

1.00(3H, s, H-28), 0.79(3H, s, H-29), 1.02(3H, s, H-30), 4.75, 4.65(2H, s, H-31), 2.10(3H, s, H-COCH₃)。¹³C-NMR(CDCl₃)数据见表1。以上数据与文献报道^[5]一致,故推定为变孔炲孔菌酸D。

3 对凝血酶的抑制作用

凝血酶对脑细胞具有保护和损伤双重作用,而在自发性脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)之后,凝血酶对脑组织的毒性作用可引起继发性脑损伤,但可被其抑制剂阻断。随着研究的深入,针对凝血酶及其受体拮抗剂的不断开发和方法学的进一步完善,自发性脑出血的治疗将会有很大的改观^[8]。本研究中的三萜酸类化合物对凝血酶的抑制作用结果见表2。结果初步表明阿里红中的三萜酸类化合

表2 化合物I~Ⅶ的对凝血酶抑制作用

Table 2 Inhibitory effect on thrombin of compounds I—Ⅶ

化合物	浓度/mmole · L ⁻¹	凝血酶抑制率/%
I	0.685	9.46
Ⅱ	0.705	8.73
Ⅲ	0.702	25.72
Ⅳ	0.679	4.28
V	0.682	16.60
Ⅵ	0.708	5.45
Ⅶ	0.625	45.36

物Ⅶ在较高浓度时对凝血酶具有一定的抑制活性,而其他化合物作用不明显。这为进一步研究阿里红中有效成分的药理活性奠定了基础。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] Kawabata S, Miura T, Morita T, *et al.* Highly sensitive peptide-4-methylcoumaryl-7-amide substrates for blood-clotting proteases and trypsin [J]. *Eur J Biochem*, 1988, 172(1): 17-25.
- [3] Anderson C G, Epstein W W, Lear G V. Minor triterpenoid of *Fomes officinalis* [J]. *Phytochemistry*, 1972, 11: 2847-2852.
- [4] Anderson C G, Epstein W W. Metabolic intermediates in the biological oxidation of lanosterol to eburicoic acid [J]. *Phytochemistry*, 1971, 10: 2713-2717.
- [5] Yoshikawa K, Matsumoto K, Mine C, *et al.* Five lanostane triterpenoids and three saponins from the fruit body of *Laetiporus versisporus* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(10): 1418-1421.
- [6] Yang S W, Shen Y C, Chen C H. Steroids and triterpenoids of *Antrodia cinnamomea*-a fungus parasitic on *Cinnamomum micranthum* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(5): 1389-1392.
- [7] Tai T, Shingu T, Kikuchi T, *et al.* Triterpenes from the surface of *Poria cocos* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(5): 1165-1169.
- [8] Zhang L, Jiang Y J, He J S. The neural toxicity and effect mechanism of Thrombin [J]. *Foreign Med: Sci Sect Cereb Dis* (国外医学:脑血管疾病分册), 2002, 10(1): 53-56.

深绿山龙眼种子化学成分研究(I)

刘桂艳¹, 马双成², 郑健², 张继², 林瑞超²

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

摘要:目的 对深绿山龙眼 *Helicia nilagirica* 种子的化学成分进行研究。方法 采用乙醇提取, 石油醚、二氯甲烷、正丁醇萃取, 硅胶柱色谱分离, 通过理化性质和光谱分析鉴定结构。结果 从石油醚部分分离鉴定4个化合物: 正十六烷酸(I)、β-谷甾醇(Ⅱ)、β-谷甾醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖-6'-乙酸酯(Ⅲ)、胡萝卜苷(Ⅳ)。结论 以上化合物均为首次从该种植物中分离得到, 其中化合物I、Ⅲ、Ⅳ为首次从山龙眼属植物中得到, 化合物Ⅲ为新的天然产物。

关键词: 山龙眼属; 深绿山龙眼; β-谷甾醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖-6'-乙酸酯

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)06-0814-04

Chemical constituents of *Helicia nilagirica* seeds (I)

LIU Gui-yan¹, MA Shuang-cheng², ZHENG Jian², ZHANG Ji², LIN Rui-chao²

(1. Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. National Institute for Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China)

