

枸骨根的化学成分研究

范琳琳^{1,2}, 陈 重¹, 冯育林², 李笑然¹, 许琼明^{1*}, 杨世林^{1,2}

1. 苏州大学药学院, 江苏 苏州 215123

2. 江西中医学院, 江西 南昌 330004

摘要: 目的 研究冬青科冬青属植物枸骨 *Ilex cornuta* 根中的化学成分。方法 运用硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱对枸骨根中的化学成分进行分离, 通过理化常数、质谱和核磁技术鉴定化合物。结果 从枸骨根中分离并鉴定了 11 个化合物, 分别为 β -谷甾醇 (1)、羽扇豆醇 (2)、白桦酸 (3)、常春藤皂苷元 (4)、3 β -乙酰基-28-羟基-乌苏醇 (5)、乌苏酸 (6)、19 α -羟基乌苏酸 (7)、3 β -乙酰基-乌苏酸 (8)、23-羟基-乌苏甲酯 (9)、庚酸 (10)、 β -胡萝卜苷 (11)。结论 化合物 4、5、8、9 为首次从该属植物中分离得到。化合物 3 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 枸骨; 三萜; 白桦酸; 常春藤皂苷元; 3 β -乙酰基-28-羟基-乌苏醇

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)02-0234-03

Chemical constituents in roots of *Ilex cornuta*

FAN Lin-lin^{1,2}, CHEN Zhong¹, FENG Yu-lin², LI Xiao-ran¹, XU Qiong-ming¹, YANG Shi-lin^{1,2}

1. School of Pharmacy, Medical College of Soochow University, Suzhou 215123, China

2. Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of the roots of *Ilex cornuta*. **Methods** The compounds were isolated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, medium pressure column chromatography, and semi-preparative liquid chromatography, and their structures were elucidated by chemical properties and spectroscopic analyses. **Results** Eight compounds were isolated and their structures were identified to be β -sitosterol (1), lupeol (2), betulonic acid (3), hederagenin (4), 3 β -acetoxy-28-hydroxyurs-12-ene (5), ursolic acid (6), 19 α -hydroxy ursolic acid (7), 3 β -acetoxy-ursolic acid (8), 23-hydroxyl-methyl ursolate (9), heptanoic acid (10), β -daucosterol (11). **Conclusion** Compounds 4, 5, 8, and 9 are obtained from this genus for the first time, and compound 3 is obtained from this plant for the first time.

Key words: *Ilex cornuta* Lindley; triterpenoid; betulonic acid; hederagenin; 3 β -acetoxy-28-hydroxyurs-12-ene

枸骨 *Ilex cornuta* Lindley 为冬青科冬青属植物, 常绿灌木或乔木, 主要分布于我国长江中下游地区, 其根、枝、叶和果均可入药, 其叶既为常用中药, 也为苦丁茶的主要来源之一^[1]。根味苦, 性凉, 无毒, 功能补肝肾、健腰膝、除风湿、凉血清热; 主治肝肾不足、腰膝腿软、关节疼痛、头风、牙痛^[1]。该植物主要含有三萜、黄酮及其苷类化合物, 具有抗生育、免疫抑制、心血管系统保护的作用。对其根部化学成分的研究为进一步阐明该植物的活性成分奠定了基础, 并为建立其药材质量标准提供参考。本实验从枸骨根的乙醇提取物中分得 11 个化合物, 分别鉴定为 β -谷甾醇 (1)、羽扇豆醇 (2)、白桦酸 (3)、常春藤皂苷元 (4)、3 β -乙酰基-28-羟基-乌苏醇 (5)、乌苏酸 (6)、19 α -羟基乌苏酸 (7)、3 β -乙酰基-

乌苏酸 (8)、23-羟基-乌苏甲酯 (9)、庚酸 (10)、胡萝卜苷 (11)。化合物 4、5、8、9 为首次从该属植物中分得, 化合物 3 为首次从该植物中分得。

