

(2H, d, J= 9 Hz, H-2', 6'), 7. 23 (1H, d, J= 2 Hz, H-8), 7. 14 (1H, dd, J= 9, 2 Hz, H-6), 6. 82 (2H, d, J= 9 Hz, H-3', 5'), 5. 09 (1H, d, J= 7 Hz, H-1_{gk}). (See Table 3)

Compound V: White powder. ¹HNMR δ (300 MHz, DMSO-*d*₆): 12. 94 (1H, s, 5-OH), 9. 61

Table 3 ¹³CNMR spectral data of compounds VI, VII, VIII, IX and X (in CDCl₃, 75 MHz)

C	VI	VII	VIII	IX ^a	X
1	39.0	38.7	38.8	37.3	37.2
2	27.2	27.4	27.2	30.0	31.4
3	78.9	79.0	79.1	77.0	71.1
4	38.7	38.9	38.9	34.7	37.9
5	54.9	55.3	55.4	40.1	40.3
6	18.4	18.3	18.3	30.0	29.8
7	35.3	34.3	34.4	117.9	117.5
8	41.3	40.9	40.7	139.5	139.6
9	46.7	50.5	50.6	49.6	49.5
10	36.6	37.2	37.2	34.5	34.0
11	23.7	20.9	20.9	21.7	21.6
12	125.6	25.2	25.6	39.6	39.5
13	141.5	38.1	38.3	43.5	43.3
14	46.0	42.8	42.5	55.3	55.1
15	72.7	27.5	30.6	23.3	23.0
16	217.4	35.6	32.3	28.9	28.5
17	54.0	43.0	56.3	56.0	55.9
18	52.9	48.3	47.0	12.6	12.1
19	47.7	48.0	49.3	13.1	13.1
20	30.8	151.0	150.7	41.1	40.8
21	35.2	29.9	29.7	21.3	21.1
22	30.5	40.0	37.2	138.7	138.2
23	28.0	28.0	28.0	129.6	129.5
24	15.6	15.4	15.4	51.4	51.3
25	16.6	16.1	16.0	32.2	31.9
26	17.6	16.0	16.1	21.6	21.4
27	21.3	14.6	14.7	19.2	19.0
28	28.0	18.0	179.4	25.7	25.4
29	32.9	109.3	109.6	12.2	12.3
30	23.3	19.3	19.4		

^a in C₅D₅N; glc: 102.2, 75.3, 78.6, 71.7, 78.5, 62.9

栝楼化学成分的研究及其 α-菠菜甾醇的含量测定(I)

时岩鹏,姚庆强*,刘拥军,韦兴光,王保国**,栾杨*
(山东省医学科学院药物研究所,山东 济南 250062)

摘要:目的 研究栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 的化学成分并建立栝楼中 α-菠菜甾醇的含量测定方法。方法 采用反复硅胶柱层析分离纯化,通过理化常数测定和光谱分析鉴定其化学结构。采用双波长薄层扫描法研究

(1H, s, 4'-OH), 8.42 (1H, s, H-2), 7.40 (2H, d, J= 9 Hz, H-2', 6'), 6.83 (2H, d, J= 9 Hz, H-3', 5'), 6.72 (1H, br. s, H-8), 6.48 (1H, br. s, H-6), 5.06 (1H, d, J= 7 Hz, H-1'').

Compound VI: White needles. mp 194 °C ~ 195 °C. ¹HNMR δ (300 MHz, CDCl₃): 5.50 (1H, br. s, H-12), 4.57 (1H, s, H-15), 1.22, 1.17, 1.02, 1.02, 0.975, 0.863, 0.850, 0.819 (each 3H, s, 8< CH₃).

