

秦皮化学成分的研究

刘丽梅¹,王瑞海¹,陈琳¹,吴萍¹,王丽^{2*}

(1. 中国中医研究院基础理论研究所,北京 100700; 2. 哈尔滨制药三厂,黑龙江 哈尔滨 150070)

在前报^[1]中,作者从苦枥白蜡树树皮中分离到 2 个化合物,秦皮乙素(I)和秦皮素(II),现又从该树皮中分到 3 个化合物,6,7-二甲氧基-8-羟基香豆素(III),秦皮苷(IV)和秦皮甲素(V)。化合物 III 为首次从《中华人民共和国药典》(2000年版)收录的 4 种秦皮中分得,并首次对化合物 III 的¹³C-NMR 谱数据进行了归属,化合物 IV 为首次从苦枥白蜡树树皮中分得,并首次对 IV 的¹³C-NMR 谱数据进行了归属

1 仪器与材料

熔点用 XT4 型显微熔点测定仪测定(温度计未校正),核磁共振谱用 Varian INOVA-600 型核磁共振仪测定,TMS 为内标,甲醇为溶剂,质谱用 Zab-spec Tofspec Platform-ESI 型质谱仪测定,色谱用聚酰胺为浙江省台州市四青生化材料厂生产。

实验用秦皮采自黑龙江省五常县,由中国中医研究院中药研究所谢宗万研究员鉴定为苦枥白蜡树 *Fraxinus rhynchophylla* Hance 的树皮。

2 提取与分离

取苦枥白蜡树的干燥树皮 6.5 kg,粉碎,95% 乙醇回流提取 3 次,每次 4 h,滤过,合并滤液,浓缩至稠膏状(约 0.65 kg)

2.1 取 0.4 kg 稠膏,加 5% 硫酸水溶液 1 500 mL,水解 4 h,放凉,滤过,用等体积乙醚萃取滤液 4 次,回收乙醚萃取液至少量,析出固体(约 5 g)。取固体 3 g,上聚酰胺柱,用乙醇洗脱,每份 200 mL,收集 9~14 份合并,回收溶剂至少量,放置冰箱析晶,抽滤,得浅黄棕色晶体,甲醇-水重结晶,得浅黄色针状晶体 III。

2.2 取 0.25 kg 稠膏,用 1 500 mL 水热溶,趁热抽滤,放置滤液至凉。用醋酸乙酯萃取滤液 4 次,合并萃取液,减压回收萃取液得干膏 A。继续用正丁醇萃取水溶液 4 次,合并萃取液,减压回收萃取液得干膏 B 144.9 g。取 5 g 干膏 B 上聚酰胺柱,用稀醇洗脱,每份 200 mL,收集 6~8 份,10~12 份,分别回收溶剂至少量,放置冰箱析晶。从 6~8 份得黄色针状结

晶 IV,从 9~10 份得白色针状结晶 V。

3 结构鉴定

晶 III: 浅黄色针状结晶, mp 172 °C~174 °C。FAB-MS 显示其相对分子质量为 222(M⁺-H),¹³C-NMR 谱显示该化合物有 11 个碳(δ163.9, 154.5, 149.6, 144.1, 140.9, 137.3, 112.8, 108.6, 96.0, 61.8, 57.0), δ163.9 是羰基碳信号, 61.8, 57.0 是两个甲氧基碳信号。¹H-NMR 谱显示该化合物母核上有 3 个氢(δ8.03, d, 1H, J=9.60 Hz; 6.74, s, 1H; 6.20, d, J=9.60 Hz), 两个甲氧基上有 6 个氢(δ3.95, 3.93)。根据 HSQC 谱可知, δ96.0 的碳和 δ6.74 的氢相连, δ112.8 的碳和 δ6.20 的氢相连, δ140.9 的碳和 δ8.03 的氢相连, δ57.0 的碳和 δ3.93 的氢相连, δ61.8 的碳和 δ3.95 的氢相连。

由于晶 III 和秦皮素¹³C-NMR 和¹H-NMR 谱近似,其结构也应该近似,故根据秦皮素碳氢信号的归属^[1]和晶 III 的光谱数据,可以初步归属晶 III 的碳氢信号。为了进一步确证晶 III 的结构和碳氢信号的归属,做了 HMBC 谱。在 HMBC 谱中, C₄-H(δ8.03)和 C₂(δ163.9), C₆(δ149.6), C₈(δ144.0), C₁₀(δ108.5), C₅(δ96.0) 相关; C₃-H(δ6.20)和 C₂(δ163.9), C₉(δ137.3), C₁₀(δ108.5), C₅(δ96.0) 相关; C₃-H(δ6.74)和 C₇(δ154.5), C₆(δ149.6), C₉(δ137.3), C₁₀(δ108.5) 相关。另外, C₅(δ96.0)和 δ3.93 的甲氧基氢相关,故相邻; C₈(δ144.)和 δ3.95 的甲氧基氢相关,故相邻; C₇(δ154.5)和 δ3.93 的甲氧基氢相关,故相邻。根据光谱解析经验可知,当两个甲氧基和一个羟基在苯环上相邻排列时,处于中间位置上甲氧基的碳和氢应位于低场,处于边上甲氧基的碳和氢应位于高场。综上所述,最后确定该化合物为 6,7-二甲氧基-8-羟基香豆素。

晶 IV: 黄色针状结晶, mp 205 °C~206 °C。FAB-MS 显示其相对分子质量峰。¹³C-NMR 谱显示该化合物苷元为 370(M⁺-H), 208 是去掉一个葡

