

• 化学成分 •

川木香根中 1 个新的三萜和 1 个新的甾体类化合物的研究

蓝功财¹, 武志立^{1,2}, 王淑美¹, 李慧梁^{2*}, 张卫东^{1,2*}

1. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006

2. 第二军医大学药学院, 上海 200433

摘要: 目的 对川木香属植物川木香 *Vladimiria souliei* 根的化学成分进行研究。方法 采用正相硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、MCI 中压柱色谱、反相 C₁₈ 柱色谱、高效液相色谱等一系列方法对其进行分离纯化, 根据其理化性质和波谱数据等对化合物结构进行鉴定, 并通过单晶 X-射线衍射实验, 确定化合物 **1** 的绝对构型。结果 从川木香根中共分离鉴定了 3 个化合物, 分别命名为 25-羟基熊果醇 (**1**)、川木香甾醇 (**2**) 和豆甾醇 (**3**)。结论 化合物 **1** 和 **2** 为新化合物, 化合物 **3** 为首次从川木香根中分离得到。

关键词: 川木香; 25-羟基熊果醇; 川木香甾醇; 豆甾醇; 三萜

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)04-0793-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.04.001

A new triterpenoid and a new steroid from roots of *Vladimiria souliei*LAN Gong-cai¹, WU Zhi-li^{1,2}, WANG Shu-mei¹, LI Hui-liang², ZHANG Wei-dong^{1,2}

1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Abstract: Objective To study the chemical compositions from the roots of *Vladimiria souliei*. **Methods** The ethanol extract of the roots of *V. souliei* was isolated by silica gel, Sephadex LH-20, MCI, HPLC, and C₁₈ reverse-phase column chromatographies. Their physical and chemical structures were elucidated by analysis of NMR and MS spectroscopic data, and the absolute configuration of compound **1** was confirmed by Cu-K α X-ray crystallographic analysis. **Results** Three compounds were isolated from the roots of *V. souliei*, and named as 25-hydroxy-uvaol (**1**), vlasoudiol (**2**), and stigmasterol (**3**), respectively. **Conclusion** Compounds **1** and **2** are identified as new compounds, and compound **3** is isolated from the roots of *V. souliei* for the first time.

Key words: *Vladimiria souliei* (Franch.) Ling; 25-hydroxy-uvaol; vlasoudiol; stigmasterol; triterpene

川木香为菊科(Asteraceae)川木香属 *Vladimiria* Iljin 植物川木香 *Vladimiria souliei* (Franch.) Ling 及灰毛川木香 *Vladimiria souliei* (Franch.) Ling var. *cinerea* Ling 的干燥根^[1-2]。川木香属植物 12 种, 主要分布于我国的西南地区, 喜阳, 多生长于海拔较高的地方, 尤其 3 000 m 以上的高山草地和向阳坡地等区域^[3]。川木香辛、温、苦, 归脾、胃、大肠经, 主要具有行气止痛的功效, 临床上用于治疗腹痛肠鸣、胃溃疡、心血管等疾病^[4-6]。现代药理研究表明, 川木香属植物具有抗炎、抗菌及抗肿瘤作用^[7-9],

其化学成分主要为倍半萜类、甾体、三萜、黄酮类、苯丙素类成分^[10-14]。本实验对川木香乙醇提取物的醋酸乙酯部分进行了化学成分研究, 分离得到 3 个化合物, 分别鉴定为 25-羟基熊果醇(25-hydroxy-uvaol, **1**)、川木香甾醇(vlasoudiol, **2**)和豆甾醇(stigmasterol, **3**)。其中, 化合物 **1** 和 **2** 为新化合物, 化合物 **3** 为首次从川木香中分离得到, 结构见图 1。

1 材料与仪器

硅胶 H (10~40 目) 和色谱柱硅胶 (200~300 目, 烟台江友硅胶开发试验厂); MCI gel CHP-20P

收稿日期: 2018-10-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473109)

