有 3 个 H，说明 H-4 成键。

在化合物 Ⅱ 的 ^{13}C-NMR 谱中，δ166.7 碳信号为羰基碳，提示有没食子酸酯的可能，δ143.2～157.3 有 13 个连氧碳，而 catechin、epicatechin 各有 5 个连氧碳，另 3 个连氧碳一定为没食子酸的，根据文献资料介绍，二聚体中只有(－)-表儿茶素没食子酸酯的存在。没食子酸在 3 位与(－)-表儿茶素连接，C-3 向低场移动，由于空间位阻，(－)-表儿茶素 4 位成键可能较小，由于 δ96.1，96.9 处各有一碳信号，而 95.3 处仅有一碳信号，说明 C-8 位参与成键。通过以上分析并参照文献确定化合物 Ⅱ 为 catechin4→8epicatechin gallate[7～9]。^{13}C-NMR(400 MHz，DMSO-d_6)：上部(catechin) C-4-37.1，C-3-76.2，C-2-82.2，C-8-95.3，C-6-96.1，C-4a-101.6，C-5′-115.3，C-2′-115.3，C-6′-120.1，C-1′-131.9，C-3′-144.7，C-4′-144.8，C-8a-155.6，C-5-155.8，C-7-157.3；下部(epicatechin gallate) C-4-26.8，C-3-70.6，C-2-77.7，C-8-96.1，C-6-96.9，C-4a-100.1，C-5′-115.4，C-2′-115.4，C-6′-118.6，C-1′-130.7，C-3′-145.6，C-4′-145.7，C-8a-156.2，C-5-157，C-7-156.2。羰基 166.7，C-1″-124.8，C-2″-106.1，C-3″-153.1，C-4″-143.2，C-5″-151.3，C-6″-109.9。化合物 Ⅱ 结构见图 3。

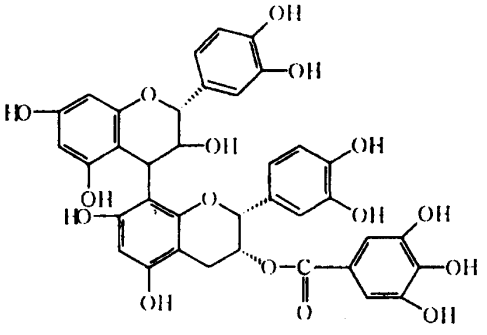

图 3 化合物 Ⅱ 结构

Fig. 3 Structure of compound Ⅱ

3 讨论

苹果、可可原花青素其聚合体一般由表儿茶素通过 C4-C8 键聚合而成，各聚合体的异构体数目一般只有 2～3 个，很容易分离分析。而葡萄籽原花青素则复杂得多，二聚体理论上有 18 种(其中 6 种为没食子酸酯形式)，三聚体理论上有 108 种，要获得如此多的相应对照品非常困难。本研究采用反相液相色谱结合电喷雾质谱分析葡萄籽粗提物中二聚体的组成，可以为葡萄籽原花青素的原料选择及质量评价提供一种方法，在没有相应对照品的情况下借助质谱在线检测比较、分析不同来源原花青素低聚体的相对含量。

References:

[1] Guo I, Xu L. Procyanidin: A plant medicine with many uses [J]. *World Phytomed* (国外医药·植物药分册), 1996, 11(5): 196-204.

[2] Prieur C, Rigaud J, Cheynier V. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds [J]. *Phytochemistry*, 1994, 36: 781-784.

[3] Oszmianski J, Sapis J C. Fractionation and identification of some low molecular weight grape seed phenolics [J]. *J Agric Food Chem*, 1989, 37(5): 1293-1297.

[4] Waterhouse A L, Price S F, McCord J D. Reversed-phase high-performance liquid chromatography methods for analysis of wine polyphenols [J]. *Metho Enzymol*, 1998, 299: 113-121.

[5] Jaworski A W, Lee C Y. Fractionation and HPLC determination of grape phenolics [J]. *J Agric Food Chem*, 1986, 34: 966-970.

[6] de Freitas V A P, Glories Y, Bourgeois G. Characterisation of oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds by liquid secondary ion mass spectrometry [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(5): 1435-1441.

[7] de Bruyne T, Pieters L A C, Vlietinck A J. Unambiguous assignments for tree dimeric proanthocyanidin phenols from 2D NMR [J]. *Phytochemistry*, 1996, 43(1): 265-272.

