

西藏沙棘叶化学成分的研究

赵丽萍¹, 张纽枝¹, 徐福春^{2*} (1. 西藏职业技术学院, 西藏拉萨 850000; 2. 西藏大学医学院, 西藏拉萨 850000)

摘要 [目的]研究西藏沙棘(*Hippophae tibetana*)叶中的化学成分。[方法]通过硅胶柱色谱法、Sephadex LH-20、MCI 柱色谱法及半制备 HPLC 研究西藏沙棘枝叶的化学成分,依据波谱数据鉴定其化合物结构。[结果]试验共得到 7 种化合物: $\Delta^{5,22}$ 豆甾醇(1), 齐墩果酸(2), 3'-甲氧基-槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷(3), 3'-甲氧基-槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖-(1 \rightarrow 2)- β -D-葡萄糖苷(4), 表儿茶素(5), 对羟基苯甲酸丁酯(6), 3,4-二甲氧基-5-羟基-苯酚-1-O- α -D-阿拉伯糖-(1 \rightarrow 6)- β -D-葡萄糖苷(7); 其中化合物 1, 5, 6, 7 为首次从西藏沙棘中分离得到。[结论]研究可为西藏沙棘资源的综合开发利用提供参考。

关键词 西藏沙棘; 胡颓子科; 沙棘属; 化学成分; 核磁共振

中图分类号 S789.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)22-075-02

Study on Chemical Constituents of *Hippophae tibetana*

ZHAO Li-ping¹, ZHANG Niu-zhi¹, XU Fu-chun^{2*} (1. Tibet Vocational Technical College, Lhasa, Tibet 850000; 2. Medical College of Tibet University, Lhasa, Tibet 850000)

Abstract [Objective] To study the chemical constituents in leaves of *Hippophae tibetana*. [Method] Seven compounds were isolated by silica gel column chromatography, MCI, Sephadex LH-20 column chromatography, and semi-preparative HPLC. [Result] Their chemical structures were elucidated by spectra data analysis. Seven compounds were obtained and identified as $\Delta^{5,22}$ stigmasterol (1), oleanolic acid (2), 3'-methoxyl-quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside (3), 3'-methoxyl-quercetin-3-O- α -L-rhamnose-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside (4), epicatechin (5), butylparaben (6), 3,4-dimethoxyl-5-hydroxyl-phenol-1-O- α -D-arabinofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside (7). [Conclusion] Compounds 1, 5, 6 and 7 were obtained from *H. tibetana* for the first time.

Key words *Hippophae tibetana*; Elaeagnaceae; *Hippophae*; Chemical constituents; NMR

西藏沙棘(*Hippophae tibetana*)为胡颓子科沙棘属,别名鸡爪柳,分布于西藏、青海、四川,是一种在高寒地区具有独特经济价值的树种^[1]。西藏沙棘拥有发达的根系,主要生长于河漫滩、堤岸和洪积扇,在高寒山区发挥着极为重要的水土保持功能。据研究报道,西藏沙棘的果实内含有丰富的维生素等营养成分,其蛋白质、黄酮类化合物以及种子含油量高于其他沙棘^[2]。

已有研究报道指出,西藏沙棘果和叶中的主要化学成分有黄酮类、甾体类及萜类,还有挥发油类、酚类及糖类等化合物^[1],其中黄酮类物质在心血管疾病方面有着突出作用,同时还有着改善免疫系统方面的作用。笔者研究分析了西藏沙棘叶中的主要化学成分,为进一步开发利用西藏沙棘天然资源,以及为西藏藏药的开发利用提供科学依据。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 原料及主要试剂。西藏沙棘,采自西藏拉萨地区。主要试剂:甲醇、石油醚、丙酮、氯仿等。

1.1.2 主要仪器。Bruker AM-400 型核磁共振仪,瑞士 Bruker 公司;N-1100 型系列旋转蒸发器,上海爱朗仪器有限公司;KQ 3200B 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;SHB-III 型循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;WZZ-2S 型数字式自动旋光仪,上海精密科学仪器有限公司;WRR 熔点仪,上海精密科学仪器有限公司;高效液相色谱仪,美国 Waters 公司;安捷伦 1100 高效液相色谱仪;

