

昆明山海棠化学成分的研究

王芳¹, 张瑜², 赵余庆^{1*}

1. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

2. 延边大学药学院, 吉林 延吉 133000

摘要: 目的 研究昆明山海棠的化学成分。方法 采用硅胶柱、半制备柱、凝胶色谱以及重结晶等方法, 从昆明山海棠根的氯仿乳化层中分离得到 12 个化合物。通过理化性质和波谱学分析, 鉴定它们的化学结构。结果 分离得到了 12 个化合物, 分别鉴定为山海棠二萜内酯 A (1)、齐墩果酸乙酸酯 (2)、齐墩果酸 (3)、雷公藤内酯乙 (4)、雷公藤内酯甲 (5)、山海棠素 (6)、雷酚新内酯 (7)、 β -谷甾醇 (8)、胡萝卜苷 (9)、3-氧代齐墩果酸 (10)、木栓酮 (11)、原花青素 B₂ (12)。结论 系统分离并鉴定了昆明山海棠根氯仿乳化层的化学成分。化合物 10~12 均为首次从雷公藤属植物中分离得到。

关键词: 昆明山海棠; 雷公藤属; 3-氧代齐墩果酸; 木栓酮; 原花青素 B₂

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)01-0046-04

Chemical constituents of *Tripterygium hypoglaucum*

WANG Fang¹, ZHANG Yu², ZHAO Yu-qing¹

1. College of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

2. School of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133000, China

Key words: *Tripterygium hypoglaucum* (Levl.) Hutch.; *Tripterygium* Hook. f.; 3-oxo-oleanoic acid; friedelin; procyanidin B₂

昆明山海棠 *Tripterygium hypoglaucum* (Levl.) Hutch. 又名六方藤, 系卫矛科雷公藤属植物。用于治疗类风湿关节炎、红斑狼疮等症, 具有很强的抗炎、抗肿瘤及免疫抑制等作用, 近来又发现有抗生育活性^[1]; 因此, 本课题组对其药用部位根的氯仿乳化层开展系统研究, 寻找其有效成分。

本实验以昆明山海棠根为原料, 从其氯仿乳化层中分得 12 个化合物, 分别鉴定为山海棠二萜内酯 A (1)、齐墩果酸乙酸酯 (2)、齐墩果酸 (3)、雷公藤内酯乙 (4)、雷公藤内酯甲 (5)、山海棠素 (6)、雷酚新内酯 (7)、 β -谷甾醇 (8)、胡萝卜苷 (9)、3-氧代齐墩果酸 (10)、木栓酮 (11)、原花青素 B₂ (12)。化合物 10~12 均为首次从雷公藤属植物中分离得到的已知化合物。

1 仪器和材料

Bruker ARX-300 型核磁共振波谱仪 (瑞士), TMS 为内标; Yanaco MP-S₃ 型显微熔点测定仪 (日本岛津); KQ3200DB 型数控超声波清洗器; 半制备型 HPLC, P3000 高压输液泵, UV3000 紫外检测

器, 制备柱: YMC-Pack ODS-A (250 mm×10 mm, 5 μ m); 东京理化旋转蒸发仪。

Sephadex LH-20 为 Pharmacia 产品, 柱色谱用硅胶 (200~300 目) 及薄层色谱用硅胶 (10~40 μ m) 均为青岛海洋化工有限公司产品, 常规试剂均为天津百世和天津博迪化工有限公司 (石油醚沸程 60~90 $^{\circ}$ C) 产品, 氘代试剂 (美国 CIL 产品) 为北京汉威士波谱公司分装。昆明山海棠根氯仿提取物由本溪国家中成药工程技术研究中心提供。

