

索骨丹化学成分研究

闫梦茹, 马养民*, 王健, 屈子睿, 许倩, 苗智

(陕西科技大学 化学与化工学院, 教育部轻化工助剂化学与技术重点实验室, 西安 710021)

[摘要] **目的:**系统研究太白山地区索骨丹化学成分,为进一步研究其药理作用提供理论依据。**方法:**采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、重结晶等方法分离纯化化合物,并结合化合物的理化性质和波谱分析鉴定其结构。通过最小抑菌浓度法对所得化合物进行活性测试。**结果:**从索骨丹中分离得到8个化合物,分别为 β -谷甾醇(1),鬼灯檠素(2),儿茶素(3),对羟基苯甲酸(4), 3β -hydroxyolean-12-en-27-oic acid(5),没食子酸(6),琥珀酸(7),苹果酸甲酯(8)。**结论:**化合物4,5,7和8均为首次从该植物中分离得到,其中化合物5是首次从该属植物中分离得到,而且化合物5对大肠杆菌有较好的抑菌活性,最小抑菌浓度为 $15.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

[关键词] 索骨丹; 对羟基苯甲酸; 3β -hydroxyolean-12-en-27-oic acid; 琥珀酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)03-0036-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016030036

Chemical Compositions of *Rodgersia aesculifolia*

YAN Meng-ru, MA Yang-min*, WANG Jian, QU Zi-rui, XU Qian, MIAO Zhi

(Key Laboratory of Auxiliary Chemistry & Technology for Chemical Industry, Ministry of Education, College of Chemistry & Chemical Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

[Abstract] **Objective:** To systematically study the chemical compositions of *Rodgersia aesculifolia* from Taibai Mountains, and provide theoretical basis for its further pharmacological research. **Method:** The compounds from *R. aesculifolia* were isolated and purified by silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography and recrystallization method. Their structures were identified according to their physicochemical properties and spectra analysis. A minimal inhibitory concentration (MIC) method was used in antibacterial activity test for the compounds. **Result:** Eight compounds were isolated and identified as β -sitosterol (1), bergenin (2), catechin (3), *p*-hydroxybenzoic acid (4), 3β -hydroxyolean-12-en-27-oic acid (5), gallic acid (6), succinic acid (7), and methylmalic acid (8). **Conclusion:** Compounds 4, 5, 7 and 8 were isolated from the plant of *R. aesculifolia* for the first time and compound 5 was first obtained from the genus. Compound 5 showed good inhibitory activities against *Escherichia coli*, with MIC value of $15.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

[Key words] *Rodgersia aesculifolia*; *p*-hydroxy benzoic acid; 3β -hydroxyolean-12-en-27-oic acid; succinic acid

索骨丹为多年生草本植物,分布于陕西、四川、河北等省。索骨丹具有清热解毒、止血、止泻等功效,常用于治疗湿热下痢、外伤出血、白浊带下、咽喉肿痛、脱肛、子宫脱垂等^[1]。该属植物化学成分研

究主要集中于鬼灯檠、羽叶鬼灯檠和西南鬼灯檠3种植物,化学成分主要有多元酚酸类、黄酮类、木脂素类、香豆素类和萜类等^[2-6],而对于七叶鬼灯檠化学成分的研究较少。郑尚珍等^[7-9]对产于甘肃天水

[收稿日期] 20150409(013)

[基金项目] 国家公益性行业(林业)科研专项(200904004)

[第一作者] 闫梦茹,在读硕士,从事天然产物化学研究, Tel:13892858894, E-mail:ymr1a211@sina.com

[通讯作者] *马养民,教授,博士生导师,从事天然产物化学与有机合成研究, Tel:029-86172822, E-mail:mym63@sina.com

地区的索骨丹做了系统的化学成分研究,从中分离得到黄酮类、多元酚酸类、萜类和香豆素类等十几种化学成分。朱朝德等^[10]对陕西安康地区的索骨丹进行了化学成分研究,从中分离得到岩白菜素和 β -谷甾醇 2 种化学成分。翟文俊等^[11]对陕西汉中地区索骨丹中的鞣质进行了初步研究。李涛等^[12]通过气象色谱-质谱联用仪对陕西西安鬼灯檠鲜品中挥发性成分进行了分析,发现鬼灯檠鲜品挥发性成分主要由脂肪酸、香叶醇、香茅醇、香茅醛及香叶醇基糖苷组成。目前未见关于陕西太白山地区索骨丹的化学成分研究报道,因此,本研究对采自陕西太白山地区的索骨丹进行了系统的化学成分研究,从中分离鉴定出 8 个化合物,其中 4 个化合物是从该植物中首次分离得到。

