

杉木枝叶的化学成分

张 曼^{1,2}, 刘 娟², 刘 品¹, 刘进鹏^{1,3}, 辛海量⁴, 张 磊⁵, 王玉亮¹, 唐克轩¹

(1. 上海交通大学 农业与生物学院, 上海 200240 ;

2. 佳木斯大学 药学院, 黑龙江 佳木斯 154007; 3. 成都中医药大学 药学院, 成都 611137;

4. 第二军医大学 中医系, 上海 200433; 5. 第二军医大学 药学院, 上海 200433;)

摘 要: 利用硅胶柱、ODS、MCI、Sephadex LH-20 柱色谱法、TLC 薄层色谱手段, 对杉木 (*Cunninghamia lanceolata*) 枝叶的化学成分进行分离, 共得到 6 个化合物。采用核磁共振、质谱等分析方法, 对化合物的结构进行了鉴定, 分别为金松双黄酮(1)、穗花杉双黄酮(2)、2-(1,3-苯并二噁茂-5-基)-丙烷-1,3-二醇(3)、对羟基苯甲酸(4)、正二十九烷-15-醇(n-nonacosane-15-ol)(5)、 β -谷甾醇(6)。其中, 化合物(3)为首次从杉木中分到。

关键词: 杉木; 化学成分; 双黄酮; 核磁共振技术

中图分类号: S 791.27

文献标识码: A

Study on Chemical Constituents of the Branches and Leaves of *Cunninghamia lanceolata*

ZHANG Man^{1,2}, LIU Juan², LIU Pin¹, LIU Jin-peng^{1,3},

XIN Hai-liang⁴, ZHANG Lei⁵, WANG Yu-liang¹, TANG Ke-xuan¹

(1. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China;

2. College of Pharmacy, Jiamusi University, Heilongjiang Jiamusi 154007, China;

3. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

4. Department of Traditional Chinese Medicine, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China;

5. School of Pharmacy, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract: Based on silica gel, ODS, MCI gel, Sephadex LH-20 column chromatography and TLC techniques, six compounds were isolated from the branches and leaves of *Cunninghamia lanceolata*. The structures of compounds were identified as sciadopitysin (1), amentoflavone (2), 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl) propane-1, 3-diol (3), p-hydroxybenzoic acid (4), noacosyl alcohol-15 (5), β -sitosterol (6). The compound (3) was isolated from *Cunninghamia lanceolata* for the first time.

Key words: *Cunninghamia lanceolata*; chemical constituents; biflavone; nuclear magnetic resonance technique

杉木 (*Cunninghamia lanceolata*), 为杉科杉属植物, 也称沙木、沙树、正杉、正木、木头树、刺杉、杉,

主要分布在长江流域、秦岭以南地区, 为我国南方重要经济树种, 具有栽培广泛、生长快、材质好、用途

收稿日期: 2011-03-10

基金项目:

作者简介: 张 曼(1984-), 女, 硕士生, 研究方向: 植物活性成分, E-mail: qianxiangxiang20@163.com;

王玉亮(1978-)为本文通讯作者, 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 药用植物代谢产物活性, E-mail: wangyuliang@sjtu.edu.cn

广、产量高等特点。杉木枝叶为其树叶和嫩枝,在《名医别录》、《日华子本草》、《本草纲目》中有记载,谓“辛、(微)温、无毒”,功用避秽、止痛、散湿毒、下逆气,治疗心腹胀痛、风毒奔豚、霍乱上气^[1]。

目前,对杉木的研究主要集中在生物学、生理、生态学、材性加工等方面,对其化学成分方面的研究报道也局限于小极性部分,如杉木精油、石油醚溶解部分等。邓京振^[2]等从杉木的根皮中分离得到3个二萜类成分,分别为12,13E-biformen(1),12,13E-ozic acid(2),12,13E-methylozate(3)。刘超祥^[3]对杉木的研究中,共得到6个化合物,为二十八烷醇、邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二异丁酯、 β -谷甾醇、 β -胡萝卜素、山奈酚。高雪芹^[4]的研究表明,杉木叶醇提取物中,石油醚溶解组分化合物的主要类型为饱和脂肪酸酯(33.834%)和烃类化合物(22.031%),其中,含量较高的为十八酸-1,3-甘油二酯(16.929%)、二十七烷(15.178%)。孙凌峰^[5]通过GC、IR、NMR、GC-MS等方法,对杉木根精油的化学成分进行了定性定量分析,表明,其主要成分为柏木醇(39.48%)。

