

滇南蛇根草化学成分的研究

黄艳丽^{1,2} 李静^{2,3} 项伟² 宋启示^{2*}¹ 云南热带作物职业学院 普洱 665000; ² 中国科学院西双版纳热带植物园 昆明 650223; ³ 深圳市中科海外科技有限公司 深圳 518000

摘要: 采用柱色谱技术从药用植物滇南蛇根草 *Ophiorrhiza austroyunnanensis* Lo. 全草的甲醇提取物分离得到 9 个化合物, 利用理化性质及波谱方法分别鉴定为 β -谷甾醇(1)、 β -豆甾醇(2)、 β -胡萝卜苷(3)、白桦脂醇(4)、叶黄素(5)、东莨菪素(6)、熊果酸(7)、茜根酸-1-甲醚(8) 和豆甾醇-3-O- β -D-葡萄糖苷(9)。所有化合物均为首次从该植物中得到。

关键词: 滇南蛇根草; 化学成分; 东莨菪素; 叶黄素

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

Chemical Constituents of *Ophiorrhiza austroyunnanensis*HUANG Yan-li^{1,2}, LI Jing^{2,3}, XIANG Wei², SONG Qi-shi^{2*}¹ Yunnan Vocational College of Tropical Crops Pu'er 665000, China; ² Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences Kunming 650223, China; ³ Shenzhen CASW Ltd. Shenzhen 518000, China

Abstract: This is the first report of the chemical constituents of *Ophiorrhiza austroyunnanensis* Lo. 9 compounds were isolated from the plant. The compounds were separated with column chromatography and their chemical structures were identified by physicochemical and spectral method respectively. They were β -sitosterol (1), β -stigmasterol (2), β -daucosterol (3), betulin (4), lutein (5), scopoletin (6), ursolic acid (7), ruberythric acid 1-methyl ether (8), β -stigmasterol-3-O- β -D-glucoside (9). All these compounds were isolated from this plant for the first time.

Key words: *Ophiorrhiza austroyunnanensis*; chemical constituents; scopoletin; lutein

滇南蛇根草 (*Ophiorrhiza austroyunnanensis* L.) 属茜草科蛇根草属多年生草本植物且为我国所特有, 生于海拔 1500 m 左右山区树阴间。主要分布于我国云南省的西双版纳、沧源、瑞丽和马关等地区。蛇根草(日本蛇根草)在《浙江民间草药》中记述: 具有“治咳嗽、肺癆、吐血”的作用; 在《浙江民间常用草药》则称其有“活血化淤、清肺发散”的作用。在民间则广泛的应用于治疗伤筋、扭伤脱臼、流火和月经不调等症状。另据报道在用于治疗慢性气管炎的临床实验中: 共观察 93 例, 临床治愈 14 例, 显效 14 例, 好转 50 例, 无效 15 例, 总有效率达到 84%^[1]。因此, 该属植物有极为广阔的开发前景, 而目前对于蛇根草属植物的研究报道较少^[2-5]。

为了研究蛇根草中的植物化学成分, 确定其药效成分, 笔者对滇南蛇根草全草进行了化学成分研

究, 从中分离到了 9 种化合物, 且这 9 种化合物均为首次从该种植物中得到。

1 仪器与材料

XTRC-1 显微熔点仪上(温度计未校正); Bruker AM-400、DRX-500, TMS 为内标; VG-AutoSpec-3000 型质谱仪(英国 VG 公司); 200 ~ 300 目柱层析硅胶, 50 mm × 100 mm 薄层硅胶板(青岛海洋化工厂); DM-130 大孔树脂(山东鲁抗医药股份有限公司)。

滇南蛇根草样品采集于云南省沧源地区。采集的原料于背阴处晾干粉碎, 过 2 号筛得粗粉, 备用。

2 提取与分离

滇南蛇根草样品 10.0 kg, 粉碎后用工业甲醇于室温下提取 3 次, 每次浸泡 24 h。合并提取液, 过滤, 减压浓缩得到甲醇浸膏(695.13 g), 浸膏用 5 倍量的水分散均匀后依次用石油醚、氯仿、正丁醇依次萃取制得的悬浮液, 每次萃取 3 次, 将相同萃取剂萃

收稿日期: 2009-11-11 接受日期: 2009-12-14

基金项目: 中国科学院“西部之光”人才培养计划重点项目“滇南蛇根草属植物生理活性成分研究”

