

和重量有较明显降低作用($P<0.05$),患者主观症状:头昏、肢体沉重、疲乏懒言、记忆减退等均有明显好转^[22]。

参 考 文 献

1 张淑慎,等. 重庆医科大学学报,1996,21(1):63

2 华 琼,等. 中医研究,1996,9(5):28

3 刘一志,等. 陕西中医,1990,11(6):247,253

4 周清发,等. 实用中西医结合杂志,1997,10(21):2054

5 周岱翰,等. 中国肿瘤临床,1996,23(6):426

6 戴馨仪,等. 中药新药与临床药理,1997,8(3):154

7 王维平,等. 时珍国药研究,1991,2(1):30

8 陈耀璋,等. 中药材,1994,17(3):37

9 陈耀璋,等. 西南国防医药,1993,3(5):257

10 王俏先,等. 中成药,1994,17(3):37

11 回秀丽,等. 中国中医药科技,1997,4(3):181

12 张景湖,等. 安徽中医学院学报,1998,17(1):57

13 成志荣,等. 江苏中医,1998,19(1):42

14 陈作良,等. 中华口腔医学杂志,1998,33(1):50

15 郑师碧,等. 中国中西医结合杂志,1995,15(7):431

16 徐秀珍,等. 宁夏医学院学报,1997,19(2):6

17 林 军,等. 广西医科大学学报,1995,12(4):527

18 王 宇. 药 学 进 展,1996,20(2):91

19 周广军,等. 实用中西医结合杂志,1997,10(13):1286

20 冯冰虹,等. 广东药学院学报,1995,11(4):264

21 池淑君,等. 癌变-畸变-突变,1997,9(6):372

22 徐宝圻. 辽宁中医杂志,1995,22(11):510

(1999-03-12 收稿)

1999-05-10 修回)

茯苓三萜成分的最新研究进展

中国医学科学院
中国协和医科大学

医药生物技术研究所(北京 100050)

沈 芊* 许先栋

摘 要 综述了有关茯苓三萜成分的分离纯化、结构测定和其结构特点等方面最新的研究成果,归纳了茯苓三萜衍生物的制备方法及其构效关系的初探。

关键词 茯苓三萜 结构测定与特点 茯苓衍生物 构效关系

自 70 年代以来,从茯苓干燥菌核中分离纯化并阐明结构的四环三萜化合物已有 20 多种,可分为两种类型:即羊毛甾烷三萜烯型(lanostane triterpene)和 3,4-开环羊毛甾烷三萜烯型(3,4-seco lanostane triterpene)。近年来中外学者进一步对茯苓及其三萜成分衍生物进行了药理、生物活性的深入研究,现就茯苓成分的分离纯化、结构特征及其构效关系的研究进展作一简明综述。

1 分离纯化

茯苓中的三萜成分主要为中等极性的同系物,性质相近,提取时多用极性强的有机溶剂甲醇、乙醇长时间冷浸或回流提取^[1~7],亦有用弱极性的乙醚^[8]和正己烷^[9]回流提取的报道,提取液减压浓缩至干,即得棕黄色含多种茯苓三萜成分的混合物。由于其中含有大

量 β -茯苓聚糖,因此 Tai 等^[1~3]通过将其悬于水中,然后用乙酸乙酯再次提取的方法进行纯化。

茯苓三萜成分彼此间的差异小,故其分离多采用层析法,首先将茯苓三萜成分的混合物加到 Silica gel 柱上,用不同比例的 MeOH-CHCl₃(0~25%)溶剂系统进行梯度洗脱,分段收集洗脱液浓缩至干,再利用该柱或制备 TLC、反相 HPLC 制备柱进行分离,得到的单一成分在甲醇中结晶纯化。有些茯苓三萜成分由于彼此间只差一个双键或为差向异构体,极难分离,为了提高分离效率,可采用制备衍生物的方法,扩大彼此间理化性质的差异达到分离目的。近几年 Tai 等^[3]采用 *N*-氯甲基苯邻二甲酰亚胺处理茯苓三萜成分的混合物得到相应的 *N*-甲基苯邻二甲

