

(3H, s, OCH₃-7), 3.72 (3H, s, OCH₃-6); ¹³C-NMR (DMSO-d₆, DEPT) δ: 163.6 (s, C-2), 103.6 (d, C-3), 182.3 (s, C-4), 152.0 (s, C-5), 131.8 (s, C-6), 158.6 (s, C-7), 91.6 (d, C-8), 152.6 (s, C-9), 105.1 (s, C-10), 122.7 (s, C-1'), 109.3 (d, C-2'), 149.0 (s, C-3'), 152.2 (s, C-4'), 111.6 (d, C-5'), 120.1 (d, C-6'), 55.7 (q, OCH₃-6), 55.8 (q, OCH₃-7), 56.4 (q, OCH₃-3'), 60.0 (q, OCH₃-4'). ¹H-NMR、¹³C-NMR 数据与文献一致^[7], 故鉴定化合物 VI 为 5-羟基-6,7,3',4'-四甲氧基黄酮。

化合物 VII: 浅黄色针晶(甲醇), mp 285~286 °C。 ¹H-NMR、MS 数据与文献一致^[9], 故鉴定化合物 VII 为 5,4'-二羟基-7-甲氧基黄酮。

化合物 VIII: 浅黄色针晶(甲醇), mp 214~215 °C。 EI-MS *m/z* (100%): 344[M]⁺ (60), 329[M-15]⁺ (100); ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 12.48 (1H, s, OH-5), 9.12 (1H, s, OCH₃-6), 8.04 (2H, d, *J*=9.0 Hz, H-2', 6'), 7.14 (2H, d, *J*=9.0 Hz, H-3', 5'), 6.91 (1H, s, H-3), 3.94 (3H, s, OCH₃), 3.91 (3H, s, OCH₃), 3.85 (3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR (DMSO-d₆, DEPT) δ: 163.5 (s, C-2), 103.0 (d, C-3), 182.6 (s, C-4), 141.8 (s, C-5), 134.2 (s, C-6), 148.0 (s, C-7), 132.9 (d, C-8), 143.1 (s, C-9), 106.1 (s, C-10), 122.9 (s, C-1'), 128.2 (d, C-2'), 144.7 (s, C-3'), 162.4 (s, C-4'), 114.7 (d, C-5'), 128.2 (d, C-6'), 61.8 (q, OCH₃), 60.9 (q, OCH₃), 55.5 (q, OCH₃)。根据以上数据鉴定化合物 VIII 为 5,6-二羟基-7,8,4'-三甲氧基黄酮。

化合物 IX: 黄色针晶(甲醇), mp 227~230 °C。 MS、¹³C-NMR 数据与文献一致^[10], 故鉴定化合物 IX 为 5,4'-二羟基-6,7,8-三甲氧基黄酮。

化合物 X: 浅黄色粉末, mp 266~267 °C。 Molish 反应阳性, 盐酸水解液与标准糖对照, 含鼠李糖和葡萄糖。 ESI-MS *m/z* (%): 591 (M⁺-1)。 ¹H-NMR、¹³C-NMR 数据与文献^[11]一致, 故鉴定化合物 X 为 4'-甲氧基-5,7-二羟基黄酮-7-O-α-L-鼠李糖(1-6)-β-D-吡喃葡萄糖苷(醉鱼草苷, linarin)。

