

苷光谱数据一致^[5]。

化合物 IV: 白色针状结晶(甲醇), mp 303~305 °C (CH₃OH-H₂O), 碘化铋钾反应呈阳阳。ESI-MS m/z : 136(M+1), 134(M-1), 107, 92。IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3 119(ν_{NH}), 1 675($\nu_{\text{C=O}}$), 1 605($\nu_{\text{C=C}}$), 1 310($\nu_{\text{C-N}}$)。¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.86 (1H, s, H-7), 8.11 (2H, br. s, H-2, 8), 7.10 (2H, s, NH₂-6)。¹³C-NMR (DMSO-d₆) δ : 155.9 (C-6), 152.4 (C-2), 150.3 (C-4), 138.9 (C-8), 118.6 (C-5)。以上 IR、ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 数据和文献报道腺嘌呤光谱数据一致^[6]。

化合物 V: 白色针状结晶(甲醇), mp 336~338 °C, ¹H-NMR、¹³C-NMR 数据和文献报道一致^[7], 故推定为尿嘧啶。

化合物 VI: 白色针状结晶(甲醇), mp 300~302 °C (CHCl₃-CH₃OH)。碘化铋钾反应呈阳性。IR、ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 数据和文献报道一致^[6], 故

推定为胸腺嘧啶。

致谢: 核磁共振、质谱由本校分析测试中心代测, 于森参与了本研究工作

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] Sang S M, Lao A N, Wang H C, et al. Furostanol saponins from *Allium tuberosum* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52: 1611-1615.
- [3] Sang S M, Xia Z H, Mao S L, et al. Studies on chemical constituents in seeds of *Allium tuberosum* Rottl. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25(5): 286-287.
- [4] Zou Z M, Yu D Q, Cong P Z. A steroidal saponins from the seeds of *Allium tuberosum* [J]. *Phytochemistry*, 2001, 57: 1219-1222.
- [5] Zhou R P, Fu H Z, Zhang L H. Nucleosides from *Anthopleura stell* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(4): 289-291.
- [6] Chen Q, Wu L J, Ruan L J. Chemical studies on the constituents of *Lophatherum gracile* Brongn [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2002, 19(4): 257-259.
- [7] Xu Y J, Zhao H F, Si Y H. Isolation and structural elucidation of active constituents in Ginseng Sini Tang [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(3): 203-204.

银杏叶化学成分及其对磷酸二酯酶 5 抑制活性研究

尉小慧^{1,2}, 陈 珺³, 夏广新¹, 沈敬山^{1*}, 嵇汝运¹

(1. 中国科学院上海生命科学研究院上海药物研究所, 上海 201203; 2. 上海中药标准化研究中心, 上海 201203; 3. 南京工业大学材料科学与工程学院, 江苏 南京 210009)

磷酸二酯酶 5 (phosphodiesterase 5, PDE5) 是磷酸二酯酶家族中的一员, 主要分布在哺乳类阴茎海绵体。阻断或抑制 PDE5 活性, 可引起阴茎动脉内膜细胞中 cGMP 水平上升, 血管舒张, 促阴茎勃起。PDE5 作为治疗勃起功能障碍 (ED) 药物的靶点日益引人注目。银杏叶提取物 (GBE) 可引起阳痿病人阴茎海绵体舒张, 用于 ED 的治疗^[1,2]。笔者对 GBE 的粗提物进行活性筛选, 发现其具有 PDE5 酶抑制活性。银杏中主要成分为黄酮类、双黄酮类、萜内酯类, 为研究化合物类型与 PDE5 抑制活性关系, 从上述 3 种类型分别选取 2~3 个代表性化合物, 进行活性测试。结果显示 3 种类型化合物均有一定的 PDE5 抑制活性, 其中以双黄酮类活性最强。

1 仪器、材料与样品

Varian Mercury-400 (1H, 400 MHz) 核磁共振仪; Buchi Rotavapor R-114 旋转蒸发器; MAT-95 型质谱仪; Buchi 510 熔点仪。

95 型质谱仪; Buchi 510 熔点仪。

PDE5 从人血小板提取纯化; 磷酸二酯酶 [³H] cGMP SPA 试剂盒 (瑞典 Amersham Biosciences)。

银杏叶, 购自山东, 经鉴定为银杏科银杏属植物银杏 *Ginkgo biloba* Linn. 的干燥叶片。

2 方法与结果

2.1 银杏黄酮类、双黄酮类、萜内酯类的提取和分离: 银杏叶 2 kg, 95% 乙醇浸泡, 提取物依次用石油醚、CHCl₃、EtOAc、*n*-BuOH 萃取。CHCl₃ 层经过多次柱色谱、重结晶和 HPLC 分离, 得化合物 I~VIII。