2 提取与分离

按文献方法^[1]提取得到含有生物碱的昆明山海棠根氯仿提取物 53 g。将氯仿层浸膏分别用石油醚-丙酮、氯仿-甲醇和石油醚-醋酸乙酯作为洗脱剂进行反复硅胶柱色谱分离, 以及制备型 HPLC (甲醇-水 75:25) 色谱分离, 分别得到化合物 1~12。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色松软晶体 (CHCl₃), mp 253~255 $^{\circ}$ C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) 谱中给出 2 个特征的甲基质子信号: δ 1.20 (3H, s, H-18), 1.40

收稿日期: 2010-06-12

基金项目: 辽宁省天然药物现代分离与工业化制备工程技术研究中心资助项目 (2006-19-10)

*通讯作者 赵余庆 Tel: (024)23986522 E-mail: zyzq4885@126.com

(3H, s, H-17); 1个连氧亚甲基信号: δ 4.12 (1H, d, $J = 12.0$ Hz), 5.19 (1H, dd, $J = 2.4, 12.0$ Hz)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) 谱中共给出 19 个碳信号, 其数据见表 1。其中 δ 176.5 (C-19) 为酯羰基碳信号; δ 24.5 (C-17), 23.1 (C-18) 为 2 个甲基碳信号。以上碳、氢谱数据与文献报道的山海棠二萜内酯 A 的光谱数据基本一致^[2-3]。因此, 确定化合物 **1** 为山海棠二萜内酯 A (triptefordin)。

化合物 **2**: 无色针晶 (丙酮), Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应呈阴性。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) 谱中, δ 0.71 (3H, s), 0.84 (6H, s, $2 \times \text{CH}_3$), 0.92 (9H, s, $3 \times \text{CH}_3$), 1.12 (3H, s) 为 7 个甲基质子信号; δ 2.04 (3H, s) 为乙酰氧基上的甲基质子信号, δ 5.26 (1H, t, 12-H) 为烯氢质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) 谱中共给出 32 个碳信号, 其数据见表 1。其中 δ 171.0 为乙酰氧基中的羰基碳信号, δ 183.9 为羧基碳信号, δ 143.6、122.5 为 2 个烯氢碳信号。以上碳、氢谱数据与文献报道的齐墩果酸乙酸酯的碳、氢谱数据基本一致^[4], 确定化合物 **2** 为齐墩果酸乙酸酯 (oleanoic acid 3-*O*-acetate)。

化合物 **3**: 白色粒状结晶 (氯仿-甲醇), Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应呈阴性。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) 谱中 δ 0.72 (3H, s), 0.77 (3H, s), 0.90 (3H, s), 0.91 (3H, s), 0.93 (3H, s), 0.99 (3H, s), 1.13 (3H, s) 为 7 个甲基质子信号; δ 3.24 (1H, m) 为连氧碳上的氢信号, δ 5.28 (1H, t, H-12) 为烯氢质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) 谱中共给出 30 个碳信号, 其数据见表 1。其中 δ 183.9 为羧基碳信号, δ 143.6、122.6 为 2 个烯氢碳信号。以上碳、氢谱数据与文献报道的齐墩果酸的光谱数据基本一致^[5], 故确定化合物 **3** 为齐墩果酸 (oleanoic acid)。

化合物 **4**: 白色粉末 (丙酮), Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应呈阴性。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) 谱中 δ 0.88, 0.98, 1.05, 1.05, 1.09, 1.10, 1.21 (3H, s) 为 7 个甲基的氢质子信号, 一个连氧的叔碳上的质子信号 δ 4.16 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-22), 5.33 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-12) 为烯氢质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) 谱中共给出 30 个碳信号, 其数据见表 1。其中 δ 217.7 为羰基碳信号, δ 182.3 为酯羰基碳信号, δ 140.3、124.4 为 2 个烯氢碳信号。以上碳、氢谱数据与文献报道的雷公藤内酯乙的碳、氢谱数据基本一致^[6]。故确定化合物

