

贵州苗药黑骨藤化学成分的研究

甘秀海^{1a,2},周欣^{1a,1b*},陈华国^{1a,1b},龚小见^{1a,1b},张建新³,王道平³

(1. 贵州师范大学, a. 天然药物质量控制研究中心; b. 贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室, 贵阳 550001;
2. 贵州大学精细化工研究开发中心, 贵阳 550025; 3. 贵州省、中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵阳 550002)

摘要:利用色谱技术从黑骨藤(*Periploca forrestii* Schltr.)中分离得到9个化合物,通过理化性质和光谱分析,分别鉴定为: α -香树脂醇(I), α -香树脂醇乙酸酯(II),27-羟基- α -香树脂醇(III), β -香树脂醇(IV), β -香树脂醇乙酸酯(V),熊果酸(VI), β -谷甾醇(VII), β -胡萝卜甙(VIII),大黄素(IX)。化合物I, III, IV, V为首次从该植物中分离得到。

关键词:黑骨藤; 化学成分; 三萜; 蒽醌

中图分类号:Q946

文献标识码:A

文章编号:1005-3395(2009)02-0160-04

Chemical Constituents of *Periploca forrestii* Schltr.

GANG Xiu-hai^{1a,2}, ZHOU Xin^{1a,1b*}, CHEN Hua-guo^{1a,1b},

GONG Xiao-jian^{1a,1b}, ZHANG Jian-xin³, WANG Dao-ping³

(1a. *The Research Center for Quality Control of Natural Medicine*; 1b. *Key Laboratory for Information System of Mountainous Areas and Protection of Ecological*, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China; 2. *Research and Development Center of Fine Chemicals*, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

3. *The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences*, Guiyang 550002, China)

Abstract: Nine compounds were isolated from the *Periploca forrestii* Schltr. by chromatographic techniques. On the basis of physico-chemical properties and spectral data, they were identified as α -amyrin (I), α -amyrin acetate (II), 27-hydroxy- α -amyrin (III), β -amyrin (IV), β -amyrin acetate (V), ursolic acid (VI), β -sitosterol (VII), dauricine (VIII), emodin (IX). Compounds I, III, IV, V were isolated from this plant for the first time.

Key words: *Periploca forrestii* Schltr.; Chemical constituents; Triterpene; Anthraquinone

黑骨藤为萝藦科(Asclepiadaceae)杠柳属(*Periploca*)植物黑龙骨(*P. forrestii* Schltr.)的干燥根或全株。黑骨藤全株入药,具有通经、活血、解毒、祛风的功效,主治风湿关节痛、跌打损伤、月经不调等症,为民间广泛应用于治疗闭合性软组织损伤、风湿与类风湿等疾病的民族药^[1-2]。目前有报道其化学成分有强心苷、C₂₁甾类和萜类成份^[3-4]。药理研究表明^[5],黑骨藤新鲜茎皮中的总皂苷具有强心作用,其强心作用类似于毒毛旋花子苷G。本文对黑骨藤的化学成分进行了系统的研究,为其质量控制及合理开发利用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

黑骨藤药材于2006年11月采自贵州省贵阳市花溪区黔陶镇,在阴凉通风处晾干,粉碎。样品经贵阳中医学院靳风云教授鉴定为黑骨藤(*Periploca forrestii* Schltr.),标本保存于贵州师范大学天然药物质量控制研究中心。

1.2 仪器和试剂

熔点测定仪: X-4型双目镜显微熔点测定仪(未校正,北京泰克仪器有限公司);紫外分光光度

收稿日期:2008-03-06 修回日期:2008-06-02

基金项目:贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目(黔科合农字(2006)5007号)资助

* 通讯作者 Corresponding author

计 Shimadzu UV-2501PC 型; 红外光谱 Nicolet Impact-410 型红外分光光度计(KBr 压片); 核磁共振波谱仪 INOVO 400 MHz 型(美国 Varian 公司), JEOL ECX-500 MHz 型(日本电子株式会社), 以 TMS 为内标; 质谱仪 HP MS 5973 (美国惠普公司), 柱色谱硅胶(200~300 目)和薄层用硅胶 GF254(青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 (Pharmacia Biotech); 溶剂均为工业纯。