致谢: 北京微量化学所涂光忠教授、安冬各副教授及北京大学药学院乔梁副教授代测核磁共振谱; 中国科学院化学所质谱室熊少祥副教授代测质谱。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [2] Zhang J D, Wang Q Q. The chemical constituents in the residue of *Mentha haplocalyx* and their antiphlogistic action [J]. *Shandong Pharm Ind* (山东医药工业), 2000, 19(3): 34-35.
- [3] Shan C C. Use of RBL-2H3 cells in the study of anti-hypersensitive action compounds (I) [J]. *Foreign Med Sci; Tradit Chin Med* (国外医学; 中医中药分册), 1996, 18(4): 54.
- [4] Shi Y, Shi R B, Liu B, et al. Studies on antiviral flavonoids in Yinqiaosan powder [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(5): 320-323.
- [5] Wang J Z, Wang F P. Two flavones from the leaves of *Rabdosia coetsa* [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药科学杂志), 1999, 14(2): 73-75.
- [6] Arouk Z, Bernard V, Maurice J, et al. Free flavonoid aglycones from leaves of *Mentha pulegium* and *Mentha suaveolens* (Labiatae) [J]. *Phytochemistry*, 1998, 48(6): 991-994.
- [7] Zheng J, Zhao D S, Wu B, et al. A study on chemical constituents in the herb of *Mentha spicata* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(10): 749-751.
- [8] Jullien F, Voirin B, Bernillon J, et al. Highly oxygenated flavones from *Mentha piperita* [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(12): 2972-2973.
- [9] Zhang G W, Ma X Q, Su J Y, et al. Flavonoids isolated from *Pogostemon cablin* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(10): 871-874.
- [10] Corticchiato M, Bernardini A, Costa J, et al. Free flavonoid aglycones from *Thymus herba barona* and its monoterpenoid chemotypes [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(1): 115-120.
- [11] Li J S, Zhao Y Y, Wang B, et al. Separation and identification of the flavonoids from *Buddleia officinalis* Maxim [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1996, 31(11): 849-854.

沙棘籽中的原花色素化合物

樊金玲, 丁霄霖*, 徐德平

(江南大学食品学院 天然药食学科组, 江苏 无锡 214036)

沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. 为胡颓子科沙棘属植物, 广泛分布于欧亚大陆^[1]。我国是沙棘属植物分布面积最大、种类最多的国家。沙棘具有祛痰、

利肺、化湿、壮阴、升阳、健脾养胃与破瘀止血等多种功效^[2], 其化学成分研究多见于黄酮化合物^[3], 原花色素成分研究较少。原花色素是黄烷-3-醇单元经

收稿日期: 2005-07-24

作者简介: 樊金玲(1973-), 女, 研究方向为天然药食科学。 Tel: (0510)88866956 E-mail: fan20032006@yahoo.com.cn

* 通讯作者 丁霄霖

C₄→C₈ 或 C₄→C₆ 键连接而成的多聚化合物,具有抗癌、抗病毒等多种活性;原花青素和原飞燕草素是最为常见的两类原花色素。对沙棘籽中的原花色素成分进行了研究,从其70%丙酮提取的醋酸乙酯部分分得6个化合物,鉴定为:儿茶素(catechin, I)、表儿茶素(epicatechin, II)、槲儿茶素(gallocatechin, III)、表槲儿茶素(epigallocatechin, IV)、原花青素B-3[catechin-(4 α -8)-catechin, V]、原花青素B-4[catechin-(4 α -8)-epicatechin, VI]。同时,利用Sephadex LH-20纯化原花色素多聚体组分,并通过HPLC-ESI分析多聚体的苄硫醇降解产物,确定组成及聚合度。结果表明,儿茶素、表儿茶素、槲儿茶素、表槲儿茶素均出现延伸单元和末端单元中,槲儿茶素是构成末端单元的主要成分,原飞燕草素单元是延伸单元的主要成分。多聚体的平均聚合度为12.2,原飞燕草素比例为81.2%。化合物V、VI为首次从该属植物中分离得到。

1 实验部分

1.1 仪器和材料:¹H-NMR(500 MHz)和¹³C-NMR(125 MHz)用Bruker公司生产的Advance 500型核磁共振仪测定。高效液相色谱为Waters 2690。ESI-MS用Waters Platform ZMD 4000型质谱仪测定。柱色谱聚酰胺(90~100目)为浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂产品,薄层硅胶GF₂₅₄为青岛海洋化工厂生产;ODS-AQ(C18)购自日本YMC公司;Toyopearl HW-40F购自日本TOSOH公司。所用溶剂均为分析纯,由国药集团化学试剂有限公司生产;实验用沙棘籽采自山西省太谷县,经山西省农业大学秦国新鉴定为*H. rhamnoides* L.。

