

zoctonia DC.), 即本研究首次从丝核菌属(*Rhizoctonia*) 菌株发酵物中分到细胞松弛素 H 和细胞松弛素 O; 而且菌株 YM38338 产细胞松弛素 H 的量很大(148 mg/L), 因此它具有潜在的生产价值。

植物黄花夹竹桃的毒性, 目前认为是由黄花夹竹桃苷所致, 然而, 经对黄花夹竹桃内生真菌种群多样性研究发现, 丝核菌属(*Rhizoctonia* DC.) 是植物黄花夹竹桃细胞内生真菌的优势种群^[7], 丝核菌属(*Rhizoctonia* DC.) 菌株 YM38338 产细胞松弛素 H 的量如此大, 因此, 植物黄花夹竹桃的毒性可能还与其内生真菌代谢产物细胞松弛素 H 有关。

致谢: 中国科学院昆明植物研究所赵友兴博士在化合物结构解析上的帮助。

References:

- [1] Lu H, Zou W X, Meng J C, et al. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp.: an endophytic fungus in *Artemisia annua* plant [J]. *Science*, 2000, 151: 67-73.
- [2] Service R F. Hazel trees offer new source of cancer drug [J]. *Science (Biomed)*, 2000, 288(5463): 27-28.
- [3] Zou W X, Tan R X. Recent advance on endophyte research [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 2001, 43(9): 881-892.
- [4] Patwardhan S A, Pandey R C, Sukh D. Toxic cytochalasins of *Phomopsis paspalli*, a pathogen of KODO millet [J]. *Phytochemistry*, 1974, 13: 1985-1988.
- [5] Ondeyka J, Hensens O D, Zink D, et al. L-696, 474, A novel cytochalasin as an inhibitor of HIV-1 protease [J]. *J Antibiot*, 1992, 45(5): 679-685.
- [6] Espada A, Rivera-Sagredo A, Fuente J M, et al. New cytochalasins from the fungus *Xylaria hypoxylon* [J]. *Tetrahedron*, 1997, 53(18): 6485-6492.
- [7] Peng X W, Yang L Y, Zou B, et al. Study on the diversity of endophytic fungi from *Thevetia peruviana* [J]. *J Yunnan Univ; Nat Sci* (云南大学学报: 自然科学版), 2003, 25(Suppl): 28-31.

黑龙骨化学成分的研究

张援虎, 杨亚婷, 陈东林, 王锋鹏*

(四川大学华西药学院, 四川 成都 610041)

黑龙骨 *Periploca forrestii* Schlecht. 又名滇杠柳、黑骨头, 是萝藦科杠柳属植物。该植物全株药用, 可舒筋活络、祛风除湿; 治风湿性关节炎、跌打损伤、胃痛、消化不良、闭经、痢疾等^[1]。目前关于其化学成分有强心苷、C₂₁甾体苷、胡萝卜苷和熊果酸的报道^[2,3]。药理研究表明^[4], 黑龙骨新鲜茎皮中的总皂苷有强心作用, 其强心作用特点类似毒毛旋花子苷 G。近年研究表明, 强心苷和 C₂₁甾体苷具有多种生理活性, 如抗癫痫、抗肿瘤、抗生育等, 且黑龙骨民间用于镇痛, 效果良好, 因此笔者对黑龙骨的化学成分进行了系统研究, 并从中分离鉴定了 11 个已知化合物, 分别为: periplocymarin (I)、杠柳苷元(II)、杠柳苷(III)、(+)-1-羟基松脂酚(IV)、(±)-丁香树脂醇(V)、熊果酸(VI)、23-羟基齐墩果酸(VII)、β-谷甾醇(VIII)、胡萝卜苷(IX)、丙二酸(X)和 2,4-二羟基苯甲酸甲酯(XI)。其中, 化合物 I、IV、V、VII、VIII、X、XI 为首次从黑龙骨中分离得到, 且化合物 IV、V 是首次从杠柳属植物中分离鉴定。另外, 杠柳苷、periplocymarin 具有强心活性, 这与滇杠柳所具有的强心活性相吻合。

1 仪器和材料

熔点用 X4 型显微熔点仪测定; 红外光谱用 Nicolet FT-IR 200SXV 仪测定, KBr 压片; ESI-MS 用 Finnigan LCQ^{DECA} 仪测定, EI-MS 用 VG Auto Spec 3000 仪测定, 电离能量 70 eV; 核磁共振谱用 Bruker AC-E 200 和 Varian Unity INOVA 400/54 仪测定, TMS 为内标; 中压柱色谱仪为 Buchi B-681 型; 高效液相为 Water's 510 泵, 检测器为 Water's 2410 折光检测器, 分析柱为 PR-18 ODS 柱 (200 mm×4.6 mm, 10 μm), 半制备柱为 PR-18 柱 (200 mm×10 mm, 10 μm); 薄层及柱色谱用硅胶均为青岛海洋化工厂产品, 反相 Rp-18 薄层色谱板及柱色谱用硅胶(45 μm)为德国 Merck 公司生产。

