

定结构为 blumenol-A。

化合物 VI: 白色针晶, mp 156~158 °C, $[\alpha]_D^{25} = -90.4^\circ$ (CHCl₃)。IR_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 437, 2 978, 2 949; 2 885, 1 734, 1 720, 1 622, 1 473。¹H-NMR (CDCl₃) δ : 5.68(1H, s, H-7), 4.32(1H, qui, $J=3.6$ Hz, H-3), 2.46(1H, dt, $J=14.4, 2.4$ Hz, H-4b), 1.98(1H, dt, $J=14.4, 2.4$ Hz, H-2b), 1.77(1H, m, H-4a), 1.77(3H, s, H-11), 1.51(1H, dd, $J=14.4, 3.6$ Hz, H-2a), 1.46(3H, s, H-9), 1.26(3H, s, H-10)。¹³C-NMR (CDCl₃) δ : 182.6(C-6), 172.0(C-8), 112.8(C-7), 86.8(C-5), 66.7(C-3), 47.3(C-2), 45.6(C-4), 35.9(C-1), 30.6(C-9), 27.0(C-11), 26.4(C-10)。ESI-MS m/z : 197(M+H⁺)。根据质谱可确定分子式为 C₁₁H₁₆O₃, 旋光值、核磁数据与文献基本一致^[5], 可确定结构为 lolilide。

化合物 VII: 针晶, mp 122 °C。根据质谱、核磁数据可确定分子式为 C₇H₆O₂, 结构为苯甲酸。

化合物 VIII: mp 154~155 °C。根据质谱可确定分子式为 C₁₈H₂₆O₄, 核磁数据与文献基本一致^[6], 可确定结构为 9,16-dioxo-10,12,14-octadecatrienoic acid。

References:

- [1] Yang C L, Qi Y J. *Animal of Herbal* (动物本草) [M]. Beijing: The Publishing House of Herbalist Doctor's Ancient Books, 2001.
- [2] Ferdinand B, Jasmin J. 8-Oxo- α -selinen und neue scopoletin-derivate aus conyza-arten [J]. *Phytochemistry*, 1997, 18: 1367-1370.
- [3] Yu D Q, Yang J S. *Handbook of Analytical Chemistry: Analysis of NMR Spectrum* (分析化学手册·核磁共振波谱分析) [M]. Fascicle 7. Beijing: Chemical Industry Press, 1999.
- [4] Antonio G G, Jose A G, Angel G R, et al. 4,5-Dihydroblumenol A, a new nor-isoprenoid from *Perrottetia multiflora* [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57(3): 400-402.
- [5] Naomasa O, Katsutoshi S, Mitsuru N, et al. Immunosuppressive activity of a monoterpene from *Eucommia ulmoides* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(1): 281-282.
- [6] Werner H, Palaniappan K. Ent-pimaranes, ent-kauranes, heliangolides and other constituents of three *Helianthus* species [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(7): 1453-1459.

石榴皮中的鞣质及多元酚类成分

刘延泽¹, 李海霞²

(1. 河南中医学院药学院, 河南 郑州 450008; 2. 郑州大学药学院, 河南 郑州 450052)

石榴皮为石榴科植物石榴 *Punica granatum* L. 的干燥果皮, 在我国传统医药中主要用于久泻、出血、蛔虫等证。现代药理研究证明, 石榴皮中的总鞣质具有抗菌、抗病毒、杀灭精子、防治性病传播等活性^[1]。《中国药典》从 1995 年版就规定石榴皮中鞣质的量不得低于 10%, 可见鞣质类化合物是其主要成分。为寻找活性单体化合物, 本实验对石榴皮中的鞣质及多元酚类成分进行了研究, 共分离得到 5 个化合物, 利用化学方法及波谱分析确定其结构为: 安石榴林 (punicalin, 4, 6-gallagyl-D-glucose, I)、安石榴苷 (punicalagin, 2, 3-HHDP-4, 6-gallagyl-D-glucose, II)、2, 3-(S)-六羟基联苯二甲酰基-D-葡萄糖 [2, 3-(S)-HHDP-D-glucose, III]、石榴皮亭 B (granatin B, 1-galloyl-2, 4-DHHDP-3, 6-HHDP-glucose, IV) 和逆没食子酸 (ellagic acid, V)。石榴的茎皮、叶等不同部位化学成分有所差异^[1], 本实验得到的化合物 III 为首次从石榴果皮中分离得到。另外对

