

毛冬青茎化学成分研究

应 鸽,丁 平^{*},代 蕾,曹斯琼,徐鸿华
(广州中医药大学中药学院,广州 510006)

[摘要] 目的:研究冬青科植物毛冬青茎的化学成分。方法:通过硅胶柱色谱、SephadexLH-20 柱色谱及反复重结晶等方法分离纯化化合物,利用核磁共振等现代波谱技术解析确定化合物结构。结果:从毛冬青茎的石油醚和乙酸乙酯部位中分离并鉴定了 5 个化合物,分别为 ilexgein A(1), ilexsaponin A₁(2),ilexsaponin B₁(3), ilexsaponin B₂(4),β-谷甾醇(5)。结论:化合物 1~5 均为首次从毛冬青茎中分离得到。

[关键词] 毛冬青; 茎;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(2012)11-0118-03

[DOI] CNKI:11-3495/R. 20120327. 2700. 014 [网络出版时间] 2012-03-27 17:05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120327.1705.014.html>

Studies on Chemical Constituents of Stems of *Ilex pubescens*

YING Ge, DING Ping^{*}, DAI Lei, CAO Si-qiong, XU Hong-hua
(College of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of the stems of *Ilex pubescens*. **Method:** The chemical constituents were isolated and purified via silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography as well as recrystallization. Their structures were determined on the basis of spectral analysis and physicochemical properties. **Result:** Five compounds were isolated from the petroleum ether and EtOAc fractions. They were obtained and their structures were identified as ilexgein A (1), ilexsaponin A₁ (2), ilexsaponin B₁ (3), Ilexsaponin B₂ (4), β-sitosterol (5). **Conclusion:** All of the five compounds were firstly isolated from the stems of *I. pubescens*.

[Key words] *Ilex pubescens*; stems; chemical studies; structural identification

毛冬青为冬青科冬青属植物毛冬青的根,为我国南方一些省区的常用药,具有活血通脉、消肿止痛、清热解毒之功效^[1]。临床上广泛用于治疗冠心病、心绞痛、脉管炎、流感等疾病^[2-4]。化学成分研究表明,毛冬青中含有甾醇,三萜皂苷,木脂素,环烯醚萜素等化合物,其中三萜皂苷为其治疗心血管疾病、抗菌消炎的主要活性物质^[5-10]。目前,毛冬青在临床上需求量大,资源紧缺,据市场调查发现,90% 以上的毛冬青药材多为根茎混用,甚至有些基本上以茎入药,但茎是否可代替根入药,需进一步证实。目前关于毛冬青化学成分的研究主要集中于根部药材,茎部化学成分未见相关报道。为此,本课题对毛冬青的茎进行了化学成分研究,从毛冬青茎中初步分离得到 5 个化合物。化合物 1~5 均为首次从毛冬青该部位分离得到。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂 AVANCE AV 400 超导核磁共振谱仪(瑞士 Bruker 公司),LCQ DECA XP 液相色谱-质谱联用仪,柱色谱和薄层色谱硅胶(青岛海洋化工厂),高效薄层板(Merk 公司),Sephadex LH-20(Pharmacia 公司)。除药材提取用医用乙醇外,其余试剂均为分析纯。毛冬青采自广州从化,经广州中医药大学丁平教授鉴定为毛冬青 *Ilex pubescens*

[收稿日期] 20111222(004)

[基金项目] 广东省重大科技专项(2008A030101009)

[第一作者] 应 鸽,硕士,从事中药资源有效成分与中药质量的研究

[通讯作者] ^{*} 丁平,教授,博士生导师,从事中药资源有效成分与中药质量评价研究, Tel: 020-3658080, E-mail:dingpinggz@126.com

Hook. et Arn 的茎。

1.2 提取与分离 取毛冬青茎 10 kg, 粉碎, 用 5 倍量 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 3 h。提取液减压浓缩后所得浸膏, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 减压回收溶剂, 分别得到浸膏石油醚部位 2.5 g、乙酸乙酯部位 153.6 g、正丁醇部位 452.8 g。石油醚、乙酸乙酯浸膏经正反相硅胶柱反复柱色谱(以石油醚-乙酸乙酯, 氯仿-乙酸乙酯, 乙酸乙酯-甲醇, 甲醇-水等溶剂系统梯度洗脱), 利用 Sephadex LH-20, 重结晶等技术进行纯化, 分别从石油醚部位得到化合物 **5** (4 mg), 乙酸乙酯部位得到化合物 **1** (20 mg), **2** (11 mg), **3** (30 mg), **4** (18 mg)。

