

宽筋藤脂溶性部位的化学成分分离鉴定

朱小芳, 马亚娟, 白文婷, 黄丽萍, 平欲晖, 谢一辉*

(江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的:对藏族药宽筋藤脂溶性部位的化学成分进行分离,并对分离得到的单体化合物进行结构鉴定。方法:宽筋藤干燥根茎80 kg,用生药量5倍80%乙醇浸泡1 h,然后沸水回流1 h,滤过,再重复上述步骤,合并2次提取液,回收溶剂得到总浸膏。将所得浸膏用传统溶剂萃取、回收溶液,分别得到石油醚浸膏,二氯甲烷浸膏,乙酸乙酯浸膏,正丁醇浸膏,水浸膏。对其中二氯甲烷萃取部位采用硅胶柱色谱、半制备液相色谱和LH-20型羟丙基葡聚糖凝胶(SephadexLH-20)色谱,重结晶等方法进行分离纯化,综合质谱(ESI-MS),核磁共振谱(¹H-NMR和¹³C-NMR)等波谱数据并结合文献鉴定化学结构。结果:从二氯甲烷萃取部位中分离得到15个化合物,分别鉴定为正十二烷醇(1),正二十六烷醇(2),棕榈酸(3),邻苯二甲酸二丁酯(4),香草酸(5),香草醛(6),夹竹桃素(7),tinocordifolioside(8),杜仲树脂醇(9),异落叶松脂素(10),橙黄胡椒酰胺(11),橙黄胡椒乙酰胺(12),小檗碱(13),胡萝卜苷(14),β-谷甾醇(15)。结论:其中,化合物除3,4,6,14,15外,其他10个化合物均为首次从该植物中分离得到。

[关键词] 宽筋藤;根茎;脂溶性部位;正十二烷醇;正二十六烷醇

[中图分类号] R284.2;R289;R22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)02-0163-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20190216

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181024.1552.008.html>

[网络出版时间] 2018-10-26 09:02

Chemical Constituents of Lipid-soluble Parts of *Tinospora sinensis*

ZHU Xiao-fang, MA Ya-juan, BAI Wen-ting, HUANG Li-ping, PING Yu-hui, XIE Yi-hui*

(School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To isolate the chemical constituents from lipid-soluble parts of Tibetan *Tinospora sinensis* and identify the structure of the monomer compounds. **Method:** Eighty kg of dried rhizomes of *T. sinensis* were soaked by 80% ethanol (5 times of the dose of crude drug) for 1 hour, boiled under reflux for 1 hour, then and filtered. The above steps were repeated. The two extracts were combined, and the solvent was recovered to obtain a total extract. The obtained extract was extracted with a conventional solvent, and the solution was recovered to obtain petroleum ether extract, methylene chloride extract, ethyl acetate extract, *n*-butanol extract and water extract. Methylene chloride extract was isolated and purified by silicagel column chromatography, semi-preparative liquid chromatography and SephadexLH-20 chromatography; the chemical structure was identified on the basis of ESI-MS, nuclear magnetic resonance (¹H-NMR and ¹³C-NMR) spectroscopy data and literatures. **Result:** Fifteen compounds were isolated and identified respectively as *n*-dodecanol (1), *n*-hexacosanol (2), palmitic acid (3), dibutyl phthalate (4), vanillic acid (5), vanillin (6), apocynin (7), tinocordifolioside (8), medioresinol (9), isolariciresinol (10), aurantiamide (11), aurantiamide acetate (12), berberine (13), daucosterol (14), β-sitosterol (15). **Conclusion:** Except for 3, 4, 6, 14, 15, the other 10 compounds were isolated from the plant for the first time.