* 通讯作者 E-mail: songqs@xtbg.ac.cn

的溶液合并、减压蒸干、称重。通过萃取,样品被分为四个部分:石油醚萃取物 182.59 g,氯仿萃取物 31.78 g,正丁醇萃取物 166.53 g,剩余部分为水部(14.76 g)。石油醚部分、氯仿部分和正丁醇部分均以两倍量的硅胶(100目)拌样后以正相硅胶柱(石油醚/丙酮 1:0~8:2,梯度为 5%)、MCI 反相柱(甲醇/水 1:0~9:1,梯度为 10%)反复柱层析,其中石油醚部分得化合物 **1**(1500 mg) **2**(1000 mg) **3**(500 mg) **4**(350 mg) 和 **5**(300 mg)。氯仿部分得化合物 **6**(450 mg) **7**(200 mg) 和 **9**(180 mg);正丁醇部分得化合物 **8**(100 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** $C_{29}H_{50}O$, 分子量为 414, 无色片状结晶(丙酮), mp. 137~139 °C, Lieberman-Burchard 反应(醋酐/浓硫酸反应)显紫红色后迅速变为绿色, Salkowski 反应(浓硫酸/氯仿反应)呈阳性, 该化合物与 β -谷甾醇对照品共进行薄层层析, 石油醚/乙酸乙酯(4:1)和石油醚/乙醚(2:1)展开 R_f 值一致; 以上信息及数据与参考文献报导一致^[6,7], 确定该化合物为 β -谷甾醇。

化合物 **2** $C_{29}H_{48}O$, 白色针状结晶(石油醚/丙酮), mp. 142~144 °C。TLC 展开后紫外灯(254 nm)下无荧光, 硫酸/乙醇显紫红色, 与 β -豆甾醇标准品在多种溶剂体系作 TLC 对照, R_f 值相同, 故确定为 β -豆甾醇。

化合物 **3** $C_{35}H_{60}O_6$, 白色无定形粉末(甲醇), mp. 281~282 °C, Lieberman-Burchard 反应(醋酐/浓硫酸反应)阳性, Molish 反应阳性, TLC 展开后, 紫外灯(254 nm)下无荧光, 硫酸/乙醇显紫红色, 在多种有机溶剂中不易溶解。¹H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) 谱有 δ : 5.29 (1H, brs, 6-H) 烯氢信号 4.18 (1H, d, $J = 7.2$ Hz) 糖基端上氢信号, 呈 β 构型, 2.84~4.20 范围内存在糖基上的多个质子, 0.99 (3H, s, 19-CH₃) 和 0.63 (3H, s, 18-CH₃) 为角甲基上的氢信号 0.88 (3H, d, $J = 6.3$ Hz) 0.86 (3H, t, $J = 6.0$ Hz) 0.81 (3H, d, $J = 5.4$ Hz) 和 0.79 (3H, d, $J = 6.0$ Hz) 为甲基上的氢信号; 以上数据与文献报导^[8]对照, 确定该化合物为 β -胡萝卜素。

化合物 **4** 白色粉末, 硫酸显色为红色, mp. 251~253 °C, EI-MS m/z : 442 [M]⁺, 203 (100); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.80 (3H, s) 0.81 (3H, d) 0.89 (3H, s) 0.95 (3H, s) 0.99 (3H, d) 1.00

(3H, d) 1.10 (3H, s); 5.14 (1H, H-2) 3.22 (1H, m, H-3) 3.52 和 3.55 (H-28) 1.90 和 1.92 (H-11) 1.38 (1H, H-18); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 38.7 (C-1) 27.2 (C-2) 79.0 (C-3) 38.7 (C-4) 55.1 (C-5) 18.3 (C-6) 32.9 (C-7) 40.0 (C-8) 47.6 (C-9) 36.8 (C-10) 23.3 (C-11) 125.0 (C-12) 138.7 (C-13) 42.0 (C-14) 26.0 (C-15) 35.1 (C-16) 38.0 (C-17) 54.0 (C-18) 39.3 (C-19) 39.4 (C-20) 30.6 (C-21) 30.5 (C-22) 28.1 (C-23) 15.6 (C-24) 15.6 (C-25) 17.3 (C-26) 23.3 (C-27) 69.9 (C-28) 16.7 (C-29) 21.3 (C-30)。以上光谱数据与文献报道一致^[9], 故确定该化合物为白桦脂醇。