1.3 结构鉴定

1.3.1 化合物 1 白色无定形粉末(氯仿-甲醇), ESI-MS: m/z 502, Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应(α -萘酚乙醇液和浓硫酸反应)呈阴性。 $^1\text{H-NMR}$ (400 Hz, Pyridine- d_5) δ : 0.90, 0.92, 0.94, 1.25, 1.49 (5 $\times$ 3H, each s, 5 $\times$ CH₃), 1.11 (3H, d, J = 7.2 Hz, H-30), 2.84 (1H, s, H-18), 3.16 (1H, dd, J = 4.0, 11.6 Hz, H-3), 5.41 (1H, brs, H-12)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (400 Hz, Pyridine- d_5) δ : 39.61 (C-1), 28.99 (C-2), 78.27 (C-3), 49.18 (C-4), 56.87 (C-5), 20.88 (C-6), 33.85 (C-7), 40.17 (C-8), 47.12 (C-9), 37.82 (C-10), 24.63 (C-11), 128.06 (C-12), 139.84 (C-13), 42.31 (C-14), 29.23 (C-15), 26.37 (C-16), 48.28 (C-17), 54.63 (C-18), 72.64 (C-19), 42.17 (C-20), 26.86 (C-21), 38.37 (C-22), 24.46 (C-23), 180.73 (C-24), 13.82 (C-25), 17.07 (C-26), 24.14 (C-27), 180.64 (C-28), 27.07 (C-29), 16.70 (C-30)。以上数据与文献报道[9]数据基本一致, 鉴定化合物 **1** 为 Ilexgenin A。

1.3.2 化合物 2 无色针状结晶(甲醇), ESI-MS: m/z 64, Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应(α -萘酚乙醇液和浓硫酸反应)呈阳性。化合物用 5% 硫酸乙醇水解, 产物经 TLC 检测出葡萄糖。 $^1\text{H-NMR}$ (400 Hz, CD₃OD) δ : 0.77, 0.91, 1.18, 1.29, 1.38 (5 $\times$ 3H, each s, 5 $\times$ CH₃), 0.96 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-30), 3.06 (1H, s, H-18), 3.14 (1H, dd, J = 4.0, 12.0 Hz, H-3), 5.33 (1H, brs, H-12), 5.39 (1H, J = 8.4 Hz, Glc-1-H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (400 Hz, Pyridine- d_5) δ : 36.01 (C-1), 29.06 (C-2), 82.46 (C-3), 47.20 (C-4), 58.38 (C-5), 21.44 (C-6), 29.60 (C-7), 38.80 (C-8), 42.74 (C-

9), 25.27 (C-10), 24.59 (C-11), 125.03 (C-12), 144.36 (C-13), 40.21 (C-14), 29.51 (C-15), 34.11 (C-16), 45.15 (C-17), 57.82 (C-18), 78.36 (C-19), 40.76 (C-20), 28.52 (C-21), 33.32 (C-22), 24.87 (C-23), 180.93 (C-24), 14.06 (C-25), 18.42 (C-26), 24.98 (C-27), 178.62 (C-28), 28.64 (C-29), 17.60 (C-30), 95.85 (C-1 of Glc), 73.98 (C-2 of Glc), 78.76 (C-3 of Glc), 71.12 (C-4 of Glc), 79.26 (C-5 of Glc), 62.43 (C-6 of Glc)。以上数据与文献报道[7]数据基本一致, 鉴定化合物 **2** 为 ilexaponin A₁。

1.3.3 化合物 3 无色针状结晶(甲醇), ESI-MS: m/z 789 [M + Na]⁺, 765 [M-H]⁻; Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应(α -萘酚乙醇液和浓硫酸反应)呈阳性。化合物以 5% 硫酸乙醇水解, 产物经 TLC 检测出葡萄糖和木糖。 $^1\text{H-NMR}$ (400 Hz, Pyridine- d_5) δ : 0.86, 1.05, 1.07, 1.23, 1.41, 1.71 (6 $\times$ 3H, each s, 5 $\times$ CH₃), 1.11 (3H, d, J = 7.2 Hz, H-30), 3.25 (1H, s, H-18), 5.52 (1H, brs, H-12), 4.94 (1H, 19-OH), 5.33 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1 of Glc), 4.79 (1H, d, J = 6.8 Hz, H-1 of Xyl)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (400 Hz, Pyridine- d_5) δ : 38.73 (C-1), 26.62 (C-2), 88.84 (C-3), 39.51 (C-4), 55.85 (C-5), 18.54 (C-6), 33.46 (C-7), 40.15 (C-8), 47.65 (C-9), 36.92 (C-10), 23.88 (C-11), 127.18 (C-12), 139.37 (C-13), 42.04 (C-14), 29.16 (C-15), 26.98 (C-16), 47.85 (C-17), 47.32 (C-18), 73.38 (C-19), 42.86 (C-20), 24.80 (C-21), 32.35 (C-22), 28.03 (C-23), 17.20 (C-24), 15.46 (C-25), 16.65 (C-26), 24.30 (C-27), 180.66 (C-28), 29.72 (C-29), 16.06 (C-30), 105.58 (C-1 of Xyl), 82.83 (C-2 of Xyl), 78.19 (C-3 of Xyl), 70.83 (C-4 of Xyl), 66.55 (C-5 of Xyl), 105.74 (C-1 of Glc), 76.83 (C-2 of Glc), 77.86 (C-3 of Glc), 71.56 (C-4 of Glc), 78.19 (C-5 of Glc), 62.58 (C-6 of Glc)。以上数据与文献报道[9]数据基本一致, 鉴定化合物 **3** 为 ilexaponin B₁。