1 材料

1.1 药材 索骨丹是虎耳草科植物七叶鬼灯檠 *Rodgersia aesculifolia* 的干燥根茎,采自陕西省太白山地区,由西北农林科技大学林学院康永祥教授鉴定。

1.2 测试菌株 革兰氏阳性菌包括金黄色葡萄球菌、乳链球菌;革兰氏阴性菌包括大肠杆菌、绿脓杆菌。

1.3 试药 牛肉膏、蛋白胨(北京奥博星生物技术有限公司),柱色谱硅胶(200~300 目,青岛海洋化工厂分厂),硅胶 G 薄层色谱(青岛海浪硅胶干燥剂厂),羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20, Merck 公司),水为去离子水,其他试剂均为分析纯。

RE52CS 型旋转薄膜蒸发器(上海亚荣科技有限公司),Avance III 400 型超导核磁共振仪(瑞士布鲁克公司),XT5 型显微熔点测定仪(北京市科仪电光仪器厂),SW-CJ-1FD 型超净工作台(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),YX280B 型手提式压力蒸气灭菌锅(上海三申医疗器械有限公司),DH5000B 型电热恒温培养箱(天津市泰斯特仪器有限公司)。

2 方法

2.1 提取和分离 取索骨丹粗粉(3 kg),用 95% 工业乙醇常温条件下提取 6 次(每次浸泡 24 h),合并提取液,减压浓缩得乙醇提取物 474 g,经硅胶柱色谱,分别用石油醚、乙酸乙酯、甲醇为洗脱剂进行洗脱,得到石油醚相粗提物 7 g,乙酸乙酯相粗提物 123 g,甲醇相粗提物 326 g。石油醚部分经硅胶柱色谱,用石油醚-乙酸乙酯(1:0,2:1,1:1,0:1)梯度洗脱,得到 4 个组分(Fr. a~Fr. d),其中,Fr. b 组分

经反复硅胶柱色谱分离纯化,并结合薄层色谱和重结晶的方法得到化合物 **1**(15 mg)。乙酸乙酯部分经硅胶柱色谱,用石油醚-乙酸乙酯(1:0,10:1,10:3,2:1,1:1,0:1)及乙酸乙酯-甲醇(5:1,2:1,1:1,0:1)梯度洗脱,得到 10 个组分(Fr. 1~Fr. 10),对所得 Fr. 6 组分反复用硅胶柱色谱和凝胶柱色谱分离纯化,并通过多次重结晶的方法得到化合物 **2**(5.71 g),化合物 **3**(2.05 g),化合物 **4**(30 mg)。同法从 Fr. 5 组分中分离得到化合物 **5**(30 mg),化合物 **6**(730 mg),化合物 **7**(500 mg),化合物 **8**(23 mg)。

2.2 抗菌活性检测 根据最小抑菌浓度法,将待测化合物分别溶解于 DMSO 溶剂中配制成质量浓度为 1 000 mg·L⁻¹ 的溶液,将牛肉膏蛋白胨液体培养基按每孔 100 μ L 加入到 96 孔板中,再向第 1 个孔中加入上述样品溶液 100 μ L 混合均匀,再从第 1 孔中吸取 100 μ L 加入第 2 孔中混合均匀,再从第 2 孔中吸取 100 μ L 加入第 3 孔中混合均匀,连续稀释至第 10 孔并从第 10 孔中吸取 100 μ L 弃去,第 11 孔和第 12 孔分别留作牛肉膏蛋白胨液体培养基和 DMSO 溶剂阴性对照。第 1~10 孔中化合物的质量浓度依次为 500,250,125,62.5,31.3,15.6,7.8,3.9,1.95,0.98 mg·L⁻¹。用无菌水将斜面培养基上生长良好的指示菌冲洗下,再用牛肉膏蛋白胨液体培养基配制浓度为 10⁶ CFU·mL⁻¹ 的菌悬液,向每孔中加入 100 μ L 活性指示菌悬液。选用青霉素钠作为革兰氏阳性菌的阳性对照,硫酸链霉素作为革兰氏阴性菌的阳性对照。上述每组设置 3 个平行试验,将 96 孔板置于 37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱培养 24 h 后观察试验并记录结果^[13]。