作者简介: 蓝功财, 男, 硕士生, 研究方向为中药活性先导化合物的发现研究。E-mail: 1527471685@qq.com

*通信作者 李慧梁, 男, 博士, 副教授, 主要从事中药活性先导化合物的发现及创新中药的研究。E-mail: faranli@hotmail.com

张卫东, 男, 博士, 教授, 主要从事中药创新研究。E-mail: wdzhangy@hotmail.com

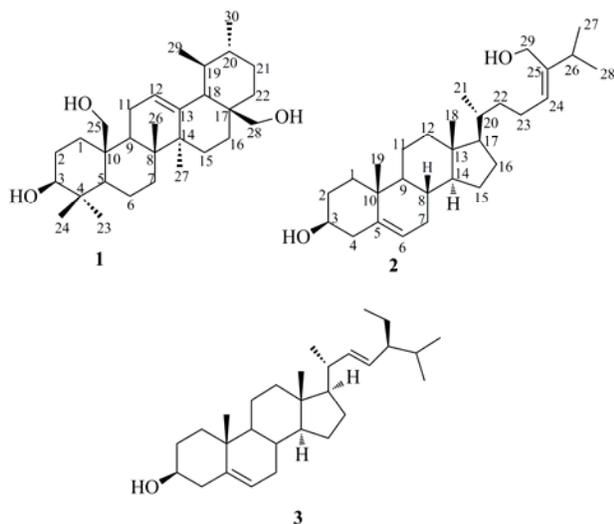


图 1 化合物 1~3 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—3

(日本 Daiso 公司); Sephadex LH-20(美国 Pharmacia Fine Chemicals 公司); RP-C₁₈ (日本 Daiso 公司); TLC 薄层制备硅胶板(烟台江友硅胶开发试验厂); 核磁共振仪: DRX-500 spectrometer (500 MHz) 和 Avance spectrometer (600 MHz) (瑞士 Bruker 公司); Bruker Vector 22 红外光谱仪 (美国 Thermo Scientific 公司); Autopol VI 旋光仪 (serial No. 90079, 美国 Rudolph Research Analytical 公司); 质谱仪: Agilent MSD-Trap-XCT 和 Q-ToF micro mass spectrometer (美国 Agilent 公司); 紫外光谱仪, 配 Agilent 1260 DAD 检测器(美国 Agilent 公司); X-4B 型熔点仪 (上海精科科技公司)。

中药川木香产自于四川省金川县, 由第二军医大学药学院生药教研室黄宝康教授鉴定为菊科川木香属植物川木香 *Vladimiria souliei* (Franch.) Ling 的干燥根, 标本(201612-VS)保存于第二军医大学药学院天然药物化学教研室。

2 提取与分离

川木香根(10 kg), 晒干粉碎, 用 60 L 的 95% 乙醇室温浸泡过夜, 每天 1 次, 共 3 次, 然后将提取液进行减压蒸馏浓缩, 最终得到乙醇浸膏(1.5 kg)。将乙醇浸膏混悬于水中, 分别用石油醚和醋酸乙酯进行萃取, 最终得到醋酸乙酯部位(690 g)、石油醚部位(525 g)和水部位(285 g)。醋酸乙酯部位用 MCI gel 树脂拌样后用中压柱色谱分离, 以甲醇-水(30:70→100:0)进行梯度洗脱, 得到 8 个组分(Fr. 1~8); Fr. 4(52.5 g)再经 ODS 反相硅胶拌样后中压柱色谱分离, 用甲醇-水(30:70→

