

东北铁线莲化学成分研究

史社坡¹, 蒋 丹², 董彩霞³, 屠鹏飞^{1*}

(1. 北京大学药学院, 北京 100083; 2. 东北师范大学, 吉林 长春 130024; 3. 陕西中医学院, 陕西 咸阳 712046)

摘要:目的 研究东北铁线莲 *Clematis manshurica* 的化学成分。方法 利用硅胶、Sephadex LH-20、PHPLC 等色谱方法进行化合物的分离纯化, 根据化合物的理化性质、光谱数据进行结构鉴定。结果 分离得到 11 个化合物, 分别鉴定为角鲨烯(I)、木栓酮(II)、正二十六烷酸(III)、 β -谷甾醇(IV)、豆甾醇(V)、齐墩果酸(VI)、 β -胡萝卜素(VII)、5-羟甲基糠醛(VIII)、丹参素甲酯(IX)、5R-5-羟甲基-2(3H)-呋喃酮(X)、5R-5-羟甲基-2(5H)-呋喃酮(XI)。结论 11 个化合物除 β -谷甾醇外均为首次从东北铁线莲中分离得到。

关键词: 东北铁线莲; 铁线莲属; 丹参素甲酯

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)03-0335-03

Chemical constituents of *Clematis manshurica*SHI She-po¹, JIANG Dan², DONG Cai-xia³, TU Peng-fei¹

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100083, China; 2. Northeast Normal University, Changchun 130024, China; 3. Shaanxi College of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents of *Clematis manshurica*. **Methods** The extract from the roots and rhizomes of *C. manshurica* was subjected to chromatography on silica gel and Sephadex LH-20 column. The compounds obtained were identified on the basis of their physicochemical and spectroscopic evidences. **Results** Eleven compounds were isolated and their structures were elucidated as squalene (I), friedelin (II), hexacosic acid (III), β -sitosterol (IV), stigmasterol (V), oleanolic acid (VI), β -daucosterol (VII), 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (VIII), methyl 3, 4-dihydroxy-phenyl lactate (IX), 5R-dihydro-5-hydroxymethyl-2(3H)-furanone (X), 5R-5-hydroxymethyl-2(5H)-furanone (XI).

Conclusion All the compounds except for β -sitosterol are isolated from the plant for the first time.

Key words: *Clematis manshurica* Rupr.; *Clematis* L.; methyl 3, 4-dihydroxy-phenyl-lactate

毛茛科铁线莲属(*Clematis* L.)植物在全世界有 300 种左右, 我国大约有 110 种, 主要分布于我国西南地区, 有许多种类作为药用。东北铁线莲 *Clematis manshurica* Rupr. 为临床上中药威灵仙的主要来源之一, 《中国药典》2005 年版将东北铁线莲 *C. manshurica* Rupr.、棉团铁线莲 *C. hexapetala* Pall. 和威灵仙 *C. chinensis* Osbeck 3 种植物的根及根茎作为临床上威灵仙的正品药材应用。主要用于治疗风湿痹痛、关节不利等证。现代药理研究表明威灵仙有很好的抗炎、镇痛、抗肿瘤等活性。目前文献中对威灵仙 *C. chinensis* Osbeck 的化学成分报道较多, 已从中分离得到了近 30 个皂苷类成分, 另外还有木脂素、黄酮等^[1], 但有关东北铁线莲的化学成

分研究较少, 仅见于 20 世纪 70 年代前苏联学者从中分离鉴定了 4 个皂苷类成分^[1]; 国内学者从中分离得到了 3-O-乙酰基齐墩果酸、18 α -齐墩果烷以及 β -谷甾醇^[2], 因此, 笔者对东北铁线莲进行了系统的化学成分研究, 从中分离鉴定了 11 个化合物: 角鲨烯(I)、木栓酮(II)、正二十六烷酸(III)、 β -谷甾醇(IV)、豆甾醇(V)、齐墩果酸(VI)、 β -胡萝卜素(VII)、5-羟甲基糠醛(VIII)、丹参素甲酯(IX)、5R-5-羟甲基-2(3H)-呋喃酮(X)、5R-5-羟甲基-2(5H)-呋喃酮(XI)。这些化合物除 β -谷甾醇外均为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

