

蛇足石杉化学成分研究

罗超, 陈重, 张文芳, 李笑然, 许琼明*, 杨世林

苏州大学药学院, 江苏 苏州 215123

摘要: 目的 研究蛇足石杉 *Huperzia serrata* 的化学成分。方法 利用硅胶柱色谱法、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱法、中压柱色谱及半制备高效液相色谱等方法分离纯化; 通过核磁共振谱、质谱等光谱数据鉴定化合物结构。结果 分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 β -谷甾醇 (1)、5, 7, 4'-三羟基-3'-甲氧基黄酮 (2)、5, 7, 4'-三羟基-3', 5'-二甲氧基黄酮 (3)、芹菜素 (4)、正三十烷醇 (5)、21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 β -ol (6)、21 α -hydroxy-serrat-14-en-3 β -ol (7)、16-oxo-21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 α -yl-acetate (8)、3 β , 21 α -dihydroxy-serrat-14-en-24-ol (9)、3 α , 21 β -dihydroxy-serrat-14-en-24-ol (10)。结论 化合物 2~5 为首次从本植物中分离得到。

关键词: 蛇足石杉; β -谷甾醇; 5, 7, 4'-三羟基-3'-甲氧基黄酮; 5, 7, 4'-三羟基-3', 5'-二甲氧基黄酮; 芹菜素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)12-2407-03

Chemical constituents of *Huperzia serrata*

LUO Chao, CHEN Zhong, ZHANG Wen-fang, LI Xiao-ran, XU Qiong-ming, YANG Shi-lin

College of Pharmacy, Soochow University, Suzhou 215123, China

Abstract: **Objective** To investigate the chemical constituents of *Huperzia serrata*. **Methods** The constituents were isolated by silica gel column, Sephadex LH-20 gel column, medium pressure column, and semi-preparative HPLC chromatographies, and their structures were elucidated by chemical properties and spectroscopic analyses. **Results** The structures of ten compounds were isolated and identified as β -sitosterol (1), 5, 7, 4'-trihydroxy-3'-methoxyflavone (2), 5, 7, 4'-Trihydroxy-3', 5'-dimethoxyflavone (3), apigenin (4), *n*-triacontanol (5), 21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 β -ol (6), 21 α -hydroxy-serrat-14-en-3 β -ol (7), 16-oxo-21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 α -yl-acetate (8), 3 β , 21 α -dihydroxy-serrat-14-en-24-ol (9), and 3 α , 21 β -dihydroxy-serrat-14-en-24-ol (10). **Conclusion** Compounds 2—5 are obtained from this plant for the first time.

Key words: *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev.; β -sitosterol; 5, 7, 4'-trihydroxy-3'-methoxyflavone; 5, 7, 4'-trihydroxy-3', 5'-dimethoxyflavone; apigenin

蛇足石杉 *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. 为石松目石杉科石杉属植物, 为多年生草本蕨类植物。民间常用于治疗肺炎、散瘀消肿、解毒和止痛等^[1]。本实验对蛇足石杉全草进行了初步化学成分研究, 共分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 β -谷甾醇 (1)、5, 7, 4'-三羟基-3'-甲氧基黄酮 (2)、5, 7, 4'-三羟基-3', 5'-二甲氧基黄酮 (3)、芹菜素 (4)、正三十烷醇 (5)、21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 β -ol (6)、21 α -hydroxy-serrat-14-en-3 β -ol (7)、16-oxo-21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 α -yl-acetate (8)、3 β , 21 α -dihydroxy-serrat-14-en-24-ol (9)、3 α , 21 β -dihydroxy-serrat-14-en-24-ol (10)。其中化合物 2~5 为首次从本植物中分离得到。

1 仪器和材料

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 为内标); TOF-MS (英国 Micromass 公司); 各种色谱用硅胶均为青岛海洋化工厂产品; 半制备高效液相色谱仪 (LC-20 AT, SPD-20 A, 日本岛津公司); C₁₈ 半制备色谱柱 (250 mm×10 mm, 5 μ m, 美国 Kromsil 公司); 中压液相色谱仪 (瑞士 Buchi 公司); 凝胶 Sephadex LH-20 (美国 GE 公司)。

