

- [7] Gonçalves P M L, Roberts S M, Wan P W H. Regioselective acylation of carbohydrate derivatives using lipases leading to a facile two-step procedure for the separation of some α - and β -glucopyranosides and galactopyranosides [J]. *Tetrahedron*, 2004, 60: 927-932.
- [8] Horsley S B, Meinwald J. Glucose-1-benzoate and prunasin from *Prunus serotina* [J]. *Phytochemistry*, 1981, 20: 1127-1128.
- [9] 王玉莉, 杨立, 罗国安, 等. 金银忍冬果实非环烯醚萜苷类化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19: 51-54.
- [10] 南海雨, 张 偲, 吴 军. 许树化学成分的研究 [J]. 中草药, 2005, 36: 492-494.
- [11] Taniguchi S, Imayoshi Y, Kobayashi E, et al. Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica* calli [J]. *Phytochemistry*, 2002, 59: 315-323.
- [12] 余继华, 李干鹏, 赵静峰, 等. 镰叶西番莲的化学成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15: 27-28.
- [13] 李教社, 赵玉英, 王 邠, 等. 密蒙花黄酮类化合物的分离和鉴定 [J]. 药学学报, 1996, 31: 849-854.

山核桃外果皮化学成分的研究

刘元慧¹, 成则丰², 乔文涛³, 袁 珂^{1*}

(1. 浙江林学院天然药物研发中心, 浙江 临安 311300; 2. 浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江 金华 321004; 3. 河南中医学院药学院, 河南 郑州 450008)

摘要:目的 研究山核桃 *Juglans mandshurica* 外果皮的化学成分。方法 采用 Diaion HP-20、Sephadex LH-20、MCI CHP-20 及硅胶等柱色谱法进行分离纯化, 利用理化性质及光谱数据鉴定化合物的结构。结果 分离鉴定了 12 个化合物: 球松素 (I)、槲皮素 (II)、槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷 (III)、大黄酮 (IV)、没食子酸 (V)、对羟基肉桂酸甲酯 (VI)、香草醛 (VII)、咖啡酸 (VIII)、对羟基肉桂酸 (IX)、 β -谷甾醇 (X)、胡萝卜苷 (XI)、5-羟基-1,4-萘醌 (XII)。

结论 化合物 I、IV、VI~IX 为首次从该属植物中分离得到。

关键词: 山核桃外果皮; 对羟基肉桂酸甲酯; 5-羟基-1,4-萘醌

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2009)09-1359-04

Chemical constituents from exocarp of *Juglans mandshurica*

LIU Yuan-hui¹, CHENG Ze-feng², QIAO Wen-tao³, YUAN Ke¹

(1. Research and Development Center of Natural Medicine, Zhejiang Forestry University, Lin'an 311300, China;

2. Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China; 3. College of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from the exocarp of *Juglans mandshurica*.

Methods The compounds were isolated by Diaion HP-20, Sephadex LH-20, MCI CHP-20, and silica gel column chromatography. Their structures were identified by physicochemical properties and spectroscopic analysis. **Results** Twelve compounds were elucidated as pinostrobin (I), quercetin (II), quercetin-3-O- β -D-glucoside (III), chrysophanol (IV), gallic acid (V), 4-hydroxyl-cinnamic acid methyl ester (VI), vanillin (VII), caffeic acid (VIII), 4-hydroxylcinnamic acid (IX), β -sitosterol (X), daucosterol (XI), and 5-hydroxyl-1,4-naphthoquinone (XII). **Conclusion** The compounds I, IV, and VI—IX are isolated from *J. mandshurica* for the first time.

Key words: the exocarp of *Juglans mandshurica* Maxim.; 4-hydroxyl-cinnamic acid methyl ester; 5-hydroxyl-1,4-naphthoquinone

山核桃 *Juglans mandshurica* Maxim. 为胡桃科山核桃属植物, 主产于浙江临安、淳安和安吉等地^[1]。山核桃未成熟时核外部有一层厚厚的绿色果

皮, 随着山核桃逐渐成熟并被采摘剥离后, 该外果皮颜色会渐渐变棕红。剥离后的山核桃外果皮量非常大, 果实与外果皮质量比几乎为 1:1, 因此废弃后

* 收稿日期: 2009-02-18

基金项目: 浙江省森林培育重中之重学科开放基金项目(2000607)

