

中药酸枣仁的化学成分研究

曹 琴,王凯伟 (武警 8690部队医院,江苏 宜兴 214206)

摘要 目的:研究酸枣仁的化学成分。方法:采用乙醇提取,硅胶、Sephadex LH-20柱色谱等方法分离纯化,根据理化性质和波谱方法鉴定化合物的结构。结果:从酸枣仁中分离得到 7个化合物,分别鉴定为 豆甾-4-烯-3-酮(),苯丙氨酸(),甘油(),异当药黄素(),正二十六酸(),槲皮素(),齐墩果酸()。结论:化合物 ~ 为首次从该植物中分离得到。

关键词 酸枣仁;化学成分

中图分类号:R284 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2009)03-0209-03

Studies on the chemical constituents of the Seeds of *Zizyphus jujuba* Mill

CAO Qin, WANG Kaiwei(Jiangsu No. 8690 Hospital of People's Armed Police, Yixing 214206, China)

ABSTRACT Objective: To study the chemical constituents of the seeds of *Zizyphus jujuba* Mill. **Methods:** Multi-chromatographic methods including silica gel column chromatography and Sephadex LH-20 gel permeation were employed for the isolation and purification. The structures were identified on the basis of chemical reaction and spectral analysis. **Results:** Seven compounds were isolated and identified as stigmast-4-en-3-one, phenylalanine, glycerol, isoswertis, hexacosanoic acid, quercetin and nolic acid. **Conclusion:** Compound 5, 6 and 7 were isolated from the seeds of *Zizyphus jujuba* Mill for the first time.

KEY WORDS *Zizyphus jujuba* Mill; chemical constituents

酸枣仁为鼠李科枣属植物酸枣 (*Zizyphus jujuba* var. *spinosa*) 的干燥成熟种仁。据文献报道,酸枣仁具有补肝、宁心、安神等作用,主要用于治疗虚烦不眠、体虚多汗和津伤口渴等症^[1]。化学研究表明,酸枣仁含有黄酮苷、三萜、皂苷,生物碱以及有机酸等多种成分^[2-4],为更深入探讨酸枣仁的活性物质,为其药理作用机制作好基础工作,我们对酸枣仁的化学成分进行了系统的分离工作。笔者报道从酸枣仁中分离得到的 7 个化合物。经波谱鉴定为豆甾-4-烯-3-酮(1)、苯丙氨酸(2)、甘油(3)、异当药黄素(4)、正二十六烷酸(5)、槲皮素(6)、齐墩果酸(7)。结论:化合物 5, 6, 7 为从该植物中首次分离得到。

1 材料与方 法

Yanato MP-21 型熔点测定仪(温度计未校正,天津分析仪器厂); Varian NOVA-400 型、Bruker AVANCE-600 型核磁共振仪; MAT-212 型质谱仪; Quattro 质谱仪(Micromass 公司); HSGF₂₅₄ 高效薄层色谱板(烟台市芝罘黄务硅胶开发试验厂); RP C₁₈ 高效薄层色谱板(Merck 公司); 柱色谱硅胶(200~300 目, 300~400 目, 烟台市芝罘黄务硅胶开发试

验厂); 葡聚糖凝胶 Sephadex L H-20 (Pharmacia 公司); VSP3050 中压泵(EYELA 公司); LiChroprep Si60 (40~63 μm) Lobar 柱(Merck 公司); Waters 1525 泵 PDA 2996 检测器(Waters 公司); Symmetry Prep C₁₈, 7.8 mm ×300 mm (Waters 公司); 石油醚、乙酸乙酯、丙酮、二氯甲烷、甲醇均为分析纯(上海化学试剂公司); 液相甲醇为色谱纯(Merck 公司)。

药材于 2007 年 11 月份采集于河北省内丘县由中国药科大学秦民坚教授鉴定为酸枣 *Zizyphus jujuba* Mill. Var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow 的种仁。

2 提取与分离

取酸枣仁药材 12 kg, 用 75% 的乙醇冷浸 3 次, 每次 7 d, 合并提取液并减压回收乙醇, 得提取物浓缩液。于浓缩液中加水至 5 000 mL, 分别用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 得到石油醚部位 130 g, 乙酸乙酯部位 60 g 和正丁醇部位 30 g。

