

山葡萄根化学成分研究

赵艳¹, 姜红祥^{2*}

(1. 青岛市立医院, 山东 青岛 266011; 2. 山东大学药学院, 山东 济南 250012)

葡萄属植物为葡萄科多年生木质藤本植物, 全球有 60 余种, 分布于温带和亚热带, 中国约有 38 种, 其中山葡萄 *Vitis amurensis* Rupr. 是该属植物中抗寒能力最强的种类^[1]。葡萄属植物是植物界中的一个重要门类, 其中富含活性成分, 是新化合物的重要来源。近几年, 许多结构独特的新骨架化合物不断从葡萄属植物中分离获得, 其中一些类型的化合物表现出良好的活性。文献报道山葡萄能够治疗风湿痹痛^[2], 对大鼠实验性关节炎疗效显著^[3], 并具有抗衰老、抗氧化等作用^[4,5], 为寻找有意义的活性成分, 笔者对山葡萄的根进行了化学成分的系統研究, 分离得到 12 个化合物: 羽扇豆醇(I), 白桦酸(II), 大黄素(III), 槲皮素(IV), 白藜芦醇(V), 蛇葡萄素 A(VI), (-)-cis-vitisin B(VII), (-)-vitisin B(VIII), 肌醇(IX), 水杨酸(X), 谷甾醇(XI), 胡萝卜苷 XII。其中化合物 I~IV 和 VI~X 均为首次从该种植物中分离获得。化合物 V 含量很高, 因其具有抗动脉硬化、抗血栓形成等多种活性, 有较好的开发利用价值。化合物 X 的大量存在对该种植物的镇痛作用提供了一定的理论依据。

1 仪器与材料

X4 型显微熔点测定仪; Waters 600-996 半制备型高效液相色谱仪(制备柱为 PrePak® Cartridge (25 mm×100 mm), Delta-Pak™ C₁₈ 15 μm); Eyela N-1000 旋转蒸发仪; Nicolet Nexus 470 FT-IR 型红外分光光度计; DRX-500、Inova-600、TCM-300 核磁共振光谱仪。各种色谱用硅胶均为青岛海洋化工厂产品, 层析及重结晶用试剂均为分析纯, HPLC 用试剂为色谱纯, 实验用山葡萄根 2000 年 7 月采自山东省淄博博山自然保护区海拔 1 000 m 以上的高山区, 经山东大学药学院生药学教研室李允尧教授鉴定为山葡萄 *V. amurensis* Rupr. 的根。

2 提取与分离

山葡萄根(5 kg)自然干燥、粉碎, 95% 乙醇回流提取 3 次, 减压浓缩得乙醇浸膏(648 g)。浸膏用适当体积温水混悬, 依次用醋酸乙酯、正丁醇萃取, 得到极性不同的 3 个部分。醋酸乙酯萃取部分(327 g)

经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮梯度洗脱, 分成不同部分。各部分反复用小硅胶柱和 Sephadex LH-20 (CHCl₃-MeOH=1:1) 处理, 得化合物 I (11 mg), II (305 mg), III (11 mg), IV (13 mg), V (1 100 mg), XI (600 mg), XII (30 mg)。去除 III、IV、V、XII 后剩余的石油醚-丙酮(6:4)部分经 HPLC 制备, 得化合物 VI (35 mg), VII (29 mg), VIII (65 mg)。正丁醇萃取部分(106 g)经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇梯度洗脱得化合物 IX (15 mg)、X (23 g)。

3 化合物 VIII 的乙酰化

由于在实验过程中观察到化合物 VIII 在空气中极易氧化变色, 对其进行了全乙酰化, 步骤如下: 化合物 VIII 适量, 用无水醋酐溶解, 加少量吡啶, 磁子搅拌反应 48 h, 将反应后的溶液慢慢滴加到适量水中, 边加边搅拌, 沉淀过滤, 真空干燥得产物, 记为 VIII_A。TLC 检查斑点单一, 且同一展开剂 R_f 值大于化合物 VIII, 说明已经完全乙酰化, 对化合物 VIII_A 进行了鉴定, 从而确定化合物 VIII 的结构。

4 结构鉴定

化合物 I: 白色簇状结晶, 10% 硫酸乙醇显色紫色, Rosen-Heimer 反应阳性。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 光谱数据和文献对照^[6,7], 鉴定化合物 I 为羽扇豆醇。

化合物 II: 白色簇状结晶, mp 301~304 °C (MeOH), 10% 硫酸乙醇显色紫色, Rosen-Heimer 反应阳性。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 光谱数据和文献对照^[8], 鉴定化合物 II 为白桦酸。

化合物 III: 橘黄色簇状结晶, mp 250~252 °C (MeOH), ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 光谱数据和大黄素完全一致^[9], 鉴定化合物 III 为大黄素。

化合物 IV: 黄色粉末, TLC 检查紫外灯下 254 nm 有亮黄色荧光, 三氯化铝显色后颜色加深, 盐酸镁粉反应呈阳性。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 光谱数据和槲皮素完全吻合^[10], 鉴定化合物 IV 为槲皮素。