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents of *Helicia nilagirica*. **Methods** The ethanol extract was separated by petroleum ether, dichloromethane, and *n*-butanol in sequence, then isolated by

收稿日期: 2005-01-20

作者简介: 刘桂艳, 女, 副研究员, 博士生, 主要从事中药化学成分及质量标准研究。

Tel: (010)67017755-314 E-mail: liuguiguan2001@yahoo.com.cn

silica gel column chromatography. The structures were identified and elucidated by physicochemical properties and spectral analysis. **Results** Four compounds were isolated from the petroleum ether extract and identified as *n*-hexadecane acid (I), β -sitosterol (II), β -sitosterol-3-*O*- β -D-glucoside-6'-acetate (III), and daucosterol (IV). **Conclusion** All the compounds are isolated from the plant for the first time. Compounds I, III, IV are isolated from the plants of *Helicia* Lour. for the first time, and compound III is a new natural product.

Key words: *Helicia* Lour.; *Helicia nilagirica* Bedd.; β -sitosterol-3-*O*- β -D-glucoside-6'-acetate

深绿山龙眼 *Helicia nilagirica* Bedd. 曾用名萝卜树 *H. erratica* Hook. 为山龙眼科山龙眼属植物,分布在云南的西南和南部,其茎叶作为民间用药具有收敛解毒之功效,用于治疗肠炎、腹泻、食物中毒等^[1]。从该植物的种子中分离出的豆腐果苷(helicide,对甲醛基苯-*O*- β -D-吡喃阿洛糖苷)^[2],具有较强的镇痛安眠作用^[3]。笔者对该植物的种子进行了较系统的化学成分研究。从乙醇提取物的石油醚萃取部分得到4个化合物,通过理化性质和光谱分析鉴定结构:正十六烷酸(I)、 β -谷甾醇(II)、 β -谷甾醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖-6'-乙酸酯(III)、胡萝卜苷(IV)。以上化合物均为首次从该种植物中分离得到,化合物I、III、IV为首次从该属植物中得到,化合物III为首次从天然植物中分离得到。

1 仪器与试剂

X-5 显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司);Perkin Elmer-343 旋光仪;Agilent-8453 紫外-可见分光光度计;Nicolet Impact-400 傅里叶变换红外光谱仪;Autospec Vitims-Tof 和 Q-Trap 质谱仪;Varian Inova-500 和 Varian Inova-600 核磁共振仪。柱色谱硅胶为青岛海洋化工厂产品,所用试剂为化学纯和分析纯。实验材料采自云南思茅地区,经中国药品生物制品检定所张继副主任药师鉴定为深绿山龙眼 *H. nilagirica* 的种子,标本(S-085-001)存放于中国药品生物制品检定所中药标本馆。

2 提取和分离

深绿山龙眼种子 19 kg,粉碎,乙醇回流提取3次,每次2 h。合并提取液,减压浓缩得浸膏(860 g)。浸膏用水混悬,分别用石油醚(60~90℃)、二氯甲烷、正丁醇萃取,得到石油醚浸膏 146 g、二氯甲烷浸膏 80 g、正丁醇浸膏 130 g。石油醚浸膏(100 g)经硅胶柱色谱,石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱得8个组分,对第2、3、4、7、8组分经反复硅胶柱色谱分离和重结晶,得化合物I(50 mg)、II(62 mg)、III(45 mg)、IV(81 mg)。