为了合理开发杉木的药用价值,本文对杉木枝叶进行了较系统的化学成分研究,采用薄层色谱、柱色谱分离手段,结合质谱、¹H-NMR、¹³C-NMR等波谱数据,共分离并鉴定出6种化合物,分别为金松双黄酮(1)、穗花杉双黄酮(2)、2-(1,3-苯并二噁茂-5-基)-丙烷-1,3-二醇(3)、对羟基苯甲酸(4)、正二十九烷-15-醇(n-pentacosane-15-ol)(5)、 β -谷甾醇(6)。其中,化合物(3)为首次从杉木中分到。并对其主要的活性成分黄酮类化合物进行了定量,应用比色法测定了总黄酮的含量。

1 材料与方法

1.1 材料试剂

样品于2007年8月采于浙江省和湖南等地,由第二军医大学药学院张汉明教授鉴定为杉科杉属植物杉木(*Cunninghamia lanceolata*)的枝叶。石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇购自国药集团上海化学试剂有限公司,均为分析纯。薄层色谱硅胶(烟台江友硅胶开发有限公司)。MCI GEL CHP 20 P(75~150 μ m)(Misubishi Chemical Corporation)。葡聚糖凝胶LH-20(GE Healthcare Bio-Sciences AB)。

1.2 仪器设备

UV-1601紫外/可见分光光度计(北京北分瑞

利分析仪器有限公司);旋转蒸发仪(上海鲁伊工贸有限公司);MP10001型电子天平(上海衡平科学仪器有限公司);DZF系列真空干燥箱(上海化连医疗器械有限公司)。BSZ-100自动部分收集器(上海青浦沪西仪器厂);DL-180A、DL-720B台式超声波清洗器(上海之信仪器有限公司);Finnigan-MAT LCQ电喷雾质谱仪;BRUKER DRX-400核磁共振波谱仪(TMS为内标)。

1.3 提取分离

杉木枝叶10 kg,以75%乙醇渗漉提取,合并提取液。提取液浓缩后,分别以石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取。应用硅胶、反相硅胶、凝胶LH-20填料分离获得6个化合物,分离路线如下:

1.4 总黄酮含量测定

对照品液的制备:精密称取穗花杉双黄酮对照品2.8 mg,置于25 mL容量瓶中,甲醇溶解定容,浓度为0.112 mg/mL。

供试品溶液制备:将收集的各地杉木样品粉碎,过20目筛。精密称取样品粉末0.5 g,加入甲醇40 mL,加热回流45 min,提取2次,过滤,提取液浓缩,放冷,甲醇定容至50 mL,摇匀。

检测波长的选择:精密量取对照品和供试品溶液各0.5 mL,分别置于10 mL容量瓶中。分别加甲醇至5 mL,各加5% NaNO₂溶液0.4 mL,摇匀放置6 min。加10% Al(NO₃)₃溶液0.4 mL,摇匀放置6 min。再加入4% NaOH溶液4 mL,摇匀,甲醇定容。放置15 min,供试品溶液有絮状沉淀,4 000 r/min,离心3 min,取上清液置比色皿中,在190~800 nm波长范围内测定吸收光谱。对照品穗花杉双黄酮和供试品在NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH系统显色后,在400 nm左右有一个较大吸收,故选择400 nm为测定波长。

2 结果

2.1 分离得到的单体化合物的鉴定结果

化合物(1): C₃₃H₂₄O₁₀,黄色无定形粉末(CH₃OH),M=580。紫外254 nm显色,碘熏显淡黄色,10% H₂SO₄/C₂H₅OH显黄色,mp:285~287 °C。¹H-NMR(400 MHz,DMSO) δ :6.37(1H,d,J=2.5 Hz)、6.80(1H,d,J=2.5 Hz)为5,7-二取代黄酮A环质子特征峰;8.80(1H,s)、7.38(1H,d,J=8.7 Hz)、8.24(1H,dd,J=9.1 Hz,2.5 Hz)为黄酮B环3',4'-二取代特征峰;3.76(3H)、3.8

