

泽泻化学成分的研究

胡雪艳, 陈海霞, 高文远*, 刘新桥

(天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072)

摘要:目的 研究泽泻 *Alisma orientalis* 干燥块茎中的化学成分。方法 利用正相硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20、反相制备色谱等手段进行分离纯化, 并通过¹H-NMR、¹³C-NMR等波谱技术进行结构鉴定。结果 从泽泻干燥块茎中分离得到了8个化合物, 分别鉴定为泽泻醇 A24-乙酸酯(alisol A 24-acetate, I)、16,23-氧化泽泻醇 B(16,23-oxidoalisol B, II)、11-去氧泽泻醇 B 23-乙酸酯(11-deoxy-alisol B 23-acetate, III)、11-去氧泽泻醇 C23-乙酸酯(11-deoxy-alisol C 23-acetate, IV)、alissmol(V)、阿曼托黄素(amentoflavone, VI)、2,2',4-三羟基查耳酮(2,2',4-trihydroxy chalcone, VII)、β-谷甾醇(β-sitosterol, VIII)。结论 化合物VI和VII为首次从该属植物中分离得到。

关键词:泽泻; 化学成分; 泽泻醇 A24-乙酸酯

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)12-1788-03

泽泻为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientalis* (Sam.) Juzep. 的干燥块茎, 为《中国药典》收载品种^[1]。泽泻在多种中药制剂及配伍中均有使用, 具有利水、清湿热和泄热等功效, 可用于治疗小便不利、水肿胀满、泄泻尿少、痰饮眩晕、热淋涩痛。近代药理证明泽泻具有抑制动脉粥样硬化和活血化瘀的功效, 以及利尿、降低血压、抗脂肪肝等作用^[2]。泽泻的主要化学成分是三萜及倍半萜类成分, 还含有二萜、挥发油、生物碱、黄酮、蛋白质及淀粉等化学成分。本实验主要对其化学成分进行深入研究, 并为寻找抗肿瘤活性成分打下一定的基础。目前已从泽泻干燥块茎中分离得到了8个化合物, 分别鉴定为泽泻醇 A24-乙酸酯(alisol A 24-acetate, I)、16,23-氧化泽泻醇 B(16,23-oxidoalisol B, II)、11-去氧泽泻醇 B 23-乙酸酯(11-deoxy-alisol B-23-acetate, III)、11-去氧泽泻醇 C-23-乙酸酯(11-deoxy-alisol C 23-acetate, IV)、alissmol(V)、阿曼托黄素(amentoflavone, VI)、2,2',4-三羟基查耳酮(2,2',4-trihydroxy chalcone, VII)、β-谷甾醇(β-sitosterol, VIII)。其中化合物VI和VII为首次从该属植物中分离得到。

1 仪器、药材及试剂

柱色谱硅胶和薄层硅胶(青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 (Pharmacia); NMR 用 VARIAN INOVA 500 MHz 核磁共振波谱仪; 制备 HPLC(日本丰光公司, Pu-1580 智能 HPLC 泵; RI-1530 智能 RI 检测器); 泽泻 *Alisma orientalis* (Sam.) Juzep. 于 2005 年 9 月购自福建, 经天津大学药物科学与技术学院高文远教授鉴定。

2 提取与分离

取泽泻干燥块茎约 8 kg, 粉碎, 用 95%、80% 乙醇分别回流提取 3 次, 每次 4 h, 减压回收乙醇得浸膏, 加入适量水混悬后, 分别用石油醚、醋酸乙酯进行萃取。醋酸乙酯部分先用 2.5 kg 的硅胶柱进行粗分, 用氯仿-甲醇系统梯度洗脱, TLC 检测合并, 得到 15 个组分, 其中组分 2、3、9、12 通过硅胶柱、Sephadex LH-20、ODS-HPLC、PTLC 得到化合物 I (20.6 mg)、II (10 mg)、III (17.5 mg)、IV (26.6 mg)、V (49.1 mg)、VI (27.5 mg)、VII (50 mg)、VIII (620 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I: 无色粒晶, 分子式为 C₃₂H₅₂O₆。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 0.99 (3H, s), 1.06 (3H, s), 1.08, 1.14, 1.26, 1.29 (各 3H, s), 1.01 (3H, m), 1.66 (3H, m), 1.75 (1H, d, J=11 Hz, H-9), 3.86 (1H, m, H-11), 4.92 (1H, br s, H-24), 3.29 (1H, m, H-23), 2.07 (3H, s, H-Ac)。¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz) 见表 1, 并且与文献对照基本一致^[3], 确定化合物 I 为泽泻醇 A24-乙酸酯。

