

山杨的化学成分研究

中国药科大学中药分析教研室(南京 210038) 王欣* 王强** 汪红

摘要 对山杨树皮的化学成分进行了研究,从中分得 22 个化合物,鉴定了 19 个化合物的结构,主要为酚苷及黄酮类化合物,均为从本植物中首次分得。报道了 7 个酚苷化合物,分别为 7-水杨酰-2'-苯甲酰水杨苷(salicyloyl-tremuloidin, I)、特里杨苷(tremulacin, II)、2'-苯甲酰水杨苷(tremuloidin, III)、柳皮苷(salicortin, IV)、水杨酰水杨苷(salicyloylsalicin, V)、大齿杨苷(grandidentatin, VI)和葡萄柳苷(salireposide, VII)。

关键词 山杨 树皮 酚苷

山杨 *Populus davidiana* Dode 为杨柳科杨属植物,常以皮称白杨树皮入药,药用历史悠久,始载于《唐本草》。功效为祛风活络、散瘀止痛、四肢不遂、龋齿、疼痛损伤、瘀血肿痛等症。现代药理学表明,白杨树皮具抗菌、抗炎、心血管保护等作用,其提取物具有显著的抗肿瘤活性,作用优于或相当于长春碱,用于治疗恶性肿瘤,已申请专利。本实验从中分得 22 个单体结晶,鉴定了 19 个结晶的结构,主要为酚苷及黄酮类化合物,本文报道 7 个酚苷化合物,分别为 7-水杨酰-2'-苯甲酰水杨苷(salicyloyl-tremuloidin, I)、特里杨苷(tremulacin, II)、2'-苯甲酰水杨苷(tremuloidin, III)、柳皮苷(salicortin, IV)、水杨酰水杨苷(salicyloylsalicin, V)、大齿杨苷(grandidentatin, VI)和葡萄柳苷(salireposide, VII)。并分得有机酸、β-谷甾醇和其它成分。另得 2 化合物,经鉴定,结构未见报道,可初步确定为新的酚苷类化合物,还需进一步确证。以上化合物均为从本植物中首次得到。

1 仪器与材料

熔点用 X₄ 型显微熔点测定仪(北京光电设备厂)测定,温度未经校正。红外光谱用 Perkin-Elmer 983 型红外分光光度计(KBr 压片)测定。紫外光谱用 Shimadzu UV-2501 PC 型紫外光谱仪测定。核磁共振用 Bruker ACF-300 型和 JEOL GX-400 型核磁共振仪测定(TMS 内标)。薄层层析用硅胶 G、硅胶 H 及柱层析用硅胶均为青岛海洋化工厂生产。试剂均为分析纯。TLC 展开剂:氯仿-甲醇-甲酸(80:20:0.5)。显色剂为 5% 硫酸乙醇液或碘蒸气。

山杨 *P. davidiana* Dode 树皮采自辽宁省朝阳县,学名经鉴定。

2 提取与分离

山杨树皮 3 kg,粉碎,石油醚(60℃~90℃)热回流提取 3 次,提取液合并浓缩得石油醚提取物 163 g。残渣挥干石油醚,用 95% 乙醇热回流提取 3 次,提取物合并浓缩得乙醇提取物 678 g。取乙醇提取物 380 g,用醋酸乙酯溶解,捏溶液合并浓缩,得醋酸乙酯捏溶物 135 g。取石油醚提取物 30 g 进行低压柱层析,石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱,得 6 个化合物。取醋酸乙酯捏溶物 55 g,进行低压柱层析(硅胶用甲酸酸化,即加入硅胶量 10% 的 5% 甲酸丙酮液,饱和并挥去丙酮后装柱),氯仿-甲醇洗脱,得化合物 16 个。氯仿-甲醇(100:5)洗脱部分经反复硅胶柱层析得 I 34 mg、II 96 mg,氯仿-甲醇(100:8)洗脱部分得 III 139 mg,氯仿-甲醇(100:10)洗脱部分经反复硅胶柱层析得 IV 98 mg、V 15 mg、VI 63 mg,氯仿-甲醇(100:12)洗脱部分得 VII 105 mg。

3 结构鉴定

化合物 I:白色针晶,mp 190℃~191℃;UV、IR、¹H、¹³CNMR 数据与 salicyloyltremuloidin^[1,2]基本一致,鉴定化合物 I 为 salicyloyltremuloidin。

化合物 II:淡黄色粉末,mp 119℃~120℃;UV、IR、¹H、¹³CNMR 数据与特里杨苷^[2,3]基本一致,鉴定化合物 II 特里杨苷。

化合物 III:白色针晶,mp 204℃~206℃;UV、IR、¹H、¹³CNMR 数据与 tremuloidin^[2,3,4]基本一致,鉴定化合物 III 为 tremuloidin。

化合物 IV:淡黄色胶体,UV、IR、¹H、¹³CNMR 数据与 salicortin^[2,4]基本一致,鉴定化合物 IV 为 salicortin。

化合物 V:白色针晶,mp 167℃~168℃;UV、IR、¹H、¹³CNMR 数据与 salicyloylsalicin^[5]基本一致,鉴定化合物 V 为 salicyloylsalicin。

* Address: Wang Xin, Department of Analysis Chinese Materia Medica, China Pharmaceutical University, Nanjing
王欣女,1993 年毕业于西北大学植物系,同年考入中国药科大学攻读生药学硕、博士学位,1998 年获得博士学位,现在美国工作。

