

盘龙参的化学成分研究

尹永芹¹, 赵英日², 崔红花^{1*}, 梁生旺¹, 王淑美¹, 陈超¹

(1. 广东药学院中药学院, 广州 510006; 2. 广州中医药大学国际学院, 广州 510405)

[摘要] 目的: 研究兰科濒危植物盘龙参 *Spiranthes sinensis* (Pers.) Ames 的化学成分。方法: 对盘龙参全草 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部分进行色谱分离, 根据光谱数据和理化性质确定各化合物的结构。结果: 从盘龙参中分离得到 5 个化合物, 结构鉴定为 3 β -羟基-乌苏-12-烯-28-酸(1), 5-羟基-3,7,4'-三甲氧基黄酮(2), sinetirucallol(3) β -谷甾醇(4)和胡萝卜苷(5)。结论: 化合物 1 首次从兰科植物中分离得到, 化合物 2 为首次从盘龙参中分离得到。

[关键词] 绶草属; 盘龙参; 化学成分; 结构鉴定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0076-03

[doi] 10.11653/syjf2013190076

Study on Chemical Constituents from *Spiranthes sinensis*

YIN Yong-qin¹, ZHAO Ying-ri², CUI Hong-hua^{1*}, LIANG Sheng-wang¹, WANG Shu-mei¹, CHEN Chao¹

(1. Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

[收稿日期] 20130113(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81202885, 20905015); 广东高校优秀青年创新人才培育项目(WYM 10036)

[第一作者] 尹永芹, 博士, 副教授, 从事中药及天然药物活性成分和机制研究, Tel: 020-39352179, E-mail: yongqinyin@126.com

[通讯作者] * 崔红花, 博士, 副教授, 从事中药分析和质量标准研究, Tel: 020-39352177, E-mail: honghuacui@163.com

- [8] 计长柱, 孙世伟, 蔡生新, 等. 深海来源曲霉属真菌 CXCTD_06_6a 次级代谢产物中的肿瘤细胞增殖抑制活性成分 [J]. 中国海洋药物杂志, 2011, 30(3):1.
- [9] Motoki takagi, Kenichino Motohashi, Kazuo Shin-ya. Isolation of 2 new metabolites, JBIR-74 and JBIR-75, from the sponge-derived *Aspergillus* sp. fS14 [J]. J Antibiot, 2010, 63:393.
- [10] Camini S Jayatilake, Maureen P Thornton, Alan C Leonard, et al. Metabolites from an antarctic sponge-associated bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Nat Prod, 1996, 59:293.
- [11] 曾雪荣, 焦伟华, 唐金山, 等. 海洋放线菌 *Streptomyces* sp. (No. 30701) 次生代谢产物研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2010, 20(4):298.
- [12] Panarat Arunrattiyakorn, Teruhiko Nitoda, Hiroshi Kanzaki. Enzymatic conversion-based method for screening cyclic dipeptide-producing microbes [J]. Peptides, 2005, 27(4):633.
- [13] Madeline Adamczeski, Andrea R Reed, Phillip Crews. New and known diketopiperazines from the Caribbean Sponge, *Calyx cf. podatypa* [J]. J Nat Prod, 1995, 58(2):201.
- [14] Pei-Ji Zhao, H X, Guo-Hong Lib, et al. Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces* sp. Lz531 [J]. Chem Biodiversity, 2007, 4:899.
- [15] 周凤, 张弘驰, 刘瑞, 等. 恒山黄芪内生真菌 *Aspergillus* sp. 代谢产物的分离和生物活性的测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4):125.
- [16] Bettina Kopp, H J Rehm. Antimicrobial action of roquefortine [J]. European J Appl Microbiol, 1974, 6:397.
- [17] Modestas Keblys, Aksel Bernhoft, Constance C Höfer, et al. The effects of the *Penicillium* mycotoxins citrinin, cyclopiazonic acid, ochratoxin A, patulin, penicillic acid, and roquefortine C on *in vitro* proliferation of porcine lymphocytes [J]. Mycopathologia, 2004, 158:317.
- [18] 郭秀春, 郑立, 周文辉, 等. 海洋微生物中二酮哌嗪类化合物的研究进展 [J]. 微生物学通报, 2009, 36(10):1596.