取石油醚部位 100 g 拌等同量的硅胶进行硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱), 得到 5 个流分。流分 2~4 分别经硅胶柱进一步分离(石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱), Sephadex LH-20 凝胶柱纯化(氯仿: 甲醇 = 1: 1 洗脱), 分别得到化合物 1 (20

mg), 2 (18 mg)。乙酸乙酯部分拌同等重量硅胶,经硅胶柱层析(氯仿-甲醇梯度洗脱), Sephadex LH-20 柱色谱分离(氯仿:甲醇=1:1洗脱),分别得到化合物 3 (20 mg)、4 (19 mg)、5 (25 mg)、6 (30 mg)、7 (50 mg)。

3 结构鉴定

化合物 3, 豆甾-4烯-3酮 (stigmast-4-en-3-one), 无色针晶(甲醇), $C_{29}H_{48}O$, mp 94 ~ 97 °C, ESI-MS ($-$) m/z : 411 $[M-H]^-$; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) H: 0.72 (1H, d, H-4), 0.72 (3H, s, H-18), 1.17 (3H, s, H-19), 0.95 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-21), 0.86 (3H, d, $J=5.0$ Hz, H-26), 0.83 (3H, d, $J=5.0$ Hz, H-27), 0.85 (3H, d, $J=7.2$ Hz, H-29); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) C: 35.5 (C-1), 34.1 (C-2), 198.9 (C-3), 123.5 (C-4), 171.1 (C-5), 32.8 (C-6), 32.0 (C-7), 35.6 (C-8), 53.8 (C-9), 38.7 (C-10), 21.3 (C-11), 39.9 (C-12), 42.2 (C-13), 56.3 (C-14), 24.0 (C-15), 28.4 (C-16), 56.5 (C-17), 11.8 (C-18), 17.3 (C-19), 36.3 (C-20), 18.9 (C-21), 34.1 (C-22), 26.6 (C-23), 46.2 (C-24), 29.3 (C-25), 19.7 (C-26), 19.2 (C-27), 23.2 (C-28), 11.8 (C-29)。以上数据与文献^[5]报道一致,故化合物 3 被鉴定为豆甾-4烯-3酮 (stigmast-4-en-3-one)。

化合物 4, 苯丙氨酸 (phenylalanine), 白色粉末, 1H NMR 可以看出 5 个苯环上的 H 信号 7.29 ~ 7.45 和一组脂肪氢信号: 3.98 (1H, t, $J=5.8$ Hz, 7-H), 3.18 (2H, m, 6-H), ^{13}C NMR 数据 171.8, 53.9, 34.2, 133.0, 127.2, 126.9, 125.4。其光谱数据与苯丙氨酸^[6]数据一致。故化合物 4 鉴定为苯丙氨酸 (phenylalanine)。

化合物 5, 甘油 (glycerol), 无色油状物, $C_3H_8O_3$, ESI-MS ($+$) m/z 93 $[M+H]^+$, 1H NMR ($DMSO-d_6$, 600 MHz) H: 3.33 (4H, m, H-1, 3), 3.46 (1H, m, H-2); ^{13}C NMR ($DMSO-d_6$, 150 MHz) C: 63.7 (C-1, 3), 72.9 (C-2)。以上数据与文献报道^[7]一致,故化合物 5 被鉴定为甘油 (glycerol)。

化合物 6, 异当药黄素 (isoswertisin), 淡黄色粉末(甲醇), $C_{22}H_{22}O_{10}$, ESI-MS ($+$) m/z 445 $[M+H]^+$, mp 282 ~ 283 °C, 三氯化铁-铁氰化钾反应显黄色。 1H NMR ($DMSO-d_6$, 600 MHz) H: 3.88 (3H, s, OCH_3), 4.71 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-glc1 β), 6.51 (1H, s, H-6), 6.85 (1H, s, H-3), 6.96 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3', 5'), 8.05 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2', 6'), 10.4 (OH, s, 4'-OH), 13.36 (3H, s, 5-

OH)。 ^{13}C NMR ($DMSO-d_6$, 150 MHz) C: 164.3 (C-2), 102.4 (C-3), 182.2 (C-4), 161.4 (C-5), 95.1 (C-6), 163.2 (C-7), 104.5 (C-8), 155.2 (C-9), 105.6 (C-10), 121.4 (C-1'), 129.1 (C-2', 6'), 115.9 (C-3', 5'), 161.4 (C-4'), 56.4 (OCH_3), 73.3 (C-1 β), 70.7 (C-2 β), 78.4 (C-3 β), 70.7 (C-4 β), 81.8 (C-5 β), 61.4 (C-6 β)。以上数据与文献报道^[8]一致,故化合物 6 被鉴定为异当药黄素 (isoswertisin)。