1.3 提取和分离

黑骨藤干燥药材 14 kg 粉碎后, 用 80% 工业乙醇回流提取 3 次, 合并提取液, 减压回收乙醇至基本无醇味。加入适量水分配, 依次用氯仿、正丁醇萃取, 所得氯仿部分经硅胶柱层析分离, 以氯仿-甲醇梯度洗脱, 分为 7 个部分。第 1 部分(5 g)经反复柱层析(用石油醚-乙酸乙酯洗脱)和 Sephadex LH-20 纯化, 得到化合物 II (96 mg)和 V (25 mg)。第 3 部分(20 g)经反复柱层析(用石油醚-丙酮洗脱)和 Sephadex LH-20 纯化, 得到化合物 I (18 mg)、III (46 mg)、IV (32mg)、VII (21mg)。第 4 部分(71 g)经反复柱层析, 用石油醚-丙酮洗脱并经甲醇重结晶, 得到化合物 VI(54 mg)、IX (8 mg)。第 5 部分(4 g)经反复柱层析, 以氯仿-甲醇洗脱, 得到化合物 VIII (41 mg)。

1.4 结构鉴定

化合物 I 白色粉末, mp. 180~182°C; 分

子式 $C_{30}H_{50}O$, 相对分子量 426。EIMS m/z (%): 426 $[M]^+$, 218(100)。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.18 (1H, brs, H-12), 3.21 (1H, m, H-3), 1.13, 0.99, 0.95, 0.93, 0.89, 0.87, 0.83, 0.79 ($8 \times 3H$, s), ^{13}C -NMR (125 MHz $CDCl_3$) 化学位移见表 1。以上数据与文献[6-7]报道的基本一致, 确定为 α -香树脂醇。

化合物 II 白色晶体(石油醚-乙酸乙酯), mp. 231~232°C; 分子式 $C_{32}H_{52}O_2$, 相对分子量 468。EIMS m/z (%): 468 $[M]^+$, 218 (100)。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.18 (1H, brs, H-12), 4.50 (1H, t, $J=8.0$ Hz, H-3), 2.05 (3H, s, $COOCH_3$), 1.13 (3H, s, H-27), 0.98 (6H, s, H-25, 26), 0.87 (12H, s, H-23, 24, 29, 30), 0.83 (3H, s, H-28), ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) 化学位移见表 1。以上数据与文献[6-7]报道的基本一致, 确定为 α -香树脂醇乙酸酯。

化合物 III 白色粉末, mp. 220~221°C; 分子式 $C_{30}H_{50}O_2$, 相对分子量 442。EIMS m/z (%): 442 $[M]^+$, 203(100)。 1H -NMR (400 MHz $CDCl_3$) δ : 5.14 (1H, brs, H-12), 3.52 (1H, m, H-3), 3.21 (2H, s, H-27), 1.10 (3H, s, H-28), 0.93 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-30), 0.87 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-29), 0.79~0.99 (12H, s, H-23, 24, 25, 26), ^{13}C -NMR (100 MHz $CDCl_3$) 化学位移见表 1。碳谱数据与文献[8]基本一致, 故鉴定为 27-羟基- α -香树脂醇。