黑龙骨购于云南大理, 经中国科学院植物研究所分类室李振宇研究员鉴定, 为黑龙骨 *P. forrestii* Schlecht. 的全株。

2 提取与分离

20 kg 黑龙骨粉末用醋酸乙酯加热回流 3 次, 每次 4 h, 减压回收溶剂后得浸膏 467 g。467 g 浸膏经硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇梯度洗脱, 分为 A

收稿日期: 2005-05-15

作者简介: 张援虎(1967—), 男, 四川大学华西药学院博士后, 主要从事天然产物分离与鉴定工作。 E-mail: zhangyuanhu@263.net

* 通讯作者 王锋鹏 Tel/Fax: (028)85501368 E-mail: wfp@wcums.edu.cn

(144 g)、B(180 g)、C(148 g) 3 部分。

B 部分(180 g)析出白色结晶,经甲醇重结晶,得化合物Ⅶ(132 mg)。C 部分(148 g)经中压硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇梯度洗脱,分为 C₁、C₂、C₃ 3 部分。C₁ 部分(40 g)再经中压硅胶柱色谱分离,石油醚-丙酮梯度洗脱,得到 146 个流份。流份 125~146 (6.0 g)经正、反相硅胶柱色谱纯化,得到化合物 I (192 mg)。C₃ 部分(93 g)经反相中压柱色谱分离,甲醇-水梯度洗脱,分为 C₃-1、C₃-2、C₃-3、C₃-4 4 部分。C₃-1(15 g)部分经硅胶柱色谱反复分离,HPLC 纯化,得到化合物 N (17 mg)、Ⅵ(96 mg)。C₃-2(13 g)部分经正、反相硅胶柱色谱反复分离纯化,得到化合物 Ⅰ (106 mg)、Ⅱ (192 mg)。C₃-3(11 g)部分经正、反相硅胶柱色谱分离纯化,得到化合物 V (38 mg)、Ⅶ(45 mg)、X (22 mg)、Ⅹ(19 mg)。C₃-4(41 g)部分出现白色沉淀,经甲醇重结晶,得到化合物 Ⅹ (212 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I :无色针晶(甲醇),mp 138~140 °C。ESI-MS m/z (%):534[M]⁺(100)。¹H-NMR(DMSO-d₆)δ:0.76(3H,s,H-18),0.82(3H,s,H-19),1.12(3H,d,J=6.0 Hz,H-6'),2.76(1H,m,H-17),3.35(3H,s,H-OMe),4.05(1H,br.s,H-3),4.72(1H,dd,J=1.6,9.6 Hz,H-1'),4.99(2H,ddd,J=1.6,18.8 Hz,H-21),5.91(1H,s,H-22)。¹³C-NMR(DMSO-d₆)δ:25.6(C-1),25.7(C-2),73.1(C-3),34.8(C-4),73.3(C-5),34.9(C-6),23.7(C-7),40.3(C-8),38.4(C-9),40.6(C-10),21.5(C-11),39.4(C-12),49.6(C-13),84.1(C-14),32.5(C-15),26.7(C-16),50.4(C-17),16.0(C-18),17.0(C-19),176.6(C-20),73.5(C-21),116.6(C-22),174.1(C-23),96.6(C-1'),35.4(C-2'),77.8(C-3'),75.0(C-4'),70.1(C-5'),18.7(C-6'),58.1(OMe)。¹H-NMR、¹³C-NMR数据与文献报道^[5]一致,鉴定化合物 I 为 periplocymarin。

化合物 Ⅰ :无色针晶(甲醇),mp 237~239 °C。ESI-MS m/z (%):390[M]⁺(100)。¹H-NMR(DMSO-d₆)δ:0.76(3H,s,H-18),0.83(3H,s,H-19),2.76(1H,m,H-17),4.00(1H,br.s,H-3),4.99(2H,ddd,J=2.0,18.8 Hz,H-21),5.91(1H,s,H-22)。¹³C-NMR(DMSO-d₆)δ:25.1(C-1),27.5(C-2),66.8(C-3),36.9(C-4),73.8(C-5),35.1(C-6),23.6(C-7),40.2(C-8),38.2(C-9),40.6(C-10),

