

瑶族药消瘤藤的化学成分分析

陆国寿¹, 卢文杰^{1,2*}, 黄周锋¹, 谭晓¹, 胡筱希¹

(1. 广西壮族自治区中医药研究院, 南宁 530022;
2. 广西中药质量标准研究重点实验室, 南宁 530022)

[摘要] **目的:**对瑶族药消瘤藤 *Pileostegia tomentella* 的化学成分进行研究,以期能对其化学成分进行初步的阐明,促进其深入开发与利用。**方法:**采用溶剂提取法、萃取法、硅胶柱色谱法、重结晶法等方法对消瘤藤 95% 乙醇提取物进行分离和纯化,采用红外光谱法、质谱法、核磁共振法等现代波谱学方法对分离得到的化合物进行结构分析测试并鉴定。**结果:**从消瘤藤的 95% 乙醇提取物中分离得到 9 个化合物,通过波谱学方法鉴定为二十四烷酸(1),蒲公英赛醇(2), β -谷甾醇(3), 3β -乙酰氧基-乌苏酸(4),豆甾烷-3,6-二酮(5),7-羟基-8-甲氧基香豆素(6),茵芋苷(7),7-羟基香豆素(8),3,4-二羟基苯甲酸(9)。其中 7-羟基-8-甲氧基香豆素(6),茵芋苷(7),7-羟基香豆素(8)3 个化合物为香豆素类成分。**结论:**化合物 1~9 均为首次在该植物中分离得到,该植物中富含多种香豆素类成分。该研究一定程度上对消瘤藤的化学物质基础进行了揭示,也能促进其定性定量质控手段的建立。

[关键词] 瑶族药; 消瘤藤; 化学成分; 分离; 结构

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)14-0078-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017140078

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170420.1133.080.html>

[网络出版时间] 2017-04-20 11:33

Analysis on Chemical Constituents of *Pileostegia tomentella*

LU Guo-shou¹, LU Wen-jie^{1,2*}, HUANG Zhou-feng¹, TAN Xiao¹, HU Xiao-xi¹

(1. Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning 530022, China;

2. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards,
Nanning 530022, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of Yao medicine *Pileostegia tomentella*, and promote its further development and utilization. **Method:** Solvent extraction method, silica column chromatography and recrystallization method were used to isolate and purify the chemical constituents of 95% ethanol extract from this plant. The structures of the obtained compounds were identified by infrared spectroscopy, mass spectrometry, nuclear magnetic resonance spectroscopy and other modern spectroscopic methods. **Result:** From the data of spectral analysis, nine compounds were obtained and identified as: *n*-tetracosanoic acid (1), taraxerol (2), β -sitosterol (3), 3β -acetoxy ursolic acid (4), stigmastane-3, 6-dione (5), 7-hydroxy-8-methoxycoumarin (6), skimmionin (7), 7-hydroxycoumarin (8), and protocatechoic acid (9). Among them, compounds (6), (7) and (8) were coumarins. **Conclusion:** Compounds 1-9 were isolated from this plant for the first time. It showed that coumarins were widely contained in this plant.

[Key words] Yao medicine; *Pileostegia tomentella*; chemical constituents; isolate; structures

[收稿日期] 20170405(001)

[基金项目] 广西中药质量标准研究重点实验室系统性研究项目(桂中重系 201404)

[第一作者] 陆国寿,副主任药师,从事天然药物化学研究,Tel:0771-5868986,E-mail:luguoshou@foxmail.com

[通讯作者] *卢文杰,主任药师,从事天然药物化学研究,Tel:0771-5868986,E-mail:luwenjie0771@163.com

消瘤藤为绣球花科冠盖藤属植物星毛冠盖藤的全草,《中华本草》^[1],《广西药用植物名录》^[2],《广西植物志》^[3]均将其收载,是广西金秀瑶族自治县瑶医医院肿瘤科用于治疗各种肿瘤的主药。目前消瘤藤药材的抗肿瘤作用仅处于民间应用阶段,其中化学物质基础尚未得到揭示。经查阅文献,目前国内尚无绣球科植物星毛冠盖藤的化学成分方面研究的文献报道,也无高效液相色谱法含量测定等较高水平的质量标准研究报道,仅有对其生药学研究及其不同药用部位高效液相色谱分析的研究报道^[4-6]。若能对消瘤藤进行化学成分进行研究,则有可能在一定程度上对其化学物质基础进行揭示,有助于促进消瘤藤药材的深入开发应用。

