

苦石莲的化学成分分离鉴定(II)

陈敏^{1,2}, 王寒^{2,3,4}, 周英^{2,3,4}, 陈琳^{2,3,4}, 王华林^{2,3,4*}

- (1. 铜仁职业技术学院, 贵州 铜仁 554300; 2. 贵州大学, 贵阳 550025;
3. 贵州省中药民族药创制工程中心, 贵阳 550025;
4. 贵州省中药材繁育与种植重点(工程)实验室, 贵阳 550025)

[摘要] 目的:研究和分离鉴定苦石莲的化学成分。方法:以苦石莲对牙周炎的关键因子白细胞介素-6(IL-6)和白细胞介素 8 (IL-8)的调控作用为依据,采取回流提取法和梯度萃取法进行提取分离,用反复硅胶柱色谱、薄层色谱、重结晶等方法分离纯化苦石莲的化学成分,通过质谱、核磁共振及理化常数对照等方法对化合物的结构进行鉴定。结果:分离鉴定了 8 个化合物,分别为豆甾醇(stigmasterol,1), caesalmin C(2), bonducellpin F(3), β -谷甾醇(β -sitosterol,4), β -香树脂醇(β -amyrin,5), 正二十六烷(*n*-hexacosane,6), 正三十烷(*n*-triacontane,7), 西米杜鹃醇(simiarenol,8)。结论:化合物 3,6,7,8 为首次从苦石莲中分离得到,其中 bonducellpin F 为一个新的卡山烷型呋喃二萜类化合物,*n*-hexacosane 和 *n*-triacontane 为脂肪烷烃类化合物,西米杜鹃醇为三萜类化合物。

[关键词] 苦石莲; 化学成分; 卡山烷型呋喃二萜

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)10-0067-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015100067

Chemical Composition of *Caesalpinia minax* (II) CHEN Min^{1,2}, WANG Han^{2,3,4}, ZHOU Ying^{2,3,4}, CHEN Lin^{2,3,4}, WANG Hua-lin^{2,3,4} (1. Tongren Polytechnic College, Tongren 554300, China; 2. Guizhou University, Guiyang 550025, China; 3. Traditional Chinese Medicine and Ethnodrug Engineering Center of Guizhou Province, Guiyang 550025, China; 4. Key Laboratory of Chinese Herbal Medicine Planting and Breeding of Guizhou Province, Guiyang 550025, China)

[Abstract] **Objective:** This research intends to study and indentify the chemical constituents of *Caesalpinia minax*. **Method:** On the basis of the regulation function of *C. minax* to interleukin-6 (IL-6) and interleukin-8 (IL-8), which is the key factors for periodontitis. Take the refluxing extraction and gradient extraction for extraction and separation. The compounds were isolated and purified by repeated chromatography on silica gel, thin layer chromatography and recrystallization. The structures were determined by MS, NMR, and physical and chemical data analysis. **Result:** 8 compounds were obtained. They were identified as stigmasterol (1), caesalmin C (2), bonducellpin F (3), β -sitosterol (4), β -amyrin (5), *n*-hexacosane (6), *n*-triacontane (7), simiarenol (8). **Conclusion:** Compounds 3 and 6-8 were isolated for the first time from *C. minax*. Bonducellpin F was a new cassane furanoditerpenoid. Simiarenol was triterpenoid.

[Key words] *Caesalpinia minax*; chemical constituents; cassane furanoditerpenoid

苦石莲具有活血散瘀、止痛、清热、除湿的功效,民间多用于治疗哮喘、痢疾、淋浊、尿血、跌打损伤等。苦石莲的抗炎活性为当前研究热点^[1],已有研究

报道表明苦石莲对牙周炎的抗炎机制可能与其调控机体的关键因子白细胞介素 6 (IL-6)和白细胞介素 8 (IL-8)含量有关,但苦石莲的成分含量相对复杂,关

[收稿日期] 20140409(022)

[基金项目] 贵州省科学技术基金项目(黔科合 J 字[2011]2308 号);教育部“新世纪人才支持计划”项目(NCET-11-0926);贵州省优秀青年科技人才培养对象专项(黔科合人字 2011(34)号);贵州省科技创新人才团队建设项目(黔科合人才团队[2010]4006 号)

