

生藤乙酸乙酯部位的化学成分研究

莫小宇^{1*}, 麦景标^{2#}(1.广东医学院附属陈星海医院, 广东 中山 528415; 2.广东三才石岐制药有限公司, 广东 中山 528415)

中图分类号 R284.1; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)15-1409-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.15.23

摘要 目的: 研究生藤乙酸乙酯部位的化学成分。方法: 采用硅胶柱、HP-20大孔吸附树脂柱和Sephadex LH-20凝胶柱色谱等分离手段对生藤乙酸乙酯萃取部位进行分离纯化, 通过波谱数据分析(¹H-NMR、¹³C-NMR)进行结构鉴定。结果: 从生藤乙酸乙酯部位分离出6个化合物, 分别鉴定为apigenin 7-O- α -L-rhamnopyranosyl(1'' \rightarrow 2'')- β -D-glucopyranoside(1)、 α -香树脂醇(2)、6 α -hydroxylup-20(29)-en-3-on-28-oic acid(3)、2 α , 3 β -dihydroxyurs-12-en-28-oic acid(4)、胡萝卜苷(5)、熊果酸(6)。其中, 化合物1~4为首次从该植物中分离得到。结论: 本试验结果可为寻找生藤发汗治感冒的活性成分及探明其作用机制提供依据。

关键词 萝藦科; 生藤; 乙酸乙酯部位; 化学成分

Study on Chemical Constituents of Ethyl Acetate Part of *Stelmato crypton khasianum*

MO Xiao-yu¹, MAI Jing-biao²(1.Chenxinghai Hospital Affiliated to Guangdong Medical College, Guangdong Zhongshan 528415, China; 2.Guangdong Sancai Shiqi Pharmaceutical Co., Ltd., Guangdong Zhongshan 528415, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the chemical constituents of the ethyl acetate part of *Stelmato crypton khasianum*. METHODS: Ethyl acetate part was isolated and purified by silica gel column chromatography, HP-20 macroporous adsorption resin column and Sephadex LH-20. Their chemical structures were elucidated by spectral data(¹H-NMR and ¹³C-NMR). RESULTS: Six compounds were isolated from the ethyl acetate part of *S. khasianum*. They were identified as apigenin 7-O- α -L-rhamnopyranosyl(1'' \rightarrow 2'')- β -D-glucopyranoside(1), α -amyrin(2), 6 α -hydroxylup-20(29)-en-3-on-28-oic acid(3), 2 α , 3 β -dihydroxyurs-12-en-28-oic acid(4), daucosterol(5), ursolic acid(6). Compounds 1, 2, 3 and 4 were isolated from this plant for the first time. CONCLUSION: The trial can provide reference for exploring the perspiration-induced active part of *S. khasianum* curing cold and mechanism study.

KEY WORDS Asclepiadaceae; *Stelmato crypton khasianum*; Ethyl acetate part; Chemical constituents

生藤[*Stelmato crypton khasianum*(Benth.) H. Bail.]系萝藦科须药藤属植物, 主要分布于印度及我国云南、贵州、广西地区, 在云南思茅分布最多。它以藤或全草入药, 味甘、辛, 性温, 具有解表温中、祛风通络的功效, 主要用于治疗感冒、气管炎、胃疼、痞胀及风湿疼痛等^[1]。有关生藤化学成分的研究很少, 仅卢人道等(1963年)^[2]和张庆英等(2000年)^[3]进行过研究。本试验对生藤的化学成分进行了较为系统的分离与鉴定, 旨在寻找其发汗治感冒的活性成分及探明其作用机制。

1 材料

1.1 仪器

AM-400 MHz 与 DRX-500 MHz 型核磁共振光谱(NMR)仪(TMS为内标, 德国Bruker公司); XRC-2型显微熔点仪(温度计未校正, 四川大学光学仪器厂); BL-330H型电子天平(广州市凯士称重设备工程有限公司); 制备型GF₂₅₄薄层板(笔者自制, 厚度约1.0~1.5 mm)。

1.2 试剂

所用试剂均为分析纯; Sephadex LH-20凝胶(40~70 μ m, 瑞典Amersham Biosciences公司); RP-18反相硅胶(40~63

μ m)、HP-20大孔吸附树脂(日本Daiso Co.公司); MCI GEL CHP-20P树脂(75~150 μ m, 日本三菱化学公司); 硅胶G(200~300目)、硅胶H(10~40 μ m)、硅胶GF₂₅₄均购自青岛海洋化工有限公司。

1.3 药材

生藤购于广州中医药大学大药房有限公司, 经广州中医药大学鉴定教研室卢开明教授鉴定为萝藦科须药藤属植物*S. khasianum*(Benth.) H. Bail.的干燥藤。

2 提取与分离

取干燥的生藤8 kg, 粉碎, 以80%乙醇加热回流提取3次, 每次2 h, 合并滤液, 减压浓缩, 得到乙醇浸膏1.45 kg, 加水混悬, 依次用石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇各萃取3次, 减压浓缩各萃取液, 得到石油醚部位45 g、氯仿部位130 g、乙酸乙酯部位120 g、正丁醇部位180 g。