3 结构鉴定

化合物 **1** 白色针状结晶(二氯甲烷),mp 143~145 $^{\circ}$ C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 5.36(1H, d, J=5.1 Hz, H-6), 3.49(1H, m, H-3), 0.68(3H, s, CH₃-18), 0.93(3H, s, CH₃-19), 1.01(3H, d, J=6.48 Hz, CH₃-21);¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 36.50(C-1), 29.11(C-2), 71.81(C-3), 39.75(C-4), 140.75(C-5), 121.73(C-6), 31.66(C-7, 8), 50.10(C-9), 36.14(C-10), 19.83(C-11), 37.24(C-12), 42.31(C-13), 56.75(C-14), 23.04(C-15), 26.01(C-16), 56.02(C-17), 11.98(C-18), 19.02(C-19), 33.91(C-20), 18.77(C-21), 31.91(C-22), 24.30(C-23), 45.80(C-24), 28.25(C-25), 19.40(C-26, 27), 21.07(C-28), 11.86(C-29)。以上数据与文献[14]基本一致,确定该化合物为 β -谷甾醇。

化合物 2 白色晶体(甲醇), mp 176 ~ 177 °C。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.57(1H, br t, *J* = 7.60 Hz, H-2), 3.18(1H, d, *J* = 5.00 Hz, H-3), 3.64(1H, m, H-3), 4.0(1H, t, *J* = 10.40 Hz, H-4a), 5.46(1H, d, *J* = 3.20 Hz, OH-3), 5.67(1H, d, *J* = 5.36 Hz, OH-4), 6.99(1H, s, H-7) 9.79(1H, s, OH-8), 8.46(1H, s, OH-10), 4.97(1H, d, *J* = 10.40 Hz, H-10b), 4.94(1H, t, *J* = 5.30 Hz, OH-11), 3.85(1H, m, H-11), 3.45(1H, dd, *J* = 7.20 Hz, H-11), 3.77(3H, s, CH₃O); ¹³C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 81.68(C-2), 70.59(C-3), 73.59(C-4), 79.69(C-4a), 163.33(C-6), 118.01(C-6a), 109.36(C-7), 150.90(C-8), 140.48(C-9), 148.01(C-10), 115.86(C-10a), 71.99(C-10b), 61.02(C-11), 59.75(CH₃O)。以上数据与文献[15]报道基本一致,故鉴定该化合物为鬼灯檫素。

化合物 3 白色粉末(甲醇), mp 170 ~ 171 °C。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 4.46(1H, d, *J* = 7.48 Hz, H-2), 3.80(1H, m, H-3), 2.64(1H, dd, *J* = 5.24, 15.96 Hz, H-4a), 2.33(1H, dd, *J* = 8.00, 15.92 Hz, H-4b), 5.68(1H, d, *J* = 2.20 Hz, H-6), 5.88(1H, d, *J* = 2.24 Hz, H-8), 6.67(1H, d, *J* = 8.04 Hz, H-2'), 6.71(1H, d, *J* = 1.84 Hz, H-5'), 6.58(1H, dd, *J* = 1.80, 6.28 Hz, H-6'), 4.88(1H, s, OH-3), 8.84(1H, s, OH-5), 8.89(1H, s, OH-7), 8.96(1H, s, OH-3'), 9.20(1H, s, OH-4'); ¹³C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 80.94(C-2), 66.24(C-3), 27.84(C-4), 156.12(C-5), 95.00(C-6), 156.40(C-7), 93.75(C-8), 155.30(C-9), 98.97(C-10), 130.51(C-1'), 114.45(C-2'), 144.79(C-3', 4'), 115.00(C-5'), 118.38(C-6')。以上数据与文献[16-17]报道基本一致,故鉴定该化合物为儿茶素。

化合物 4 淡黄色晶体(甲醇), mp 211 ~ 213 °C。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.79(2H, t, *J* = 6.04, 8.28 Hz, 2, 6-H), 6.82(2H, t, *J* = 6.08, 8.32 Hz, 3, 5-H), 10.25(1H, d, *J* = 5.68 Hz, 4-OH), 12.40(1H, COOH); ¹³C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 121.27(C-1), 115.07(C-2, 6), 131.50(C-3, 5), 161.52(C-4), 167.13(COOH)。以上数据与文献[18-19]报道基本一致,故鉴定该化合物为对羟基苯甲酸。