2.2 结构鉴定

化合物 I: 黄色粉末, mp 311~315 °C。¹H-NMR 与文献报道一致^[3], 为槲皮素 (quercetin)。

化合物 II: 黄色粉末, mp 281~283 °C。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.03 (2H, d, J = 9.2 Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, J = 9.2 Hz, H-3',

5'), 6.43(1H, s, H-8), 6.18(1H, s, H-6)。与文献报道一致^[4], 鉴定为山柰酚(kaempferol)。

化合物 III: 黄色针晶(MeOH), mp 303~304 °C。¹H-NMR 与文献报道一致^[5], 鉴定为异鼠李素(isorhamnetin)。

化合物 IV: 白色针晶(MeOH), mp >300 °C(分解)。¹H-NMR 与文献报道一致^[6], 鉴定为白果内酯(bilobalide)。

化合物 V: 白色针晶(MeOH), mp >300 °C(分解)。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆, δ): 7.47(1H, dd, OH-10), 6.46(1H, s, OH-3), 6.06(1H, s, H-12), 5.29(1H, d, J=4.4 Hz, H-6), 5.01(1H, d, J=5.2 Hz, H-10), 4.92(1H, dd, OH-1), 4.63(1H, d, J=7.2 Hz, H-2), 4.03(1H, t, J=12, 7.2 Hz, H-1β), 2.84(1H, q, J=14, 7.2 Hz, H-14), 2.11(1H, dd, J=14, 4.4 Hz, H-7β), 1.93(1H, dt, J=14, 14, 4.4 Hz, H-7α), 1.70(1H, dd, J=14, 4.4 Hz, H-8), 1.09(3H, d, J=7.2 Hz, H-16), 1.01(9H, s, tBu)。与文献报道一致^[7], 为银杏内酯 B(ginkgolide B)。

化合物 VI: 黄色粉末, mp 327~329 °C。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13.05(1H, s, OH-5), 12.09(1H, s, OH-5''), 10.88(1H, s, OH-7''), 10.86(1H, s, OH-4''), 8.16(1H, dd, J=9.0, 1.8 Hz, H-6'), 8.04(1H, d, J=1.8 Hz, H-2'), 7.58(2H, d, J=8.6 Hz, H-2'', 6''), 7.33(1H, d, J=9.0 Hz, H-5'), 6.90(2H, d, J=8.6 Hz, H-3'', 5''), 6.89(2H, s, H-3, 3''), 6.47(1H, s, H-8), 6.41(1H, s, H-6''), 6.18(1H, s, H-6), 3.76(3H, s, HOCH₃-7), 3.73(3H, s, OCH₃-4'')。与文献报道一致^[8], 为银杏素(genkgetin)。

化合物 VII: 黄色粉末, mp 228~231 °C。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.19(1H, dd, J=8.8, 2 Hz, H-6'), 8.07(1H, d, J=2 Hz, H-2'), 7.51(2H, d, J=8.8 Hz, H-2'', 6''), 7.35(1H, d, J=8.8 Hz, H-5'), 6.93(1H, s, H-3''), 6.70(2H, d, J=8.8 Hz, H-3'', 5''), 6.50(1H, d, J=1.6 Hz, H-8), 6.41(1H, s, H-6''), 6.21(1H, d, J=1.6 Hz, H-6), 3.76(3H, s, OCH₃-4'')。与文献报道一致^[9], 为去甲银杏双黄酮(bilobetin)。

化合物 VIII: 黄色粉末, mp 291~293 °C。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆ + DMCO, δ): 12.99(1H, s, OH-5), 12.84(1H, s, OH-5''), 8.15(1H, m, H-6'), 8.02(1H, s, H-2'), 7.57(2H, d, J=8.4 Hz,