4 为雷公藤内酯乙 (wilforlide B)。

化合物 **5**: 白色粉末 (丙酮), Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应呈阴性。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) 谱中 δ 0.79, 0.87, 0.93, 0.95, 1.00, 1.07, 1.21 (3H, s) 为 7 个甲基氢质子信号, δ 3.21 (1H, m) 为连氧碳上的氢信号, 一个连氧的叔碳上的质子信号 4.14 (H, d, $J = 5.7$ Hz, H-22), 5.30 (H, t, $J = 4.0$ Hz, H-12) 为烯氢质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) 谱中共给出 30 个碳信号, 其数据见表 1。其中 δ 182.4 为酯羰基碳信号, δ 140.2、124.6 为 2 个烯氢碳信号。以上碳、氢谱数据与文献报道的雷公藤内酯甲的光谱数据基本一致^[7]。确定化合物 **5** 为雷公藤内酯甲 (wilforlide A)。

化合物 **6**: 无色针晶 (CHCl_3), mp 253~255 $^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) 谱中 δ 1.13 (3H, s), 1.16 (6H, d, $J = 6.9$ Hz) 为 3 个甲基的氢质子信号; 一个连在苯环上的叔碳上的质子信号 3.22 (1H, sept, $J = 6.9$ Hz), 4.80 (2H, m) 为连氧亚甲基上的质子信号; 7.07 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 6.96 (1H, d, $J = 7.8$ Hz) 为苯环上的 2 个邻位氢。 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) 谱中共给出 20 个碳信号, 其数据见表 1。其中 δ 174.2 为酯羰基碳信号; δ 125.1、162.9 为 2 个烯碳信号, δ 120.5、143.8、116.3、123.4、130.9、150.7 为苯环上的碳信号。以上碳、氢谱数据与文献报道的山海棠素的光谱数据基本一致^[8]。因此, 确定化合物 **6** 为山海棠素 (hypolide)。

化合物 **7**: 无色针晶 (CHCl_3), mp 253~255 $^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) 谱中 δ 1.05 (3H, s), 1.19 (6H, d, $J = 6.9$ Hz) 为 3 个甲基的氢质子信号; 3.69 (3H, s) 为甲氧基上的氢质子信号; 一个连在苯环上的叔碳上的质子信号 3.25 (1H, s, $J = 6.9$ Hz), 4.80 (2H, m) 为连氧亚甲基上的质子信号; 6.42 (1H, s) 为苯环上的氢质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) 谱中共给出 20 个碳信号, 其数据见表 1。其中 δ 174.8 为酯羰基碳信号; δ 125.2、163.2 为 2 个烯碳信号, δ 130.0、130.2、149.2、112.0、139.9、150.8 为苯环上的碳信号。以上碳、氢谱数据与文献报道的雷酚新内酯的光谱数据基本一致^[9]。因此, 确定化合物 **7** 为雷酚新内酯 (neotriptophenolid)。

化合物 **8**: 无色针晶 (醋酸乙酯), mp 180~186 $^\circ\text{C}$, 与 β -谷甾醇对照品进行 TLC 对照, 在 3 种溶剂系统中展开, Rf 值一致。故确定化合物 **8** 为 β -谷甾醇。

表 1 化合物 1~7、10、11 的 ^{13}C -NMR 数据 (CDCl_3)
Table 1 ^{13}C -NMR spectral data of compounds 1—7, 10, and 11 (in CDCl_3)