蛇足石杉全草于 2007 年 9 月采自贵州省遵义市, 由苏州大学药学院孙萌副教授鉴定为蛇足石杉 *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. 全草。

收稿日期: 2011-05-15

作者简介: 罗超, 男, 在读硕士研究生。

*通讯作者 许琼明 Tel: (0512)69561421 E-mail: xuqiongming@suda.edu.cn

2 提取与分离

干燥的蛇足石杉全草 5.0 kg, 经 6 倍量盐酸水溶液 (pH 3.0) 温浸 3 次, 每次 3 h, 滤过, 取药渣经 10 倍量 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 6 h, 合并乙醇提取液, 200 目筛滤过, 所得滤液减压浓缩, 除去乙醇, 浸膏加水稀释至 4 L, 分别用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 各部分萃取液经减压浓缩, 得石油醚提取物 30.2 g, 氯仿提取物 54.5 g, 醋酸乙酯提取物 13.5 g, 正丁醇提取物 25.0 g。石油醚和氯仿提取物分别经反复硅胶柱色谱, 用石油醚-醋酸乙酯系统梯度洗脱, 并结合 Sephadex LH-20 柱色谱, 中压柱色谱及半制备高效液相色谱, 从石油醚提取物中分离得到化合物 **1** (1.8 g)、**5** (7.7 mg)、**6** (1.2 g)、**7** (700 mg), 从氯仿提取物中分离得到化合物 **2** (8 mg)、**3** (7 mg)、**4** (12 mg)、**8** (6.2 mg)、**9** (5 mg)、**10** (10 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色针晶 (甲醇), mp 136~137 °C。TLC 上 10% 硫酸乙醇溶液显紫红色, Libermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应呈阴性; 使用 3 种不同类型的展开剂, 与 β -谷甾醇对照品共薄层, 其 R_f 值及显色行为均吻合; 鉴定化合物 **1** 为 β -谷甾醇^[2]。

化合物 **2**: 淡黄色针状结晶, EI-MS m/z : 300 [M]⁺, 272, 257, 229, 153; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.47 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-6'), 7.37 (1H, s, H-2'), 6.98 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.56 (1H, s, H-3), 6.47 (1H, s, H-8), 6.29 (1H, s, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 94.8 (C-8), 99.7 (C-6), 104.0 (C-3), 105.0 (C-10), 109.6 (C-2), 115.9 (C-5'), 121.1 (C-1'), 123.1 (C-6'), 148.3 (C-4'), 150.6 (C-3'), 158.5 (C-9), 162.0 (C-5), 165.1 (C-7), 164.6 (C-2), 183.0 (C-4), 56.4 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[3], 故鉴定化合物 **2** 为 5, 7, 4'-三羟基-3'-甲氧基黄酮。

化合物 **3**: 淡黄色针状结晶, EI-MS m/z : 330 [M]⁺, 331, 178, 153; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.16 (2H, s, H-2', 6'), 6.58 (1H, s, H-3), 6.49 (1H, s, H-8), 6.30 (1H, s, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 94.9 (C-8), 99.9 (C-6), 104.3 (C-3, 2', 6'), 105.1 (C-10), 122.2 (C-1'), 140.3 (C-4'), 148.6 (C-3', 5'), 158.6 (C-5), 162.0 (C-9), 165.1 (C-7), 164.6 (C-2), 183.0 (C-4) 56.4 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[4], 鉴定化合物 **3** 为 5, 7, 4'-三羟基-3', 5'-二甲氧基黄酮。

化合物 **4**: 淡黄色针状结晶, mp 340~342 °C, EI-MS m/z : 270 [M]⁺, 242, 153, 121, 69, 结合 NMR 信息确定分子式为 C₁₅H₁₀O₅。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.92 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.76 (1H, s, H-3), 6.47 (1H, s, H-8), 6.18 (1H, s, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 94.4 (C-8), 99.4 (C-6), 103.2 (C-3), 104.0 (C-10), 116.4 (C-3', 5'), 121.5 (C-1'), 128.9 (C-2', 6'), 157.8 (C-5), 161.7 (C-9), 161.9 (C-4'), 164.1 (C-7), 165.0 (C-2), 182.1 (C-4)。其氢谱和碳谱数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 **4** 为芹菜素。