100:0)梯度洗脱, 得到 10 个馏份(Fr. 4.1~4.10)。Fr. 4.5(12.4 g)用 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯-甲醇(10:10:1)进行洗脱, 得到 9 个馏分(Fr. 4.5.1~4.5.9); 其中 Fr. 4.5.7 通过 YMC-C₁₈(250 mm×20 mm, 5 μm)半制备色谱柱, 以 70% 甲醇水溶液为流动相, 体积流量 1 mL/min 进行 HPLC 半制备分离, 得到化合物 1($t_R=44$ min, 8.8 mg); Fr. 6 分别经过 ODS 反相硅胶柱色谱(甲醇-水 30:70→100:0)、Sephadex LH-20 柱色谱(石油醚-醋酸乙酯-甲醇 10:10:1)进行分离后得到组分 Fr. 6.3.7, 该组分进一步通过 HPLC 分离(半制备色谱柱 YMC-C₁₈, 250 mm×20 mm, 5 μm), 65% 甲醇水溶液为流动相, 体积流量 1 mL/min, 得到化合物 2($t_R=33$ min, 35.6 mg)和 3($t_R=37$ min, 39.4 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, mp 236~239 °C, $[\alpha]_D^{25} +38.8^\circ$ (c 0.10, CH₃OH), UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 210; IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 442, 3 081, 2 927, 2 856, 1 660, 1 454, 1 382, 1 251, 1 236, 1 118, 892, 752, 669; 通过正离子模式 HR-ESI-MS (m/z 481.365 6 [M+Na]⁺, 计算值 481.366 7) 确定分子式为 C₃₀H₅₀O₃, 计算不饱和度为 6。通过分析 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 谱图数据(表 1)中含有特征信号, 包括 6 个甲基信号 δ_H 0.80 (3H, d, $J = 5.9$ Hz), 0.86 (3H, s), 0.93 (3H, d, $J = 5.8$ Hz), 1.03 (3H, s), 1.09 (3H, s), 1.10 (3H, s)、2 组羟甲基双峰信号 δ_H 4.10 (1H, d, $J = 12.1$ Hz), 3.99 (1H, d, $J = 12.1$ Hz) 和 3.54 (1H, d, $J = 11.0$ Hz), 3.19 (1H, d, $J = 11.0$ Hz)、1 个烯氢信号 δ_H 5.12 (1H, dd, $J = 2.7, 4.7$ Hz)。同时 ¹³C-NMR 与 DEPT 谱图显示该化合物含有 30 个碳原子, 包括 6 个甲基、11 个亚甲基(包括 2 个羟甲基 δ_C 61.6 和 69.9)、7 个次甲基(包括 1 个 sp² 双键碳 δ_C 125.4、1 个连氧次甲基 δ_C 79.0)、6 个季碳(包括 1 个 sp² 双键碳 δ_C 138.7)。根据 NMR 信号推测其可能是 1 个 30 个碳原子组成的五环三萜类化合物。

该化合物平面结构通过 HSQC、¹H-¹H COSY 和 HMBC 核磁共振谱图确定, 如图 2 所示。通过 ¹H-¹H COSY 相关信号 H₂-1/H₂-2/H-3、H-5/H₂-6/H₂-7、H-9/H₂-11/H-12 和 H-18/H-19/H-20/H₂-21/H₂-22, 以及 HMBC 相关信号 H₃-23/C-3、C-4 和 C-24、H₃-24/C-3 和 C-4、H₃-26/C-7、C-8 和 C-9、H₃-27/C-13、C-14 和 C-15、H₃-29/C-18 和 C-19、H₃-30/C-19 和

表 1 化合物 1 和 2 的 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) 数据
Table 1 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) and $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) spectroscopic data for compounds 1 and 2

碳位	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	2.26 (m), 0.90 (m)	33.6	1.50 (2H, m)	21.1
2	1.65 (m), 1.25 (m)	28.3	1.96 (m), 1.05 (m)	31.9
3	3.28 (dd, $J = 5.2, 10.8$ Hz)	79.0	3.51 (m)	71.8
4		38.8	2.28 (m), 2.12 (m)	42.3
5	0.84 (m)	55.1		140.7
6	1.51 (m), 1.32 (m)	18.0	5.34 (t, $J = 5.2$ Hz)	121.7
7	1.56 (m), 1.37 (m)	32.9	2.01 (2H, m)	27.5
8		40.2	1.44 (m)	31.9
9	1.61 (m)	48.2	0.93 (m)	50.1
10		41.2		36.5
11	2.29 (m), 2.10 (m)	25.1	2.03 (m), 1.17 (m)	39.7
12	5.12 (dd, $J = 2.7, 4.7$ Hz)	125.4	1.83 (m), 1.07 (m)	37.2
13		138.7		42.3
14		42.2	1.00 (m)	56.7
15	1.82 (m) 1.02 (m)	26.0	1.83 (m), 1.26 (m)	28.2
16	1.92 (m) 1.21 (m)	23.2	1.59 (m), 1.07 (m)	24.3
17		48.2	1.13 (m)	55.9
18	1.37 (m)	53.9	0.68 (s)	11.9
19	0.93 (m)	39.4	1.00 (s)	21.4
20	1.36 (m)	39.3	1.41 (m)	36.1
21	1.46 (m), 1.02 (m)	30.6	0.95 (d, $J = 6.5$ Hz)	18.9
22	1.55 (m), 1.38 (m)	35.2	1.52 (m), 1.16 (m)	35.6
23	1.03 (s)	28.7	2.28 (m), 2.12 (m)	42.3
24	0.86 (s)	15.8	5.29 (t, $J = 7.7$ Hz)	121.8
25	4.10 (d, $J = 12.1$ Hz), 3.99 (d, $J = 12.1$ Hz)	61.6		149.9
26	1.09 (s)	17.1	2.83 (m)	29.4
27	1.10 (s)	23.6	1.50 (d, $J = 5.5$ Hz)	21.5
28	4.54 (d, $J = 11.0$ Hz), 3.19 (d, $J = 11.0$ Hz)	69.9	1.01 (d, $J = 5.7$ Hz)	19.4
29	0.80 (d, $J = 5.9$ Hz)	17.3	4.20 (d, $J = 7.7$ Hz), 4.18 (d, $J = 7.7$ Hz)	58.8
30	0.93 (d, $J = 5.8$ Hz)	21.3		