[Key words] *Tinospora sinensis*; rhizome; liposoluble components; *n*-dodecanol; *n*-hexacosanol

[收稿日期] 20180316(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81660713)

[第一作者] 朱小芳,在读硕士,从事中药有效成分分离与富集研究,E-mail:1850553908@qq.com

[通信作者] *谢一辉,教授,从事中药有效成分分析研究,E-mail:243619851@qq.com

宽筋藤以中华青牛胆的藤茎入药,亦名无地根、青筋藤、砍不死、松筋藤、大接筋藤等^[1]。宽筋藤主要产于我国西藏东南部,广东、广西、云南等地也有分布。藏族医经典著作《宝库》称:“宽筋藤功效治风热,除时疫热,治衰老病、风湿病。”藏族药学家帝玛尔·丹增彭措所著的《晶珠本草》记载^[2]:“宽筋藤具有祛风除湿,舒筋活络之功效,是藏族地区民间用于风湿骨痛,防治老年痴呆的有效药物,也是 80 多种藏族成药的基础方玛奴西汤的主要组成药物^[3]。”

我国正步入老龄化社会,阿尔兹海默(Alzheimer's disease, AD)已成为仅次于心脏病、肿瘤、脑血管病之后的影响老年人身心健康的重大疾病。有专家预言,AD 将是 21 世纪人类第一杀手。AD 的病因和发病机制仍未明确。国外对 AD 的研究起步较早,迄今,尚无能终止或逆转 AD 病理改变而起到根本治疗作用的疗法。中医药、藏族药等民族医药对 AD 的防治有着独特的优势。中医学认为,肾藏精,精生髓,髓充养脑,主生殖和发育,为先天之本。肾中精气亏损,脑海空虚,则失眠健忘,反映迟钝,智力减退^[4]。宽筋藤为藏族地区防治衰老的常用药,但其基础研究不足,物质基础不明。目前,对宽筋藤的研究多停留在化学成分鉴定和少量化学成分含量测定。文献报道,宽筋藤药理研究显示具有抗氧化,抗辐射,免疫抑制等^[5-8]作用。但对宽筋藤防治 AD 的药效物质基础及其作用机制未见报道。

本课题组在前期研究发现,宽筋藤二氯甲烷萃取部位对 D-半乳糖联合氢化可的松造成的肾阳虚型痴呆大鼠和东莨菪碱所致学习记忆障碍大鼠有很明显的改善其学习记忆的作用。为探明宽筋藤防治 AD 的活性成分,本实验对其二氯甲烷萃取部位进行成分分离与鉴定。在藏族医理论指导下,用现代药理研究手段,发现了有效治疗 AD 的天然藏族药,从有效治疗 AD 的藏族药中寻找防治 AD 的活性成分,并探明其作用机制,是创制具有自主知识产权的高效安全的防治 AD 药物的重要途径,具有重大现实意义。本实验分离得到的 15 个化合物,采用噻唑蓝(MTT)法检测宽筋藤单体化合物对 $\text{A}\beta_{25-35}$ 诱导的 PC12 细胞 AD 模型实验,证明 tinocordifolioside, 杜仲树脂酚,异落叶松脂素,橙黄胡椒酰胺,橙黄胡椒乙酰酰胺对 $\text{A}\beta_{25-35}$ 所致的 PC12 细胞 AD 样损伤模型的存活率有明显改善作用。

1 材料

Triple TOF 5600 型质谱仪(美国 ABSciex);

Mercury-600MHz 型核磁共振仪(美国 Varian); 1260 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent); LH-20 型羟丙基葡聚糖凝胶(SephadexLH-20, 美国 GE); YMCODS-A 色谱柱(10 mm × 250 mm, 5 μm); 柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂); 薄层色谱硅胶 G(青岛海洋化工厂); CMC-Na 黏合剂(国药集团化学试剂有限公司)。提取乙醇为工业试剂; 无水乙醇、二氯甲烷、甲醇、硫酸(分析纯,西陇化工股份有限公司)。