Sunfire Preparative C₁₈ 色谱柱(10 μ m, 150 mm, 10 mm)。

1.2 方法 取干燥的西藏沙棘叶 3 kg,用甲醇浸泡 3 次,每次浸泡 7 d 后,将浸出液过滤,并减压浓缩,得到浸膏,共计 60 g。

该浸膏用硅胶拌样,经硅胶柱层析,用石油醚-丙酮(20:1~1:1)、氯仿-甲醇(10:1~10:2)梯度洗脱,共计得到 12 个组分。选取其中多个组分通过 Sephadex LH-20 柱层析, MCI 和正相硅胶柱进行组分分离,最后经半制备 HPLC 纯化,得到纯化合物。

2 结果与分析

该试验在对西藏沙棘叶的分离纯化的过程中,合并类似的样品,得到 7 个化合物,其含量依次为:1(22.3 mg), 2(43.6 mg), 3(14.2 mg), 4(66.7 mg), 5(40.4 mg), 6(52.8 mg), 7(12.6 mg)。

化合物 1:白色粉末,化学式为 C₂₉H₄₇O₁,分子量为 411,熔点 165~167 $^{\circ}$ C, $[\alpha]_D^{25} -32.5$ (c2, CHCl₃)。核磁共振波谱数据如下:¹H-NMR (C₅D₅N; 400 MHz NMR) δ_H : 5.10(1H, dd, J = 14.2, 8.8 Hz, H-22), 5.00(1H, dd, J = 14.2, 8.8 Hz, H-23), 5.17(1H, t, H-6), δ_H 3.8, 3(1H, m); ¹³C-NMR (C₅D₅N; 100 MHz NMR) δ_C : 38.9(C-1), 30.0(C-2), 70.1(C-3), 41.1(C-4), 139.4(C-5), 123.3(C-6), 32.0(C-7), 32.3(C-8), 49.6(C-9), 37.5(C-10), 21.7(C-11), 39.5(C-12), 43.3(C-13), 55.2(C-14), 23.2(C-15), 28.8(C-16), 55.8(C-17), 12.4(C-18), 19.1(C-19), 40.5(C-20), 19.9(C-21), 138.6(C-22), 129.4(C-23), 51.3(C-24), 25.6(C-25), 13.1(C-26), 32.2(C-27), 21.2(C-28), 21.5(C-29)。将 NMR 数据与文献中的 $\Delta^{5,22}$ 豆甾醇数据^[3-4]对照,基本一致,故确定化合物为 $\Delta^{5,22}$ 豆

基金项目 西藏大学青年培育基金项目(ZDPJZK201303)。

作者简介 赵丽萍(1986-),女,甘肃张掖人,讲师,硕士,从事农药研究与教学工作。*通讯作者,硕士,从事天然产物研究。

收稿日期 2016-06-12

甾醇。

化合物2:白色粉末,化学式为 $C_{30}H_{48}O_3$,分子量为456,熔点 $307\sim 309\text{ }^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{25} 72.7(c\ 0.15, CHCl_3)$ 。核磁共振波谱数据如下: $^1H-NMR(C_5D_5N; 400\text{ MHz NMR}) \delta_H: 5.50(1H, br. s, H-12), 3.46(1H, dd, J = 9.7, 3.6\text{ Hz}, H-3), 2.82(1H, dd, J = 14.1, 4.5\text{ Hz}, H-18), 0.99(3H, s, H-26), 0.90(3H, s, H-24), 0.96(3H, s, H-25), 0.98(3H, s, H-29), 1.05(3H, s, H-30)$; $^{13}C-NMR(C_5D_5N; 100\text{ MHz NMR}) \delta_C: 38.9(C-1), 28.5(C-2), 76.3(C-3), 39.4(C-4), 55.7(C-5), 18.9(C-6), 33.5(C-7), 39.8(C-8), 48.4(C-9), 37.3(C-10), 23.9(C-11), 122.9(C-12), 144.9(C-13), 42.4(C-14), 28.7(C-15), 23.9(C-16), 46.8(C-17), 42.2(C-18), 46.7(C-19), 31.2(C-20), 34.4(C-21), 28.3(C-22), 16.3(C-23), 28.8(C-24), 15.9(C-25), 17.5(C-26), 26.6(C-27), 180.8(C-28), 33.3(C-29), 23.6(C-30)$ 。通过与相关文献^[5-6]的对比, NMR数据基本一致,故推出该化合物为齐墩果酸。

