

## 小连翘化学成分研究

段静雨, 阮金兰\*

(华中科技大学同济医学院药学院, 湖北 武汉 430030)

小连翘 *Hypericum erectum* Thunb. 为藤黄科金丝桃属植物。民间用于治疗月经不调、消化道出血、吐血, 外用治疗外伤出血、疮痍肿毒、毒蛇咬伤等<sup>[1]</sup>。迄今为止各国学者仅对金丝桃属部分植物进行了初步研究, 但有关小连翘的化学成分研究少见报道。为了探讨小连翘的药效物质基础, 作者对小连翘地上部分进行了化学成分研究, 从其乙醇提取物的醋酸乙酯部位分离得到13个化合物, 经化学方法和现代波谱分析鉴定了其中9个化合物的化学结构, 分别为1,7-二羟基吡酮(I)、山柰酚-3-O-阿拉伯糖苷(II)、槲皮素-3-O-阿拉伯糖苷(III)、山柰酚(IV)、槲皮素(V)、3-羟基-4-甲氧基-苯甲酸(VI)、二十八烷醇(VII)、 $\beta$ -胡萝卜苷(VIII)、 $\beta$ -谷甾醇(IX), 另4个化合物的结构尚在鉴定之中。除槲皮素外, 其余8种化合物均为首次从该植物中分离得到。

### 1 仪器与材料

熔点测定用北京泰克仪器厂显微熔点测定仪; 质谱用英国VG公司ZAB-HF-3型质谱分析仪测定; 红外光谱用日本岛津IR-460型红外光谱仪测定(KBr压片); 核磁共振谱用Brucker公司Brucker-400(<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz, <sup>13</sup>C-NMR 150 MHz)核磁共振仪测定; 紫外光谱用上海精密科学仪器公司756MC型测定。柱色谱和薄层色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品, 所用试剂除提取药材的乙醇为医用酒精外, 其余均为分析纯。

小连翘采自湖北省五峰土家族民族自治县, 由五峰县药检所周祖海副主任药师鉴定为藤黄科金丝桃属植物小连翘 *H. erectum* Thunb.。

### 2 提取与分离

小连翘地上部分粗粉27.3 kg, 用95%乙醇350 kg加热回流提取1.5 h, 再用70%乙醇加热回流提取两次, 每次1 h, 将3次提取液合并, 减压浓缩成流浸膏得总提取物, 总提取物重5.3 kg。自总提取物中取出5013.5 g用硅藻土拌样, 自然风干后, 上硅藻土柱, 依次用石油醚、醋酸乙酯、丙酮、甲醇洗脱, 分

别回收溶剂得4个部位。其醋酸乙酯部位有沉淀物, 将溶液部分取出, 沉淀物用醋酸乙酯洗涤, 洗涤液与取出的溶液部分合并。取醋酸乙酯溶液部分218 g经硅胶柱色谱分离, 以不同配比的氯仿-甲醇梯度洗脱, TLC示踪, 合并相同组分, 各组分按极性由小到依次编号为A、B、C、D……U、V。组分D洗涤后得化合物VII(260.5 mg)。组分E经硅胶柱色谱, 以环己烷-丙酮(10:1)洗脱, Sephadex LH-20凝胶柱色谱进一步纯化得化合物K(80.3 mg)。组分A经硅胶柱色谱, 以环己烷-丙酮(10:1)洗脱, TLC示踪合并相同组分, 进一步经硅胶柱色谱及Sephadex LH-20凝胶柱色谱分离纯化得化合物I(21.7 mg)。组分K经硅胶柱色谱, 以氯仿-丙酮(40:1)洗脱, 氯仿重结晶得化合物VI(75.8 mg)。组分Q经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮(5:2)洗脱, TLC示踪合并相同组分, 进一步经硅胶柱色谱及Sephadex LH-20凝胶柱色谱分离纯化得化合物IV(24.6 mg)、V(20.358 g)、VIII(185.7 mg)。组分R经硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇(30:1)洗脱, 进一步Sephadex LH-20凝胶柱色谱分离纯化得化合物II(65.8 mg)。组分S经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮(2:1)梯度洗脱, 进一步Sephadex LH-20凝胶柱色谱分离纯化得化合物III(105.7 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物I: 亮黄色针状结晶, 氯仿-甲醇(2:3)混合液中结晶得到, mp 240~241 °C。分子式: C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, 相对分子质量: 228。EI-MS *m/z*: 228(M<sup>+</sup>), 200, 182, 171, 144, 115。<sup>13</sup>C-NMR(CD<sub>3</sub>OD+CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 183.9(C-9), 163.2(C-1), 158.2(C-4a), 155.7(C-7), 151.8(C-10a), 138.2(C-3), 126.7(C-6), 122.5(C-8a), 120.6(C-5), 111.0(C-2), 109.9(C-9a), 109.7(C-8), 108.5(C-4)。<sup>1</sup>H-NMR(CD<sub>3</sub>OD+CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 7.57(1H, dd, *J*=8.24, 8.25 Hz, H-3), 7.48(1H, s, H-8), 7.37(1H, d, *J*=9.08 Hz, H-5), 7.27(1H, m, H-4), 6.89(1H, d, *J*=8.53