1.2 提取与分离:沙棘籽5 kg,磨粉后用水-丙酮(30:70)回流提取3次,合并提取液;减压蒸发除去丙酮,剩余水溶液先后用正己烷、醋酸乙酯萃取。醋酸乙酯相经过聚酰胺柱色谱分离,以水-乙醇(100:0, 15:85, 35:65, 55:45, 70:30)进行梯度洗脱,分步收集的流分经薄层色谱展开[展开剂:甲苯-丙酮-醋酸(3:3:1)],并用香草醛-硫酸显色,合并相同流分。显色反应表明35:65, 55:45洗脱组分含原花色素类物质。35:65(水-乙醇)流分经Toyopearl HW-40F凝胶柱色谱纯化得到化合物I、II、III、IV。55:45流分经过Toyopearl HW-40F凝胶柱色谱和常压反相柱色谱(ODS-AQ)纯化后,得到化合物V、VI。水相经Sephadex LH-20柱色谱纯化,水-乙醇(50:50)洗脱大部分杂质,然后用水-丙酮(30:70)洗脱,收集洗脱液,40℃真空浓缩至干,

得到沙棘籽原花色素多聚体。对多聚体进行苄硫醇降解分析。

1.3 多聚体原花色素分析

1.3.1 苄硫醇降解反应^[4]:于1 cm×10 cm试管中依次加入2 mg/mL多聚体的甲醇溶液0.4 mL、3.3% HCl的甲醇溶液0.4 mL及5%苄硫醇甲醇溶液0.8 mL,试管密封,混匀后于水浴(40℃)中反应30 min。硫醇产物经HPLC/ESI-MS分析。

1.3.2 色谱质谱条件:色谱柱:Purospher STAR RP18(250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相A液:15%甲醇含1%醋酸,B液:85%甲醇含1%醋酸。线性梯度洗脱:0→30 min, B液0→100%;体积流量:1.0 mL/min;柱温:35℃;进样量:20 μ L;检测波长:280 nm。质谱条件:负离子扫描(ESI⁻, m/z 100~900),毛细管电压:3.8 kV;锥孔电压:30 V;光电倍增器电压:650 V;离子源温度:120℃;脱溶剂气温度:300℃;检测分流比1:5。以二氢五羟黄酮为标准物质,(表)儿茶素苄硫醚、(表)槲儿茶素苄硫醚、(表)儿茶素、(表)槲儿茶素的相对摩尔响应系数分别为0.25、0.06、0.26、0.07^[5]。平均聚合度按下式计算。

平均聚合度=苄硫醚衍生物总量/黄烷-3-醇总量+1

2 结构鉴定

化合物I:白色粉末,易溶于甲醇。ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR数据与文献对照^[6],与儿茶素基本一致。

化合物II:白色粉末,易溶于甲醇。ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR数据与文献表儿茶素(epicatechin)基本一致^[6]。

化合物III:白色粉末,易溶于甲醇。ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR数据与槲儿茶素基本一致^[6]。

化合物IV:白色粉末,易溶于甲醇。ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR数据与表槲儿茶素基本一致^[6]。

化合物V:白色粉末,易溶于甲醇。Negative ESI-MS m/z :577[M-H]⁻、451、425、407、289、287。延伸单元儿茶素(extension unit)¹³C-NMR(DMSO-d₆) δ :157.4(C-7),156.0(C-8 α),146.4(C-5),146.1(C-3'),145.8(C-4'),132.2(C-1'),120.2(C-6'),116.5(C-5'),115.5(C-2'),107.5(C-4 α),97.2(C-6),96.4(C-8),84.4(C-2),73.9(C-3),38.9(C-4)。末端单元儿茶素(terminal unit)158.9(C-7),156.2(C-5),155.2(C-8 α),146.3(C-3'),145.9(C-4'),132.9(C-1'),120.9(C-6'),116.7(C-5'),115.8(C-2'),108.5(C-8),102.6(C-4 α),97.6(C-6),82.8(C-2),69.2(C-3),29.1(C-4)。从¹³C-NMR可见,该化合