化合物 II: 白色针晶 (MeOH), 分子式为 C₃₀H₄₆O₄。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 0.89 (3H, s), 1.06, 1.065, 1.07 (各 3H, s), 1.16 (3H, d, J=7.0 Hz, Me-21), 1.25 (3H, s), 1.31, 1.30 (各 3H, s), 2.72 (3H, m, H-12, 24), 3.53 (1H, brt, J=8 Hz, H-16), 3.82 (1H, m, H-11), 4.43 (1H, brt, J=8.0 Hz, H-23)。¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz) 见表 1, 并且与文献对照基本一致^[4], 确定化合物 II 为 16,23-

氧化泽泻醇B。

化合物Ⅲ：黄色油状物，分子式为 $C_{32}H_{50}O_4$ 。 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 0.80, 1.00, 1.04, 1.06, 1.10, 1.31, 1.33 (各 3H, s), 1.02 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 2.06 (3H, s, OAc), 2.73 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-24), 4.59 (1H, m)。 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) 见表1, 并且与文献对照基本一致^[5], 确定化合物Ⅲ为11-去氧泽泻醇B 23-乙酸酯。

表1 化合物Ⅰ~Ⅳ ^{13}C -NMR数据($CDCl_3$, 500 MHz)

Table 1 ^{13}C -NMR Data for compounds Ⅰ-Ⅳ
($CDCl_3$, 500 MHz)

碳位	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ
1	31.2	30.8	31.8	31.9
2	34.0	33.6	33.8	33.8
3	221.1	219.9	220.2	219.6
4	47.2	47.0	47.0	47.2
5	48.2	48.2	48.2	48.2
6	20.2	19.9	20.1	20.2
7	34.5	34.0	34.0	34.7
8	40.6	40.6	40.6	40.6
9	50.8	49.7	43.9	43.1
10	37.1	37.0	36.3	36.4
11	69.2	70.6	22.6	22.5
12	34.5	34.9	22.8	24.5
13	138.3	136.5	140.7	180.3
14	57.2	55.1	57.4	50.3
15	30.7	33.8	31.1	46.2
16	29.3	79.8	28.8	208.3
17	135.3	133.3	132.7	138.3
18	23.4	25.0	23.4	23.2
19	26.9	25.5	22.9	22.2
20	28.1	26.6	27.8	26.9
21	20.3	18.3	20.2	19.9
22	39.8	39.4	36.8	35.4
23	70.0	72.6	71.7	72.2
24	78.9	65.6	65.2	65.2
25	74.0	57.2	58.4	58.8
26	25.7	19.3	19.4	19.5
27	27.4	24.4	24.7	24.9
28	29.8	29.6	29.3	29.5
29	20.1	20.0	19.7	19.9
30	24.3	23.6	23.6	23.9
OAc	20.9		21.2	21.3
	171.2		169.9	170.3

化合物Ⅳ：白色针晶(丙酮)，分子式为 $C_{32}H_{48}O_5$ 。 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 0.87, 0.93, 1.06, 1.07, 1.23, 1.28, 1.29 (各 3H, s), 1.20 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 1.79 (1H, d, $J=19.0$ Hz, Ha-15), 2.06 (3H, s, OAc), 2.45 (1H, d, $J=19.0$ Hz, Hb-15), 2.72 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-24), 4.51 (1H, m)。 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) 见表1, 并且与文献对照基本一致^[5], 确定化合物Ⅳ为11-去氧泽泻醇C 23-乙酸酯。

化合物Ⅴ：无色油状物，分子式为 $C_{15}H_{24}O$ 。

1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 0.99 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 1.00 (3H, d, $J=6.5$ Hz), 1.25 (3H, s, H-15), 4.71 (1H, s, H-14b), 4.76 (1H, s, H=4a), 5.56 (1H, s, H-6)。 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 55.2, 25.0, 40.4, 80.9, 47.5, 121.6, 150.0, 30.2, 37.3, 154.1, 37.7, 21.5, 21.7, 24.3, 106.7。以上数据与文献对照基本一致^[5], 确定化合物Ⅴ为alismol。

