

- [J]. *Phytochemistry*, 1977, 16: 1811-1816.
- [6] Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Science. *The Handbook of Flavonoids Identification* (黄酮类化合物鉴定手册) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1981.
- [7] Yu D Q, Yang J S. *The Handbook of Analytical Chemistry* (分析化学手册) [M]. Fascicle 7. Beijing: Chemical Industry Press, 1999.
- [8] Pan M D, Mao Q. Isolation and identification of Wubangzisi A and B from *Polygala caudate* Rehd et Wils [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1984, 19(12): 899-903.
- [9] Zhang H L, Nagatsu A, Haruni O, et al. Sesquiterpene glycosides from cotton oil cake [J]. *Phytochemistry*, 1998, 48(4): 665-668.

牻牛儿苗化学成分研究

陈玉武¹, 李克明¹, 李药兰², 张永文^{3*}

(1. 中日友好医院临床医学研究所, 北京 100029; 暨南大学生命科学技术学院 化学系, 广东 广州 510632;

3. 国家食品药品监督管理局 药品审评中心, 北京 100038)

牻牛儿苗为牻牛儿苗科植物牻牛儿苗 *Erodium stephanianum* Willd. 的干燥地上部分, 习称长嘴老鹳草。该植物具有祛风湿、通经络、止泻痢的功效。主要用于风湿痹痛、麻木拘挛、筋骨酸痛、泄泻痢疾^[1]。牻牛儿苗作为老鹳草的药材来源之一, 为中药老鹳草的主流商品, 植物分布较广, 其化学成分研究除了已有报道含有 geraniin 外再未见报道^[2]。本研究的目的是结合体外抗呼吸道合胞病毒的活性(cytopathic effect reduction assay, CPE)筛选, 研究其化学成分, 为以牻牛儿苗为基原的老鹳草药材的质控提供依据。为此对牻牛儿苗中主要化学成分进行了分离和结构鉴定, 从牻牛儿苗地上部分分离得到 7 个化合物, 其中有 1 个黄酮苷, 其余均为多酚化合物。牻牛儿苗水提液通过大孔吸附树脂处理得被吸附部位, 采用硅胶和 Sephadex LH-20 柱色谱分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为山柰酚-3-O-鼠李糖(1→4)葡萄糖苷 [kaempferol-3-O-rhamnopyranosyl-(1→4)-glucopyranoside, I]、柯里拉京(corilagin, II)、鞣花酸(ellagic acid, III)、短叶苏木酚酸(brerfolincarboxic acid, IV)、原儿茶酸(protocatechic acid, V)、没食子酸(gallic acid, VI)。从牻牛儿苗丙酮-水(1:1)提取物中分得老鹳草素(geraniin, VII)。化合物 I~VI 均为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与试剂

Boetius PHMK05 型熔点仪; 日立 220A 型紫外可见分光光度计; 岛津 460 型红外光谱仪(KBr 压片); INOVA-500M 核磁共振仪; Auto spec Ultima-TOF 质谱仪; 大孔吸附树脂为天津南开大学

高分子化学研究所化工厂产品。柱色谱用硅胶(100~200 目)及薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ 预制板为青岛海洋化工厂产品。Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品; 柱色谱用 Polyamid 6D 为德国 Riedel-Dehaen 公司产品, 薄层色谱用聚酰胺薄膜为浙江黄岩四青生化材料厂产品。有机溶剂均为分析纯。

牻牛儿苗 *E. stephanianum* Willd. 样品于 2002 年 8 月采自北京昌平区南口镇, 由北京中医药大学生物教研室刘启福教授鉴定。标本(编号: 200208)存于中日友好医院临床医学研究所药物研究室。

2 提取与分离

取牻牛儿苗干燥茎叶 1 kg, 粉碎, 加水煎提 2 次, 滤过。滤液通过 ZTC-1 型大孔吸附树脂柱, 水洗脱后用 95% 乙醇洗脱, 乙醇洗脱液经过减压浓缩并真空干燥, 得乙醇洗脱部分(70 g); 醇提取物再进行硅胶柱色谱分离, 以氯仿-甲醇-水(80:20:4)系统洗脱, 再以 polyamid 6D 短柱精制, 分别得化合物 III(60 mg)、IV(200 mg)、V(60 mg)、VI(120 mg); 硅胶柱以氯仿-甲醇-水(70:30:6)系统洗脱, 再以 Sephadex LH-20 柱色谱纯化, 得化合物 I(90 mg)、II(650 mg)。取牻牛儿苗粗粉 200 g, 经丙酮-水(1:1)提取, 提取液减压浓缩除去丙酮后, 用正丁醇萃取多次, 正丁醇提取物经反复柱色谱分离得化合物 VII(200 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I: 黄色无定形粉末, 溶于甲醇及稀丙酮。遇 FeCl₃ 试剂显黄绿色。Mg-HCl 反应阳性,