3 结构鉴定

化合物III:白色片状结晶(MeOH),mp 213.8~215.2℃, $[\alpha]_D^{25} -43.6^\circ$ (c 0.52, C₅H₅N),易溶于吡啶,微溶于氯仿、甲醇。Liebermann-Burchard 反应、Molish 均呈阳性。薄层酸水解,苷元部分检出 β -谷甾醇,糖部分显示2个斑点,其中一个为葡萄糖。HR-FAB-MS 给出 641.439 5 (Calc. 641.439 3) $[M+Na]^+$ 峰,结合元素分析,推测分子式为 C₃₇H₆₂O₇。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3 491、3 402 ν_{O-H} , 2 960、2 937、2 870 ν_{C-H} , 1 745 $\nu_{C=O}$, 1 718 ν_{O-C-O} , 1 464、1 371 δ_{C-H} , 1 267、1 250、1 097、1 038 ν_{C-O} 。UV 显示有双键末端吸收。¹H-NMR(600 MHz, C₅H₅N)显示: δ 5.36(1H, t, $J=2.4, 3.0$ Hz),为烯氢质子,提示可能存在-CH=CH-CH₂-结构; δ 4.98(1H, d, $J=7.8$ Hz),为糖的端基质子,根据偶合常数,推测为 β 构型。¹³C-NMR谱给出37个碳信号, δ 141.0, 121.9为烯碳信号;DEPT谱显示有7个甲基碳信号。与胡萝卜苷碳谱对照,在高场区 δ 20.8处多一个碳信号,且葡萄糖的6位碳 δ 62.9向低场位移1.9至 δ 64.8。HMQC谱显示 δ 20.8的甲基碳信号与 δ 1.95的质子相关,表明 δ 1.95为该甲基上的质子;HMBC谱中 δ 1.95的质子与 δ 170.8的碳信号有远程相关;同时葡萄糖的C-6位上的两个氢信号 δ 4.98、4.86与 δ 170.8的羰基碳信号有远程相关,表明葡萄糖的6位乙酰化;葡萄糖1位氢信号 δ 4.98与苷元3位碳信号 δ 78.7存在相关,表明葡萄糖1位与苷元3位相连;双键质子 δ 5.36与4、7、8、10位碳信号 δ 39.4、32.1、32.2、37.0分别有远程相关,表明双键在苷元5、6位。综合¹H-NMR、¹³C-NMR、DEPT、HMQC、HMBC谱确定化合物III的结构为 β -谷甾醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖-6'-乙酸酯。NMR数据见表1,结构如图1。该化合物是一个新的天然产物,原料药(深绿山龙眼种子)的乙醇提取物与该化合物共薄层显示有相同的斑点,说明该化合物在深绿山龙眼种子中天然存在。文献报道^[4,5]该化合物是 β -谷甾醇-D-葡萄糖苷结构经人工乙酰化修饰的衍生物。