化合物 7, 正二十六烷酸 (hexacosanoic acid), 白色粉末(氯仿), mp: 82 ~ 84 °C。ESI-MS 给出分子离子峰 m/z 396 $[M]^+$ 。IR 谱显示羟基吸收峰 3425 cm^{-1} , 羰基吸收峰 1710 cm^{-1} , 烷烃吸收峰 2850 ~ 2960 cm^{-1} 。 1H NMR ($CDCl_3$, 600 Hz) H: 0.86 (3H, t, $J=9.8$ Hz, CH_3), 1.22 ~ 1.43 (44H, m, $CH_2 \times 22$), 1.45 ~ 1.65 (2H, m), 2.37 (2H, t, $J=12.5$ Hz)。推测为正二十六烷酸,与文献^[9]质谱数据对照两者一致。

化合物 8, 槲皮素 (quercetin), 黄色粉末(甲醇), mp > 300 °C, 盐酸-镁粉反应显红色, ESI-MS m/z (%): 302 (100), 301 (23.9), 274 (8), 257 (3.1), 153 (8.3), 137 (11), 128 (6)。 1H NMR ($DMSO-d_6$, 600 MHz) H: 6.1 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.3 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.9 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-5'), 7.4 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 7.5 (1H, dd, $J=2.0, 8.3$ Hz, H-6')。 ^{13}C NMR ($DMSO-d_6$, 150 MHz): 94.0 (C-8), 98.4 (C-6), 104.6 (C-3), 103.3 (C-10), 113.1 (C-2'), 115.1 (C-5'), 118.7 (C-6'), 121.2 (C-1'), 145.5 (C-3'), 149.5 (C-4'), 157.1 (C-5), 161.2 (C-9), 163.7 (C-2), 164.3 (C-7), 181.4 (C-4)。 ^{13}C NMR 谱中可见所有碳信号均分布于芳香区,其中含有一个不饱和羰基信号, 5 个次甲基信号和 9 个季碳信号, 推测可能是黄酮类化合物。上述数据与文献^[10]有关槲皮素的数据一致,故化合物 8 被鉴定为槲皮素。

化合物 9, 齐墩果酸 (oleanolic acid), 白色结晶性粉末(甲醇), mp: 265 ~ 268 °C, Libermann-Burchard 反应阳性。ESI-MS m/z : 479 $[M+Na]^+$, 分子质量为 456。IR (KBr) cm^{-1} : 3431 (OH), 2943, 2864 (CH), 1697 (C=O), 1458, 1386, 1045, 997。 1H -NMR ($CDCl_3$) : 5.41 (1H, br s, H-12), 3.148 (1H, m, H-3), 0.86, 0.92, 0.96, 1.02, 1.06, 1.22, 1.28 (3H $\times 7$, s, CH_3)。 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$) : 38.9 (C-1), 27.9 (C-2), 78.4 (C-3), 39.2 (C-4), 55.5 (C-5), 18.6 (C-6), 33.4 (C-7) (下转第 213 页)

项目不仅可以充分利用军事医学相关基础研究成果,使药品的研发更具有针对性,同时还可以使药物治疗与其他军事医学防治手段相得益彰,提高未来高技术战争卫勤保障中的整体医疗救护能力。

4.2 科研管理紧密结合勤务需求 军队所研发的药品大多使用频率较低,在对其进行技、战术指标选择及评价方面,很难找到权威的标准,研究结果应用到人体存在着不确定性,其军事价值也很难在研发早期甚至中期得到明朗化,整个军队药品的研发存在着较高的风险。同时,新军事变革对军事医学正在产生深刻的影响,其影响力不仅来自军事需求变化的牵引,更来自军事理论创新的引导。当前军事医学在战伤救治、战场特殊环境疾病治疗、战斗应激反应控制、军事作业医学等研究领域都有了新的突破^[5],随着军事医学研究的内涵不断延伸,对于所使用的治疗药物在技、战术指标方面提出了更高的勤务要求。美军在药品研发全程设立多个项目节点,在每个研究项目节点都需根据勤务要对所研发的药品在技、战术指标及未来药品的训练、组织供应及使用方面进行综合评估,根据评估结果对于一些高效、经济、符合战争环境使用的品种研发给予进一步的经费支持,同时停止部分无法获得预期结果的研究。通过紧密结合勤务需求标准的层层管理及筛选,规避或降低军队研发药品的风险,使获得经费资助的研究成果在投入使用后获得最佳的军事效益。