[第一作者] 陈敏,硕士,讲师,从事天然药物成分及生理活性研究, Tel:0856-6909209, E-mail:1327947476@qq.com

[通讯作者] *王华林,硕士,副教授,从事药物化学研究, Tel:0851-3851091, E-mail:13639068488@163.com

键活性部位的研究鲜有报道。本课题组前期研究表明苦石莲能够有效地抑制牙周炎,能显著降低机体IL-6和IL-8的含量,具有调控IL-6,IL-8表达的作用^[2]。本实验以苦石莲对IL-6,IL-8的调控作用为研究基础,以现代分离技术和波谱技术为研究手段,分离提纯活性单体化合物,为阐明其抗炎作用的活性成分及今后的开发应用提供依据。

1 材料

WRS-1B型数字熔点测定仪(上海精密科学仪器有限公司),5973型气相色谱-质谱联用仪(美国惠普公司),INOVA-400型超导脉冲傅立叶变换核磁共振仪(美国瓦里安公司),JEOL ECX-500型500 MHz超导核磁共振仪(日本电子株式会社),WFH-201型紫外-荧光灯(上海顾村电光仪器),LD4-2型离心机(北京医用离心机厂),GF254薄层色谱和柱色谱用硅胶(青岛海洋化工厂),其余试剂均为分析纯。

苦石莲药材,购于贵州省药材公司,批号070506,经贵州大学廖海明教授鉴定为豆科植物喙荚云实(南蛇勒)*Caesal pinia minax*的种子。

2 提取与分离

取苦石莲药材15 kg,粉碎,依次用95%,80%,65%乙醇溶剂常温下浸提(24 h × 3),浸出液过滤,减压浓缩。浓缩物用水分散再用乙酸乙酯萃取,得样品196 g。进行硅胶柱色谱,采用石油醚-乙酸乙酯(1:0,20:1,10:1,5:1,1:1,1:2,1:3)、乙酸乙酯、甲醇洗脱,得到9个梯度洗脱液。梯度2中的组分2进行硅胶柱色谱,用石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,得一白色针状结晶,经纯化后得到化合物8(6 mg);梯度3中组分2出现白色针晶,纯化后得到化合物5(120 mg),组分9~13出现白色针晶,纯化后得到化合物1(20 mg);梯度4中组分2~3中出现白色针晶,经纯化后得到化合物4(10 mg),梯度5中组分2~3进行硅胶柱色谱分离,用石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,得到白色腊状物质,纯化后得化合物6(32 mg),组分4进行硅胶柱色谱分离,用石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,得到白色雪花状结晶,纯化后得化合物3(40 mg),组分6进行硅胶柱分离,用石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,得到无色方晶,纯化后得到化合物2(506 mg),组分7进行硅胶柱分离,用石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,出现白色片状物质,纯化后得化合物7(22 mg)。

3 结构鉴定

化合物1 白色针晶(三氯甲烷),mp 178~180

℃,Liebermann-Burchard反应为阳性,为甾醇类化合物。EI-MS m/z 412[M]⁺,379,369,300(20),271,255,229,213,159。经与已知物豆甾醇对照展开后,Rf值一致,且混合后熔点不下降,以上数据与文献[3]一致,确定化合物1为豆甾醇,分子式为C₂₉H₄₈O。

化合物2 无色晶体(三氯甲烷),mp 129~130℃,易溶于三氯甲烷、丙酮。EI-MS m/z 474[M]⁺,414,294,276,265,261,251,238,225,209,197,185,174,156,139,128,109,97,81,69,55,43。¹H-NMR(500 MHz, acetone) δ:1.16(6H, 2 × CH₃-4),1.31(3H, s, CH₃-10)为母核上的甲基质子信号;2.08(3H, s),1.97(3H, s),2.10(3H, s)分别为1,6,7位碳上乙酰基的甲基质子信号;4.89(1H, s, H-1),5.40(2H, br s, H-6,7),6.54(1H, d, J = 2 Hz, H-15),7.37(1H, d, J = 2 Hz, H-16)为连氧碳上的质子信号;4.95(1H, s, H^α-17),5.09(1H, s, H^β-17)为双键上的质子信号;1.73(1H, m, H^α-2),1.90(1H, m, H^β-2),1.11(1H, m, H^α-3),1.76(1H, m, H^β-3),2.82(1H, br s, H-8),2.72(1H, dd, H-9),2.41(1H, dd, H^α-11),2.60(1H, dd, H^β-11)。¹³C-NMR(125 MHz, acetone-*d*₆) δ:74.8(C-1),22.0(C-2),32.2(C-3),38.3(C-4),78.9(C-5),74.9(C-6,7),41.6(C-8),38.0(C-9),44.4(C-10),24.4(C-11)151.2(C-12,13)139.6(C-14),106.7(C-15),142.1(C-16),104.4(C-17),30.3(C-18),24.4(C-19),17.1(C-20)。以上数据与文献[4]一致,故鉴定化合物2为caesalmin C,分子式为C₂₆H₃₄O₈。