化合物Ⅵ：黄色无定形粉末(CH_3OH)，分子式为 $C_{30}H_{48}O_{10}$ 。 1H -NMR (C_5D_5N , 500 MHz) δ : 7.24 (1H, s, H-3), 7.17 (1H, s, H-6), 8.21 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2', 6'), 7.46 (2H, 重叠, H-3', 5'), 7.35 (1H, s, H-3''), 7.04 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6''), 7.12 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8''), 8.86 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-2''), 7.72 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5''), 8.22 (1H, dd, $J=2.5, 8.5$ Hz, H-6'')。 ^{13}C -NMR (C_5D_5N , 500 MHz) δ : 164.9 (C-2), 103.9 (C-3), 183.4 (C-4), 162.8 (C-5), 100.19 (C-6), 163.5 (C-7), 105.6 (C-8), 156.2 (C-9), 105.4 (C-10), 122.9 (C-1'), 129.2 (C-2', 6'), 117.2 (C-3', 5'), 163.0 (C-4'), 165.0 (C-2''), 104.5 (C-3''), 183.1 (C-4''), 164.1 (C-5''), 100.4 (C-6''), 166.2 (C-7''), 95.2 (C-8''), 158.9 (C-9''), 105.3 (C-10''), 122.8 (C-1''), 132.9 (C-2''), 122.1 (C-3''), 161.7 (C-4''), 117.6 (C-5''), 128.7 (C-6'')。以上数据与文献对照基本一致^[6], 确定化合物Ⅵ为阿曼托黄素。

化合物Ⅶ：黄色无定形粉末(CH_3OH)，分子式为 $C_{15}H_{12}O_4$ 。 1H -NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ : 6.29 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-3), 6.42 (1H, dd, $J=2.0, 8.5$ Hz, H-5), 7.97 (1H, d, $J=9$ Hz, H-6), 6.84 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3', 6'), 7.61 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-4', 5'), 7.60 (1H, d, $J=15.5$ Hz, H_a), 7.79 (1H, d, $J=15.5$ Hz, H_b)。 ^{13}C -NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ : 144.5 (C_β), 117.2 (C_α), 192.4 (CO), 126.7 (C-1), 130.7 (C-2, 6), 115.7 (C-3, 5), 160.4 (C-4), 113.6 (C-1'), 165.2 (C-2'), 102.6 (C-3'), 166.3 (C-4'), 108.0 (C-5'), 132.2 (C-6')。以上数据与文献对照基本一致^[7], 确定化合物Ⅶ为2, 2', 4-三羟基查耳酮。

化合物Ⅷ：白色结晶, mp 132~134 °C, 五氯化锑显色呈红色。与对照品β-谷甾醇共薄层, R_f值一致^[2]。

参考文献

- [1] 中国药典[S]. 2005年版.
- [2] 蔡立宁, 王红姝. 泽泻化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 1996, 8(1): 5-9.
- [3] 彭国平, 朱国元, 楼凤昌. 泽泻中二个三萜新成分的研究

- [J]. 天然产物研究与开发, 2002, 14(4): 5-8.
- [4] 沃联群, 罗光明, 王保秀, 等. 草泽泻三萜类化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(16): 1263-1265.
- [5] Nakajima Y, Satoh Y, Masumi K, et al. Terpenoids of *Alisma orientale* rhizomes and the crude drug *Alismatis rhizoma* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 36(1): 119-127.
- [6] 张玉梅, 谭宁华. 黑西哥落羽杉中三个活性双黄酮研究[J]. 云南植物研究, 2005, 27(1): 107-110.
- [7] 于德泉. 分析化学手册·核磁共振波谱分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 1999.