化合物 III 和 IV 进行了体外抗肿瘤 (抗人宫颈癌 HeLa 细胞) 活性筛选, 结果显示二者均能抑制 HeLa 细胞的生长; 从形态学上观察化合物 IV 的抑制很可能是通过诱导细胞凋亡来实现的。

1 仪器和材料

核磁共振谱用 Bruker AM-400M 核磁共振仪测定 (TMS 为内标), 柱色谱用凝胶: Dianion HP-20 为日本 TSK 产品, Toyopearl HW-40(C 级和 F 级) 为日本 TOSOH CO. 产品, MCI Gel CHP-20 为日本 Mitsubishi Chemical Industries LTD. CO. 产品。薄层色谱用硅胶 G 为青岛海洋化工厂产品, 以 0.5% CMC-Na 制板, 自然晾干备用。显色剂为 1% 铁氰化钾-1% 三氯化铁 (1:1 用前等比例混合)。其余试剂均为分析纯。石榴皮购于郑州市, 经河南中医学院刘若壖教授鉴定。

2 提取与分离

石榴皮药材 3 kg, 以含水丙酮室温组织破碎提

收稿日期: 2006-10-22

作者简介: 刘延泽 (1957-), 男, 河南新乡人, 教授, 博士, 现在美国哈佛大学医学院, 曾 3 次主持国家自然科学基金和国家“九五”攻关项目, 主要从事中草药活性成分的研究。E-mail: yanze_liu@hms.harvard.edu

取, 提取液减压干燥得总提取物。取 300 g 总提取物以适量水溶解, 上 Dianion HP-20 柱, 依次用水及 10%、20%、40%、60% 甲醇和 70% 丙酮分别洗脱, 得水洗脱物 3 部分 fr. 1 (45 g)、fr. 2 (65.26 g)、fr. 3 (33.2 g), 10% 甲醇洗脱物 15 g, 20% 甲醇洗脱物 31.53 g, 40% 甲醇洗脱物 61.64 g, 60% 甲醇洗脱物 27.08 g, 70% 丙酮洗脱物 4.77 g 共 8 个流分。取水洗脱物的 fr. 3 以水溶解, 经反复 Toyopearl HW-40 (C 级和 F 级) 和 MCI Gel CHP-20 柱色谱, 依次以水, 不同比例的甲醇, 不同比例甲醇、丙酮、水及 70% 丙酮洗脱, 得化合物 I、II、III。取 40% 甲醇洗脱物以水溶解, 经反复 Toyopearl HW-40 (C 级和 F 级) 柱色谱, 依次以水, 不同比例的甲醇, 不同比例甲醇、丙酮、水及 70% 丙酮洗脱, 得化合物 IV 和 V。

3 结构鉴定

化合物 I: 绿黄色粉末, 明胶反应阳性。¹H-NMR 中芳香区域的信号成对出现, δ : 2.0~5.0 出现糖的 14 个质子信号, 且为有规律的一强一弱, 推测为鞣质葡萄糖的 α, β 端基异构体 (anomer); ¹³C-NMR 也印证了此推断; ¹³C-NMR 酯羰基范围有 2 个强峰、2 个弱峰; 内酯羰基范围也有峰, 再结合 ¹H-NMR 在 δ 6.92 和 6.70 处 2 个单氢单峰信号成对出现, 推测含有一个 gallagyl 基团, 这些信号均为 gallagyl 在可水解鞣质的 C₁-OH 游离后所形成的特征信号。再通过分析 ¹³C-NMR 和 ¹H-NMR 可知 gallagyl 连在 4、6 位, 此化合物为安石榴林。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献报道的相符^[2], 所以该化合物为安石榴林。

化合物 II: 棕黄色粉末, 明胶反应阳性。与化合物 I 的 ¹H-NMR 相比, δ 6.63~6.74 多出 4 个氢的信号, 推测为一个六羟基联苯二甲酰基 (HHDP) 2 个单氢单峰的信号在葡萄糖 C₁-OH 游离形成 anomer 后信号成对出现的结果; 化合物 II 的 ¹³C-NMR 也符合此推测。通过查阅含 gallagyl 和 HHDP 基团的可水解鞣质文献, 并参考文献报道^[2,3] 可确定化合物 II 为安石榴苷。

