

苗药冠盖藤的化学成分研究

李小军, 袁 燕, 李 芝, 刘向前*

湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

摘要: 目的 研究苗药冠盖藤 *Pileostegia viburnoides* 藤茎的化学成分。方法 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱及重结晶等方法进行分离纯化, 利用波谱分析结合理化性质鉴定化合物的结构。结果 从苗药冠盖藤藤茎甲醇提取物中共分离得到 13 个化合物, 分别鉴定为木栓酮 (1)、3-氧代木栓烷-28-醛 (2)、豆甾-4-烯-3-酮 (3)、豆甾醇 (4)、(24R)-5A-豆甾烷-3, 6-二酮 (5)、二十四烷胺 (6)、乌苏酸 (7)、坡模酸 (8)、齐墩果酸 (9)、伞形花内酯 (10)、4-hydroxymellein (11)、臭矢菜素 A (12)、胡萝卜苷 (13)。结论 化合物 6 为首次从天然产物中分离得到, 化合物 2~5、7~9、11、12 均为首次从本属植物中分离得到, 所有化合物均为首次从冠盖藤中分离得到。

关键词: 冠盖藤; 豆甾醇; 二十四烷胺; 乌苏酸; 坡模酸; 齐墩果酸; 臭矢菜素 A

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)08-1052-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.08.003

Chemical constituents from cane of *Pileostegia viburnoides*

LI Xiao-jun, YUAN Yan, LI Zhi, LIU Xiang-qian

School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the cane of *Pileostegia viburnoides*. **Methods** The compounds were isolated and purified by silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography. Their structures were identified on the basis of their physicochemical properties and spectroscopic data. **Results** Thirteen compounds were isolated from the cane of *P. viburnoides* and their structures were identified as friedelin (1), 3-oxo-nofriedelin-28-al (2), stigmast-4-en-3-one (3), stigmasterol (4), (24R)-5A-stigmastane-3, 6-dione (5), tetracosyl amine (6), ursolic acid (7), pomolic acid (8), oleanolic acid (9), umbelliferone (10), 4-hydroxymellein (11), cleomiscosin A (12), and daucosterol (13), respectively. **Conclusion** Compound 6 is obtained as a natural product for the first time; Compounds 2—5, 7—9, 11, and 12 are obtained from this genus for the first time and all the compounds are obtained from *P. viburnoides* for the first time.

Key words: *Pileostegia viburnoides* Hook. f. et Thoms; stigmasterol; tetracosyl amine; ursolic acid; pomolic acid; oleanolic acid; cleomiscosin A

冠盖藤 *Pileostegia viburnoides* Hook. f. et Thoms 为虎耳草科冠盖藤属植物, 主要分布于长江以南各地。生于溪边、山谷林下, 常沿山岩和其他植物上升。全株入药, 味辛、微苦, 性温^[1-2]。具有祛风除湿、散瘀止痛、舒筋活络、消肿解毒的功效, 用于治疗风湿麻木、跌打损伤、骨伤、肾虚腰痛、外伤出血、多发性脓肿、多年烂疮, 为苗族常用药材^[3-4]。目前, 国内外鲜见有关其化学成分的报道, 本课题组首次对其进行了成分研究, 从其藤茎甲醇提取物中分离得到 13 个化合物, 分别鉴定为木栓酮

(friedelin, 1)、3-氧代木栓烷-28-醛 (3-oxo-nofriedelin-28-al, 2)、豆甾-4-烯-3-酮 (stigmast-4-en-3-one, 3)、豆甾醇 (stigmasterol, 4)、(24R)-5A-豆甾烷-3, 6-二酮 [(24R)-5A-stigmastane-3, 6-dione, 5]、二十四烷胺 (tetracosyl amine, 6)、乌苏酸 (ursolic acid, 7)、坡模酸 (pomolic acid, 8)、齐墩果酸 (oleanolic acid, 9)、伞形花内酯 (umbelliferone, 10)、4-hydroxymellein (11)、臭矢菜素 A (cleomiscosin A, 12)、胡萝卜苷 (daucosterol, 13)。化合物 6 为首次从天然产物中分离得到, 化合物 2~5、7~9、11、

