

交让木果实的化学成分研究

向轶波^{1,2}, 何红平², 孔宁川², 郝小江², 刘祥义¹

(1. 西南林学院资源学院, 云南 昆明 650224;

2. 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物可持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204)

摘要: 目的 研究交让木果实的化学成分。方法 采用硅胶, RP-18, Sephadex LH-20柱层析对交让木果实的乙醇提取物进行分离纯化, 根据化学方法和波谱数据(ESMS, 1D-NMR, 2D-NMR)对分离所得化合物进行结构鉴定。结果 共分得了5个化合物分别为 Paxdaphnine B(), Paxdaphnine A(), Daphgracine(), Daphgraciline(), Yuzurine()。结论 化合物-均为虎皮楠生物碱, 并且化合物-为首次从该种植物中分得。

关键词: 交让木果实; 化学成分; 虎皮楠生物碱

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0805(2008)02-0451-02

Studies on the Chemical Constituents of *Daphniphyllum Macropodum*

XIANG Yi-bo^{1,2}, HE Hong-ping², KONG Ning-chuan², HAO Xiao-jiang², LIU Xiang-yi¹

(1. College of Resource, Southwest Forestry College, Yunnan Kunming 650224, China; 2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Yunnan Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Science, Kunming 650204, China)

Abstract: Objective To study the chemical constituents of the fruit of *Daphniphyllum Macropodum*. **Methods** The crude extract was extracted with 90% EOH, isolated and purified on repeatedly chromatograph over silica gel, RP - 18, Sephadex LH - 20 column. Their chemical structures were elucidated by chemical methods and spectral data (ESMS, 1D - NMR, 2D - NMR).

Results Five compounds are isolated from the fruit of *Daphniphyllum Macropodum* Miq., and were identified as Paxdaphnine B(), Paxdaphnine A(), Daphgracine(), Daphgraciline() respectively. **Conclusion** The five compounds were *Daphniphyllum* alkaloids, and compound and are found from *Daphniphyllum macropodum* Miq. for the first time.

Key words: The fruit of *Daphniphyllum Macropodum* Miq.; Chemical constituents; *Daphniphyllum* alkaloids

交让木 *Daphniphyllum Macropodum* Miq. 为虎皮楠科 (*Daphniphyllaceae*) 虎皮楠属 (*Daphniphyllum*) 植物, 又名画眉珠、虎皮楠、山黄树(湖北)、豆腐头(广东)、狗色子、狗血子、水红朴(四川)。交让木为常绿乔木, 以果实、叶和根在民间多作药用。生于海拔600~1900 m的阴湿山坡、溪谷及阔叶林中, 分布于长江流域以南云南、四川、贵州、广西、广东、湖南、湖北、江西、浙江、安徽及中国台湾等省区。具有治疗疮疖肿毒, 哮喘、咳嗽、风湿、炎症、感冒发热、肝脾肿大、骨折、毒蛇咬伤之功效; 叶煎水喷洒, 可杀灭蚜虫^[1,2]。

虎皮楠属植物特别代谢产生一类具有复杂的多环结构的生物碱, 被称为虎皮楠生物碱 (*Daphniphyllum* alkaloids)。从生物遗传学和全合成的角度来看, 虎皮楠生物碱具有很大的研究价值^[3,4]。根据最近关于交让木中虎皮楠生物碱的报道, 5个结构新颖的虎皮楠生物碱被郭跃伟等从交让木的茎叶中分离得到^[5,6]。本文报道了首次从交让木果实中分得5个虎皮楠生物碱, 分别为 Paxdaphnine B(), Paxdaphnine A(), Daphgracine(), Daphgraciline(), Yuzurine()。

1 材料与仪器

1.1 药材 样品于2005-11采于江西庐山, 由中国科学院昆明植物研究所龚洵研究员鉴定为 *Daphniphyllum Macropodum* Miq. 的果实。

1.2 仪器 BUCHI IR-3000型旋转蒸发仪; 比旋度用 J-20C旋光仪器测定; 红外光谱采用 KB片以 IR-450型红外光谱仪器测定; 核磁共振谱用 DRX500型核磁共振仪测定, TMS为内标; 质谱 EI-MS用 Finnigan-4510型质谱仪测定。

