

比较 BSPS 和 BSPSS 的碳谱和氢谱,发现在酯化后,BSPS 碳谱上的化学位移 δ 60 左右的 $-\text{CH}_2-$ 共振峰消失,在 BSPSS 共振谱上移到了 δ 66.45~68.8 处,提示 1,4-linked Glc 和 1,4-linked Man 的 C-6 上的羟基被硫酸基取代,化学位移向低场移动,C-6 位上的羟基空间位阻较小,比较活泼,所以一般硫酸酯化容易在 C-6 位发生取代。酯化后异头氢的共振峰都不同程度的向低场移动,可能是由于酯化后糖链变得更加舒展,暴露出较多的羟基,容易与溶剂形成氢键,使得屏蔽效应降低,其中硫酸基起了重要的作用,同时由于硫酸基的影响,各基团的化学环境的改变使得其 ^{13}C -NMR 共振谱峰相对较弱,难以详细解析。

4 讨论

物质的化学结构是其性质和功能的基础,多糖的结构测定是比较困难的,但是解析多糖的低级的空间结构,对于明确多糖的生物学功能具有重要的意义。

白及多糖酯化后相对分子质量变小,相对分子质量分布呈现变窄趋势,变得相对均一。通过紫外光谱除了可以看到多糖的特征吸收在 190 nm 附近,酯化后还看到增加了硫酸基的吸收峰。对酯化前多糖的红外吸收谱分析,可以对部分糖残基的种类和构型进行初步的判断,酯化后也能看出产生了新的硫酸基吸收峰。通过碳谱和氢谱的分析,初步得出白及多糖由 1,6-lined Glc,1,4-lined Glc 和 1,4-linked Man 连接而成,酯化后硫酸基接在 C-6 上。要获取其更多的结构信息,准确清晰的阐述其更为具体的结构特征还需采取多种方法进一步研究。通过酯化前后的比较,发现硫酸酯化引起了白及多糖多种理化性质及结构的变化,而这些为研究多糖的构效关系提供了很多基础信息。

References:

- [1] Chen C Y, Huang X H, Zhou J Y, et al. Sulfation of polysaccharides isolated from *Indocalamus tessellatus* and their anticytopathic effect on human immunodeficiency virus type [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 1998, 33(4): 264-268.
- [2] Tian G Y, Li S T, Song M L, et al. Synthesis of *Achyranthes bidentata* polysaccharide sulfate and its antiviral activity [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 1995, 30(2): 107-111.
- [3] Rui H Y, Wu G R, Zhang W M, et al. Research on extraction of polysaccharide from *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. [J]. *Chin Wild Plant Resour* (中国野生植物资源), 2001, 20(1): 14-16.
- [4] Chen J Y, Wu G R, Wang J A, et al. Sulfation techniques of *Bletilla striata* polysaccharide by orthogonal design [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(1): 43-46.
- [5] Ueno Y, Okamoto Y, Yamauchi R, et al. Anantitumor activity of the alkali-soluble polysaccharide and its derivatives obtained from the Sclertia of *Grifora umbellata* (Fr.) PILAT [J]. *Carbohydr Res*, 1982, 101: 160-167.
- [6] Zhang H F, Li B C, Fan J H. Determination of sulfate radical content in sulfated polysaccharides (SPS) by gravimetric analysis of hydrochloric acid hydrolysis and barium sulfate precipitation [J]. *Food Sci* (食品科学), 2002, 23(5): 107-111.
- [7] Zhang W J. *Biochemical Techniques in Complex Carbohydrates* (糖复合物生化研究技术) [M]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 1994.
- [8] Wei Y A, Fang J N. To determine the homogeneity and molecular weight of polysaccharide by HPGPC [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 1989, 24(7): 532-536.
- [9] Zhu X P, Wu D R. Isolation, purification, composition and properties of *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. polysaccharide [J]. *J Anhui Univ* (安徽大学学报), 1991, 4: 86-91.
- [10] Zhang W J. *Biochemical Technology of Study on Carbohydrate Complex* (糖复合物生化研究技术) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1987.
- [11] Liang X T. *The Analysis and Application of High Resolution ^1H -NMR* (核磁共振高分辨氢谱的解析和应用) [M]. Beijing: Science Press, 1982.
- [12] Pinto G L D, Martinez M, Mendoza J A, et al. Structural studies of the polysaccharide isolated from *Spondias purpurea* gum exudates [J]. *Carbohydr Res*, 1996, 290: 97-103.
- [13] Wang Z, Fang J N. The application of high resolution NMR to the structure of polysaccharide [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2000, 28(2): 211-214.