▪ Address: Shen Qian, Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing

《中草药》1999 年第 30 卷第 11 期

• 附 1 •

酰亚胺基酯,然后用 TLC 法分离确定了 3 β -羟基羊毛甾烷 8,24-二烯酸等茯苓三萜成分的结构。

2 结构测定

Kanematsu^[9,10]等在 70 年代利用 UV, IR, MS, ¹H NMR 四大光谱技术先后鉴定了茯苓酸(pachymic acid)、吐默酸(tumulosic acid)及 3 β -羟基羊毛甾烷-7,9(11),24-三烯酸的结构。近年来,茯苓三萜成分的结构鉴定进一步采用¹³CNMR, 2D-NMR 及 X-射线晶体衍射等手段,如运用¹³CNMR 谱有效地确定了羊毛甾烷三萜烯型和 3,4-开环羊毛甾烷三萜烯型茯苓三萜成分的基本骨架,而且由于三萜类化学成分的碳谱中最易分辨的信号是双键碳原子,当双键处于不同位置时,其碳原子化学位移有很大差别,而且基本上不受取代基团的影响。羊毛甾烷三萜烯型化合物环上双键有 7,9(11)异环共轭双键和 8(9)双键两种形式,不同类型化合物在相同位置化学位移值不同,而环外双键 24(31),24(25)和 3,4 开环后的 4(28)位碳亦有各自的化学位移值。

又如 1991 年 Tai¹ 运用¹H-¹H COSY, ¹H-¹³C COSY, ¹H-¹³C COSY 确定了多孔菌酸 A 和 B(poricic acid A 和 B)中每个碳原子在碳谱中的信号,并用 DEPT 方法证明了多孔菌酸 A(poricic acid A)中环外亚甲基处在 C₂₈和 C₁₃位置。此外 1994 年许先栋等^[4]利用 2D-NMR 及 X-射线晶体衍射确定了 3-酮基-6,16 α -二羟基羊毛甾烷 7,9(11),24(31)三烯酸(3-oxo-6, 16 α -dihydroxy lanosta-7, 9(11),24(31)-trien-21-oic acid)的分子结构和晶体结构。

在茯苓三萜成分的结构测定方面,IR, UV, MS 等光谱的作用也是不可替代的,IR 谱主要根据区域 A(1 355~1 692 cm⁻¹)和区域 B(1 245~1 330 cm⁻¹)的碳氢吸收来区别四环三萜和其它类型的三萜,如四环三萜的 A, B 区各有一个峰,而齐墩果烷型和乌索烷型三萜在 A 区或 B 区都各有两个或三个

峰^[11]。UV 光谱对于区分环上 8 位双键与 7, 9(11)异环共轭双键化合物极为有用,质谱尤其是高分辨质谱在确定化合物分子式及根据碎片离子推断化合物结构上亦具有重要地位。

3 结构特点

3.1 羊毛甾烷三萜烯型:目前发现的 27 种茯苓三萜成分中有 18 种属羊毛甾烷三萜烯型。按照其结构中双键数目及位置的不同有 4 种基本骨架,而同一类骨架中各化合物的结构差异主要在于 3 位、6 位、25 位碳的取代情况不同,可见羊毛甾烷三萜烯型的结构差异是:1)环上 8 位双键或异环 7,9(11)共轭双键,外环 24(25)双键或 24(31)末端双键;2)6 位、16 位碳上有无 α -羟基取代;3)3 位碳上有不同基团取代,多为羟基亦有乙酰氧基、羰基,且有差向异构;4)25 位是否有羟基取代。

3.2 3,4-开环羊毛甾烷三萜烯型:属 3,4-开环羊毛甾烷三萜型的三萜成分共 9 个,按其边链双键位置的不同可分为两类基本骨架,各化合物的结构差异除边链双键外,主要在于 3 位羟基是否成酯和 16,25,29 位碳上是否有羟基取代。与羊毛甾烷三萜烯型相比较可以看出,3,4-开环羊毛甾烷三萜型化合物的结构特点是 1)3,4 位碳链断裂开,3 位成为羧基,4 位与 28 位形成双键;2)仅存在 7,9(11)异环共轭双键,未见 8 位双键的报道。

4 衍生物的制备及构效关系初探

制备茯苓三萜成分的衍生物,通常是采用重氮甲烷或 *N*-氯甲基苯邻二甲酰亚胺将茯苓三萜成分中的羧基酯化,从而扩大各成分彼此间理化性质的差异,以便达到分离纯化的目的。另外也有人通过制备衍生物进行茯苓三萜成分构效关系的研究。1980 年 Calisolalao 等^[12]分离得到茯苓酸和吐默酸,二者的 7,9(11)脱氢衍生物及多孔菌酸 C,并制备了它们的甲酯、3-酮基及 25-或 26-羟基衍生物。经体外肝癌细胞试验发现其甲酯衍生物具有细胞毒作用,而 3-酮基、25-或

