

文章编号: 1006-2858(2006)08-0501-04

## 核桃楸皮的化学成分

石建辉<sup>1</sup>, 王金辉<sup>1</sup>, 袁征<sup>1</sup>, 车东<sup>2</sup>, 宋玉荣<sup>2</sup>, 李铣<sup>1</sup>

(1. 沈阳药科大学 中药学院, 沈阳 110016; 2. 丹东药业有限公司, 丹东 118002)

**摘要:** 目的 对中药核桃楸(*Juglans Mandshurica* Maxim.)皮的化学成分进行了分离、鉴定。方法 核桃楸皮的水提取物用硅胶色谱法、聚酰胺柱色谱、凝胶柱色谱、反相 ODS 柱色谱和制备 HPLC 方法进行分离纯化, 根据波谱数据解析、理化常数分析及文献对照进行结构鉴定。结果 从核桃楸的水提取物中分离鉴定了 6 个化合物, 分别是 8-羟基蒽醌-1-羧酸(1)、山柰酚(2)、杨梅苷(3)、槲皮苷(4)、4, 5, 8-三羟基- $\alpha$ -萘醌-5-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(5)、4, 5, 8-三羟基- $\alpha$ -萘醌-5-O- $\beta$ -D-(6'-O-没食子酰基)葡萄糖苷(6)。结论 化合物 1 为新天然产物, 化合物 1~4 为首次从核桃楸中分离得到。

**关键词:** 核桃楸; 化学成分; 8-羟基蒽醌-1-羧酸

**中图分类号:** R 284.1 **文献标识码:** A

核桃楸皮(*Cortex Juglandis Mandshuricae*)为胡桃科核桃属植物核桃楸(*Juglans mandshurica* Maxim.)的树皮<sup>[1]</sup>。原植物核桃楸, 又名胡桃楸, 落叶乔木, 分布于中国东北、华北、河北等地区, 河南、山东有散生, 其树皮及未成熟果实或果皮可用药, 树皮又名楸树皮, 山核桃(东北)味苦性寒, 具有清热解毒、止痢明目的功效, 主治泄泻、痢疾、白带、目赤<sup>[1, 2]</sup>。现代研究表明, 核桃楸具有抗菌、消炎、抗癌等作用<sup>[3]</sup>。文献记载核桃楸中主要含有萘醌类及其衍生物、黄酮类、二芳基庚酸类化合物和大量鞣质。特别是对萘醌及其衍生物有详尽报道, 但对其酚酸类成分和黄酮类成分报道较少<sup>[4-7]</sup>。

本文作者利用常规色谱方法(硅胶、大孔吸附树脂、聚酰胺、葡聚糖凝胶 LH-20、ODS 等柱色谱法)和制备高效液相手段, 从核桃楸的水提取物的乙酸乙酯萃取层中分得 4 个成分之后<sup>[8]</sup>, 继续从水提取物的各萃取层中分得 6 个化合物, 通过理化性质分析和波谱(NMR)数据解析等手段鉴定了它们的结构, 分别是 8-羟基蒽醌-1-羧酸(1)、山柰酚(kaempferol, 2)、杨梅苷(myricitrin, 3)、槲皮苷(quericitrin, 4)、4, 5, 8-三羟基- $\alpha$ -萘醌-5-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(4, 5, 8-trihydroxy  $\alpha$ -tetralone-5-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, 5)、4, 5, 8-三羟基- $\alpha$ -萘醌-5-O- $\beta$ -D-(6'-O-没食子酰基)吡喃葡萄糖苷[4, 5, 8-trihydroxy  $\alpha$ -tetralone-5-O- $\beta$ -D-(6'-O-

galloyl)glucopyranoside, 6]。

### 1 仪器与材料

ARX-300 型和 AV-600 型核磁共振光谱仪(TMS 内标, 瑞士 Bruker 公司), L-7110 型 HPLC 泵(日本 Hitachi 公司), L-7420 型 UV-VIS 检测器(日本 Hitachi 公司)。柱层析硅胶和薄层硅胶 GF254(青岛海洋化工有限公司), 聚酰胺(5~10  $\mu$ m)(浙江台州市路桥四甲生化塑料厂), ODS(10~30  $\mu$ m)(天津化学试剂二厂), 液相试剂(色谱纯, 天津康科德科技有限公司), 其他所用试剂均为分析纯。