化合物3:黄色针状晶体,化学式为 $C_{22}H_{22}O_{12}$,分子量为478,熔点 $98\sim 100\text{ }^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{25} 89.6(c\ 0.7, MeOH)$ 。核磁共振波谱数据如下: $^1H-NMR(DMSO; 400\text{ MHz NMR}) \delta_H: 7.63(1H, dd, J = 8.4, 2.1\text{ Hz}, H-6'), 7.58(1H, d, J = 2.1\text{ Hz}, H-2'), 6.83(1H, d, J = 8.4\text{ Hz}, H-5'), 6.68(1H, d, J = 0.9\text{ Hz}, H-8); 6.38(1H, d, J = 0.9\text{ Hz}, H-6), 5.48(1H, d, J = 7.8\text{ Hz}, H-1'')$; $^{13}C-NMR(DMSO; 100\text{ MHz NMR}) \delta_C: 156.4(C-2), 133.6(C-3), 177.8(C-4), 161.2(C-5), 98.2(C-6), 165.4(C-7), 92.5(C-8), 156.9(C-9), 105.2(C-10), 121.8(C-1'), 115.2(C-2'), 144.8(C-3'), 148.9(C-4'), 116.0(C-5'), 121.3(C-6'), 56.4(-OCH_3), 100.0(C-1''), 74.3(C-2''), 76.7(C-3''), 70.3(C-4''), 77.6(C-5''), 61.3(C-6'')$ 。通过与参考文献^[7]比对,数据一致,结构推断准确无误,得出该化合物为3'-甲氧基-槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷。

化合物4:黄色针状晶体,化学式为 $C_{28}H_{32}O_{16}$,分子量为624,熔点 $126\sim 129\text{ }^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{25} 35.1(c\ 0.1, MeOH)$ 。核磁共振波谱数据如下: $^1H-NMR(DMSO; 400\text{ MHz NMR}) \delta_H: 7.66(1H, dd, J = 8.4, 2.2\text{ Hz}, H-6'), \delta_H 7.64(1H, d, J = 2.2\text{ Hz}, H-2'), \delta_H 6.89(1H, d, J = 8.4\text{ Hz}, H-5'), \delta_H 6.48(1H, br. s, H-8), \delta_H 6.24(1H, br. s, H-6), \delta_H 5.78(1H, d, J = 7.6\text{ Hz}, H-1''), \delta_H 5.25(1H, d, J = 5.4\text{ Hz}, H-1''')$; $^{13}C-NMR(DMSO; 100\text{ MHz NMR}) \delta_C: 158.2(C-2), 134.6(C-3), 179.3(C-4), 162.6(C-5), 98.9(C-6), 166.8(C-7), 92.3(C-8), 158.6(C-9), 106.0(C-10), 123.2(C-1'), 115.7(C-2'), 145.9(C-3'), 149.8(C-4'), 117.9(C-5'), 123.3(C-6'), 56.4(-OCH_3), 102.6(C-1''), 78.6(C-2''), 78.2(C-3''), 70.5(C-4''), 80.0(C-5''), 62.7(C-6''), 100.8(C-1'''), 72.3(C-2'''), 71.5(C-3'''), 72.2(C-4'''), 73.8(C-5'''), 17.7(C-6''')$ 。与文献^[8-9]比较波谱数据,数据基本一致,推断出该化合物为3'-甲氧基-槲皮素-3

