

山茱萸中的单没食子酰景天庚酮糖苷

张永文*, 陈玉武, 赵世萍

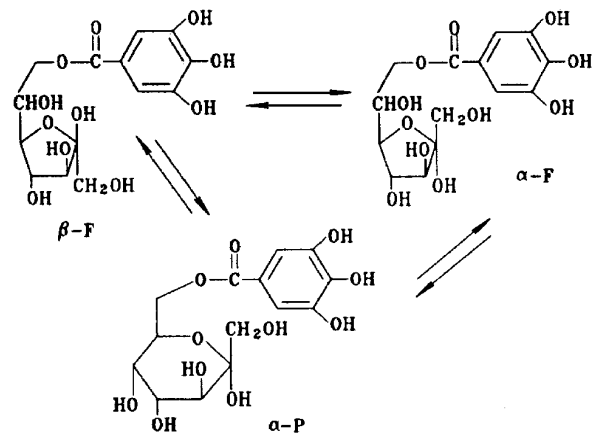
(中日友好临床医学研究所, 北京 100029)

山茱萸为山茱萸科植物(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.)的干燥成熟果肉,为常用中药,有补肝肾、涩精气、强壮、收敛等功效^[1]。山茱萸总苷有明显的免疫抑制活性^[2,3],能抑制小鼠淋巴细胞转化,抑制 LAK 细胞生成和白细胞介素-2 的产生。山茱萸的化学成分报道主要有环烯醚萜苷和多酚类成分^[4,5]。Lee SH 等从山茱萸的叶中得到双没食子酰景天庚酮糖苷^[6]。我们从山茱萸的提取物中分得一多酚苷化合物(I),其结构经光谱及化学方法鉴定为 7-O-没食子酰-D-景天庚酮糖。

I 为白色无定形粉末, m_p 192 ~ 194 °C, $[\alpha]_D^{20} +16.2^\circ$, 与三氯化铁试剂反应显蓝色, Molish 反应阳性。I 的酸水解产物经薄层色谱和气相色谱分析表明含有没食子酸及 β -D-景天庚酮糖。FAB-MS 证明 I 的分子量为 362, HRFAB-MS 证明其分子式为 $C_{14}H_{18}O_{11}$, 表明其分子中除含有 1 分子没食子酰基外, 仅含有 1 分子的景天庚酮糖。七碳酮糖在水性溶液中以 α , β -呋喃糖和 α , β -吡喃糖 4 种构象形式按一定的比例平衡存在, 景天庚酮糖以 β -呋喃糖为主要的存在形式^[7]; 曾报道^[8] D-阿卓七碳酮糖在重水中其 β -呋喃、 α -吡喃、 α -呋喃和 β -吡喃 4 种存在形式的比例为 64:17:13:6。

I 的 ^{13}C NMR 谱数据表明其含有一个没食子酰基的信号(表 1), 还显示了 21 个糖碳信号, 但其强弱有明显差别。其中, 最强的一组 7 个糖碳信号 δ 103.16(C), 82.30(CH), 77.40(CH), 76.70(CH), 70.97(CH), 66.14(CH₂) 和 63.89(CH₂), 显示其为一占主要存在形式的糖碳信号。以 I 的 1H NMR 谱中易指认的糖 C-1 上的质子信号 δ 3.50(s) 为起点, 根据对其 C-HCOSY 和 H-HCOSY 谱的分析结果, 这 7 个糖碳信号分别被指定为糖基的 C-2, C-5, C-3, C-4, C-6, C-7 和 C-1 的信号, 其化学位移值及 DEPT 实验结果与文献报道的 β -D-阿卓呋喃七碳

酮糖信号一致^[8]。在这些信号中, C-7 的化学位移向低场位移了 3 ppm, 而 C-6 信号则移向高场, 表明了糖的 C-7 位上的羟基与没食子酸缩合成酯苷键。另外, 14 个强度较弱的糖碳信号分别与 α -D-阿卓呋喃七碳酮糖和 β -D-阿卓吡喃七碳酮糖信号一致(表 1), 根据糖取代化学位移规律, 表明没食子酰基均连在 C-7 上, 在 $Me_2CO-d_6-D_2O(1:1)$ 水性溶液中, 糖主要以 β -呋喃形式存在。I 的 1H NMR 谱中显示的主要信号为 β -呋喃式的七碳酮糖的质子信号, 比较光谱中糖的各种构象式质子的化学位移, 吡喃式 C-1, C-3 和 C-4 质子比呋喃式略移向高场, C-5 和 C-6 质子则略移向低场, C-7 质子向高场位移比较明显, 由呋喃式的 δ 4.28 ~ 4.34 移至 δ 3.60, 显示吡喃环对该质子较强的屏蔽作用。根据 ^{13}C NMR 谱中各存在形式 C-1 的峰高度计算, β -呋喃、 α -呋喃和 α -吡喃 3 种形式的比例为 57:24:19。因此, I 的结构应为 7-O-没食子酰-D-景天庚酮糖。



