1　仪器与材料

熔点由四川大学科仪厂生产的 XRC-1型显微熔点仪测定,温度计未校正;质谱由 VG Auto Spec-3000质谱仪测定;核磁共振由 Bruker AM-400和 Bruker AM-500测定, TMS为内标。层析材料和薄层层析材料由青岛海洋化工厂生产;显色方法为 254、365 nm荧光、10%硫酸乙醇溶液和硫酸香草醛处理后加热显色及碘蒸气显色。

人工蛹虫草 (*Cordyceps militaris*)由刘吉开研究员提供并由中国科学院昆明植物研究所纪大干教授鉴定。标本存于中国科学院昆明植物研究所标本馆。

2　提取与分离

120 g人工蛹虫草粉碎后用 1200 ml石油醚脱脂 (600 ml ×2)。样品经干燥后用 1000 ml 80℃的热蒸馏水提取两次 (500 ml ×2),每次 2 h。合并滤液,滤液中加入 2 mol/L的 HCl溶液,直至 pH 3.5时,停止滴加,有沉淀产生,过滤,得到滤液 1。滤液 1减压浓缩至 100 ml,加入 2 g活性炭,超声振荡 1 h脱色,过滤,得到滤液 2。将滤液 2上 732-NH_4阳离子交换树脂,并用 3倍体积的 pH 3.5的盐酸平衡液固定核苷类化合物。用 2 L的蒸馏水过柱除去杂质,再换用 10%$NH_3 \cdot H_2O$洗脱液洗脱,每 50 ml收集一次,共收集到约 1000 ml洗脱液。将洗脱液浓缩至干,得到人工蛹虫草的核苷类化合物。提取线路如下:

$$\text{人工蛹虫草}\xrightarrow{\text{脱脂}}\xrightarrow{\text{热水溶解}}\text{水液}\xrightarrow{\text{调 pH约为 3.5}}\text{滤液 1}\xrightarrow{\text{活性碳}}\text{滤液 2}\xrightarrow{\text{732阳离子树脂}}\text{核苷类化合物}$$

将经柱洗脱下来的核苷类化合物的混合物上硅胶柱分离,以氯仿-甲醇-水 (7∶3∶0.25)系统洗脱,分别得到化合物 1(尿嘧啶核苷,约 450 mg,约占虫草

作者简介:麻兵继 (1975-),男,博士,主要研究方向:创新中药研发及中药质量评价; Tel: 0371-63504463, E-mail: mbj123@sina.com。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

干重的 4‰)、化合物 2(腺嘌呤核苷,约 800 mg,约占虫草干重的 6‰)、化合物 3(鸟嘌呤核苷,约 350 mg,约占虫草干重的 3‰)和化合物 4(酪氨酸,约 600 mg,约占虫草干重的 0.5‰),见图 1。

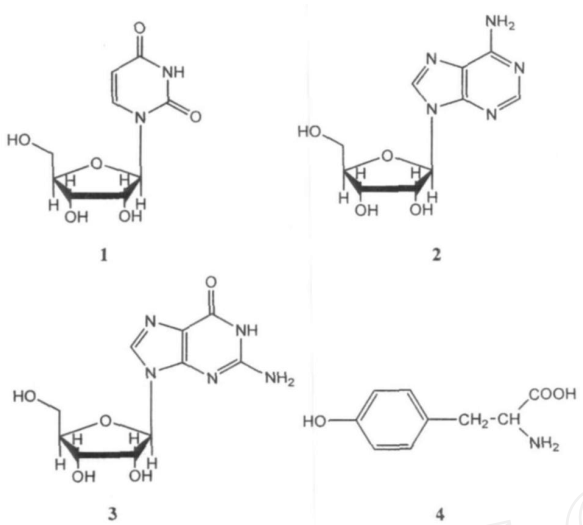

图 1 化合物 1～4的化学结构图

从核苷类物质分析来看,青海蛹虫草人工培养的菌丝体中核苷类物质含量丰富,主要为尿嘧啶核苷、腺嘌呤核苷和鸟嘌呤核苷,三者总和约占菌丝体干重的 1.3%。在本次实验中,无论用薄层层析的检测方法还是采用高效液相检测的方法,我们都未在人工蛹虫草人工培养的菌丝体中发现虫草素,基本判断该菌丝体中没有虫草素,本实验说明该菌种在人工培养条件下不产生虫草素,但适宜其它核苷类物质的产生。