收稿日期: 2005-01-05

作者简介: 段静雨(1980—), 女, 河南禹州人, 华中科技大学同济医学院2002级硕士研究生, 主要从事天然药物活性成分的研究。

\* 通讯作者 阮金兰 Tel: (027)83692892 Fax: (027)83692892 E-mail: jinlan5952@hotmail.com

Hz, H-6), 6.69 (1H, d,  $J=8.25$  Hz, H-2)。EI-MS 数据和 $^{13}\text{C}$ -NMR数据与文献报道的1,7-二羟基卟酮基本一致<sup>[2]</sup>。因此, 确定该化合物 I 为1,7-二羟基卟酮(1,7-dihydroxyxanthone)。

化合物 II: 黄色粉末(丙酮), mp 231~233 °C。分子式:  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ 。相对分子质量: 418 [FAB-MS  $m/z$ : 419 ( $\text{M}^+ + 1$ ) ]。EI-MS  $m/z$ : 286 (100), 258, 257, 153, 129, 121, 93。  $^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 177.7 (C-4), 164.2 (C-7), 161.2 (C-9), 159.9 (C-4'), 156.8 (C-5), 156.4 (C-2), 133.4 (C-3), 130.8 (C-2', 6'), 120.8 (C-1'), 115.4 (C-3', 5'), 108.0 (C-1''), 104.0 (C-10), 98.7 (C-6), 93.7 (C-8), 86.3 (C-4''), 82.1 (C-2''), 77.1 (C-3''), 60.9 (C-5'')。  $^1\text{H}$ -NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.03 (2H, d,  $J=8.89$  Hz, H-2', 6'), 6.90 (2H, d,  $J=8.73$  Hz, H-3', 5'), 6.46 (1H, d,  $J=1.68$  Hz, H-8), 6.21 (1H, d,  $J=1.85$  Hz, H-6), 糖基部分: 5.63 (H-1''), 4.15 (H-2''), 3.72 (H-3''), 3.53 (H-4''), 3.28 (H-5'')。  $^{13}\text{C}$ -NMR数据与文献报道的基本一致<sup>[3]</sup>, 确定该化合物 II 为山柰酚-3-O-阿拉伯糖苷(kaempferol-3-O-arabinoside)。

化合物 III: 黄色粉末(甲醇), 161 °C 分解。分子式  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$ 。相对分子质量: 434 [FAB-MS  $m/z$ : 435 ( $\text{M}^+ + 1$ ) ]。EI-MS  $m/z$ : 302, 301, 274, 273, 153, 137, 109。  $^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 177.7 (C-4), 164.0 (C-7), 161.3 (C-5), 157.0 (C-9), 156.4 (C-2), 148.3 (C-4'), 144.9 (C-3'), 133.5 (C-3), 121.8 (C-1'), 121.0 (C-6'), 115.5 (C-2', 5'), 107.9 (C-1''), 104.0 (C-10), 98.6 (C-6), 93.6 (C-8), 85.8 (C-4''), 82.0 (C-2''), 76.8 (C-3''), 60.5 (C-5'')。  $^1\text{H}$ -NMR (DMCO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.71 (1H, d,  $J=2.14$  Hz, H-2'), 7.56 (1H, dd,  $J=8.25, 2.3$  Hz, H-6'), 6.99 (1H, d,  $J=8.25$  Hz, H-5'), 6.51 (1H, d,  $J=2.2$  Hz, H-8), 6.28 (1H, d,  $J=2.2$  Hz, H-6), 糖基部分: 5.48 (H-1''), 4.31 (H-2''), 4.06 (H-3''), 3.99 (H-4''), 3.56 (H-5'')。  $^{13}\text{C}$ -NMR数据与文献报道的基本一致<sup>[3]</sup>, 确定该化合物 III 为槲皮素-3-O-阿拉伯糖苷(quercetin-3-O-arabinoside)。

化合物 IV: 黄色粉末(丙酮), mp 278~279 °C。盐酸-镁粉反应阳性。  $^{13}\text{C}$ -NMR数据与文献报道的基本一致<sup>[4]</sup>, 确定该化合物 IV 为山柰酚(kaempferol)。