收稿日期: 2007-05-08; 修订日期: 2007-09-10

作者简介: 向轶波(1983-), 男(汉族), 重庆人, 现为西南林学院资源学院在读硕士研究生, 学士学位, 主要从事药用植物化学成分研究工作。

1.3 试剂与材料 柱层析用硅胶(100~200目, 200~300目, 300~400目)或硅胶H(10~40μm)及薄层层析板均为青岛海洋化工厂生产。RP-18, Sephadex LH-20为 Pharmacia公司产品。薄层层析通过碘化铋钾显色剂显色。层析用溶剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 提取与分离 交让木果实(20 kg), 粉碎后经90%的乙醇回流提取3次, 过滤, 回收乙醇, 将浓缩的提取物悬浮于4 L水中, 用饱和酒石酸调pH值至3, 用石油醚脱脂3次, 再用氯仿萃取一次得非碱部分。将水层用氨水(NH₃H₂O)调pH值至9, 用氯仿萃取5次, 回收氯仿得总碱(47 g)。该部分经多次硅胶柱层析, Sephadex LH-20凝胶层析, RP-18反相柱层析后, 分离得到化合物(22 mg), (6 mg), (7 mg), (8 mg), (15 mg)。

2.2 结构鉴定

2.2.1 化合物 无色针晶(丙酮)。[α]_D²³ +33.33 (c 0.00, CH₃OH); positive ESMS: m/z 346 [M + H]⁺; IR (KBr)_{max} cm⁻¹: 3385 (moderate), 2933, 2873, 1730, 1444, 1367, 1189, 1162, 1041, 864; HRESIM/m/z 346 2378 [M + H]⁺, calcd for C₂₁H₃₂NO₃ 346 2382; 由分子式可推测化合物占有7个不饱和度; ¹H NMR, ¹³C NMR和HMBC(CDCl₃)数据见表1。化合物与文献报道 Paxdaphnine B^[7]波谱数据一致, 故鉴定化合物为 Paxdaphnine B, 结构式为:

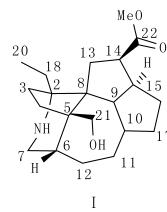
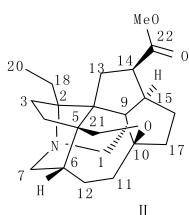


表 1 化合物 的¹H NMR (400MHz), ¹³C NMR (100MHz)和 HMBC (500 MHz) 光谱数据 (CDCl₃)

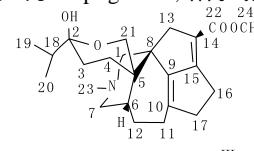
NO.	C	H	HMBC (H C)	NO.	C	H	HMBC (H C)
2	69.6 s	-	-	13	35.2 t	1.98 (dd, 15.6, 9.2) 2.65 (d, 15.6)	14, 5, 8, 2, 9, 22 14, 5, 8, 2, 9, 22
3	29.1 t	1.75 (m) 1.62 (m)	5, 8, 2 18, 4, 6, 5, 2	14	43.1 d	2.98 (dt, 24, 9.2)	15, 9, 22
4	33.3 t	1.59 (m) 1.50 (m)	3, 6, 5, 2, 21 3, 6, 5, 8, 2, 21	15	57.0 d	3.43 (m)	16, 14, 10, 9, 22,
5	50.9 s	-	-	16	29.4 t	1.20 (m) 1.88 (m)	17, 14, 15 17, 14, 15, 9, 10
6	43.1 d	1.74 (m, overlap)	11, 12, 7, 5, 8	17	43.0 t	2.36 (m) 2.68 (m)	16, 15, 10, 9 15, 10, 9
7	44.8 t	3.19 (dd, 15.2, 5.6) 2.88 (d, 15.2)	12, 6 12, 6, 5, 2	18	28.2 t	1.55 (m) 1.03 (m)	20, 3, 820, 3, 2, 8
8	58.6 s	-	-	20	9.2 q	0.90 (t, 7.2)	18, 2
9	144.6 s	-	-	21	68.7 t	3.98 (d, 12.4) 3.87 (d, 12.4)	4, 6, 5, 84, 6, 5, 8
10	136.7 s	-	-	22	177.5 s	-	-
11	26.2 t	2.38 (m) 2.13 (br d, 15.6)	12, 10, 9, 17 12, 17, 10, 9	23	51.5 q	3.67 (s)	22
12	26.9 t	1.48 (m) 2.46 (m)	11, 10 11, 7				