-O-a-L-鼠李糖-(1 \rightarrow 2)- β -D-葡萄糖苷。

化合物5:白色粉末,化学式为 $C_{15}H_{14}O_6$,分子量为290,熔点 $240\sim 242\text{ }^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{25} -56.8(c\ 0.1, MeOH)$ 。核磁共振波谱数据如下: $^1H-NMR(C_5D_5N; 400\text{ MHz NMR}) \delta_H: 7.89(1H, dd, J = 8.4, 2.0\text{ Hz}, H-6'), 7.32(1H, d, J = 2.0\text{ Hz}, H-2'), 7.25(1H, d, J = 8.4\text{ Hz}, H-5'), 6.67(1H, d, J = 1.8\text{ Hz}, H-8), 6.65(1H, d, J = 1.8\text{ Hz}, H-6), 5.34(1H, d, J = 6.6\text{ Hz}, H-2), 4.70(1H, m, H-3), 3.51(1H, d, J = 16.6\text{ Hz}, H-4), 3.38(1H, dd, J = 16.6, 3.9\text{ Hz}, H-4)$; $^{13}C-NMR(C_5D_5N; 100\text{ MHz NMR}) \delta_C: 80.1(C-2), 67.0(C-3), 29.6(C-4), 157.6(C-5), 96.7(C-6), 158.6(C-7), 95.8(C-8), 158.7(C-9), 100.2(C-10), 132.1(C-1'), 116.3(C-2'), 149.9(C-3'), 146.8(C-4'), 116.1(C-5'), 119.4(C-6')$ 。与文献^[10]比较波谱数据,数据基本一致,推断出该化合物为表儿茶素。

化合物6:淡黄色粉末,化学式为 $C_1H_{14}O_3$,分子量为194,熔点 $68\sim 70\text{ }^\circ\text{C}$ 。核磁共振波谱数据如下: $^1H-NMR(CD_3OD; 400\text{ MHz NMR}) \delta_H: 7.78(2H, dd, J = 7.8, 1.4\text{ Hz}, H-3, H-5), 7.60(2H, dd, J = 7.8, 1.4\text{ Hz}, H-2, H-6), 4.28(2H, t, J = 6.4\text{ Hz}, H-8), 1.72(2H, m, H-9), 1.42(2H, m, H-10), 0.98(3H, t, J = 7.6\text{ Hz}, H-11)$; $^{13}C-NMR(CD_3OD; 100\text{ MHz NMR}) \delta_C: 163.8(C-1), 115.6(C-2), 133.9(C-3), 122.0(C-4), 133.9(C-5), 115.6(C-6), 168.9(C-7), 62.1(C-8), 33.5(C-9), 21.3(C-10), 14.6(C-11)$ 。将波谱数据与文献报道的对羟基苯甲酸丁酯波谱数据^[11]进行比较,基本一致,故判定该化合物为对羟基苯甲酸丁酯。

化合物7:淡黄色粉末,化学式为 $C_{19}H_{28}O_{13}$,分子量为464,熔点 $134\sim 136\text{ }^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{25} 22.9(c\ 0.1, MeOH)$ 。核磁共振波谱数据如下: $^1H-NMR(CD_3OD; 400\text{ MHz NMR}) \delta_H: 7.01(1H, d, J = 2.6\text{ Hz}, H-6), 6.63(1H, d, J = 2.6\text{ Hz}, H-2), 5.64(1H, br. s, H-1''), 5.47(1H, d, J = 7.2\text{ Hz}, H-1'), 3.75(3H, s, H-3-OCH_3), 3.81(3H, s, H-4-OCH_3)$; $^{13}C-NMR(CD_3OD; 100\text{ MHz NMR}) \delta_C: 155.7(C-1), 94.4(C-2), 154.5(C-3), 133.3(C-4), 152.6(C-5), 99.3(C-6), 103.4(C-1'), 78.4(C-2'), 75.0(C-3'), 77.0(C-4'), 72.2(C-5'), 68.5(C-6'), 110.1(C-1''), 77.9(C-2''), 82.3(C-3''), 84.2(C-4''), 62.4(C-5''), 56.1(C-3-OCH_3), 60.7(C-4-OCH_3)$ 。将波谱数据与文献报道的3,4-二甲氧基-5-羟基-苯酚-1-O- α -D-阿拉伯糖-(1 \rightarrow 6)- β -D-葡萄糖苷波谱数据^[12]进行比较,基本一致,故判定该化合物为3,4-二甲氧基-5-羟基-苯酚-1-O- α -D-阿拉伯糖-(1 \rightarrow 6)- β -D-葡萄糖苷。

