

161.3、116.9、135.1、118.8、130.2。以上数据与 Sadtler 标准光谱一致,故鉴定化合物 IV 为水杨酸。

化合物 V: 白色针晶, mp 250~252。溴甲酚绿反应阳性,三氯化铁-铁氰化钾反应阳性,Emerson 反应阳性,示羟基对位无取代。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DM SO-d<sub>6</sub>) δ 7.44 (1H, br. s), 7.42 (1H, d, J = 8.7 Hz), 6.83 (1H, d, J = 8.7 Hz), 3.80 (3H, s, OCH<sub>3</sub>)。以上理化性质和数据与文献报道一致<sup>[5]</sup>,故鉴定化合物 V 为异香草酸。

化合物 VI: 无色针晶, mp 105~107。溴甲酚绿反应阳性。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DM SO-d<sub>6</sub>) δ 13.93 (1H, s, COOH), 8.44 (1H, br. d, J = 8.1 Hz, H-6), 7.99 (1H, br. d, J = 7.0 Hz, H-4), 7.26 (1H, m, H-3), 6.93 (1H, m, H-5), 2.05 (3H, s, Ar-CH<sub>3</sub>)。<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DM SO-d<sub>6</sub>) δ 167.7、118.1、140.9、130.0、131.3、130.0、121.1、25.2。以上数据

与 Sadtler 标准光谱一致,故鉴定化合物 VI 为 2-甲基苯甲酸。

致谢: NMR 由本校核磁测试中心李文、沙沂老师测定。

#### References

- [1] Ma Z J, Meng D L, Li X, et al. Study on the chemical constituents from the roots and stems of *Sphaerophysa salsula* (Pall.) DC. [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2003, 20(2): 104-106.
- [2] Wang Y L, Chen W M, Li G Y. The chemical constituents of *Caragana jubata* (Pall.) Poir. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1986, 17(8): 344-346.
- [3] Cai L N, Zhang R Y, Wang B, et al. Studies on the chemical constituents of *Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1992, 27(10): 748-751.
- [4] Hirakura K, Morita M, Nakajima K, et al. Phenolic glycosides from the root of *Oueraria lobata* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 46(5): 921-928.
- [5] Xie J B, Li P. Studies on phenolic acids from *Ilex purpurea* Hassk. [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2002, 33(1): 76-77.

## 柿叶化学成分的研究(II)

陈光<sup>1</sup>, 贾澎云<sup>2</sup>, 徐绶绪<sup>3</sup>, 张荣庆<sup>1\*</sup>

- (1. 清华大学 生命科学与技术系, 北京 100084; 2. 承德颈复康药业有限公司, 河北 承德 067000;  
3. 沈阳药科大学 天然药物化学系, 辽宁 沈阳 110016)

柿叶为柿科柿属植物柿 *Diospyros kaki* L. 的新鲜或干燥叶, 其入药始见于明《滇南本草》记载“经霜叶敷疔疮”, 《本草再新》记载用于“治咳嗽吐血, 止渴生津”。主要用于止血、降压、治疗冠心病、心绞痛及胃溃疡出血、肺结核出血、功能性子宫出血等内脏出血病症<sup>[1]</sup>。其化学成分较复杂, 主要含有黄酮、三萜、酚类等化合物<sup>[2]</sup>。前报<sup>[3]</sup>由柿叶中分离得到 5 个三萜化合物, 本实验利用液-液萃取法、硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、反相高效液相色谱等手段, 又从中分离得到 14 个化合物, 分别为: 日柳穿鱼苷 A (linarionoside A, I)、linarionoside B (II)、 $\alpha$ -香树脂醇 (III)、 $\beta$ -香树脂醇 (IV)、羽扇豆醇 (V)、乌苏酸 (VI)、马尾柴酸 (barbinervic acid (VII)、野蔷薇苷 (VIII)、胡萝卜苷 (IX)、 $\beta$ -谷甾醇 (X)、原儿茶酸 (XI)、苯甲酸 (XII)、对羟基苯甲酸 (XIII)、丁二酸 (XIV)。其中, I、II、VII、VIII 为首次从该属植物中分