1 仪器和材料

旋转蒸发器 (东京理化器械独资工厂); 半制备高效液相色谱仪 (LC-20AT, SPD-20A, 日本岛津公司); C₁₈ 半制备色谱柱 (10 mm×250 mm, 5 μ m, 美国 Kromsil 公司); 中压液相色谱仪 (Buchi 公司); Sephadex LH-20 凝胶 (美国 GE 公司); XT-5 显微熔点测定仪 (北京科仪电光仪器厂); Autopol IV 型旋光仪 (美国鲁道夫公司); UNITY INOVA 500 核磁共振仪 (美国瓦里安公司, TMS 内标); TOF-MS (英国 Micromass 公司); 化学试剂 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 氘代试剂 (德国 Merck

收稿日期: 2010-05-16

基金项目: 苏州大学青年基金项目 (2008); 苏州大学大学生创新试验计划项目资助 (2009DC03092)

作者简介: 范琳琳, 女, 在读硕士研究生, 河南平顶山人。

*通讯作者 许琼明 Tel: (0512)65882080 E-mail: xuqiongming@suda.edu.cn

公司);薄层色谱硅胶板(HSGF₂₅₄,烟台市芝罘黄务硅胶开发试验厂出品);各种柱色谱用硅胶均为青岛海洋化工厂出品。枸骨根药材于2007年12月采自湖北省蕲春县,经苏州大学药学院生药教研室李笑然教授鉴定为冬青科冬青属植物枸骨 *Ilex cornuta* Lindley 的干燥根。

2 提取与分离

干燥的枸骨根 17 kg,经 8 倍量 90%乙醇冷浸过夜后,加热回流 2 h,滤过;药渣经 8 倍量 90%乙醇提取 2 h;合并两次提取液,纱布滤过,所得滤液经减压浓缩,回收乙醇得流浸膏 2.0 L。将流浸膏用水分散,分别用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇多次萃取,各部分萃取液经减压浓缩,得石油醚提取物 212.7 g、氯仿提取物 50.7 g、醋酸乙酯提取物 68.1 g、正丁醇提取物 623.9 g。石油醚及氯仿提取物分别反复经硅胶柱色谱,用石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱,并结合 Sephadex LH-20 柱色谱,以氯仿-甲醇(1:1)洗脱,半制备高效液相色谱制备,从石油醚提取物中分离得到化合物 1~3,从氯仿提取物中分离得到化合物 4~8,从醋酸乙酯提取物中分离得到化合物 9~11。

3 结构鉴定

化合物 1:无色针晶(氯仿),mp 145~147 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性,Molish 反应阴性。与 β-谷甾醇对照品进行薄层色谱对比,10%硫酸-乙醇显示紫红色,Rf 值与显色行为与对照品一致,且混合后熔点不下降,鉴定化合物 1 为 β-谷甾醇。

化合物 2:无色粉末结晶(氯仿),mp 210 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性,Molish 反应阴性。EI-MS m/z : 426 $[M]^+$, 316, 315, 218, 207, 204, 203, 189, 135, 109。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.97 (3H, s, H-23), 0.76 (3H, s, H-24), 0.83 (3H, s, H-25), 1.04 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-27), 0.79 (3H, s, H-28), 1.58 (3H, s, H-30), 3.18 (1H, dd, J = 11.4, 4.9 Hz, H-3), 4.57 (1H, s, H-29α), 4.69 (1H, s, H-29β)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献报道的羽扇豆醇基本一致^[2]。

化合物 3:白色粉末(氯仿),mp 286~288 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性。EI-MS m/z : 456 $[M]^+$, 438, 248, 220, 207, 189, 175。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.71 (3H, s, H-30), 1.02 (3H, s, H-27), 0.98 (3H, s, H-26), 0.97 (3H, s, H-23), 0.82 (3H, s, H-25), 0.76 (3H, s, H-24), 3.19 (1H, dd, J = 11.3, 4.8 Hz, H-3), 2.41 (1H, m, H-19), 4.58 (1H, s, H-29α), 4.68

(1H, s, H-29β)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献报道的白桦酸基本一致^[3]。