C-20、H₂-25/C-1、C-5 和 C-10、H₂-26/C-16、C-17、C-18 和 C-22 推导出该化合物平面结构类似于已知化合物 uvaol^[15], 两者的不同之处为化合物 1 的 C-25 位为连接羟基的亚甲基, 因此化合物 1 的平面结构如图 1。在化合物 1 的 NOESY 谱中, 可以观察到 NOESY 相关信号 H-3/H₃-23/H-5/H-9/H₃-27, 表明这些氢是 α -构型; 同时 NOESY 相关信号 H-18/H-20/H₃-29 表明这些氢原子应该为 β -构型。通过单晶 Cu-K α X-ray 衍射实验 (图 3), 化合物 1 的绝对构型被确定为 3S,8R,10S,14S,17S,19S,20R。综上

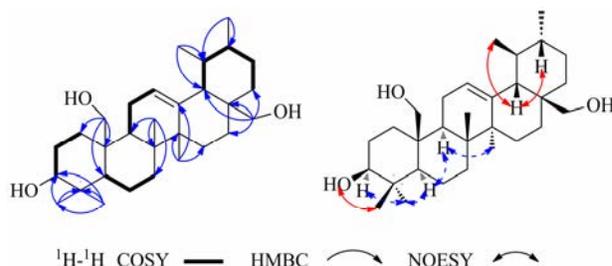


图 2 化合物 1 的重要 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY、HMBC 和 NOESY 相关
Fig. 2 Key $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY, HMBC, and NOESY correlation of compound 1

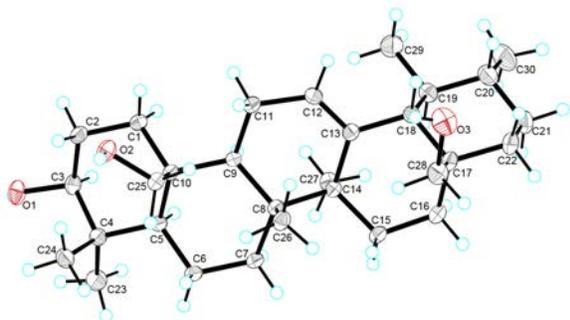


图3 化合物1的X-ray单晶衍射图

Fig. 3 Crystallographic structure of compound 1

所述, 化合物1的结构及其构型最终确定见图1, 为1个新的乌苏烷三萜类化合物, 将其命名为25-羟基熊果醇。

化合物2: 白色粉末, mp 161~164 °C, $[\alpha]_D^{25}$ -23.3° (c 0.07, CH₃OH), UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 210; IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 423, 2 964, 2 935, 2 902, 2 884, 2 865, 1 648, 1 467, 1 440, 1 382, 1 359, 1 241, 1 060, 958, 732, 590; 通过正离子模式 HR-ESI-MS (m/z : 451.371 5 [M+Na]⁺, 计算值 451.370 0) 确定分子式为 C₂₉H₄₈O₂, 计算不饱和度为 6。通过分析 ¹H-NMR 谱图数据 (表1) 中含有的特征信号, 包括5个甲基信号 δ_{H} 0.68 (3H, s), 0.95 (3H, d, J = 6.5 Hz), 0.99 (3H, s), 1.01 (3H, d, J = 5.7 Hz), 1.50 (3H, d, J = 5.5 Hz)、1组羟甲基信号 δ_{H} 4.20 (H, d, J = 7.7 Hz), 4.18 (H, d, J = 7.7 Hz)、2个烯氢信号 δ_{H} 5.34 (1H, t, J = 5.2 Hz), 5.29 (1H, t, J = 7.7 Hz)。同时 ¹³C-NMR 与 DEPT 谱图数据显示该化合物含有29个碳原子, 包括5个甲基、11个亚甲基 [包括1个羟甲基 δ_{C} 58.8、9个次甲基 (含2个 sp² 双键碳 δ_{C} 121.7 和 121.8、1个含氧次甲基 δ_{C} 71.8) 和4个碳 (包括2个 sp² 双键碳 δ_{C} 140.8, 149.9)]。根据化合物2的NMR数据, 推测其可能是1个29个碳原子的甾体类化合物。