4.3 咨询与沟通贯穿研发全过程 由于 FDA 是美军研发药品的最终审评机构,因此,美军研发的

药品必须满足 FDA 所提出的相关技术要求。美军研发的药品大多是在战场或军事特殊环境下使用的品种,在人体试验阶段很难满足 FDA 对于一般的药品所提出的研发要求,来证明其研发药品的安全性和有效性,例如,在核、化、生武器损伤防治药品研发方面,可以用于药物人体试验的病例十分罕见。通过美国国防部与 FDA 的多次协商与合作,设立了“早期咨询会”^[6],即由 FDA 注册管理的官员和专家与军队药品研发机构的科研人员定期举行会议,就药品研发的非临床及临床试验设计方面协调一致,并提出明确的标准和要求,这不仅可以协助药品的研发工作,同时还可以提高药品注册审批的速度与质量,使疗效确切的药品尽快投入使用,填补部分军事医学的空白。

参考文献:

- [1] 储文功,蒯丽萍,刘照元. 美国军队特需药品的供应管理与研究简介 [J]. 解放军卫勤杂志, 2004, 6(1): 56.
- [2] COL David Danley. CHEMICAL BIOLOGICAL MEDICAL SYSTEMS, 2003.
- [3] <http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/053102a.html>.
- [4] Rick Prouty. Chemical and Biological Defense Program, Medical Requirements Review for the Armed Forces Epidemiological Board, 2002.
- [5] 吴乐山. 现代军事医学战略研究 [M]. 军事医学科学出版社, 2004, 107.
- [6] 张晓东,蒯丽萍,陈盛新. 核化生武器损伤防治药品研发使用需求与政策研究 [J]. 解放军药学报, 2009, 25(1).

收稿日期: 2009-05-22

(上接第 210页)

7), 39.8 (C-8), 48.2 (C-9), 37.2 (C-10), 23.4 (C-11), 122.3 (C-12), 144.6 (C-13), 42.3 (C-14), 28.3 (C-15), 23.5 (C-16), 46.8 (C-17), 42.1 (C-18), 46.2 (C-19), 30.6 (C-20), 34.5 (C-21), 33.4 (C-22), 28.6 (C-23), 16.6 (C-24), 15.4 (C-25), 17.2 (C-26), 25.9 (C-27), 180.2 (28-COOH), 33.6 (C-29), 23.3 (C-30)。以上数据与文献报道^[11,12]一致,故化合物 7 被鉴定为齐墩果酸 (oleanolic acid)。

化合物 ~ 为首次从酸枣仁中分离得到。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典 [S]. 2000 版第一部分. 北京: 化学工业出版社, 2000. 300.
- [2] 曾路, 张如意, 王序. 酸枣仁化学成分研究 [J]. 药学报, 1987, 22(2): 114.
- [3] 刘沁虹, 王郁, 梁鸿, 等. 酸枣仁皂苷 D 的分离及结构鉴

定 [J]. 药学报, 2004, 39(8): 601.

- [4] 白焱晶, 程功, 陶晶, 等. 酸枣仁皂苷 E 的结构鉴定 [J]. 药学报, 2003, 38(12): 934.
- [5] Della GM, Monaco P, Previtera L, et al. Stignasterols from *Typhalatiolia* [J]. J Nat Prod, 1990, 53(6): 1430.
- [6] 于德泉. 分析化学手册第五分册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1989, 833.
- [7] Special Database for Organic Compounds (SDBS), http://fiodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi.
- [8] Moreira DD, Guimaraes EF, Kaplan MA. A C-glucosylflavone from leaves of *Piper lhotzkyanum* [J]. Phytochemistry, 2000, 55(7): 783.
- [9] 柴兴云, 奚静, 贺清辉, 等. 山银花中酚酸类成分研究 [J]. 中国天然药物, 2004, 2(6): 339.
- [10] 易进海, 钟焜昌, 肖俾殷, 等. 独一味素 C 的结构 [J]. 药学报, 1992, 27(3): 204.
- [11] 周伯庭, 李新中, 徐平声, 等. 广东紫珠地上部位化学成分研究 [J]. 中南药学, 2004, 2(4): 238.
- [12] 孙连娜, 陈万生, 陶朝阳, 等. 泽南化学成分的研究 [J]. 第二军医大学学报, 2004, 25(9): 1029.

收稿日期: 2009-03-16