

昆明山海棠化学成分研究

谢晨琼¹, 吴瑾瑾¹, 奚学军¹, 李 祥², 陈建伟²

1. 浙江中医药大学附属第三医院, 浙江 杭州 310005

2. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

摘要: 目的 研究昆明山海棠 *Tripterygium hypoglaucum* 根中的化学成分。方法 利用硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱及半制备 HPLC 进行分离纯化, 采用 ¹H-NMR、¹³C-NMR、ESI-MS 等多种波谱技术鉴定获得的化合物结构。结果 从昆明山海棠根乙醇提取物的二氯甲烷部位分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为 2-(5',7'-二甲氧基-2',2'-二甲基-2H-苯并吡喃-6'-)-3-甲酰基-5,6-二甲氧基-苯并呋喃 (1)、3(R)-(4',5'-二羟基)-2',5,7-三甲氧基-6-(3-甲基-2-丁烯基)-异黄酮 (2)、3'-香叶草基-5,7,2',5'-四羟基异黄酮 (3)、β-谷甾醇棕榈酸酯 (4)、甘油山萆酸酯 (5)、β-谷甾醇 (6)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为毛茛子梢素 C; 化合物 2~5 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 昆明山海棠; 2-(5',7'-二甲氧基-2',2'-二甲基-2H-苯并吡喃-6'-)-3-甲酰基-5,6-二甲氧基-苯并呋喃; 毛茛子梢素 C; 3'-香叶草基-5,7,2',5'-四羟基异黄酮; 甘油山萆酸酯

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)12-2794-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.12.007

Chemical constituents of *Tripterygium hypoglaucum*

XIE Chen-qiong¹, WU Jin-jin¹, XI Xue-jun¹, LI Xiang², CHEN Jian-wei²

1. The Third Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, China

2. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the roots of *Tripterygium hypoglaucum*. **Methods** The chemical constituents from 95% EtOH extract of the roots of *T. hypoglaucum* at room temperature were isolated and prepared by Silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, and semi-pre HPLC after dichloromethane extraction, and their structures were elucidated by a variety of spectral and spectroscopic techniques. **Results** Six compounds were isolated and identified as 2-(5',7'-dimethoxy-2',2'-dimethyl-2H-benzopyran-6'-)-3-formyl-5,6-dimethoxy-benzofuran (1), 3(R)-4',5'-dihydroxy-2',5,7-trimethoxy-6-(3-methyl-but-2-enyl)-isoflavan (2), 3'-geranyl-5,7,2',5'-tetrahydroxyisoflavone (3), β-sitosterolpalmitate (4), docosanoic acid 2',3'-dihydroxypropyl ester (5), and β-sitosterol (6). **Conclusion** Compound 1 is a new compound, named as hirtellanine C. Compounds 2—5 are isolated from the plants for the first time.

Key words: *Tripterygium hypoglaucum* (Lévl.) Hutch; 2-(5',7'-dimethoxy-2',2'-dimethyl-2H-benzopyran-6'-)-3-formyl-5,6-dimethoxy-benzofuran; hirtellanine C; 3'-geranyl-5,7,2',5'-tetrahydroxyisoflavone; docosanoic acid 2',3'-dihydroxypropyl ester

昆明山海棠 *Tripterygium hypoglaucum* (Lévl.) Hutch 又名火把花、断肠草、紫金皮等, 为卫矛科雷公藤属植物, 在我国主要分布在云南、贵州、四川、浙江等地。火把花一名始载于《本草纲目》^[1]: “生滇南者花红, 呼为火把花”。昆明山海棠具有祛风除湿、活血舒筋的功效, 主治风湿痹痛、半身不遂、疝气痛、痛经、出血不止、急性传染性肝炎、慢性肾炎、红斑狼疮、癌肿等。另外《云南抗癌中

草药》中记载昆明山海棠可治疗白血病、骨肉瘤、淋巴肉瘤、甲状腺癌、肺癌、类风湿、骨髓炎^[2]。昆明山海棠中含有的生物碱、萜类以及黄酮等主要活性成分, 具有抗炎、免疫抑制和抗肿瘤等药理活性^[3]。本课题组利用 95%乙醇回流提取昆明山海棠药材, 采用多种色谱和波谱技术分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为 2-(5',7'-二甲氧基-2',2'-二甲基-2H-苯并吡喃-6'-)-3-甲酰基-5,6-二甲氧基-苯并呋喃 [2-

