

2.3 Extraction and isolation The dried powder (7.25 kg) was extracted three times with MeOH for ten days each time at room temperature. After removal of the solvent, the residue was suspended in H₂O and successively extracted with petroleum ether (bp 60 °C~ 90 °C), EtOAc and *n*-BuOH. The *n*-BuOH extracts (108 g) were subjected to silica gel (CHCl₃-MeOH= 35 : 1) column chromatography to obtain six fractions. Fraction sixth was chromatographed over silica gel eluted with CHCl₃-MeOH (20 : 1) to afford compound I (30 mg).

2.4 Identification Compound I white powder, IR_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 432, 2 946, 2 936, 1 710, 1 112, 1 075, 1 040. HR-FAB-MS [M + H]⁺ m/z 767.455 8 (C₄₁H₆₇O₁₅, calcd. 767.458 2). FAB-MS (-) m/z 765 [M - H]⁻, 603 [M - glc]⁻. FABMS (+) m/z 767 [M + H]⁺, 605 [M - glc + H]⁺, 455 [M - glc - rib - H₂O + H]⁺.

Hydrolysis of I : Compound I (8 mg) hydrolyzed with 0.5 mol/L H₂SO₄ (5 mL, EtOH-H₂O = 1 : 1) in boiling water bath for 4 h. After removal of EtOH under reduced pressure, the mixture was extracted with chloroform three times. The organic layer was evaporated to dryness to give Ia (5 mg).

Acetylation of I : Compound I (2 mg) was acetylated with Ac₂O-pyridine (1 : 2, 0.75 mL) at room temperature for 48 hours to yield acetate of I. EI-MS (m/z): 331, 259.

References

- [1] 张晓疆,彭树林,肖顺昌,等.单条草的皂苷成分[J].植物学报,1999,41(5): 534-536.
- [2] Shashi B M, Asish R K. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids— a compilation and some salient features [J]. Phytochemistry, 1994, 37(6): 1517-1575.
- [3] Amoros M, Girre R L. Structure of two antiviral triterpene saponins from *Anagallis arvensis* [J]. Phytochemistry, 1987, 26(3): 787-791.
- [4] 廖 循,李伯刚,丁立生,等.复伞银莲花中的三萜皂苷[J].有机化学,2001,21(4): 299-304.

山楂化学成分研究

孙敬勇,杨书斌,谢鸿霞,李贵海,邱海霞*
(山东省中医药研究所,山东 济南 250014)

摘要:目的 从山里红 *Crataegus pinnatifida* var. *major* 的成熟干燥果实寻找中药山楂中的专属性成分和降血脂的活性成分。方法 利用多种柱色谱技术进行分离和纯化,根据 UV、IR、EI-MS、FAB-MS、¹H NMR、¹³C NMR、HMBG、HMQC 和 ¹³C GATE 等波谱数据分析鉴定结构。结果 从山里红成熟果实中分离鉴定了 6 个化合物,分别为: 5,7,4'-三羟基黄酮-8-C α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷(I),即牡荆素鼠李糖苷(vitexin rhamnoside),金丝桃苷(hyperoside,II),枸橼酸(citric acid,III),牡荆素(vitexin,IV),槲皮素(queracetin,V),熊果酸(ur-solic acid,VI)。结论 化合物I 为中药山楂中的专属性成分,首次由山里红果实中分得,化合物II 为山楂中的降血脂主要黄酮成分。

关键词: 山里红;牡荆素鼠李糖苷;金丝桃苷

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)06-0483-04

Studies on chemical constituents from fruit of *Crataegus pinnatifida*

SUN Jing-yong, YANG Shu-bin, XIE Hong-xia, LI Gui-hai, QIU Hai-xia
(Shandong Institute of TCM, Jinan Shandong 250014, China)

Abstract **Object** To look for the proprietary constituent and the constituents with blood lipid regulating effect from the dried fruit of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br. **Methods** Various column chromatographic techniques were employed for isolation and purification of the constituents. UV,

* 收稿日期: 2001-08-23

基金项目: “九五”国家重点科技攻关项目 (96-903-02-03)

作者简介: 孙敬勇 (1970-),男,山东省人,助理研究员,1992年毕业于上海医科大学药学院药物化学专业获理学学士学位。主要从事中药新药开发研究。Tel (0531) 2968470-3027

IR, EI-MS, FAB-MS, $^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{CNMR}$, HMBC, HMQC and $^{13}\text{CGATE}$ were used to identify the structure of the isolated constituents. **Results** Six compounds were isolated from the fruit of *C. pinnatifida*. They were identified as 5, 7, 4'-trihydroxy-flavone-8-C- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside, i. e. vitexin rhamnoside (I), hyperoside (II), citric acid (III), vitexin (IV), quercetin (V), ursolic acid (VI). **Conclusion** Compound I is a proprietary constituent in the fruit of *C. pinnatifida*, which was obtained from this plant for the first time. Compound II is a main constituent with blood-lipid reducing effect in flavonoids.