References

[1] 丁立生,窦永泽,张晓蓉,等. 苦葛蔓中的新三萜成分[J]. 药学学报, 1999, 34(2): 125-127.
 [2] Sahu N P, Mahato S B, Sarkar S K, *et al.* Triterpenoid saponins from *Gymnema sylvestre* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(4): 1181-1185.
 [3] 李娜,杨若林,闵知大,等. 云南葛的化学成分研究[J]. 中国药科大学学报 [J], 1999, 30(3): 166-170.
 [4] Jha H C, Zilliken F, Breitmaier E. Carbon-13 Chemical shifts assignments of chromones and isoflavones [J]. *Can J Chem*, 1980, 58 1211-1219.
 [5] Lane G A, Newman R H. Isoflavones from *Lupinus angustifolius* root [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(1): 295-300.
 [6] Ohshima Y, Okuyama T, Takahashi K, *et al.* Isolation and high performance liquid chromatography (HPLC) of isoflavonoids from the *Pueraria* root [J]. *Planta Medica*, 1988 250-254.
 [7] Kinjo J E, Takeshita T, Abe Y, *et al.* Studies on the constituents of *Pueraria lobata*. IV. Chemical constituents in the flowers and the leaves [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36 (3): 1174-1179.
 [8] Reynolds W F, Mclean S, Poplawski J. Total assignment of ¹³C and ¹H spectra of three isomeric triterpenol derivatives by 2D NMR: an investigation of the potential utility of ¹H chemical shifts in structural investigations of complex natural products [J]. *Tetrahedron*, 1986, 42(13): 3419-3428.
 [9] Siddiqui S, Hafeez F, Begum S, *et al.* Oleanderol, a new pentacyclic triterpene from the leaves of *Nerium oleander* [J]. *J Nat Prod*, 1988, 51(2): 229-233.
 [10] Kojima H, Sato N, Hatano A, *et al.* Sterol glucosides from *Prunella vulgaris* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(7): 2351-2355.

* 收稿日期: 2001-04-20
 基金项目: 山东省自然科学基金研究课题资助 (No. Q99C08)
 作者简介: 时岩鹏 (1973-),男,河北邢台人,助理研究员,1995年毕业于河北医科大学获学士学位,1998年毕业于山东省医学科学院获硕士学位,1998年至今在山东省医学科学院药物研究所工作,主要研究方向为心血管药物和抗肿瘤药物的研究与开发。 Tel 2919970 E-mail yphsh@yeah.net
 * 课题负责人
 ** 山东医科大学 99级本科实习生

栝楼中 α -菠菜甾醇的含量测定方法。结果 从栝楼中分离得到 12个化合物,已鉴定其中 10个化合物:正三十四烷酸(tetratriacontanoic acid,I),2-甲基-3,5-二羟基四氢吡喃-4-酮(5-oxymaltol,II), α -菠菜甾醇 β -D-葡萄糖苷(β -D-glucopyranosyl α -spinasterol,III),葡萄糖(glucose,IV),富马酸(fumaric acid,V),琥珀酸(succinic acid,VI),尿嘧啶(uracil,VII),正三十四烷(tetratriacontane,IX), α -菠菜甾醇(α -spinasterol,X),栝楼仁二醇(karounidiol,XI)。化合物VIII和XII正在鉴定中。测定栝楼中 α -菠菜甾醇的含量为0.017%。结论 化合物I、II、III、IV、VII、IX均首次从该植物中分离得到。而且该含量测定方法灵敏性高,稳定性和重现性较好,可作为栝楼生药的检测方法。

关键词:栝楼;化学成分;含量测定

中图分类号:R284.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2002)01-0014-03

Studies on chemical constituents of *Trichosanthes kirilowii* and assay of its α -spinasterol

SHI Yan-peng, YAO Qing-qiang, LIU Yong-jun, WEI Xing-guang, WANG Bao-guo, LUAN Yang
(Institute of Materia Medica, Shandong Academy of Medical Science, Jinan Shandong 250062, China)

Key words *Trichosanthes kirilowii* Maxim.; chemical constituents; assay

瓜蒌为葫芦科栝楼属植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 或双边栝楼 *T. rosthornii* Harms 的干燥成熟果实。其性甘味寒微苦,归肺胃大肠经,具清热涤痰、宽胸散结、润肠滑肠之功效。用于肺热咳嗽、痰浊黄稠、胸痹心痛、结胸痞满等病,为治疗胸痹之要药。现代药理研究表明其有降低血清胆固醇,扩张微循环障碍的发生等心血管系统的药理作用。栝楼果实化学成分的研究表明:含有挥发油、脂肪酸、甾醇、脂肪酸、氨基酸、蛋白质、色素等;种子部分主要含有脂肪油、脂肪酸、甾醇、三萜皂苷、氨基酸、蛋白质等化学成分。为了寻找治疗心血管疾病的有效单体,为发展新药提供先导化合物,同时为中医临床用药提供科学依据,我们对山东产栝楼的干燥成熟果实进行系统化学成分的分离,从中分离得到化合物 12个,鉴定了其中 10个化合物:正三十四烷酸(tetratriacontanoic acid,I),2-甲基-3,5-二羟基四氢吡喃-4-酮(5-oxymaltol,II), α -菠菜甾醇 β -D-葡萄糖苷(β -D-glucopyranosyl α -spinasterol,III),葡萄糖(glucose,IV),富马酸(fumaric acid,V),琥珀酸(succinic acid,VI),尿嘧啶(uracil acid,VII),正三十四烷(tetratriacontane,IX), α -菠菜甾醇(α -spinasterol,X),栝楼仁二醇(karounidiol,XI)。化合物I、II、V、VI、VII、IX均首次从该植物中分离得到。化合物VIII和XII正在鉴定中。另外,我们通过测定栝楼中 α -菠菜甾醇的含量,建立了栝楼生药质量的检测方法,为进一步研究含有该生药的复方制剂打下基础。