化合物 V: 黄色针状结晶(丙酮), mp 310~312 °C。盐酸-镁粉反应阳性。分子式:  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ 。与槲皮素对照品混合熔点不下降, 与槲皮素对照品分别及

混合点样共 TLC Rf 值一致。IR 及 EI-MS 与对照品槲皮素一致, 确定化合物 V 为槲皮素(quercetin)。

化合物 VI: 白色无定形粉末(氯仿-甲醇), mp 206~209 °C。分子式:  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$ 。相对分子质量 286。EI-MS  $m/z$ : 286 ( $\text{M}^+$ , 基峰), 153, 125, 108, 97。  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 3.87 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.83 (1H, dd,  $J=5.91$  Hz, H-5), 7.51 (2H, m, H-2, 6)。  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 56.9 (甲氧基碳), 114.2 (C-5), 116.3 (C-2), 123.5 (C-1), 125.8 (C-6), 149.1 (C-3), 153.1 (C-4), 170.5 (-COOH)。其取代位置根据苯环化学位移值  $\delta_{\text{H}}=7.26+\Sigma\delta\text{i}^{[5]}$ ,  $\delta_{\text{C}}=128.5+\Sigma\delta\text{i}^{[5]}$  计算, 计算结果与谱图对比分析, 确定化合物 VI 为 3-羟基-4-甲氧基苯甲酸(3-hydroxy-4-methoxy-benzoic acid)。

化合物 VII: 白色无定形粉末(氯仿), 溶于石油醚、氯仿等有机溶剂中。mp 66.4~67.1 °C。分子式  $\text{C}_{28}\text{H}_{58}\text{O}$ 。相对分子质量 410。EI-MS  $m/z$ : 392 ( $\text{M}^+ - 18$ ), 364, 350, 336, 322, 308, 279, 265, 237, 209, 181, 167, 153, 139, 125, 111, 97, 83, 69。  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.88 (3H, t, H-28), 1.21~1.58 (52H, m, 为 26 个  $\text{CH}_2$  的叠加信号), 3.64 (2H, t, -CH<sub>2</sub>O-)。  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 63.1 (C-1), 32.8 (C-2), 31.9 (C-26), 29.7 (C5-24 重叠信号), 29.50 (C-4), 29.40 (C-25), 25.8 (C-3), 22.7 (C-27), 14.1 (C-28)。综合分析确定该化合物 VII 为 1-二十八烷醇(1-octacosanol)。

化合物 VIII: 白色不规则片状粉末(氯仿), 可溶于氯仿-甲醇(1:1)混合溶液, mp 287~289 °C。分子式  $\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{O}_5$ 。Molish 反应阳性。Liebermann-Burchard 反应阳性。与  $\beta$ -胡萝卜素对照品分别及混合点样共 TLC Rf 值一致, 确定该化合物 VIII 为  $\beta$ -胡萝卜素( $\beta$ -daucosterol)。

化合物 IX: 白色针晶(丙酮), mp 137~138 °C。分子式  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ 。Liebermann-Burchard 反应阳性, 提示其为不饱和甾醇类化合物。其与  $\beta$ -谷甾醇对照品共熔点、共 TLC, 证明为同一化合物。鉴定化合物 IX 为  $\beta$ -谷甾醇( $\beta$ -sitosterol)。

#### References

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae Agnosc. Academiae Sinicae Edit. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 15. Beijing: Science Press, 1974.
- [2] Inuma M, Tosa H, Tanaka T, et al. Two furanoxanthones from *Mammec Acuminata* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42 (1): 245-248.
- [3] Bilia A R, Ciampi L, Mendez J, et al. Phytochemical investi-

gations of *Licania* genus. flavonoids from *Licania pyrifolia* [J]. *Pharm Acta Helv*, 1996, 71: 199-204.

[4] Xiao C H. *Chemistry of Chinese Medicine* (中药化学) [M]. 2nd ed. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publish-

ers, 2002.

[5] Ning Y C. *Organic Spectroscopy and Organic Compound Structure Identification* (有机光谱和有机化合物结构鉴定) [M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2002.