Key words *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br.; vitexin rhamnoside; hyperoside

山楂为蔷薇科植物山里红 *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br. 或山楂 *C. pinnatifida* Bge. 的干燥成熟果实,具有消食健胃和行气散瘀的功能。近年来,用其治疗心血管方面疾病的研究较多。其化学成分主要为有机酸和黄酮类。但中药山楂中的专属性成分和降血脂的主要活性成分的研究尚未见报道。本文研究了中药山楂主要来源之一的山里红成熟果实的化学成分,从中分离鉴定了6个化合物,通过理化性质和光谱测定,分别鉴定为牡荆素鼠李糖苷(vitexin rhamnoside, I)、金丝桃苷(hyperoside, II)、枸橼酸(citric acid, III)、牡荆素(vitexin, IV)、槲皮素(quercetin, V)和熊果酸(ursolic acid, VI)。其中化合物I首次由山里红成熟果实中分得,为中药山楂的专属性成分;化合物II为中药山楂中降血脂的主要黄酮成分。文献^[1]报道化合物I中鼠李糖的位置未定,亦有文献^[2]认为鼠李糖与B环的C4'-O- π h相连接。化合物I的 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{CNMR}$ 、HMBC、HMQC和 $^{13}\text{CGATE}$ 表明,牡荆素鼠李糖苷的结构为: 5, 7, 4'-三羟基黄酮-8-C- α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷,首次确定了化合物I的结构。

化合物I为黄色结晶, mp 210 $^{\circ}\text{C}$ ~212 $^{\circ}\text{C}$, 与Mg-HCl试剂呈阳性反应, 与Molish试剂呈阳性反应, 初步推断为黄酮苷类化合物。UV $_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 270, 305, 327; IR(KBr) cm^{-1} : 3406(OH), 1655(C=O), 1612, 1572, 1506(C_6H_6), 进一步确证该化合物为黄酮苷类。FAB-MS m/z 579(M^+ H), 相对分子质量为578, 推定其分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$, m/z 433(M^+ H-146)为脱掉一个甲基五碳糖的碎片离子。 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DM SO-d_6 , TMS) δ 0.48(3H, d, 6.0 Hz)为一个甲基的质子信号, δ 4.77(1H, d, 10.0 Hz)和 δ 4.99(1H, s)分别为2个糖的端基质子信号, δ 4.34~5.28(6H)分别为2个糖的6个羟基质子信号, δ 6.27(1H, s), δ 6.81(1H, s), δ 6.91(2H, d, 9.0 Hz), δ 8.06(2H, d, 9.0 Hz)分别为苷元的6个质子

信号, δ 10.39(1H, s), δ 10.90(1H, s), δ 13.16(1H, s)分别为苷元上的3个酚羟基的质子信号。I经酸水解后TLC可检出L-鼠李糖、牡荆素及可能为牡荆素发生Wessly-Moser重排后产生的异构体—异牡荆素^[3]。 $^{13}\text{CNMR}$ 谱显示27个碳信号, 其中12个是糖部分的碳信号, 15个是苷元芹菜素的碳信号。综合上述数据推定I为牡荆素鼠李糖苷。

通过对I的 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{CNMR}$ 、HMBC和HMQC等谱的分析, 确定了每个碳信号和质子信号的归属(表1)。因5-OH信号 δ (13.16)位于最低场, HMBC谱显示与3个碳有相关关系, 确定3个碳信号归属的5-C(δ 160.7)、6-C(δ 98.3)、10-C(δ 104.3), 根据6-C(δ 98.3)由HMQC谱确定6-H(δ 6.27), HMBC谱显示6-H与5-C、10-C有相关关系, 还与另2个碳有相关关系, 归属为7-C(δ 162.4)、8-C(δ 104.5), 7-OH(δ 10.90)由HMBC谱显示与8-C、7-C、6-C有相关关系, 进一步证实上述推定是正确的。4-C信号(δ 182.2)位于最低场, 与3-H(δ 6.81)有相关关系, 3-H由HMBC谱显示与2-C(δ 164.0)有相关关系, 根据3-H信号由HMQC谱确认C-3(δ 102.5)。2-C除与3-H有相关关系外, 还与2个氢显示相关关系, 归属为2', 6'-H(δ 8.06), 另2个氢信号归属为3', 5'-H(δ 6.91), 根据HMQC谱确定2', 6'-C(δ 129.1)、3', 5'-C(δ 115.9), 由4'-OH(δ 10.39)根据HMBC谱归属4'-C(δ 161.2)。苷元的碳和氢的相关关系见图1。