化合物 4:白色粉末(氯仿)。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.23 (3H, s, H-24), 1.02 (3H, s, H-30), 0.99 (3H, s, H-27), 0.79 (3H, s, H-29), 3.29 (3H, s, H-25), 0.76 (3H, s, H-26), 4.21 (1H, dd, J = 11.0, 5.37 Hz, H-3), 3.27 (1H, dd, J = 12.1, 4.2 Hz, H-18), 5.27 (1H, br s, H-12), 4.18 (1H, d, J = 10.6 Hz, H-23α), 3.71 (1H, d, J = 10.6 Hz, H-23β)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献报道的常春藤皂苷元基本一致^[4]。

化合物 5:无色针晶(氯仿),mp 264~267 °C。EI-MS m/z : 484 $[M]^+$, 466, 453, 424, 406, 393, 286, 269, 255, 249, 234, 216。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.10 (3H, s, H-24), 1.01 (3H, s, H-30), 0.98 (3H, s, H-23), 0.93 (3H, s, H-29), 0.88 (3H, s, H-25), 0.87 (3H, s, H-24), 0.81 (3H, s, H-26), 2.05 (3H, s, OCH₃), 3.19 (1H, d, J = 11.0 Hz, H-28α), 3.50 (1H, d, J = 11.0 Hz, H-28β), 4.50 (1H, dd, J = 6.0, 10.0 Hz, H-3), 5.14 (1H, br s, H-12)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献报道的 3β-乙酰基-28-羟基-乌苏醇基本一致^[5-7]。

化合物 6:白色粉末(氯仿),mp 264~266 °C。EI-MS m/z : 456 $[M]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.22 (3H, s, H-24), 1.12 (3H, s, H-25), 1.08 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-27), 0.85 (3H, s, H-23), 0.93 (3H, s, H-29), 0.78 (3H, s, H-30), 2.03 (3H, s, OCH₃), 3.20 (1H, m, H-3α), 5.25 (1H, br s, H-12)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献报道的乌苏酸基本一致^[8]。

化合物 7:白色粉末(氯仿),mp 298~300 °C。EI-MS m/z : 477 $[M]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.78 (3H, s, H-23), 1.21 (3H, s, H-24), 1.26 (3H, s, H-25), 1.26 (3H, s, H-26), 1.63 (3H, s, H-27), 0.99 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-29), 0.92 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-30), 3.44 (1H, dd, J = 11.0, 5.6 Hz, H-3), 3.06 (1H, s, H-18), 5.64 (1H, d, J = 12.8 Hz, H-12)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献报道的 19α-羟基乌苏酸基本一致^[9]。

化合物 8:白色粉末(氯仿),mp 248~250 °C。EI-MS m/z : 501 $[M]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.78 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, s, H-24), 0.96 (3H, s, H-25), 0.87 (3H, s, H-26), 1.08 (3H, s, H-27), 0.85 (3H, s, H-29), 0.92 (3H, s, H-30), 2.05 (3H, s, OCH₂CH₃), 4.50 (1H, t, OCH₂CH₃), 5.25 (1H, d, J = 12.8 Hz, H-12)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献报道的 3β-乙酰基-乌苏酸基本一致^[10]。

表 1 化合物 2~9 的 ^{13}C -NMR 数据 (125 MHz, CDCl_3)
Table 1 ^{13}C -NMR Spectral data of compounds 2—9 (125 MHz, CDCl_3)

位置	2	3	4	5	6	7	8	9
C-1	38.8	38.7	38.8	38.5	38.8	39.9	38.3	32.9
C-2	27.5	27.4	27.3	26.0	27.2	37.0	24.1	27.3
C-3	79.0	79.0	79.0	80.9	79.0	77.9	80.9	79.0
C-4	38.9	38.7	42.4	38.0	38.6	39.8	37.7	38.0
C-5	55.3	55.3	47.6	55.3	55.2	54.7	55.3	55.2
C-6	18.4	18.3	18.4	18.2	18.3	25.6	18.2	18.3
C-7	34.3	34.3	33.2	32.8	33.0	39.1	32.9	33.0
C-8	40.0	40.9	39.8	40.1	38.8	39.9	39.5	39.4
C-9	50.5	50.4	47.9	47.6	47.5	54.7	47.5	47.7
C-10	37.2	37.3	36.9	36.8	37.0	25.6	36.9	36.9
C-11	20.9	20.9	23.6	23.3	17.0	26.7	23.4	23.3
C-12	25.2	25.2	122.4	124.9	125.9	128.0	125.8	125.1
C-13	38.1	38.9	144.9	138.8	137.9	137.8	138.0	138.7
C-14	42.9	42.7	42.4	42.1	42.0	40.1	42.0	42.1
C-15	27.5	29.9	28.1	26.0	28.1	38.2	28.1	28.1
C-16	35.6	33.9	23.6	23.4	24.2	32.3	23.6	23.4