本实验药材由西藏医学院格桑次仁副教授采购,并经西藏医学院格桑次仁副教授鉴定为防己科植物青牛胆属中华青牛胆 *Tinospora sinensis* 的藤茎。

2 提取与分离

宽筋藤干燥根茎 80 kg, 用生药量 5 倍 80% 乙醇浸泡 1 h, 然后沸水回流 1 h, 滤过, 再重复上述步骤, 合并 2 次提取液, 回收溶剂得到总浸膏。将所得浸膏用溶剂萃取、回收溶液, 分别得到石油醚浸膏、二氯甲烷浸膏、乙酸乙酯浸膏、正丁醇浸膏、水浸膏。对宽筋藤浸膏萃取得到的二氯部位 450.00 g 经硅胶色谱柱分离, 依次用二氯甲烷-甲醇(1:0~0:1) 梯度洗脱, 一共得到 32 个合并馏分(Fr. 1~Fr. 32)。Fr. 16 过硅胶柱, 经二氯甲烷-甲醇(80:1) 系统等度洗脱, 自然结晶得化合物 **1** (30 mg)。Fr. 17 过硅胶柱, 经二氯甲烷-甲醇(100:1) 等度洗脱, 自然结晶得化合物 **2** (20 mg), 经二氯甲烷-甲醇(30:1) 等度洗脱, 再以制备 HPLC, 甲醇-水(45:55) 等度洗脱(3 mL·min⁻¹), 得到化合物 **6** (8.7 mg, $t_R = 28$ min), 化合物 **7** (5 mg, $t_R = 20$ min)。Fr. 19 过硅胶柱, 用石油醚-乙酸乙酯(80:1~1:1) 梯度洗脱, 得馏分 Fr. 19.1~Fr. 19.10。Fr. 19.3 析出结晶, 反复洗涤得到化合物 **15** (10.8 mg)。Fr. 19.5 经制备 HPLC, 以甲醇-水(55:45) 等度洗脱(3 mL·min⁻¹), 得到化合物 **8** (3.6 mg)。Fr. 20 经制备 HPLC, 以甲醇-水(40:60) 等度洗脱(3 mL·min⁻¹), 得到化合物 **5** (12 mg, $t_R = 24$ min)。Fr. 23 用 300~400 目硅胶装柱, 经二氯甲烷-甲醇(100:0, 80:1, 50:1, 12:1, 0:100) 洗脱, 得到馏分 Fr. 23.1~Fr. 23.9。Fr. 23.3 经过 SephadexLH-20 洗脱(甲醇), 得到化合物 **11**, **12**。Fr. 23.6 经过 SephadexLH-20 洗脱(甲醇-二氯甲烷1:1) 得到化合物 **12**。Fr. 25 经 300~400 目硅胶柱色谱, 得到化合物 **3**, **14**。Fr. 25 过硅胶柱, 梯度洗脱系统为二氯甲烷-甲醇(20:1~1:1), 得到馏分 Fr. 25.1~Fr. 25.15。将 Fr. 25.4 过 SephadexLH-20 洗脱(甲醇), 得到化合物 **9**。将 Fr. 25.10 经制备

HPLC,以甲醇-水(55:45)等度洗脱($3\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$),得到化合物**10**。将Fr. 25. 11经制备HPLC,以甲醇-水(38:62)等度洗脱($7\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$),得到化合物**4**(15.4 mg)。Fr. 28馏分经Sephadex LH-20凝胶柱色谱(甲醇)洗脱,合并相似组分得Fr. 28. 1~Fr. 28. 4,其中Fr. 28. 2经制备HPLC,以甲醇-0.1%甲酸水(35:65)($7\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$)为流动相,得到化合物**13**(6.2 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1** 白色固体,ESI-MS m/z 257.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 推测化合物的分子式 $\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{O}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3)显示 δ : 3.64(2H, t, H-1)和1.56(2H, m, H-2)为2个亚甲基质子氢信号,0.87(3H, t, H-11)为1个甲基质子氢信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3)显示 δ : 14.28为1个甲基碳信号; δ : 63.27为1个连着羟基碳信号; δ : 22.85, 25.89, 29.52, 29.59, 29.76, 29.77, 29.82, 29.86, 32.08, 32.97为亚甲基碳信号。综合化合物的 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3)和 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3)的数据,与文献[9]中的数据基本一致,故鉴定为正十二烷醇。

化合物**2** 白色固体,mp 77~78 $^{\circ}\text{C}$ 。ESI-MS m/z 381 $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 推测化合物的分子式 $\text{C}_{26}\text{H}_{54}\text{O}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 和DMSO- d_6 , 600 MHz) δ : 0.88(3H, t, $J = 7.0\text{ Hz}$, H-26), 1.60~1.25(48H, m, H-2~H-25), 3.64(2H, t, $J = 7.0\text{ Hz}$, H-1)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 和DMSO- d_6 , 151 MHz) δ : 60.97(C-1), 32.36~21.99(C-2~C-25), 14.1(C-26);以上数据与文献[10]数据一致,鉴定该化合物为正二十六烷醇。