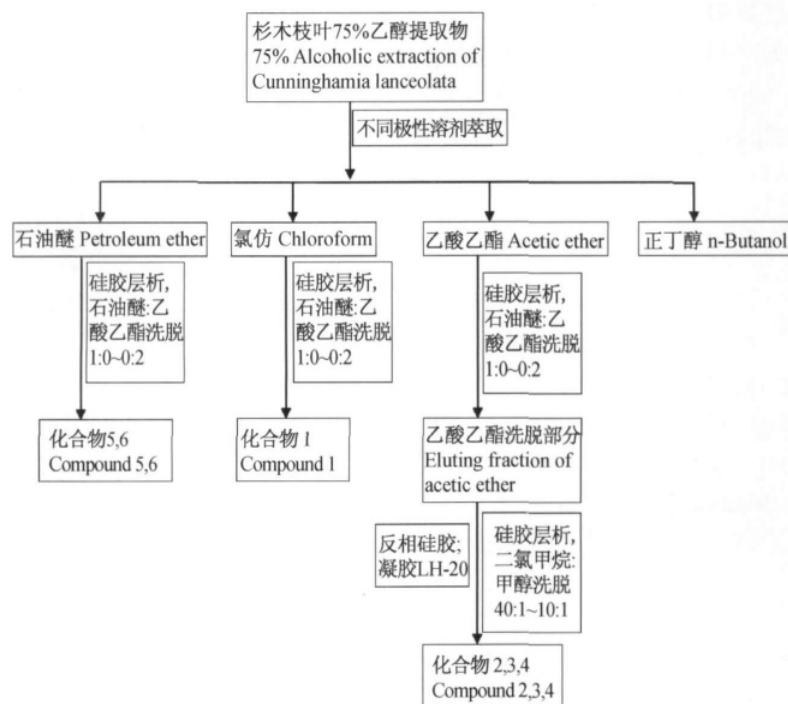


图 1 化合物分离流程图

Fig. 1 Isolation Process of compounds

(3H)、3.84 (3H) 为三个甲氧基。¹³C-NMR (100 MHz, DMSO) δ: 181.930, 182.033 为 2 个羰基特征峰; 160.587, 165.153, 160.641 为黄酮母环上甲氧基取代的碳; 55.461, 55.895, 56.013 为 3 个甲氧基碳的特征峰。碳谱见表 1。以上波谱数据与文献^[6]报道基本一致, 故确定化合物 (1) 为金松双黄酮 (sciadopitysin) (见图 2)。

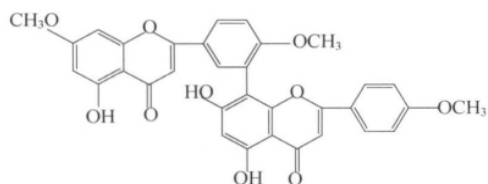


图 2 化合物 (1) 结构式

Fig. 2 Structure of compound (1)

化合物 (2): C₃₀H₁₈O₁₀, 黄色无定形粉末 (CH₃OH), M=538。紫外 254 nm 显色, 碘熏显淡黄色, 10% H₂SO₄/C₂H₅OH 显黄色, mp: 298 ~ 300°C。ESI-MS m/z: 537 [M-H]⁻, 539 [M+H]⁺。¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ: 6.26 (1H, d, J=1.73 Hz), 6.40 (1H, s) 为黄酮 A 环 H-6, H-8; 7.49 (2H, d, J=8.6 Hz), 6.75 (2H, d, J=8.6 Hz) 为黄酮 B 环 4' 氧取代特征峰; 7.92 (1H, s), 7.16 (1H, d, J=8.7 Hz), 7.88 (1H, dd, J=9.1 Hz, 2.5

Hz) 为黄酮 B 环 3', 4' 双取代特征峰。¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) δ: 183.341, 182.918 为 2 个羰基特征峰; 99.495 为 C-6。碳谱见表 1。以上波谱数据与文献^[7]报道基本一致, 故确定化合物 (2) 为穗花杉双黄酮 (amentoflavone) (见图 3)。