柱色谱所用 Sephadex LH-20 为 Pharmacia

收稿日期: 2006-06-14

基金项目: 国家“十五”重大科技专项资助项目(2004AA223730)

作者简介: 史社坡(1976—), 男, 河南省洛阳市人, 北京大学药学院 03 级生药专业博士研究生, 专业方向为天然药物活性成分与新药开发。Tel: (010)82801702 E-mail: shispo.Student@sina.com

* 通讯作者 屠鹏飞 Tel/Fax: (010)82802750 E-mail: pengfeitu@bjmu.edu.cn

Biotech 产品; 硅胶 H 由青岛海洋化工厂生产 (160~200 目); TLC 吸附剂为硅胶 GF₂₅₄ (10~40 μm), 由青岛海洋化工厂生产, 以 0.5% CMC-Na 制板, 阴干, 105 $^{\circ}\text{C}$ 活化 0.5 h。

Waters 600 高效液相色谱仪, Alltech ODS C₁₈ 色谱柱 (250 mm $\times$ 10 mm, 5 μm), Waters 2996 二极管阵列检测器; Autospec-Ultima ETOF 质谱仪; Inova 300 核磁共振仪 (TMS 为内标); Perkin Elmer 243B digital polarimeter 旋光测定仪; X-4 数字熔点测定仪。所用试剂均为分析纯及化学纯, 由北京化工厂提供。东北铁线莲采自黑龙江, 经北京大学药学院屠鹏飞教授鉴定为毛茛科铁线莲属植物东北铁线莲 *C. manshurica* Rupr. 的干燥根和根茎, 标本存于北京大学中医药现代研究中心 (标本编号: CM200208)。

2 提取与分离

东北铁线莲干燥根和根茎 (15 kg) 除去泥沙, 粉碎成粗粉, 依次用 8 倍、6 倍、6 倍量 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1 h。提取液减压回收溶剂得膏状物 (1.7 kg), 用水混悬, 依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取。

石油醚萃取物 30 g 经硅胶柱色谱分离, 用氯仿-甲醇系统梯度洗脱得到 5 个流分 Fr. 1~5。Fr. 1 经环己烷-氯仿 (20:1) 洗脱, 反复硅胶柱色谱分离得化合物 I (20 mg); Fr. 2 于氯仿-甲醇 (1:1) 中反复重结晶得化合物 II (50 mg); Fr. 3 用氯仿反复洗脱并于氯仿-甲醇 (5:1) 中反复重结晶得化合物 III (150 mg); Fr. 4 经氯仿-甲醇 (25:1) 洗脱, 反复硅胶柱色谱分离得化合物 IV (12 mg); Fr. 5 甲醇加热溶解并于冰箱中放置过夜, 除去油脂状沉淀, 然后反复用硅胶柱色谱分离纯化并于氯仿-甲醇中重结晶得到化合物 V (4 mg) 和化合物 VI (24 mg)。

醋酸乙酯萃取物 40 g 经硅胶柱色谱分离, 用氯仿-甲醇系统梯度洗脱得到 8 个流份 Fr. 1~8。Fr. 1 经反复硅胶柱色谱分离得化合物 VII (16 mg); Fr. 2 经反复硅胶柱色谱分离得化合物 VIII (30 mg); Fr. 3 经凝胶柱色谱分离得 SubFr. 1, 2, SubFr. 1 经反复凝胶柱色谱纯化得化合物 IX (6 mg); SubFr. 2 经氯仿-甲醇 (10:1) 洗脱, 反复硅胶柱色谱分离并经 PHPLC 纯化, 其中甲醇-水 (97:3), 体积流量: 1.5 mL/min, 得化合物 X (5 mg) 和 XI (9 mg)。

3 鉴定

化合物 I: 无色油状液体, 易溶于石油醚、氯仿。硫酸-乙醇显紫红色。EI-MS 给出分子离子峰 410;