化合物2的平面结构进一步通过 HSQC、¹H-¹H COSY 和 HMBC 二维核磁共振数据确定, 如图4所示。通过 ¹H-¹H COSY 相关信号 H₂-1/H₂-2/H-3/H₂-4、H-6/H₂-7/H₂-8/H-9/H₂-11/H₂-12 和 H-8/H-14/H₂-15/H₂-16/H-17/H-20/H₂-22/H₂-23/H-24, 以及 HMBC 相关信号 H₃-18/C-12、C-13、C-14 和 C-17; H₃-19/C-1、C-5、C-9 和 C-10; H₃-21/C-17 和 C-20; H₃-28/C-25、C-26 和 C-27; H₂-29/C-25 和 C-24; H₂-4/C-2、C-3、C-5 和 C-6。上述数据表明化合物2的平面结构类

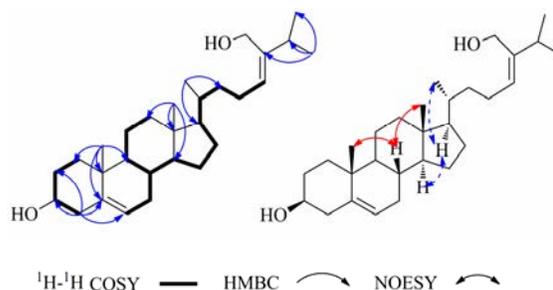


图4 化合物2的重要¹H-¹H COSY、HMBC和NOESY相关
Fig. 4 Key ¹H-¹H COSY, HMBC and NOESY correlation of compound 2

似于 29-hydroxystigmasta-5,24(28)-dien-3 β -ol^[16], 两者的不同之处为化合物2支链上的异丙基连接在了C-25位上而 29-hydroxystigmasta-5,24(28)-dien-3 β -ol 连接在了C-24位, 这一结论通过 ¹H-¹H COSY 相关信号 H-17/H-20/H₂-22/H₂-23/H-24 也得到证实。在化合物2的NOESY谱中, 可以观察到NOESY相关信号 H₃-19/H-8/H₃-18, 表明这些氢或取代基是 β -构型; 同时NOESY相关信号 H-14/H-17/H₃-21 提示这些氢原子应该为 α -构型。由此, 化合物2的结构得以确定, 如图1所示, 为1个新化合物, 命名为川木香甾醇。

化合物3: 白色粉末, ESI-MS 谱图数据显示分子离子峰为 m/z : 412.4 [M+Na]⁺, 结合NMR谱图数据确定分子式 C₂₉H₅₀O, 计算不饱和度为 6。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.34 (1H, dd, J = 5.3, 9.8 Hz, H-6), 5.15 (1H, dd, J = 15.0, 8.7 Hz, H-22), 5.02 (1H, dd, J = 15.1, 8.7 Hz, H-23), 3.52 (1H, m, H-3); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 140.7, 138.3, 129.3, 121.7, 71.8, 56.8, 55.9, 51.2, 50.1, 42.3, 42.2, 40.5, 39.7, 37.2, 36.8, 31.9, 31.9, 31.6, 31.6, 28.9, 25.4, 24.3, 21.2, 21.1, 21.1, 19.4, 19.0, 12.2, 12.0。初步推断该化合物为甾醇类化合物。通过与文献数据比较^[17], 确定化合物3为豆甾醇。

4 讨论

川木香属 *Vladimiria* Iljin 植物川木香根作为传统中药材, 临床上经常用于治疗腹痛肠鸣、胃溃疡、心血管等疾病。本实验为了进一步探究其药效物质基础, 主要对川木香根的乙醇提取物化学成分进行了研究, 共分离鉴定3个化合物。其中, 化合物1和2为新化合物。化合物3为首次从川木香植物中分离得到。同时此研究结果对川木香根的化学成分研究提供了宝贵的资料, 为今后的开发和利用也提供了参考和依据。