化合物 V: 土黄色菊花状结晶, mp 255~258 °C (MeOH), 10% 硫酸乙醇显色红色, 三氯化铁-铁氰化钾显色蓝色。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 光谱数据(表 1)与文献对照^[11], 鉴定化合物 V 为白藜芦醇。

表 1 化合物 V ~ VII 和 VIII_A ¹³C-NMR 和 ¹H-NMR 光谱数据Table 1 ¹³C-NMR and ¹H-NMR spectral data for compounds V ~ VII and VIII_A

碳位	V	VI	VII	VIII _A	H	V	VI	VII	VIII _A
1a	130.4	131	134.2	138.4	2a	7.34 (d, <i>J</i> =8.4 Hz)	7.02 (d, <i>J</i> =8.5 Hz)	7.12	7.32
2a	128.9	130	128.0	126.4	3a	6.77 (d, <i>J</i> =8.4 Hz)	6.68 (d, <i>J</i> =8.5 Hz)	6.76	7.08
3a	116.5	116	116.4	121.9	5a	6.77 (d, <i>J</i> =8.4 Hz)	6.68 (d, <i>J</i> =8.5 Hz)	6.76	7.08
4a	158.2	158.8	158.5	150.5	6a	7.34 (d, <i>J</i> =8.4 Hz)	7.02 (d, <i>J</i> =8.5 Hz)	7.12	7.32
5a	116.5	116	116.4	121.9	7a	6.82 (d, <i>J</i> =16.2 Hz)	5.70 (d, <i>J</i> =11 Hz)	5.30	5.53
6a	128.9	130	128.0	126.4	8a	6.98 (d, <i>J</i> =16.2 Hz)	4.02 (d, <i>J</i> =11 Hz)	4.27	4.53
7a	127.0	89	94.9	92.6	10a	6.47 (d, <i>J</i> =2.1 Hz)		5.97	6.60
8a	129.5	49.7	57.9	56	12a	6.20 (dd, <i>J</i> =2.1, 2.1 Hz)	6.31 (d, <i>J</i> =2 Hz)	6.06	6.80
9a	141.4	143	147.6	144.9	14a	6.47 (d, <i>J</i> =2.1 Hz)	6.10 (d, <i>J</i> =2 Hz)	5.97	6.60
10a	105.9	119.1	107.2	117.6	2b		6.82 (d, <i>J</i> =8.5 Hz)	6.54	6.64
11a	159.6	59.1	160.0	151.5	3b		6.59 (d, <i>J</i> =8.5 Hz)		
12a	102.7	101	102.5	114.7	5b		6.59 (d, <i>J</i> =8.5 Hz)	6.56	6.76
13a	159.6	157.3	160.0	151.5	6b		6.82 (d, <i>J</i> =8.5 Hz)	6.91	7.01
14a	105.9	105	107.2	117.6	7b		5.38 (d, <i>J</i> =5.1 Hz)	5.96	6.35
1b		133	131.7	130.5	8b		5.39 (d, <i>J</i> =5.1 Hz)	6.06	6.72
2b		129	127.0	124.8	12b		6.11 (d, <i>J</i> =2 Hz)	6.17	6.60
3b		115.6	132.7	130.0	14b		6.53 (d, <i>J</i> =2 Hz)	6.20	6.85
4b		156.2	160.0	159.0	2c			6.60	6.77
5b		115.6	110.0	110.3	3c			6.54	6.84
6b		129	130.0	126.9	5c			6.54	6.84
7b		44.0	126.7	121.7	6c			6.60	6.77
8b		71.6	131.5	131.2	7c			5.44	5.38
9b		139	137.5	135.8	8c			4.22	4.24
10b		119.8	120.3	123.3	12c			6.28	6.70
11b		160.4	162.7	160.6	14c			6.11	6.37
12b		97	96.8	102.3	2d			7.01	7.30
13b		159.2	159.4	152	3d			6.73	7.01
14b		110	108.8	110.6	5d			6.73	7.01
1c			132.5	137.7	6d			7.01	7.30
2c			127.8	126.7	7d			5.21	5.57
3c			116.2	121.5	8d			3.85	4.585
4c			158	150.3	10d			5.93	6.82
5c			116.2	121.5	12d			6.09	6.82
6c			127.8	126.7	14d			5.93	6.82
7c			92.3	90.7	甲基				2.323
8c			52.9	52.1					2.306
9c			142.3	141.3					2.297
10c			120.3	123.7					2.264
11c			162.7	160.8					2.241
12c			96.7	102.8					2.225
13c			160.4	152.5					2.225
14c			107.3	113.8					2.221
1d			133.9	138.1					2.221
2d			128.5	126.2					
3d			116.3	122.0					
4d			158.4	150.6					
5d			116.3	122.0					
6d			128.5	126.2					
7d			94.9	92.6					
8d			57.8	56.6					
9d			147.2	144.4					
10d			107.3	118.5					
11d			159.5	151.5					
12d			101.9	114.6					
13d			159.5	151.5					
14d			107.3	118.5					
羰基				169.3					
				169.3					
				169.3					
				169					
				169					
				168.7					
				168.7					
				168.5					
				168.5					

