

伸筋草石松三萜化学成分

史利利¹, 何永志^{2*}
(天津中医药大学, 天津 300193)

[摘要] 目的:研究伸筋草三萜类化学成分。方法:利用正相色谱技术结合薄层色谱法对伸筋草正丁醇层提取物进行分离纯化,并通过 MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR 等现代波谱法对结构进行解析和鉴定。结果:从伸筋草中分离得到 7 个化合物,分别为 serrat-14-en-3 β , 21 α -diol (1), serrat-14-en-3 β , 21 β -diol (2), lycoclaninol (3), lycoclavanol (4), α -onocerin (5), 16-oxo-3 α -hydroxyserrat-14-en-21 α -ol (6), β -胡萝卜苷 (7)。结论:其中 16-oxo-3 α -hydroxyserrat-14-en-21 α -ol (6)、 β -胡萝卜苷 (7) 为首次从该植物中分离得到。

[关键词] 伸筋草;石松三萜;化学成分

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0090-03

Serrantane Triterpenoid from *Lycopodium japonicum*

SHI Li-li¹, HE Yong-zhi^{2*}
(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To study the triterpenoid constituents from air-dried whole plant of *Lycopodium japonicum*, **Method:** The chemical constituents were isolated by normal-phase silica gel column chromatography from the n-butanol extract. Their structure were identified by ¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS. **Result:** Seven triterpenoids were purified and identified as serrat-14-en-3 β , 21 α -diol (1), serrat-14-en-3 β , 21 β -diol (2), lycoclaninol (3), lycoclavanol (4), α -onocerin (5), 16-Oxo-3 α -hydroxyserrat-14-en-21 α -ol (6), daucosterol (7). **Conclusion:** Among these compounds 16-Oxo-3 α -hydroxyserrat-14-en-21 α -ol (6), daucosterol (7) were isolated from the plants of *Lycopodium japonicum* for the first time.

[Key words] *Lycopodium japonicum*; serrantane triterpenoid; chemical constituents

伸筋草为石松科植物石松的干燥全草,性味微苦、辛、温,归肝、脾、肾经,有祛风除湿、舒筋活络的功效。主要用于治疗关节酸痛、屈伸不利等症^[1]。其临床应用历史悠久,疗效确切,全国大部分地区盛产,药源丰富。人们越来越关注伸筋草的各方面性能,对其进行了大量的研究^[2-3]。为进一步研究其药效物质基础及构效关系,笔者对伸筋草提取物做进一步的研究,从其乙醇提取物正丁醇层中共分离得到 7 个化合物,并分别鉴定为 serrat-14-en-3 β ,

21 α -diol (1)、serrat-14-en-3 β , 21 β -diol (2)、lycoclaninol(3)、lycoclavanol(4)、 α -onocerin(5)、16-oxo-3 α -hydroxyserrat-14-en-21 α -ol (6)、 β -胡萝卜苷(7),其中 16-oxo-3 α -hydroxyserrat-14-en-21 α -ol(6)、 β -胡萝卜苷(7)为首次从该植物中分离的到。

1 材料

BUCHI B-545 型熔点仪, Bruker IFS-55 型傅里叶变换红外光谱仪(KBr 压片), HP-1100 LC/MSD 型质谱仪(ESI-MS), Bruker AV400 核磁共振仪(TMS 内标),所用试剂均为分析纯,薄层色谱用硅胶(GF-254)、柱色谱用硅胶(100~200 目,200~300 目)均为青岛海洋化工厂生产。伸筋草药材购自河北安国药材公司,由天津中医药大学中药学院张坚老师鉴定为石松 *Lycopodium japonicum* Thunb. 干燥全草。

2 提取与分离

伸筋草药材 10 kg,晾干,粉碎后,95% 乙醇 70 L

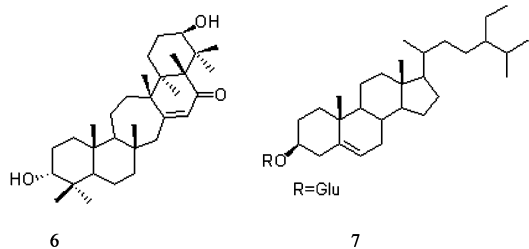
[收稿日期] 20111011(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30973860)