核桃楸皮药材为辽宁丹东药业有限公司提供, 由沈阳药科大学中药学院孙启时教授鉴定为胡桃科核桃属植物核桃楸(*Juglans mandshurica* Maxim.)的树皮。

### 2 提取与分离

取干燥的核桃楸皮 7.0 kg, 水提, 滤液浓缩后依次用等体积的石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇分别萃取 3 次, 分别合并各萃取层。乙酸乙酯萃取层(21 g)进行硅胶柱色谱, 以氯仿-乙醇进行梯度洗脱得到 I~V 5 个流份, 流份 II(氯仿-乙醇, 体积比为 200:1)又经 ODS 柱色谱(水-乙醇, 体积比为 9:1~1:9), 在体积分数为 10% 的乙醇溶液作为溶剂洗脱得到化合物 1; 体积分数为 30%

收稿日期: 2006-01-10

作者简介: 石建辉(1979-), 男(汉族), 天津宝坻人, 硕士研究生; 王金辉(1972-), 男(汉族), 吉林通化人, 教授, 博士生导师, Tel. 024-23986479, E-mail wangjh1972@vip.sina.com。

的乙醇流份又经 Sephadex LH-20 处理后得到化合物 2; 流份 V 又经聚酰胺(5~10  $\mu\text{m}$ ) 柱层析, 乙醇-水系统梯度洗脱, 体积分数为 40% 乙醇流份经 Sephadex LH-20 处理后得到化合物 3。

正丁醇萃取层(60 g) 进行硅胶柱色谱, 氯仿-乙醇系统梯度洗脱得到 i~vi 6 个部分。流份 vi(氯仿-乙醇, 体积比为 100:10) 经 PTLC 得到化合物 4; 合并流份 vi 和流份 v 的其余部分, 经聚酰胺柱层析乙醇-水系统梯度洗脱得到 A~F 6 个部分, B 部分又经 ODS 柱, 甲醇-水梯度洗脱, 体积分数为 30% 甲醇流份又经 HPLC 得到化合物 5 和 6(液相条件为流动相: 甲醇-水体积比为 3:7, 检测波长: 210 nm, 流速: 1 mL $\cdot$ min $^{-1}$ )。

### 3 结构鉴定

化合物 1: 黄色结晶, 三氯化铁-铁氰化钾反应阳性, 示分子中存在酚羟基, 溴甲酚绿反应阳性, 示分子中有羧基存在。 $^1\text{H-NMR}$  (300, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.40(1H, br. s) 可能为 COOH 质子信号,  $\delta$  12.05 质子为与羰基氢键缔合的酚羟基质子, 处于羰基的邻位。其余 6 个质子的信号完全处于芳香区, 包括 4 个 d 峰、2 个 t 峰, 可推知结构中可能存在 2 个 ABC 偶合系统。 $^{13}\text{C-NMR}$  中给出了 15 个 C 信号, 除去一个羧基碳( $\delta$  170.1)

为 14 个 C, 可推出化和物的分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_8\text{O}_5$ , 又有两个羰基信号( $\delta$ : 187.3、181.5), 可知可能为蒽醌类化合物, 且为  $\alpha$ -羟基蒽醌。这又经化学试验 Bornträger's 反应得到了验证。综上, 初步确定化合物为具有一个羧基取代基的  $\alpha$ -羟基蒽醌。羧基的取代位置是通过 HMBC 技术确定的(见图 1), 醌环中两个羰基的碳信号中只有一个  $\text{C}_{10}$  ( $\delta$  181.5) 与两个  $\alpha$  质子( $\delta$ : 8.28、7.75) 有 $^3J$  远程相关, 而另外一个  $\text{C}_9$  ( $\delta$  187.3) 没有与任何一个  $\alpha$  质子有远程相关, 这说明整个分子中只有两个  $\alpha$ -H, 且处于 4 位和 5 位。处于 OH 对位的 H-5 应为处于较高场的  $\delta$  7.75 质子, 另一个质子处于 COOH 对位, 相对较低场的  $\delta$  8.28 质子。COOH-1 碳( $\delta$  170.1) 与 2 位质子  $\delta$  7.85(1H, d) 有 $^3J$  远程相关也佐证了羧基的位置。化合物 1 的 NMR 数据归属见表 1。化合物 1 为一个新天然产物, 它的核磁数据也是第一次被获得。