* 收稿日期: 2003-01-18

基金项目: 国家重点科技攻关项目(99-929-01-24-8)

作者简介: 刘丽梅(1963-),女,哈尔滨人,副研究员,1988年毕业于黑龙江中医药大学药学院,获学士学位,主要从事中草药化学成分及制剂工艺研究。

葡萄糖的苷元部分有 10个碳 (δ 163. 6, 147. 5, 146. 4, 145. 8, 144. 3, 133. 2, 113. 0, 112. 2, 106. 1, 56. 9), δ 163. 6是羰基碳信号; δ 56. 9是甲氧基碳信号。糖部分有 6个碳 (δ 106. 1, 78. 4, 77. 8, 75. 5, 70. 9, 62. 2), δ 106. 1是端基碳信号。 $^1\text{H-NMR}$ 谱显示该化合物苷元部分有 3个氢 (δ 7. 86, d, 1H, $J= 9. 52$ Hz; 6. 97,

s, 1H; 6. 23, d, 1H, $J= 9. 34$ Hz), 糖部分端基氢为 δ 4. 97, d, 1H, $J= 7. 69$ Hz 苷元部分 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据和秦皮素的 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据^[1]近似, 晶IV的酸水解液中检出有秦皮素和葡萄糖, 可以确定晶IV是秦皮苷。晶IV的 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 光谱数据见表 1

表 1 晶III~V 的 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 数据 (CD_3OD)

Table 1 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ data of crystal III - V (CD_3OD)

碳位	晶III		晶IV 苷元部分		晶IV 糖部分		晶V 苷元部分		晶V 糖部分	
	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$
1					106. 1	4. 97(d)			104. 3	4. 83(d)
2	163. 9		163. 6		75. 5		163. 6		74. 8	
3	112. 8	6. 20(d)	113. 0	6. 23(d)	78. 4		113. 1	6. 20(d)	78. 5	
4	140. 9	8. 03(d)	146. 4	7. 86(d)	70. 9		146. 0	7. 82(d)	71. 4	
5	96. 0	6. 74(s)	106. 1	6. 97(s)	77. 8		116. 7	6. 80(s)	77. 5	
6	149. 6		145. 8		62. 2		144. 4		62. 5	
7	154. 5		147. 5				153. 2			
8	144. 1		144. 3				104. 5			
9	137. 3		133. 2				152. 5	7. 42(s)		
10	108. 6		112. 2				112. 8			
OCH_3	61. 8	3. 95								
	57. 0	3. 93								

晶V: 白色针状结晶, mp 204 $^{\circ}\text{C}$ ~ 206 $^{\circ}\text{C}$ 。FAB-MS显示其相对分子质量为 340($\text{M}^+ - \text{H}$), 179是去掉一个葡萄糖苷元峰, 硅胶薄层色谱显示该化合物和秦皮甲素的 Rf值一致 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱显示该化合物苷元部分有 9个碳 (δ 163. 6, 153. 2, 152. 5, 146. 0, 144. 4, 116. 7, 113. 1, 112. 8, 104. 5), δ 163. 6是羰基碳信号; 糖部分有 6个碳 (δ 104. 3, 78. 5, 77. 5, 74. 8, 71. 4, 62. 5), δ 104. 3是端基碳信号。 $^1\text{H-NMR}$ 谱显示该化合物苷元部分有 4个氢 (δ 7. 82, d, 1H, $J= 9. 52$ Hz; 7. 42, s, 1H; 6. 80, s, 1H; 6. 20, d, 1H, $J= 9. 34$ Hz), 糖部分端基氢为 δ 4. 83, d, 1H, $J= 8. 97$ Hz 以上数据和文献^[2]报道的秦皮甲素的数据相同, 故晶V为秦皮甲素。晶V的 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 光谱数据见表 1

4 酸水解试验

4. 1 水解方法: 取晶IV 10 mg, 加 5% 硫酸水溶液 5

mL, 于沸水浴中加热 4 h, 冷却, 放置。

4. 2 苷元鉴定: 酸水解液和秦皮素标准品点于同一硅胶 -G薄层板上, 用氯仿-甲醇-甲酸 (6: 1: 0. 5) 展开, 三氯化铁-铁氰化钾显色, 确定苷元为秦皮素。

4. 3 糖的鉴定: 用径向纸色谱, 酸水解液和葡萄糖 (Glu)及半乳糖 (Gal)标准品点样, 正丁醇-苯-吡啶-水 (5: 1: 3: 3)展开, 草酸-苯胺显色, 确定为葡萄糖。

致谢: 军事医学科学院仪器测试中心代测核磁共振光谱和质谱。

References

- [1] Liu L M, Chen L, Wang R H, *et al.* Studies on chemical constituents of Qinpi [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(12): 1073-1074.
- [2] Chen D C. *Handbook of Chemical Standard Substance in Chinese Herbs* (中药化学对照品工作手册) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1999.

欢迎订阅《中草药》杂志 2002年增刊

为了加快中药现代化的进程, 交流中药指纹图谱研究的经验, 讨论入世后我国中药产业面临的挑战和对策, 本刊在 2002年 10月底出版以“中药现代化”和“中药指纹图谱”为主要内容的增刊。欢迎广大读者直接向《中草药》杂志编辑部订阅 定价: 60. 00元, 另加 5. 00元邮费, 款到寄刊

本刊另有 1996- 2001年增刊, 欢迎订阅

编辑部地址: 天津市南开区鞍山西道 308号 邮编: 300193

电话: (022) 27474913 23006821 传真: (022) 23006821 E-mail: zcyzjb@tjipr.com