灰色链霉菌对8个植物C₂₁甾体的生物转化

范黎明^{1,2}, 沈月毛^{1*}

(1. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204;

2. 云南农业大学植物保护学院, 云南 昆明 650201)

摘要:目的 研究灰色链霉菌对8个C₂₁甾体的生物转化作用。方法 通过灰色链霉菌在YS培养基中发酵, 对C₂₁甾体进行转化。结果 告达亨(I)和乙酰告达亨(V)的C-12位 ikematic 酯基发生羟基化, 产生一个相同的新化合物4'-羟基告达亨(Ⅰa)。而两个乙酰化的衍生物包括乙酰告达亨(V)和二乙酰基青阳参苷元(VI)发生去乙酰化。青阳参苷元(Ⅰ)、青阳参苷甲(Ⅱ)、青阳参苷乙(Ⅳ)、去乙酰基萝藦苷元(VI)和3-乙酰基去乙酰基萝藦苷元(VII)没有检测到明显的转化。结论 灰色链霉菌降低了所饲喂C₂₁甾体的亲脂性而不是形成色素或C₂₁甾体皂苷所具有的脱氧糖侧链。

关键词:生物转化; C₂₁甾体; 灰色链霉菌; 羟基化; 4'-羟基告达亨

中图分类号: R284.18

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)12-1790-03

C₂₁甾体皂苷是萝藦科植物的特征性成分, 在青阳参 *Cynanchum otophyllum* Schneid. 中也有大量发现。青阳参是萝藦科鹅绒藤属植物, 广布于我国西南地区, 云南民间用其根做滋补强壮药, 治疗小儿惊风症和风湿关节痛。化学成分研究表明, 其根含有较高量的C₂₁甾体皂苷^[1~3], 其中青阳参苷甲(otophylloside A)和青阳参苷乙(otophylloside B)显示抗癫痫活性, 可以保护小鼠免于听源性痉挛(audiogenic seizures)发作, ED₅₀值为10.20 mg/kg^[3]。

链霉菌属(*Streptomyces*)放线菌同高等植物有密切关系, 也是研究最多的微生物, 其中灰色链霉菌 *Streptomyces griseus* 的许多基因已经被克隆并分析^[4,5], 包括许多次生代谢产物生物合成途径的基因簇。在灰色链霉菌所产生的次生代谢产物中, 色素及其衍生物例如色素A₃^[6,7], 在结构上含有脱氧糖链, 这一点同青阳参中发现的C₂₁甾体皂苷^[3]相类似。这表明, 灰色链霉菌的脱氧糖转移酶可能具有与植物青阳参中相应酶类似的功能。因此, 本实验使用灰色链霉菌对一些来自青阳参的C₂₁甾体及其衍生物进行了生物转化研究, 以探讨灰色链霉菌的脱氧糖转移酶是否能够对植物成分起作用。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料: 旋光用 Jasco DIP-370 数码旋光仪测定, 红外光谱用 Bruker Tensor 27 型红外光谱仪测定, KBr 压片。核磁共振谱用 Bruker AM-400 型核磁共振仪测定, 以 TMS 为内标。质谱用 VG Autospec-3000 型质谱仪测定。薄层色谱硅胶和柱色谱硅胶(200~300目)均为中国青岛海洋化工集团产品。

1.2 底物的准备: 青阳参植物材料粉碎的根以醋酸乙酯提取, 提取物进一步用石油醚提取得到石油醚不溶的粗苷部分。取部分粗苷, 以1%硫酸-甲醇回流水解。反应体系以5%氢氧化钠水溶液中和之后, 减压除去甲醇, 残液以氯仿提取。氯仿液经无水硫酸钠干燥, 浓缩得到的提取物用硅胶柱色谱, 依次用氯仿-甲醇(50:1, 20:1)洗脱, 分别得到化合物告达亨(I)和青阳参苷元(Ⅰ)。另一部分粗苷依次以四氯化碳-醋酸乙酯(95:5, 85:15)提取, 提取物分别以硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇(99:1)洗脱, 得化合物Ⅱ和Ⅳ。

化合物I在10%氢氧化钾-甲醇溶液中回流加热30h, 得去乙酰基萝藦苷元(VI)。

收稿日期: 2008-04-26

基金项目: 云南省自然科学基金项目(30070007)

作者简介: 范黎明(1976-), 男, 河南人, 博士研究生, 主要从事天然产物的分离研究。 E-mail: fanliming1976@gmail.com

* 通讯作者 沈月毛 Tel: (0871)5223111 Fax: (0871)5150227 E-mail: yshen@mail.kib.ac.cn