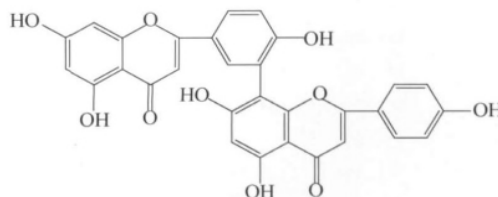


图 3 化合物 (2) 结构式

Fig. 3 Structure of compound (2)

化合物 (3): C₁₀H₁₂O₄, 黄色油状 (CHCl₃), M=196。紫外 254 nm 显色, 碘熏显淡黄色, 10% H₂SO₄/C₂H₅OH 显蓝色, bp: 387.4°C。ESI-MS m/z: 219 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.7 (1H, d, J=7.9), 6.70 (1H, dd, J=7.9 Hz, 1.5 Hz), 6.76 (1H, d, J=1.04), 可知为苯环为 1, 3, 4 三取代, 6.70 为 H-6; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 102.320 为 1 个碳连有 2 个氧的结构; 65.223 在 DEPT 谱显示为倒峰, 可知为饱和连氧碳峰, 所以可确定为 -CH₂OH 结构; 136.217, 109.340, 149.308, 147.910, 109.699, 122.695 可知含有苯环结构。碳

谱见表 1。以上波谱数据与文献^[8]报道基本一致,故确定化合物(3)为 2-(1,3-苯并二噁茂-5-基)-丙烷-1,3-二醇 [2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)propane-1,3-diol](图 4)。

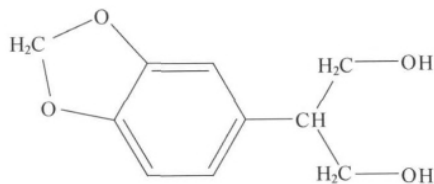


图 4 化合物(3)结构式

Fig. 4 Structure of compound (3)

表 1 化合物(1)~(4)的¹³C-NMR 波谱数据

Tab. 1 ¹³C-NMR data of compound (1)~(4)

碳序号 Position of C	化合物(1) Compound (1)	化合物(2) Compound (2)	化合物(3) Compound (3)	化合物(4) Compound (4)
1			136.217	123.015
2	162.189	162.129	109.340	133.923
3	103.190	103.031	149.308	116.326
4	182.033	183.341	147.910	163.654
5	161.080	161.201	109.699	116.326
6	98.095	99.495	122.695	133.923
7	163.577	161.400	51.941	170.360
8	103.565	104.99	65.223	
9	154.317	155.480	65.223	
10	103.633	104.82	102.320	
1'	122.769	122.634		
2',6'	127.745	128.487		
3',5'	114.508	116.207		
4'	160.587	159.591		
2''	163.044	164.549		
3''	103.826	103.695		
4''	181.930	182.918		
5''	161.797	161.913		
6''	98.094	99.613		
7''	165.153	165.159		
8''	92.697	94.689		
9''	157.315	159.591		
10''	104.739	104.303		
1'''	122.364	122.454		
2'''	130.838	131.894		
3'''	121.621	120.416		
4'''	160.641	158.388		
5'''	111.726	116.779		
6'''	128.308	128.224		
7''-OCH ₃	56.013			
4''-OCH ₃	55.894			
4'''-OCH ₃	55.460			

化合物(4): C₇H₆O₃, 白色针状结晶(CH₃OH), M=138。紫外 254 nm 显色, 碘熏显黄色, 10% H₂SO₄/C₂H₅OH 显黑色, mp: 215~216℃。ESI-MS m/z: 177[M+K]⁺, 437[3M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, MeOD)δ: 低场区出现 7.8(2 H, d, J=7.87), 6.8(2 H, d, J=7.87), 示为 1,4 取代苯环上的 2 组质子信号。¹³C-NMR(100 MHz, MeOD)δ: 170.360 为羧基碳; 163.654 为羟基取代碳。碳谱见表 1。以上波谱数据与文献^[9]报道的对羟基苯甲酸基本一致, 故确定化合物(4)为对羟基苯甲酸(p-hydroxybenzoic acid)。(图 5)

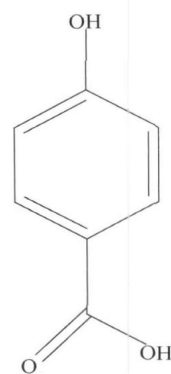


图 5 化合物(4)结构式

Fig. 5 Structure of compound (4)