化合物 **9**: 白色粉末 (氯仿), mp 234~236 °C。FAB-MS m/z : 477 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 1.16 (3H, s, H-24), 1.02 (3H, s, H-25), 1.01 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-27), 0.98 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-29), 0.92 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-30), 2.03 (3H, s, OCH_3), 4.17 (1H, d, J = 10.4 Hz, H-23 α), 3.71 (1H, d, J = 11.03 Hz, H-23 β), 4.23 (1H, dd, J = 5.6, 12.5 Hz, H-3), 5.12 (1H, br s, H-12)。 ^{13}C -NMR 数据见表 1。以上数据与文献报道的 23-羟基-乌苏甲酯基本一致^[5,11]。

化合物 **10**: 白色粉末 (氯仿), 溴钾酚绿反应显阳性, 提示结构中含有羧基。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (3H, t, J = 6.5 Hz, CH_3), 1.27 (8H, overlap, H-3, 4, 5, 6), 1.58 (2H, m, H-2) 为直链烷烃取代信号。EI-MS m/z : 130 $[\text{M}]^+$, 113, 85, 73, 60, 45。综合以上数据推断化合物 **10** 为庚酸^[12]。

化合物 **11**: 白色粉末 (甲醇), mp 287~289 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阴性。与 β -胡萝卜素对照品进行薄层色谱对比, 10%硫酸-乙醇显色, R_f 值与显色行为与对照品一致, 且二者混合后熔点不下降。故鉴定化合物 **11** 为 β -胡萝卜素。

参考文献

- [1] 中药辞海编审组. 中药辞海 [M]. 第 2 卷. 北京: 中国医药科技出版社, 1996.
- [2] 童胜强, 黄娟, 王冰岚, 等. 肿节风化学成分的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(2): 198-201.

- [3] Siddiqui S, Hafeez F, Begum S, et al. Oleanderol, a new pentacyclic triterpene from the leaves of *Nerium oleander* [J]. *J Nat Prod*, 1988, 51(2): 229-233.
- [4] 马文哲, 凌铁军, 张玉虎, 等. 乌檀的化学成分研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2005, 13(2): 167-170.
- [5] 于德泉, 杨峻山. 分析化学手册 [M]. 第七分册. 北京: 化学工业出版社, 1996: 797-798.
- [6] Dwight O C, Peter L D R, Jessica C G, et al. Microbial transformation of cadina-4,10(15)-dien-3-one, aromadendr-1(10)-en-9-one and methyl ursolate by *mucor plumbeus* atcc 4740 [J]. *Phytochemistry*, 2002, 59(5): 479-488.
- [7] Masaaki K, Tadamasa T, Haruo M. Triterpenoids of the bark of *Pieris japonica* D. Don (Japanese name: Asebi) II ^{13}C nuclear magnetic resonance of the γ -lactones of ursane and oleanane-type triterpenes [J]. *Chem Pharm Bull*, 1983, 31(5): 1567-1571.
- [8] 刘召阳, 罗都强. 金莲花的化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 370-373.
- [9] 高颖, 勒力, 孙亮, 等. 长柱金丝桃的化学成分 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(6): 413-416.
- [10] Patra A, Mitra A K, Ghosh S, et al. Carbon-13 NMR spectroscopy of some pentacyclic triterpenoids [J]. *Org Magn Reson*, 1981, 15(4): 399-400.
- [11] Tsutomu F, Yutaka O, Chisato H, et al. Triterpenoids from *Eucalyptus perriniana* cultured cells [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(3): 715-719.
- [12] 丛浦珠. 质谱在天然有机化学中的应用 [M]. 北京: 科学出版社, 1987.