收稿日期: 2014-01-24

基金项目: 湖南省中医药科研计划项目 (2013136); 湖南中医药大学药物分析学“十二五”校级重点学科建设项目[2012(2)]; 湖南省中药学重点学科建设项目 (2013136)

作者简介: 李小军 (1991—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事中药及天然药物活性成分研究。Tel: 18874093351 E-mail: 598237392@qq.com

*通信作者 刘向前 (1967—), 男, 教授。E-mail: lxq0001cn@163.com

12 均为首次从本属植物中分离得到, 所有化合物均为首次从冠盖藤中分离得到。

1 仪器与材料

AVATAR360 型傅里叶红外光谱仪(美国 Nicolet 公司); AUW—120D 精密电子天平(日本岛津公司); DZF—6020 型真空干燥箱(上海金鹏分析仪器有限公司); 硅胶 G、GF₂₅₄、H(青岛海洋化工有限公司); 常规试剂均为分析纯(湖南汇虹试剂有限公司)。

冠盖藤于 2010 年 8 月采自湖南沅陵, 经湖南中医药大学刘向前教授鉴定为虎耳草科冠盖藤属植物冠盖藤 *Pileostegia viburnoides* Hook. f. et Thoms 的全株。标本(100812)保存于湖南省重点实验室中药新药研究与开发实验室。

2 提取与分离

干燥的冠盖藤藤茎 12 kg, 粉碎至粗粉, 室温下以 70% 甲醇冷浸提取 3 次, 浓缩至无醇味。将浓缩液加入适量水分散, 该浓缩液分别用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取。回收溶剂, 得石油醚萃取物(12 g)、醋酸乙酯萃取物(36 g)、正丁醇萃取物(48 g)。

取石油醚萃取物(12 g)经硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯(30:1→0:1)梯度洗脱, 合并相似馏分, 得 8 个部分 Fr. 1~8。Fr. 1 以石油醚-醋酸乙酯(30:1)反复重结晶, 得到化合物 1(8.0 mg); Fr. 2 以石油醚-醋酸乙酯(30:1)反复重结晶, 得到化合物 2(3.6 mg); Fr. 3 经硅胶柱色谱, 以甲醇反复重结晶, 得到化合物 3(6.8 mg); Fr. 4 以甲醇反复重结晶, 得到化合物 4(20.5 mg); Fr. 5 以石油醚-醋酸乙酯(20:1)反复重结晶, 得到化合物 5(3.4 mg); Fr. 7 经 Sephadex LH-20(500 mm × 15 mm)柱色谱纯化, 以氯仿-甲醇(1:1)反复重结晶, 得化合物 6(8.8 mg)。

取醋酸乙酯浸膏(34 g)经硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯(3:1→0:1)梯度洗脱, 合并相似馏份, 得 8 个部分 Fr. 1~8。Fr. 2 经硅胶 H 柱(500 mm × 30 mm), 以石油醚-醋酸乙酯(5:1、3:1、1:1)梯度洗脱, 再经 Sephadex LH-20 及甲醇反复重结晶得化合物 7(4.7 mg)、8(3.3 mg)、9(2.2 mg)。Fr. 3 经 Sephadex LH-20, 以甲醇反复重结晶, 得化合物 11(3.5 mg); Fr. 5 以甲醇反复重结晶, 得到化合物 10(5.6 mg); Fr. 6 经硅胶柱色谱和制备 TLC, 以石油醚-醋酸乙酯(1:4)展开, 得化合物 12(2.6 mg);

Fr. 7 以甲醇反复重结晶, 得到化合物 13(7.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色针晶(石油醚); mp 232~234 °C; EI-MS m/z : 426 [M]⁺, 相对分子质量为 426; IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 2 927, 2 868, 1 716, 1 637, 1 388; Liebermann-Burchard 反应显阳性。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.72 (3H, s, 24-CH₃), 0.87 (3H, s, 25-CH₃), 0.95 (3H, s, 30-CH₃), 0.99 (3H, s, 29-CH₃), 1.00 (3H, s, 26-CH₃), 1.05 (3H, s, 27-CH₃), 1.18 (3H, s, 28-CH₃), 0.88 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, 23-CH₃), 2.38 (1H, m, H-4), 2.23~2.25 (2H, m, 2-CH₂); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物 1 为木栓酮。