本研究对消瘤藤展开了化学成分研究工作,从消瘤藤药材的 95% 乙醇提取物中提取分离得到了 9 种成分,分别为二十四烷酸(1),蒲公英赛醇(2), β -谷甾醇(3),3 β -乙酰氧基-乌苏酸(4),豆甾烷-3,6-二酮(5),7-羟基-8-甲氧基香豆素(6),茵芋苷(7),7-羟基香豆素(8),3,4-二羟基苯甲酸(9),均为首次从该药材中提取分离得到。本研究一定程度上对消瘤藤的化学物质基础进行了揭示,对其定性定量质控手段的建立起到了良好的促进作用。

1 材料

RE-2000A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),AEL-200 型电子天平(湘仪岛津),IR-470 型红外光谱仪(日本岛津公司),5973N 型质谱仪(美国 Agilent Technologies 公司),DRX-800MHz 超导核磁共振仪(瑞士布鲁克公司)。石油醚(60~90℃),乙酸乙酯,甲醇,95%乙醇等均为分析纯。粗孔(zcx. II)型柱色谱硅胶及 HG/T2354-2010 型薄层色谱硅胶(青岛海洋化工厂)。

取消瘤藤采自广西金秀县,由广西中医药研究院何开家主任中药师鉴定为绣球花科星毛冠盖藤 *Pileostegia tomentella* 的全草。

2 方法

消瘤藤药材 15.0 kg 粉碎成粗粉,加 8 倍量 95%乙醇回流提取 5 次,每次 2 h,提取液滤过,合并,回收溶剂并浓缩至无醇味,得浸膏 2.91 kg。浸膏加水使其混悬,依次使用石油醚(60~90℃),乙酸乙酯萃取,合并各部位萃取液,浓缩,得到石油醚部位浸膏 115 g,乙酸乙酯部位浸膏 106 g。

取石油醚萃取部分(115 g),经柱色谱硅胶分离,以石油醚-乙酸乙酯(100:0~80:20)混合溶剂梯度洗脱,得到 4 个组分(Fr. 1~Fr. 4)。Fr. 1, Fr.

2, Fr. 3 组分均有析出物,分别抽滤,重结晶得到化合物 1(25 mg),2(33 mg),3(26 mg)。Fr. 4 组分(2.4 g),经硅胶柱色谱分离,以石油醚-乙酸乙酯(80:20)为洗脱液,得 75 个组分(Fr. 4.1~Fr. 4.75),组分 Fr. 4.7, Fr. 4.11 均有析出物,分别抽滤,重结晶得到化合物 4(14 mg),5(22 mg)。

取乙酸乙酯萃取部分(106 g)经硅胶柱色谱分离,以乙酸乙酯-甲醇(100:0~90:10~80:20~50:50)混合溶剂梯度洗脱,通过薄层色谱检查得到 3 个组分(Fr. A~Fr. C)。Fr. A(42.5 g)经硅胶柱色谱分离,以石油醚-乙酸乙酯(65:35)为洗脱液,得 75 个组分(Fr. A.1~Fr. A.75)。通过薄层色谱检查合并 Fr. A.34~Fr. A.35,通过重结晶得化合物 6(200 mg)。Fr. B 组分有析出物,抽滤,重结晶,得到化合物 7(73 mg)。Fr. C(29.0 g)经硅胶柱色谱分离,以石油醚-乙酸乙酯(60:40)为洗脱液,得 42 个组分(Fr. C.1~Fr. C.42)。通过薄层色谱检查分别合并 Fr. C.18~Fr. C.22, Fr. C.39~Fr. C.40, Fr. C.18~Fr. C.22 通过重结晶得化合物 8(16 mg),Fr. C.39~Fr. C.40 通过重结晶得化合物 9(44 mg)。化合物结构式见图 1。

3 结构鉴定

化合物 1 白色粉末(石油醚-乙酸乙酯)。EI-MS m/z 368 [M^+]; 1H -NMR (800 MHz, Pyridine- d_5) δ : 2.52 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, H-2), 1.85~1.74 (2H, m, H-3), 1.33 (40H, m, H-4~H-23), 0.87 (3H, s, H-24); ^{13}C -NMR (200 MHz, Pyridine- d_5) δ : 176.0 (C=O), 34.9 (C-2), 32.2 (C-3), 30.0 (C-4~C-18), 29.9 (C-19), 29.8 (C-20), 29.6 (C-21), 25.7 (C-22), 23.0 (C-23), 14.3 (C-24)。以上数据与文献[7]报道一致,故鉴定为二十四烷酸(*n*-tetracosanoic acid)。