离得到, III、IV、V 为首次从该植物中分离得到。

### 1 仪器与材料

熔点用 Yanaco 熔点测定仪测定 (温度未校正)。红外光谱用 Bruker IFS 55 型光谱仪测定。EIMS 用 VG7070E 型质谱仪测定。ESI-MS 用 Finnigan LCQ LC-MS 联用仪测定。1D 和 2D-NMR 用 Bruker-ARX-300 型核磁共振仪测定, 以 TMS 为内标。柱色谱用硅胶 (100~140 目和 200~300 目), 薄层色谱用硅胶 H、硅胶 G 和 GF<sub>254</sub> 均为青岛海洋化工厂产品。所用试剂为沈阳化学试剂厂产品, 均为分析纯。HPLC 用日产 LC-10A 制备型 HPLC 色谱仪。色谱柱为美国 Alltech 公司的 ODS 色谱柱 (22 mm × 250 mm, 10 μm)。柿叶于 1998 年秋季采自河北省邢台市郊区, 经许春泉和孙启时教授鉴定为柿叶 *D. kaki* L.。

### 2 提取与分离

\* 收稿日期: 2004-04-16

作者简介: 陈光 (1974-), 男, 辽宁沈阳人, 博士, 研究方向为天然产物。

Tel: (010) 62772900 E-mail: g-chen@mail. tsinghua. edu. cn

\* 通讯作者 Tel: (010) 62772900 E-mail: rqzhng@tsinghua. edu. cn

柿叶(10 kg)粉碎后,以 70% 乙醇回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液,浓缩得浸膏依次用氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取。正丁醇萃取部分(80 g)经硅胶柱,用氯仿-甲醇(50 : 1, 30 : 1, 10 : 1, 5 : 1, 2 : 1)梯度洗脱,50 : 1 洗脱部分得到化合物 IX (30 mg)、XII (13 mg); 30 : 1 洗脱部分经 Sephadex LH-20 柱色谱,以甲醇-水洗脱得到化合物 XI (17 mg)、XIII (10 mg)、XIV (7 mg); 10 : 1 洗脱部分经反相高效液相色谱,得到化合物 I (23 mg)、II (11 mg)、VIII (25 mg),氯仿萃取部分(100 g)经硅胶柱,用氯仿-醋酸乙酯(50 : 1, 30 : 1, 10 : 1, 5 : 1, 2 : 1)梯度洗脱,50 : 1 洗脱部分得到化合物 X (27 mg); 30 : 1 洗脱部分得到化合物 III (21 mg)、IV (23 mg)、V (16 mg); 10 : 1 洗脱部分得到化合物 VI (30 mg); 5 : 1 洗脱部分得到化合物 VII (49 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物 I: 白色针状结晶 (MeOH),  $C_{19}H_{34}O_7$ 。10%  $H_2SO_4$  显色呈红色斑点, Molish 反应阳性, 酸水解检出葡萄糖。 (+) ESI-MS: 375 [M + H]<sup>+</sup>, 392 [M + NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 771 [2M + Na]<sup>+</sup>, 213 [M - H - 162]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  0.96 (3H, s, H-11), 1.02 (3H, s, H-12), 1.36 (3H, d, H-10), 1.62 (3H, s, H-13), 1.66 (1H, m, H-2), 1.69 (2H, m, H-8), 2.06 (1H, m, H-7), 2.09 (1H, m, H-2), 2.16 (1H, m, H-4), 2.47 (1H, m, H-7), 2.48 (1H, m, H-4), 3.96 (1H, m, H-5), 3.98 (1H, m, H-9), 4.00 (1H, m, H-2), 4.25 (1H, m, H-3), 4.26 (1H, dd, H-4), 4.33 (1H, m, H-6), 4.52 (1H, m, H-6), 5.05 (1H, d, H-1)。 <sup>13</sup>C-NMR (75.0 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  20.0 (C-13), 23.2 (C-10), 25.5 (C-7), 28.8 (C-11), 30.3 (C-12), 38.7 (C-1), 39.8 (C-4), 40.7 (C-8), 47.5 (C-2), 62.7 (C-6), 71.7 (C-4), 75.2 (C-2), 77.8 (C-5), 78.1 (C-3), 102.3 (C-1), 125.0 (C-5), 138.5 (C-6)。以上数据与文献报道一致<sup>[4]</sup>, 故确定为 *linarionoside A*。

化合物 II: 无色粉末状结晶 (MeOH),  $C_{19}H_{34}O_7$ 。10%  $H_2SO_4$  显色呈红色斑点, Molish 反应阳性, 酸水解检出葡萄糖。 <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  1.06 (3H, s, H-11), 1.08 (3H, s, H-12), 1.23 (3H, d, H-10), 1.66 (3H, s, H-13), 1.69 (1H, m, H-2), 1.78 (2H, m, H-8), 2.0 (1H, m, H-7), 2.09 (1H, m, H-2), 2.18 (1H, m, H-4), 2.40 (1H, m, H-7), 2.48 (1H, m, H-4), 3.93 (1H, m, H-5), 3.98 (1H, m, H-9), 4.02 (1H, m, H-2), 4.21 (1H, m, H-