化合物 2: 无色针晶(石油醚); mp 216~217 °C; EI-MS m/z : 440 [M]⁺; IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 2 929, 2 866, 1 714, 1 560, 1 388; Liebermann-Burchard 反应显阳性; 相对分子质量为 440。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.51 (1H, s, H-28), 0.65 (3H, s, 24-CH₃), 0.71 (3H, s, 25-CH₃), 0.84 (3H, s, 30-CH₃), 0.92 (3H, s, 29-CH₃), 0.98 (3H, s, 26-CH₃), 1.58 (3H, s, 27-CH₃), 0.96 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, 23-CH₃), 2.30 (1H, m, H-4), 2.25 (2H, m, 2-CH₂); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 2 为 3-氧代木栓烷-28-醛。

化合物 3: 无色针晶(甲醇); mp 159~161 °C; EI-MS m/z : 412 [M]⁺; 相对分子质量为 412。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.72 (1H, s, H-4), 1.19 (3H, s, 18-CH₃), 0.92 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, 26-CH₃), 0.85 (3H, t, $J = 8.1$ Hz, 29-CH₃), 0.83 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, 21-CH₃), 0.81 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, 27-CH₃), 0.71 (3H, s, 19-CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 3 为豆甾-4-烯-3-酮。

化合物 4: 无色针晶(甲醇); mp 134~135 °C; IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 408, 2 939, 2 866, 1 639, 1 466, 1 377, 1 063, 958, 793; Liebermann-Burchard 和 Salkowski 反应均为阳性; MS、IR、¹H-NMR 数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 4 为豆甾醇。

化合物 5: 无色针晶(石油醚); mp 159~161 °C; EI-MS m/z : 428 [M]⁺; IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 2 962, 2 871, 1 718, 1 641, 1 464, 1 240; 相对分子质量为 428。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.68 (3H, s, 19-CH₃), 0.80 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, 26-CH₃), 0.82 (3H, d, $J = 6.8$

表1 化合物1~3、5、7~11的¹³C-NMR数据
Table 1 ¹³C-NMR data of compounds 1—3, 5, and 7—11

碳位	1	2	3	5	7	8	9	10	11
1	22.4	22.4	37.1	38.2	40.0	39.4	38.3		170.5
2	41.7	41.6	35.0	39.5	28.0	28.1	28.0	161.2	
3	213.5	213.3	202.6	209.4	79.8	78.6	79.8	111.3	81.9
4	58.4	58.3	124.4	37.1	40.0	39.5	40.0	144.4	69.8
5	42.3	42.1	175.6	57.6	56.9	56.2	56.9	129.6	118.1
6	41.4	41.2	34.3	211.5	19.6	19.3	19.7	113.1	138.1
7	18.4	18.2	33.7	46.8	34.5	33.9	34.2	160.4	118.0
8	53.2	53.0	37.2	38.2	40.7	40.7	40.0	102.1	163.2
9	37.6	37.2	55.7	53.6	47.4	48.3	47.8	155.4	108.3
10	59.6	59.4	40.3	41.4	38.2	37.8	38.3	111.2	144.4
11	35.8	35.6	22.4	21.8	24.2	24.3	24.2		18.5
12	30.6	30.7	41.3	37.5	127.0	128.8	123.8		
13	39.8	37.8	43.9	43.1	139.8	139.6	145.4		
14	38.4	38.7	57.6	56.1	42.9	42.2	43.0		
15	32.5	28.2	25.5	24.1	29.3	29.3	28.9		
16	36.1	33.5	29.6	28.2	25.4	26.4	24.5		
17	30.1	47.9	57.7	56.7	47.8	48.1	47.4		
18	42.9	36.6	12.7	12.7	54.5	54.5	40.9		
19	35.5	35.1	18.0	12.2	40.1	73.1	43.4		
20	28.3	28.5	37.7	36.2	40.5	42.6	31.9		
21	32.9	30.6	19.6	18.8	31.8	27.0	35.1		
22	39.4	32.4	35.4	33.9	38.3	38.5	34.0		
23	6.9	6.9	27.5	26.1	29.0	28.7	28.9		
24	14.8	14.8	47.6	45.9	16.0	15.8	16.5		
25	18.1	17.3	30.7	29.2	16.2	16.3	16.4		
26	20.4	18.9	20.5	20.0	17.8	17.4	17.9		
27	18.8	20.2	19.7	19.1	24.1	24.6	26.6		
28	32.2	209.3	24.5	23.2	181.8	179.3	182.0		
29	35.2	34.6	12.7	12.1	17.9	27.2	33.7		
30	31.9	29.5			21.7	16.6	24.7		