化合物 2 白色粉末(石油醚-乙酸乙酯)。EI-MS m/z 428 [M^+]; 1H -NMR (800 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.09 (3H, s, CH_3), 0.97 (3H, s, CH_3), 0.95 (3H, s, CH_3), 0.92 (3H, s, CH_3), 0.90 (6H, s, $2 \times CH_3$), 0.82 (3H, s, CH_3), 0.80 (3H, s, CH_3); ^{13}C -NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ : 158.1 (C-14), 116.9 (C-15), 79.1 (C-3), 55.5 (C-5), 49.3 (C-9), 48.7 (C-18), 41.3 (C-19), 39.0 (C-4), 38.8 (C-17), 38.0 (C-8), 37.7 (C-13), 37.7 (C-1), 37.6 (C-16), 36.7 (C-10), 35.8 (C-12), 35.1 (C-7), 33.7 (C-21), 33.4 (C-29), 33.1 (C-22), 29.9 (C-26), 29.8 (C-28), 28.8 (C-23), 28.0 (C-20), 27.2 (C-2),

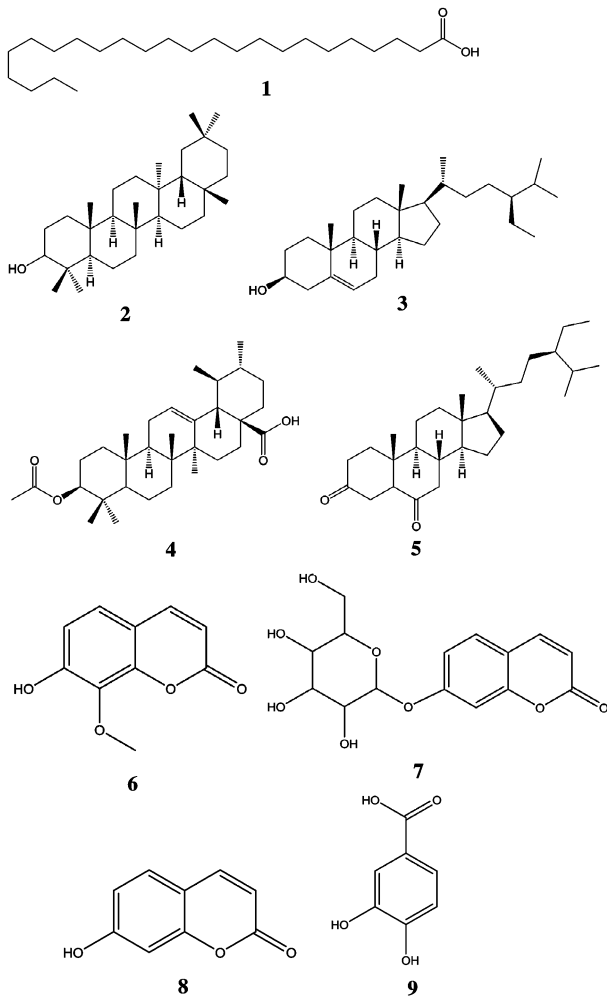


图1 化合物1~9结构式

Fig.1 Structure of compounds 1-9

25.9 (C-27), 21.3 (C-30), 18.8 (C-6), 17.5 (C-11), 15.5 (C-25), 15.4 (C-24)。以上数据与文献[8]报道一致,故鉴定为蒲公英赛醇(taraxerol)。

化合物3 无色针状结晶(乙酸乙酯); IR (KBr) cm^{-1} : 3 422, 2 961, 2 865, 1 641, 1 466, 1 377; EI-MS m/z 414 $[M]^+$; IR 及 MS 谱图与标准谱图对照一致,与已知对照品的薄层色谱结果进行对照,其 R_f 值一致,且混合熔点不下降,故鉴定为 β -谷甾醇(β -sitosterol)。

化合物4 白色粉末(石油醚-乙酸乙酯)。EI-MS m/z 498 $[M]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (800 MHz, CDCl_3) δ : 5.22 (1H, t, $J = 3.4$ Hz, H-12), 4.49 (1H, dd, $J = 9.7, 6.2$ Hz, H-3 α), 2.04 (3H, s, 3-OAc), 1.06 (3H, s, CH_3), 0.96 ~ 0.92 (6H, m, $2 \times \text{CH}_3$), 0.86 (3H, s, CH_3), 0.84 (6H, d, $J = 3.4$ Hz, $2 \times \text{CH}_3$), 0.75 (3H, s, CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 184.4 (C-28), 171.2 (C-31), 138.1 (C-13), 125.8