[8] Fuleki T, Ricardo da Silva J M. Catechin and procyanidin composition of seeds from grape cultivars grown in Ontario [J]. *J Agric Food Chem*, 1997, 45: 1156-1160.

[9] Yeap F L, Yinrong L. Isolation and identification of procyanidins in apple pomace [J]. *Food Chem*, 1999, 64(4): 511-518.

过山蕨的化学成分研究(Ⅰ)

李 宁[1]，吴永军[2]，李 铣[1*]，王金辉[1]，王 楠[1]

(1. 沈阳药科大学，辽宁 沈阳 110016；2. 辽宁桓仁药业股份有限公司，辽宁 桓仁 117201)

过山蕨又名马蹬草、还阳草、过桥草，为铁角蕨科植物过山蕨 *Camptosorus sibiricus* Rupr. 的全草，

收稿日期：2004-05-18

作者简介：李 宁(1979－)，女，河北保定人，在读研究生，2001 年毕业于沈阳药科大学中药学院，同年考取本校天然药物化学专业研究生。

* 通讯作者 Tel：(024)23902286 E-mail：lixian@mail.sy.ln.cn.

主产于我国东北山区，历代本草未见有关其药用记载。1974 年，曾于民间发现过山蕨全草泡茶饮用对血栓闭塞性脉管炎具有疗效，以香油敷于恶疮、脉管炎等破溃处有促进伤口愈合之功效[1]。现代药理研究表明过山蕨水醇提取液对兔耳血管、蟾蜍后肢血管以及家兔在体后肢血管有扩张作用，其作用比对照药毛冬青注射液作用强[2]。过山蕨对冠状血管也有一定扩张作用。在 20 世纪七八十年代对过山蕨化学成分和药理活性的研究有零星报道[1~4]。为了用现代科学技术手段阐明其药效物质基础，笔者对过山蕨进行了系统的化学成分研究。从其全草 70%醇提物的氯仿萃取乳化层，经反复硅胶柱色谱分离得到了 7 个化合物，根据理化常数和光谱分析，分别鉴定为山柰酚（Ⅰ）、山柰酚-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷（Ⅱ）、山柰酚-3-*O*-β-*D*-葡萄糖-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷，Ⅲ）、β-谷甾醇（Ⅳ）、胡萝卜苷（Ⅴ）、蔗糖（Ⅵ）、β-*D*-葡萄糖-β-*D*-葡萄糖（Ⅶ）。其中化合物Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ均为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

核磁共振光谱用 Bruker ARX－300 型核磁共振仪测定（TMS 内标）；熔点用 Yanaco MP－S3 显微熔点测定仪测定；TLC 用硅胶 GF_{254}，柱色谱硅胶（200～300 目）均系青岛海洋化工厂生产；试剂规格均为分析纯；所用药材由本校中药学教研室孙启时教授鉴定。

2 提取与分离

过山蕨干燥全草 2.4 kg，70%乙醇回流提取，减压回收溶剂，冷藏过夜，滤除叶绿素，母液分别以石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取。氯仿萃取乳化层 38.0 g 进行成分分离。经反复硅胶柱色谱分离，分别用不同比例的氯仿-甲醇，石油醚-丙酮洗脱，经处理得到化合物Ⅰ（9 mg）、Ⅱ（8 mg）、Ⅲ（45 mg）、Ⅳ（18 mg）、Ⅴ（21 mg）、Ⅵ（44 mg）、Ⅶ（>100 mg）。

3 鉴定

化合物Ⅰ：黄色无定形粉末（甲醇），mp 274.0～276.0 ℃，三氯化铁-铁氰化钾反应阳性，示有酚羟基存在；盐酸-镁粉反应呈阳性，示为黄酮类化合物。根据相关文献鉴定化合物Ⅰ为山柰酚（kaempferol）[5,6]。

化合物Ⅱ：黄色针晶（甲醇），mp 226.0～228.0 ℃，三氯化铁-铁氰化钾反应阳性，示有酚羟基存在；盐酸-镁粉反应呈阳性，推测为黄酮类化合物；Molish 反应呈阳性，酸水解后纸色谱检测有鼠李糖存在。^{1}H-NMR（300 MHz，DMSO-d_6）谱数据与山柰酚氢谱数据比较：缺少 δ10.82（1H，s）羟基信号；在 δ5.48～1.13 多出 11 个氢信号；δ1.13（3H，d，*J*＝6.0 Hz）为鼠李糖上甲基特征信号；H-8，H-6 信号分别向低场移至 δ6.83 和 δ6.42。故推测化合物Ⅱ为山柰酚-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷。根据相关文献鉴定化合物Ⅱ为山柰酚-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷（kaempferol-7-*O*-α-*L*-rhamnoside）[5,6]。

