

- [9] Lu X Z, Luo H W. Studies on the chemical constituents of *Salvia trijuga* Diels [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1996, 21(7): 424-425.
- [10] Guo X M, Zhang L, Quan S C, et al. Isolation and identification on the triterpenes from *Chaenomeles lagenaria* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1998, 23(9): 546-547.
- [11] Yu J H, Li G P, Li L, et al. Studies on the constituents of *Passiflora wilsonii* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2003, 15(1): 27-29.

荔枝叶的化学成分研究

黄绍军^{1,4}, 黄秋玲², 义祥辉³, 黄路路⁴, 喻菁⁴

(1. 同济大学 化学系, 上海 200092; 2. 湖南省永州市第八中学, 湖南 永州 425100; 3. 桂林师范高等专科学校 化学系, 广西 桂林 541001; 4. 江西中医药高等专科学校 基础部, 江西 抚州 344000)

荔枝 *Litchi chinensis* Sonn. 是无患子科植物, 产于我国福建、广东、广西等地。它是一种营养较丰富的水果和药物。能生津、益血、理气、止痛, 治烦渴、胃痛、牙痛、外伤出血等; 而且荔枝叶具有抗炎、止痛、解暑消滞及收敛敛疮作用^[1,2]。体外试验表明荔枝叶的水提取物具有明显的抗乙肝病毒作用。为充分利用荔枝资源, 拓宽其利用价值, 寻找高效、低毒的抗乙肝病毒药物, 本课题组在药理活性初筛的基础上, 首次对荔枝叶的化学成分进行了较系统的研究, 从其水提物中分离得到6个化合物, 并用化学和波谱(¹³C-NMR、¹H-NMR、DEPT、HSQC、¹H-¹H COSY、HMBC、FAB-MS)方法鉴定了此6个化合物。分别为异落叶松脂素-9-O-β-D-木糖苷(I)、4,4',9'-三羟基-3,5,3'-三甲氧基-7-苯基四氢萘木脂素-9-O-β-D-木糖苷(II)、山奈酚-3-O-α-L-鼠李糖-7-O-[α-L-鼠李糖基(1→2)-β-D-半乳糖]苷(III)、槲皮素-3-O-[α-L-鼠李糖基(1→2)-β-D-半乳糖]-7-O-α-L-鼠李糖苷(IV)、山奈酚-3-O-α-L-鼠李糖-7-O-[α-L-鼠李糖基(1→2)-β-D-葡萄糖]苷(V)、槲皮素-3-O-α-L-鼠李糖-7-O-[α-L-鼠李糖基(1→2)-β-D-葡萄糖]苷(VI)。该6个化合物均为首次从该植物中分离得到。

1 仪器和试剂

P200 I 型高效液相色谱仪及 UV200 I 型紫外可变波长检测器(大连依利特分析仪器有限公司); WRX-1S 显微热分析仪(上海精密科学仪器有限公司); Bruker AV500MHz/DRX500 超导核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司), TMS 为内标, CD₃OD 为溶剂; VG AutoSpec 3000 有机磁质谱仪, 甘油为底物;

D-101 大孔吸附树脂(天津富邦化工科技有限公司); 柱色谱用硅胶(200~300 目)、硅胶 GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工厂产品; 其他化学试剂均为分析纯; 荔枝叶 2004 年 11 月采于广西陆川, 经义祥辉教授鉴定, 阴干处理, 样品保存于江西中医药高等专科学校化学教研室。

2 提取和分离

称取干燥的荔枝叶 1 kg, 破碎后用蒸馏水煮沸 2 h, 冷却后滤过, 重复 3 次。合并滤液, 将滤液用蒸馏水稀释后以 20 mL/min 的体积流量流过填有 D-101 大孔吸附树脂的色谱柱(60 cm×8.0 cm)。吸附完毕后, 先用蒸馏水洗柱, 至柱流出液(B)为无色, 然后用 80% 乙醇洗脱, 洗脱液减压蒸干得粗产品(A)60 g。粗产品再经无水乙醇回流提取, 滤过, 得滤渣(A₂)31 g, 又将滤渣减压蒸干得精品(A₁)29 g。将上述 3 部分 A₁、A₂ 和 B 分别经抗乙肝病毒实验, 应用 HepG2.2.15 细胞系培养系统检测它们对 HBsAg 和 HBeAg 的表达抑制作用, 在质量浓度 400 μg/mL 下, 于实验第 6 天对 HBsAg 和 HBeAg 的抑制率: A₁ 为 76.1% 和 73.4%, A₂ 为 46.8% 和 37.8%, B 为 10.2% 和 7.7%。表明荔枝叶对乙肝病毒起抑制作用的较有效部位是 A₁。因此, 对 A₁ 部位进行了深入的化学成分研究。取 A₁ 13.3 g 进行硅胶(500 g, 200~300 目)柱(60 cm×6.0 cm)色谱, 用氯仿-甲醇(100:0~20:80)梯度洗脱, 每份收集 200 mL, 共收集 60 份(Fr. 1~60), TLC 及 HPLC 检识, 合并相同组分。Fr. 12~18 浓缩得黄色粉末 C(1.3 g), 再经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇-甲酸(100:20:0.5)洗脱, 放置使溶剂挥发自然结晶, 滤过, 得