化合物 **5** $C_{40}H_{56}O_2$, 红色粉末, mp. 196~197 °C. FAB-MS m/z : 568 (100) [M]⁺. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.84 0.99 (6H, s, 1'-gem-Me) 1.07 (6H, s, 1-gem-Me) 1.37 (1H, dd, $J = 13.0, 7.0$ Hz, 2'-ax-H) 1.47 (1H, t, $J = 12.0$ Hz, 2-ax-H) 1.62 (3H, s, 5'-Me) 1.73 (3H, s, 5-Me) 1.83 (1H, dd, $J = 13.0, 6.0$ Hz, 2'-eq-H) 1.90 (3H, s, 9'-Me) 1.96 (9H, s, 9-, 13-, 13'-Me) 2.36-2.41 (2H, m, 6'-Aeq-H) 4.0 (1H, m, 3-H) 4.25 (1H, 3'-H) 5.43 (1H, dd, $J = 15.5, 10.0$ Hz, 7'-H) 5.55 (1H, s, 4'-H) 6.12 (2H, s, 7-8-H) 6.15 (3H, m, 8'-, 10-, 10'-H) 6.26 (2H, m, 14-, 14'-H) 6.34 (2H, d, $J = 15.0$ Hz, 12-, 12'-H) 6.57-6.66 (4H, m, 11-, 11'-, 15-, 15'-H). ¹³C NMR (500 MHz, CDCl₃): 37.1 (C-1) 48.3 (C-2) 65.0 (C-3) 42.5 (C-4) 126.1 (C-5) 137.5 (C-6) 125.5 (C-7) 138.4 (C-8) 135.6 (C-9) 131.2 (C-10) 124.9 (C-11) 137.5 (C-12) 136.4 (C-13) 132.5 (C-14) 130.0 (C-15) 29.6, 30.2 (1-gem-Me) 21.6 (5-Me) 12.7 (9-Me) 12.8 (13-Me) 34.0 (C-1') 44.6 (C-2') 65.9 (C-3') 125.5 (C-4') 137.7 (C-5') 54.9 (C-6') 128.7 (C-7') 137.7 (C-8') 135.0 (C-9') 130.7 (C-10') 124.4 (C-11') 137.5 (C-12') 136.4 (C-13') 132.5 (C-14') 130.0 (C-15') 24.2, 29.6 (1'-gem-Me) 22.8 (5'-Me) 13.1 (9'-Me) 12.7 (13'-Me)。以上数据与文献报道一致^[10], 故将化合物 **5** 鉴定为叶黄素。

化合物 **6** 淡黄色针晶(丙酮), mp. 204 °C, ESI-MS m/z : 193 [M + H]⁺, 结合¹H NMR (CD₃COCD₃, 500 MHz) δ : 8.74 (1H, s, OH) 7.83 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4) 7.19 (1H, s, H-5) 6.79

(1H δ , H-8) ,6.18(1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3) ,3.90(3H δ , OCH₃) . ¹³C NMR(100 MHz, CD₃COCD₃) δ : 161.6(C-2) ,113.7(C-3) ,145.0(C-4) ,110.4(C-5) ,146.3(C-6) ,152.2(C-7) ,104.1(C-8) ,151.1(C-9) ,112.5(C-10) ,57.1(OCH₃) 。经与文献对照^[11] ,化合物6鉴定为东莨菪素。

化合物7 白色粉末状态, mp. 245 ~ 246 °C, Lieberman-Burchard 反应显阳性, Molish 反应显阳性。IR(cm^{-1}): 3429, 2927, 2864, 1693, 1639, 1458, 1382, 1282, 1242, 1035, 992, 665. ¹H NMR(125 MHz, CDCl₃) δ : 0.68(3H, CH₃) ,0.69(s, CH₃) ,0.77(3H, CH₃) ,0.81(d, CH₂) ,0.82(d, 3H, CH-CH₃) ,0.88(3H, CH₃) ,0.91(3H, CH₃) ,1.05(s, CH₃) ,1.24(m) ,1.46(m) ,1.84(m) ,1.57(d) ,2.5(m) ,3.2(m) ,4.1(brs, OH) ,5.1(s, CH=C) . FAB-MS(m/z): 608 [M + G - H]⁺ ,592, 576, 472, 471, 456 [M]⁺ ,454 [M-2H]⁺ ,439, 411, 393, 301, 248, 203, 289, 145, 133, 119, 105, 95, 91, 77, 69. 其中G为底物硝基苄醇。推定分子式为C₃₀H₄₈O₃。通过DEPT和¹³C NMR谱进行归属并与文献报道熊果酸比对^[12] ,确定此化合物为熊果酸。