表 1 化合物 I~V 的 ^{13}C -NMR 化学位移

Table 1 ^{13}C -NMR chemical shifts of compounds I~V

| Position | 化合物 Compound | | | | | Position | 化合物 Compound | | | | |
|----------|--------------|-------|-------|-------|-------|----------|--------------|-------|------|------|-------|
| | I | II | III | IV | V | | I | II | III | IV | V |
| 1 | 38.7 | 38.4 | 38.7 | 38.6 | 37.7 | 17 | 33.7 | 33.8 | 46.4 | 32.5 | 32.5 |
| 2 | 27.2 | 23.6 | 25.9 | 27.2 | 23.6 | 18 | 59.0 | 59.0 | 53.9 | 47.2 | 47.2 |
| 3 | 77.3 | 80.9 | 79.0 | 79.1 | 80.9 | 19 | 39.6 | 39.6 | 39.4 | 46.8 | 46.8 |
| 4 | 38.7 | 37.7 | 38.7 | 38.9 | 37.1 | 20 | 39.7 | 39.6 | 39.3 | 31.1 | 31.1 |
| 5 | 55.2 | 55.2 | 55.1 | 55.2 | 55.2 | 21 | 31.2 | 31.2 | 30.6 | 34.7 | 38.2 |
| 6 | 18.0 | 18.2 | 18.3 | 18.4 | 18.2 | 22 | 41.5 | 41.5 | 35.1 | 36.9 | 36.8 |
| 7 | 32.9 | 32.8 | 32.7 | 32.6 | 32.6 | 23 | 28.1 | 28.0 | 28.0 | 28.1 | 28.4 |
| 8 | 40.0 | 40.0 | 40.0 | 38.8 | 39.8 | 24 | 15.6 | 16.8 | 15.6 | 15.5 | 16.7 |
| 9 | 48.3 | 47.6 | 47.6 | 47.6 | 47.5 | 25 | 15.7 | 15.7 | 15.7 | 15.6 | 15.6 |
| 10 | 36.9 | 36.8 | 36.8 | 37.1 | 34.7 | 26 | 16.9 | 16.9 | 16.7 | 16.8 | 16.8 |
| 11 | 23.3 | 23.2 | 23.3 | 23.5 | 23.5 | 27 | 23.4 | 23.4 | 69.9 | 26.0 | 25.9 |
| 12 | 124.4 | 124.3 | 125.0 | 121.8 | 121.6 | 28 | 28.1 | 28.0 | 28.1 | 28.4 | 26.9 |
| 13 | 139.6 | 139.7 | 138.6 | 145.2 | 145.2 | 29 | 17.5 | 17.5 | 17.3 | 33.3 | 33.3 |
| 14 | 42.1 | 42.1 | 42.0 | 41.7 | 41.7 | 30 | 21.4 | 21.4 | 21.3 | 23.7 | 23.7 |
| 15 | 28.7 | 28.7 | 27.2 | 26.1 | 28.0 | CO | | 171.0 | | | 171.0 |
| 16 | 26.6 | 26.6 | 23.3 | 26.9 | 26.1 | CH_3CO | | 21.3 | | | 21.3 |

化合物 IV 白色粉末, mp. 196 ~ 198°C; 分子式 $C_{30}H_{50}O$, 相对分子量 426。EIMS m/z (%): 426 $[M]^+$, 218(100)。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.18 (1H, brs, H-12), 3.21 (1H, m, H-3), 1.13, 0.99, 0.95, 0.93, 0.89, 0.87, 0.83, 0.79 (8 \times 3H, s), ^{13}C -NMR (125 MHz $CDCl_3$) 化学位移见表 1。以上数据与文献[6-7]报道的基本一致, 确定为 β -香树脂醇。

化合物 V 白色晶体(石油醚-乙酸乙酯), mp. 235 ~ 236°C; 分子式 $C_{32}H_{52}O_2$, 相对分子量 468。EIMS m/z (%): 468 $[M]^+$, 218 (100)。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.18 (1H, brs, H-12), 4.50 (1H, t, $J=8.0$ Hz, H-3), 2.05 (3H, s, $COOCH_3$), 1.13 (3H, s, H-27), 0.98(6H, s, H-25, 26), 0.87 (12H, s, H-23, 24, 29, 30), 0.83 (3H, s, H-28), ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) 化学位移见表 1。以上数据与文献[6-7]报道的基本一致, 确定为 β -香树脂醇乙酸酯。