化合物 III: 浅紫色粉末, HCl-Mg 粉反应阴性, 遇 FeCl₃ 试剂显蓝色, 明胶反应阳性。¹H-NMR 谱中在 HHDP 基特征的芳香区域出现 4 个氢信号, δ 5.50~3.40 范围内出现了相当于两个葡萄糖核的 14 个质子信号, 说明为含 HHDP 葡萄糖的 anomer; 其 ¹³C-NMR 与 α -D-葡萄糖和 β -D-葡萄糖的数据比较, 可看出其糖上 C-2, 3 的化学位移比 α, β -D-葡萄糖中的 C-2, 3 位于低场, 而与其相邻的 C-1, 4 却位

于较高场, 可确定化合物为 2, 3-HHDP-glucose。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献报道^[4] 的 2, 3-(S)-六羟基联苯二甲酰基-D-葡萄糖相符。

化合物 IV: 亮桔黄色结晶, 遇 FeCl₃ 试剂显污绿色, 明胶反应阳性。¹³C-NMR 显示有一强、一弱两套信号, 提示该化合物为互变异构体。其中较强的一套信号在 δ 191.60 位置上的碳表明该化合物含一个非酯羰基, 提示有一个脱氢六羟基联苯二甲酰基 (DHHDP), 在 δ 168.74, 166.70, 165.63, 165.52, 164.71 (一套强信号) 位置上的碳表明含 5 个酯羰基, 说明可能还含有一个 HHDP 和没食子酰基 (galloyl)。在 60~100 共有 14 个 C 信号, 说明除有糖互变异构体的 12 个碳信号外, 还有其他羟基的碳; 在 30~60 共有一强一弱两个 C 信号, 说明含一个叔碳, 在互变异构体中表现为两个信号, 这些与含有 DHHDP 基的推测一致。¹H-NMR 数据与此推论相符, 且糖 C₁-OH 形成 O-苷键后 H-1 明显向低场位移的信号和糖 3 位氢的信号位移至芳香氢的范围内。综合以上分析推测该化合物为含一个 galloyl, 一个 HHDP 和一个 DHHDP 基团的葡萄糖鞣质的互变异构体, 其 DHHDP 基的 ¹³C-NMR (Me₂CO-d₆): 115.31 (2C) (C-1), 46.10, 51.61 (C-1'), 119.41, 119.79 (C-2), 153.87 (2C) (C-2'), 113.53, 113.74 (C-3), 129.20 (2C) (C-3'), 144.84 (2C) (C-4), 191.60, 194.52 (C-4'), 139.55 (2C) (C-5), 96.06 (2C) (C-5'), 143.21 (2C) (C-6), 92.56, 92.51 (C-6')。¹H-NMR (CD₃OD) δ : 7.20 (2H, DHHDP 基互变异构体的氢), 7.06 (4H, galloyl 基互变异构体的氢), 芳香氢的化学位移值范围内还有 HHDP 基互变异构体的 4 个氢, 糖 1 位和 3 位 H 的信号。4.26 (2H, dd, J = 8.8, 11.2 Hz, glu, H-6), 3.30 (m, DHHDP 上的 H)。通过与文献对照^[5], 确定该化合物为石榴皮亭 B。

化合物 V: 浅土黄色粉末。¹H-NMR、¹³C-NMR 数据与文献报道一致^[6], 故证明该化合物为逆没食子酸。

4 讨论

对分离得到的化合物 III 和 IV 进行抗肿瘤活性筛选, 结果表明化合物 III 和 IV 对宫颈癌 HeLa 细胞具有不同程度的细胞毒活性, 且有剂量相关关系; 其中化合物 IV 的细胞毒活性强于化合物 III, 并且从形态学上观察化合物 IV 的抑制很可能是通过诱导细胞凋亡来实现。

References:

- [1] Li H X, Wang Z, Liu Y Z. Progress in studies on chemical constituents and pharmacological effects of Punicaceae [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(8): 765.
- [2] Tanaka T, Nonaka G I, Nishioka I. Tannins and related compounds. XL. Revision of the structure of punicalin and punicagin, and isolation and characterization of 2-O-galloylpunicalin from the bark of *Punica granatum* L. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34(2): 650-655.
- [3] Tanaka T, Nonaka G I, Nishioka I. Tannins and related compounds XLI. Isolation and characterization of the novel ellagitannins punicacorteins A, B, C, and D, and puniglucosin from the bark of *Punica granatum* L. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34(2): 656-663.
- [4] Ding G, Liu Y Z, Song M P, et al. Polyphenols from *Terminalia chebula* [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2001, 32(3): 193-196.
- [5] Tanaka T, Nonaka G I, Nishioka I. Tannins and related compounds C. Reaction of dehydrohexahydroxydiphenic acid esters with bases, and its application to the structure determination of pomegranate tannins, granatin A and B [J]. *Chem Pharm Bull*, 1990, 38(9): 2424-2428.
- [6] Nawwar M A M, Aussein S A M, Merfort I. NMR Spectral analysis of polyphenols from *Punica granatum* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 36(3): 793-798.