化合物Ⅵ:黄褐色固体,紫外灯下 254 nm 有强烈蓝色荧光,10%硫酸乙醇显色红色,三氯化铁-铁氰化钾显色蓝色。根据¹H-NMR、¹³C-NMR、DEPT、HMBC、HMQC、NOESY 推断化合物Ⅵ为蛇葡萄素 A,其¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据(表 1)与文献对照完全一致^[12],鉴定化合物Ⅵ为蛇葡萄素 A。

化合物Ⅶ:黄褐色固体,紫外灯下 254 nm 有强烈蓝色荧光,10%硫酸乙醇显色红色,三氯化铁-铁氰化钾显色蓝色。其¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据(表 1)和(-)-*cis*-vitisin B 对照完全一致^[13],鉴定化合物Ⅶ为(-)-*cis*-vitisin B。

化合物Ⅷ:褐色固体,紫外灯下 254 nm 有强烈蓝色荧光,10%硫酸乙醇显色红色,三氯化铁-铁氰化钾显色蓝色。乙酰化产物Ⅷ_A为白色粉末,其¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据(表 1)与(-)-vitisin B 的乙酰化产物完全吻合^[14],从而鉴定化合物Ⅷ为(-)-vitisin B。

化合物Ⅸ:白色簇状结晶,Molish 反应呈阴性。IR 3 200~3 400 cm⁻¹显示羟基吸收。¹H-NMR 数据与文献一致。鉴定化合物Ⅸ为肌醇。

化合物 X:无色针状结晶,mp 157~159 °C (MeOH),三氯化铁-铁氰化钾显色深蓝色。根据苯环取代情况计算氢信号化学位移值,与¹H-NMR 实验值完全一致,鉴定化合物 X 为水杨酸。

化合物 XI:无色针晶,mp 134~136 °C (MeOH),其 R_f 值、IR 与标准化合物完全一致,鉴定化合物 XI 为β-谷甾醇。

化合物 XII:白色粉末,mp 304~309 °C (CHCl₃-MeOH),其 R_f 值、IR 与标准化合物完全一致,鉴定化合物 XII 为胡萝卜苷。

致谢:核磁共振波谱由上海中药创新中心和北京微量化学研究所分析中心测定,植物由山东大学

药学院生药学教研室李允尧教授鉴定。

References:

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edita. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 48(2), Beijing: Science Press, 1998.
- [2] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [3] Zhang S Y. The effect of *Vitis amurens* preparation on rat experimental arthritis [J]. *J Tradit Chin Med Chin Mater Med Jilin* (吉林中医药), 1987, 7(3): 35-36.
- [4] Liu Z S. The initial research of *Vitis amurens*' antisenile effect [J]. *Chin J Gerontol* (中国老年学杂志), 1993, 13(3): 166-167.
- [5] Wang J N, Lu Z Q. Antioxidant activity of polyphenols from seeds of *Vitis amurens* in vitro [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2000, 21(7): 633-636.
- [6] Wang G L, Hou Q Y, Zhang J, et al. Studies on the chemical constituents of the stems of *Alyxia sinensis* (L.) [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(2): 125-127.
- [7] Zhang X R, Wang M K, Peng S L, et al. Chemical constituents of *Pueraria peduncularis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(1): 11-14.
- [8] Zhou Y H, You Y, Zhao Y M, et al. Studies on chemical constituents of hairy root of *Cassia tora* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(11): 975-976.
- [9] Li Y S, Wang Z T, Luo S D. Study on the chemical constituents of *Ligularia kanquitzensis* (Franch) Hand. - Mazz. [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2001, 32(5): 342-345.
- [10] Zhang P C, Xu S X. Chemical constituents from the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36(10): 754-757.
- [11] Hu Y Q, Tu P F, Li R Y, et al. Studies on stilbene derivatives from *Dracaena cochinchinensis* and their antifungal activities [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(2): 104-106.
- [12] Li W W, Ding L S, Li B G, et al. Oligostilbenes from *Vitis heyneana* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42(4): 1163-1165.
- [13] Oshima Y. Novel oligostilbenes from *Vitis coignetiae* [J]. *Tetrahedron*, 1995, 51(44): 11979-11986.
- [14] Huang K S, Mao L, Yu L N, et al. Four novel oligostilbenes from the roots of *Vitis amurens* [J]. *Tetrahedron*, 2000, 56(10): 1321-1329.

美国 ALPHA 实验室认可

美中国际合作中国企业

葡萄籽提取物

(原花青素≥95%)

专业生产厂家

电话: 0086-022-26721040; 26723305; 26737125

传真: 0086-022-26721041

网址: <http://www.jf-natural.com>

Tianjin Jianfeng Natural Product R & D Co., Ltd

天津尖峰天然产物公司

天津北辰科技园园路