水黄皮化学成分的研究

黄欣碧,龙盛京*

(广西医科大学 化学教研室,广西南宁 530021)

水黄皮 *Pongamia pinnata* (L.) Merr. 为豆科

水黄皮属的半红树植物^[1],是广西 5 种半红树植物

收稿日期:2005-12-24

基金项目:教育部 2003 年春晖计划资助项目;广西科学基金资助项目(0342003-4)

作者简介:黄欣碧(1972-),女,广西德保人,执业药师,主管药师,广西医科大学 2002 级研究生,主要从事天然药物的研究。

Tel:(0771)3044529 E-mail:gxnhxb930@sohu.com

* 通讯作者 龙盛京 Tel:(0771)5358827 E-mail:shjlong@126.com

中的一种具有传统药用价值的植物。国外学者从水黄皮中分离到的化合物主要为黄酮、二氢黄酮、查耳酮和三萜,国内对水黄皮研究报道较少,特别对叶的研究未见报道。为了进一步开发利用半红树植物的资源,阐明其有效成分,本实验选择水黄皮的叶进行化学成分的研究,通过硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 等色谱分离手段,共分得 9 个单体化合物,依据化学和光谱方法确定结构为正三十二烷醇(I)、蒲公英萜醇(II)、水黄皮素(III)、豆甾醇(IV)、pon-gaglabrone(V)、pongachromene(VI)、水黄皮黄素(VII)、牡荆素(VIII)、正三十二碳酸(IX)。其中化合物 I、II、VIII 和 IX 为首次从该植物中分得。

1 仪器和试剂

熔点使用 X-4 数字显示显微熔点测定仪,红外光谱使用 Nicolet MAGNA-IR 550(II)型红外光谱仪测定;核磁共振使用 Bruker AVANCE AV-500 超导高分辨核磁共振仪测定;FAB-MS 使用 AG Autospec 3000 质谱仪测定;EI-MS 使用 Finnigan Trace DSQ 测定;薄层色谱和柱色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品,Sephadex LH-20(瑞典 Pharmacia 公司产品),所用试剂均为分析纯。植物采自广西合浦县,经广西中医药研究所方鼎副研究员鉴定为水黄皮 *P. pinnata* (L.) Merr.,植物标本保存于广西医科大学化学教研室。

2 提取与分离

干燥的水黄皮叶粗粉 8 kg,用 10 倍量的 75%乙醇提取 3 次,提取液浓缩后得总浸膏 2.1 kg。将浸膏混悬于水中,依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取至萃取液基本无色,合并及浓缩萃取液,得石油醚部分 A(124 g)、氯仿部分 B(25 g)、醋酸乙酯部分 C(55 g)、正丁醇部分 D(336 g)和剩下水液浓缩后的浸膏 E(820 g)。将石油醚萃取物 A 75 g 经反复硅胶柱色谱分离,用石油醚、石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱,得化合物 I~VII 和 IX。将醋酸乙酯萃取物 C 50 g 经硅胶柱色谱(氯仿-甲醇梯度洗脱)和 Sephadex LH-20 纯化(用 80%乙醇洗脱)得化合物 VIII。

3 鉴定

化合物 I:白色粉末 15.5 mg(无水乙醇重结晶),mp 85~86 °C。IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 410, 2 917, 2 849, 1 473, 1 462, 1 059, 730, 719[-(CH₂)_n-, n > 4]。¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃) δ : 0.90(3H, t, J = 6.69 Hz, 末端-CH₃), 1.27(60H, s, 30×CH₂), 3.67(2H, d, J = 5.62 Hz, α -CH₂)。EI-MS m/z (%): 448 (M⁺ - 18, 3), 434(1), 420(3), 334(2), 320(2), 306

(3), 292(3), 278(3), 264(4), 251(5), 237(5), 223(6), 209(8), 195(10), 181(13), 167(17), 153(23), 139(33), 125(54), 111(76), 97(100), 83(87), 69(64), 57(74)。对照质谱,可看到一系列质量数相差为 14 的碎片离子,且丰度随质量数增大而减小,分子离子峰未出现,而是出现 M⁺ - 18 峰(脱去一分子水),这些信息支持化合物 I 为直链饱和脂肪醇。根据 EI-MS m/z : 448(M⁺ - 18),得知化合物 I 相对分子质量为 466,分子式为 C₃₂H₆₆O。综合以上化学及光谱特征推断化合物 I 为三十二烷醇(n-dotriacontyl alcohol)。