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 5.15 (6H, m, H-3, 7, 11, 14, 18, 22), 1.98~2.07 (20H, m, H-4, 5, 8, 9, 12, 13, 16, 17, 20, 21), 1.68 (6H, br. s, H-1, 24), 1.60 (18H, s, H-2', 6', 10', 15', 19', 23')。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 135.1 (C-10, 15), 134.9 (C-6, 19), 131.2 (C-2, 23), 124.4 (C-3, 22), 124.3 (C-11, 14), 124.27 (C-7, 18), 39.8 (C-5, 9, 16, 20), 28.3 (C-12, 13), 26.8 (C-4, 21), 26.7 (C-8, 17), 25.7 (C-2', 23'), 17.7 (C-1, 24), 16.0 (C-10', 15'), 15.99 (C-6', 19')。与文献报道的角鲨烯数据一致^[3], 因此确定其结构为角鲨烯。

化合物 II: 无色针状结晶, 硫酸-乙醇显紫红色。EI-MS、 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道的木栓酮数据一致^[3], 因此确定其结构为木栓酮。

化合物 III: 白色块状结晶, 易溶于氯仿。EI-MS 给出分子离子峰 396 和 382, 368, 354, 340, 326 等系列失 CH_2 碎片离子峰。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 0.88 (3H, t, $J=7.2$ Hz), 1.25 (44H, m), 1.63 (2H, m), 2.35 (2H, t, $J=7.2$ Hz), 为典型的长链脂肪酸氢谱特征, 结合质谱确定其结构为正二十六烷酸。

化合物 IV~VII 经与对照品共薄层, TLC 结果完全一致, 且混合熔点不下降, 因此分别确定其结构依次为 β -谷甾醇、豆甾醇、齐墩果酸和 β -胡萝卜素。

化合物 VIII: 棕黄色膏状物, 易溶于甲醇。硫酸-乙醇显暗褐色斑点。EI-MS (m/z): 126 (M^+), 97, 81, 69, 53, 41, 39; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 9.59 (1H, s, CHO), 7.23 (1H, d, $J=3.5$ Hz), 6.53 (1H, d, $J=3.5$ Hz), 4.68 (2H, s, CH_2O); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 177.7, 160.7, 152.3, 122.9, 110, 51.9。数据与文献报道的 5-羟甲基糠醛一致^[4], 因此确定其结构为 5-羟甲基糠醛。

化合物 IX: 棕黄色粉末, $[\alpha]_D^{20} - 9.6^{\circ}$ (c 2.3, MeOH); $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6 , 300 MHz) δ : 6.73 (1H, d, $J=2.1$ Hz), 6.71 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 6.56 (1H, dd, $J=2.1, 8.1$ Hz), 2.91 (1H, dd, $J=4.8, 13.5$ Hz), 2.79 (1H, dd, $J=7.2, 13.5$ Hz), 4.30 (1H, dd, $J=4.8, 7.2$ Hz), 3.64 (3H, s, OCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (acetone- d_6 , 75 MHz) δ : 129.7 (C-1), 117.3 (C-2), 145.4 (C-3), 144.4 (C-4), 115.7 (C-5), 121.6 (C-6), 40.7 (C-7), 72.7 (C-8), 174.9 (C-9), 51.9 (OCH_3)。以上数据与文献报道的丹参素正丁醇酯比较^[5], 除丁醇基变成甲氧基外, 其他数据一致, 因此其结构确定为丹参素甲酯。

化合物 X: 无色油状物, $[\alpha]_D^{20} - 30^{\circ}$ (c 0.38, E-

tOH); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 4.67 (1H, m, H-4), 3.91 (1H, dd, $J=3.0, 12.6$ Hz, H-5a), 3.68 (1H, dd, $J=4.5, 12.6$ Hz, H-5b), 2.48~2.67 (2H, m, H-2), 2.12~2.34 (2H, m, H-3); $^{13}\text{C-NMR}$ (acetone- d_6 , 75 MHz) δ : 178.2 (C-1), 28.5 (C-2), 22.9 (C-3), 81.0 (C-4), 63.7 (C-5)。以上数据与文献报道一致^[6], 因此确定其结构为 5R-5-羟甲基-2(3H)-呋喃酮。

化合物 XI: 无色油状物, $[\alpha]_D^{20} + 27^\circ$ (c 0.35, EtOH); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 7.60 (1H, m, H-2), 6.19 (1H, dd, m, H-3), 5.20 (1H, m, H-4), 4.05 (1H, m, H-5a), 3.81 (1H, m, H-5b); $^{13}\text{C-NMR}$ (acetone- d_6 , 75 MHz) δ : 173.8 (C-1), 122.3 (C-2), 154.4 (C-3), 84.4 (C-4), 61.6 (C-5)。以上数据与文献报道一致^[7], 因此鉴定其结构为 5R-5-羟甲基-2(5H)-呋喃酮。