1 仪器和材料

熔点用 XPR-2型偏光显微熔点仪测定(温度计未校正);红外光谱用 Perkin-Elmer 783红外光谱仪测定;KBr压片;核磁共振光谱用 INOVA-500型核磁共振仪测定;质谱用 DMS-DX300型质谱仪测定;

提取用中药 100 L多功能提取器(武汉制药设备机械公司);岛津 9301型双波长薄层扫描仪;薄层层析及柱层析用硅胶均为青岛海洋化工厂产品;实验用栝楼购自山东省药材公司并鉴定为 *Trichosanthes kirilowii* Maxim.。

2 提取与分离

栝楼 15 kg用 95%乙醇回流提取 3次,减压回收乙醇,得到浓浸膏约 8 500 mL。加入适量水混悬后分数次分别用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取,各萃取液浓缩后,分别得到石油醚部分约 1 200 mL,氯仿部分约 500 mL,乙酸乙酯部分约 50 mL,正丁醇部分约 300 mL。

氯仿部分经多次硅胶柱层析,石油醚-丙酮梯度洗脱,薄层层析检识,得化合物I、II、III。

正丁醇部分经多次硅胶柱层析,氯仿-甲醇梯度洗脱,薄层层析检识,得化合物IV、V、VI、VII、VIII。

石油醚部分经多次硅胶柱层析,石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,薄层层析检识,得化合物IX、X、XI。

3 鉴定

化合物I:白色粉末,mp 82℃~84℃(石油醚-丙酮)。IR和 EI-MS谱数据与文献^[1]报道的该化合物的光谱数据一致,因此鉴定化合物I为正三十四烷酸。

化合物II:淡黄色针晶,mp 136℃~137℃(石油醚-丙酮)。IR, EI-MS¹HNMR谱数据与文献^[2]报道的 5-oxymaltol数据一致,因此化合物II为 2-甲基-3,5-二羟基-四氢吡喃-4-酮。

化合物III:白色粉末,mp 274℃~276℃(石油醚-丙酮),Liebermann-Burchard反应及 Molish反应阳性。IR,¹HNMR及¹³CNMR谱数据与文献^[3]报道的该化合物的光谱数据一致,因此鉴定化合物III为

α-菠菜甾醇-β-D-葡萄糖苷

化合物IV: 白色结晶, mp 180℃ (甲醇), 从其 IR, EI-MS, ¹H NMR及¹³C NMR数据推定化合物IV为葡萄糖, 并且与文献^[4]报道的该化合物的光谱数据一致, 因此鉴定化合物IV为葡萄糖。

化合物V: 白色针晶, mp 183℃~ 184℃升华 (氯仿-甲醇), IR与 EIMS与文献^[5]报道的该化合物的光谱数据一致, 因此鉴定化合物V为富马酸。

化合物VI: 白色针晶, mp 185℃升华 (氯仿-甲醇), IR, EIMS数据与文献^[5]报道的该化合物的光谱数据一致, 因此鉴定化合物VI为琥珀酸。

化合物VII: 黄色粉末, mp 228℃~ 230℃ (氯仿-甲醇), IR, EIMS, ¹H, ¹³C NMR数据与文献^[6]报道的尿嘧啶的光谱数据一致, 因此鉴定化合物VII为尿嘧啶。

化合物IX: 白色粉末, mp 81℃~ 82℃ (石油醚-乙酸乙酯), 其 IR及 EIMS数据与文献^[1]报道的正三十四烷数据一致, 因此鉴定化合物VIII为正三十四烷。

化合物X: 白色针晶, mp 172℃~ 173℃ (石油醚-乙酸乙酯), Libermann-Burchard反应阳性。其 IR, EI-MS, ¹H NMR及¹³C NMR谱数据与文献^[7]报道的该化合物的光谱数据一致, 因此鉴定化合物X为α-菠菜甾醇。

化合物XI: 白色针晶, mp 213℃~ 215℃ (石油醚-乙酸乙酯), Libermann-Burchard反应阳性。其 IR, EI-MS, ¹H, ¹³C NMR及 DEPT数据推定化合物XI为栝楼仁二醇, 并与文献^[8]报道的光谱数据基本一致, 因此鉴定化合物XI为栝楼仁二醇。