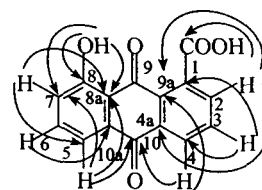


Fig. 1 The structure and the HMBC of compound 1

Table 1 The NMR data of compound 1 (DMSO- $d_6$ )

No.	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	HMBC
1		136.1	
2	7.85(1H, d, $J = 7.6$ Hz)	132.7	128.9(C-9a), 127.6(C-4)
3	7.98(1H, t, $J = 7.6, 7.6$ Hz)	137.4	133.5(C-4a), 136.1(C-1)
4	8.28(1H, d, $J = 7.6$ Hz)	127.6	128.9(C-9a), 133.5(C-4a), 181.5(C-10)
4a		133.5	
5	7.75(1H, d, $J = 7.3$ Hz)	119.2	116.1(C-8a), 124.3(C-7), 181.5(C-10)
6	7.84(1H, t)	135.1	133.0(C-10a)
7	7.42(1H, d, $J = 8.2$ Hz)	124.3	116.1(C-8a), 119.2(C-5)
8		161.3	
8a		116.1	
9		187.3	
9a		128.9	
10		181.5	
10a		133.0	
1-COOH	13.40(1H, br. s)	170.1	
8-OH	12.05(1H, s)		116.1(C-8a), 124.3(C-7), 161.3(C-8)

化合物 2:淡黄色粉末,三氯化铁-铁氰化钾反应阳性,示存在酚羟基;盐酸镁粉反应阳性,示可能为黄酮类化合物。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- $d_6$ ) $\delta$ : 12.49(1H, s, OH-5)、10.79(1H, s, OH-7)、10.11(1H, s, OH-4')、9.42(1H, s, OH-3), 芳香区质子信号较低场化学位移在  $\delta$  6.5~8.5 之间有 2 个双峰,且偶合常数相等  $J = 8.7$  Hz, 为邻位偶合,每个单峰又有 2 个氢,可确定 B 环为对二取代苯结构,即确定 4 位羟基取代,数据如下: $\delta$  8.05(2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-2', 6')、6.92(2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-3', 5')。芳香子信号较高场区  $\delta$  6.0~6.5 之间为 A 环 6, 8 位质子,  $\delta$  6.44(1H, br. s, H-8),  $\delta$  6.19(1H, br. s, H-6)。其数据与文献[9]中谱学数据基本一致。后经 Co-TLC 试验,化合物 2 与对照品 Rf 值一致,更加确证 2 为 3, 5, 7, 4'-四羟基黄酮,即山奈酚(kaempferol),该化合物为该植物中首次分离得到。