* 通讯作者 袁 珂 Tel: (0571) 63743607 E-mail: yuan_ke001@163.com

造成极大的浪费。山核桃叶、树皮和外果皮均可入药^[2]。山核桃树皮味苦、辛,性寒,可清热、燥湿、清肠、杀虫。近年来它应用于治疗消化系统、肿瘤,尤其对食管癌、胃癌均有显著疗效^[3]。经文献检索,对山核桃树皮及树叶中化学成分的研究已有报道,而关于山核桃外果皮的化学成分的研究尚未见文献报道。为了搞清楚山核桃外果皮中具有药效活性的物质基础,为综合开发利用资源提供科学依据,本实验对山核桃外果皮进行了化学成分的系統研究,从中分离鉴定了12个化合物,分别为球松素(I)、槲皮素(II)、槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷(III)、大黄酚(IV)、没食子酸(V)、对羟基肉桂酸甲酯(VI)、香草醛(VII)、咖啡酸(VIII)、对羟基肉桂酸(IX)、 β -谷甾醇(X)、胡萝卜苷(XI)、5-羟基-1,4-萘醌(XII)。其中化合物I、IV、VI~IX为首次从该属植物中分离得到。

1 仪器与材料

WRS-1B型数字熔点测定仪(上海精密科学仪器有限公司);Bruker Daltonics质谱仪;Bruker DPX-400核磁共振仪(TMS为内标);真空薄膜浓缩装置(自装)^[4];柱色谱填料Diaion HP-20、MCF Gel CHP-20为日本三菱公司产品,Sephadex LH-20凝胶为Pharmacia Biotech产品;柱色谱硅胶(200~300目)和GF₂₅₄系青岛海洋化工厂产品;实验试剂均为分析纯。

山核桃外果皮采自浙江临安,由浙江林学院药用植物学教授楼炳煊鉴定为胡桃科山核桃属植物山核桃 *J. mandshurica* Maxim. 的外果皮。

2 提取与分离

取山核桃外果皮10 kg,室温自然晾干后粉碎成粗粉,用6倍量70% Me₂CO冷浸提取2次。合并提取液,真空薄膜减压浓缩得到总浸膏680 g。将浸膏超声分散于水中,依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取。将所得各萃取部位进行减压浓缩分别得到石油醚部位(56 g)、醋酸乙酯部位(80 g)、正丁醇部位(135 g)和水部位(360 g)。将石油醚部位(56 g)通过硅胶柱色谱,依次以石油醚、石油醚-醋酸乙酯、醋酸乙酯-甲醇溶剂系统进行梯度洗脱,从中分离得到化合物IV(12 mg)、VII(25 mg)、X(560 mg)、XII(120 mg)。取所得醋酸乙酯部位(80 g)分散于水中,通过大孔吸附树脂Diaion HP-20柱,依次用H₂O、10% MeOH、20% MeOH、40% MeOH、60% MeOH、70% Me₂CO洗脱。其中Diaion柱的40% MeOH洗脱部位通过MCF Gel CHP-20柱色谱,以甲醇-水溶剂系统反复分离纯化,从中分离得到化合

物III(18 mg)、V(30 mg)、VI(25 mg)、XI(60 mg)。Diaion柱的60% MeOH洗脱部位通过Sephadex LH-20柱色谱,以甲醇-水溶剂系统及氯仿-甲醇溶剂系统反复洗脱得到化合物I(160 mg)、II(46 mg)、VIII(15 mg)和IX(28 mg)。

3 结构鉴定

化合物I:无色晶体(CHCl₃), mp 96~98 °C。UV₂₅₄下显示紫红色荧光,遇FeCl₃-K₃[Fe(CN)₆]试剂显蓝色,示存在酚羟基。EFMS *m/z*: 270 [M]⁺。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 7.42(1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2', 6'), 7.44(1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-3', 5'), 7.40(1H, dd, *J* = 2.4 Hz, H-4'), 6.08(1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 6.07(1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-6), 5.43(1H, dd, *J* = 12.0, 3.0 Hz, H-2), 3.10(1H, dd, *J* = 16.0, 12.0 Hz, H-3), 2.82(1H, dd, *J* = 16.0, 4.0 Hz, H-3), 3.82(3H, s, 7-OCH₃)。 ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 79.2(C-2), 43.4(C-3), 195.8(C-4), 164.1(C-5), 95.1(C-6), 168.0(C-7), 94.3(C-8), 162.8(C-9), 103.1(C-10), 138.3(C-1'), 126.1(C-2', 6'), 128.9(C-3', 5'), 128.9(C-4'), 55.7(7-OCH₃)。以上光谱数据与文献报道^[5]基本一致,确定该化合物结构为5-羟基-7-甲氧基二氢黄酮,即球松素。