[责任编辑 邹晓翠]

2. College of International Education, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the chemical constituents of *Spiranthes sinensis*. **Method:** The constituents of the EtOAc-soluble portion of 95% ethanol extract were isolated and purified by means of chromatography. Compounds were identified by their physical characteristics and spectral features. **Result:** Five compounds were isolated and identified as 3 (-hydroxy-urs-12-en-28-oic acid (**1**)), 5-hydroxyl-7, 3, 4'-timethoxy-flavone (**2**), sinetirucallol (**3**), daucosterol (**4**), and β -sitosterol (**5**). **Conclusion:** Compound **1** was first separated from orchidaceae and compounds **2** was isolated from this plant for the first time.

[Key words] *Spiranthes*; *Spiranthes sinensis*; chemical constituent; spectroanalysis

盘龙参为兰科植物绶草的根或全草,主要分布在沿海滩涂海堤以内湿润的草地上,与其他杂草混生,组成特殊的生态群落或生长在竹林下的湿润地段^[1-3]。盘龙参最早见于《滇南本草》,具滋阴益气、补肾壮阳、凉血解毒、润肺止咳、消炎解毒、强筋骨、祛风湿之功效。目前,已从盘龙参中分离出的化合物有:二氢菲类成分如盘龙酚(spiraneol)、盘龙菲(spiranthol);阿魏酸酯成分如阿魏酸二十八醇酯(ochacosylferulate);新型化合物 sinetirucallol、sinensol G, sinensol H 等^[4]。其中阿魏酸二十八醇酯已被证实具有抗肿瘤的作用^[5]。二氢菲类化合物衍生物被认为具有较高的药用价值(可能有抗乙肝病毒和抗 SARS 病毒的作用)^[6]。国内对盘龙参的现代应用与研究报道甚少,很多化学成分尚不清楚。本文研究盘龙参中的化学成分,经通过硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶柱色谱等方法分离鉴定 5 个化学成分,其中化合物 **1** 首次从兰科植物中分离得到,化合物 **2** 为首次从盘龙参中分离得到。

1 材料

XT-4A 型显微熔点测定仪(温度未校正),EQVI-NOXTM55-A590/3F 型红外分光光度计,ZF7 型三用紫外分析仪(巩义予华仪器有限责任公司),KQ3200 型超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司),BRUKER 型 500 Hz 超导核磁共振谱仪(BURKER 公司),AQUITYUPLC/Q-TOF micro 型质谱仪(美国 water 公司)。柱色谱硅胶和薄层色谱用硅胶 D 青岛海洋化工厂 G, Sephadex LH-20(安玛西亚生物技术有限公司),化学试剂均为分析纯。盘龙参药材于 2009 年 5 月购自清平药材市场,经广东药学院李书渊教授鉴定为兰科植物绶草 *Spiranthes sinensis* (Pers) Ames 的全草。