取乙酸乙酯萃取物, 采用硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮(20:1、15:1、10:1、8:1、6:1、4:1、3:1、2:1、1:1, V/V)梯度洗脱, 经薄层色谱(TLC)鉴别, 合并相同部分, 得到Fr.1~Fr.5共5个部分。其中, Fr.1部分经硅胶柱色谱, 用三氯甲烷-乙酸乙酯(20:1、15:1、10:1、8:1、6:1、4:1, V/V)梯度洗脱后再过Sephadex LH-20凝胶柱, 以三氯甲烷-甲醇(7:3, V/V)洗脱, 得到化合物1(40 mg)。Fr.2部分经硅胶柱色谱, 用三氯甲烷-乙酸乙酯(20:1、15:1、10:1、8:1、6:1, V/V)梯度洗脱后再过

* 医师。研究方向: 女性生殖器官肿瘤的中医药防治。E-mail: 619863594@qq.com

通信作者: 药师。研究方向: 药物有效成分筛选。E-mail: maijingbiao168@163.com

Sephadex LH-20 凝胶柱,以三氯甲烷-甲醇(7:3, V/V)洗脱,最后过硅胶柱,以石油醚-乙酸乙酯(6:1, V/V)洗脱,得到化合物 2(28 mg)。Fr.3 部分过 MCI 柱,用 70% 丙酮洗脱后经硅胶柱色谱,以三氯甲烷-甲醇(20:1, 15:1, 10:1, 8:1, 6:1, V/V)梯度洗脱,得到 Fr.3.1~Fr.3.4 共 4 个部分,依次过 Sephadex LH-20 凝胶柱,以三氯甲烷-甲醇(6:4, V/V)洗脱,分别得到化合物 3(25 mg)、4(15 mg)、5(8 mg)、6(7 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: $C_{27}H_{30}O_{14}$, 黄色结晶(甲醇)。mp 262~263 °C。 1H -NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 1.22(3H, d, $J=6$ Hz, H-6''), 5.14(brs, H-1''), 5.23(1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1''), 6.36(1H, d, $J=2$ Hz, H-6), 6.78(1H, d, $J=2$ Hz, H-8), 6.88(1H, s, H-3), 6.95(2H, d, $J=9$ Hz, H-3', 5'), 7.95(2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2', 6')。 ^{13}C -NMR(100 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 155.5(C-1), 164.1(C-2), 103.2(C-3), 182.0(C-4), 161.6(C-5), 99.4(C-6), 162.5(C-7), 94.5(C-8), 157.0(C-9), 105.5(C-10), 121.0(C-1'), 128.5(C-2', 6'), 116.1(C-3', 5'), 161.1(C-4'), 97.8(C-1''), 76.1(C-2''), 77.3(C-3''), 69.5(C-4''), 77.0(C-5''), 60.5(C-6''), 100.5(C-1'''), 70.5(C-2'''), 70.5(C-3'''), 71.8(C-4'''), 68.4(C-5'''), 18.0(C-6''')。上述数据与文献^[4]报道一致,故确认该化合物为 apigenin 7-*O*- α -L-rhamnopyranosyl(1''' \rightarrow 2'')- β -D-glucopyranoside。

化合物 2: $C_{30}H_{50}O$, 白色粉末。mp 229~231 °C。 1H -NMR(500 MHz, C_5D_5N) δ_H : 5.22(1H, t, H-12), 3.48(1H, q, $J_{2\alpha, 3\alpha}=15$ Hz, $J_{3\alpha, 2\beta}=5$ Hz, H-3 α), 1.33, 1.28, 1.18, 1.08, 1.05, 0.92(each 3H, 6 \times CH₃), 0.99(6H, s, 2 \times CH₃)。 ^{13}C -NMR(125 MHz, C_5D_5N) δ_C : 38.8(C-1), 27.5(C-2), 77.5(C-3), 38.6(C-4), 55.0(C-5), 18.2(C-6), 32.5(C-7), 39.6(C-8), 47.5(C-9), 36.5(C-10), 23.0(C-11), 124.3(C-12), 139.3(C-13), 41.5(C-14), 28.2(C-15), 26.2(C-16), 33.2(C-17), 58.5(C-18), 39.2(C-19), 39.0(C-20), 30.8(C-21), 41.2(C-22), 28.2(C-23), 15.2(C-24), 15.8(C-25), 16.5(C-26), 22.8(C-27), 27.5(C-28), 17.0(C-29), 20.8(C-30)。上述数据与文献^[5]报道一致,故确认该化合物为 α -香树脂醇。