Molish 反应阳性,提示为黄酮苷。酸水解,滤过得黄色针晶,TLC、HPLC 检识,同山柰酚对照 Rf 值与 Rt 值一致。酸水解母液 TLC 检识出鼠李糖和葡萄糖。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 265 (4.33), 352 (4.24)。FAB-MS m/z : 595 [$M^+ + 1$], 449 [$M^+ + 1 - \text{rha}$], 287 [$M^+ + 1 - \text{rha} - \text{glu}$], 提示鼠李糖在末端。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 12.63 (1H, s, 5-OH), 8.03 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2', 6'), 6.88 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.40 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-8), 6.17 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-6), 5.65 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, glucose 端基氢), 5.07 (1H, s, rhamnose 端基氢)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz) 苷元部分 δ : 160.63 (C-2), 133.32 (C-3), 177.91 (C-4), 161.89 (C-5), 99.63 (C-6), 165.79 (C-7), 94.44 (C-8), 156.60 (C-9), 104.35 (C-10), 121.60 (C-1'), 131.40 (C-2'), 115.80 (C-3'), 157.09 (C-4'), 115.80 (C-5'), 131.40 (C-6'); 糖部分 (α -L-鼠李糖基) δ : 101.27 (C-1), 70.91 (C-2), 71.23 (C-3), 71.31 (C-4), 72.53 (C-5), 17.94 (C-6); 糖部分 (β -D-葡萄糖基) δ : 98.99 (C-1), 78.21 (C-2), 78.14 (C-3), 77.98 (C-4), 68.99 (C-5), 61.47 (C-6)。上述数据与文献报道的相应数据基本一致^[3,4],故确定化合物 I 为山柰酚-3-O-鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 4)-葡萄糖苷。

化合物 II: 无色针晶 (MeOH-H₂O), mp 206 °C (dec)。易溶于 MeOH、EtOH、Me₂CO, 微溶于 H₂O。遇 FeCl₃ 试剂显深蓝色, Molish 反应阳性, 提示为多酚苷类化合物。经酸水解, 滤出针晶, TLC 检识为鞣花酸。水解液再用 EtOAc 萃取, 得另一苷元并鉴别为没食子酸。母液减压抽干, TLC 检识出葡萄糖。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 220 (4.46), 270 (4.36)。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 410 (-OH), 1 730, 1 714, 1 691 (-C=O), 1 615, 1 536 (-Ar), 1 356, 1 240, 1 201, 1 158, 1 030。FAB-MS m/z : 633 [$M^+ - 1$], 463 [$M^+ - 1 - 170$], 301 [$M^+ - 1 - 170 - 162$]。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 9.24, 9.06, 8.79, 8.09 (br s, D₂O 交换后消失, -OH 活泼氢), 7.01 (2H, s, galloyl, H-2, 6), 6.55 (1H, s, HHDP-H), 6.49 (1H, s, HHDP-H), 6.19 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, glucose 端基氢), 5.82, 5.75 (各 1H, d, $J = 4.5, 5.5$ Hz, D₂O 交换后消失, -OH 活泼氢), 4.58 (1H, br s, glu-H-5), 4.34 (1H, m, glu-H-3), 4.20~4.24 (2H, m, glu-H-4, Ha-6), 3.93 (1H, m, glu-Hb-6), 3.86 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, glu-H-2)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz) 葡萄糖基 δ : 92.18 (C-1), 71.68 (C-2), 76.38 (C-3), 62.19 (C-4),