杭白芷香豆素类成分的研究 (I)

赵兴增, 冯 煦*, 贾晓东, 王 鸣, 赵友谊, 董云发

(江苏省中国科学院植物研究所, 南京中山植物园 江苏省药用植物研究开发中心, 江苏 南京 210014)

白芷为常用中药,《中国药典》2005年版规定白芷为伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 或杭白芷 *A. dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan 的干燥根。白芷具有散风除湿、通窍止痛、消肿排脓的功效,常用于治疗感冒头痛,眉棱骨痛,鼻塞,鼻渊,牙痛,白带及疮疡肿痛。白芷中主要含有香豆素类成分,药理实验证明白芷中所含的呋喃型香豆素具有平喘、降压、抗菌、解痉等多种药理作用,线型呋喃型香豆素还具有光敏感作用^[1]。

前人^[2]对杭白芷的化学成分做了大量的研究,但主要集中在脂溶性成分方面,共分离得到了23个香豆素,但迄今为止只得分得3个香豆素苷类。本实验通过对杭白芷植物化学成分的系統研究,从中分离得到了大量的香豆素类成分,结构包括简单香豆素及其苷,线型呋喃型香豆素及其苷和角型呋喃型香豆素苷,苷类包括双糖苷。现报道线型呋喃型香豆素及其苷的分离和鉴定。从杭白芷鲜药材中分离鉴定了8个香豆素和香豆素苷,分别为欧前胡素(imperatorin, I)、异欧前胡素(isoimperatorin, II)、水合氧化前胡素(oxypeucedanin hydrate, III)、比克白芷素(byakangelicin, IV)、marmesinin (V)、(3R)-hydroxymamesin-4'-O-β-D-glucopyranoside (VI)、sec.-O-β-D-glucopyranosyl-(R)-byakangelicin (VII)

和 tert.-O-β-D-glucopyranosyl-(R)-byakangelicin (VIII),化合物VI~VIII为首次从该植物中分得。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂: Bruker 型核磁共振光谱仪(TMS为内标), X4 型数字显示显微熔点测定仪(未校正), Agilent 1100 LC/MSD SL, LABCONCO (freeze dry system/LYPH LOCK® 4.5) 冷冻干燥仪, JASCO P-1020 旋光测定仪。硅胶 H (Merck), RP-C₁₈ (YMC; 12nm), Sephadex LH-20 (Amersham Biosciences)。化合物纯度由 Agilent-1100 高效液相色谱仪检测。

1.2 植物材料: 植物药材于2004年采自江苏省盐城市洋马镇,经江苏省中国科学院植物研究所袁昌齐研究员鉴定为杭白芷 *A. dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. ex Franch. et Sav. cv. Hangbaizhi^[3],标本现存放于江苏省中国科学院植物研究所药用植物研究开发中心。

1.3 提取与分离: 杭白芷新鲜根及根茎 38 kg 用 70% 乙醇冷浸 3 次,每次 7 d。合并冷浸液,回收溶剂至浓浸膏,分别用石油醚、醋酸乙酯萃取。醋酸乙酯部分经反复硅胶柱色谱,以石油醚-醋酸乙酯为流动相梯度洗脱,经重结晶纯化得到化合物 I~IV。萃取后所剩余的水部分,浓缩后经 HP-20 柱(水→甲醇)梯度洗脱,分为两部分。甲醇洗脱部分,经反复反相柱分离及制备液相纯化得到化合物 V~VIII。

2 结构鉴定

收稿日期: 2006-06-06

作者简介: 赵兴增(1980-),男,山东省潍坊市人,江苏省中国科学院植物研究所在读硕士,研究方向为药用植物活性成分的研究。

* 通讯作者 冯 煦 Tel: (025)84347084 Fax: (025)84347084 E-mail: fengxu@mail.cnbg.