(C-12), 81.1 (C-3), 55.4 (C-5), 52.6 (C-18), 48.1 (C-17), 47.6 (C-9), 42.0 (C-14), 39.6 (C-8), 39.1 (C-19), 38.9 (C-20), 38.4 (C-1), 37.8 (C-4), 37.0 (C-10), 36.8 (C-22), 32.9 (C-7), 30.7 (C-21), 28.2 (C-23), 28.1 (C-15), 24.1 (C-27), 23.7 (C-16), 23.7 (C-2), 23.4 (C-11), 21.5 (C-32), 21.3 (C-30), 18.3 (C-6), 17.2 (C-24), 17.2 (C-29), 16.8 (C-26), 15.7 (C-25)。以上数据与文献[9]报道一致,故鉴定为 3β -乙酰氧基-乌苏酸(3β -acetoxy ursolic acid)。

化合物5 白色鳞片状结晶(石油醚-乙酸乙酯)。EI-MS m/z 428 $[M]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (800 MHz, CDCl_3) δ : 0.95 (3H, s, CH_3), 0.92 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, CH_3), 0.83 (9H, dt, $J = 11.3, 7.2$ Hz, $3 \times \text{CH}_3$), 0.69 (3H, s, CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ : 211.8 (C-6), 209.6 (C-3), 57.9 (C-5), 57.0 (C-17), 56.4 (C-14), 53.9 (C-9), 47.0 (C-7), 46.2 (C-24), 43.4 (C-13), 41.7 (C-10), 39.8 (C-2), 38.5 (C-12), 38.4 (C-1), 37.8 (C-8), 37.4 (C-4), 36.5 (C-20), 34.2 (C-22), 29.5 (C-25), 28.5 (C-16), 26.4 (C-23), 24.4 (C-15), 23.4 (C-28), 22.1 (C-11), 20.2 (C-26), 19.4 (C-27), 19.1 (C-21), 13.0 (C-18), 12.4 (C-29), 12.4 (C-19)。以上数据与文献[10]报道一致,故鉴定为豆甾烷-3,6-二酮(stigmastane-3,6-dione)。

化合物6 无色方形结晶(乙酸乙酯)。EI-MS m/z 192 $[M]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (800 MHz, CDCl_3) δ : 7.63 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.11 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 6.90 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 6.24 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 4.12 (3H, s, OCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ : 160.5 (C-2), 152.2 (C-7), 147.3 (C-8a), 144.4 (C-4), 133.8 (C-8), 123.4 (C-5), 113.4 (C-4a), 112.8 (C-3), 112.2 (C-6), 61.9 (8- OCH_3)。以上数据与文献[11]报道一致,故鉴定为7-羟基-8-甲氧基香豆素(7-hydroxy-8-methoxycoumarin)。

化合物7 白色粉末(石油醚-乙酸乙酯)。EI-MS m/z 324 $[M]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (800 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 8.00 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.64 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 7.05 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 7.01 (1H, dd, $J = 8.6, 2.3$ Hz, H-6), 6.32 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 5.41 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, OH), 5.14 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, OH), 5.07 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, OH), 5.02 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 4.61 (1H, t,

$J = 5.7$ Hz, OH), 3.70 ~ 3.16 (6H, m, H-2' ~ 6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6) δ : 160.31 (C-2), 160.3 (C-7), 155.1 (C-8a), 144.3 (C-4), 129.5 (C-5), 113.7 (C-6), 113.3 (C-3), 113.2 (C-4a), 103.2 (C-8), 100.0 (C-1'), 77.2 (C-3'), 76.5 (C-5'), 73.2 (C-2'), 69.7 (C-4'), 60.7 (C-6')。以上数据与文献 [12] 报道一致, 故鉴定为茵芋苷 (skimming)。

化合物 8 无色针状结晶 (乙酸乙酯)。EI-MS m/z 162 [M]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (800 MHz, CDCl₃) δ : 7.64 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.36 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.81 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.79 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-6), 6.26 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3); $^{13}\text{C-NMR}$ (200 MHz, CDCl₃) δ : 162.0 (C-7), 161.5 (C-2), 159.2 (C-9), 143.6 (C-4), 129.4 (C-5), 113.4 (C-3), 113.1 (C-10), 112.2 (C-6), 103.5 (C-8)。以上数据与文献 [13] 报道一致, 故鉴定为 7-羟基香豆素 (7-hydroxycoumarin)。

化合物 9 无色柱状结晶 (乙酸乙酯)。EI-MS m/z 154 [M]⁺; $^1\text{H-NMR}$ (800 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.32 (1H, s, COOH), 9.68 (1H, s, OH), 9.30 (1H, s, OH), 7.33 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2), 7.28 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, H-6), 6.78 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6) δ : 167.4 (C-7), 150.1 (C-4), 145.0 (C-3), 122.0 (C-6), 121.7 (C-1), 116.6 (C-2), 115.2 (C-5)。以上数据与文献 [14] 报道一致, 故鉴定为原儿茶酸 (protocatechoic acid)。