表 1 化合物Ⅲ的 NMR 数据

Table 1 NMR spectral data of compound Ⅲ

碳位	¹³ C-NMR	¹ H-NMR	DEPT	HMBC
1	37.6	1.06 (1H,m) 1.77 (1H,m)	CH ₂	C-9,C-10,C-19 C-10,C-19
2	30.3	1.76 (1H,m) 2.17 (1H,m)	CH ₂	C-3,C-4,C-10 C-4,C-10
3	78.7	3.91 (1H,m)	CH	C-1'
4	39.4	2.46 (1H,m) 2.70 (1H,m)	CH ₂	C-2,C-3,C-5,C-6,C-10
5	141.0		C	
6	121.9	5.36 (1H,t,J=2.4,3.0 Hz)	CH	C-4,C-7,C-8,C-10
7	32.1	1.54 (1H,m) 1.91 (1H,m)	CH ₂	C-5,C-6,C-14 C-5,C-6,C-9
8	32.2	1.37 (1H,m)	CH	C-7,C-9,C-10,C-14
9	50.4	0.93 (1H,m)	CH	C-7,C-8,C-10,C-11,C-19
10	37.0		C	
11	21.3	1.40 (1H,m) 1.45 (1H,m)	CH ₂	C-12,C-13
12	40.0	1.11 (1H,m) 1.98 (1H,m)	CH ₂	C-11,C-13,C-18
13	42.5		C	
14	56.9	0.94 (1H,m)	CH	C-7,C-8,C-12,C-13,C-18
15	24.6	1.04 (1H,m) 1.56 (1H,m)	CH ₂	C-8,C-14,C-16,C-20 C-17
16	28.6	1.27 (1H,m) 1.85 (1H,m)	CH ₂	C-13
17	56.3	1.10 (1H,m)	CH	C-12,C-13,C-16,C-18,C-20,C-21,C-22
18	12.0	0.66 (3H,s)	CH ₃	C-12,C-13,C-14,C-17
19	19.3	0.94 (3H,s)	CH ₃	C-9,C-10
20	36.4	1.39 (1H,m)	CH	C-13
21	19.0	0.98 (3H,d,J=7.8 Hz)	CH ₃	C-17,C-20,C-22
22	34.3	1.09 (1H,m) 1.40 (1H,m)	CH ₂	C-21 C-21
23	26.5	1.25 (2H,m)	CH ₂	C-20,C-22,C-24,C-25,C-28
24	46.1	1.00 (1H,m)	CH	C-22,C-23,C-25,C-26,C-27,C-28,C-29
25	29.5	1.68 (1H,m)	CH	C-23,C-24,C-26,C-28
26	20.0	0.88 (3H,d,J=6.6 Hz)	CH ₃	C-24,C-25,C-27
27	19.4	0.86 (3H,d,J=7.2 Hz)	CH ₃	C-24,C-25,C-26
28	23.4	1.29 (1H,m) 1.32 (1H,m)	CH ₂	C-23,C-24,C-25,C-29
29	12.2	0.92 (3H,t,J=7.2 Hz)	CH ₃	C-28
1'	102.8	4.98 (1H,d,J=7.8 Hz)	CH	C-3,C-2',C-3'
2'	75.1	4.04 (1H,m)	CH	C-1',C-3',C-4'
3'	78.4	4.24 (1H,t,J=9.0 Hz)	CH	C-2',C-4',C-5'
4'	71.5	4.09 (1H,t,J=9.0 Hz)	CH	C-2',C-3',C-5',C-6'
5'	75.2	4.04 (1H,m)	CH	C-1',C-3',C-4'
6'	64.8	4.80 (1H,dd,J=5.4,7.2 Hz) 4.92 (1H,dd,J=1.2,12.0 Hz)	CH ₂	C-5',C-7' C-4',C-5',C-7'
7'	170.8		C	
8'	20.8	1.96 (3H,s)	CH ₃	C-7'

化合物 1: 白色粒状固体(EtOAc), mp 62~63 °C。溴酚蓝反应显黄色, 表明含羧基。FAB-MS (m/z): 257 [$M + H$]⁺, 239 [$M - OH$]⁺, 133 [$(CH_2)_5COOH + H_2O$]⁺ 以及一系列相差 CH₂ 的碎片峰 55、57、69、71、83、85、95、97、109、111。IR_{max}^{KBr} cm⁻¹: 2 916, 2 848, 1 705, 1 471, 1 464, 1 311,

1 292, 1 435, 1 408, 1 311, 1 292, 表示含甲基、亚甲基、羰基等基团。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 0.88 (3H,t,J=7.2 Hz,CH₃), 2.35(2H,t,J=7.8 Hz,-CH₂-COOH), 1.63(2H,m,-CH₂-CH₂COOH), 1.30 (24H,12×CH₂-), ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 14.1(-CH₃), 22.7(C-15), 24.7(C-14), 29.1(C-

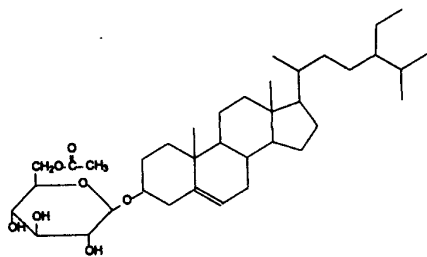


图1 化合物Ⅲ的结构

Fig. 1 Structure of compound Ⅲ

13), 29.3 (C-12), 29.4 (C-11), 29.5 (C-10), 29.6 (C-9), 29.7 (C-8), 29.7 (C-7), 29.7 (C-6), 29.7 (C-5), 29.7 (C-4), 32.0 (C-3), 34.1 (C-2), 180.3 (COOH)。根据 MS 和 NMR 推测分子式为 $C_{16}H_{32}O_2$ 。结合理化分析和光谱数据并参照文献[6], 确定化合物 I 为正十六烷酸。