4 栝楼中α-菠菜甾醇的含量测定方法研究^[9, 10]

4.1 扫描分析条件: 点样后的硅胶 G板于石油醚-乙酸乙酯-甲酸 (8: 2: 1)中展开, 3%硫酸乙醇溶液显色, 在 100℃烘烤 5 min, 检测波长 400 nm, 参比波长 600 nm, 锯齿扫描反射法, SX= 3, 狭缝 0.4×0.4。

4.2 标准曲线和样品测定

4.2.1 标准曲线的绘制: 精密称取α-菠菜甾醇, 以三氯甲烷配成 1.0 mg/mL的标准对照品溶液, 分别取 1, 2, 3, 4, 5 μL点样于硅胶板, 在石油醚-乙酸乙酯-甲酸 (8: 2: 1)中展开, 3%硫酸乙醇溶液显色, 110℃烘烤 5 min, 锯齿扫描反射法测定, 以峰面积为纵坐标, 点样量为横坐标, 绘制标准曲线为 $Y=1960.2X-667.88$, $r=0.996$ 。以 S/N为 2计算, 检出限为 0.04 μg。

4.2.2 样品的预处理及含量测定: 精密称取栝楼 5 g, 加入 50 mL甲醇, 2 g氢氧化钠, 回流提取 2 h, 加水 100 mL, 过滤, 挥去甲醇, 用 50: 25: 25 mL乙醚提取 3次, 合并提取液, 无水硫酸钠干燥。回收乙醚, 浓缩定容为 3 mL, 作为待测定溶液。精密吸取待测溶液 2, 3, 4, 5, 6 μL分别点样, 依上法测定结果见下表 1。

表 1 样品测定结果			(g/g)
No.	含量	平均含量	RSD%
1	1.84×10 ⁻⁴	1.7×10 ⁻⁴	4.43
2	1.65×10 ⁻⁴		
3	1.66×10 ⁻⁴		
4	1.72×10 ⁻⁴		
5	1.70×10 ⁻⁴		

4.2.3 稳定性实验: 将显色后的薄层板室温下放置 1, 2, 3, 4, 5 h后扫描, 结果 3 h内峰面积值无显著变化。

4.2.4 精密度实验: 在同一薄层板上点 5个 2 μL的标准品溶液点, 按以上定量条件测定峰面积, RSD为 3.03%。

4.2.5 加样回收试验: 取已知含量 (1.7×10⁻⁴ g/g)样品 1 g, 加入 200 μL 1.0 mg/mL的标准品溶液, 按上法提取, 最后定容为 1 mL, 测得α-菠菜甾醇浓度为 0.358 mg/mL, 得加样回收率为 93.5%。

5 结果与讨论

5.1 化合物I、II、V、VI、VII、IX均为首次从该植物中分离得到。

5.2 首次用双波长薄层扫描法建立α-菠菜甾醇的含量测定方法, 该方法灵敏性高, 稳定性和重现性较好, 可作为栝楼生药的质量控制方法。

参考文献:

[1] 黄浩, 赵守训, 王明时, 等. 弯锥香茶菜化学成分的研究 [J]. 中草药, 1997, 28(12): 710-712.
[2] 张君增, 方起程, 梁晓天. 中国特有植物白豆杉的化学成分研究 [J]. 植物学报, 1996, 38(5): 399-405.
[3] 邹坤, 赵玉英, 李德宁, 等. 合欢皮的脂溶性成分 [J]. 北京医科大学学报, 1999, 31(1): 32-34.
[4] 王宪楷. 天然药物化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998.
[5] 李彤梅, 余竟光. 鹰爪叶化学成分研究 [J]. 药学报, 1998, 33(8): 591-596.
[6] 郭顺星, 陈晓梅, 杨峻山, 等. 石斛小菇化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2000, 35(6): 372-374.
[7] 王邠, 李教社, 赵玉英, 等. 密蒙花三萜等成分的研究 [J]. 北京医科大学学报, 1996, 28(6): 472-473.
[8] Toshihiro A, Toshitake T, Taro M, et al. Karounidiol and its benzoate: novel pentacyclic triterpenes from *Trichosanthes kirilowii*. X-Ray molecular structure of karounidiol diacetate [J]. J Chem Soc Perkin Trans I, 1983: 439-443.
[9] 孙毓庆. 薄层扫描法及其在药物分析中的应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990.
[10] 王化元, 赵呈裕, 张春旺, 等. 鸡从菌菌丝体中麦角甾醇的含量测定 [J]. 华西药理学杂志, 1999, 14(10): 47-48.