收稿日期: 2018-12-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573577)

作者简介: 谢晨琼, 男, 硕士, 中药师, 主要从事中药化学成分及药理活性研究。Tel: 15058167171 E-mail: xiechenqiong2007@163.com

(5',7'-dimethoxy-2',2'-dimethyl-2*H*-benzopyran-6')-3-formyl-5,6-dimethoxy-benzofuran, **1**]、3(*R*)-(4',5'-二羟基)-2',5,7-三甲氧基-6-(3-甲基-2-丁烯基)-异黄酮[3(*R*)-4',5'-dihydroxy-2',5,7-trimethoxy-6-(3-methyl-but-2-enyl)-isoflavan, **2**]、3'-香叶草基-5,7,2',5'-四羟基异黄酮(3'-geranyl-5,7,2',5'-tetrahydroxyisoflavone, **3**)、 β -谷甾醇棕榈酸酯(β -sitosterol palmitate, **4**)、甘油山嵛酸酯(docosanoic acid 2',3'-dihydroxypropyl ester, **5**)、 β -谷甾醇(β -sitosterol, **6**)。其中, 化合物 **1** 是新化合物, 命名为毛茛子梢素 C。化合物 **2**~**5** 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Bruker Avance AV-500/300 型核磁共振仪(德国布鲁克公司); Q-TOF 高分辨质谱仪(Triple TOF 5600+, 美国 ABSciex 公司); 半制备高效液相色谱仪(日本岛津有限公司); 高效液相色谱仪(Alliance e2695, 美国 Waters 公司)。

1.2 试剂

Sephadex LH-20 凝胶(Pharmacia 公司); 柱色谱硅胶、薄层色谱硅胶板(青岛海洋化工有限公司); 甲醇、乙腈(江苏汉邦科技有限公司, 色谱纯); 其余化学试剂均为分析纯。

1.3 材料

昆明山海棠药材购自安徽省铜陵禾田中药饮片股份有限公司(批号 20140601, 产地云南), 经南京中医药大学药学院陈建伟教授鉴定为卫矛科雷公藤属昆明山海棠 *Tripterygium hypoglaucom* (Lévl.) Hutch 的根。

2 提取与分离

将 13 kg 昆明山海棠药材粉碎后, 用 95%乙醇(固液比 1:5)回流提取 3 次, 每次提取 2 h。提取液减压干燥, 得到浸膏 1.5 kg。用无水乙醇溶解浸膏, 并与等量的硅藻土搅拌均匀、挥干溶剂。提取物-硅藻土 1:3 的比例装柱, 分别用二氯甲烷、醋酸乙酯、甲醇进行萃取, 最后得到二氯甲烷部位(640 g)、醋酸乙酯部位(240 g)和甲醇部位(450 g)。取二氯甲烷部位经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯(1:0 $\rightarrow$ 0:1)梯度洗脱, 得到 9 个流分 Fr. 1~9。Fr. 5 部位用醋酸乙酯溶解, 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-二氯甲烷(50:1、20:1、10:1、5:1、1:1)梯度洗脱, 得到组分 E1~E5, E2 经硅胶柱色谱和凝胶 Sephadex LH-20 用丙酮进行洗脱进一