化合物II:黄色粉末, mp 313~315 °C, UV₂₅₄下显示紫红色荧光,遇FeCl₃-K₃[Fe(CN)₆]试剂显蓝色,示存在酚羟基;盐酸-镁粉反应阳性,提示可能为黄酮类。¹H-NMR(400 MHz, MeOD) δ : 7.78(1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-2'), 7.55(1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, H-6'), 6.92(1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.45(1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.19(1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6)。 ¹³C-NMR(100 MHz, MeOD) δ : 146.2(C-2), 138.5(C-3), 176.4(C-4), 154.2(C-5), 99.6(C-6), 164.2(C-7), 94.8(C-8), 160.1(C-9), 103.4(C-10), 121.0(C-1'), 114.2(C-2'), 145.8(C-3'), 146.8(C-4'), 116.4(C-5'), 118.8(C-6')。以上数据与文献中光谱数据^[6]基本一致,且与对照品混合熔点不下降,故鉴定该化合物为3,5,7,3',4'-五羟基黄酮,即槲皮素。

化合物III:黄色粉末, mp 228~230 °C, UV₂₅₄下显示紫红色荧光,遇FeCl₃-K₃[Fe(CN)₆]试剂显蓝色,示存在酚羟基;盐酸-镁粉及Molish反应均显示阳性,提示可能为黄酮苷类。¹H-NMR(400 MHz, MeOD) δ : 6.26(1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-6), 6.48(1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-8), 7.66(1H, dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz,

H-6[↓]), 7.85 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2[↓]), 6.88 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-5[↓]), 3.39 (1H, m), 3.33 (1H, m), 3.30 (1H, m), 3.36 (1H, m), 3.60 (2H, m)。¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) δ : 157.8 (C-2), 134.7 (C-3), 179.6 (C-4), 162.4 (C-5), 99.6 (C-6), 165.2 (C-7), 95.2 (C-8), 160.2 (C-9), 104.8 (C-10), 121.2 (C-1[↓]), 114.2 (C-2[↓]), 145.6 (C-3[↓]), 148.8 (C-4[↓]), 121.4 (C-5[↓]), 120.2 (C-6[↓]), 104.1 (C-1[↑]), 74.8 (C-2[↑]), 76.3 (C-3[↑]), 70.1 (C-4[↑]), 77.6 (C-5[↑]), 61.8 (C-6[↑])。以上波谱数据与文献报道^[7]一致,确定为槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷。

化合物 IV: 橙黄色针晶, mp 194~196 °C, UV₂₅₄ 下显示紫红色荧光, 遇 FeCl₃-K₃[Fe(CN)₆] 试剂显蓝色, 示存在酚羟基。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 在芳氢区给出 5 个芳香质子信号, δ 7.28 (1H, s, H-2), 7.10 (1H, s, H-4), 7.65 (1H, dd, $J = 8.4$, 7.6 Hz, H-6), 7.68 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 7.83 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 在最低场显示两个酚羟基上的质子信号, δ 12.01 (s, 1-OH), 12.12 (s, 8-OH), 2.47 (3H, s, 3-CH₃) 为高场区的甲基质子信号。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 表明化合物中有 15 个碳信号, 其中化学位移分别为 192.6 及 182.0 的两个碳信号, 提示该化合物可能为一蒽醌类成分, δ 162.8 (C-1), 124.6 (C-2), 133.3 (C-3), 124.4 (C-4), 121.4 (C-5), 119.7 (C-6), 136.7 (C-7), 162.5 (C-8), 192.6 (C-9), 182.0 (C-10), 116.0 (C-11), 149.4 (C-12), 113.8 (C-13), 127.4 (C-14), 22.3 (C-15)。以上核磁数据与文献报道^[8]一致, 鉴定该化合物为大黄酚。

化合物 V: 无色针晶, 遇 FeCl₃-K₃[Fe(CN)₆] 试剂显蓝黑色, mp 241~243 °C。¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) δ : 120.2 (C-1), 110.8 (C-2, 6), 146.3 (C-3, 5), 140.8 (C-4), 169.4 (1-COOH)。将该化合物与没食子酸对照品混合熔点不下降, 与没食子酸对照品混合物共 TLC 检视显示一个斑点, 确定该化合物为没食子酸。