化合物 3:淡黄色粉末,三氯化铁-铁氰化钾反应阳性,示存在酚羟基;三氯化铝反应在紫外下荧光加强,示可能为黄酮类化合物。 $^1\text{H-NMR}$ 谱中芳香区显示了黄酮母核,脂肪区显示了糖的信号,初步断定为黄酮苷。最低场  $\delta$  12.68(1H, s)为处于羰基邻位的 5 为酚羟基活泼质子信号,  $\delta$  9~10 之间显示了若干活泼氢信号,  $\delta$  6.96(2H, s)为 B 环质子信号,呈现完全对称的结构, $^{13}\text{C-NMR}$ 中,  $\delta$  145.8 2 个重合的碳信号和  $\delta$  136.5 的碳信号构成了三联氧取代苯结构,故推测 B 环为 3', 4', 5'-三羟基取代。 $\delta$  6.37(1H, d,  $J = 2.1$  Hz)和 6.20(1H, d,  $J = 2.1$  Hz)分别为 8 和 6 位质子,存在间位偶合,且无 3 位质子信号。故确定黄酮母核为 5, 7, 3, 3', 4', 5'-六羟基黄酮,即杨梅素,且成苷位置在 3 位羟基上。端基氢质子  $\delta$  5.19, 宽单峰,且最高场处有一  $\text{CH}_3$  质子信号( $\delta$  0.84, 3H, d,  $J = 6$  Hz), 断定为鼠李糖苷。 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 M Hz, DMSO- $d_6$ )中给出了鼠李糖的 6 个碳信号,分别为  $\delta$ : 102.0(C-1''), 70.5(C-2''), 70.6(C-3''), 71.3(C-4''), 70.1(C-5'')和 17.6(C-6'')。苷元部分碳信号与苷元杨梅素的碳谱<sup>[10]</sup>对照所得苷化位移值, 3 位碳信号( $\delta$  134.3)较杨梅素( $\delta$  135.3)向高场位移了 1 个化学位移单位, 2 位( $\delta$  157.5)较杨梅素( $\delta$  146.7)向低场位移了 10.8 个化学位移单位, 4 位( $\delta$  177.8)向较苷元 4 位( $\delta$  175.7)向低场位移了 2.1 个化学位移单位,而苷元上其它位置变化

不大,因此确定鼠李糖连于黄酮苷元的 3 位羟基上。通过查找文献该化合物的  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  的数据与文献[11, 12]中的杨梅素的氢谱和碳谱数据基本一致,故鉴定为为杨梅苷(myricitrin)。

化合物 4:淡黄色粉末,三氯化铁-铁氰化钾反应阳性,示存在酚羟基;三氯化铝反应在紫外下荧光加强,示可能为黄酮类化合物。 $^1\text{H-NMR}$ 谱中芳香区显示了黄酮母核,脂肪区显示了糖的信号,断定为黄酮苷。化合物 4 与化合物 3(杨梅苷)具有相似的理化性质和波谱特征,也为一个黄酮苷元的鼠李糖苷,糖的核磁数据为  $\delta_{\text{C}}$ : 101.7(C-1''), 70.3(C-2''), 70.4(C-3''), 71.2(C-4''), 70.0(C-5''), 17.4(C-6''), 区别在于 NMR 中黄酮的 B 环取代羟基数目不同,  $^1\text{H-NMR}$ 中  $\delta$ : 7.25(1H, br. s, H-2'), 7.22(1H, br. d,  $J = 8.3$  Hz, H-6'), 6.80(1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-5')显示了 B 环为 ABX 偶合系统,为 3', 4' 邻二羟基取代,为 5, 7, 3, 3', 4'-五羟基黄酮-3-O-鼠李糖苷,即槲皮苷(quercitrin),其数据与文献[12]中谱学数据基本一致。

化合物 5:无定形粉末,365 nm 下呈亮黄色荧光, molish 反应阳性,示为糖苷类化合物,  $^1\text{H-NMR}$ 谱中可清楚地指认出糖的端基质子信号,  $\delta$  4.64(1H, d,  $J = 7.1$  Hz), 又根据  $^{13}\text{C-NMR}$  数据示为一个  $\beta$ -D-葡萄糖连于苷元上;  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  谱图分析可知苷元中存在两个亚甲基( $\delta_{\text{H}}$ : 2.99、2.47 和  $\delta_{\text{C}}$  32.3;  $\delta_{\text{H}}$ : 2.15、2.11 和  $\delta_{\text{C}}$  28.8), 一个连氧次甲基( $\delta_{\text{H}}$  5.37,  $\delta_{\text{C}}$  58.7)和一个羰基( $\delta_{\text{C}}$  205.4), 这是 4-羟基- $\alpha$ -萘酮的典型特征。 $^1\text{H-NMR}$ 谱进一步显示出了 AB 偶合系统邻位芳香质子信号,  $\delta$  7.47(1H, d,  $J = 9$  Hz)和  $\delta$  6.89(1H, d,  $J = 9$  Hz), 和一个与羰基氢键缔合的邻位酚羟基  $\delta$  12.05, 表明萘酮的苯环有两个羟基对位取代。与此同时,在  $\delta$  8~12 之间未见到酚羟基的活泼质子信号,推论成苷位置和可能在苯环上酚羟基(5-OH), 这也通过苷化位移的分析得到证实:如果在次甲基上的醇羟基(4-OH)成苷的话,那么 4 位碳( $\delta$  58.7)将向低场位移至  $\delta$  67 左右。综上,化合物 5 的平面结构为 4, 5, 8-三羟基- $\alpha$ -萘酮-5-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷。它的立体构型有待确证, Lijuan Liu 等<sup>[13]</sup>发现了化合物 5 的 S 构型异构体。