化合物3 无色固体(三氯甲烷),mp 152~153℃,易溶于三氯甲烷、丙酮。EI-MS m/z 388[M]⁺,328,310,295,251,210,195,185,174,157,146,137,131,121,107,99,91,81,69,55,43,29。¹H-NMR(500 MHz, acetone) δ:1.11(6H, 2 × CH₃-4),1.25(3H, s, CH₃-10)为母核上的甲基质子信号;2.15(3H, s)为7位碳上乙酰基的甲基质子信号;3.05(1H, s)为6位碳上羟基的质子信号;4.68(1H, s, H^α-17),5.70(1H, s, H^β-17)位双键上的质子信号;4.17(1H, s, H-6),5.36(1H, s, H-7),6.60(1H, d, H-15),7.30(1H, d, H-16)为连氧碳上的质子;1.81(1H, m, H^α-2),1.94(1H, m, H^β-2),1.78(1H, m, H^α-3),1.75(1H, m, H^β-3),2.83(1H, br s, H-8)2.80(1H, ddd, H-9),3.25(1H, dd, H^α-11),3.23(1H, dd, H^β-11)。¹³C-NMR(125 MHz, acetone) δ:213.3(C-1),33.3(C-2),41.3(C-3),44.9(C-4),82.2(C-5),

74.7 (C-6), 80.7 (C-7), 46.5 (C-8), 39.3 (C-9), 54.0 (C-10), 24.7 (C-11), 151.6 (C-12), 141.8 (C-13), 139.1 (C-14), 107.9 (C-15), 151.6 (C-16, 17), 30.2 (C-18), 24.7 (C-19), 17.5 (C-20)。以上数据与文献[5]一致,确定化合物**3**为 bonducellpin F, 分子式为 $C_{22}H_{28}O_6$ 。

化合物**4** 白色针状结晶(三氯甲烷), mp 135 ~ 137 °C, Liebermann-Burchard 反应为阳性, 5% 硫酸乙醇液显紫红色。EI-MS m/z 414 $[M]^+$, 399, 396, 381, 329, 303, 273, 255, 231, 213。与 β -谷甾醇样品对照薄层展开后, Rf 值一致, 混合熔点不下降。以上数据与文献[6]一致, 确定化合物**4**为 β -谷甾醇, 分子式为 $C_{29}H_{50}O$ 。

化合物**5** 无色针晶(三氯甲烷), mp 172 ~ 174 °C, Liebermann-Burchard 反应为阳性, Molish 反应为阴性, 示为三萜类化合物。EI-MS m/z 426 $[M]^+$, 218, 203, 189, 175, 161, 147, 135, 121, 109, 95, 81, 73, 71, 69, 60, 57, 55, 43, 41, 28; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.18 (1H, br t, $J = 4.0$ Hz, H-12), 3.21 (1H, dd, $J = 11.0, 4.4$ Hz, H-3), 1.00 (3H, s, Me-23), 0.97 (3H, s, Me-24), 0.93 (3H, s, Me-25), 0.97 (3H, s, Me-26), 1.13 (3H, s, Me-27), 0.83 (3H, s, Me-28), 0.87 (3H, s, Me-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 145.3 (s, C-13), 121.8 (d, C-12), 79.1 (d, C-3), 55.2 (d, C-5), 47.7 (d, C-9), 47.3 (d, C-18), 46.9 (t, C-19), 41.6 (s, C-14), 39.8 (s, C-4), 39.5 (s, C-8), 38.7 (t, C-1), 37.1 (t, C-22), 36.9 (s, C-10), 34.8 (t, C-21), 32.7 (t, C-7), 32.6 (s, C-17), 28.5 (q, C-28), 28.2 (q, C-23), 27.3 (t, C-2), 27.0 (t, C-16), 26.0 (q, C-27), 23.8 (q, C-30), 23.6 (t, C-11), 18.5 (t, C-6), 16.9 (q, C-26), 15.7 (q, C-25), 15.4 (q, C-24)。以上数据与文献[7]一致, 确定化合物**5**为 β -香树脂醇, 分子式为 $C_{30}H_{50}O$ 。