实验部分

熔点用 Boetius PHMK 05 显微熔点仪测定, 温度未校正。旋光用 Perkin Elmer 241 型旋光仪测定; 紫外光谱用 Hitachi 220A 型紫外光谱仪测定; 红外光谱用 Shimadzu 460 型红外分光光度计(KBr 压片); FAB-MS 用 ZHP-5 A 型质谱仪测定; HRFAB-

Tab 1 ¹³CNMR chemical shifts of compound I in acetone d₆ - D₂O

Carbon	I	D-altrorheptulose ⁽⁸⁾
Galloyl		
1	121.04	
2,6	109.77	
3,5	145.75	
4	138.86	
7	167.45	
D-heptulosyl ⁺		
β-F		
1	63.89(2) ^{**}	63.5
2	103.16(0)	102.4
3	77.40(1)	76.7
4	76.70(1)	76.2
5	82.30(1)	81.1
6	70.97(1)	73.5
7	66.14(2)	63.1
α-F		
1	64.03(2)	63.7
2	105.93(0)	105.4
3	83.31(1)	82.6
4	77.50(1)	77.3
5	82.63(1)	82.5
6	72.41(1)	72.4
7	66.23(2)	63.1
α-P		
1	65.16(2)	64.3
2	98.41(0)	98.3
3	69.01(1)	69.2
4	70.18(1)	71.8
5	64.56(1)	65.0
6	67.90(1)	69.6
7	65.28(2)	62.1

^{*} β-P form was not detected in NMR spectra; ^{**} Data in brackets are proton numbers linked to carbon atoms.

CHCl₃ - MeOH(8: 2) ~ (6: 4) 依次洗脱, 从(7: 3) 洗脱部分得化合物 I 粗品, 经中压柱色谱纯化, MeOH - H₂O(3: 7) 洗脱, UV λ 275 nm 检测, 得到 I 纯品 300 mg。

2 鉴定

化合物 I 白色无定形粉末, mp 192 ~ 194 °C, [α]_D +16.2° (c 0.4, MeOH)。UV λ_{max}^{MeOH} nm: 218 (4.71), 275 (4.33); IR (KBr) cm⁻¹: 3345 (OH), 1689 (C = O), 1612, 1534 (芳环), 1446, 1346, 1232, 1033, 764。HRFAB-MS (M⁺ - H): 361.0787, 计算值: C₁₄H₁₈O₁₁ (M⁺ - H): 361.0771。FAB-MS (m/z): 362 (M⁺)。¹H NMR 谱 δ: 7.10 (s, galloyl-H), 4.35 (t, 6.8 Hz, β-F-4-H), 4.34 (m, α-F-7-H), 4.28 (m, β-F-7-H), 4.24 (m, α-F-4-H), 4.21 (m, α-P-6-H), 4.08 (d, 6.8 Hz, β-F-3-H), 4.07 (m, α-P-4-H), 4.06 (m, β-F-6-H, α-F-6-H), 3.94 (d, 3.8 Hz, α-P-3-H), 3.91 (t, 3.6 Hz, α-P-5-H), 3.86 (t, 5.9 Hz, β-F-5-H), 3.60 (s, α-F-1-H), 3.60 (m, α-P-7-H), 3.50 (s, β-F-1-H), 3.38 (s, α-P-1-H)。¹³C NMR 谱数据见表 1。

I 的酸水解: I 2 mg 溶于 10% TFA 0.5 ml 中, 密封, 在 100 °C 水浴上加热 4 h, 溶液经 EtOAc 提取得苷元, polyamide 6D 薄膜 TLC, MeOH - H₂O(7: 3) 展开, FeCl₃ 试剂显色, Rf 值与 gallic acid 标准品一致; 母液抽干后残留物经硅胶 TLC 鉴定, EtOAc - MeOH - HCOOH - H₂O(12: 3: 3: 2) 展开, 邻苯二甲酸 - 苯胺溶液显色, Rf 值与 sedoheptulose 标准品 (Sigma 试剂) 一致。另经 TMSIM 试剂硅烷化后进行 GC 鉴定, 主峰 t_R 为 26.28 min, 硅烷化的 sedoheptulose 标准品 t_R 为 26.43 min, 二者混合进样呈现单一峰。