2 提取与分离

盘龙参药材(9 kg)粉碎后,用 95% 的乙醇加热回流提取 3 次,每次 2 h,过滤,合并滤液,回收乙醇,

得到盘龙参乙醇浸膏。将浸膏用水分散,依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取,将萃取液分别进行减压浓缩,得到石油醚部位、氯仿部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位。对盘龙参乙酸乙酯部位萃取物进行硅胶柱色谱,用氯仿/甲醇不同比例梯度洗脱,得到化合物 **1** (17 mg) (氯仿-甲醇 100:1)、和流分 A (氯仿-甲醇 25:1)、流分 B (氯仿-甲醇 1:1)、流分 C (氯仿-甲醇 1:1)。流分 B 进行 Sephadex LH-20 柱纯化得到化合物 **2** (10 mg);流分 C 经硅胶柱色谱,用氯仿-甲醇 (15:1) 洗脱得到化合物 **5** (45 mg)。流分 A 进行硅胶柱层析后再用 Sephadex LH-20 柱纯化,得到化合物 **4** (31 mg)。将氯仿部位提取物进行硅胶柱色谱,用氯仿洗脱,得到流分 B。再通过 Sephadex LH-20 柱色谱,用氯仿-甲醇 (1:1) 进行洗脱,得到流分 Pa。流分 Pa 再经 Sephadex LH-20 柱(柱高 68cm,直径 1.6cm)色谱,得到流分 Pa-7。将流分 Pa-7 进行硅胶柱色谱用乙酸乙酯/石油醚不同比例进行梯度洗脱,得到流分 Pa-7-13。流分 Pa-7-13 浓缩回收溶剂,析出晶体,得到化合物 **3** (15 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 白色粉末(氯仿-甲醇), mp 284 ~ 285 °C。Liebermann-Burchard 反应为阳性,硫酸-乙醇体系显紫红色。¹H-NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ : 0.79 (d, 6H, $J = 7.0$ Hz), 0.85 (s, 3H), 1.00 (d, 6H, $J = 3.5$ Hz), 0.94 (3H, d, $J = 6.5$ Hz), 0.99 (3H, s), 1.14 (3H, s), 2.31 (1H, m, H-3), 2.91 (3H, s), 5.23 (1H, m, H-12); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃COCD₃) δ : 38.96 (C-1), 25.34 (C-2), 77.71 (C-3), 38.60 (C-4), 55.30 (C-5), 18.22 (C-6), 33.07 (C-7), 39.00 (C-8), 47.60 (C-9), 36.86 (C-10), 23.11 (C-11), 125.35 (C-12), 138.40 (C-13), 41.98 (C-14), 27.92 (C-15), 24.12 (C-16), 47.57 (C-17), 55.30 (C-18), 39.01 (C-19), 38.96

(C-20), 30.46 (C-21), 36.86 (C-22), 27.92 (C-23), 15.47 (C-24), 15.04 (C-25), 16.81 (C-26), 23.24 (C-27), 177.66 (C-28), 16.65 (C-29), 20.58 (C-30), 52.28 (OCH₃)。以上数据与文献[7]报道的一致,故鉴定该化合物 3β-羟基-乌苏-12-烯-28-酸 (3β-hydroxy-urs-12-en-28-oic acid)。

化合物 2 黄色针晶(石油醚)。盐酸-镁粉反应溶液显紫色,表明该物质很可能是黄酮类化合物。锆盐-枸橼酸反应出现黄色,加 2% 枸橼酸甲醇溶液后黄色显著减退。¹H-NMR (500 MHz, C₃D₆O) δ: 9.50 (1H, s, 5-OH), 8.13 (2H, d, J = 9.0 Hz, H-2', 6'), 7.13 (2H, d, J = 9.0 Hz, H-3', 5'), 6.69 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.33 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 3.90 (3H, s, OCH₃), 3.92 (3H, s, OCH₃), 3.93 (3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, C₃D₆O) δ: 178.74 (C-4), 165.71 (C-7), 161.95 (C-4'), 156.89 (C-5), 155.87 (C-9), 155.87 (C-2), 138.66 (C-3), 130.12 (C-2', 6'), 122.71 (C-1'), 116.32 (C-3', 5'), 105.69 (C-10), 97.63 (C-6), 91.98 (C-8), 59.38 (OCH₃), 55.57 (OCH₃), 54.99 (OCH₃)。以上数据与文献[8]报道的一致,故鉴定该化合物为 5-羟基-3,7,4'-三甲氧基黄酮 (5-hydroxyl-7,3,4'-trimethoxy-flavone)。