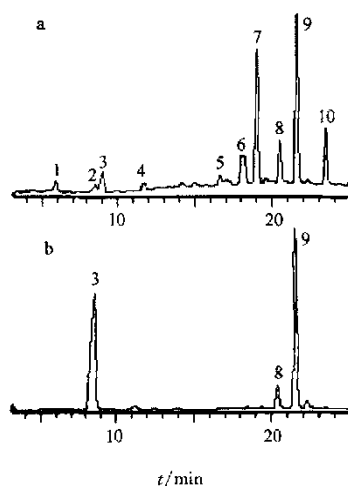
物有 30 个碳,应为二聚体结构。29.1、69.2、82.8 应为儿茶素的 C-4、C-3、C-2 的信号;38.9、73.9、84.4 应为另一儿茶素的 C-4、C-3、C-2 的信号,因 C4-C8 相连,使这一儿茶素单元的 C4 移向低场,同时引起 C-3、C-2 移向低场,同时 C-4 α (107.5)也移向低场,因此这一组信号为延伸单元儿茶素,而末端单元儿茶素的 C-8 也向低场移动,故判断为 catechin-(4 α -8)-catechin。经与文献对照^[7],ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据基本一致。

化合物 VI:白色粉末,易溶于甲醇。Negative ESI-MS m/z : 577 $[M-H]^-$ 、451、425、407、289、287。¹³C-NMR (DMSO- d_6)延伸单元儿茶素(extension unit) δ : 159.2 (C-7), 157.8 (C-8 α), 156.1 (C-5), 147.2 (C-3'), 146.8 (C-4'), 132.7 (C-1'), 121.7 (C-6'), 116.9 (C-2'), 109.1 (C-5'), 107.7 (C-8), 107.2 (C-4 α), 98.2 (C-6), 84.3 (C-2), 74.3 (C-3), 39.4 (C-4)。末端单元表儿茶素(terminal unit) 157.9 (C-7), 156.8 (C-8 α), 155.4 (C-5), 146.9 (C-3'), 146.6 (C-4'), 132.2 (C-1'), 121.7 (C-6'), 116.5 (C-2'), 108.3 (C-5'), 107.2 (C-4 α), 99.9 (C-8), 97.8 (C-6), 80.4 (C-2), 67.9 (C-3), 30.3 (C-4)。从¹³C-NMR 可见,该化合物有 30 个碳,应为黄酮类化合物的二聚体。共有 10 个连氧苯环碳,30.3、39.4 的化学位移表明应为黄烷醇类化合物的二聚体。67.9 和 80.4 应为表儿茶素的 C-3 和 C-2 信号,表明表儿茶素为二聚体的末端单元,即 4 位未参与成键。表儿茶素 C-8 的 δ 值由 95 左移到 99.9。表明参与成键。74.3 应为儿茶素的 C-3 信号,其 δ 值向低场移动 6,说明受到 β 位的影响;39.4 为儿茶素 C-4 信号,说明 C-4 参与成键, δ 值向低场移动。综合以上分析,该化合物为 catechin-(4 α -8)-epicatechin。经与文献对照^[7],ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据基本一致。

3 多聚体原花色素结构分析

在苜硫醇存在条件下的酸降解反应(简称硫解)是常用的原花色素的分析方法之一^[8]。硫解使原花色素的末端单元以游离的黄烷-3-醇的形式释放出来,延伸单元被亲核试剂苜硫醇捕捉,生成相应的苜硫醚化合物。分析硫解产物,可确定原花色素的构成单元及聚合度等主要结构特征。