收稿日期: 2007-02-18

作者简介: 黄绍军(1975—), 男, 湖南省永州市人, 现正在同济大学攻读有机化学博士学位。

Tel: 13402080875 (021)65986184 E-mail: huangshaojun1975@163.com

浅黄色针状晶体 J(80 mg), 最后经 HPLC 制备纯化 [色谱条件: 检测波长 220 nm; 柱温为室温; 体积流量: 1.0 mL/min; 灵敏度: 0.005; 进样量: 250 μ L; 制备型色谱柱 C_{18} (250 mm $\times$ 22 mm, 25~40 μ m); 流动相: 25% 甲醇], 分别得到化合物 I (20 mg) 和 II (8 mg)。Fr. 25~29 浓缩得暗黄色粉末 D(1.1 g), 再经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇-甲酸-水 (190 : 60 : 1 : 1) 洗脱, 然后用制备 TLC 纯化, 展开剂为氯仿-甲醇-甲酸-水 (10 : 5 : 0.2 : 0.2), 刮板洗脱后分别得化合物 III (22 mg, R_f = 0.46) 和 IV (19 mg, R_f = 0.36)。Fr. 30~36 浓缩得棕黄色粉末 E(1.2 g), 再经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇-甲酸-水 (100 : 40 : 1 : 1) 洗脱, 氯仿-丙酮 (2 : 1) 重结晶得化合物 V (85 mg)。Fr. 40~43 浓缩得棕黄色粉末 F(0.5 g), 再经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇-甲酸-水 (120 : 60 : 2 : 2) 洗脱, 然后用制备 TLC 纯化, 展开剂为氯仿-甲醇-甲酸-水 (60 : 30 : 1.2 : 1.2), 刮板洗脱后得化合物 VI (32 mg, R_f = 0.40)。

3 结构鉴定

化合物 I: 浅黄色针状晶体, mp 152.3~154.5 $^{\circ}$ C。盐酸-镁粉反应和 1% $AlCl_3$ 乙醇试剂试验证明其为非黄酮类化合物。以氯仿-甲醇-甲酸-水 (10 : 5 : 0.1 : 0.1) 为展开剂在 TLC 上展开, 用碘蒸气显色, 显示出一个清晰的棕黄色斑点, R_f = 0.70。 ^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ : 133.0 (C-1), 112.9 (C-2), 145.9 (C-3), 144.0 (C-4), 114.8 (C-5), 121.8 (C-6), 46.6 (C-7), 44.4 (C-8), 68.2 (C-9), 127.6 (C-1'), 111.1 (C-2'), 147.7 (C-3'), 144.9 (C-4'), 116.1 (C-5'), 137.0 (C-6'), 32.4 (C-7'), 38.5 (C-8'), 65.5 (C-9'), 55.1 (3-OCH₃), 55.0 (3'-OCH₃), 104.2 (xyl-1), 71.1 (xyl-2), 72.9 (xyl-3), 68.2 (xyl-4), 63.9 (xyl-5); 1H -NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ : 6.78 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2), 6.76 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5), 6.67 (1H, s, H-2'), 6.20 (1H, s, H-5'), 6.66 (1H, dd, J = 8.1, 1.8 Hz, H-6), 4.0 (2H, dd, J = 17.6, 10.7 Hz, H-9), 3.83 (3H, s, 3-OCH₃), 3.81 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.49 (1H, d, J = 9.3 Hz, H-7), 1.92 (1H, m, H-8), 2.86 (2H, dd, J = 15.8, 5.8 Hz, H-7'), 2.10 (1H, m, H-8'), 4.10 (1H, d, J = 6.8 Hz, xyl-1-H), 3.61 (1H, dd, J = 8.9, 7.0 Hz, xyl-2-H), 3.54 (1H, dd, J = 9.0, 3.4 Hz, xyl-3-H), 3.27 (1H, dd, J = 9.8, 3.5 Hz, xyl-4-H); FAB-MS m/z (%): 491 (M-H, 100), 347 (65), 325 (29), 281 (14), 244 (18), 166 (20), 154 (9), 91 (7), 73 (68)。