26-羟基衍生物则无细胞毒作用。1997年仲兆金等采用卤代烷在碱性条件下与3 β ,16 α -二羟基羊毛甾烷7,9(11),24(31)-二烯酸、3-酮基-16 α 羟基羊毛甾烷7,9(11),24(31)-三烯酸及3 β -乙酰氧基-16 α -羟基羊毛甾烷8,24(31)-二烯酸发生亲核取代反应的方法制得9种羧酸酯衍生物并进行了生物活性测定,对人慢性髓样白血病K₅₆₂细胞的抑制作用试验结果表明:3位为羟基,环上双键为7,9(11)异环共轭双键的茯苓三萜通过酯化增大其脂溶性,有益于其抑制率的提高,而3位为乙酰氧基,环上为8(9)双键型的茯苓三萜若再增大其脂溶性会降低其抑制率;对小鼠T淋巴细胞增殖影响的生物活性测定结果表明:茯苓三萜成分中3位为羟基,环上双键为7,9(11)异环共轭双键的茯苓三萜对小鼠T淋巴细胞有促进增殖作用,而其酯化衍生物主要体现为抑制增殖;3位为乙酰氧基,环上双键为8(9)双键的茯苓三萜为抑制增殖作

用,而其酯化衍生物主要体现为促进增殖作用,从而说明茯苓三萜成分结构上的差异对其生物活性的影响。

5 结语

综上所述,茯苓三萜成分的结构确定,衍生物制备及其构效关系的研究已取得新的进展,但其构效关系尚限于实验研究阶段。关于茯苓三萜衍生物的药理、生物活性与结构关系还须进行深入的探索研究。

参考文献

- 1 Tai T, *et al.* Phytochemistry, 1991, 30(8): 2796
- 2 Tai T, *et al.* Phytochemistry, 1992, 31(7): 2548
- 3 Tai T, *et al.* Phytochemistry, 1993, 32(5): 1293
- 4 许先栋, 等. 中国药物化学杂志, 1994, 14(1): 23
- 5 Tai T, *et al.* Phytochemistry, 1995, 39(5): 1165
- 6 Tai T, *et al.* Phytochemistry, 1995, 40(1): 225
- 7 Haruo N, *et al.* Chem Pharm Bull, 1996, 44(4): 71
- 8 王利亚, 等. 现代应用药学, 1993, 10(2): 8
- 9 兼松明子, 等. Yakugaku Zasshi 1970, 90(4): 475
- 10 Akiko K, *et al.* Chem Pharm Bull, 1970, 8(4): 779
- 11 仲兆金, 等. 中国药物化学杂志, 1997, 7(1): 71
- 12 Valisollalao J, *et al.* Bull Soc Chim Fr, 1980, 1: 473

(1999-04-21 收稿)

关于编辑、出版以“中药新剂型、新工艺、新技术”为主要内容的 《中草药》杂志 2000 年增刊的征文通知

在科技日新月异发展的世纪之交,高新技术在中药产业中得到广泛的应用,为了加速中药产业的技术创新,本刊拟在 2000 年下半年编辑、出版以“中药新剂型、新工艺、新技术”为主要内容的增刊,现征文通知如下:

征文内容:①中草药现代生物工程技术的开发与应用如:基因工程、细胞工程、酶工程、代谢工程、发酵工程等现代生物技术对珍贵和濒危动、植物中药材种源的保护、鉴别、优化和可持续利用等技术。②中草药有效成分提取、分离新技术如:超临界萃取、膜分离、超滤技术、大孔吸附树脂色谱、逆流色谱、澄清技术等。③中草药有效成分分析的新仪器、新方法等。④中草药现代药理学研究方法如:血清药理学、细胞分子药理学和中药药代动力学等。⑤中草药新剂型的研究如:透皮吸收制剂,靶向药物制剂,缓释、控释制剂等。

征文截止时间:2000 年 6 月 30 日。其他要求见《中草药》杂志 2000 年第 1 期“征稿简则”。欢迎广大读者踊跃投稿,来稿请寄天津市鞍山西道 308 号《中草药》杂志编辑部,邮编:300193,稿件上请注明“增刊征文”字样。

《中草药》杂志编辑部