化合物I经酸水解后TLC可检出L-鼠李糖、牡荆素, 通过对HMBC、HMQC及 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{CNMR}$ 和 $^{13}\text{CGATE}$ 等波谱分析归属了2个糖的所有碳信号和氢信号(表1), 支持了2个糖为D-葡萄糖和L-鼠李糖。

在I的HMBC谱中, 8-C与7-OH、6-H有相关关系外, 还与Glu-1-H有相关关系, 从而进一步证实苷元与Glu通过C-C键相连, Glu-1-H(δ 4.77, d, 10.0 Hz)表明苷键构型为 β 型, 通过HMQC谱确

认 Glu 1-C(δ 71. 7), Glu 2-C(δ 75. 1),依次类推归属了 7个 Glu-H信号,3个 Glu-OH信号及 6个 Glu-C信号。HMBC谱显示 Glu 2-C与 Glu 1-H Glu 3-H Glu 4-H有相关关系外,还与 Rha 1-H(1H, δ 4. 99, s)有相关关系,与 Rha 2-H(1H, δ 3. 59, s)没有相关关系,表明 Glu 2-C与 Rha 1-C(δ 100. 4)通过 -O 键相连。根据 HMBC谱、HMQC谱将 8个 Rha-H,3个 Rha-OH,6个 Rha-C分别归属后与已知的鼠李糖碳信号进行了比较^[4],初步确定苷键构型为 α 型。¹³C GATE图谱显示鼠李糖的端基碳原子与氢原子的偶合常数¹ J_{CH} = 170 Hz,故进一步确定该苷键构型为 α -L-鼠李糖苷^[4]。综上数据推断化合物 I 的结构为: 5, 7, 4'-三羟基黄酮-8-C- α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 2) β -D-吡喃葡萄糖苷。

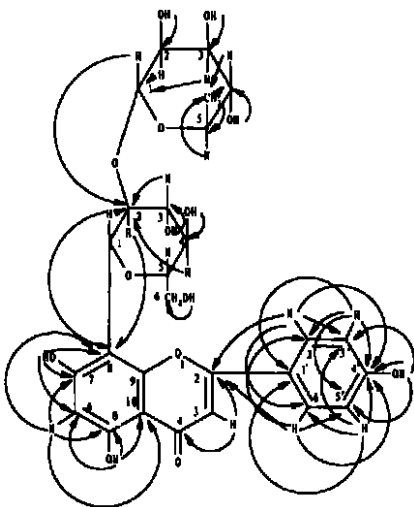


图 1 化合物 I 的 HMBC谱

表 1 化合物 I 的 ¹H, ¹³CNMR化学位移

No.	¹ H	J(Hz)	¹³ C	No.	¹ H	J(Hz)	¹³ C
5, 7, 4'-三羟基黄酮				Glu			
2	-		164. 0	1	4. 77 d	10. 0	71. 7
3	6. 81 s		102. 5	2	4. 06 dd	10. 0, 8. 5	75. 1
4	-		182. 2	3	3. 39 dd		79. 9
5	13. 16 brs		160. 7		5. 27 b rd	5. 5	
6	6. 27 s		98. 3	4	3. 46 dd		70. 5
7	10. 90 brs		162. 4		5. 13 b rd	5. 5	
8	-		104. 5	5	3. 26 dd	6. 5, 7. 0	81. 9
9	-		155. 9	6	a 3. 78 m		61. 2
10	-		104. 3		b 3. 54 m		
1'	-		121. 7		4. 67 b rd d	6. 0, 5. 0	
2'	8. 06 d	9. 0	129. 1	Rha			
3'	6. 91 d	9. 0	115. 9	1	4. 99 s		100. 4
4'	10. 39 brs		161. 2	2	3. 59 s		70. 7
5'	6. 91 d	9. 0	115. 9		4. 46 b rd	4. 5	
6'	8. 06 d	9. 0	129. 1	3	3. 10 m		70. 3
					4. 35 b rd	4. 5	
				4	2. 92 m		71. 5
					4. 46 b rd	4. 5	
				5	2. 11 dd	10. 0, 6. 0	68. 3
				6	0. 48 d	6. 0	17. 8