Hz, 27-CH₃), 0.84 (3H, t, *J* = 7.6 Hz, 29-CH₃), 0.92 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, 21-CH₃), 0.95 (3H, s, 18-CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 数据见表1。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **5** 为 (24*R*)-5A-豆甾烷-3, 6-二酮。

化合物 **6**: 白色蜡状固体; EI-MS *m/z*: 354 [M+H]⁺, 相对分子质量为 353。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 2.34 (2H, t, *J* = 12 Hz, H-1), 1.62 (2H, m, H-2), 1.25 (42H, m, H-3~23), 0.87 (3H, t, *J* = 12.0 Hz, H-24); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 33.9 (C-1), 32.1 (C-2), 29.2~29.8 (C-4~22), 24.9 (C-3), 22.8 (C-23), 14.3 (C-24)。以上数据与文献报道的十九烷胺比较, 多了 5 个 CH₂, 且呈直链连接^[9], 故鉴定化合物 **6** 为二十四烷胺。

化合物 **7**: 白色粉末 (甲醇); mp 266~267 °C;

EI-MS *m/z*: 456 [M]⁺; Liebermann-Burchard 反应和 Salkowski 反应均为阳性; 相对分子质量为 456; ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) 数据见表1。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **7** 为乌苏酸。

化合物 **8**: 白色粉末 (甲醇); mp 286~289 °C; EI-MS *m/z*: 473 [M+H]⁺; Liebermann-Burchard 反应显阳性; 相对分子质量为 472。¹H-NMR (600 MHz, CD₃COCD₃) δ: 0.93 (3H, s, 25-CH₃), 0.96 (3H, s, 24-CH₃), 1.00 (3H, d, *J* = 3.9 Hz, 30-CH₃), 1.21 (3H, s, 26-CH₃), 1.24 (3H, s, 23-CH₃), 1.35 (3H, s, 29-CH₃), 1.54 (3H, s, 27-CH₃), 2.54 (1H, s, H-18), 3.16 (1H, dd, *J* = 4.7, 11.0 Hz, H-3), 5.28 (1H, t, *J* = 3.5 Hz, H-12); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃COCD₃) 数据见表1。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **8** 为坡模酸。

化合物 **9**: 白色粉末 (甲醇); mp 300~302 °C; EI-MS m/z : 456 $[M]^+$; Liebermann-Burchard 反应阴性; 相对分子质量为 456; $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) 数据见表 1。以上数据与文献报道基本一致^[10-11], 故鉴定化合物 **9** 为齐墩果酸。

化合物 **10**: 无色针晶 (甲醇); 紫外 254 nm 显淡蓝色荧光; EI-MS m/z : 162 $[M]^+$; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 180, 1 687, 833; 相对分子质量为 162; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 9.55 (1H, s, -OH), 7.89 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4), 7.49 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.77 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz, H-6), 6.70 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3COCD_3) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **10** 为伞形花内酯。

化合物 **11**: 白色粉末 (甲醇); 紫外 254 nm 显蓝绿色强荧光, 10% 硫酸-乙醇显灰棕色; EI-MS m/z : 194 $[M]^+$; 相对分子质量为 194。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.56 (1H, dd, $J = 7.5, 7.6$ Hz, H-6), 7.07 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-5), 6.92 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-7), 4.55 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-4), 4.54 (1H, m, H-3), 1.45 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, 11- CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **11** 为 4-hydroxymellein。