1.3.4 化合物 4 无色针状结晶(甲醇), ESI-MS: m/z 935 [M + Na]⁺, 911 [M-H]⁻; Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应(α -萘酚乙醇液和浓硫酸反应)呈阳性。化合物以 5% 硫酸乙醇水解, 产物经 TLC 检测出葡萄糖, 木糖和鼠李糖。 $^1\text{H-NMR}$ (400 Hz, Pyridine- d_5) δ : 0.84, 1.05, 1.06, 1.31, 1.41, 1.73 (6 $\times$ 3H, each s, 5 $\times$ CH₃), 1.12 (3H,

d , $J = 7.12$ Hz, H-30), 1.77 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, Rha-5-CH₃), 3.26 (1H, s, H-18), 5.52 (1H, s, H-1 of Rha), 5.53 (1H, brs, H-12), 4.72 (1H, 19-OH), 4.89 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-1 of Glc), 4.37 (1H, d, $J = 7.76$ Hz, H-1 of Xyl)。¹C-NMR (400 Hz, Pyridine- d_5 δ : 38.76 (C-1), 26.57 (C-2), 89.64 (C-3), 39.67 (C-4), 55.96 (C-5), 18.61 (C-6), 33.49 (C-7), 40.22 (C-8), 47.68 (C-9), 37.00 (C-10), 23.94 (C-11), 127.23 (C-12), 139.45 (C-13), 42.08 (C-14), 29.22 (C-15), 27.03 (C-16), 47.89 (C-17), 47.38 (C-18), 73.40 (C-19), 42.94 (C-20), 24.84 (C-21), 32.40 (C-22), 28.34 (C-23), 17.24 (C-24), 15.42 (C-25), 16.70 (C-26), 24.35 (C-27), 180.68 (C-28), 29.78 (C-29), 16.03 (C-30), 105.77 (C-1 of Xyl), 79.10 (C-2 of Xyl), 77.79 (C-3 of Xyl), 71.21 (C-4 of Xyl), 66.58 (C-5 of Xyl), 102.26 (C-1 of Glc), 79.36 (C-2 of Glc), 78.96 (C-3 of Glc), 72.31 (C-4 of Glc), 78.56 (C-5 of Glc), 63.27 (C-6 of Glc), 101.97 (C-1 of Rha), 72.58 (C-2 of Rha), 72.66 (C-3 of Rha), 74.31 (C-4 of Rha), 69.44 (C-5 of Rha), 18.90 (C-6 of Rha)。以上数据与文献报道[9]数据基本一致, 鉴定化合物 **4** 为 ilexsaponin B₂。

1.3.5 化合物 5 无色片状结晶(氯仿), ESI-MS: m/z 414, 溶于石油醚, 氯仿, 乙酸乙酯。Liebermann-Burchard 反应呈阴性, 薄层色谱 Rf 值与 β -谷甾醇对照品一致, 因此鉴定化合物 **5** 为 β -谷甾醇。

2 讨论

化合物 **1**~**5** 均为首次从毛冬青茎中分离得到。文献报道该 5 个化合物在毛冬青的根中均存在, 并分离得到过^[5-10], 说明毛冬青茎中含有较多与根相同的化合物, 本实验只分离了石油醚部位和乙酸乙

酯部位, 尚需对毛冬青茎的其他部位进行系统分离, 并结合相关药理学研究, 以探讨茎是否可代替根入药。

[参考文献]

[1] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海: 上海人民出版社, 2006: 617.

[2] 周爱香, 李小芹, 戴柏勇, 等. 复方毛冬青颗粒抗流感病毒实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10 (4): 42.

[3] 邓六勤, 钟鸣, 马志玲. 毛冬青化学成分, 药理作用及应用研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2006, 4 (10): 24.

[4] 盛怀龙, 董秀兰, 姜永飞. 毛冬青提取物对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国新药杂志, 2009, 18 (11): 1020.

[5] Wang Jing-Rong, Zhou Hua, Jiang Zhi-Hong, et al. Two new triterpene saponins from the anti-inflammatory saponin fraction of *Ilex pubescens* root [J]. Chem Biodiv, 2008, 5: 1369.

[6] Kazuyuki Hidaka, Miyoko Ito, Yoko Matsuda, et al. A triterpene and saponin from roots of *Ilex pubescens* [J]. Phytochemistry, 1987, 26 (7): 2023.

[7] Kazuyuki Hidaka, Miyoko Ito, Yoko Matsuda, et al. New triterpene saponins from *Ilex pubescens* [J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35 (2): 524.

[8] Yang X, Ding Y, Sun Z H, et al. Studies on chemical constituents from *Ilex pubescens* [J]. J Nat Prod, 2006, 8 (6): 505.

[9] 冯锋, 朱明晓, 谢宁. 毛冬青化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2008, 43 (10): 732.

[10] 尹文清, 周中流, 邹节明, 等. 毛冬青根中化学成分的研究[J]. 中草药, 2007, 38 (7): 995.

[责任编辑 邹晓翠]