化合物 II: 白色针状结晶 (EtOAc), mp 137~138 °C。Libermann-Burchard 反应呈阳性。FAB-MS (m/z): 415 $[M+H]^+$, 397 $[M-OH]^+$ 。与 β -谷甾醇共薄层, Rf 值及显色行为完全一致, 混合熔点不下降。NMR 谱数据与文献对照基本一致[7], 确定化合物 II 为 β -谷甾醇。

化合物 IV: 白色粉末 (MeOH) mp 290~292 °C,

Libermann-Burchard 反应、Molish 反应均呈阳性。与对照品胡萝卜苷共薄层, Rf 值及显色行为完全一致, 混合熔点不下降。NMR 谱数据与文献对照基本一致[8,9], 确定化合物 IV 为胡萝卜苷。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Vol 1. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1986.
- [2] Chen W X, Luo S D, Breitmaier E. Helicid, a β -allopyranoside from *Helicia erratica* Hook. [J]. *Liebigs Ann Chem*, 1981(10): 1893-1895.
- [3] Sha J M, Mao H K. Helicid [J]. *Chin Pharm Bull* (药学报), 1987, 22(1): 27.
- [4] Matlack M B. A phytosterol and phytosterolin from the sweet potato [J]. *Science*, 1935, 81: 536.
- [5] Francis A, Nichols B W. Isolation of β -sitosterol-D-glycoside from peanut phospholipides [J]. *Nature*, 1958, 181: 1064.
- [6] Yang N Y, Qian S H, Duan J A, et al. Studies on the chemical constituents of *Eupatorium lindleyarum* [J]. *J Chin Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2003, 34(3): 220-221.
- [7] Zhang C, Fang Y X. Studies on flavonoids constituents of Chinese herb *Melastoma dodecandrum* [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2003, 38(4): 256-258.
- [8] Gupta M M, Verma P K, Akhils A. Oxo acid and branched fatty acid esters from rhizomes of *Costus speciosus* [J]. *Phyto-chemistry*, 1986, 25(8): 1899-1902.
- [9] Li Z Q, Lin R C, Fu W, et al. Studies on chemical constituents of *Costus cacerus* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(2): 101-104.

巫山淫羊藿根的化学成分研究

周颖欣¹, 贾敏鸽¹, 涂光忠², 孙文基^{1*}

(1. 西北大学 生物医药重点实验室, 陕西 西安 710069; 2. 北京微量化学研究所, 北京 100091)

巫山淫羊藿 *Epimedium wushanense* T. S. Ying 是小檗科淫羊藿属植物, 与同属植物淫羊藿 *E. brevicornum* Maxim.、柔毛淫羊藿 *E. pubescens* Maxim.、箭叶淫羊藿 *E. sagittatum* Maxim. 和朝鲜淫羊藿 *E. koreanum* Nakai 作为淫羊藿药材原植物收载于 2000 版《中华人民共和国药典》^[1], 入药部位地上干燥部分。巫山淫羊藿分布于四川、陕西、贵州、广西^[2], 资源丰富, 地上部分的化学成分已有报道^[3,4], 但地下部分尚未见报道。本文对其根中黄酮类有效成分进行了初步研究, 从乙醇提取物的正丁醇萃取部分中分得了 3 种黄酮化合物, 淫羊藿次苷

I (icarisid I, I)、柔藿苷 (rouhuoside, II)、淫羊藿苷 (icariin, III)。

1 材料与仪器

巫山淫羊藿样品于 2001 年 10 月 11 日采自陕西安康平利东风乡, 由西北大学中药系王亚洲副教授鉴定为 *E. wushanense*。

熔点测定用 X-4 型显微熔点测定仪 (温度未校正); UV 测定用日本 Hitachi U-2001 型紫外-可见分光光度仪; Unicam FTIR 1020 型红外仪; Bruker Esquire 型质谱仪; Bruker AVANCE DRX 500 型核磁共振仪。柱色谱硅胶及薄层色谱硅胶为青岛

收稿日期: 2004-09-28

作者简介: 周颖欣 (1977—), 女, 陕西西安人, 现为西北大学中药专业硕士研究生, 主要从事天然药物分析与分离方面工作。

Tel: (029) 88304569

* 通讯作者 孙文基