[第一作者] 史利利,硕士,从事中药化学研究,E-mail:shilili.d@163.com

[通讯作者] *何永志,Tel:13820862830,E-mail:heyongzhi126@126.com

室温下浸提3次,每次7d,提取液减压浓缩至干,得浸膏597g。将上述浸膏悬浮于水中,分别用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取,所得萃取物分别为180,220,176,79g,正丁醇部分(79g)经反复硅胶柱色谱分离,用氯仿-甲醇(100:0~0:1)梯度洗脱,得化合物**1**(6mg),化合物**2**(23mg),化合物**3**(7mg),化合物**4**(279mg),化合物**5**(25mg),化合物**6**(13mg),化合物**7**(12mg)。



3 结构鉴定

化合物1 白色无定形粉末(三氯甲烷), mp 295.2~296.7℃。Lieberman-Burchard反应呈阳性,香草醛-硫酸反应105℃加热显紫红色,提示可能为三萜。ESI-MS m/z 443 $[M + H]^+$ 。提示相对分子量为442,结合氢(碳)谱和质谱数据,得出分子式为 $C_{30}H_{50}O_2$ 。红外谱图吸收特征峰 ν_{max} 3472.24 cm^{-1} 为羟基, ν_{max} 2927.84, 1364.92 cm^{-1} 显示为 $C=C$ 。 1H -NMR(600 MHz, $CDCl_3$ -MeOD) δ : 5.475(1H, brs, H-15), 3.461(1H, dd, $J=10.4, 5.6$ Hz, H-21), 3.448(1H, dd, $J=10.4, 6.4$ Hz, H-3), 1.236, 1.189, 1.100, 1.055, 0.947, 0.879, 0.793(s, $7 \times CH_3$); ^{13}C -NMR(600 MHz, $CDCl_3$ -MeOD) δ : 38.9(C-1), 28.4(C-2), 78.03(C-3), 39.4(C-4), 55.9(C-5), 19.2(C-6), 45.4(C-7), 37.2(C-8), 62.8(C-9), 39.3(C-10), 27.3(C-11), 28.3(C-12), 57.4(C-13), 138.8(C-14), 122.8(C-15), 24.4(C-16), 49.9(C-17), 36.3(C-18), 25.4(C-19), 37.4(C-20), 77.73(C-21), 38.3(C-22), 16.1(C-23), 28.5(C-24), 15.2(C-25), 15.89(C-26), 56.3(C-27), 13.6(C-28), 19.9(C-29), 28.0(C-30)。以上数据与文献^[4]数据一致,故确定此化合物为 serrate-14-en-3 β , 21 α -diol。

化合物2 白色无定形粉末(三氯甲烷), mp 285.8~286.5℃。Lieberman-Burchard反应呈阳性,香草醛-硫酸反应105℃加热显紫红色,提示可能为三萜。ESI-MS m/z 443 $[M + H]^+$,提示相对分子量为442,结合氢(碳)谱和质谱数据,得出分子式为 $C_{30}H_{50}O_2$ 。红外谱图吸收特征峰 ν_{max} 3493.28

cm^{-1} 提示有羟基, ν_{max} 2933.50, 1463.11 cm^{-1} 提示有 $C=C$ 。 1H -NMR(600 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.47(1H, brs, H-15), 3.45(1H, brs, H-21), 3.19(1H, dd, $J=11.6, 4.8$ Hz, H-3), 1.23, 1.16, 1.12, 1.04, 0.95, 0.84, 0.81(s, $7 \times CH_3$)。 ^{13}C -NMR(600 MHz, $CDCl_3$) δ : 38.8(C-1), 28.2(C-2), 77.7(C-3), 39.4(C-4), 55.9(C-5), 19.2(C-6), 45.3(C-7), 37.2(C-8), 62.8(C-9), 38.3(C-10), 26.4(C-11), 27.3(C-12), 57.1(C-13), 138.8(C-14), 123.1(C-15), 24.3(C-16), 43.5(C-17), 36.1(C-18), 31.6(C-19), 25.3(C-20), 75.0(C-21), 37.7(C-22), 15.8(C-23), 28.5(C-24), 16.2(C-25), 19.9(C-26), 56.5(C-27), 13.5(C-28), 21.9(C-29), 28.4(C-30)。以上数据与文献^[4]数据一致,故确定此化合物为 serrate-14-en-3 β , 21 β -diol。