2.2.2 化合物 无色胶状物。positive ESMS: m/z 358 [M + H]⁺;从¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT和 ESMS推测分子式为 C₂₂H₃₁NO₃;由分子式可推测化合物 占有 7个不饱和度。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) d (in ppm): 3.82 (1H, d, 14.4, H - 1a), 3.95 (1H, d, 14.4, H - 1b), 2.56 (1H, m, H - 3a), 2.03 (1H, m, H - 3b), 1.69 (1H, m, H - 4a), 1.75 (1H, m, H - 4b), 2.19 (1H, m, H - 6), 3.18 (1H, d, 14.4, H - 7a), 3.98 (1H, m, H - 7b), 2.11 (1H, m, H - 11a), 1.92 (1H, m, H - 11b), 1.49 (1H, m, H - 12a), 2.31 (1H, m, H - 12b), 1.63 (1H, m, H - 13a), 2.45 (1H, m, H - 13b), 3.26 (1H, m, H - 14), 2.75 (1H, dd, 8.8, 17.5, H - 15), 1.55 (1H, m, H - 16a), 1.72 (1H, m, H - 16b), 1.48 (1H, m, H - 17a), 1.77 (1H, m, H - 17b), 1.95 (1H, m, H - 18a), 1.62 (1H, m, H - 18b), 1.38 (3H, t, 6.0, H - 20), 4.03 (1H, d, 8.4, H - 21a), 4.23 (1H, d, 8.4, H - 21b), 3.68 (3H, s, OMe); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) d (in ppm): 66.0 (t, C - 1), 81.8 (s, C - 2), 30.4 (t, C - 3), 35.9 (t, C - 4), 49.3 (s, C - 5), 39.6 (d, C - 6), 55.1 (t, C - 7), 61.4 (s, C - 8), 64.9 (s, C - 9), 85.3 (s, C - 10), 31.4 (t, C - 11), 28.2 (t, C - 12), 28.5 (t, C - 13), 46.8 (d, C - 14), 55.1 (d, C - 15), 26.7 (t, C - 16), 41.8 (t, C - 17), 26.9 (t, C - 18), 9.9 (q, C - 20), 68.4 (t, C - 21), 172.6 (s, C - 22), 51.7 (q, OMe)。化合物与文献报道 Paxdaphnina A^[17]波谱数据一致,故鉴定化合物为 Paxdaphnina A,结构式为:

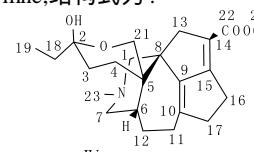


2.2.3 化合物 无色固体。positive ESMS: m/z 402 [M + H]⁺;从¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT和 ESMS推测分子式为 C₂₄H₃₅NO₄;由分子式可推测化合物 占有 8个不饱和度。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) d (in ppm): 0.85 (3H, d, 6), 0.93 (3H, d, 6), 2.12 (3H, s NMe), 3.70 (3H, s, OMe); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) d (in ppm): 16.2 (q), 16.8 (q), 21.4 (t), 25.8 (t), 27.7 (t), 27.8 (t), 29.6 (t), 32.8 (d), 35.9 (s), 38.9 (d), 42.0 (t), 43.0 (t), 46.0 (q), 46.3 (s), 50.8 (q), 55.9 (t), 61.7 (t), 62.8 (t), 97.7 (s), 115.8 (s), 149.7 (s), 153.9 (s), 167.0 (s)。

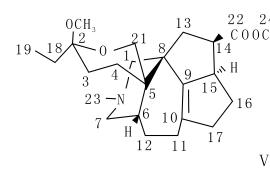
(s), 169.1 (s)。化合物 与文献报道 Daphgracine^[8]波谱数据一致,故鉴定化合物 为 Daphgracine,结构式为:



2.2.4 化合物 无色固体。positive ESMS: m/z 388 [M + H]⁺;从¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT和 ESMS推测分子式为 C₂₃H₃₃NO₄;由分子式可推测化合物 占有 8个不饱和度。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) d (in ppm): 0.81 (3H, t, 7.5), 2.02 (3H, s, NMe), 3.58 (3H, s, OMe); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) d (in ppm): 7.4 (q), 21.5 (t), 25.8 (t), 27.4 (t), 27.8 (t), 29.7 (t), 32.8 (d), 35.7 (t), 35.9 (s), 42.0 (t), 43.0 (t), 46.0 (q), 46.4 (s), 50.8 (q), 55.9 (t), 61.7 (t), 62.8 (t), 96.2 (s), 115.7 (s), 149.7 (s), 153.9 (s), 167.0 (s), 169.1 (s)。化合物 与文献报道 Daphgraciline^[8]波谱数据一致,故鉴定化合物 为 Daphgraciline,结构式为:



2.2.5 化合物 无色固体。positive ESMS: m/z 404 [M + H]⁺;从¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT和 ESMS推测分子式为 C₂₄H₃₇NO₄;由分子式可推测化合物 占有 7个不饱和度。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) d (in ppm): 0.85 (3H, t, 7.2), 2.14 (3H, s, NMe), 3.16 (3H, s, OMe), 3.64 (3H, s, OMe); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) d (in ppm): 7.7 (q), 22.3 (t), 27.2 (t), 27.4 (t), 27.6 (t), 27.9 (t), 28.7 (t), 32.8 (d), 36.3 (d), 39.7 (t), 42.4 (t), 42.5 (d), 46.5 (s), 46.7 (q), 47.1 (q), 51.0 (q), 54.7 (d), 56.2 (t), 61.7 (t), 62.8 (t), 98.9 (s), 133.1 (s), 146.0 (s), 175.3 (s)。化合物 与文献报道 Yuzurine^[9]波谱数据一致,并与 Yuzurine的薄层具有相同的 Rf值,故鉴定化合物 为 Yuzurine,结构式为:



3 讨论

交让木果实乙醇提取物氯仿萃取总碱部分经硅胶柱层析, RP-18反相柱层析, Sephadex LH-20层析, 分离得到5个单体化合物, 通过理化性质, 波谱解析, 文献检索等方法确定了化合物均为虎皮楠生物碱, 分别为: Paxdaphnine B(), Paxdaphnine A(), Daphgracine(), Daphgraciline(), Yuzurine()。其中化合物 和化合物 为首次从该种植物中分得。本研究为进一步开发利用虎皮楠属植物提供了理论依据。

参考文献:

- [1] Editorial Committee of the Administration Bureau of Traditional Chinese Medicine in Chinese Material (Zhong Hua Ben Cao) Vol 4, Shanghai Science & Technology Press, Shanghai, 1998, 865.
- [2] Editorial Office of National Chinese Herbal Medicine Collection Collection of National Chinese Herbal Medicine (zhong guo cao yao hui bian) Beijing: People's Medical Publishing House, 1996.
- [3] Kobayashi, J., Morita, H. in The Alkaloids Cordell, G. A., ED.; Academic Press: New York, 2003, 60, 165.
- [4] Yamamura, S. The alkaloids: Brossi, A., ED.; Academic Press New York, 1986, 29, 265.
- [5] Li, ZY; Chen, P; Xu, HG; Yang, YM; Guo, YW etc, Macropodumines D and E, Two New Alkaloids with Unusual Skeletons from Daphniphyllum macropodium Miq, Organic Letter, 2007, 9, 477.
- [6] Zhang, W., Guo, Y. W., Kohn, K., Macropodumines A-C: Novel Pentacyclic Alkaloids with an Unusual Skeleton or Zwitterion Moiety from Daphniphyllum macropodium Miq, Chemistry, 2006, 12, 5122.
- [7] Fan, C. Q., Yin, S., Xue, J. J., Yue, J. M., Tetrahedron, Novel Alkaloids, Paxdaphnines A and B with Unprecedented Skeletons from The Seeds of Daphniphyllum paxianum, 2007, 63, 115.
- [8] Yamamura, S., Lamberton, J. A., Niwa, M., Endo, K., Hirata, Y., Three New Daphniphyllum Alkaloids With An - Unsaturated Ester Group From Daphniphyllum gracile Gage, Chem. Lett 1980, 393.
- [9] Yamamura, S., Lamberton, J. A., Irikawa, H., Okumura, Y., Toda, M., Hirata, Y. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1977, 50, 1836.