3 结构鉴定

化合物 1: $C_9H_{12}N_2O_6$,白色粉末。FAB$^-$-MS m/z (%): 243 (100, [M-H]$^-$)。^{13}C-NMR (CD_3OH, 125MHz): δ163.1 (s, C-4), 150.7 (s, C-2), 140.7 (d, C-6), 101.7 (d, C-5), 87.7 (d, C-1′), 84.8 (d, C-4′), 73.5 (d, C-3′), 69.8 (d, C-2′), 60.8 (t, C-5′)。以上波谱数据与文献报道的尿嘧啶核苷[3]一致。

化合物 2: $C_{10}H_{13}N_5O_5$,白色粉末。FAB$^-$-MS m/z (%): 282 (100, [M-H]$^-$)。^{13}C-NMR (CD_3OH, 100MHz): δ156.7 (s, C-6), 153.6 (s, C-2), 151.3 (s, C-4), 135.5 (d, C-8), 116.7 (s, C-5), 86.3 (d, C-1′), 85.2 (d, C-4′), 73.7 (d, C-3′), 70.3 (d, C-2′), 61.4 (t, C-5′)。以上波谱数据与文献报道的鸟嘌呤核苷[4]一致。

化合物 3: $C_{10}H_{13}N_5O_4$,白色粉末。FAB$^-$-MS m/z (%): 266 (100, [M-H]$^-$)。^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 400MHz): δ7.62 (1H, s, H-8), 7.59 (1H, s, H-2), 6.59 (1H, br. s, NH_2); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6, 100MHz): δ151.5 (d, C-2), 151.9 (s, C-4), 116.6 (s, C-5), 154.4 (s, C-6), 139.8 (d, C-8)。波谱数据与文献报道的腺嘌呤核苷[5]一致。

化合物 4: $C_9H_{11}NO_3$,无色针晶。FAB$^-$-MS m/z (%): 180 (100, [M-H]$^-$)。^{13}C-NMR (CD_3OH, 100MHz): δ175.8 (s, C-1), 58.5 (d, C-2), 37.0 (t, C-3), 140.2 (s, C-4), 135.5 (d-C-5, 9), 117.0 (d, C-6, 8), 158.6 (s, C-7)。以上波谱数据与文献报道的酪氨酸 (p-tyrosine)[6]一致。

参 考 文 献

[1] 汪宇,于荣敏,杨光照,等. 人工培养蛹虫草子座中核苷类化合物的提取工艺研究. 中国药师, 2004, 7(12): 929-931.

[2] 侯晓蓉,栾连军,程翼宇. 冬虫夏草中核苷类成分的毛细管区带电泳定量分析研究. 中国中药杂志, 2005, 30(6): 447-450.

[3] 荣国斌,朱士正. 波谱数据表 有机化合物的结构解析. 上海:华东理工大学出版社出版, 2004: 154.

[4] 荣国斌,朱士正. 波谱数据表 有机化合物的结构解析. 上海:华东理工大学出版社出版, 2004: 155.

[5] Gao Jinming, Dong Zejun, Liu. Jikai. Constituents of the basidiomycetes *Russula cyanoxantha*. Acta Botanica Yunnanica, 2000, 22(1): 85-87.

[6] 于德泉,杨峻山. 分析化学手册 (第七册) ·核磁共振波谱分册. 第三版. 北京:化学工业出版社, 2005: 910.

(2007-01-17收稿)

售《中药材》杂志合订本

现有 1990年 (50元), 1991年 (50元), 1992年 (50元), 1995年 (70元), 1996年 (70元), 1997年 (75元), 1998年 (精装 100元), 1999年 (精装 100元), 2000年 (精装 150元), 2001年、2002年、2003年、2004年 (精装上、下册每年 180元), 2005年、2006年 (精装上、下册每年 200元)《中药材》杂志合订本。需者请汇款至《中药材》编辑部购买。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net