化合物 II:白色针晶 9.1 mg(石油醚-醋酸乙酯重结晶),mp 267~269 °C。Liebermann-Burchard 反应、磷钼酸及浓硫酸反应均为阳性。IR、¹H-NMR、¹³C-NMR、MS 数据与文献报道^[2-4]一致,故鉴定为蒲公英萜醇(taraxerol)。

化合物 III:无色晶体 11.2 mg(无水乙醇重结晶),mp 160~161 °C,盐酸-镁粉反应阳性。IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 133, 3 052, 1 637, 1 624, 1 604, 1 569, 1 527, 1 493, 1 372, 1 285, 1 228, 1 081, 1 035。¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃) δ : 8.22(1H, d, J = 8.9 Hz, H-5), 8.17(2H, m, H-2', 6'), 7.78(1H, d, J = 2.13 Hz, H-2''), 7.20(1H, d, J = 2.13 Hz, H-3''), 7.58(3H, m, H-3', 4', 5'), 7.55(1H, d, J = 8.9 Hz, H-6), 3.95(3H, s, OCH₃-3)。¹³C-NMR(CDCl₃)数据见表 1。熔点、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献报道^[5]一致,故鉴定为水黄皮素(karanjin)。

化合物 IV:白色片状晶体 37.4 mg(无水乙醇重结晶),mp 147~149 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性。化合物 IV 与豆甾醇对照品共薄层, Rf 值及显色行为均一致。IR、¹H-NMR、¹³C-NMR 数据与文献报道^[6,7]一致,故鉴定为豆甾醇(stigmasterol)。

化合物 V:白色粉末 23 mg(醋酸乙酯-甲醇重结晶),mp 205~209 °C,盐酸-镁粉反应阳性,具有黄酮类化合物的特征反应。IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 145, 3 115, 1 641, 1 594, 1 504。¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃) δ : 8.18(1H, d, J = 8.78 Hz, H-5), 7.80(1H, s, H-2''), 7.59(1H, t, J = 9.4 Hz, H-6), 7.57(1H, t, J = 9.94 Hz, H-6'), 7.43(1H, s, H-2'), 7.22(1H, s, H-3''), 6.99(1H, d, J = 8.18 Hz, H-5'), 6.78(1H, s, H-3), 6.12(2H, s, -OCH₂O-)。¹³C-NMR(CDCl₃)数据见表 1。熔点、¹H-NMR 和从水黄皮根中分得 pongaglabrone 一致^[8,9],故鉴定为 pongaglabrone。

化合物 VI:浅黄色晶体 11.2 mg(醋酸乙酯-甲

表 1 化合物 III 和 V~VIII 的 ¹³C-NMR (125 MHz) 数据

Table 1 ¹³C-NMR (125 MHz) Data of compounds III and V~VIII

碳序	III	V	VI	VII	VIII
C-2	154.8	162.3	154.2	154.4	164.4
C-3	141.8	107.1	140.7	141.2	102.9
C-4	175.0	178.1	174.4	174.8	182.6
C-5	121.9	121.7	126.1	121.8	156.5
C-6	109.9	106.5, 111.4, 9	114.9	109.9	98.7
C-7	158.1	158.3	157.2	158.1	163.1
C-8	117.0	117.0	109.1	116.9	104.5
C-9	150.0	150.7	151.2	149.6	160.9
C-10	119.7	121.3	118.0	119.6	105.1
C-1'	131.0	125.8	125.0	124.7	122.1
C-2'	128.3	108.8	108.4	108.5	129.4
C-3'	128.6	148.5	147.9	147.9	116.3
C-4'	130.6	150.5	149.4	149.7	161.6
C-5'	128.6	110.0	108.5	108.6	116.3
C-6'	128.3	119.3	123.3	123.4	129.4
C-2''	145.7	145.7	77.7	145.6	
C-3''	104.2	104.1	130.3	104.1	
C-4''		115.1, 114.9			
-CH ₃			28.1		
3-OCH ₃	60.2		60.0	60.0	
-OCH ₂ O-		101.9	101.6	101.6	
葡萄糖					
C-1''					79.2
C-2''					73.9
C-3''					71.4
C-4''					71.1
C-5''					82.3
C-6''					61.8