高效液相色谱法测定骨康口服液中补骨脂素和异补骨脂素的含量

钟镜金, 黄晓其, 龙彦纲, 曾惠芳, 苏子仁

(广州中医药大学, 广东 广州 510405)

摘要:目的 建立骨康口服液中有效成分的含量测定方法。方法 采用HPLC法测定骨康口服液中有效成分含量。结果 补骨脂素和异补骨脂素两种成分均达到良好分离, 在测定范围内线性良好, 回收率均在99%~101%之间。结论 所建立的定量方法简便可行、重复性好, 可作为骨康口服液的质量监控。

关键词:骨康口服液; 补骨脂素; 异补骨脂素; 高效液相色谱法

中图分类号:R284.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1008-0805(2008)02-0453-02

Determination of Psoralen and Isopsonal in Gukang Oral Liquid by HPLC

ZHONG Jing-jin, HUANG Xiao-qi, LONG Yan-gang, ZENG Hui-fang, SU Zi-ren

(Guangzhou University of Chinese Medicine and Materia Medica, Guangzhou 510405, China)

Abstract: Objective To establish a method of HPLC for determining psoralen and isopsonal in Gukang Oral Liquid. **Methods** The effective components in Gukang Oral Liquid were determined by HPLC. **Results** The resolution and the linearity were fine with the rate of recovery of psoralen 99.96%, RSD = 1.16%; the recovery rate of isopsonal was 100.09%, RSD = 0.60%. **Conclusion** The quantitative method for determining the ingredients of Gukang Oral Liquid is simple, feasible and repeatable, and can be used for quality control of Gukang Oral Liquid.

Key words: Gukang Oral Liquid; Psoralen; Isopsonal; HPLC

骨康口服液由补骨脂、淫羊藿、肉苁蓉、白芍、黄芪等10味药材组成, 具有补肾壮骨, 活血通络, 健脾益气的功效, 临幊上主要用于治疗妇女更年期引起的骨质疏松症。骨康口服液复方共煎, 有利于补骨脂素与异补骨脂素的煎出^[1,2], 故采用水提醇沉工艺制备^[3]。鉴于补骨脂素、异补骨脂素可相互转化^[4,2], 原标准采用TLCS法测定补骨脂素、异补骨脂素两者的总量^[5]。但TLCS法变异大, 故选用HPLC法同时测定骨康口服液中补骨脂素与异补骨脂素的含量。现将研究结果报道如下:

1 仪器与试药

D NEX SUMM II高效液相色谱仪(PDA-100检测器、STH585柱温箱、P680 HPLC泵、ASI-100自动进样器), Chromelion色谱工作站; 补骨脂素(供含量测定用, 110739-200309)、异

补骨脂素(供含量测定用, 110738-200410), 均由中国药品生物制品检定所提供; 骨康口服液(批号: 20061009, 20061012, 20061015), 由广州中医药大学新药开发研究中心提供; 乙腈为色谱纯(Merck, 1192230)其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Phenomenex luna C₁₈柱(250 mm × 4.60 mm, 5 μm);流动相:以乙腈为流动相A, 以0.1%冰醋酸为流动相B, 按表1中的规定进行梯度洗脱; 检测波长: 246 nm; 流速: 1.0 ml·min⁻¹; 柱温: 25 ; 进样量: 10 μL理论塔板数均不低于3 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素、异补骨脂素对照品适量, 分别置25 mL量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摆匀, 以此作为对照品贮备液。精密吸取上述各对照品贮备液适量, 加甲醇制成每毫升含补骨脂素35 μg, 异补骨脂素44 μg的混合溶液, 摆匀即得。

收稿日期: 2007-02-05; 修订日期: 2007-07-19

作者简介: 钟镜金(1948-), 男(汉族), 广东四会人, 现任广州中医药大学中药学院副教授, 主要从事中药分析研究工作。