3), 4.26 (1H, dd, H-4), 4.37 (1H, d, H-1), 4.39 (1H, m, H-6), 4.52 (1H, m, H-6)。 <sup>13</sup>C-NMR (75.0 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  19.7 (C-10), 20.0 (C-13), 25.3 (C-7), 28.9 (C-11), 30.4 (C-12), 38.8 (C-1), 38.9 (C-8), 43.0 (C-4), 49.5 (C-2), 62.9 (C-6), 71.8 (C-4), 75.2 (C-2), 77.8 (C-5), 78.2 (C-3), 102.2 (C-1), 125.3 (C-5), 138.4 (C-6)。以上数据与文献报道一致<sup>[4]</sup>, 故确定为 *linarionoside B*。

化合物 III: 白色针状结晶 (CHCl<sub>3</sub>),  $C_{30}H_{50}O$ 。10%  $H_2SO_4$  显色呈红色斑点。 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 数据与文献报道一致<sup>[5]</sup>, 故确定为  $\alpha$ -香树脂醇。

化合物 IV: 白色针状结晶 (CHCl<sub>3</sub>),  $C_{30}H_{50}O$ 。10%  $H_2SO_4$  显色呈红色斑点。 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 数据与文献报道一致<sup>[5]</sup>, 故确定为  $\beta$ -香树脂醇。

化合物 V: 无色针状结晶 (MeOH),  $C_{30}H_{50}O$ 。Liebmann-Burchard 反应阳性。与 Lupeol 标准品共薄层, R<sub>f</sub> 值及斑点颜色完全一致, 混合熔点不下降, 故确定为羽扇豆醇。

化合物 VI: 无色粉末状结晶 (MeOH),  $C_{30}H_{48}O_3$ 。Liebmann-Burchard 反应阳性。 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 数据与文献报道一致<sup>[5]</sup>, 故确定为乌苏酸。

化合物 VII: 无色针状结晶 (MeOH),  $C_{30}H_{48}O_5$ 。Liebmann-Burchard 反应阳性。 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 数据与文献报道一致<sup>[5]</sup>, 故确定为 *barbinervic acid*。

化合物 VIII: 无色针状结晶 (MeOH),  $C_{36}H_{58}O_{10}$ 。Liebmann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阳性, 酸水解检出葡萄糖。 <sup>13</sup>C-NMR 数据与文献报道一致<sup>[6]</sup>, 故确定为野蔷薇苷。

化合物 IX: 无色颗粒状结晶 (MeOH),  $C_{35}H_{66}O_6$ 。Liebmann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阳性, 酸水解检出葡萄糖。与标准品胡萝卜苷共薄层 R<sub>f</sub> 值及斑点颜色均一致, 混合熔点不下降, 故确定为胡萝卜苷。

化合物 X: 无色针状结晶 (CHCl<sub>3</sub>),  $C_{29}H_{50}O$ 。Liebmann-Burchard 反应阳性, 与标准品  $\beta$ -谷甾醇共薄层 R<sub>f</sub> 值及斑点颜色均一致, 混合熔点不下降, 故确定为  $\beta$ -谷甾醇。

化合物 XI: 白色针状结晶 (MeOH),  $C_7H_6O_4$ 。10%  $H_2SO_4$  显黄褐色, FeCl<sub>3</sub> 反应阳性。 <sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 数据与文献报道一致<sup>[7]</sup>, 故确定为原儿茶酸。

化合物 XII: 无色针状结晶 (MeOH),  $C_7H_6O_2$ 。

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ )  $\delta$  7.50 (2H, dd, H-4, 6), 7.60 (1H, t, H-5), 8.05 (2H, d, H-3, 7)。  
 $^{13}\text{C-NMR}$  (75.0 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ )  $\delta$  128.7 (C-4, 6), 129.8 (C-3, 7), 130.8 (C-2), 133.1 (C-5), 167.1 (C-1)。与标准品苯甲酸共薄层,  $R_f$  值及斑点颜色均一致, 混合熔点不下降。确定为苯甲酸。

化合物 XII: 无色针状结晶 ( $\text{M eOH}$ ),  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ ,  $\text{FeCl}_3$  反应阳性。 $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ )  $\delta$  6.94 (2H, d, H-4, 6), 7.92 (2H, d, H-3, 7)。  
 $^{13}\text{C-NMR}$  (75.0 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ )  $\delta$  115.3 (C-4, 6), 121.9 (C-2), 132.1 (C-3, 7), 162.0 (C-5), 167.4 (C-1)。与标准品对羟基苯甲酸共薄层,  $R_f$  值及斑点颜色均一致, 混合熔点不下降。故确定为对羟基苯甲酸。