化合物**3** 白色带珠光的鳞片 mp 63~64 $^{\circ}\text{C}$, 10%浓硫酸-乙醇反应显紫红色。结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 推测化合物的分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3)显示 δ : 0.88(3H, t)为1个甲基质子氢信号; δ : 1.63(2H, m)和2.35(2H, t)为2个亚甲基质子氢信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3)显示 δ : 14.28为1个甲基碳信号; δ : 179.12为1个羧基碳信号; δ : 22.85, 24.85, 29.80, 29.82, 29.83, 32.09, 34.01为亚甲基碳信号。综合化合物的 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3)和 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3)的数据,与文献[11]中的数据基本一致,故鉴定为棕榈酸。

化合物**4** 白色粉末(甲醇),ESI-MS m/z 279 $[\text{M} + \text{H}]^+$,结合NMR光谱分析确定其分子式为

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$ 。TLC在254 nm处有紫外吸收,在365 nm处无荧光,10%硫酸乙醇溶液加热不显色。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 4.29(4H, t, H-8, 8')受酯基吸电子作用影响,该位置氢的化学位移向低场移动,1.71(4H, m, H-9, 9'),1.46(4H, m, H-10, 10'),1.02(6H, m, H-11, 11')为2个甲基质子信号,7.57(2H, m, H-3, 6),7.74(2H, m, H-4, 5)为一组芳环质子信号,受酯基吸电子作用影响,3,6位质子向高场移动。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CD_3OD) δ : 14.09(C-11, 11')为甲基碳信号,20.21(C-10, 10'),31.67(C-9, 9'),66.83(C-8, 8')为亚甲基碳信号,8,8'位受酯基的影响,碳的化学位移向低场移动,其中130.02(C-3, 6),132.41(C-4, 5),133.54(C-1, 2)为一组芳环碳信号,1,2位受酯基影响,碳的化学位移向低场移动,169.36(C-7, 7')为羰基碳信号。综合化合物的 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD)和 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CD_3OD)的数据,与文献[12]中的数据基本一致,故鉴定为邻苯二甲酸二丁酯。

化合物**5** 白色针状结晶,无色结晶 ESI-MS m/z 167 $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。分子式 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.63(1H, dd, $J = 2.0, 8.6\text{ Hz}$, H-6),7.52(1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-2),6.80(1H, d, $J = 8.6\text{ Hz}$, H-5),3.90(3H, s, OCH_3)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CD_3OD) δ : 191.0(C-7),151.80(C-4),147.27(C-3),130.04(C-1),127.69(C-6),114.51(C-5),108.88(C-2),56.28(OCH_3)。综合化合物的 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD)和 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CD_3OD)的数据,与文献[13]中的数据基本一致,故鉴定为香草酸(vanillic acid)。

化合物**6** 白色雪花状结晶(三氯甲烷),ESI-MS m/z 175 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 推测化合物的分子式 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 9.83(1H, s, H-7),7.44(1H, d, $J = 1.8\text{ Hz}$, H-2),7.42(1H, dd, $J = 1.8, 8.0\text{ Hz}$, H-6),7.04(1H, d, $J = 8.0\text{ Hz}$, H-5),3.92(3H, s, OCH_3)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3)显示 δ : 191.0(C-7),151.80(C-4),147.27(C-3),130.04(C-1),127.69(C-6),114.51(C-5),108.88(C-2),56.28(OCH_3)。综合化合物的 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3)和 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3)的数据,与文献[14]中的数据基本一致,故鉴定为香草醛。

化合物**7** 黄色片状结晶,mp 113~115 $^{\circ}\text{C}$,ESI-MS m/z 167 $[\text{M} + 1]^+$ 。结合 $^1\text{H-NMR}$ 和

^{13}C -NMR 推测化合物的分子式 $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.54 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.59 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 6.86 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, H-6), 3.93 (3H, s, OCH_3), 2.55 (3H, s, CH_3)。 ^{13}C -NMR (151 MHz, CD_3OD) δ : 196.96 (C = O), 150.53 (C-4), 146.74 (C-3), 130.36 (C-1), 124.15 (C-6), 114.4 (C-5), 109.84 (C-2), 56.22 (OCH_3), 26.34 (CH_3)。综合化合物的 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C -NMR (151 MHz, CD_3OD) 的数据,与文献[15]中的数据基本一致,故鉴定为夹竹桃素 (apocynin)。