化合物 3 白色针状晶体(丙酮),在氯仿-甲醇(1:1)、丙酮溶剂中溶解,mp 96 ~ 97 °C, Libermann-Burchard 反应呈阳性。薄层色谱后,在 10% 硫酸溶液加热显色,显紫色斑点。EI-MS: m/z 425 [M - CH₃]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ: 0.33 (t, J = 5.4 Hz, H-31), 0.35 (dd, J = 5.4, 4.0 Hz, H-31), 0.36 (1H, m, H-24), 0.70, 0.73, 0.92, 0.96, 1.02, 1.04, 1.08 (each 3H, s, H-18, H-30, H-29, H-28, H-26, H-27, H-19), 0.875 (3H, d, J = 5.7 Hz, H-21), 1.95 (2H, br s, H-12), 3.31 (1H, dd, J = 5.1, 5.5 Hz, H-3), 5.35 (1H, br s, H-11); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃COCD₃) δ: 14.8 (C-30), 15.13 (C-29), 16.55 (C-18), 18.01 (C-21), 18.85 (C-6), 19.14 (C-7), 19.37 (C-31), 19.45 (C-26), 24.80 (C-19), 25.06 (C-24), 26.24 (C-23), 27.21 (C-28), 27.6 (C-27), 27.71 (C-22), 28.08 (C-25), 28.51 (C-2), 33.12 (C-15), 35.94 (C-20), 36.63 (C-16), 37.43 (C-10), 37.71 (C-12), 39.15 (C-4), 39.26 (C-1), 40.54 (C-8), 43.87 (C-13), 44.47 (C-5), 46.47 (C-14), 50.77 (C-17), 77.82 (C-3), 116.57 (C-11),

150.86 (C-9)。以上数据与文献[9]报道的一致,故鉴定该化合物为 sinetirucallol。

化合物 4 白色针状结晶(氯仿-甲醇), mp 145 ~ 147 °C。Libermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应呈阴性。与 β-谷甾醇对照品共薄层显示相同斑点,混合熔点不下降,5% 硫酸-乙醇显色, Rf 值和显色行为与对照品一致,故鉴定化合物 4 为 β-谷甾醇 (β-sitosterol)。

化合物 5 白色粉末(甲醇), mp 287 ~ 289 °C; Libermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应呈阴性,与 β-胡萝卜素对照品共薄层显示相同斑点,混合熔点不下降,5% 硫酸-乙醇显色, Rf 值和显色行为与对照品一致,故鉴定该化合物 5 为 β-胡萝卜素 (daucosterol)。

[参考文献]

- [1] 董必慧, 杨小兰. 沿海滩涂濒危物种缓草的生长利用特性和保护策略 [J]. 江苏农业科学, 2006, 34 (3): 193.
- [2] 陆静梅, 李桂兰, 杨风清. 我国东北地区兰科药用植物简介 [J]. 中国野生植物资源, 1994 (2): 21.
- [3] 傅沛云. 东北植物检索表 [M]. 北京: 科学出版社, 1995: 904.
- [4] Lin Y L, Wang W Y, Kuo Y H, et al. Homocyclotirucallane and two dihydrophenanthrenes from *Spiranthes sinensis* [J]. Chem Pharm Bull, 2001, 49 (9): 1098.
- [5] Yasukawa K, Dimitrijevic S M, Evans F J, et al. Inhibitory effect of pruni cortex extract and its component octacosyl ferulate, on tumour promotion by 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin [J]. Phytotherapy Research, 1998, 12 (4): 261.
- [6] Un Y L, Huang R L, Don M J. Dihydrophenanthrenes from *Spiranthes sinensis* [J]. J Nat Prod, 2000, 63 (12): 1608.
- [7] 中国海洋大学药物研究所. 乌苏酸的结构确证 [R]. 分析检测报告, 2003: 1.
- [8] Dong H, Gou Y L, Cao S G, et al. Eicosenones and methylated flavonols from *Amomum koenigii* [J]. Phytochemistry, 1999, 50: 899.
- [9] Lin Y L, Chen W P, Macabalang A D. Dihydrophenanthrenes from *Bletilla formosana* [J]. Chem Pharm Bull, 2005, 53 (9): 1111.

[责任编辑 邹晓翠]