H-2'', 6''), 7.34(1H, m, H-5'), 7.29(1H, s, H-3''), 6.88(2H, d, J=8.4 Hz, H-3'', 5''), 6.81(1H, s, H-3), 6.71(1H, s, H-8), 6.66(1H, s, OH-7''), 6.44(1H, s, H-6''), 6.26(1H, s, H-6), 3.80(3H, s, OCH₃-7), 3.77(3H, s, OCH₃-4'), 3.72(3H, s, OCH₃-4'')。与文献报道一致^[10], 为金钱松双黄酮(sciadopitysin)。

2.3 PDE5 酶抑制活性筛选: 参照文献方法^[11], 以人血小板为原料, 采用快速蛋白液相系统(FPLC)提取纯化 PDE5。活性测试采用瑞典 Amersham 公司的 PDE [³H]cGMP SPA 检测试剂盒(TRKQ 7100)。同时以西地那非(Sildenafil)为阳性对照药。各化合物在 10⁻⁶ mol/L 的浓度下的抑制率见表 1。

$$\text{抑制率} = (\text{cpm}_{\text{control}} - \text{cpm}_{\text{sample}}) / \text{cpm}_{\text{control}} \times 100\%$$

表 1 银杏中不同类型化合物 PDE5 抑制活性结果

Table 1 Inhibitory activities of compounds in *Ginkgo biloba* on PDE5

化合物	抑制率 / %	化合物	抑制率 / %	化合物	抑制率 / %
西地那非*	99.2	槲皮素	7.23	银杏素	46.56
白果内酯	9.83	山柰酚	5.04	去甲银杏双黄酮	27.29
银杏内酯 B	11.22	异鼠李素	18.08	金钱松双黄酮	31.87

* IC₅₀ = 3.686 nmol/L, r = 0.992 4。

3 讨论

3.1 银杏中 3 种类型化合物均有一定的 PDE5 抑制活性, 其中以双黄酮类活性最好。但 3 种类型化合物的活性均明显低于阳性对照药西地那非(伟哥), 提示 GBE 可能通过其他途径或多种途径共同发挥治疗 ED 的作用, 也可能是其他类型成分的作用结果, 有待于进一步的研究揭示。

3.2 黄酮类化合物显示较强的 PDE5 抑制活性, 其活性顺序为银杏素 > 金钱松双黄酮 > 去甲银杏双黄酮, 溶解性顺序为银杏素 > 去甲银杏双黄酮 > 金钱松双黄酮, 极性顺序为去甲银杏双黄酮 > 银杏素 > 金钱松双黄酮, 3 个化合物结构上的区别在于其甲氧基的个数不同, 推测其活性可能与分子中甲氧基的个数及其溶解性能有关。

3.3 黄酮类化合物也表现一定的 PDE5 抑制活性, 其中以异鼠李素活性最高, 异鼠李素与槲皮素和山柰酚结构上最大的区别是 3' 位上甲氧基的引入, 联系双黄酮类化合物的构效关系, 推测甲氧基的位置及个数与 PDE5 抑制活性的强弱相关。因受试化合物相对较少, 其确切的构效关系, 有待增加化合物的数量进行确认。

References:

- [1] Arif A. Phytochemicals and the breakthrough of traditional herbs in the management of sexual dysfunctions [J]. *Int J Androl*, 2000, 23(2): 82-84.
- [2] Van D, Martien C J M, Van R F, et al. Efficacy of *Ginkgo biloba* special extracts-evidence from randomized clinical trials [J]. *Med Aromat Plants Ind Profiles*, 2000, 12: 385-442.
- [3] Takemura M, Nishida R, Mori N, et al. Acylated flavonol glycoside as probing stimulants of a bean aphid, *Megoura crassicauda*, from *Vicia angustifolia* [J]. *Phytochemistry*, 2002, 61(2): 135-140.
- [4] Prescott A G, Stamfor N P J, Wheeler G, et al. In vitro properties of a recombinant flavonol synthase from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Phytochemistry*, 2002, 60(6): 589-593.
- [5] Si J Y, Chen D H, Chang Q, et al. Isolation and identification of flavonoids from *Gynostemma Yixingense* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1994, 36(3): 239-243.
- [6] Lou F C, Ling Y, Tang Y P, et al. Isolation, purification and identification of *Ginkgo* terpene lactones [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2004, 2(1): 11-15.
- [7] You S, Yao X S, Cui C B, et al. Study on the structure of ginkgolides in *Ginkgo Biloba Leaves* [J]. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 1995, 5(4): 258-265.
- [8] Silva G L, Char H, Gupta M P, et al. Cytotoxic biflavonoids from *Selaginella willdenowii* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(1): 129-134.
- [9] Joly M, Berrurier M H, Anton R. La 5'-methoxyxybilobetine, une biflavone du *Ginkgo biloba* [J]. *Phytochemistry*, 1980, 19(9): 1999-2002.
- [10] Reddy B P, Krupadanam G L D. Chemical constituents of the leaves of Himalayan *Taxus baccata*: Use of DQF-COSY in the structure elucidation of biflavones [J]. *Indian J Chem*, 1996, 35B: 283-285.
- [11] Kim D K, Lee N, Lee J Y, et al. Synthesis and phosphodiesterase 5 inhibitory activity of novel phenyl ring modified sildenafil analogues [J]. *Bioorg Med Chem*, 2001, 9(6): 1609-1616.