化合物 8 黄色结晶, mp 107 ~ 109 $^{\circ}\text{C}$, ESI-MS m/z 435 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.73 (H-2, q, $J = 1.1$ Hz) 为烯基质子信号, 1.73 (m, H-4a), 1.73 (m, H-4b), 受双键吸电子作用影响, 4 位质子化学位移向低场移动, 1.91 (m, H-5a), 1.73 (m, H-5b), 1.93 (m, H-6), 1.93 (m, H-7), 其 2.78 (H-8, dd, $J = 1.2, 6.3$ Hz), 2.92 (s, H-9) 受氧原子吸电子作用影响, 质子化学位移向低场移动, 1.16 (s, 12- CH_3), 1.14 (s, 13- CH_3), 2.01 (d, $J = 1.1$ Hz, 14- CH_3), 0.96 (s, 15- CH_3) 为甲基质子信号, 其中 4.41 (d, $J = 7.3$ Hz, H-1'), 3.27 ~ 3.97 (m, H-2'-6') 为糖基质子信号。 ^{13}C -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 20.31 (C-15), 23.84 (C-12), 23.98 (C-13), 24.20 (C-14) 为 4 个甲基碳信号, 20.21 (C-4), 36.68 (C-5), 48.82 (C-7), 54.52 (C-9), 55.16 (C-8), 56.95 (C-6), 57.14 (C-10), 其中 62.22 (C-6'), 70.33 (C-4'), 73.77 (C-5'), 75.45 (C-2'), 76.67 (C-3'), 97.05 (C-1') 为糖基碳信号, 80.55 (C-11), 121.31 (C-2), 170.6 (C-3) 为烯碳信号, 205.47 (C-1) 为典型的羰基碳信号。综合化合物的 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) 和 ^{13}C -NMR (151 MHz, CDCl_3) 的数据,与文献[16]中的数据基本一致,故鉴定为 tinocordifolioside。

化合物 9 白色粉末 (三氯甲烷) ESI-MS m/z 387 $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。根据 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据推测出化合物的分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_7$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) 显示 6.89 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.83 (s, 1H) 为一组苯环上质子信号; 6.58 (s, 2H) 为另一组苯环上质子信号; 5.61, 5.51 分别为苯环上取代的羟基质子信号; 4.74 (d, 1H), 4.73 (d, 1H) 为亚甲基质子信号; 4.27 (m, 2H), 3.88 (m, 2H) 为连氧的亚甲基质子信号; 3.91 (d, 9H) 为 3 个取代甲氧基的质子信号; 3.10 (m, 2H) 为次甲基质子信号。

^{13}C -NMR (151 MHz, CDCl_3) 显示 147.29, 134.41, 132.22, 102.81 为一组苯环上碳信号; 133.04, 108.72, 146.82, 145.36, 114.39, 119.09 为一组苯环上碳信号; 86.22, 86.01, 71.95, 71.81, 54.49, 54.30 为四氢呋喃型木脂素特征的碳信号; 56.52, 56.09 为甲氧基碳信号。综合化合物的 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) 和 ^{13}C -NMR (151 MHz, CDCl_3) 的数据,与文献[17]中的数据基本一致,故鉴定为杜仲树脂酚 (medioresinol)。

化合物 10 白色粉末 (甲醇) ESI-MS m/z 359 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 根据 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据推测出化合物的分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) 显示 6.68 (1H, s), 6.19 (1H, s), 6.66 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.74 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.62 (1H, d, $J = 2.0, 8.0$ Hz) 为 2 组苯环上质子信号; 3.82 (3H, s), 3.78 (3H, s) 为 2 个取代甲氧基的质子信号; 2.78 (2H, m), 3.66 (1H, m), 3.39 (1H, m), 3.41 (2H, m) 为 3 个亚甲基质子信号; 3.71 (1H, m), 2.02 (1H, m), 1.77 (1H, m) 为 3 个次甲基质子信号。 ^{13}C -NMR (151 MHz, CD_3OD) 显示 112.36, 113.77, 115.97, 117.35, 123.20, 129.01, 134.16, 138.63, 145.28, 145.95, 147.21, 149.03 为 2 组苯环碳信号; 33.59, 62.18, 65.93 为 3 个亚甲基碳信号; 39.98, 48.00, 48.05 为次甲基碳信号; 56.34 为甲氧基碳信号。综合化合物的 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C -NMR (151 MHz, CD_3OD) 的数据,与文献[18]中的数据基本一致,故鉴定为异落叶松脂素 (isolariciresinol)。