化合物 5 白色粉末(三氯甲烷), mp 258 ~ 261 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 3.20(1H, m, OH-3), 5.69(1H, br t, *J* = 2.72, 3.40 Hz, H-12),

1.03(3H, s, H-23), 0.97(3H, s, H-24), 0.96(3H, s, H-25), 0.85(3H, s, H-26), 0.84(3H, s, H-28), 0.83(3H, s, H-29), 0.78(3H, s, H-30); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 38.69(C-1), 27.46(C-2), 79.15(C-3), 38.61(C-4), 55.21(C-5), 18.20(C-6), 36.22(C-7), 39.87(C-8), 47.42(C-9), 37.09(C-10), 22.87(C-11), 126.12(C-12), 138.12(C-13), 55.93(C-14), 22.23(C-15), 27.04(C-16), 32.85(C-17), 48.98(C-18), 44.17(C-19), 31.12(C-20), 36.56(C-21), 34.26(C-22), 28.09(C-23), 15.67(C-24), 16.39(C-25), 18.02(C-26), 178.75(COOH), 28.26(C-28), 33.30(C-29), 23.64(C-30)。以上数据与文献[20]报道基本一致,故鉴定该化合物为 3β-hydroxyolean-12-en-27-oic acid。

化合物 6 白色针晶(甲醇), mp 233 ~ 234 °C。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.92(2H, s, H-2, 6), 9.21(2H, s, OH-3, 5), 8.86(1H, s, OH-4), 12.24(1H, s, COOH); ¹³C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 120.34(C-1), 108.63(C-2, 6), 145.35(C-3, 5), 137.92(C-4), 167.42(COOH)。以上数据与文献[21-22]报道基本一致,故鉴定该化合物为没食子酸。

化合物 7 白色晶体(甲醇), mp 180 ~ 181 °C。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.16(2H, s, COOH), 2.42(4H, s, CH₂CH₂); ¹³C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 173.47(COOH), 28.24(CH₂CH₂)。以上数据与文献[23]报道基本一致,故鉴定该化合物为琥珀酸。

化合物 8 黄色针晶(三氯甲烷), mp 130 ~ 133 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 2.91(2H, m, H-2), 4.54(3H, dd, *J* = 1.76, 6.08 Hz, H-3), 3.85(3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 173.63(C-1), 38.33(C-2), 66.96(C-3), 175.83(C-4), 53.05(OCH₃)。以上数据与文献[24]报道基本一致,故鉴定该化合物为苹果酸甲酯。

4 抑菌活性

对化合物 1~8 的抑菌活性进行检测,结果见表 1。以硫酸链霉素对大肠埃希菌和绿脓杆菌的抑菌活性为参照,化合物 5 的抑菌活性较强,对大肠埃希菌的最小抑菌浓度为 15.6 mg·L⁻¹,对绿脓杆菌的最小抑菌浓度为 31.3 mg·L⁻¹;化合物 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 对以下 4 种菌都有不同程度的抑菌活性。本试验中,设置的液体培养基和 DMSO 溶剂阴性对照组中测试菌株生长正常。

表 1 化合物对各测试菌的最小抑菌浓度

Table 1 Minimum inhibitory concentration of eight different compounds against different test bacteria

化合物	大肠埃希菌	绿脓杆菌	金黄色葡萄球菌	乳链球菌
1	125.0	125.0	250	250
2	62.5	125.0	125.0	125.0
3	62.5	62.5	250.0	125.0
4	62.5	62.5	125.0	125.0
5	15.6	31.3	500.0	>500.0
6	62.5	125.0	125.0	125.0
7	125.0	125.0	125.0	125.0
8	250.0	250.0	500.0	500.0
青霉素钠	-	-	7.8	7.8
硫酸链霉素	7.8	7.8	-	-

注:青霉素钠作为革兰氏阳性菌的阳性对照,硫酸链霉素作为革兰氏阴性菌的阳性对照,“-”为未设置试验。

5 结论

本研究分离并鉴定了 8 个化合物,分别为 β -谷甾醇(1),鬼灯檠素(2),儿茶素(3),对羟基苯甲酸(4), 3β -hydroxyolean-12-en-27-oic acid(5),没食子酸(6),琥珀酸(7),苹果酸甲酯(8)。化合物 4,5,7 和 8 均为首次从该植物中分离得到,其中化合物 5 首次从该属植物中分离得到。对所得化合物体外抗菌活性测试,结果表明化合物 5 对革兰阴性菌有较好的抑菌活性,对乳链球菌的抑菌活性不明显;化合物 1,2,3,4,6,7,8 对以下 4 种菌都有不同程度的抑菌活性。本研究进一步丰富了索骨丹中所含化学成分,为充分开发和利用这一药用植物资源提供了一定的物质基础。

[参考文献]

[1] 中国科学院西北植物研究所. 秦岭植物志. 第一卷. 第二分册[M]. 北京:科学出版社, 1981:439.