化合物 **5**: 白色无定形粉末, mp 88~89.5 °C, EI-MS m/z : 420, 384, 210, 181, 153, 139, 125, 111, 97, 83, 69, 57, 43, 呈现长链脂肪醇的特征裂解。¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) δ : 3.96 (2H, m, CH₂-OH), 1.37 (54H, m, 27×-CH₂), 0.90 (3H, m, -CH₃)。 ¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ : 62.26 (C-1), 23.05~33.93 (C-2~29), 14.38 (C-30)。其氢谱和碳谱数据与文献报道基本一致^[5], 鉴定化合物 **5** 为正三十烷醇。

化合物 **6**: 无色粉末 (氯仿), mp 303~308 °C, EI-MS m/z : 442 [M]⁺, 427, 409, 391, 342, 302, 284, 269, 260, 229, 220, 207, 189, 187, 结合 NMR 信息确定分子式为 C₃₀H₅₄O₂。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.33 (1H, br s, H-15), 3.43 (1H, br s, H-21), 3.16 (1H, t, H-3), 0.69 (3H, s, 28-CH₃), 0.76 (3H, s, 24-CH₃), 0.8 (3H, s, 25-CH₃), 0.84 (3H, s, 26-CH₃), 0.88 (3H, s, 29-CH₃), 0.92 (3H, s, 30-CH₃), 0.96 (3H, s, 23-CH₃); ¹³C-NMR 数据见表 1。波谱数据与文献报道一致^[6], 鉴定化合物 **6** 为 21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 β -ol。

化合物 **7**: 无色粉末 (氯仿), mp 302~305 °C, EI-MS m/z : 442 [M]⁺, 427, 409, 381, 363, 342, 324, 313, 302, 284, 269, 255, 229, 220, 207, 189, 187, 结合 NMR 信息确定分子式为 C₃₀H₅₄O₂。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.33 (1H, br s, H-15), 3.18 (1H, dd, J = 4.8, 11.4 Hz, H-3), 3.14 (1H, dd, J = 4.6, 11.2 Hz, H-21), 0.67 (3H, s, 28-CH₃), 0.83 (3H, s, 24-CH₃), 0.80 (3H, s, 25-CH₃), 0.77 (3H, s, 26-CH₃), 0.83 (3H, s, 29-CH₃), 0.97 (3H, s, 30-CH₃), 0.97 (3H, s, 23-CH₃); ¹³C-NMR 数据见表 1。其氢谱和碳谱数据与文献报道基本一致^[6], 鉴定化合物 **7** 为 21 α -hydroxy-serrat-14-en-3 β -ol。

化合物 **8**: 无色针状结晶 (氯仿), mp 270~274 °C, 结合 NMR 信息确定分子式为 C₃₂H₅₀O₄。 ¹H-NMR

表 1 化合物 6~10 的 ^{13}C -NMR 数据 (125 MHz, CDCl_3)

Table 1 ^{13}C -NMR data of compounds 6—10
(125 MHz, CDCl_3)

碳位	6	7	8	9 [*]	10
1	38.4	38.6	33.8	39.2	34.3
2	26.9	27.2	24.5	28.8	26.7
3	78.3	78.8	78.1	80.3	70.9
4	38.7	38.2	36.7	44.0	44.0
5	55.5	55.7	50.4	57.6	50.8
6	18.7	18.9	18.5	19.9	19.6
7	44.9	45.1	44.8	46.1	45.9
8	37.1	39.0	38.2	38.2	38.0
9	62.7	62.8	62.4	63.3	63.6
10	37.9	36.1	38.0	38.5	38.6
11	25.0	25.4	24.9	25.8	25.9
12	26.8	27.5	26.4	27.9	27.9
13	56.6	57.1	58.6	57.9	57.6
14	138.5	138.1	163.4	138.8	139.2
15	121.8	122.1	128.7	123.0	122.8
16	23.7	24.0	201.2	24.8	24.7
17	43.1	49.5	58.8	50.4	43.7
18	35.6	38.9	44.3	36.6	36.6
19	30.9	29.2	31.4	37.9	31.9
20	25.1	25.2	22.9	28.9	26.0
21	75.8	79.2	76.7	78.6	76.6
22	36.8	37.1	36.8	37.6	37.9
23	27.7	28.1	27.8	23.8	22.4
24	15.2	15.4	21.7	64.7	66.3
25	15.4	15.7	14.7	16.7	17.0
26	19.4	19.8	19.9	20.2	20.2
27	56.0	56.0	55.8	56.6	57.0
28	13.0	13.4	15.6	13.9	13.8
29	21.5	14.6	21.5	15.5	22.2
C=O			170.7		
OAc			21.3		