硫解经 Sephadex LH-20 纯化后的沙棘籽原花色素多聚体,硫解产物通过 HPLC 分离,并经串联 ESI-MASS 加以鉴别。硫解物的高效液相色谱图见图 1。沙棘籽原花色素硫解共得到 10 种产物。结合对照单体化合物的紫外吸收光谱及质谱图(图 2-a,



a-多聚体总提取物 b-原花青素 B3

a-total extract of polymeric PA b-procyanidin B3

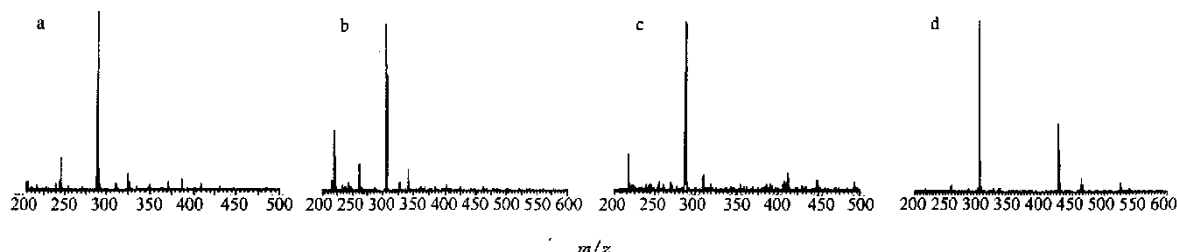
图 1 280 nm 检测沙棘籽原花青素硫解产物的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of thiolysis media of sea buckthorn seed proanthocyanidins (PA) detected at 280 nm

2-b), 确定峰 1 ($[M-H]^- m/z$; 305)、峰 2 ($[M-H]^- m/z$; 305)、峰 3 ($[M-H]^- m/z$; 289)、峰 4 ($[M-H]^- m/z$; 289) 分别为 表儿茶素、表儿茶素、儿茶素、表儿茶素。峰 8、峰 9 的 $[M-H]^- m/z$ 为 411(图 2-c), 经与原花青素 B3 的硫解产物对照, 确定为儿茶素苜硫醚。峰 10 的质谱信息与儿茶素苜硫醚极为相似, 但原花青素 B3 硫解产物中并未出现该化合物, 表明为表儿茶素苜硫醚。峰 5、6、7 的 $[M-H]^- m/z$ 为 427, 特征碎片离子 m/z 为 303(图 2-d), 表明这 3 个化合物为表儿茶素苜硫醚或儿茶素苜硫醚。但由于质谱图无法给出 C-2、3、4 的构型信息, 因此, 暂不能区分这两类苜硫醚产物。

定量计算各硫解产物, 得到沙棘籽原花色素的单体构成及聚合度, 见表 1。由于本试验条件下无法区分儿茶素、表儿茶素的苜硫醚产物, 因此, 将相应延伸单元中的儿茶素(GC)和表儿茶素(EGC)合并计算, 统称为原飞燕草素单元。从表 1 可看出, 儿茶素、表儿茶素、儿茶素、表儿茶素均出现在延伸单元和末端单元中, 反映出沙棘籽原花色素的高度异质性。儿茶素是构成末端单元的主要成分, 原飞燕草素单元是延伸单元的主要成分。平均聚合度为 12.2, 原飞燕草素比例为 81.2%, 儿茶素占末端单元的 56.1%。

目前, 已从沙棘籽中纯化得到 4 种黄烷醇单体和两种二聚体, 分别为儿茶素、表儿茶素、儿茶素、表儿茶素、原花青素 B3 和 B4。由于原飞燕草素二



a-(表)儿茶素 b-(表)棓儿茶素 c-(表)儿茶素苄硫醚 d-(表)棓儿茶素苄硫醚
a-(epi) catechin b-(epi) gallo catechin c-(epi) catechin benzylthioether d-(epi) gallo catechin benzylthioether