77.58 (C-5), 63.99 (C-6); 鞣酰基 δ : 118.72 (C-1), 109.00 (C-2), 145.60 (C-3), 138.99 (C-4), 145.60 (C-5), 109.00 (C-6), 164.87 (-C=O); 六羟基苯基 (HHDP) δ : 123.90, 123.08 (C-1, 1'), 106.94, 106.08 (C-2, 2'), 144.83, 144.76 (C-3, 3'), 135.53, 135.41 (C-4, 4'), 144.30, 143.98 (C-5, 5'), 115.80, 115.53 (C-6, 6'), 167.08, 166.73 (-C=O)。上述数据与文献报道的相应数据基本一致^[5], 而且该化合物 TLC 与标准品 Rf 值一致, 故确定化合物 II 为 1-O-没食子酰基-3,6-O-六羟基苯二酰-D-葡萄糖即为柯里拉京。

化合物 III: 淡黄色针晶, mp >360 °C。溶于吡啶, 微溶于 MeOH。遇 FeCl₃ 试剂显灰蓝色。UV、IR、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道的相应数据基本一致^[6], 而且该化合物 TLC 与标准品 Rf 值一致, 故确定化合物 III 为鞣花酸。

化合物 IV: 黄色针晶 (MeOH-H₂O), mp 290 °C (dec)。溶于热的稀丙酮, 稀甲醇。紫外灯下显亮黄色荧光, 遇 FeCl₃ 试剂显蓝色。UV、IR、FAB-MS、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道的相应数据基本一致^[7], 而且该化合物 TLC 与标准品 Rf 值一致, 故确定化合物 IV 为短叶苏木酚酸。

化合物 V: 无色棒状结晶 (H₂O), mp 202~203 °C, 易溶于 MeOH、EtOH, 溶于 H₂O, 水溶液呈弱酸性, 遇 FeCl₃ 试剂显灰黑色。UV、IR、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道的相应数据基本一致, 而且该化合物 TLC 与标准品 Rf 值一致, 故确定化合物 V 为原儿茶酸。

化合物 VI: 无色针晶 (MeOH-H₂O)。mp 240 °C (dec)。易溶于 MeOH、EtOH, 溶于 H₂O, 水溶液呈酸性。遇 FeCl₃ 试剂显深蓝色。UV、IR、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与没食子酸的相应数据一致, 化合物 TLC 与标准品 Rf 值一致, 故确定化合物 VI 为没食子酸。

化合物 VII: 黄色结晶 (MeOH-H₂O), mp 260 °C (dec)。易溶于 MeOH、Me₂CO。遇 FeCl₃ 试剂显蓝色, Molish 反应阳性。完全酸水解产生没食子酸、鞣花酸、短叶苏木酚酸和葡萄糖。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 224 (4.80), 278 (4.50)。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 410 (OH), 1 718, 1 730 (-C=O), 1 613, 1 506, 1 336, 1 204。FAB-MS m/z : 951 [$M^+ - 1$]。 $^1\text{H-NMR}$ (Me₂CO- d_6) δ : 7.20 (1H, s, H-3''), 7.16 (2H, s, galloyl-H), 6.62, 7.12 (各 1H, s, HHDP-H), 6.60 (1H, brs, glucose 端基氢), 6.47 (1H, s, H-3'), 5.46,

5.48, 5.51 (各 1H, brs, glu-H-4, 3, 2), 5.11 (1H, s, H-1'), 4.92 (1H, t, $J = 11.0$ Hz, glu-Ha-6'), 4.79 (1H, m, glu-H-5), 4.26 (1H, dd, $J = 8.2, 10.5$ Hz, glu-Hb-6)。 ^{13}C -NMR ($\text{Me}_2\text{CO}-d_6\text{-D}_2\text{O}$) 出现成对的两组峰, 化合物 VII 随着在溶剂中的时间加长, 有异构体产生, 这与文献报道是一致的^[5,8]。葡萄糖基 δ : 90.62, 91.60 (C-1), 70.21, 70.80 (C-2), 63.52, 62.60 (C-3), 66.15, 67.04 (C-4), 72.82, 73.34 (C-5), 63.91, 63.60 (C-6); 脲基 (A 环) δ : 120.20, 120.12 (C-1), 110.98, 110.76 (C-2, 6), 146.20, 146.20 (C-3, 5), 140.45, 140.32 (C-4), 165.13, 165.28 (C-7); 六羟基联苯基 (B 环) δ : 117.50, 117.80 (C-1), 124.52, 124.35 (C-2), 110.84, 110.54 (C-3), 146.16, 146.16 (C-4), 138.17, 138.05 (C-5), 145.20, 145.14 (C-6), 166.42, 166.30 (C-7); (C 环) δ : 115.90, 115.53 (C-1), 125.54, 125.48 (C-2), 107.90, 108.05 (C-3), 145.73, 145.69 (C-4), 136.60, 136.48 (C-5), 145.20, 145.41 (C-6), 169.15, 168.94 (C-7); 2,4-酰基 (D 环) δ : 115.52, 119.96 (C-1), 119.50, 117.40 (C-2), 113.90, 113.70 (C-3), 145.92, 147.86 (C-4), 139.48, 137.80 (C-5), 143.42, 147.26 (C-6), 165.82, 165.64 (C-7); (E 环) δ : 46.10, 52.02 (C-1), 154.42, 149.16 (C-2), 128.93, 125.36 (C-3), 192.40, 195.28 (C-4), 96.31, 92.40 (C-5), 92.70, 109.03 (C-6), 165.91, 165.98 (C-7)。上述数据与文献报道的相应数据基本一致, 故确定化合物 VII 为老鹳草素。