21.5(C-11),39.3(C-12),49.5(C-13),84.0(C-14),32.4(C-15),26.6(C-16),50.3(C-17),15.9(C-18),17.0(C-19),176.6(C-20),73.4(C-21),116.5(C-22),174.1(C-23)。¹H-NMR、¹³C-NMR数据与文献报道^[4]一致,鉴定化合物 Ⅰ 为杠柳苷元。

化合物 Ⅱ :无色针晶(甲醇),mp 207~209 °C。ESI-MS m/z (%):696[M]⁺(100),534[M-C₆H₁₀O₅]⁺(20)。¹H-NMR(DMSO-d₆)δ:0.76(3H,s,H-18),0.82(3H,s,H-19),1.20(3H,d,J=6.0 Hz,H-6'),2.76(1H,m,H-17),3.35(3H,s,OMe),4.05(1H,m,H-3),4.74(1H,d,J=8.4 Hz,H-1'),4.91(1H,d,J=6.4 Hz,H-1'),4.99(2H,ddd,J=1.6,18.4 Hz,H-21),5.91(1H,s,H-22)。¹³C-NMR(DMSO-d₆)δ:25.5(C-1),25.6(C-2),73.9(C-3),34.8(C-4),73.2(C-5),34.6(C-6),23.6(C-7),40.2(C-8),38.2(C-9),40.5(C-10),21.5(C-11),39.2(C-12),49.5(C-13),84.0(C-14),32.4(C-15),26.5(C-16),50.3(C-17),15.8(C-18),16.9(C-19),176.5(C-20),73.4(C-21),116.4(C-22),174.1(C-23),96.4(C-1'),35.8(C-2'),76.8(C-3'),82.2(C-4'),68.7(C-5'),18.2(C-6'),58.1(C-OMe),105.1(C-1''),74.9(C-2''),77.0(C-3''),70.4(C-4''),76.9(C-5''),61.6(C-6'')。¹H-NMR、¹³C-NMR数据与文献报道^[4]一致,鉴定化合物 Ⅱ 为杠柳苷。

化合物 IV :无色针晶(甲醇),mp >345 °C。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹:3 483,3 445,2 947,2 851,1 611,1 513,1 461,1 427,1 392,1 359,1 274,1 240,1 198,1 122,1 066,1 028,964,822,766。EI-MS m/z (%):374[M]⁺(100),237(6),222(19),207(56),193(16),178(10),165(31),151(91),137(66),131(48),109(17)。¹H-NMR(DMSO-d₆)δ:2.90(1H,d,J=5.6 Hz,H-8'),3.76(6H,s,OMe),4.52(1H,s,H-7),4.75(1H,d,J=4.0 Hz,H-7'),6.70(1H,d,J=8.0 Hz,H-5),6.74(1H,d,J=5.6 Hz,H-5'),6.76(1H,s,H-6),6.82(1H,d,J=8.0 Hz,H-6'),6.96(1H,s,H-2),6.97(1H,s,H-2')。¹³C-NMR(DMSO-d₆)δ:128.1(C-1),112.3(C-2),147.0(C-3),146.0(C-4),114.7(C-5),120.3(C-6),87.3(C-7),91.2(C-8),74.7(C-9),132.5(C-1'),110.7(C-2'),147.6(C-3'),146.0(C-4'),115.3(C-5'),119.0(C-6'),85.5(C-7'),60.9(C-8'),70.4(C-9'),55.7(OMe)。¹³C-NMR数据与文献报道^[6]一致,鉴定化

合物Ⅳ为(+)-1-羟基松脂酚。

化合物Ⅴ:无色片晶(甲醇),mp 175~177℃。ESI-MS m/z (%): 418 $[M]^+$ (80), 198 (100)。 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 3.09 (2H, m, H-8, 8'), 3.89 (4H, s, H-9, 9'), 5.51 (2H, s, H-7, 7'), 6.57 (4H, s, H-2, 2', 6, 6')。 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$) δ : 132.0 (C-1), 102.7 (C-2), 147.1 (C-3), 134.3 (C-4), 147.1 (C-5), 102.7 (C-6), 85.9 (C-7), 54.2 (C-8), 71.7 (C-9), 132.0 (C-1'), 102.7 (C-2'), 147.1 (C-3'), 134.3 (C-4'), 147.1 (C-5'), 102.7 (C-6'), 85.9 (C-7'), 54.2 (C-8'), 71.7 (C-9'), 56.3 (OMe)。 1H -NMR、 ^{13}C -NMR数据与文献报道^[6,7]一致,鉴定化合物Ⅴ为(±)-丁香树脂醇。