醇重结晶, mp 198~199 °C, 盐酸-镁粉反应阳性。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 050, 1 631.5, 1 584, 1 503, 1 489, 1 041。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.02 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-5), 7.71 (1H, dd, $J=8.1, 1.7$ Hz, H-6'), 7.62 (1H, d, $J=1.7$ Hz, H-2'), 6.98 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-6), 6.89 (1H, d, $J=9.9$ Hz, H-3''), 6.86 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5'), 6.10 (2H, s, -OCH₂O-), 5.75 (1H, d, $J=9.9$ Hz, H-4''), 3.90 (3H, s, OCH₃-3), 1.52 (6H, s, 2 个 -CH₃)。 ¹³C-NMR (CDCl₃) 数据见表 1。熔点、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献报道^[5]一致, 故鉴定为 pongachromene。

化合物 VII: 淡黄色针晶 107.4 mg, mp 191~194 °C, 盐酸-镁粉反应阳性。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 050, 3 016, 1 630, 1 622, 1 568, 1 526, 1 498, 1 035。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.20 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-5), 7.77 (2H, m, H-6', 2''), 7.69 (1H, d, $J=1.1$ Hz, H-2'), 7.56 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-6), 7.19 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-3''), 7.0 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-5'), 6.11 (2H, s, -OCH₂O-), 3.94 (3H, s, OCH₃-

3); ¹³C-NMR (CDCl₃) 数据见表 1。熔点、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 与文献报道^[5]一致, 故鉴定为水黄皮黄素 (pongapin)。

化合物 VIII: 黄色晶体 34 mg, mp 256~257 °C, 荧光下显黑色, 喷 2% 三氯化铝乙醇溶液后显绿色荧光, 盐酸-镁粉反应阳性。 ¹³C-NMR (DMSO-d₆) 数据见表 1。 ¹H-NMR、¹³C-NMR、MS 数据与文献报道^[10]一致, 故鉴定为牡荆素 (vitexin)。

化合物 IX: 白色晶体 12.4 mg, mp 80~82 °C。从 ¹H-NMR 谱知为直链烷烃。从质谱知分子离子峰 m/z 为 480, EI-MS 图谱中有典型脂肪酸裂解碎片峰: 325, 269, 241, 185, 129 [(CH₂)₆COOH]⁺, 73 (CH₂CH₂COOH)⁺, 60 (羧酸的麦氏重排), 57 (C₄H₉)⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 2.37 (2H, t, $J=5.50$ Hz, CH₂COOH), 1.65 (2H, 五重峰, CH₂CH₂COOH), 1.27 (CH₂ × n), 0.90 (3H, t, $J=6.85$ Hz, 末端-CH₃)。EI-MS 裂解与直链脂肪酸的裂解一致, 故鉴定为正三十二碳酸。

致谢: IR、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 由广西师范大学化学化工学院分析测试中心测定, FAB-MS 和 EI-MS 由中国科学院昆明植物研究所分析测试中心测定。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2002.
- [2] Xiang G Q, Lu F S. Study on chemical components of *Dacidia invo-lucrata* Baill. China-unique [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1989, 31(7): 540-543.
- [3] Sakurai N, Yaguchi Y, Inoue T. Triterpenoids from *Myrica rubra* [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(1): 217-218.
- [4] Cong P Z, Li S Y. *Mass Spectrometry of Natural Organic Products* (天然有机质谱学) [M]. Beijing: China Medicopharmaceutical Science and Technology Publishing House, 2003.
- [5] Yin H, Zhang S, Wu J. Study on flavonoids from stem bark of *Pongamia pinnata* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2004, 27(7): 493-495.
- [6] Yang P M, Luo S Q, Li H T. Study on chemical constituents from *Synedrella nodiflora* L. Gaertn [J]. *J Chin Med Ind* (中国医药工业杂志), 1994, 25(6): 252-255.
- [7] Wang G L, Hou Q Y, Zhang J, et al. Studies on the chemical constituents of the stems of *Alyxia sinensis* (L.) [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(1): 125-127.
- [8] Tanaka T, Inuma M, Yuki K, et al. Flavonoids in root bark of *Pongamia pinnata* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(3): 993-998.
- [9] Garcez F R, Scramin S, Nascimento M C, et al. Prenylated flavonoids as evolutionary indicators in the genus *Dahlstedtia* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(4): 1079-1083.
- [10] Wen Z M, Xu L S. Isoation and identification of chemical constituents from Shandan-Shaoyao Potition (II) [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(7): 474-476.