4 体外抗病毒活性

在光学显微下观察化合物对细胞繁殖的作用, 测定化合物的细胞毒性, 并计算出样品的最大无毒性浓度 (MNCC) 和半数细胞毒性浓度 (CC_{50})^[9]。化合物的抗病毒活性通过观察样品对病毒引起的细胞

病变的抑制来测定 (CPE 法), 并以最大无毒性浓度为待测样品的起始浓度^[10]。本实验的病毒为呼吸道合胞病毒 (RSV), 采用的细胞为 Hep-2 细胞, 以抗 RSV 药物利巴韦林为阳性对照。实验结果显示, 化合物 I 和 VII 均显示有较强的抑制 RSV 活性, 其半数抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 $25 \mu\text{g/mL}$ 和 $12.5 \mu\text{g/mL}$, 但其细胞毒性也较强, 其 CC_{50} 均为 $50 \mu\text{g/mL}$ 。阳性对照药利巴韦林的 IC_{50} 为 $3.0 \mu\text{g/mL}$, 治疗指数 SI ($\text{CC}_{50}/\text{IC}_{50}$) 为 20.8。其余化合物未表现出对 RSV 的抑制作用。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Lei H M, Wei L X. Chemotaxonomic studies on the *Geraniaceae* plants [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 1997, 12(5): 207-208.
- [3] Takagaki S, Yamaki M, Masuda K, et al. On the constituents for the fruits of *Rosa multiflora* Thunb. I [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1976, 96: 1217-1222.
- [4] Yu D Q, Yang J S, Xie J X. *Handbook of Analytical Chemistry* (分析化学手册) [M]. Fascicle 5. Beijing: Chemical Industry Press, 1989.
- [5] Chen Y W, Ren L J. Studies on the anti-cancer active constituents of *Matsumura Leafyflower* (*Platylanthus matsumurae*) I. Isolation and identification of polyphenolic compounds [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(4): 198-202.
- [6] Li L B, Ma T B, Xiao Y X, et al. Studies on the chemical constituents of *Qingdao Lao-Guan-Cao* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(2): 92-93.
- [7] Saijo R, Nonaka G I, Nishioka I. Tannins and related compounds. LXXXVII. Isolation and characterization of four hydrolyzable tannins from the leaves of *Mallotus rapandus* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37(10): 2624-2630.
- [8] Haddock E A, Gupta R K, Haslam E. The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants [J]. *J Chem Soc Perkin Trans I*, 1982, 2535-2545.
- [9] Li Y L, Ooi L S M, Wang H, et al. Antiviral activities of medicinal herbs traditionally used in southern mainland China [J]. *Phytother Res*, 2004, 18: 718.
- [10] Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, et al. Antibacterial antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin [J]. *J Ethnopharm*, 1999, 64: 235.

《中草药》杂志被评为“第五届中国百种杰出学术期刊”

2006 年 10 月 27 日中国科学技术信息研究所公布了“第五届中国百种杰出学术期刊”名单,《中草药》杂志获此殊荣——“第五届中国百种杰出学术期刊”。这个名单是按照期刊评价指标体系对重要指标(影响因子、总被引频次、他引总引比、基金论文比和即年指标)进行打分的结果,并在近几年来召开了 20 余场专家研讨会,对评价指标不断进行推敲和改进而评出的。

摘引自中国科学技术信息研究所《2005 年度中国科技论文统计与分析年度报告》