化合物 **12**: 无色针晶 (甲醇); 紫外 254 nm 显蓝色荧光, 10% 硫酸-乙醇显深蓝紫色。 mp 247~248 °C; EI-MS m/z : 386 $[M]^+$; 相对分子质量为 386; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.29 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 7.88 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4), 6.81 (1H, s, H-5), 7.04 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.85 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.92 (1H, dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz, H-6'), 5.03 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7'), 4.22 (1H, m, H-8'), 3.87 (3H, s, H-11'), 3.86 (3H, s, H-10'), 4.30 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-9'), 3.67 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-9'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 163.5 (C-2), 114.4 (C-3), 146.7 (C-4), 102.4 (C-5), 147.9 (C-6), 139.6 (C-7), 133.8 (C-8), 139.6 (C-9), 113.5 (C-10), 128.8 (C-1'), 112.6 (C-2'), 149.6 (C-3'), 149.0 (C-4'), 116.7 (C-5'), 122.3 (C-6'), 78.5 (C-7'), 80.3 (C-8'), 62.1 (C-9'), 56.8 (10'- OCH_3), 57.2 (11'- OCH_3)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **12** 为臭矢菜素 A。

化合物 **13**: 白色粉末 (甲醇); mp 288~290 °C; MS、IR、 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **13** 为胡萝卜苷。

参考文献

- [1] 袁燕, 刘向前, 刘祖贞, 等. 闪式提取法研究苗药冠盖藤不同部位脂溶性成分 [J]. 中药材, 2011, 34(12): 1894-1897.
- [2] 杨丹丹, 刘向前, 刘祖贞, 等. 苗药冠盖藤不同部位挥发性成分的 GC-MS 分析 [J]. 西北药学杂志, 2012, 27(3): 189-192.
- [3] 蔡光先, 周德生, 吴泽君, 等. 湖南药物志 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2004.
- [4] 金建东. 三藤药散在骨伤科的应用 [J]. 中国民间疗法, 2001, 9(7): 41.
- [5] Yuan W L, Harrison L J. (20R, 23E)-Eupha-8, 23-diene-3b, 25-diol from *Tripetalum cymosum* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 50: 849-857.
- [6] Patra A, Chaudhuri S K. Studies on triterpenoids: Conversion of friedelanones into some secofriedelanes [J]. *Indian J Chem*, 1989, 28B: 376-380.
- [7] 傅建, 梁光义, 张建新, 等. 茸木毛蓝化学成分研究 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(3): 265-268.
- [8] 刘向前, 陆昌洙, 张承焯. 细柱五加皮化学成分的研究 [J]. 中草药, 2004, 35(3): 250-252.
- [9] 樊洁, 李海霞, 王炳义, 等. 两面针中化学成分的分离鉴定及活性测定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2013, 30(2): 100-105.
- [10] Sun L L, Zhong Y, Xia H M, et al. Chemical Constituents in *Charred Sanguisorbae Radix* [J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(1): 1-4.
- [11] 欧莹宝, 魏明杰, 李贺然. 黄背栎化学成分的研究 [J]. 中草药, 2013, 44(14): 1872-1876.
- [12] Chen I S, Lin Y C, Tsal I L, et al. Coumarins and anti-platelet aggregation constituents from *Zanthoxylum schinifolium* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(5): 1091-1097.
- [13] Meng X J, Mao Z L, Lou J F, et al. Benzopyranones from the *Endophytic fungus hyalodendriella* sp Ponipodef 12 and their bioactivities [J]. *Molecules*, 2012, 17(10): 11303-11314.
- [14] 王韵, 司马硕丹, 李继霞, 等. 飞机草化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2351-2355.
- [15] He Y Z, Eric K O, Sivoko I P, et al. Isolation and identification of bioactive constituents from stem barks of *Illicium difengpi* [J]. *Chin Herb Med*, 2014, 6(1): 76-79.