[2] Takada Y, Machida K, Kikuchi M. Studies on the constituents of *Rodgersia podophylla* A. Gray. II[J]. J Tohoku Pharm Univ, 2003(50):89-93.

[3] Hu H B, Jian Y F, Cao H, et al. Chemical constituents from the root bark of *Rodgersia sambucifolia*[J]. J Chin Chem Soc, 2007, 54(1):75-80.

[4] Kim C M, Kang S S. Isolation of β -peltoboykinolic acid from *Rodgersia podophylla* [J]. Saengyak Hakhoechi, 1986, 17(3):195-198.

[5] Chin Y W, Lim S W, Kim Y C, et al. Hepatoprotective flavonol glycosides from the aerial parts of *Rodgersia podophylla*[J]. Planta Med, 2004, 70(6):576-577.

[6] Kim Y L, Chin Y W, Jin K. Two new neolignans from

the aerial parts of *Rodgersia podophylla* [J]. Chem Pharm Bull, 2005, 53(1):103-104.

[7] 沈序维, 郑尚珍, 付正生, 等. 鬼灯檠化学成分分离和鉴定[J]. 高等学校化学学报, 1987, 8(6):528-532.

[8] 郑尚珍, 沈序维. 鬼灯檠化学成分的研究[J]. 化学通报, 1985(6):20-21.

[9] Zheng S Z, Yang C X, Fu Z S, et al. Two new diterpene lactones *Rodgersia aesculifolia* [J]. Planta Med, 1998, 64(6):579-580.

[10] 朱朝德, 徐世明, 王远清, 等. 索骨丹根化学成分的研究[J]. 西北药学杂志, 1990, 5(1):20.

[11] 翟文俊, 徐青梅. 草药鬼灯檠鞣质的分离提取与化合物组成[J]. 陕西教育学院学报, 2007, 23(2):62-64.

[12] 李涛, 郭耀武, 落定强, 等. 鬼灯檠鲜品不同溶剂提取液中挥发性成分的研究[J]. 中医药学报, 2011, 39(1):87-90.

[13] 赵金凤, 胡功政, 苑丽, 等. 菌悬液浓度对体外药敏实验结果的影响[J]. 实验科学与技术, 2012, 10(4):33-35.

[14] Zhang Y, Zhang T T. Studies on the chemical constituents from the stem and leaves of *Tagetes erecta* [J]. J Chinese Med Mater, 2010, 33(9):1412-1414.

[15] 黄开毅, 何乐, 吴立军, 等. 西藏胡黄连的化学成分[J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(18):1383-1385.

[16] 文志明, 徐礼桑. 山丹芍药汤化学成分的分离与鉴定(II)[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(7):474-476.

[17] 崔莹. 盘龙七化学成分研究(II)[J]. 中草药, 2012, 43(9):1704-1707.

[18] Li G, Deng Z W, Li J, et al. Chemical constituents from starfish *Asterias rollestoni* [J]. J Chinese Pharm Sci, 2004, 13(2):81-86.

[19] Kwon O G, Kim S H, Chun B Y, et al. Isolation of antimicrobial components from *Moutan cortex* [J]. Korean J Pharmacogn, 1999, 30(3):340-344.

[20] 邹阳, 崔莹. 金毛七化学成分研究[J]. 中药材, 2012, 35(7):1095-1097.

[21] 程小伟, 马养民, 康永祥. 老鹤草化学成分研究[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(4):390-392.

[22] Nawwar M, Buddrus J, Bauer H. Dimeric phenolic constituents from the roots of *Tamarix nilotica* [J]. Phytochemistry, 1982, 21(7):1755-1758.

[23] 李文魁, 肖培根. 黄花远志化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(8):477-479.

[24] 杨晋, 陈随清, 冀春茹, 等. 山茱萸化学成分分离鉴定[J]. 中草药, 2005, 36(12):1870-1872.

[责任编辑 顾雪竹]