根据 DEPT 谱, 可知化合物 I 有 12 个次甲基, 4 个亚甲基, 2 个甲基和 7 个季碳。以上数据与文献值一致^[3,4], 可确定 I 为异落叶松脂素-9-O- β -D-木糖苷。

化合物 II: 白色针状晶体, mp 207.1~208.4 $^{\circ}$ C。盐酸-镁粉反应和 1% $AlCl_3$ 乙醇试剂试验证明其为非黄酮类化合物。 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 数据与文献值一致^[4], 可确定化合物 II 为 4, 4', 9'-三羟基-3, 5, 3'-三甲氧基-7-苯基四氢萘木脂素-9-O- β -D-木糖苷。

化合物 III: 棕黄色固体, mp 218.4~219.2 $^{\circ}$ C。用甲醇溶解, 盐酸-镁粉反应显红棕色; 喷洒 1% $AlCl_3$ 乙醇溶液, 烘干后呈黄色斑点, 置于紫外荧光灯下可观察到黄色荧光。说明其可能为黄酮类化合物。 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 数据与文献值一致^[5,6], 可确定化合物 III 为山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖-7-O-[α -L-鼠李糖基 (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖]苷。

化合物 IV: 棕黄色固体, mp 229.1~231.1 $^{\circ}$ C。用甲醇溶解, 盐酸-镁粉反应显红棕色; 喷洒 1% $AlCl_3$ 乙醇溶液, 烘干后呈黄色斑点, 置于紫外荧光灯下可观察到黄色荧光。说明其可能为黄酮类化合物。 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 数据与文献值一致^[6,7], 可确定化合物 IV 为槲皮素-3-O-[α -L-鼠李糖基 (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖]-7-O- α -L-鼠李糖苷。

化合物 V: 浅黄色针状晶体, mp 209.5~212.4 $^{\circ}$ C。用甲醇溶解, 盐酸-镁粉反应显橙红色; 喷洒 1% $AlCl_3$ 乙醇溶液, 烘干后呈鲜黄色斑点, 置于紫外荧光灯下可看到黄色荧光。说明其可能为黄酮类化合物。以氯仿-甲醇-甲酸-水 (10 : 5 : 0.1 : 0.1) 为展开剂在 TLC 上展开, 用碘蒸气显色, 置于紫外荧光灯下可观察到一个清晰的棕色斑点, R_f = 0.41。 ^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ : 157.3 (C-2), 134.8 (C-3), 178.4 (C-4), 156.4 (C-5), 99.2 (C-6), 162.2 (C-7), 94.3 (C-8), 160.5 (C-9), 106.2 (C-10), 120.9 (C-1'), 130.7 (C-2'), 115.3 (C-3'), 158.4 (C-4'), 115.3 (C-5'), 130.7 (C-6'), 104.5 (glc-1), 81.3 (glc-2), 76.3 (glc-3), 70.6 (glc-4), 76.4 (glc-5), 61.5 (glc-6), 101.8 (rha-1), 70.3 (rha-2), 70.5 (rha-3), 74.0 (rha-4), 69.8 (rha-5), 16.7 (rha-6), 98.5 (rha'-1), 69.9 (rha'-2), 70.4 (rha'-3), 72.5 (rha'-4), 69.5 (rha'-5), 16.4 (rha'-6); 1H -NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ : 6.40 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-6), 6.58 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-8), 7.85 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-2'), 6.98 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-3'), 6.98 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-5'), 7.85 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-6'),

5.58(1H,d, $J=1.2$ Hz, rha-1-H), 5.44(1H,d, $J=1.5$ Hz, rha'-1-H), 4.52(1H,d, $J=7.7$ Hz, glc-1-H), 1.30(3H,d, $J=6.2$ Hz, rha-CH₃), 1.00(3H,d, $J=5.5$ Hz, rha'-CH₃); FAB-MS m/z : 739(M-H, 100), 593(M-H-146, 16), 540(14), 431(M-H-146-162, 50), 325(17), 285(M-H-146-162-146, 37), 183(21), 152(9), 91(12), 73(48)。由DEPT谱可知, 化合物V分子中含有1个亚甲基, 2个甲基, 21个次甲基和9个季碳。根据HMBC谱, rha'-1-H(δ 5.44)与 glc-2-C(δ 81.3)有远程相关, 证实糖链 α -L-rha(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glc 的存在, glc-1-C(δ 104.5)与 8-H(δ 6.58)、6-H(δ 6.40)有远程相关, 说明 glc-1-C 与 8-H、6-H 存在 W 型碳氢远程偶合关系, 可以说明糖链 α -L-rha(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glc 与 C-7 相连。以上数据与文献值一致^[8,9], 可确定化合物V为山奈酚-3-O- α -L-鼠李糖-7-O-[α -L-鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-葡萄糖]苷。