碳位	1	2	3	4	5	6	7	10	11
1	40.6	37.0	37.1	39.2	38.6	32.6	31.0	36.8	22.2
2	20.9	32.5	32.6	26.7	27.2	19.6	18.6	32.4	41.5
3	40.6	80.9	79.0	217.7	78.9	125.1	125.2	217.6	212.9
4	42.9	38.0	38.7	47.3	38.7	162.9	163.2	39.1	58.2
5	51.1	55.3	55.2	55.0	55.2	44.9	44.8	55.3	42.0
6	22.3	18.1	18.3	19.6	18.3	22.4	19.5	19.5	41.0
7	39.7	33.8	33.8	33.9	33.1	24.5	25.5	33.8	18.0
8	44.8	39.2	39.2	39.2	39.5	120.5	130.8	39.3	52.8
9	50.2	47.5	47.6	43.5	47.5	143.8	130.2	47.4	37.1
10	38.6	37.7	38.4	36.7	37.0	36.2	37.3	39.1	59.2
11	17.5	23.5	23.6	23.6	23.5	116.3	149.2	23.5	35.4
12	25.9	122.5	122.6	124.4	124.6	123.4	11.2	122.4	30.6
13	48.2	143.6	143.6	140.3	140.2	130.9	139.9	143.6	37.6
14	37.9	41.5	41.6	42.6	39.8	150.7	150.8	41.7	38.7
15	57.7	32.4	32.4	32.6	25.2	26.9	26.1	32.1	28.0
16	79.0	32.5	32.6	24.3	25.0	22.7	23.9	32.4	32.3
17	24.5	46.5	46.5	35.3	33.8	22.5	23.7	46.6	47.7
18	23.1	40.9	40.9	46.7	43.4	174.2	174.8	41.0	36.4
19	176.5	45.8	45.9	39.8	39.3	70.5	70.6	45.8	34.9
20	73.9	30.6	30.7	39.5	42.5	18.2	17.3	30.7	28.3
21		32.5	32.4	34.1	35.2		60.3	32.4	33.4
22		27.6	27.7	83.0	83.1			27.7	32.3
23		28.0	28.1	23.9	28.1			28.1	6.8
24		16.6	15.5	21.4	15.6			15.0	14.6
25		15.3	15.3	15.5	15.6			15.0	17.2
26		17.1	17.1	16.9	17.0			17.0	18.8
27		25.9	25.9	25.0	24.3			25.8	20.0
28		184.0	183.3	25.2	28.0			183.9	209.0
29		33.0	33.1	182.3	182.4			33.0	29.4
30		23.5	23.4	21.0	21.0			23.5	34.5
Ac		171.0/21.3							

化合物 **9**: 白色粉末 (甲醇), 与胡萝卜苷对照品进行 TLC 对照, 在 3 种溶剂系统中展开, R_f 值一致。故确定化合物 **9** 为胡萝卜苷。

化合物 **10**: 白色粒状结晶 (石油醚-丙酮), Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应呈阴性。 ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) 谱中 δ 0.82 (3H, s), 0.91 (3H, s), 0.94 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.06 (3H, s), 1.09 (3H, s), 1.15 (3H, s) 为 7 个甲基质子信号; 5.31

(1H, t) 为烯氢质子信号。 ^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3) 谱中共给出 30 个碳信号 (表 1)。其中 δ 217.6 为羰基碳信号; δ 183.9 为羧基碳信号; δ 143.6、122.4 为 2 个烯氢碳信号。以上碳、氢谱数据与文献报道的 3-氧代齐墩果酸的光谱数据基本一致^[4]。故确定化合物 **10** 为 3-氧代齐墩果酸 (3-oxo-oleanoic acid), 其为首次从雷公藤属植物中发现。

化合物 **11**: 白色粉末 (丙酮), Liebermann-

Burchard 反应呈阳性, Molish 反应呈阴性。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) 谱中 δ 0.67, 0.72, 0.84, 0.95, 0.98, 1.07 (3H, s), 0.87 (3H, d, *J* = 6.7 Hz) 为 7 个甲基氢质子信号; 9.84 为醛基氢质子的信号。¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) 谱中共给出 30 个碳信号 (表 1)。其中 δ 6.79 为木栓烷类化合物典型的 23 位碳信号; δ 212.9 为羰基碳信号; δ 209.0 为醛基碳信号。将以上数据与文献中所报道的化合物木栓酮比较, 发现两者的波谱数据基本一致^[10]。故确定化合物 **11** 为木栓酮 (friedelin), 从雷公藤属植物中首次得到。