化合物 VI 白色粉末, mp. 260 ~ 262°C。分子式 $C_{30}H_{48}O_3$, 相对分子量 456。EIMS m/z (%): 456 $[M]^+$, 248 (100)。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3-CD_3OH$) δ : 5.24 (1H, brs, H-12), 3.19 (1H, m, H-3), 2.19 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-18), 1.26 (3H, s, H-27), 1.10 ~ 0.78 (12H, s, H-23, 24, 25, 26), 0.95(3H, d, $J=6.3$ Hz, H-30), 0.86(3H, d, $J=6.8$ Hz, H-29)。以上数据与文献[4]报道的基本一致, 通过 TLC 与熊果酸标准品对照, R_f 值一致, 且混合熔点不降低, 将其确定为熊果酸。

化合物 VII 无色针状晶体(甲醇), mp. 143 ~ 144°C。通过 EIMS 及 TLC 与 β -谷甾醇标准品对照, R_f 值一致, 且混合熔点不降低, 故鉴定为 β -谷甾醇。

化合物 VIII 白色粉末, 分子式 $C_{35}H_{60}O_6$ 。Molish 反应和 Liebermann-Burchard 反应阳性, 与 β -胡萝卜甙对照品的薄层色谱 R_f 值完全相同, 且混合熔点不降低, 故鉴定为 β -胡萝卜甙。

化合物 IX 桔红色针晶(甲醇), $UV\lambda_{max}$ (MeOH) nm (log ϵ): 228 (4.3), 257 (4.1), 287 (4.0), 438 (3.9)。IR(KBr) cm^{-1} : 3395, 1628, 1418, 1342, 1296, 1164, 759。EIMS m/z (%): 270 $[M]^+$ (100)。 1H -NMR (500 MHz, CD_3COCD_3) δ : 12.15, 12.03 (1H each, s, OH), 10.20 (1H, s, OH), 7.53 (1H, s, H-4), 7.22 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-5), 7.10 (1H, s, H-2), 6.64 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-7), 2.45 (3H, s, CH_3), ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3COCD_3) δ : 166.3 (C-1), 121.5 (C-2),

149.5 (C-3), 125.0 (C-4), 109.6 (C-5), 163.3 (C-6), 108.9 (C-7), 166.3 (C-8), 191.7 (C-9), 182.1 (C-10), 134.2 (C-4a), 110.5 (C-8a), 114.4 (C-9a), 136.6 (C-10a), 22.0 (CH_3)。以上数据与文献[9]报道的基本一致, 将其确定为大黄素。

2 结果和讨论

对黑骨藤的乙醇提取物进行分离纯化, 从氯仿部分得到 9 个化合物, 经理化常数和波谱数据分析, 鉴定这些化合物为: α -香树脂醇 (I), α -香树脂醇乙酸酯 (II), 27-羟基- α -香树脂醇 (III), β -香树脂醇 (IV), β -香树脂醇乙酸酯 (V), 熊果酸 (VI), β -谷甾醇 (VII), β -胡萝卜甙 (VIII), 大黄素 (IX)。化合物 I, III, IV, V 为首次从该种植物中分离得到。

α -香树脂醇和 β -香树脂醇乙酸酯对关节炎有明显的对抗作用; α -香树脂醇乙酸酯和 β -香树脂醇乙酸酯可抑制棉球肉芽肿, 其作用类似于氢化可的松; β -香树脂醇乙酸酯可使肝匀浆 ATP 磷酸水解酶明显升高^[10], 这与黑骨藤的抗炎作用相吻合。熊果酸在体外对革兰阳性菌、阴性菌、酵母菌有抑制活性, 可明显降低大鼠的正常体温, 并有安定作用^[11]。大黄素具有较强的抗肿瘤活性和诱导细胞凋亡的作用, Kuo 等^[12] 研究报道大黄素通过激活 p53、p21 的表达, 在体外能有效抑制肝癌细胞 HepG2 的增殖并诱导其凋亡, 其半数抑制浓度约为 130 μ mol/L。大黄素还能诱导肺癌细胞株 H460、CL5 发生凋亡^[13-14]。 β -胡萝卜甙是一种抗肿瘤药物, 具有抗真菌活性^[15]。因此这些化合物的发现在一定程度上阐明了黑骨藤药用价值的化学物质基础。