## 泥鳅黏多糖的提取分离及其理化性质检测

董陆陆<sup>1</sup>, 李泽文<sup>2</sup>, 李文凯<sup>1</sup>, 何树庄<sup>1</sup>, 杨宝峰<sup>1</sup>

(1. 哈尔滨医科大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江大学化学化工学院, 黑龙江 哈尔滨 150080)

自古以来, 泥鳅被认为具有较高的药用价值, 对肝炎、高血压、冠心病及皮肤瘙痒等症具有一定辅助疗效<sup>[1]</sup>。实验证实动物黏多糖具有多种药理活性, 包括抗凝血、降血脂等<sup>[2]</sup>。目前已发现并利用的动物来源黏多糖主要有肝素、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、硫酸角质素等。有关泥鳅黏多糖的提取及研究目前尚未见报道。本实验从泥鳅中提取出黏多糖并对其部分理化指标进行了检测, 有关其药理活性研究仍在进行中。

### 1 材料、仪器及试剂

泥鳅为市购。新鲜猪胰腺及胰蛋白酶由哈尔滨生化制药厂提供。

DT-100 电光天平, 岛津 UV220 紫外分光光度计, 岛津 IR470 红外分光光度计, DYY-Ⅲ 31C 型微型电泳槽等。葡萄糖醛酸为 Sigma 产品, 盐酸氨基葡萄糖由浙江红星生化制品厂提供, 其他试剂均为分析纯。

### 2 实验方法与结果

2.1 泥鳅黏多糖的提取分离及精制: 泥鳅清水养 2 d, 期间数次换水。晾晒, 烘干, 磨碎得干粉。干粉先后用丙酮及石油醚回流提取 1~2 次, 晾干。将脱脂后的干粉浸入适量提取液中 (0.34 mol/L NaCl—0.5 mol/L NaOH=4:1), 室温浸泡 24 h, 滤过, 重复浸提一次, 合并两次浸提液。新鲜猪胰腺剔除异物, 按每克胰腺加入 1 mg 胰蛋白酶制成匀浆。按鲜品的 4% 在提取液中加入胰匀浆, 50℃ 恒温搅拌 7 h, 此期间分几次加入胰蛋白酶, 直至酸度不再改变。调 pH=7, 加热至 85℃, 出现大量絮状沉淀。迅速冷却至 30℃ 以下, 抽滤。滤液调 pH=6, 加 95% 乙醇使含醇量达 75%, 冷藏过夜, 滤过, 滤液用无水乙醇洗涤两次, 抽干, 得泥鳅黏多糖粗品。

粗品用适量蒸馏水溶解, 调 pH=9.50℃ 水浴反应 4 h, 期间滴加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 适量。冷却, 调 pH=7, 加入少量 NaCl, 抽滤, 滤液中按比例依次加入无水乙醇, 冷藏放置, 离心收集, 真空干燥, 依次得到 25%、40%、45%、75% 4 种醇沉样品, 分别标示为样品 1、样品 2、样品 3、样品 4。

### 2.2 泥鳅黏多糖的分析鉴定

2.2.1 一般性质: 样品 1~3 均为白色粉末, 样品 4 为浅黄色粉末。样品 2~4 均易溶于水。4 种样品水溶液的 pH 值依次为 6.5、7.3、7.0、6.7。4 种样品水溶液遇茚三酮均不显色。

2.2.2 琼脂糖电泳检测均一性: 参照 Dietrich 法<sup>[3]</sup>, 取 4 种样品及对照品肝素各 1 mg 分别溶于 0.2 mL 溶有少量甲酚红的缓冲溶液中 (样品 1 难溶)。0.5% 琼脂糖制胶, 电压为 75 V。分别采用巴比妥和乙二胺缓冲体系, 甲苯胺兰染色。结果见表 1。

表 1 琼脂糖电泳检测样品均一性

Table 1 Homogeneity of samples determined by agarose electrophoresis

| 样品 | 迁移率     |         |
|----|---------|---------|
|    | 巴比妥缓冲体系 | 乙二胺缓冲体系 |
| 1  |         |         |
| 2  | 3.95    | 0.95    |
| 3  | 3.95    | 0.95    |
| 4  | 3.95    | 1.00    |
| 肝素 | 1.00    | 1.00    |

2.2.3 硫酸基检测: 精确称取 4 种样品各约 10 mg, 按 Dodgson 法检测硫酸基<sup>[4]</sup>, 证明样品中均有硫酸基存在。标准曲线回归方程为:  $A=4.5839C+0.02133$ ,  $r=0.99812$ 。定量结果见表 2。

2.2.4 己糖胺检测: 精确称取 4 种样品各 10 mg, 按 Randle 法检测己糖胺<sup>[4]</sup>。4 种样品酸解液均呈

收稿日期: 2005-02-21

作者简介: 董陆陆 (1964—), 女, 哈尔滨人, 教授, 本科毕业于吉林大学化学系, 硕士毕业于哈尔滨医科大学药理学专业。主要从事天然药物成分及其药理药效学研究。 Tel: (0451) 86699351 E-mail: donglulu64817@sohu.com