图 2 沙棘籽原花色色素多聚体硫解产物的质谱图

Fig. 2 Mass spectrogram of components in thiolysis media of sea buckthorn seed proanthocyanidins polymers

表 1 沙棘籽原花色色素多聚体的平均聚合度及单体组成分析*

Table 1 Analysis of average polymerization grade and single composition of sea buckthorn seed proanthocyanidin polymers determined by HPLC*

末端单元				延伸单元			平均聚合度/	原飞燕草素比例/%
GC	EGC	Cat	EC	GC+EGC	Cat	EC	mDP	
4.6	1.3	1.6	0.70	75.2	13.7	2.9	12.2	81.2

*GC, EGC, Cat, EC 分别为棓儿茶素、表棓儿茶素、儿茶素及表儿茶素单元的缩写,表中数据为摩尔分率

*GC, EGC, Cat, and EC are abbreviations for gallo catechin, epigallo catechin, catechin, and epicatechin units. All amounts represent relative concentrations (in mol)

聚体在分离纯化过程中极易氧化,因而未能得到。在试验过程中,同时发现了数量较多的混合二聚体,即由(表)儿茶素和(表)棓儿茶素单元组成的二聚体(HPLC-ESI 分析结果另见报道)多聚体由儿茶素、表儿茶素、棓儿茶素、表棓儿茶素单元组成,并且主要为原飞燕草素。以上研究结果表明:沙棘籽原花色色素组成复杂,具有高度异质的特点。这是有关沙棘籽原花色色素组成的首次报道。

References:

- [1] Rousi A. The genus *Hippophae* L. A taxonomic study [J]. *Ann Bot Fennici*, 1971, 8: 177-227.
- [2] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [3] R ösch D, Bergmann M, Knorr D, et al. Structure-antioxi-

dant efficiency relationships of phenolic compounds and their contribution to antioxidant activity of sea buckthorn juice [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(15): 4233-4329.

- [4] Guyot S, Marnet N, Drilleau J F. Thiolysis HPLC characterization of apple procyanidins covering a large range of polymerizations rates [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 14-20.
- [5] Meagher L P, Lane G, Sivakumaran S, et al. Characterization of condensed tannins from *Lotus* species by thiolytic degradation and electrospray mass spectrometry [J]. *Animal Feed Sci Technol*, 2004, 117: 151-163.
- [6] Foo L Y, Lu Y, Menabb W C, et al. Proanthocyanidins from *Lotus pedunculatus* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(8): 1689-1690.
- [7] Jorge M, Ricardo da Sliva, Rigard J, et al. Procyanidin dimmers and trimers from grape seed [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(4): 1259-1264.
- [8] Matthews W, Mila I, Scalbert A, et al. Method for estimation of proanthocyanidins based on their acid depolymerization in the presence of nucleophiles [J]. *J Agric Food Chem*, 1997, 45: 1195-1201.

喜树果脂肪酸化学成分分析

刘展眉^{1,2}, 崔英德¹, 方岩雄²

(1. 广东工业大学 轻工化工学院, 广东 广州 510090; 2. 仲恺农业技术学院 化学与化工系, 广东 广州 510225)

喜树 *Camptotheca acuminata* Decne. 隶喜树属 *Camptotheca* Decne. 珙桐科, 为我国特有树种, 出产于我国的浙江、江苏、江西、湖北、湖南、广东等地。

1966 年由 Wall 等人首次从我国引种的喜树杆中分离得到喜树碱(CPT), 研究发现喜树碱对胃癌、直肠癌等恶性肿瘤均有一定的近期疗效。1985 年,

收稿日期: 2005-10-30

基金项目: 广东省科学技术攻关项目资助(2KB01202S)

作者简介: 刘展眉(1963—), 女, 广州, 副教授, 在职博士, 主要从事天然产物化学研究。

Tel: (020)89003160 E-mail: liuzhanm@21cn.com