* 化合物 9 所用溶剂为 $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$

* Solvent for compound 9 is $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$

(500 MHz, CDCl_3) δ : 5.72 (1H, br s, H-15), 4.63 (1H, br s, H-3), 3.34 (1H, br s, H-21), 0.78 (3H, s, 28- CH_3), 0.84 (3H, s, 24- CH_3), 0.80 (3H, s, 25- CH_3), 0.80 (3H, s, 26- CH_3), 1.06 (3H, s, 29- CH_3), 1.13 (3H, s, 30- CH_3), 0.76 (3H, s, 23- CH_3); ^{13}C -NMR 数据见表 1。波谱数据与文献报道一致^[6], 鉴定化合物 8 为 16-oxo-21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 α -yl-acetate。

化合物 9: 白色粉末 (氯仿-甲醇), mp 335~336 $^{\circ}\text{C}$, EI-MS m/z : 458 $[\text{M}]^+$, 443, 440, 425, 407, 391, 379, 300, 287, 270, 255, 229, 220, 205, 204, 203, 189, 187, 119, 结合 NMR 信息确定分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 5.57 (1H, br s, H-15), 3.51 (1H, dd, $J = 5.5, 6.5$ Hz, H-21), 3.59 (1H, t, H-3), 4.57, 3.79 (2H, m, 24- CH_2), 0.90 (3H, s, 28- CH_3), 1.07 (3H, s, 25- CH_3), 1.05 (3H, s, 26- CH_3), 1.30 (3H, s, 29- CH_3), 1.34 (3H, s, 30- CH_3), 1.62 (3H, s, 23- CH_3); ^{13}C -NMR 数据见表 1。其氢谱和碳谱数据与相关文献报道基本一致^[6], 鉴定化合物 9 为 3 β , 21 α -dihydroxy-serrat-14-en-24-ol。

化合物 10: 白色粉末 (氯仿-甲醇), mp 308~310 $^{\circ}\text{C}$, EI-MS m/z : 458 $[\text{M}]^+$, 443, 440, 425, 407, 391, 379, 300, 287, 270, 255, 229, 220, 205, 204, 203, 189, 187, 119, 结合 NMR 信息确定分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.33 (1H, br s, H-15), 4.38 (1H, br s, H-3), 3.36 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-21), 4.38, 3.69 (2H, d, $J = 11.0$ Hz, 24- CH_2), 0.66 (3H, s, 28- CH_3), 0.79 (3H, s, 25- CH_3), 0.77 (3H, s, 26- CH_3), 0.82 (3H, s, 29- CH_3), 0.95 (3H, s, 30- CH_3), 1.11 (3H, s, 23- CH_3); ^{13}C -NMR 数据见表 1。其氢谱和碳谱数据与文献报道基本一致^[6], 鉴定化合物 10 为 3 α , 21 β -dihydroxy-serrat-14-en-24-ol。

参考文献

- [1] 刘海华, 唐春梓, 廖朝林, 等. 千层塔的研究概述 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36(15): 6594-6595.
- [2] 匡海学. 中药化学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003.
- [3] Nakasugi T, Nakashima M, Komai K. Antimutagens in Gaiyou (*Artemisia argyi* Levl. et Vant.) [J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(8), 3256-3266.
- [4] 潘晓辉, 李 硕, 李 瑜. 驼绒藜化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(3): 290-293.
- [5] 裴 刚. 皱边石杉的化学成分及形态解剖学研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2003.
- [6] 周 慧, 蒋山好, 朱大元. 蛇足石杉中性三萜成分的研究和滇西乌头生物碱的研究 [D]. 上海: 中国科学院研究生院, 2002.