3 结论与讨论

该研究通过硅胶柱色谱法、Sephadex LH-20、MCI柱色谱法及半制备HPLC研究西藏沙棘枝叶的化学成分,依据波谱数据鉴定其化合物结构。共得到7个化合物,其中化合物

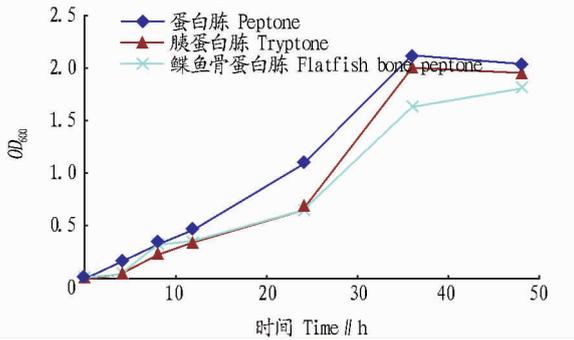


图8 不同培养基中枯草芽孢杆菌的生长曲线

Fig. 8 The growth curve of *Bacillus subtilis* by different medium

蛋白胨培养基中的生长优于含有市售胰蛋白胨的培养基,而枯草芽孢杆菌在市售胰蛋白胨培养基中的生长优于含鳕鱼骨蛋白胨培养基。3种细菌在含有市售细菌学蛋白胨或鳕鱼骨蛋白胨的培养基中生长特征并没有较大差异,这证明鳕鱼骨蛋白胨能够提供细菌生长所需要的氮源营养。

鱼类加工产生的下脚料中,鱼头、鱼骨等含有丰富的钙质,并且还黏连着不少鱼肉,是较好的蛋白质资源。Vecht - Lifshitz 等报道了鱼蛋白胨用于培养大肠杆菌和金黄色葡萄球菌,其生长速率优于细菌蛋白胨(bactopeptone, Difco 公司)^[8]。Dufosse 等将提取自鳕鱼、鲑鱼、杂鱼的蛋白胨应用于细菌、酵母菌、霉菌的培养,并与酪蛋白胨的培养效果进行比较,发现鱼蛋白胨的培养效果优于酪蛋白胨^[9]。Vieira 等利用蛋白酶将水产加工副产物水解制备蛋白胨并用于大肠杆菌的培养,结果表明4种由鱼虾加工副产物制备得到的蛋白胨,其细菌生长速率和稳定期 OD_{550} 值均高于市售蛋白胨(Oxoid)^[10]。Aspmo 等的研究显示,大西洋鳕鱼内脏经过不同条件的蛋白酶水解后制备的蛋白胨可替换市售蛋白胨用于微生物的培养^[11]。万茜等利用蛋白酶水解草鱼内脏并用于微生物的培养,优选出最适微生物培养基的草鱼内脏水解蛋白^[12]。综上所述,酶解鱼类加工下脚料提取制备的蛋白胨产品,可作为细菌培养基中氮源营养的潜在来源。

3 结论

该试验结果表明,鳕鱼鱼骨中含有丰富的蛋白质,最佳

提取条件加酶量 3 000 U/g,酶解时间 20 h,酶解温度 40 ℃,料液比 1:50 g/mL,此条件下鳕鱼骨蛋白胨的最大提取率可达 55.62%。鳕鱼骨蛋白胨产品的氨基酸种类齐全,能够满足供试细菌的生长要求。利用低浓度的乙酸与胃蛋白酶结合的方法,酶解鳕鱼鱼骨提取蛋白胨,实现了下脚料的高值化利用,可变废为宝,提高水产品的附加值,降低主导产品的生产成本,对水产品加工综合利用和保护环境都有重要的意义。