化合物 6:无定形粉末,  $^1\text{H-NMR}$ 和  $^{13}\text{C-NMR}$

谱显示与化合物 5 有相同的基本母核, 结构中比化合物 5 多一个没食子酰基结构,  $\delta_{\text{H}}$  6.96(2H, s) 和  $\delta_{\text{C}}$ : 122.5(1''), 108.4(2'', 6''), 145.5(3'', 5''), 139.1(4''), 165.6(7''), 通过比较糖的苷化位移

(葡萄糖 C-6' 向低场位移 2.5 个化学位移单位)<sup>[14]</sup>, 表明没食子酰基连于葡萄糖的 6 位。推论化合物 5 和 6 可能是通过图 2 途径转化的。

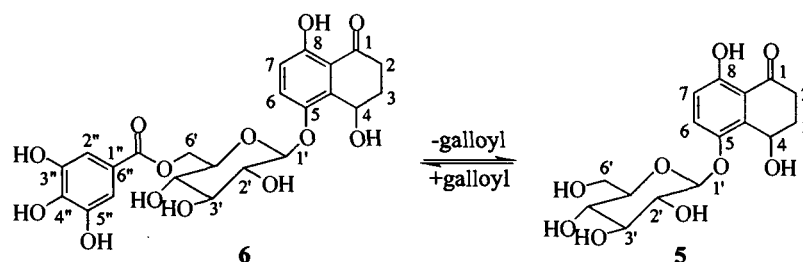


Fig. 2 The conversion between compounds 6 and 5

### 参考文献:

- [1] 赵守讯, 黄泰康, 丁志遵, 等. 中药辞海: 第三卷 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996. 2007 - 2008.
- [2] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志: 第二十一卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1979. 30 - 35.
- [3] 张野平, 杨志博, 肃静洲, 等. 胡桃醌抗肿瘤作用研究 [J]. 沈阳药学院学报, 1987, 4(3): 166 - 169.
- [4] 易醒, 谢明勇, 肖小平. 胡桃科植物化学及生物活性研究概况 [J]. 中草药, 2001, 32(6): 559 - 561.
- [5] Sang-Hyun Kim, Kyong-Sun Lee, Jong-Keun Son, et al. Cytotoxic compounds from the roots of *Juglans mandshurica* [J]. J Nat Prod, 1998, 61: 643 - 645.
- [6] Kyung-Seon Lee, Gao Li, Sung Hwan Kim, et al. Cytotoxic diarylheptanoids from the roots of *Juglans mandshurica* [J]. J Nat Prod, 2002, 65: 1707 - 1708.
- [7] Gao Li, Ming-Lu Xu, Han-Gon CHOI, et al. Four new diarylheptanoids from the roots of *Juglans mandshurica* [J]. Chem Pharm Bull, 2003, 51(3): 262 - 264.
- [8] 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.
- [9] 于德泉, 杨俊山. 分析化学手册: 第七分册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1999. 299.
- [10] 曹延怀, 黄远征, 丁立生. 草红藤中的黄酮成分 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(5): 290 - 291.
- [11] Xi-Ning Zhong, Hideaki Otsuka, Toshinori Ide, et al. Three flavovol glycosides from leaves of *Myrsine seguinii* [J]. Phytochemistry, 1997, 46(5): 943 - 946.
- [12] Hisashi Matsuda, Toshio Morikawa, Jing Tao, et al. Bioactive constituents of chinese natural medicines. VII. inhibitors of degranulation in RBL-2H3 cells and absolute stereostructures of three new diarylheptanoid glycosides from the bark of *Myrica rubra* [J]. Chem Pharm Bull, 2002, 50(2): 208 - 215.
- [13] Lijung LIU, Wei LI, Kazou KOIKE, et al. New  $\alpha$ -tertralonil glucosides from the fruit of *Juglans mandshurica* [J]. Chem Pharm Bull, 2004, 52(5): 566 - 569.
- [14] Byung-Sun Min, Norio Nakamura, Hirotsugu Miyashiro, et al. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase and ribonuclease H activities by constituents of *Juglans mandshurica* [J]. Chem Pharm Bull, 2000, 48(2): 194 - 200.