化合物3 白色无定形粉末(三氯甲烷), mp 308.0~308.8℃。Lieberman-Burchard反应呈阳性,香草醛-硫酸反应105℃加热显紫红色,提示可能为三萜。ESI-MS m/z 475 $[M + H]^+$,提示相对分子量为474,结合氢(碳)谱和质谱数据,得出分子式为 $C_{30}H_{50}O_4$ 。 1H -NMR(C_5D_5N , 600 MHz) δ : 0.830(3H, s, CH_3), 0.838(3H, s, CH_3), 0.899(3H, s, CH_3), 0.956(3H, s, CH_3), 1.197(3H, s, CH_3), 1.583(3H, s, CH_3), 2.242(1H, d, $J=14.4$ Hz, CH), 3.814(1H, brs, CH-OH), 3.850(2H, dd, $J=10.4$ Hz, CH_2 -OH), 4.424(1H, d, $J=11.6$ Hz, CH-OH), 4.429(1H, brs, CH-OH), 5.444(1H, brs, =CH)。 ^{13}C -NMR(C_5D_5N , 600 MHz) δ : 34.0(C-1), 26.5(C-2), 69.8(C-3), 44.0(C-4), 50.1(C-5), 19.4(C-6), 45.7(C-7), 37.4(C-8), 63.0(C-9), 38.3(C-10), 27.3(C-11), 25.4(C-12), 57.4(C-13), 138.7(C-14), 122.8(C-15), 24.2(C-16), 43.1(C-17), 37.5(C-18), 41.1(C-19), 66.3(C-20), 79.3(C-21), 38.7(C-22), 23.4(C-23), 65.6(C-24), 16.4(C-25), 19.9(C-26), 56.5(C-27), 14.5(C-28), 21.4(C-29), 28.5(C-30)。以上数据与文献^[5]数据一致,故确定此化合物为 Lycoclaninol。

化合物4 白色无定形粉末(三氯甲烷), mp 301.3~302.7℃。Lieberman-Burchard反应呈阳性,香草醛-硫酸反应105℃加热显紫红色,提示可能为三萜。ESI-MS m/z 459 $[M + H]^+$,提示相对分子量为458,结合氢(碳)谱和质谱数据,得出分子式为 $C_{30}H_{50}O_3$ 。 1H -NMR(C_5D_5N , 600 MHz) δ : 0.798

(3H, s, CH₃), 0.834 (3H, s, CH₃), 0.900 (3H, s, CH₃), 0.931 (3H, s, CH₃), 1.144 (3H, s, CH₃), 1.576 (3H, s, CH₃), 2.272 (1H, d, *J* = 14.0 Hz, CH), 3.656 (1H, brs, CH-OH), 3.839 (2H, dd, *J* = 10.8 Hz, CH₂-OH), 4.420 (1H, brs, CH-OH), 5.441 (1H, brs, = CH)。¹³C-NMR (C₅D₅N, 600 MHz) δ: 34.0 (C-1), 25.3 (C-2), 69.7 (C-3), 44.0 (C-4), 50.1 (C-5), 19.4 (C-6), 45.8 (C-7), 37.5 (C-8), 62.9 (C-9), 38.3 (C-10), 27.4 (C-11), 26.5 (C-12), 57.2 (C-13), 139.2 (C-14), 122.7 (C-15), 24.3 (C-16), 43.6 (C-17), 36.2 (C-18), 31.6 (C-19), 26.4 (C-20), 75.0 (C-21), 37.8 (C-22), 23.4 (C-23), 65.5 (C-24), 16.4 (C-25), 19.9 (C-26), 56.6 (C-27), 13.5 (C-28), 21.9 (C-29), 28.4 (C-30)。以上数据与文献[4]数据一致,故确定此化合物为 lycoclavanol。