化合物8 黄色粉末, mp. 150 ~ 153 °C. ¹H NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.91(3H, s, OCH₃) ,7.73(1H, d, $J = 8.8$ Hz, 3-H) ,8.03(1H, d, $J = 8.8$ Hz, 4-H) ,8.15(2H, m, 5-8-H) ,7.89(2H, m, 6-7-H) ,5.04(1H, d, $J = 7.5$ Hz, 1'-H) ,4.18(1H, d, $J = 7.4$ Hz, 1''-H); ¹³C NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 149.3(C-1) ,156.9(C-2) ,124.6(C-3) ,121.1(C-4) ,126.7(C-5) ,134.7(C-6) ,134.4(C-7) ,126.6(C-8) ,181.8(C-9) ,181.7(C-10) ,132.4(C-11) ,133.9(C-12) ,124.6(C-13) ,127.8(C-14) ,60.8(OCH₃) ,100.4(C-1') ,73.7(C-2') ,76.1(C-3') ,69.7(C-4') ,76.6(C-5') ,68.4(C-6') ,104.1(C-1'') ,73.4(C-2'') ,76.4(C-3'') ,69.6(C-4'') ,65.6(C-5'') 。以上数据与文献报道一致^[13] ,故将化合物8鉴定为茜根酸-1-甲醚。

化合物9 C₃₅H₅₈O₆ ,白色粉末, mp. 277 ~ 279 °C(甲醇) ,其¹H NMR与豆甾醇-3-O- β -D-葡萄糖苷标准样品图谱一致; TLC上R_f值相同,故该化合物鉴定为豆甾醇-3-O- β -D-葡萄糖苷。

参考文献

- Jiangsu New Medicinal College(江苏新医学院). Dictionary of Chinese Materia Medica(中药大辞典). Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- Wall ME, Wani MC, Cook CE *et al.* Anti-tumor agent I. The isolation and structure of Camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata*. *J Am Chem Soc*, 1966, 88: 3888-3980.
- Kitajima M, Nakamura M, Takayama H *et al.* Constituents of regenerated plants of *Ophiorrhiza pumila*; formation of a new glycosylated camptothecin and predominant formation of (3R)-deoxypumiloside over (3S)-congener. *Tetrahedron Lett*, 1997, 38: 8997-9000.
- Hsiang YH, Hertzberg R, Hecht S *et al.* Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *J Biol Chem*, 1985, 260: 14873-14878.
- Rowe PM. Camptothecin: new enthusiasm for an old drug. *Lancet*, 1995, 3: 892-896.
- Tian J(田军), Wu FE(吴凤镔), Qiu MH(邱明华) *et al.* Chemical constituents of *Pterocephalus hookeri*. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)* 2000, 12: 35-38.
- He MF(何明芳), Meng ZM(孟正木), Wo LQ(沃联群). Study on constituents of *Centella asiatica* (L.) Urb. *J China Pharm Univ(中国药科大学学报)* 2000, 31: 91.
- Kojima H, Sato N, Hatano A *et al.* Steroid glucosides from *Prunella vulgaris*. *Phytochemistry*, 1990, 29: 2351-2355.
- Mahato SB, Kundu AP. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features. *Phytochemistry*, 1994, 37: 1517-1575.
- Baranyai M, Monlar P, Szabolcs J. Determination of the geometric configuration of the perylene chain of monocyclic C40 carotenoids II. *Tetrahedron*, 1981, 37: 203-207.
- Luo JG(罗建光), Kong LY(孔令义). Lipophilic constituents from the leaves of *Ipomoea batatas* (CV. Simon). *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)* 2005, 17: 166-168.
- Gui MY(桂明玉), Jin YR(金永日), Wang BZ(王宝珍). Chemical constituents from *Rabdosia japonica*. *Chinese Pharm J(中华医学杂志)*, 1999, 34: 51.
- Ei-Gamal AA, Takeya K, Itokawa H *et al.* Anthraquinones from the polar fractions of *Galium sinaicum*. *Phytochemistry*, 1996, 42: 1149-1155.