化合物 3: $C_{30}H_{46}O_4$, 白色粉末。mp 284~286 °C。 1H -NMR(500 MHz, C_5D_5N) δ_H : 4.98(1H, s, H-29), 4.80(1H, s, H-29), 4.14(1H, m, H-6), 3.52(1H, m, H-19), 1.81, 0.75(each 3H, s, 2 \times CH₃), 1.66, 1.11(each 6H, s, 4 \times CH₃)。 ^{13}C -NMR(125 MHz, C_5D_5N) δ_C : 39.8(C-1), 33.3(C-2), 218.5(C-3), 47.5(C-4), 58.5(C-5), 66.6(C-6), 44.6(C-7), 41.5(C-8), 49.1(C-9), 38.0(C-10), 21.8(C-11), 25.8(C-12), 38.2(C-13), 42.6(C-14), 30.1(C-15), 32.5(C-16), 56.5(C-17), 49.5(C-18), 47.5(C-19), 151.0(C-20), 30.8(C-21), 37.3(C-22), 31.8(C-23), 19.8(C-24), 17.7(C-25), 16.5(C-26), 14.6(C-27), 178.8(C-28), 109.9(C-29), 19.5(C-30)。上述数据与文献^[6]报道一致,故确认该化合物为 6 α -hydroxylup-20(29)-en-3-on-28-oic acid。

化合物 4: $C_{30}H_{48}O_4$, 白色粉末。mp 264~266 °C。 1H -NMR

(500 MHz, C_5D_5N) δ_H : 5.45(1H, t, H-12), 4.09(1H, dt, H-2 β), 3.39(1H, d, $J=9.5$ Hz, H-3a), 2.60(1H, d, $J=11.5$ Hz, H-18), 1.25, 1.19, 1.06, 1.04, 0.95(each 3H, s, H-23, 27, 26, 24, 25), 0.98(3H, d, $J=6.5$ Hz, H-30), 0.93(3H, d, $J=6.5$ Hz, H-29)。 ^{13}C -NMR(125 MHz, C_5D_5N) δ_C : 48.5(C-1), 68.8(C-2), 84.2(C-3), 40.5(C-4), 56.4(C-5), 19.2(C-6), 33.8(C-7), 40.2(C-8), 48.5(C-9), 38.8(C-10), 24.1(C-11), 125.8(C-12), 139.8(C-13), 42.8(C-14), 25.3(C-15), 31.5(C-16), 48.4(C-17), 53.6(C-18), 39.8(C-19), 39.8(C-20), 29.8(C-21), 37.8(C-22), 29.1(C-23), 18.1(C-24), 17.5(C-25), 17.8(C-26), 24.5(C-27), 180.2(C-28), 21.9(C-29), 17.9(C-30)。上述数据与文献^[7]报道一致,故确认该化合物为 2 α , 3 β -dihydroxyurs-12-en-28-oic acid。

化合物 5: $C_{35}H_{60}O_6$, 白色粉末。5% 硫酸香草醛乙醇溶液显色呈紫红色。TLC 检测与胡萝卜苷标准品一致,且混合熔点不下降,故确认该化合物为胡萝卜苷。

化合物 6: $C_{30}H_{48}O_3$, 白色粉末。5% 硫酸香草醛乙醇溶液显色呈紫红色。TLC 检测与熊果酸标准品一致,且混合熔点不下降,故确认该化合物为熊果酸。

4 讨论

本试验从生藤乙酸乙酯部位分离出 6 个化合物,分别鉴定为 apigenin 7-*O*- α -L-rhamnopyranosyl(1''' \rightarrow 2'')- β -D-glucopyranoside(1)、 α -香树脂醇(2)、6 α -hydroxylup-20(29)-en-3-on-28-oic acid(3)、2 α , 3 β -dihydroxyurs-12-en-28-oic acid(4)、胡萝卜苷(5)、熊果酸(6),其中化合物 1~4 为首次从该植物中分离得到。本试验结果可为寻找生藤发汗治感冒的活性成分及探明其作用机制提供依据。

参考文献

- [1] 张庆英,吴刚,刘寿养,等.生藤中新甾体皂苷衍生物的结构鉴定[J].中草药,2002,33(1):6.
- [2] 卢人道,孙汉董,欧乞针.须药藤根的化学成分[J].药学学报,1963,10(11):681.
- [3] 张庆英,赵玉英,刘雪辉,等.生藤化学成分研究[J].中国中药杂志,2000,25(2):101.
- [4] Kee DY, Doc GJ, Yun HH, et al. Inhibitors of osteoclast differentiation from *Cephalotaxus koreana*[J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(12):2 029.
- [5] 杜海燕,江佩芬.菊苣的化学成分研究[J].中国中药杂志,1998,10(11):682.
- [6] Fukuda Y, Sakai K, Matsunaga S, et al. Cancer chemopreventive effect of orally administrated lupane-type triterpenoid on ultraviolet light B induced photocarcinogenesis of hairless mouse[J]. *Cancer Lett*, 2006, 240(1):94.
- [7] Cheng JJ, Zhang LJ, Cheng HL, et al. Cytotoxic hexacyclic triterpene acids from *Euscaphis japonica*[J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(10):1 655.

(收稿日期:2012-05-07 修回日期:2012-07-13)