香鳞毛蕨化学成分的研究(II)

沈志滨¹, 张维康², 马英丽³, 叶文才^{2,4}

(1. 广东药学院, 广东 广州 510224; 2. 中国药科大学 天然药物化学教研室, 江苏 南京 210009; 3. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150000; 4. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632)

香鳞毛蕨 *Dryopteris fragrans* L. 为鳞毛蕨科鳞毛蕨属植物, 生长于海拔 1 000~1 700 m 的山坡或岩石缝中, 分布于东北、华北各省。民间广泛用其治疗多种皮肤病, 国内外对其研究较少, 只有关于香鳞毛蕨的抑菌和药效学研究^[1~3]。笔者对其化学成分进行了研究^[4], 从其乙醇提取物中又分离鉴定出 3 个化合物, 分别为: 绵马酚 (aspidinol, I)、十氢-5, 5, 8a-三甲基-2-亚甲基-1-萘甲醇乙酸酯 (albicans acetate, II) 和 α -杜松烯 (α -cadinene, III)。

1 仪器与材料

X-6 型熔点测定仪; 核磁共振谱用 Varian Unity INOVA 500 型核磁共振仪测定; 质谱用 VG Autospec-500 质谱仪测定; 制备 HPLC 为 Agilent 1100 series 型。薄层色谱和柱色谱硅胶均为青岛海洋化工厂产品, Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品。香鳞毛蕨于 2003 年 9 月采自黑龙江省五大连池, 经哈尔滨商业大学药学院金哲雄教授鉴定。

2 提取和分离

取香鳞毛蕨粗粉 2.5 kg, 加 70% 乙醇冷浸 2 d, 滤过, 浓缩, 浸膏用水分散, 正己烷萃取。正己烷提取物滤过, 浓缩得浸膏, 经硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱及制备 HPLC 分离, 得化合物 I~III。

3 结构鉴定

化合物 I: 无色针状结晶, mp 145~146 °C, ESI-MS m/z : 225 (M+H)⁺ (C₁₂H₁₅O₄)。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.98 (3H, t, $J=7$ Hz, H-11), 1.73 (2H, d, $J=7$ Hz, H-10), 2.01 (3H, s, H-12), 3.06 (2H, t, $J=7$ Hz, H-9), 3.82 (3H, s, H-7), 5.93 (1H, s, H-5)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 7.1 (C-12), 14.1 (C-11), 18.2 (C-10), 46.1 (C-9), 55.6 (C-7), 85.6 (C-1), 91.5 (C-5), 104.8 (C-3), 159.5 (C-2), 161.1 (C-4), 163.2 (C-6), 206.2 (C-8)。以上数据与文献报道对照一致^[5], 确定该化合物为绵马酚。

化合物 II: 淡黄色油状物质, $[\alpha]_D^{23} + 23.2^\circ$ (c 1.18, CHCl₃)。¹H-NMR (500 MHz, DCl₃) δ : 0.75 (3H, s), 0.80 (3H, s), 0.88 (3H, s), 2.02 (3H, s), 2.40 (1H, m, H-7), 4.18 (1H, dd, $J=11, 9.5$ Hz, H-11), 4.34 (1H, dd, $J=4, 11$ Hz, H-11), 4.50 (1H, s, H-12), 4.85 (1H, s, H-12)。以上数据与文献报道^[5]对照一致, 确定该化合物为十氢-5, 5, 8a-三甲基-2-亚甲基-1-萘甲醇乙酸酯。

化合物 III: 无色油状物质, $[\alpha]_D^{29} - 29.1^\circ$ (c 1.36,

(下转第 1037 页)