化合物 **12**: 白色粉末 (甲醇), ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) 谱中上部表儿茶素 δ 3.61 (1H, H-3), 4.32 (1H, OH-3), 4.44 (1H, H-4), 4.94 (1H, H-2), 5.71 (1H, H-8), 5.81 (1H, H-6), 6.51 (1H, H-6'), 6.61 (1H, H-5'), 6.79 (1H, H-2'), 8.65 (1H, OH-5), 8.74 (1H, OH-7), 下部表儿茶素 δ 2.36 (1H, H-4α), 2.71 (1H, H-4β), 4.17 (1H, H-3), 4.77 (1H, OH-3), 4.90 (1H, H-2), 5.78 (1H, H-6), 6.51 (1H, H-6'), 6.63 (1H, H-5'), 6.99 (1H, H-2'), 8.02 (1H, OH-7), 8.93 (1H, OH-5)。以上数据与文献报道原花青素 B₂ 的氢谱数据相一致^[11]。与已知原花青素 B₂ 对照品共薄层及共 HPLC 检测, 色谱行为完全一致。故鉴定化合物 **12** 为原花青素 B₂, 其为从雷公藤属植物中首次分离得到。

致谢: 沈阳药科大学代测核磁共振谱和高分辨质谱。

参考文献

- [1] 王士明, 王 慧, 许 梓, 等. 昆明山海棠对雄性大鼠抗生育作用的研究 [J]. 江苏医药, 1987, 13(12): 659-660.
- [2] Yu D Q, Xie F Z, Ling X T. A new diterpene lactone from *Tripterygium wilfordii* [J]. *Chin Chem Lett*, 1992, 3(5): 435-438.
- [3] Chen K, Shi QA, Fujioka T, *et al.* Anti-AIDS agents, tripterifordin, a novel anti-HIV principle from *Tripterygium wilfordii*: Isolation and structural elucidation [J]. *J Nat Prod*, 1992, 55(1): 88-92.
- [4] Hirayama Y, Udagawa A, Shimada C. Living body protein degeneration suppresser [P]. Japan: JP9067253 (A), 1997-03-11.
- [5] 付晓丽, 张立伟, 林文翰, 等. 满山红化学成分的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 704-707.
- [6] 张宪民, 吴大刚, 周激文, 等. 昆明单海棠根的齐墩果烷型三萜成分 [J]. 云南植物研究, 1993, 15(1): 92-96.
- [7] 秦国伟, 杨学敏, 顾文华, 等. 雷公藤中两种新三萜内酯——雷公藤内酯甲和己的结构 [J]. 化学学报, 1982, 40(7): 637.
- [8] 邓福孝, 黄寿卿, 曹剑虹, 等. 雷公藤三种新二萜的分离和结构 [J]. 植物学报, 1985, 27(5): 516-519.
- [9] 邓福孝, 周炳南, 宋国强, 等. 雷公藤化学成分的研究 III. 雷公藤新二萜内酯——雷酚内酯甲醚和雷酚新内酯的分离及结构 [J]. 药学学报, 1982, 17(2): 146-150.
- [10] 刘锡葵, 吴大刚. 独籽藤中木栓烷三萜化学成分 [J]. 中草药, 1993, 24(8): 395-397.
- [11] Kohler N, Wray V, Winterhalter P. Preparative isolation of procyanidins from grape seed extracts by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1177(1): 114-125.

《中草药》杂志最新佳绩

《中国科技期刊引证报告》2010 年 11 月 26 日发布: 《中草药》杂志 2009 年总被引频次 5 631, 名列我国科技期刊第 16 名, 中医中药类期刊第 1 名; 影响因子 0.627, 基金论文比 0.620, 他引率 0.890, 权威因子 2 202.980; 连续 6 年 (2005—2010 年) 荣获“百种中国杰出学术期刊”称号。

《中草药》杂志 2009 年 12 月荣获“新中国 60 年有影响力的期刊”, 执行主编陈常青研究员荣获“新中国 60 年有影响力的期刊人”。