致谢: MS、NMR 由北京大学医学部分析测试中心乔梁、李军代测。

References

- [1] Song Z H, Zhao Y Y, Duan J L, *et al.* The advances of the research on the chemical constituents and pharmacological activity of *Clematis* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1995, 7(2): 66-71.
- [2] Li S Z, Yang L H, Qi Z B. Study on the chemical constituents of the leaves and stems of *Clematis manshurica* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(1): 56-57.
- [3] Liu J, Xie T, Wei X L, *et al.* Chemical studies on *Rabdosia rubescens* [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2004, 2(5): 276-279.
- [4] Kazuo I, Takeshi K, Ushio S. The screening of Chinese crude drugs for Ca^{2+} antagonist activity: Identification of active principles from the aerial part of *Pogostemon cablin* and the fruits of *Prunus mume* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37(2): 345-348.
- [5] Zheng X K, Li Q, Feng W S. Studies on the water-soluble chemical constituents of *Rabdosia rubescens* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2004, 16(4): 300-302.
- [6] Margus L, Anne P, Tonis K, *et al.* Asymmetric baeyer-villiger oxidation of cyclobutanones [J]. *Tetrahedron Lett*, 1996, 37(42): 7583-7586.
- [7] Fabil F, Manfred P S. A novel synthesis of 2-deoxy-L-ribose [J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, 11: 1869-1876.

点柄乳牛肝菌子实体中抗 HIV-1 活性成分

董泽军¹, 王 飞¹, 王睿睿², 杨柳萌², 郑永唐², 刘吉开^{1*}

(1. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204; 2. 中国科学院昆明动物研究所, 云南 昆明 650223)

摘要: 目的 研究点柄乳牛肝菌的化学成分, 并对分离鉴定的化合物进行抗 HIV-1 的活性研究。方法 将野外采集的点柄乳牛肝菌子实体用溶剂提取, 采用硅胶柱色谱进行分离, 通过波谱技术(NMR, MS, IR 等)对结构进行鉴定。结果 分离鉴定了 9 个化合物, 分别为: 酒渣碱(I)、5 α , 8 α -过氧麦角甾-6, 22-二烯-3 β -醇(II)、麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -醇(III)、麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -O- β -D-吡喃葡萄糖苷(IV)、尿嘧啶(V)、硫代乙酸酐(VI)、硬脂酸(VII)、3-吡啶甲酸(VIII)和 D-阿洛糖醇(IX)。结论 化合物 I 为首次从高等真菌中分离。经生物活性测试, 该化合物具有抗 HIV-1 活性, 对 C8166 细胞的毒性较小, CC_{50} 为 87.86 $\mu\text{g/mL}$, 对 HIV-1 诱导 C8166 细胞形成合胞体抑制的 EC_{50} 为 7.27 $\mu\text{g/mL}$, 治疗指数(TI 值)为 12.09。

关键词: 点柄乳牛肝菌; 酒渣碱; 抗 HIV-1 活性

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2007)03-0337-03

Chemical constituents of fruiting bodies from basidiomycete

Suillus granulatus and their anti-HIV-1 activity

DONG Ze-jun¹, WANG Fei¹, WANG Rui-rui², YANG Liu-meng², ZHENG Yong-tang², LIU Ji-kai¹

(1. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; 2. Kunming

Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

Key words: *Suillus granulatus*; flazine; anti-HIV-1

收稿日期: 2006-06-11

基金项目: 国家科技攻关计划(992004BA719A14); 云南省科技攻关计划(2004NG12)

作者简介: 董泽军(1974-), 男, 助理研究员, 贵州省瓮安县人, 1998 年毕业于贵阳医学院药系, 主要从事高等真菌化学及生物活性研究。Tel: (0871)5212285 E-mail: zjdong@mail.kib.ac.cn

* 通讯作者 刘吉开 Tel: (0871)5216327 Fax: (0871)5150227 E-mail: jkliu@mail.kib.ac.cn