化合物 VI: 白色针晶, mp 210~212 °C, ES+MS m/z : 177 [M - H]⁻, 相对分子质量为 178。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 与 ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 数据与文献报道^[9]一致, 鉴定为对羟基肉桂酸甲酯。

化合物 VII: 无色针晶, mp 82~84 °C, UV₂₅₄ 下显荧光, 遇 FeCl₃-K₃[Fe(CN)₆] 试剂显蓝色, 示存在酚羟基。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.04 (1H, d,

$J = 8.0$ Hz, H-5), 7.43 (1H, dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz, H-6) 与 7.42 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-2) 构成一个 ABX 系统, δ 9.83 处的质子信号为 4 位酚羟基上的质子信号。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 129.9 (C-1), 127.6 (C-2), 147.1 (C-3), 151.7 (C-4), 114.4 (C-5), 108.7 (C-6), 190.9 (C-CHO), 56.1 (3-OCH₃)。以上光谱数据与文献报道^[10]一致, 确定该化合物为香草醛。

化合物 VIII: 无色针晶, mp 222~224 °C, UV₂₅₄ 下显荧光, 遇 FeCl₃-K₃[Fe(CN)₆] 试剂显蓝色, 示存在酚羟基。ES+MS m/z : 179 [M - H]⁻, 相对分子质量为 180。¹H-NMR (400 MHz, Me₂CO-*d*₆) 与 ¹³C-NMR (100 MHz, Me₂CO-*d*₆) 数据与文献报道^[11]一致, 且与对照品混合熔点不下降, 确定该化合物为咖啡酸。

化合物 IX: 白色针晶, mp 210~212 °C, ES+MS m/z : 163 [M - H]⁻, 化合物相对分子质量为 164。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 与 ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 数据与文献报道^[12]一致, 鉴定为对羟基肉桂酸。

化合物 X: 白色针晶, mp 138~140 °C, Libermann-Burchard 反应阳性。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 数据与文献报道^[13]对照基本一致, 且在薄层板上与 β -谷甾醇对照品对照 R_f 值相同, 样品与对照品混合熔点不下降, 鉴定该化合物为 β -谷甾醇。

化合物 XI: 白色结晶, mp 284~286 °C, Molish 反应阳性, 与胡萝卜苷对照品共薄层色谱 R_f 值一致, 与对照品混合熔点不下降, 确定该化合物为胡萝卜苷。

化合物 XII: 橙黄色针晶, mp 153~155 °C, ES+MS m/z : 173 [M - H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 数据与文献报道^[14]基本一致, 鉴定为 5-羟基-1,4-萘醌, 即胡桃醌。

参考文献:

- [1] 黄坚钦, 方伟, 丁雨龙, 等. 影响山核桃嫁接成活的因子分析 [J]. 浙江林学院学报, 2002, 19(3): 227-230.
- [2] 姚焕英, 唐静成, 张鞅灵, 等. 核桃属植物化学成分及生物活性研究 [J]. 西北植物学报, 2003, 23(9): 1650-1655.
- [3] 石建辉, 王金辉, 车东, 等. 核桃楸树皮化学成分研究 [J]. 中药研究与信息, 2005, 7(1): 7-8.
- [4] 袁珂, 俞莉. 真空薄膜浓缩装置的研制及应用研究 [J]. 分析化学, 2005, 33(9): 1358.
- [5] 周立东, 郭伽, 余竟光. 北京蜂胶的黄酮类成分 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24(3): 162-164.
- [6] 桑育黎, 郝延军, 杨松松. 独一味的化学成分研究 [J]. 中草药, 2008, 39(11): 1622-1624.
- [7] 方伟, 阮金兰, 王仲, 等. 斜方复叶耳蕨的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(6): 6498-6500.

- [8] 邝嘉乐, 张德志. 紫茉莉根化学成分研究 [J]. 广东药学院学报, 2007, 23(1): 1-2.
- [9] 常忠义, 龚维红. 丽江蚤缀的化学成分 [J]. 广西植物, 2005, 25(3): 278-280.
- [10] 汪毅, 李铤, 孟大利, 等. 蓝刺头化学成分的研究 [J]. 中草药, 2006, 37(2): 189-190.
- [11] 田晶, 肖志艳, 陈雅研, 等. 夏枯草皂苷 A 的结构鉴定 [J]. 药学报, 2000, 35(1): 29-33.
- [12] 张维库, 杨国恩, 李茜, 等. 对叶大戟化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(20): 1694-1696.
- [13] 袁珂, 吕洁丽, 贾安. 含羞草化学成分的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(17): 1293-1295.
- [14] 王金兰, 张淑霞, 李铁军, 等. 山核桃树皮化学成分研究 [J]. 中草药, 2008, 39(4): 490-493.