## Chemical constituents of *Juglans mandshurica* Maxim.

SHI Jian-hui<sup>1</sup>, WANG Jin-hui<sup>1</sup>, YUAN Zheng<sup>1</sup>, CHE Dong<sup>2</sup>, SONG Yu-rong<sup>2</sup>, LI Xian<sup>1</sup>  
(1. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Dandong Pharmaceutical Corporation, Dandong 118002, China)

(下转至第 513 页)

法简便、专属性好,适用于咳喘清滴丸中 3 种活性成分的含量测定。

#### 参考文献:

[1] 黄泰康. 常用中药成分与药理手册 [M]. 北京: 中国

医药科技出版社, 1994. 1624.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部 [Z]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 188, 59.

[3] 欧明, 林励, 李衍文. 简明中药成分手册 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003. 303, 356.

## Determination of the contents of ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride and scopolamine hydrobromide in Kechuanqing dripping pills by HPLC

LI Yuan-xin, ZHAI Hai-yun, HUO Wu-zhen, YUAN Xu-jiang, ZHU Sheng-shan

(Research & Development Institute of Chinese Materia Medica of Guangdong Pharmaceutical University, Guangdong 510240, China)

**Abstract: Objective** To establish a HPLC method for simultaneous determination of ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride and scopolamine hydrobromide in Kechuanqing (traditional chinese medicines) dripping pills. **Methods** The column of Eclipse XDB-C8(4.6 mm×150 mm, 5 μm) was used, the mobile phase was MeOH-0.02 mol·L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-0.03 mol·L<sup>-1</sup> H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (V:V:V=5.0:47.5:47.5), the detection wavelength was set at 210 nm and the flow rate was 1.0 ml·min<sup>-1</sup>. **Results** The linear range of ephedrine hydrochloride was 21~210 ng, pseudoephedrine hydrochloride was 20~200 ng and scopolamine hydrobromide 5~50 ng respectively. The average recoveries of ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride and scopolamine hydrobromide were 100.84% with RSD 1.45%, 100.39% with RSD 1.43%, 97.86% with RSD 1.51% (n=5). **Conclusions** The method is accurate, sensitive and suitable for the quality control of Kechuanqing dripping pills.

**Key words:** Kechuanqing dripping pills; ephedrine hydrochloride; pseudoephedrine hydrochloride; scopolamine hydrobromide; HPLC; content determination

(上接第 504 页)

**Abstract: Objective** To study the chemical constituents of water extract of the bark of *Juglans mandshurica* Maxim. **Methods** The constituents were isolated by chromatography methods such as silica gel, polyamide, sephadex LH-20, ODS column, HPLC. The structures of these compounds were identified by the physico-chemical analysis, NMR spectroscopic methods. **Results** Compounds 1~6 were obtained and their structures were identified as 8-hydroxy-9, 10-anthraquinone-1-carboxylic acid(1), kaempferol(2), myricitrin(3), quercitrin(4), 4, 5, 8-trihydroxy-α-tetralone-5-O-β-D-glucopyranoside(5) and 4, 5, 8-trihydroxy-α-tetralone-5-O-β-D-(6'-O-galloyl)glucopyranoside(6). **Conclusions** Compound 1 is identified as a new natural product, compounds 1~4 are obtained from this plant for the first time.

**Key words:** *Juglans mandshurica* Maxim.; chemical constituent; 8-hydroxy-9, 10-anthraquinone-1-carboxylic acid