参考文献

- [1] 龚钢明,顾慧,蔡国宝. 鱼类加工下脚料的资源化与利用途径[J]. 中国资源综合利用,2003(7):23-24.
- [2] TOPPE J,ALBREKTSEN S,HOPE B,et al. Chemical composition, mineral content and amino acid and lipid profiles in bones from various fish species [J]. Comparative biochemistry and physiology part B biochemistry and molecular biology,2007,146(3):395-401.
- [3] 李晨,姜洪锐. 我国水产品加工业转型升级的路径选择:基于全球价值链的视角[J]. 海洋开发与管理,2012,29(9):111-115.
- [4] 苑艳辉,钱和,姚卫荣. 鱼下脚料综合利用之研究近况与发展趋势[J]. 水产科学,2004,23(11):40-42.
- [5] 王龙,叶克难. 水产蛋白资源酶解利用研究现状与展望[J]. 食品科学,2006,27(12):807-812.
- [6] GREEN J H,PASKELL S L,GOLDMINTZ D. Fish peptones for microbial media developed from red hake and from a fishery by-product[J]. Journal of food protection,1977,40:181-186.
- [7] TARR H R A,DEAS C P. Bacteriological peptones from fish flesh [J]. J Fisheries Res Board of Canada,1949,7(9):552-560.
- [8] VECHT-LIFSHITZ S E,ALMAS K A,ZOMER E. Microbial growth on peptones from fish industrial wastes [J]. Letters in applied microbiology,1990,10:183-186.
- [9] DUFOSSE L,BROISE D D L,GUERARD F. Evaluation of nitrogen substrates such as peptones from fish:A new method based on gompertz modeling of microbial growth [J]. Current microbiology,2001,42:32-38.
- [10] VIEIRA G H F,VIEIRA R H S F,MACRAE A,et al. Peptone preparation from fishing by-products [J]. Journal of the science of food and agriculture,2005,85:1235-1237.
- [11] ASPMO S I,HORN S J,EIJSINK V. Hydrolysates from Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) Viscera as components of microbial growth media [J]. Process biochemistry,2005,40(12):3714-3722.
- [12] 万茜,何丽萍,刘良忠,等. 草鱼内脏水解蛋白功能性质及对微生物的培养效果研究[J]. 武汉工业学院学报,2011,30(1):9-14.
- [13] 陈钧辉,李俊,张太平,等. 生物化学实验[M]. 5版. 北京:科学出版社,2008:60-61.
- [14] 杨彬,阮长春,刘志,等. 柱前衍生-反相高效液相色谱法测定柞蚕蜕中氨基酸[J]. 食品科学,2010,31(16):213-216.
- [15] KURBANOGU E B,KURBANOGU N I. A new process for the utilization as peptone of ram horn waste [J]. Journal of bioscience and bioengineering,2002,94(3):202-206.
- [16] 药,2005,28(12):1060-1062.
- [17] 王清吉,王友绍,何磊,等. 厚藤 *Ipomoea pes-caprae* (L.) Sweet 的化学成分研究[J]. 中国海洋药物杂志,2006,25(3):15-17.
- [18] 冯卫生,王彦志,郑晓珂. 中药化学成分结构解析[M]. 北京:科学出版社,2008.
- [19] 张键,孔令义. 蒺藜的化学成分研究[J]. 中国药学杂志,2005,40(23):1778-1780.
- [20] 孟江,董晓萍,姜志宏. 鲜鱼腥草的黄酮类化合物研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(16):1335-1337.
- [21] DASILVA B P,BERNARDO R R,PARENTE J P. Flavonol glycosides from *Costus spicatus* [J]. Phytochemistry,2000,53(1):872-921.
- [22] TERAQ J,PISKULA M,YAO Q. Protective effect of epicatechin,epicatechin gallate,and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers [J]. Archives of biochemistry and biophysics,1994,308(1):278-284.

(上接第76页)

1、5、6、7 为首次从该植物中分离得到。此项研究首次以西藏沙棘为研究对象,对其化学成分进行了初次研究,明确其化学成分,依据成分相应的理化作用,将西藏沙棘添加进藏药中,为西藏藏药的发展和应奠定基础,提供了科学依据。

参考文献

- [1] 祁生贵,李莉. RP-HPLC 法测定中国沙棘和西藏沙棘枝条中黄酮苷含量[J]. 青海大学学报,2011,29(2):58-61.
- [2] 拉琼,张文驹,欧朗,等. 珠穆朗玛峰绒布沟西藏沙棘生境类型及海拔梯度下表型变异[J]. 应用与环境生物学报,2010,16(2):173-178.
- [3] 刘桂艳,郑健,余振喜,等. 五叶木通藤茎甙体和三萜成分研究[J]. 中