1 仪器和材料

熔点用 Reichert 型熔点测定仪测定(温度未校正);紫外光谱用 UV-265FW 型紫外光谱仪(岛津)测定;红外光谱用 KBr 压片,以 Perkin-Elmer 1720 型红外光谱仪测定;核磁共振谱以 Inova-500 型核磁共振仪测定,以 TMS 为内标;质谱以 Zabspec 型质谱仪测定。柱层析聚酰胺(80~ 180 目)由浙江四青生化材料厂生产;柱层析硅胶和薄层层析硅胶 H 由青岛海洋化工厂生产。生药于 1997 年 10 月初采自济南仲宫,经鉴定为蔷薇科植物山里红 *C. pinatifida* Bge. var. *major* N. E. Br. 的成熟果实,采收后切片,晒干,筛去脱落的果核

2 提取和分离

取山里红成熟果实加工而成的中药山楂饮片 20 kg,以 95%工业乙醇回流提取 3 次,提取液合并,滤过,滤液减压回收乙醇,得浓缩浸膏,浸膏加适量水,混匀,依次用氯仿、乙酸乙酯提取,分别回收提取溶剂,得氯仿提取物 600 g,乙酸乙酯提取物 480 g 和水溶性部分。水溶性部分经聚酰胺和硅胶柱层析得到化合物 I 和 III,乙酸乙酯提取物经聚酰胺和硅胶柱层析得到化合物 II、IV、V,由氯仿提取物的硅胶柱层析得到化合物 VI。

3 结构鉴定

化合物 I :黄色结晶, mp 210℃~ 212℃。与 Mg-HCl 试剂呈阳性反应,与 Molish 试剂呈阳性反应。UV λ_{max}^{MeOH} m m 270, 305, 327; IR (KBr) cm^{-1} :

3 406 (OH), 1 655 (C= O), 1 612, 1 572, 1 506 (C₆H₅); FAB-MS *m/z* 579 (M⁺ H), 433 (M⁺ H-146); ¹HNMR (500 MHz, DM SO-d₆, TMS) δ 0. 48 (3H, d, 6. 0 Hz, Rha 6-C₆H₅), 4. 77 (1H, d, 10. 0 Hz, Glul-H), 4. 99 (1H, s, Rha 1-H), 6. 27 (1H, s, 6-H), 6. 81 (1H, s, 3-H), 6. 91 (2H, d, 9. 0 Hz, 3', 5'-H), 8. 06 (2H, d, 9. 0 Hz, 2', 6'-H), 10. 39 (1H, s, 4'-OH), 10. 90 (1H, s, 7-OH), 13. 16 (1H, s, 5-OH)。其他 ¹HNMR 和 ¹³CNMR 谱化学位移详见表 1

I 酸水解: 将化合物 I 用 6% 盐酸沸水浴水解 45 min, 取出放冷后通过已处理好的聚酰胺柱 (聚酰胺 80~ 120 目, 柱 Φ= 2 cm, h= 6 cm), 先用水 50 mL 洗脱, 洗脱液另器收集, 再用甲醇 50 mL 洗脱, 收集甲醇洗脱液, 分别蒸干。甲醇洗脱液部分点于聚酰胺薄膜上, 36% 醋酸展开, 除显示与牡荆素 R_f 值相同的一个斑点外, 在化合物 I 和牡荆素之间且紧靠牡荆素处还有一黄色斑点, 可能为水解时发生了 Wessly-Moser 分子重排而生成的异牡荆素^[4], 水洗脱液部分点于硅胶 G 薄层板上, 用醋酸乙酯-甲醇-醋酸-水 (12: 3: 3: 2) 展开, 显示与 L 鼠李糖 R_f 值相同的一个斑点。

化合物 II: 黄色针状结晶 (EtOH), mp 237℃~ 239℃。与 Mg-HCl 试剂呈阳性反应, 与 Molish 试剂呈阳性反应。UV, FABMS ¹H ¹³CNMR 数据与文献^[5]报道的金丝桃苷的波谱数据基本一致。