致谢 生药样品由中国医学科学院药用植物资源开发研究所冯毓秀教授鉴定。NMR 由中国医学科学院药物研究所分析室测定。FAB-MS 由中国科学院化学研究所分析室测定。HRFAB-MS 由日本国北里研究所山田阳城博士惠助测定。

关键词 山茱萸; 山茱萸科; 7-O-没食子酰-D-景天庚酮糖; D-景天庚酮糖

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院编. 中药大词典, 上册. 上海: 上海人民出版社, 1977. 189
- 2 赵武述, 张玉琴, 李洁, 等. 山茱萸的免疫药理研究 II, 总苷部分抑制免疫反应的体外效应. 中日友好医院学报, 1991, 5: 71

MS 用 JMS AX-505 HA 型质谱仪测定; NMR 用 Bruker AM-500 型核磁共振谱仪测定, TMS 为内标, Me₂CO-d₆ - D₂O(1: 1) 为溶剂。中压柱色谱用 Merck Li-Chroprep RP-8 反相柱, HPTLC 硅胶预制板为 E. Merck 产品, H-103 型大孔吸附树脂为天津南开大学化工厂产品, 色谱用聚酰胺薄膜为浙江黄岩四青生化材料厂生产。GC 用 Hitachi 663-50 型气相色谱仪, OV-17 填充柱(3 mm × 1 m), 载气为 N₂, FID 检测器, 硅烷化试剂为 TMSIM, 温度程序为初温 150 °C, 每分钟升温 2 °C 至终温 200 °C。

1 提取分离

山茱萸果肉 1 kg, 加 H₂O 煎提 2 次, 提取液经 H-103 型大孔吸附树脂柱吸附, H₂O 洗后用 95% EtOH 洗脱得总苷 82 g。总苷经硅胶柱色谱,

- 3 赵武述, 李洁, 张玉琴, 等. 山茱萸总苷抑制免疫的体内效应及对移植心肌存活的延长. 中华微生物和免疫学杂志, 1995, **15**: 325
- 4 赵世萍, 薛智. 山茱萸化学成分的研究. 药学报, 1992, **27**: 845
- 5 陈玉武, 薛智. 制萸肉免疫活性成分的化学研究. 中日友好医院学报, 1992, **6**(增刊): 231
- 6 Lee SH, Tanaka T, Nonaka G, *et al.* Sedoheptulose digallate from *Cornus officinalis*. *Phytochemistry*, 1989, **28**: 3469
- 7 Okuda T, Saito S, Hayashi M, *et al.* Equilibrium states of 3-ketoses and sedoheptulose — the factor favoring α -furanose formation of coriose. *Chem Pharm Bull*, 1976, **24**: 3226
- 8 Angyal SJ and Tran TQ. Equilibria between pyranose and furanose V. The composition in solution and the ^{13}C NMR spectra of the heptoses and the heptuloses. *Austr J Chem*, 1983, **36**: 937

A SEDOHEPTULOSE GALLATE FROM THE FRUITS OF *CORNUS OFFICINALIS*

Zhang Yongwen (Zhang YW), Chen Yuwu (Chen YW) and Zhao Shiping (Zhao SP)

(China-Japan Friendship Institute of Clinical Medical Sciences, Beijing 100029)

ABSTRACT **AIM:** To investigate the chemical constituents of the plant drug *Cornus officinalis* Sieb et Zucc. which is widely used in Chinese traditional medicine, having actions of invigorating the liver and kidney, strengthening the body, and of an astringent, etc. **METHODS:** A sedoheptulose gallate was isolated from the water extracts of fruits of *C. officinalis* using various chromatographies. The structure determination was based on spectral (UV, IR, ^1H & ^{13}C NMR and MS) and chemical evidence. **RESULTS:** Its structure was characterized to be 7-*O*-galloyl-*D*-sedoheptulose (I). The proportion of its three major conformation forms of β -F, α -F and α -P in aqueous solution was estimated to be 57: 24: 19 according to their C-1 peak heights in the ^{13}C NMR spectrum. **CONCLUSION:** I was found in natural world for the first time and its β -*D*-heptufuranosyl form was the predominant existing tautomer in its equilibrated aqueous solution according to NMR determination.

KEY WORDS *Cornus officinalis* Sieb et Zucc.; cornaceae; 7-*O*-galloyl-*D*-sedoheptulose; *D*-sedoheptulose