参考文献

- [1] 王战国, 赖先荣, 肖莹莹, 等. 川木香的研究进展 [J]. 中国药房, 2006, 17(4): 303-304.
- [2] 魏 华, 何春年, 彭 勇, 等. 川木香化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(9): 1249-1253.
- [3] 许 靖, 刘翠周, 郭远强, 等. 川木香化学及药理研究进展 [A] // 第十届全国中药和天然药物学术研讨会论文集 [C]. 北京: 中国药学会中药与天然药物专业委员会, 2009.
- [4] Zhou Y J, Ning B M, Gao Y L. Study on chemical constituents of *Radix Yuexi* [J]. *Chin J Pharm*, 2002, 37(8): 574-577.
- [5] Li C L, Sheng J. Chemical constituents and anti-acetylcholinesterase activities of *Dolomiaea wardii* [J]. *Adv Mater Res*, 634(2013): 901-904.
- [6] 赖先荣, 吴秦西, 向永臣, 等. 均匀设计优选藏药如达胃宁的组方 [J]. 中国药房, 2010, 21(19): 1734-1736.
- [7] Chen J J, Wei H B, Xu Y Z, et al. Antioxidant lignans from the roots of *Vladimiria muliensis* [J]. *Planta Med*, 2013, 79(15): 1470-1473.
- [8] Chen J J, Li Z M, Gao K, et al. Vladimuliecin A and B: Cytotoxic pentacyclic pregnanols from *Vladimiria muliensis* [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(6): 1128-1132.
- [9] Xu J, Zhang P, Ma Z, et al. Two carabran-type sesquiterpenes from *Vladimiria souliei* [J]. *Phytochem Lett*, 2009, 2(4): 204-206.
- [10] Tan R X, Jakupovic J, Jia Z J. Aromatic constituents from *Vladimiria souliei* [J]. *Planta Med*, 1990, 56(5): 475-477.
- [11] Xu J, Zhao X J, Gao Y Q, et al. A new sesquiterpene from the roots of *Vladimiria souliei* [J]. *Chin Chem Lett*, 2009, 20(12): 1472-1474.
- [12] Wei H, Ma G, Peng Y, et al. Chemical constituents of the roots of *Dolomiaea souliei* [J]. *Chem Nat Compd*, 2014, 50(3): 1249-1253.
- [13] Tan R X, Jakupovic J, Bohlmann F, et al. Sesquiterpene lactones from *Vladimiria souliei* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(14): 1209-1212.
- [14] 高宇明. 川木香的化学成分及质量标准的初步研究 [D]. 成都: 西南民族大学, 2010.
- [15] Yan X T, Lee S H, Li W, et al. Terpenes and sterols from the fruits of *Prunus mume* and their inhibitory effects on osteoclast differentiation by suppressing tartrate-resistant acid phosphatase activity [J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(2): 186-192.
- [16] Shen J H, Wang G H, Shun P J, et al. Cytotoxic sterols from the formosan brown alga *turbinaria ornate* [J]. *Planta Med*, 1997, 63(6): 571-572.
- [17] Ee G C L, Ku A S M, Lim C K, et al. Inophyllin A, a new pyranoxanthone from *Calophyllum inophyllum* Guttiferae [J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(10): 1145-1149.

• 封面图片介绍 •

射 干



射干为鸢尾科植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC. 的干燥根茎。呈不规则结节状, 长 3~10 cm, 直径 1~2 cm。表面黄褐色、棕褐色或黑褐色, 皱缩, 有较密的环纹。上面有数个圆盘状凹陷的茎痕, 偶有茎基残存; 下面有残留细根及根痕。质硬, 断面黄色, 颗粒性。气微, 味苦、微辛。春初刚发芽或秋末茎叶枯萎时采挖, 除去须根和泥沙, 干燥。射干生于林缘或山坡草地, 大部分生于海拔较低的地方, 但在西南山区, 海拔 2 000~2 200 m 处也可生长。喜温暖和阳光, 耐干旱和寒冷, 对土壤要求不严, 山坡旱地均能栽培。中国吉林、辽宁、河北、山西、山东、河南、安徽、江苏、浙江、福建、台湾、湖北、湖南、江西、广东、广西、陕西、甘肃、四川、贵州、云南、西藏等省区均有分布。

射干能清热解毒、散结消炎、消肿止痛、止咳化痰, 用于治疗扁桃腺炎及腰痛等症。