大鼠灌胃灯盏花素后血浆、胆汁、尿液以及粪便中代谢产物的鉴定

夏宏军¹, 朱珊¹, 梁键谋¹, 陈丽霞¹, 邱欣², 邱峰^{1*}

(1. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 对大鼠灌胃灯盏花素后收集的血浆、胆汁、尿液以及粪便中存在的灯盏乙素的代谢产物进行鉴定。方法 通过使用 HPLC 结合光电二极管阵列检测器(DAD), 采用梯度洗脱的方法, 对比分析给药组大鼠和空白组大鼠的血浆、胆汁、尿液以及粪便样品, 并且在相同的液相色谱条件下与对照品的保留时间和紫外吸收特征进行对照来鉴定主要代谢产物。结果 从大鼠 ig 20、200 mg/kg 灯盏花素的血浆中鉴定了代谢产物野黄芩素-6-O- β -D-葡萄糖醛酸苷(scutellarein-6-O- β -D-glucuronide, M5); 从大鼠 ig 20、200 mg/kg 灯盏花素的胆汁中鉴定了代谢产物野黄芩素-6,7-O- β -D-二葡萄糖醛酸苷(scutellarein-6,7-di-O- β -D-glucuronide, M1)、6-O-甲基-灯盏乙素(6-O-methyl-scutellarin, M3)、野黄芩素-6-O- β -D-葡萄糖醛酸苷(scutellarein-6-O- β -D-glucuronide, M5)和灯盏乙素(黄芩素苷, scutellarin, M7); 从大鼠 ig 20 mg/kg 灯盏花素的尿液中鉴定了代谢产物野黄芩素-6,7-O- β -D-二葡萄糖醛酸苷(scutellarein-6,7-di-O- β -D-glucuronide, M1); 从大鼠 ig 200 mg/kg 灯盏花素的尿液中鉴定了代谢产物野黄芩素-6,7-O- β -D-二葡萄糖醛酸苷(scutellarein-6,7-di-O- β -D-glucuronide, M1)、野黄芩素(scutellarein, M2)和灯盏乙素(scutellarin, M7); 从大鼠 ig 200 mg/kg 灯盏花素的粪便中鉴定了代谢产物野黄芩素(scutellarein, M2)。结论 灯盏乙素在大鼠体内发生了广泛的代谢, 并且主要以其代谢产物的形式存在; 灯盏乙素在大鼠体内产生的代谢产物主要通过尿液和胆汁排泄。

关键词:灯盏花素; 灯盏乙素; 代谢产物

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)09-1362-05

Identification of metabolites in plasma, bile, urine, and faeces samples of rats after ig administered with breviscapine

XIA Hong-jun¹, ZHU Shan¹, LIANG Jian-mou¹, CHEN Li-xia¹, DI Xin², QIU Feng¹

(1. School of Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: **Objective** To identify the metabolites of scutellarin in plasma, bile, urine, and faeces samples of rats after ig administered with breviscapine. **Methods** To compare the plasma, bile, urine, and feces samples of rats after ig administered with breviscapine with those of rats of control groups by HPLC-DAD in a gradient elution way and identify the major metabolites by comparing their retention time and UV absorption with those of standard samples under the same HPLC conditions. **Results** Scutellarein-6-O- β -D-glucuronide (M5) was identified in rat plasma samples after ig administered with 20 mg/kg and 200 mg/kg breviscapine respectively; Scutellarein-6,7-di-O- β -D-glucuronide (M1), 6-O-methyl-scutellarin (M3), scutellarein-6-O- β -D-glucuronide (M5), and scutellarin (M7) were identified in rat bile samples after ig administered with both 20 and 200 mg/kg breviscapine; Scutellarein-6,7-di-O- β -D-glucuronide (M1) was identified in rat urine sample after ig administered with 20 mg/kg breviscapine, and scutellarein-

* 收稿日期: 2009-02-16

基金项目: 教育部博士点基金(200801630004)

作者简介: 夏宏军(1980—), 新疆乌苏人, 博士研究生, 主要从事中药有效成分的体内代谢研究。E-mail: xiahongjun1980@163.com

* 通讯作者: 邱峰 E-mail: fengqiu2000@tom.com