化合物 XIV: 无色针状结晶 ( $\text{M eOH}$ ),  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$ , 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  显色呈黄褐色斑点, 与标准品丁二酸共薄层,  $R_f$  值及斑点颜色均一致, 混合熔点不下降。故

确定为丁二酸。

#### References:

- [1] Jiang W K. Persimmon leaves-resource with huge exploitation potential [J]. *J Guiyang Coll Tradit Chin Med* (贵阳中医学院学报), 1997, 19(2): 52.
- [2] Mallavadhani U V, Panda A K, Rao Y R. Pharmacology and chemotaxonomy of *Diospyros* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(4): 901-951.
- [3] Chen G, Xu S X, Sha Y. Studies on the constituents of *Diospyros kaki* leaves (I) [J]. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 2000, 10(4): 298-299.
- [4] Otsuka H. Lignan glycosides A - C and alicyclic monoterpene diglucosides from *Linaria japonica* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(2): 461-465.
- [5] Mahato S B, Kundu A P.  $^{13}\text{C-NMR}$  spectra of pentacyclic triterpenoids [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(6): 1517-1575.
- [6] Naidu G, David V, Joseph G, et al. Saponins from leaves of *Apholoia theiformis* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(11): 3593-3595.
- [7] Zhang W J, Li X C, Liu Y Q. Phenolic constituents from *Fagopyrum dibotrys* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1994, 16(4): 354-356.

## 柏子仁促鸡胚背根神经节生长活性成分研究

余正文<sup>1,2</sup>, 杨小生<sup>1\*</sup>, 范明<sup>3\*</sup>

- (1. 贵州省中国科学院天然产物重点实验室, 贵州 贵阳 550002; 2. 贵州师范大学生物技术系, 贵州 贵阳 550001; 3. 军事医学科学院基础研究所, 北京 100850)

柏子仁为柏科植物侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco 的干燥成熟种仁。为传统的益智抗衰老中药, 也是药食两用植物。据文献报道<sup>[1]</sup>, 柏子仁生者养心安神, 润肠通便, 炒柏子仁(柏子仁霜)可免滑肠泻, 用于便溏而心神不安。临床上用于治疗神经衰弱、心悸、失眠便秘。在医药和食品工业上已经被另有报道<sup>[2]</sup>, 柏子仁含脂肪油 31.6% ~ 47.6%, 采用石油醚(30 ~ 60)从柏子仁提取脂肪油, 并甲酯化后, 经 GC-MS 测试其成分主要含有软脂酸(0.18%), 棕榈酸(7.32%), 碳十七酸(0.41%), 亚油酸(29.11%), 亚麻酸(16.6%), 油酸(10.97%), 硬脂酸(8.21%), 碳十九酸(0.25%), 花生四烯酸(21.02%), 二十碳三烯酸, 二十碳二烯酸(1.94%), 二十碳烯酸(3.90%), 二十碳酸(0.64%), 二十二烷酸(0.10%), 二十四烷酸(0.13%)。不饱和脂肪酸占 83.14%。在开展传统中草药有效部位的神经营养作

用筛选时发现, 柏子仁乙醇提取物的石油醚萃取部分对鸡胚背根神经节生长具有一定的作用。鉴于柏子仁益智抗衰老的作用机制及活性成分目前尚不清楚, 进而对该部分进行 GC-MS 分析, 结果发现长链不饱和脂肪酸及其酯为该部分的主要成分。

### 1 材料、仪器与条件

1.1 HP6890-HP5973GC-MS 联用仪(美国惠普公司)。气相色谱条件: 色谱柱为 HP-5MS 5% Phenylmethylsiloxane (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), 弹性石英毛细管柱柱温 50, 以 4 μm in 升温至 100, 然后以 8 μm in 升温至 260, 保持至完成分析; 气化室温度 250; 载气为高纯 He (99.999%); 柱前压 764 Pa, 载气流量 10 mL/min; 进样量 1 μL (用乙醚稀释 25 倍的溶液); 分流比 40:1。质谱条件: 离子源为 EI 源; 离子源温度 230; 四极杆温度 150; 电子能量 70 eV; 发射电流

\* 收稿日期: 2004-03-15

基金项目: 贵州省优秀科技人才培养计划项目[黔科合人字(2002)0205号]

\* 通讯作者 Tel: (0851) 3805459