化合物Ⅵ:白色粉末,mp 278~280℃。ESI-MS、 1H -NMR、 ^{13}C -NMR数据与文献报道^[8]一致,鉴定化合物Ⅵ为熊果酸。

化合物Ⅶ:白色粉末,mp 291~294℃。ESI-MS、 1H -NMR、 ^{13}C -NMR数据与文献报道^[6]一致,鉴定化合物Ⅶ为23-羟基齐墩果酸。

化合物Ⅷ:白色针晶(甲醇),mp 143~144℃。与 β -谷甾醇对照品对比,Rf值一致,且混合熔点不降低,故鉴定为 β -谷甾醇。

化合物Ⅸ:白色粉末,mp 280~281℃。与胡萝卜苷对照品对比,Rf值一致,且混合熔点不降低,故鉴定为胡萝卜苷。

化合物Ⅹ:无色片晶(甲醇),mp 162~165℃。 1H -NMR、 ^{13}C -NMR数据与文献报道^[9]一致,鉴定化合物Ⅹ为丙二酸。

化合物Ⅺ:无色针晶(甲醇),mp 162~165℃。

ESI-MS m/z (%): 168 $[M]^+$ (100), 152 (40), 108 (20)。 1H -NMR ($DMSO-d_6$) δ : 7.46 (1H, dd, $J=2.0$, 8.0 Hz, H-5), 7.43 (1H, s, H-3), 6.86 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6), 3.80 (1H, s, H-1')。 ^{13}C -NMR ($DMSO-d_6$) δ : 122.0 (C-1), 147.6 (C-2), 113.2 (C-3), 151.5 (C-4), 115.4 (C-5), 123.9 (C-6), 167.6 (C=O), 55.9 (OMe)。根据以上数据鉴定化合物Ⅺ为2,4-二羟基-苯甲酸甲酯。

References:

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edita. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 63. Beijing: Science Press, 1977.
- [2] Hu Y J, Mu Q Z, Zhen Q T, et al. New cardiac ester constituents from *Periploca forrestii* [J]. *Acta Chim Sin* (化学学报), 1990, 48(3): 714-719.
- [3] Hu Y J, Mu Q Z. The chemical constituents of *Periploca forrestii* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1989, 11(4): 465-470.
- [4] Deng S X, Wang D C, Wang M D, et al. Cardiotonic action of a glucosidal preparation obtained from *Periploca forrestii* Schlechter [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1964, 11(2): 75-79.
- [5] Xu J P, Takeya K, Itokawa H. Pregnanes and cardenolides from *Periploca sepium* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(1): 344-346.
- [6] Yu D Q, Yang J S. *The Handbook of Analysis Chemistry* (分析化学手册) [M]. Fascicle 7. Beijing: Chemical Industry Publishing House, 1999.
- [7] Nawwar M A M, Buddrus J, Bauer H. Dimeric phenolic constituents from the roots of *Tamarix nilotica* [J]. *Phytochemistry*, 1982, 21(7): 1755-1758.
- [8] Seo S, Tomita Y, Tori K. Carbon-13 NMR spectra of urs-12-enes and application to structural assignments of compounds of *Isodon japonicus* Hara tissue cultures [J]. *Tetrahedron Lett*, 1975, 1: 7-10.
- [9] Tegenfeldt J, Feucht H, Rushitzka G, et al. Proton and carbon-13 nuclear magnetic shielding tensors in solid pyromellitic acid dihydrate and malonic acid [J]. *J Magn Reson*, 1980, 39(3): 509-520.

杏香兔耳风的化学成分研究(Ⅱ)

张锐^{1,2},曾宪仪¹,张正行²

(1. 江西省药物研究所,江西 南昌 330029; 2. 中国药科大学,江苏 南京 210009)

菊科兔耳风属植物杏香兔耳风 *Ainsliaea fragrans* Champ. 为多年生草本,民间药用全草,具有清热、利湿、凉血、解毒的功效^[1]。有关报道兔耳风属植物及杏香兔耳风的化学研究多集中于非极性成分^[2,3],主要分离出了倍半萜内酯、三萜类化合物及

甾醇等。迄今未见有水溶性部位化学成分的系統报道。本实验从杏香兔耳风极性部位分离得到5种化学成分,经理化及光谱鉴定为:原儿茶醛(Ⅰ)、邻苯二酚(Ⅱ)、原儿茶酸(Ⅲ)、对羟基苯甲醛(Ⅳ)、绿原酸(Ⅴ)。各成分均首次从该属植物中分得。

收稿日期:2005-05-26

作者简介:张锐(1976—),男,江西进贤人,助理研究员,中国药科大学2002级在职硕士研究生,研究方向为中药化学成分及质量评价。 Tel: (0791)8102554 E-mail: work037@sohu.com