化合物VI: 黄绿色固体, mp 216.1~217.6 °C。用甲醇溶解, 盐酸-镁粉反应显紫红色; 喷洒1% AlCl₃ 乙醇溶液, 烘干后呈鲜黄色斑点, 置于紫外荧光灯下可看到黄色荧光。说明其可能为黄酮类化合物。¹H-NMR、¹³C-NMR数据与文献值一致^[9], 可确定化合物VI为槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖-7-O-[α -L-鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-葡萄糖]苷。

4 讨论

本研究从荔枝叶的抗乙肝病活性部位无水乙

醇萃取物中分离得到2个木脂素苷和4个黄酮苷, 木脂素苷类及黄酮苷类成分都是生物活性物质, 他们可能是荔枝叶的主要活性成分。

References:

- [1] Song G Q, Bu X Z, Gu L Q, et al. GC-MS Analysis of components in *Litchi pericarp* [J]. *Acta Sun Yat-sen Univ: Nat Sci* (中山大学学报: 自然科学版), 1999, 38(4): 47-50.
- [2] Besra S E, Sharma R M, Gomes A. Antiinflammatory effect of petroleum ether extract of leaves of *Litchi chinensis* Gaertn. (Sapindaceae) [J]. *J Ethnopharmacol*, 1996, 54: 1-6.
- [3] Feng W S, Bi Y F, Zheng X K, et al. Studies on the lignan chemical constituents from pine needles of *Pinus massoniana* Lamb [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2003, 38(3): 199-202.
- [4] Zhang Z Z, Guo D A, Li C L, et al. Studies on the lignan glycosides from *Gaultheria yunnanensis* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1999, 34(2): 128-131.
- [5] Li W K, Leung S W, Chan C L, et al. ¹³C-NMR Spectroscopy of flavonoid-O-glycosides [J]. *Chin J Magn Resonance* (波谱学杂志), 1998, 15(5): 473-484.
- [6] Liu H Y, Ni W, Yuan M H, et al. The chemical constituents of *Jasminum sambac* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 2004, 26(6): 687-690.
- [7] Haribal M, Alan J, Renwick A. Oviposition stimulants for the monarch butterfly: flavonol glycosides from *Asclepias curassavica* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(1): 139-144.
- [8] Si J Y, Chen D H, Chang Q, et al. Isolation and structure determination of flavonol glycosides from the fresh fruits of *Siraitia grosvenori* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1994, 29(2): 158-160.
- [9] Mulinacci N, Vincieri F F, Baldi A, et al. Flavonol glycosides from *Sedum telephium* subspecies *maximum* leaves [J]. *Phytochemistry*, 1995, 38(2): 531-533.

葛花化学成分研究(II)

尹俊亭, 仲 英*, 刘 鲁, 王 菊

(山东省医学科学院药物研究所, 山东 济南 250062)

葛花为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥花蕾, 为我国民间用于解酒的传统中药。现代药理研究进一步表明, 葛花具有保肝养胃、调节血糖血脂等功效。研究^[1]曾报道了从葛花提取物中分离得到5个异黄酮化合物, 本实验对葛花石油醚、乙醚、丙酮和甲醇提取物作进一步分离, 得到7个化合物, 分别鉴定为染料木苷(genistin, I)、印度黄檀苷(sissotrin, II)、鹰嘴豆素甲(biochanin A,

III)、尿囊素(allantoin, IV)、胡萝卜苷(daucosterol, V)、豆甾醇苷(stigmasterol glucoside, VI)、 β -谷甾醇(β -sitosterol, VII)。其中化合物I、V~VII均为首次从该植物花蕾中分得。

1 材料与仪器

葛花采自陕西省大巴山区, 药材由山东处中药研究院孙立立研究员鉴定。Stuart smp3 型熔点测定仪(未校正); NICOLET AVATAR-330 型红外光