II 酸水解: 化合物 II 经 2 mol/L HCl 水解, 乙酸乙酯提取得黄色结晶, mp 305℃~ 307℃, 薄层层析 R_f 值与槲皮素一致, 证明苷元为槲皮素。薄层层析鉴别水解液中的糖为 D-半乳糖。化合物 II 纸上锆-枸橼酸-盐酸反应黄色再现, 显示其为黄酮醇-3-苷^[6]。因此推断化合物 II 为金丝桃苷。

化合物 III: 无色针状结晶, mp 148℃~ 150℃。其 MS 数据与文献^[7]报道的枸橼酸的波谱数据基本一致。薄层层析与已知的枸橼酸样品对照 R_f 值一致, 混合熔点不下降, 因此推断化合物 III 为枸橼酸。

化合物 IV: 黄色结晶 (EtOH), mp 235℃~ 236℃, 与 Mg-HCl 试剂呈阳性反应。UV, IR, MS ¹H ¹³CNMR 数据与文献^[9]报道的牡荆素的波谱数据基本一致。

IV 酸水解: 化合物 IV 经 2 mol/L HCl 水解 6 h, 无苷元产生, 薄层层析亦未检出糖。根据理化反应和波谱数据, 推断化合物 IV 为牡荆素, 即 5, 7, 4'-三羟基黄酮-8-Cβ-D-葡萄糖苷。

化合物 V: 黄色针状结晶 (EtOH), mp 306℃~ 307℃, 与 Mg-HCl 试剂呈阳性反应。理化性质及光谱数据与文献^[5,9]报道的槲皮素的波谱数据基本一致。与已知槲皮素的混合熔点不下降, 其薄层层析显示与槲皮素 R_f 值相同的一个斑点。根据理化性质和波谱数据推断化合物 V 为槲皮素, 即 3, 5, 7, 3', 4'-五羟基黄酮。

化合物 VI: 白色针状结晶 (EtOH), mp 277℃~ 278℃。理化性质及光谱数据与文献^[10]报道的熊果酸的基本一致。与已知熊果酸的混合熔点不下降, 其薄层层析显示与熊果酸 R_f 值相同的一个斑点, 故推断化合物 VI 为熊果酸。

致谢: 本实验得到中国军事医学科学院李军林博士的支持和帮助。

参考文献:

- [1] 中国科学院上海药物研究所植物化学研究室. 黄酮体化合物鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 1981.
- [2] 徐礼, 沙世炎. 中草药有效成分分析法 (下册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1984.
- [3] 姚新生. 天然药物化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
- [4] 陈德昌. 碳谱及其在中草药化学中的应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- [5] 丁杏苞, 姜岩青, 仲英, 等. 山楂叶化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 1990, 15: 295-297.
- [6] 王兆全, 王先荣. 红旱莲有效成分的研究 [J]. 药学报, 1980, 15: 365-367.
- [7] 谢玉如, 戴伦凯, 郭梦如, 等. 山里红的成分分析及国产山楂属植物果实的比较 [J]. 植物学报, 1981, 23: 383-388.
- [8] 董英杰, 张乃先, 张明磊, 等. 大果山楂叶黄酮成分研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 1996, 13(1): 31-33.
- [9] Teanette G G. Atlas of Spectra Data and Physical Constants for Organic Compounds. 2nd. 1975 s 284, f 140.
- [10] 于德泉, 杨峻山. 分析化学手册 (第七分册, 核磁共振波谱分析) [M]. 北京: 化学工业出版社, 1999.

亲脂性葡聚糖凝胶 LH-20

本品以葡聚糖凝胶 G-25 为基质, 经羟丙基化后所得, 集凝胶过滤、分配色谱和吸附层析于一体, 适合用有机溶剂分离的亲脂性小分子化合物纯化, 能将结构性能非常相近的有机物得以分离, 尤其适合中草药中具有生理活性有效成分的分离, 如多酚类黄酮、胆固醇、脂肪酸、激素、维生素等。多年来我院从事葡聚糖凝胶系列产品生产, 产品性能达到国外同类产品水平。欢迎大家来电来函, 我们将提供性能稳定的合格产品。

目前我们还生产葡聚糖、琼脂糖类离子交换剂等产品。

单位: 上海医药工业研究院

地址: 上海市北京西路 1320 号 电话: (021) 62479808 转 475 分机 传真: (021) 62791715 转徐伟收

网站 [http / / www. biosepcn. com](http://www.biosepcn.com) E-mail [webmaster@ biosepcn. com](mailto:webmaster@biosepcn.com) 邮编: 200040 联系人: 王芝祥 徐伟