化合物 5 无色针状结晶(三氯甲烷), mp 206 ~ 207℃。Lieberman-Burchard 反应呈阳性,香草醛-硫酸反应 105℃ 加热显紫红色,提示可能为三萜。ESI-MS *m/z* 443 [M + H]⁺,提示相对分子量为 442 结合氢谱、碳谱和核磁数据,得出分子式为 C₃₀H₅₀O₂。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ: 0.761 (6H, s, H₃-25, 28), 1.020 (6H, s, H₃-24, 30), 1.219 (6H, s, H₃-23, 29), 3.515 (2H, dd, *J* = 11.4, 4.8 Hz, H-3, 21), 4.783 (2H, s, H₂-26, 27), 5.012 (2H, s, H₂-26, 27), 5.828 (2H, s, 3, 21-OH); ¹³C-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ: 37.61 (C-1), 28.87 (C-2), 78.01 (C-3), 39.77 (C-4), 55.04 (C-5), 24.58 (C-6), 38.73 (C-7), 149.33 (C-8), 57.93 (C-9), 39.77 (C-10), 23.0 (C-11), 23.0 (C-12), 57.93 (C-13), 149.33 (C-14), 38.73 (C-15), 24.58 (C-16), 55.04 (C-17), 39.77 (C-18), 37.6 (C-19), 28.87 (C-20), 78.01 (C-21), 39.77 (C-22), 28.93 (C-23), 16.33 (C-24), 14.93 (C-25), 106.7 (C-26), 106.7 (C-27), 14.93 (C-28), 16.33 (C-29), 28.93 (C-30)。以上数据与文献[6]数据一致,确定化合物为 α-onocerin。

化合物 6 白色粉末(三氯甲烷), mp 314 ~ 316℃。Lieberman-Burchard 反应呈阳性,香草醛-硫酸反应 105℃ 加热显紫红色,提示可能为三萜。ESI-MS *m/z* 457 [M + H]⁺,提示相对分子量为 456,结合氢(碳)谱和质谱数据,得出分子式为 C₃₀

H₄₈O₃。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ: 3.58 (1H, brs, H-3), 5.92 (1H, s, H-15), 3.01 (1H, s, H-17), 3.60 (1H, brs, H-21), 1.17 (3H, s, H₃-23), 0.88 (3H, s, H₃-24), 0.80 (3H, s, H₃-25), 0.72 (3H, s, H₃-26), 0.86 (3H, s, H₃-28), 1.35 (3H, s, H₃-29), 1.68 (3H, s, H₃-30); ¹³C-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ: C-1 (35.0), C-2 (27.9), C-3 (77.1), C-4 (39.9), C-5 (50.6), C-6 (20.3), C-7 (46.5), C-8 (39.5), C-9 (63.8), C-10 (39.4), C-11 (26.5), C-12 (28.0), C-13 (60.8), C-14 (164.9), C-15 (130.25), C-16 (202.5), C-17 (60.3), C-18 (45.9), C-19 (33.2), C-20 (27.2), C-21 (76.3), C-22 (38.8), C-23 (30.6), C-24 (23.8), C-25 (17.3), C-26 (21.3), C-27 (57.3), C-28 (16.4), C-29 (23.4), C-30 (30.3)。以上数据与文献[7]数据一致,故确定该化合物为 16-oxo-3α-hydroxyserrat-14-en-21α-ol。

化合物 7 硫酸乙醇溶液显色呈紫红色。与标准品共薄层层析,在 3 种溶剂系统中展开 R_f 均相同,结构鉴定为 β-胡萝卜素。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010;181.
- [2] 周慧.蛇足石杉中性成分的研究[D].上海:中国科学院上海生命科学研究院,2002:60.
- [3] 滕翠翠,何永志,王颖,等.伸筋草化学成分及药理作用研究进展[J].医学综述,2008,14(20):47.
- [4] Seto H, Furihata K, Guanyix, et al. Assignments of the ¹H- and ¹³C-NMR spectra of four *Lycopodium triterpenoids* by the application of a new two-dimensional technique, heteronuclear multiple bond connectivity (HMBC)[J]. Agri Biol Chem, 1988, 52(7): 1797.
- [5] Yan J, Zhang X M, Li Z R, et al. Three new triterpenoids from *Lycopodium japonicum* Thunb [J]. Helv Chim Acta, 2005, 88(2): 240.
- [6] Cai X, Pan D J, Xu G Y. Study on the tetracyclic triterpenes of *Lycopodium obscurum* L. [J]. Acta Chim Sin, 1989, 47: 1025.
- [7] 李军,韩燕艺,刘嘉森.千层塔中三萜成分的研究[J].药学报,1988,23(7):549.

[责任编辑 蔡仲德]