化合物(5): C₂₉H₆₀O, 无色结晶(CHCl₃), M=424。10% H₂SO₄/C₂H₅OH 显黑色。ESI-MS m/z: [M/2-H]⁻。并显现一系列相差 CH₂ 的碎片特征峰, 显示长链脂肪醇特征。经质谱库检索及与文献对照及参考文献^[10], 确定为正二十九烷-15-醇(n-pentacosane-15-ol)。

化合物(6): 白色片状晶体, 易溶于乙酸乙酯, mp: 133~136℃。10% H₂SO₄/C₂H₅OH 显紫红色, 经与 β-谷甾醇标准品 TLC 比对, 石油醚: 丙酮: 二氯甲烷: 甲醇: 石油醚: 乙酸乙酯 3 种展开系统展开, R_f 值一致, 故鉴定为 β-谷甾醇(β-sitosterol)。

2.2 含量测定结果

收集的浙江衢州、浙江龙泉、浙江磐安、浙江临安、浙江金华、湖南龙山县、湖南张家界等 8 份药材, 经提取显色后测量吸光度, 并按照标准曲线外标法计算含量。结果见表 2。

3 结论与讨论

本研究从杉木枝叶中共分离获得 6 个化学成

分,并首次获得 2-(1,3-苯并二噁茂-5-基)-丙烷-1,3-二醇,为今后杉木的化学成分、资源开发奠定了较好的基础。杉木叶中双黄酮含量较高,据现有研究表明,双黄酮类化合物主要有抗肿瘤、抑制血栓形成、抗病毒、抗炎、抗氧化等药理功效^[11-12],这与杉木临床报告可用于治疗慢性支气管炎^[13]有关,因此测定了总黄酮的含量,作为监测杉木枝叶质量的标准。

通过对各地杉木样品总黄酮含量的测定发现,各地间差距不大,表明双黄酮在杉木中的积累与地域无关。

表 2 样品含量测定结果($n=3$)

Tab. 2 Results of content determination of samples($n=3$)

序号 Serial number	样品产地 Place of production	总黄酮含量 Content of total flavonoids
1	浙江衢州	0.922 5
2	浙江龙泉	1.030 8
3	浙江临安	1.128 2
4	浙江磐安	0.688 7
5	浙江金华(百草园)	1.056 6
6	浙江金华(双龙洞)	0.857 3
7	湖南张家界	0.776 3
8	湖南龙山县	0.916 5

参考文献:

- [1] 南京新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986,1037.
- [2] 邓京振,柳茵,赵守训. 杉木根皮中的二萜类成分研究[J]. 中草药,1997,28(5):267-268.
- [3] 刘超祥,高雪芹,蒋继宏. 杉木根皮的化学成分研究[J]. 林产业化学与工业,2009,29(1):100-102.
- [4] 高雪芹,蒋继宏,龚艳. 杉木叶醇提取物中石油醚溶解组分的化学成分分析[J]. 武汉植物学研究,2006,24(1):90-92.
- [5] 孙凌峰,陈新,刘秀娟. 杉木根精油化学成分研究[J]. 江西师范大学学报(自然科学版),2000,24(1):45-49.
- [6] 游松,姚新生. 银杏叶中金松双黄酮的核磁共振谱分析[J]. 沈阳药学院学报,1991,8(2):124-128.
- [7] 张玉梅,谭宁华,黄火强. 墨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.
- [8] Comte G, Allais D P, Chulia A J, et al. Three phenylpropanoids from *Juniperus phoenicea* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44:1169-1173.
- [9] 李军,姜勇,屠鹏飞. 密花远志的化学成分研究(II)[J]. 中国中药杂志,2006,31(1):45-47.
- [10] 华会明,李锐,邢素娥,等. 柳穿鱼化学成分的研究[J]. 中国药学杂志,2005,40(9):653-656.
- [11] 徐智,束俭辉. 双黄酮类化合物研究进展[J]. 中国现代医学杂志,2004,14(7):88-91.
- [12] 徐智,贾束洁,谭桂山. 垫状卷柏中双黄酮药理活性的研究[J]. 中国现代医学杂志,2004,14(14):88-100.
- [13] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006:1530.
- [1] 南京新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术