4 讨论

在前期试验中, 以 95% 乙醇, 50% 乙醇, 水为提取溶剂对消瘤藤进行提取, 获得的 95% 乙醇提取物, 50% 乙醇提取物, 水提取物 3 种提取物分别进行了抗肿瘤药效对比试验, 结果发现消瘤藤 95% 乙醇提取物对肿瘤的抑制成长作用最佳。在此基础上, 采用抑瘤实验来进一步研究消瘤藤 95% 乙醇提取物肿瘤抑制作用, 同时通过观察其对荷瘤小鼠血清中白细胞介素-2 (IL-2) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平的影响来研究其可能的作用机制。结果发现消瘤藤 95% 乙醇提取物高、中剂量组与模型对照组比较, 瘤重均明显降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 抑瘤率分别为 37.44% 和 38.46%; 消瘤藤 95% 乙醇提取物中剂量可显著提高荷瘤鼠脾脏指数 ($P < 0.01$); 消瘤藤 95% 乙醇提取物高剂量组能显著升高血清 IL-2 水平 ($P < 0.05$); 消瘤藤 95% 乙醇提取物高、中、低剂

量组还可显著升高血清 TNF- α 水平 ($P < 0.01$)。可见消瘤藤 95% 乙醇提取物具有抗肿瘤作用, 其机制可能与调节机体细胞免疫功能有关^[15]。

本实验从消瘤藤 95% 乙醇提取部位共提取分离得到 9 个化合物, 其中 7-羟基-8-甲氧基香豆素, 茵芋苷, 7-羟基香豆素 3 个化合物均为香豆素类成分。现代研究表明, 多种香豆素类成分均有一定的抗肿瘤作用。如 7-羟基香豆素 (伞形花内酯) 可对人膀胱癌细胞系 E-J 细胞株增殖具有抑制作用, 且呈浓度-效应关系^[16]。初步推测消瘤藤对肿瘤的抑制生长作用有可能与其中的香豆素类成分有关。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第四册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 40-41.
- [2] 广西壮族自治区中医药研究所. 广西药用植物名录 [M]. 南宁: 广西人民出版社, 1986: 203.
- [3] 广西植物研究所编. 广西植物志. 第二卷 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2005: 298.
- [4] 余朋桂. 星毛冠盖藤的生药学研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2012: 1-68.
- [5] 李咏梅, 余朋桂, 肖冰梅, 等. 星毛冠盖藤不同药用部位的高效液相色谱分析 [J]. 中国民族民间医药, 2013, 22(18): 17-18.
- [6] 肖冰梅, 余朋桂, 李咏梅, 等. 星毛冠盖藤的质量研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 131-133.
- [7] 黄健军, 刘珂宇, 谭文波, 等. 壮药九层风化学成分研究 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(5): 1206-1207.
- [8] 田敏卿, 鲍光明, 季乃云, 等. 红树林植物海漆中的三萜和甾体化合物 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 405-408.
- [9] Na M K, Min A B S, Lee S M, et al. Chemical constituents from *Sorbus commixta* [J]. Nat Prod Sci, 2002, 8(2): 62-65.
- [10] 徐静, 魏娉芝, 刘珍伶, 等. 白透骨消化学成分的研究 [J]. 西北植物学报, 2009, 29(9): 1898-1903.
- [11] 刘青, 刘珍伶, 田瑄. 羽裂蟹甲草中的甾醇类化合物 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(9): 1035-1038.
- [12] 赵军, 闫明, 黄毅, 等. 新疆圆柏化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(19): 1461-1463.
- [13] 邹忠杰, 崔红花, 于治成, 等. 狗肝菜化学成分研究 [J]. 中成药, 2012, 34(7): 1309-1311.
- [14] 陈屏, 杨峻山. 蒲葵籽化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(21): 1669-1670.
- [15] 刘瑛, 陆国寿, 王丽, 等. 消瘤藤醇提取物对 H22 荷瘤鼠的抑瘤作用研究 [J]. 中国药学杂志, 2016, 51(12): 981-984.
- [16] 杨秀伟, 徐波, 冉福香, 等. 11 种香豆素类化合物对人膀胱癌细胞系 E-J 细胞株生长抑制活性的筛选 [J]. 中西医结合学报, 2007, 5(1): 58-60.

[责任编辑 顾雪竹]