参考文献

- [1] Jiangsu New Medical College (江苏新医学院). Dictionary of Chinese Traditional Medicine [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1986: 1-2388. (in Chinese)
- [2] Guizhou Province Drug Administration (贵州省药品监督管理局). The Traditional Chinese Medicine and Ethnomedicine Medicinal Materials Quality Standard of Guizhou Province [S]. Guiyang: Guizhou Science and Technology Press, 2003: 381. (in Chinese)
- [3] Hu Y J (胡英杰), Mu Q Z (木全章), Zhen Q T (郑启泰), et al. New cardiac ester constituents from *Periploca forrestii* [J]. Acta Chim Sin (化学学报), 1990, 48 (3): 714-719. (in Chinese)
- [4] Hu Y J (胡英杰), Mu Q Z (木全章). The chemical constituents of *Periploca forrestii* [J]. Acta Bot Yunnan (云南植物研究), 1989, 11 (4): 465-470. (in Chinese)
- [5] Deng S X (邓士贤), Wang D C (王德成), Wang M D (王懋德), et al

- Cardiotonic action of a glucosidal preparation obtained from *Periploca forrestii* Schlechter [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 1964, 11(2): 75-79.(in Chinese)
- [6] Seo S, Tomita Y, Tori K. Carbon-13 NMR spectra of urs-12-enes and application to structural assignments of compounds of *Isodon japonicus* Hara tissue cultures [J]. Tetrahedron Lett, 1975, 1: 7-10.
- [7] Zhong H J(钟海军), Luo S D(罗士德), Wang H Y(王惠英), et al. Chemical constituents of *Crepisphoenix* [J]. Acta Bot Yunnan(云南植物研究), 1999, 21(4): 531-534.(in Chinese)
- [8] Zhang Y H(张援虎), Chen D L(陈东林), Wang F P(王锋鹏). Studies on chemical constituents of *Periploca omeiensis* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2006, 18: 772-774.(in Chinese)
- [9] Coskun M, Satake T, Hori K, et al. Anthraquinone glycosides from *Rhamnus libanoticus* [J]. Phytochemistry, 1990, 29(6): 2018-2020.
- [10] Wang B X(王本祥). Modern Pharmacology of Chinese Materia Medica [M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Press, 1997: 1-436.(in Chinese)
- [11] Yao X S(姚新生), Wu L J(吴立军), Wu J Z(吴继洲), et al. Medicinal Chemistry of Natural Products [M]. 4th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005: 1-288.(in Chinese)
- [12] Kuo P L, Lin T C, Lin C C, et al. The antiproliferative activity of aloe-emodin is through P53-dependent apoptotic pathway in human hepatoma cell lines [J]. Life Sci, 2002, 71(16): 1879-1892.
- [13] Yen F T, Wu C H, Lee H Z, et al. Signaling pathway for aloe-emodin-induced apoptosis in human H460 lung nonsmall carcinoma cell [J]. Int J Cancer, 2003, 106(1): 26-33.
- [14] Wang H W, Chen T L, Yang P C, et al. Induction of cytochromes P450 1A1 and 1B1 by emodin in human lung adenocarcinoma cell line CL5 [J]. Drug Metab Dispos, 2001, 29(9): 1229-1235.
- [15] Zheng J G(郑金贵). Advances in healthy quality of agricultural products and their genetic improvement [J]. J Fujian Agri Univ(福建农业大学学报), 2000, 29(1): 1-6.(in Chinese)