化合物Ⅲ：黄色针晶（甲醇），mp 246.0～247.0 ℃，三氯化铁-铁氰化钾反应呈阳性，示有酚羟基存在；盐酸-镁粉反应呈阳性，推测为黄酮类化合物；Molish 反应阳性，经 2%H_2SO_4 全水解，得到 1 分子苷元，1 分子葡萄糖和 1 分子鼠李糖；经 8.8%甲酸加热进行部分水解得到山柰酚-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷和山柰酚-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷。^{1}H-NMR（300 MHz，DMSO-d_6）谱数据与化合物Ⅱ氢谱数据比较：又缺少了 δ9.58（1H，s）羟基信号；在 δ5.48～1.12 又多出 11 个氢信号，推测为山柰酚双糖苷。故推断化合物Ⅲ为山柰酚-3-*O*-β-*D*-葡萄糖-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷，^{1}H-NMR 谱数据与文献报道一致[7]，故鉴定化合物Ⅲ为山柰酚-3-*O*-β-*D*-葡萄糖-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷（kaempferol-3-*O*-β-*D*-glucoside-7-*O*-α-*L*-rhamnoside）。

化合物Ⅳ：无色针晶（氯仿），mp 136.0～137.0 ℃，Liebermann-Burchard 反应呈阳性，与 β-谷甾醇对照品混合，熔点不下降，Rf 值在多种溶剂系统中与对照品一致，且显色过程相同，故确认化合物Ⅳ为 β-谷甾醇（β-sito sterol）。

化合物Ⅴ：白色粉末，mp ＞300 ℃，Liebermann-Burchard 反应呈阳性，Molish 反应呈阳性，与胡萝卜苷对照品混合，熔点不下降，Rf 值在多种溶剂系统中与对照品一致，且显色过程相同，故确认化合物Ⅴ为胡萝卜苷（daucosterol）。

化合物Ⅵ：无色方晶（甲醇/水），分解点：84～185 ℃，与蔗糖混和测熔点不下降，鉴定为蔗糖（sugar）。

化合物Ⅶ：无色方晶（甲醇/水），经 2%H_2SO_4 全水解得到 2 分子 β-*D*-葡萄糖。波谱数据与已知连接方式的二糖不符，其连接方式尚在鉴定中。

References:

[1] Zhang B F, Wang S J, Pan W J. Studies on *Comptosorus sibiricus* Rupr. used for cardiovascular diseases [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1979, 11(29): 29-35.

[2] 41K of Shenyang College of Pharmacy. Dilatation of blood vessels and toxicities of *Comptosorus sibiricus* Rupr. [J]. *J Shenyang Coll Pharm* (沈阳药学院学报), 1977, 7(34): 34-

37.

[3] Xu S X, Zhou R H, Dong S H. Studies on the chemical constituents from *Comptosorus sibiricus* Rupr. (Ⅱ) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1989, 20(8): 4.

[4] Xu S X, Zhou R H, Dong S H. Studies on a new flavonoid from *Comptosorus sibiricus* Rupr. [J]. *J Shenyang Coll Pharm* (沈阳药学院学报), 1989, 6(1): 66.

[5] Yao X S. *Natural Medicinal Chemistry* (天然药物化学) [M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994.

[6] Yu D Q, Yang J S. *Handbook of Analytical Chemistry—Analysis of NMR Spectrion* (分析化学手册·核磁共振谱分析) [M]. Vol Ⅷ. Beijing: Chemical Industry Press, 1999.

[7] Xu S X, Wang S X, Wang N L. Studies on the chemical constituents from *Comptosorus sibiricus* Rupr. (Ⅰ) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1983, 14(7): 1-3.