步分离得到化合物 **1** (9.6 mg)。Fr. 7 部位多次进行硅胶柱色谱分离, 以石油醚-丙酮系统(50:1、20:1、10:1、5:1、1:1)洗脱, 得到化合物 **2** (7.5 mg), 再用半制备 HPLC 分离纯化(C_{18} , 甲醇-水 85:15, 1.0 mL/min), 得到化合物 **3** (8.7 mg)。Fr. 2 部位经硅胶柱色谱分离得到化合物 **4** (11.5 mg)、**5** (9.3 mg) 和 **6** (23.7 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色晶体(醋酸乙酯)。经 HR-ESI-MS 推测其准分子离子峰 m/z : 447.143 2 $[M+Na]^+$, 425.159 9 $[M+H]^+$, 计算值为 425.159 5, 推测其分子式为 $C_{24}H_{24}O_7$, 根据分子式计算不饱和度为 13; mp 160~161 $^{\circ}C$; 紫外吸收光谱在 219.4、242.6、285.2、344.6 nm 处有吸收峰, IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 430.08 (OH), 1 667.22 (C=O)。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 谱图中, δ 1.51 (6H, s), 5.59 (1H, d, $J=10.0$ Hz), 6.58 (1H, d, $J=10.0$ Hz) 3 处的信号峰, 表明该化合物可能存在 1 个二甲基苯并吡喃环结构^[4]。同时, δ 6.33 (1H, s) 显示 1 个芳香单氢信号, δ 3.57 (3H, s), 3.78 (3H, s) 显示 2 个甲氧基信号。在 HMBC 谱中, δ 6.33 (1H, s) 与 δ 103.4 (C-6'), 159.7 (C-7'), 157.4 (C-9'), 108.2 (C-10') 相关, 证明 δ 6.33 (1H, s) 为 H-8'; 此外 HMBC 谱中甲基氢信号 δ 1.51 (6H, s) 与 δ 77.2 (C-2') 相关, 烯氢信号 δ 6.58 (H-4') 与 δ 157.4 (C-9'), 108.2 (C-10') 相关, 进一步证明了二甲基苯并吡喃环的存在, 并说明该二甲基色烯取代基稠合在 C-9'、C-10' 上。2 个甲氧基信号 δ 3.57, 3.78 在 HMBC 谱中分别与 δ 156.7 (C-5'), 159.7 (C-7') 相关, 证明甲氧基为 5'位和 7'位取代。 ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) 谱中给出了 24 个碳信号, 除去 13 个二甲基苯并吡喃环结构单元中的碳信号, 再除去 1H -NMR 谱上给出的剩余 2 组甲氧基的信号 δ 3.96 (3H, s), 4.01 (3H, s) 和醛基信号 δ 9.89 (1H, s), 分析剩余的 9 个碳信号可推测化合物 **1** 可能还含 1 个苯并呋喃环结构。 1H -NMR 谱上的 2 个芳香单峰质子信号 δ 7.13 (1H, s), 7.71 (1H, s) 证明化合物 **1** 为 5,6-二甲氧基取代, 并且在 HMBC 谱中, δ 7.71 (1H, s) 与 δ 119.7 (C-3) 相关, 可以确定 δ 7.71 (1H, s), 7.13 (1H, s) 分别为 C-4, 7 上的质子信号。 1H -NMR 谱中有 1 个醛基氢信号 δ 9.89 (1H, s) 在 HSQC 中对应 δ 187.8, 并在 HMBC 谱上显示与 δ 119.7 (C-3) 相关, 证明醛基为 3 位取代, 并且苯并呋喃环结构的 C-2 与 C-6' 的芳香碳相连。根据 HSQC 谱, 化合物 **1** 的

^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 谱的全部信号相应归属见表 1。

经文献数据^[5]对比发现, 化合物 **1** 与文献报道的 2-(5',7'-二甲氧基-2',2'-二甲基-2*H*-苯并吡喃-6'-)-3-醛基-5,6-二羟基-苯并呋喃结构相近, 化合物 **1** 的 5,6 位碳为甲氧基取代。由此确定化合物 **1** 的结构为 2-(5',7'-二甲氧基-2',2'-二甲基-2*H*-苯并吡喃-6'-)-3-甲酰基-5,6-二甲氧基-苯并呋喃, 见图 1。经 Scifinder 检索确定其为新化合物, 命名为毛茛子梢素 C。

表 1 化合物 **1** 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 的数据 (CDCl_3)
Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compound **1** (CDCl_3)

碳位	δ_{H}	δ_{C}
2		159.5
3		119.7
4	7.71 (1H, s)	103.1
5		148.5
6		147.7
7	7.13 (1H, s)	95.2
8		149.6
9		116.7
10	9.89 (1H, s)	187.8
2'		77.2
3'	5.59 (1H, d, $J = 10.0$ Hz)	127.9
4'	6.58 (1H, d, $J = 10.0$ Hz)	116.5
5'		156.7
6'		103.4
7'		159.7
8'	6.33 (1H, s)	96.2
9'		157.4
10'		108.2
2'-CH ₃	1.51 (3H, s)	28.1
2'-CH ₃	1.51 (3H, s)	28.1
5-OCH ₃	3.96 (3H, s)	56.3
6-OCH ₃	4.01 (3H, s)	56.5
5'-OCH ₃	3.57 (3H, s)	62.3
7'-OCH ₃	3.78 (3H, s)	56.0

