

$^1\text{H-NMR}$  (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 /min 升温至 100, 然后以 8 /min 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

346  $\mu\text{A}$ ; 倍增器电压 1 294 V; 接口温度 280 ; 溶剂延 4 min; 质量范围 10~ 550 am u。

1.2 毛玻璃片, 解剖镜, 微解剖镊, 玻璃培养皿, 10% 二氧化碳培养箱, NGF。

## 2 方法

2.1 取柏子仁(当地药材市场上购买) 100 g, 75% 乙醇提取, 然后依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 回收溶剂后得石油醚、醋酸乙酯、正丁醇和水 4 个部分。

2.2 取孵化 8 d 的鸡胚, 背面朝下置于毛玻璃片上, 刮出腹腔内脏。在解剖镜下暴露神经节, 用微解剖镊分离出神经节, 接种于涂有鼠尾胶的 10 mL 玻璃培养皿中, 每皿接种 6 个神经节。按实验共分为对照组和 1A-40D 各组, 对照组加入 2 mL DMEM, 实验各组分别另加 1A-40D (200 ng/mL, 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 然后将神经节置于 36 、10%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 24 h 后取出, 观察背根神经节突起的生长情况。以背根神经节突起生长的长度和密度为指标。

2.3 定性分析: 取柏子仁石油醚提取物, 经气相色谱-质谱联用仪分析鉴定, 柏子仁共检出 12 个峰及对庆的质谱峰, 通过 HPM SD 化学工作站检索 Nist 98 标准质谱图库和 W LEY 质谱图库, 并结合有关文献人工谱图解析<sup>[3]</sup>, 共鉴定出 6 个化合物。

2.4 峰面积相对含量分析: 通过 HPM SD 化学工作站数据处理系统, 按峰面积归一化法进行计算求得各化学成分在提取物中的相对含量(表 1)。

## 3 结果

3.1 通过活性筛选, 柏子仁石油醚提取物对鸡胚背根神经节突起的生长有轻度促生长作用。

3.2 柏子仁石油醚提取物 GC-MS 分析结果: 主要成分为不饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸酯(表 1)。

## 4 讨论

许多多烯不饱和脂肪酸都是大脑发育所必需的<sup>[4]</sup>, 如 DHA 等必需脂肪酸缺乏是造成大脑发育障碍和许多大脑疾病的重要原因。十八碳三烯酸( $\gamma$ -

表 1 柏子仁石油醚提取物的化学成分

Table 1 Chemical constituents of petroleum ether extracts from *P. orientalis* seed

化合物名称	相对峰面积/%
3-正丁基苯酐	0.88
棕榈酸	11.32
9, 12, 15-十八碳三烯酸甲酯	0.69
亚油酸	13.99
十六碳三烯酸甲酯	52.36
硬脂酸	8.07

亚麻酸) 能通过清除体内自由基和延长 SOD (过氧化物歧化酶) 的半衰期, 增强人体免疫力而达到延缓衰老, 十八碳三烯酸( $\alpha$ -亚麻酸) 通过生物转化形成 DHA 从而提高脑神经功能, 二十二碳六烯酸能使神经细胞突触生长, 增强脑神经信息传递的功能, 促进大脑正常发育, 从而达到改善记忆的目的。

4.1 本实验结果提示长链不饱和脂肪酸及其酯可能是柏子仁的石油醚提取物对鸡胚背根神经节生长有轻微促生长作用的活性成分; 这些物质的促生长作用有 2 种可能性: 一是促进 NGF 的合成、分泌及释放, 即神经生长因子激动剂; 二是本身具有类似神经生长因子(NGF) 的功能, 即拟神经生长因子(NGF-like) 物质。

4.2 本实验为不饱和脂肪酸作为大脑的营养物质提供了一定的理论依据, 对柏子仁的进一步开发具有一定的参考价值。

致谢: GC-MS 数据由贵州省、中国科学院天然产物重点实验室王道平先生测定。

## References:

[1] Zheng H Z, Dong Z H. *Modern Study of Traditional Chinese Medicine* (中药现代研究与应用) [M]. Beijing: Xueyuan Press, 1999.

[2] Sun L J. Composition analysis of fat-soluble substances in seed of *Oriental arborvitae* [J]. *J Hebei Normal Univ - Nat Sci* (河北师范大学学报·自然科学版), 2001, 6: 217.

[3] Cong P Z. *The Application of Mass Spectrometry in Natural Organic Chemistry* (质谱学在天然有机化学中的应用) [M]. Beijing: Science Press, 1987.

[4] Zhang J Z. The outlook of unsaturated fatty acid application in preventing or cure cardiovascular and cerebrovascular disease [J]. *Sci Tech Food Ind* (食品工业科技), 1999 (Suppl): 141.

保 护 环 境 造 福 人 类