海风藤的化学成分研究(Ⅰ)

任风芝[1], 张 丽[1], 牛桂云[1], 刘刚叁[1], 段海清[2]

(1. 华北制药集团 新药研究开发中心天然药物研究室, 河北 石家庄 050015;
2. 军事医学科学院生物工程研究所, 北京 100071)

海风藤 *Piper kadsura* (Choisy) Ohwi 主产于福建、浙江、广东等地, 主治风寒湿痹、肢节疼痛、筋脉拘挛、脘腹冷痛、水肿等。已经报道从海风藤中分离到多种木脂素类化合物, 为了寻找其镇痛活性成分, 对该植物进行了系统分离, 利用多种柱色谱和制备 HPLC, 从中分得 11 个单体化合物, 本文报道其中 5 个化合物的分离、结构鉴定情况。分别为: 海风藤酮(Ⅰ)、24-乙基-7, 22-二烯胆甾醇(Ⅱ)、futoquinol(Ⅲ)、5, 7, 4-三羟基异黄酮(Ⅳ)和巴豆环氧素(Ⅴ), 其中化合物Ⅱ和Ⅳ首次从海风藤中分离得到。

1 仪器与材料

核磁共振谱用 INVOA 500 型核磁共振波谱仪 (Volian), TMS 为内标; ZMD Micromass 型质谱仪 (英国 Micromass 公司), 柱色谱用硅胶(160～200、300～400 目)为青岛海洋化工产品; 薄层色谱用 Silica gel 60 F_{254} 板(Merk 公司); 显色剂为 15%硫酸-乙醇溶液。色谱纯乙腈, 其余试剂均为分析纯。HPLC 仪为 waters 996 型, 固定相用 C_{18} 柱 (Phenomenex 250 mm×21.2 mm, 10 μm), 海风藤购买于石家庄乐仁堂饮片厂。

2 提取与分离

海风藤 4 kg, 60%乙醇提取得浸膏 250 g, 用水混溶, 然后依次用二氯甲烷、正丁醇萃取, 分别得到二氯甲烷萃取物 10 g, 正丁醇萃取物 98 g, 水相 142 g。二氯甲烷萃取物上硅胶柱色谱, 石油醚-丙酮系统洗脱, 共得到 8 个流份。第 1 份, 经硅胶柱色谱, 用石油醚-氯仿洗脱, 得化合物Ⅰ(30 mg)。第 2 份, 经硅胶柱色谱得化合物Ⅱ(40 mg)。第 3 份经硅胶柱色谱后 HPLC 制备, 流动相为 80% CH_3CN-20%H_2O (0.1%CH_3COOH), 得化合物Ⅲ(20 mg)和Ⅳ(10 mg)。第 6 份经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇洗脱, 得化合物Ⅴ(40 mg)。

2 结构鉴定

化合物Ⅰ: 无色油状物, 分子式 $C_{21}H_{22}O_5$, $[\alpha]_D^{15}$+30.5(c 0.1, $CHCl_3$)。ESI(+)357。^{1}H-NMR、^{13}C-NMR 数据与文献报道一致[1], 故证明该化合物为海风藤酮。

化合物Ⅱ: 白色针状结晶($CHCl_3$), 分子式 $C_{29}H_{48}O$, mp 162～164 ℃, $[\alpha]_D^{20}$ −3.02(c 0.835, $CHCl_3$)。EI-MS 给出分子离子峰 412。^{1}H-NMR δ ($CHCl_3$): 5.15(1H, m, H-7), 5.14(1H, dd, J=15, 8.5 Hz, H-22), 5.02(1H, dd, J=15, 8.5 Hz, H-23), 3.95(1H, dd, J=15, 6.5 Hz, H-3), 2.01(1H, dd, J=14.5, 5 Hz, H-20), 1.02(3H, d, J=6.5 Hz, H-21), 0.88(3H, d, J=6 Hz, H-28), 0.81(3H, H-29), 0.79(3H, H-26), 0.76(3H, H-18), 0.54(3H, H-19); ^{13}C-NMR δ ($CHCl_3$): 37.06(C-1), 31.4(C-2), 71.0(C-3), 37.9(C-4), 40.2(C-5), 29.6(C-6), 117.4(C-7), 139.5(C-8), 49.3(C-9), 34.1(C-10), 21.5(C-11), 39.4(C-12), 43.2(C-13), 55.1(C-14), 22.9(C-15), 28.5(C-16), 55.8(C-17), 12.3(C-18), 13.0(C-19), 40.9(C-20), 18.9(C-21), 129.3(C-22), 138.2(C-23), 51.2(C-24), 25.4(C-25), 12.0(C-26), 31.8(C-27), 21.3(C-28), 21.1

收稿日期: 2004-05-20
作者简介: 任风芝(1972－), 女, 河北石家庄人, 硕士, 主要从事天然药物研究。 Tel: (0311)5051133-2995 E-mail: hhjrfz@sohu.com