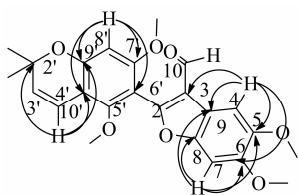


图 1 化合物 **1** 的结构及重要 HMBC 相关

Fig. 1 Structure and key HMBC correlations of compound **1**

化合物 **2**: 白色菊花状结晶(醋酸乙酯)。ESI-MS m/z : 401 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.63 (1H, s, H-6'), 6.44 (1H, s, H-3'), 6.28 (1H, s, H-8), 5.63 (1H, s, 4'-OH), 5.00 (1H, s, 5'-OH), 5.21 (1H, t, $J = 6.7$ Hz, H-2''), 3.31 (2H, d, $J = 6.7$ Hz, H-1''), 4.33 (1H, m, H-2), 4.09 (1H, m, H-2), 3.81 (3H, s, 2'-OCH₃), 3.79 (3H, s, 5-OCH₃), 3.75 (3H, s, 7-OCH₃), 3.48 (1H, m, H-3), 3.04 (1H, m, H-4), 2.87 (1H, m, H-4), 1.79 (3H, s, 3''-CH₃), 1.69 (3H, s, H-4''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 69.7 (C-2), 31.9 (C-3), 25.8 (C-4), 157.3 (C-5), 115.6 (C-6), 156.9 (C-7), 95.8 (C-8), 153.6 (C-9), 108.0 (C-10), 118.5 (C-1'), 140.9 (C-2'), 103.2 (C-3'), 147.8 (C-4'), 144.9 (C-5'), 110.7 (C-6'), 22.7 (C-1''), 123.9 (C-2''), 130.7 (C-3''), 17.8 (C-4''), 60.7 (5-OCH₃), 55.6 (7-OCH₃), 56.7 (2'-OCH₃), 25.8 (3''-CH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **2** 为 3(*R*)-(4',5'-二羟基)-2',5,7-三甲氧基-6-(3-甲基-2-丁烯基)-异黄酮。

化合物 **3**: 浅黄色粉末。ESI-MS m/z : 423 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 12.34 (s, 1H, 5-OH), 8.38 (1H, s, 7-OH), 7.95 (1H, s, H-2), 6.92 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 6.53 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.41 (1H, s, H-8), 6.33 (1H, s, H-6), 5.67 (1H, s, 2''-OH), 5.33 (1H, t, $J = 6.6$ Hz, H-2''), 5.08 (1H, t, $J = 6.6$ Hz, H-6''), 3.58 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, H-4''), 2.11 (4H, m, H-4'', 5''), 1.86 (3H, s, H-3'), 1.69 (3H, s, H-7''), 1.61 (3H, s, H-8); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 155.3 (C-2), 123.6 (C-3), 182.0 (C-4), 162.5 (C-5), 100.2 (C-6), 163.2 (C-7), 94.2 (C-8), 157.9 (C-9), 105.4 (C-10), 112.5 (C-1'), 154.2 (C-2'), 117.2 (C-3'), 157.2 (C-4'), 109.4 (C-5'), 128.0 (C-6'), 22.9 (C-1''), 121.6 (C-2''), 138.8 (C-3''), 39.7 (C-4''), 25.7 (C-5''), 123.9 (C-6''), 132.0 (C-7''), 17.7 (C-8''), 16.3 (3''-CH₃), 26.4 (7''-CH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **3** 为 3'-香叶草基-5,7,2',5'-四羟基异黄酮。

化合物 **4**: 白色针晶(醋酸乙酯)。ESI-MS m/z : 653 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.69 (3H, s, 18-H), 0.9 (3H, m, H-21), 1.04 (3H, s, 19-H), 1.84 (2H, m, H-2), 2.27 (2H, m, 4-H), 2.32 (2H, m, H-4), 4.62 (1H, m, H-3), 5.37 (1H, m, 5-H); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 37.0 (C-1), 27.8 (C-2), 73.7 (C-3), 38.2 (C-4), 139.7 (C-5), 122.6 (C-6), 31.9