** 通讯联系人

化合物Ⅵ:白色针晶,mp 190℃~191℃;UV、IR、¹H、¹³CNMR 数据与 grandidentatin^[2,5]基本一致,鉴定化合物Ⅵ为 grandidentatin。

化合物Ⅶ:白色针晶,mp 156℃~157℃;UV、IR、¹H、¹³CNMR 数据与 salireposide^[2,7]基本一致,鉴定化合物Ⅶ为 salireposide。

参考文献

- 1 Thieme H. Pharmazie, 1963, 18:770
- 2 Dommissie R A, Van H L, Vietinck A J. Phytochemistry, 1986, 25(5):1021
- 3 林茂,李守珍.药学学报,1993,28(6):437
- 4 Lindroth L R, Stephen M T, Scriber J M. Biochem Syst Ecol, 1987, 15(6):677
- 5 Pearl I A, Darling S F. Tappi, 1965, 48(9):506
- 6 Pearl I A, Darling S F. J Org Chem, 1962, 27(5):1806
- 7 裴月湖,李晓华,王素贤,等.中草药,1983,14(10):1

(1999-12-21 收稿)

从蜂毒中分离纯化蜂毒肽的实验研究[△]

江西中医学院基础部(南昌 330006) 徐彭* 欧阳永伟 黄敬耀 张桂英 肖诚 刘波

摘要 为了建立一条适合国内采用的提取纯化蜂毒肽的工艺路线,本课题采用溶媒萃取、化学裂解和含与不含 4 mol/L 脲的醋酸盐缓冲液的两次凝胶过滤柱层析的方法,可以从蜂毒中得到电泳纯的蜂毒肽,其静脉注射的 LD₅₀ 为 4.0 mg/kg,在试管内的 HD₅₀ 为 8.0 mg/L,在 0.25 mg/L 时,即可使红细胞膜的流动性有明显增强。

关键词 蜂毒 蜂毒肽 分离纯化 溶媒萃取法 化学裂解法 凝胶过滤柱层析

蜜蜂毒(Bee Venom,简称蜂毒)是由蜜蜂毒腺产生后贮存于毒囊中,当蜜蜂受刺激时从其尾部螫针排出的一种毒液,蜂毒能治病的偶然,开创了人类利用蜂毒治病的悠久历史。虽然蜂毒是经受了千百年长时期考验的对某些疾病确有疗效的天然药物,古今中外对蜂毒医疗应用积有丰富的经验,而且蜂毒资源丰富,现代关于蜂毒的基础与应用研究也相当活跃,但到目前为止,蜂毒的临床应用仍很有限,尚未有任何国家将蜂毒的制剂收入药典,究其原因,主要是蜂毒的成分众多,作用复杂,制成单体制剂的工艺复杂,成本较高,因此,探索提纯蜂毒单体成分的研究很有意义。在蜂毒的众多成分中,以蜂毒肽(melittin)的含量最高,生物活性最强,具有最为广阔的临床应用前景^[1]。国外虽有其分离提纯方法的报道^[2,3],但其工艺复杂、条件苛刻,难以在工业生产中采用。本文报道一条适合国内使用的提取纯化蜂毒肽的工艺路线。

1 试剂与仪器

1.1 蜜蜂毒:购自浙江省缙云县养蜂场,系由西方蜜蜂(*Apis mellifera*,亦称为意蜂)的工蜂螫针排出的一种毒液,用取毒器收集并干燥成粉末状。购进后,经蒸馏水(4℃)溶解并过滤除去蜜蜂螫针等不溶物,冷冻干燥得淡黄色粉末(此为原料蜂毒),干燥

器内保存备用。

1.2 试剂:葡聚糖凝胶 Sephadex G-10、G-25、G-50 均为中国长征制药厂产品,盐酸胍、溴化氰均为华美生物工程公司进口分装产品、化学纯,Ampholin 为瑞典 LKB 公司产品,亚硫酸钠和对氯汞苯甲酸均为国产化学纯,氨水、正丁醇、甲酸等均为国产分析纯。

1.3 仪器:HD-85-5 AI 核酸蛋白检测仪为浙江省永嘉电器厂产品,WLB-78-C 型电子微量泵为浙江新昌国康仪器厂产品,BS-100A 自动部分收集器和 TH-1000 梯度混合器均为上海沪西分析仪器厂产品,ZF-Q81 旋转浓缩蒸发器为上海医械专机厂产品,Yamato 冷冻干燥器为日本大和株式会社产品,DYY-Ⅲ 8B 型稳压稳流定时电泳仪为北京六一仪器厂产品,721 分光光度计为上海第三分析仪器厂产品。

1.4 动物:昆明种小鼠、普通种家兔均由江西中医学院动物房提供。

2 方法与结果

2.1 蜂毒肽的分离纯化

2.1.1 蜂毒的溶媒萃取:参照文献^[2],取蜂毒 500 mg,溶于 30 mL 0.15 mol/L NH₄OH 中,加入 20 mL 正丁醇,剧烈振摇,离心(3 000 r/min) 20 min,收集醇层并继续用正丁醇萃取 2 次,合并萃取液,25℃回收正丁醇,冷冻干燥,得产物 A(简称 A) 437

* Address: Xu Peng, Department of Basic, Jiangxi College of TCM, Nanchang

徐彭男,1981年毕业于江西中医学院药学专业,理学士,副教授,江西中医学院基础部副主任。主要从事生物毒素的分离提纯及其生物学作用和中药药理的实验研究,参与或主持过多个国家及省部级科研课题,在国内学术刊物上发表论文 10 余篇。联系电话:0791-6811713。

[△]本课题为国家中医药管理局青年基金资助课题