化合物**6** 白色蜡状固体(三氯甲烷), mp 89 ~ 90 °C, EI-MS m/z 366 $[M]^+$, 352, 337, 323, 309, 295, 281, 267, 253, 239, 225, 211, 197, 183, 169, 155, 141, 127, 113, 99, 85, 71, 57, 43, 28 等递减的 14 (CH_2) 的碎片峰, 以上数据表明其具链状脂肪烷的一系列特征峰, 以上数据与文献[8]一致, 确定化合物**6**为正二十六烷, 分子式为 $C_{26}H_{54}$ 。

化合物**7** 无色片状结晶(三氯甲烷), mp 65 ~ 67 °C, EI-MS m/z 422 $[M]^+$, 211, 197, 183, 169, 155, 141, 125, 111, 97, 83, 69, 57, 43, 28 等递减的 14 (CH_2) 的碎片峰, 以上数据表明其具链状脂肪烷的

一系列特征峰, 与文献[9]一致, 确定化合物**7**为正三十烷, 分子式为 $C_{30}H_{62}$ 。

化合物**8** 无色针晶(三氯甲烷), mp 152 ~ 154 °C。Liebermann-Burchard 反应为阳性, Molish 反应为阴性, 示为三萜类化合物。EI-MS m/z 426 $[M]^+$, 411, 274, 259, 231, 218, 205, 189, 173, 161, 152, 134, 121, 109, 95, 81, 69, 55, 43, 29。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.78 (3H, s, $-CH_3$), 0.84 (3H, s, $-CH_3$), 0.89 (3H, s, $-CH_3$), 0.88 (3H, d, $-CH_3$), 0.92 (3H, s, $-CH_3$), 1.01 (3H, s, $-CH_3$), 1.04 (3H, s, $-CH_3$), 1.13 (3H, s, $-CH_3$), 3.46 (1H, t, H-3), 5.57 (1H, s, H-6)。以上数据与文献[10]一致, 确定化合物**8**为西米杜鹃醇, 分子式为 $C_{30}H_{50}O$ 。

4 小结

本实验从苦石莲中分离鉴定出了 8 个化合物, 首次从中得到一个新的卡山烷型呋喃二萜类化合物 bonducellpin F。

[参考文献]

- [1] 邹忠杰, 龚梦婷. 苦石莲提取物抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(12): 3016-3017.
- [2] 王寒, 周英, 李燕, 等. 苦石莲提取物对 C. Rectus 侵袭的 THP-1 细胞中 IL-6 及 IL-8 浓度的影响[J]. 食品工业科技, 2009(11): 74-76.
- [3] 郭建军, 周英, 王华林, 等. 苦石莲的化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6): 117-120.
- [4] Jiang R W, Ma S C, But P P, et al. New antiviral cassane furanoditerpenes from *Caesalpinia minax* [J]. J Nat Prod, 2001, 64(10): 1266-1272.
- [5] Pudhom Khanitha, Sommit Damrong, Suwankitti Nattida, et al. Cassane furanoditerpenoids from the seed kernels of *Caesalpinia bonduc* from Thailand [J]. J Nat Prod, 2007, 70(9): 1542-1544.
- [6] 刘华, 张东明, 罗永明. 江西道地药材江香薷的化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(3): 56-59.
- [7] 杨爱梅, 韩晗, 孙静, 等. 藏药高山龙胆的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 121-124.
- [8] 吴弢, 程志红, 刘和平, 等. 中药枸杞叶脂溶性化学成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(19): 1460-1462.
- [9] 谢纲, 段文达, 陶保全, 等. 青杞的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(4): 627-629.
- [10] 章小丽, 余正文, 郭芳琴, 等. 大驳骨化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(2): 131-132.

[责任编辑 顾雪竹]