(C-7), 31.9 (C-8), 50.1 (C-9), 36.6 (C-10), 21.0 (C-11), 39.7 (C-12), 42.3 (C-13), 56.7 (C-14), 24.3 (C-15), 28.3 (C-16), 56.1 (C-17), 11.9 (C-18), 19.3 (C-19), 36.2 (C-20), 18.8 (C-21), 34.0 (C-22), 26.1 (C-23), 45.9 (C-24), 29.1 (C-25), 19.8 (C-26), 19.1 (C-27), 23.1 (C-28), 12.0 (C-29), 173.3 (C-1'), 34.7 (C-2'), 25.1 (C-3'), 29.3 (C-4'), 29.4 (C-5'), 29.5 (C-6'), 29.6 (C-7'), 29.7 (C-8'~13'), 31.9 (C-14'), 22.7 (C-15'), 14.1 (C-16')。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故确定化合物为 β -谷甾醇棕榈酸酯。

化合物5: 白色粉末。ESI-MS m/z : 415 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.86 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, H-22), 1.21~1.31 (m, $-CH_2$), 1.65 (2H, m, H-3), 2.37 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 3.62 (1H, dd, $J = 11.2$, 4.2 Hz, H-3'a), 3.72 (1H, dd, $J = 11.2$, 4.2 Hz, H-3'b), 3.96 (1H, m, H-2'), 4.23 (1H, dd, $J = 4.6$, 11.7 Hz, H-1'a), 4.17 (1H, dd, $J = 6.0$, 11.7 Hz, H-1'b); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 174.3 (C-1), 34.2 (C-2), 24.9 (C-3), 29.1~29.7 (C-4~19), 31.9 (C-20), 22.7 (C-21), 14.1 (C-22), 65.2 (C-1'), 70.3 (C-2'), 63.4 (C-3')。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故确定该化合物为甘油山萆酯。

化合物6: 无色针状结晶(醋酸乙酯)。ESI-MS m/z : 423 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.69 (3H, s, 18-H), 1.04 (3H, s, H-19), 2.27 (2H, m, H-4), 3.55 (1H, m, H-3), 5.37 (1H, dq, $J = 5.2$ Hz, H-5); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 37.3 (C-1), 31.7 (C-2), 71.8 (C-3), 42.3 (C-4), 140.8 (C-5), 121.7 (C-6), 31.9 (C-7, 8), 50.2 (C-9), 36.5 (C-10), 21.1 (C-11), 39.8 (C-12), 42.3 (C-13), 56.8 (C-14), 24.3

(C-15), 28.2 (C-16), 56.1 (C-17), 19.4 (C-19), 36.2 (C-20), 18.8 (C-21), 34.0 (C-22), 26.2 (C-23), 45.9 (C-24), 29.2 (C-25), 19.8 (C-26), 19.1 (C-27), 23.1 (C-28), 11.9 (C-29)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 结合薄层色谱与对照品进行对比, R_f 值也基本一致, 故确定化合物6为 β -谷甾醇。

参考文献

- [1] 李时珍. 本草纲目 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004.
- [2] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2014.
- [3] 谢晨琼, 周萍, 李祥, 等. 昆明山海棠化学成分及药理作用和临床应用研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(13): 1996-2010.
- [4] 张盛, 谭青, 寿清耀, 等. 大红袍中两个新的双氢异黄酮类化合物 [J]. 化学学报, 2010, 68(21): 2227-2230.
- [5] 杜昕, 宣碧霞, 沈征武. 毛茛子梢中天然高活性的神经氨酸酶抑制成分的研究 [J]. 化学学报, 2015, 73(7): 741-748.
- [6] Xie Y, Li T, Wang G, et al. Chemical constituents from *Campylotropis hirtella* [J]. *Planta Med*, 2016, 82(8): 734-741.
- [7] Shou Q, Fu R, Tan Q, et al. Geranylated flavonoids from the roots of *Campylotropis hirtella* and their immunosuppressive activities [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(15): 6712-6719.
- [8] 孙红祥, 叶益萍, 杨可. 落新妇化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(10): 34-37.
- [9] 李林珍, 王孟华, 孙建博, 等. 粉条儿菜化学成分的研究 [J]. 中国药科大学学报, 2014, 45(2): 175-177.
- [10] 刘坤, 贾艳菊, 槐雅萍. 离舌囊吾干燥根中1个新的三萜皂苷 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4216-4219.