化合物 11 白色无定型粉末 (三氯甲烷), ESI-MS m/z 425 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 推测其相对分子质量为 402, 提示该化合物为含氮类物质, 结合 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 推测化合物的分子式为 $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) 显示 δ : 7.71 (2H, m), 7.53 (1H, m), 7.44 (2H, m), 7.28 ~ 7.34 (5H, m), 7.18 (2H, m), 7.14 (1H, m), 7.09 (2H, m) 提示为苯环上氢信号; δ : 5.93 (d, $J = 8.0$ Hz) 和 6.81 (dd, $J = 8.7, 5.9$ Hz) 为 NH 的氢信号; δ : 4.08 (1H, m) 显示其与 NH 相连使得化学位移向低场移动, 而 δ : 4.76 (1H, m) 显示其一端与 NH 相连, 一端与羰基相连, 使得其化学位移向低场移动; 化学位移 2.77 (1H, dd, $J = 13.8, 7.5$ Hz), 2.70 (1H, dd, $J = 13.8, 7.3$ Hz) 以及 3.42 (2H, m), 3.04 (1H, dd, $J = 13.6, 8.8$ Hz), 3.26 (1H, dd, $J = 13.6, 5.9$ Hz) 为 3 个亚甲基的氢信号。 ^{13}C -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 170.88, 167.27 显示

该化合物含有 2 个羰基; δ :126.77, 127.20, 127.35, 128.71, 128.79, 129.02, 129.27, 129.50, 132.11, 133.69, 136.92, 137.36 显示为 12 个 sp^2 杂化碳信号,而且为苯环上单取代; δ :55.38, 53.00 显示为 2 个叔碳信号; δ :38.83 显示为 sp^3 杂化的亚甲基碳信号; δ :63.66 显示为一端连有杂原子,使得杂原子相邻的碳原子信号向低场移动。综合化合物的 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) 的数据,与文献[19]中的数据基本一致,故鉴定为橙黄胡椒酰胺 (aurantiamide)。

化合物 12 白色雪花状结晶(三氯甲烷)ESI-MS m/z 467 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 推测其相对分子质量为 444, 提示该化合物为含氮类物质,结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 推测化合物的分子式 $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) 显示 δ : 7.71 (2H, m), 7.53 (1H, m), 7.44 (2H, m), 7.24-7.29 (5H, m), 7.16 (2H, m), 7.17 (1H, m), 7.07 (2H, m) 提示为苯环上氢信号; δ : 5.93 (d, $J = 8.0$ Hz) 和 6.73 (dd, $J = 8.7, 5.9$ Hz) 为 NH 的氢信号; δ : 4.34 (1H, m) 显示其与 NH 相连使得化学位移向低场移动,而 δ : 4.76 (1H, m) 显示其一端与 NH 相连,一端与羰基相连,使得其化学位移向低场移动;化学位移 2.03 (3H, s) 为甲基氢信号; δ : 3.94, 3.80 (2H, dd) 以及 3.21 (1H, dd), 3.05 (1H, dd), 2.75 (2H, m) 为 3 个亚甲基氢信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ : 170.92, 170.33, 167.22 显示为 3 个羰基碳信号; δ : 126.90, 127.17, 127.30, 128.73, 128.78, 128.91, 129.27, 129.42, 132.07, 133.78, 136.74, 136.81 为 12 个 sp^2 杂化碳信号,提示为 3 个苯环而且为苯环上单取代; δ : 49.58, 55.13 显示为 2 个叔碳信号; δ : 37.58 显示为 sp^3 杂化的亚甲基碳信号; δ : 64.71 显示为一端连有杂原子,使得杂原子相邻的碳原子信号向低场移动; δ : 20.96 显示其与羰基相连。综合化合物的 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) 的数据,与文献[20]中的数据基本一致,故鉴定为橙黄胡椒乙酰胺 (aurantiamide acetate)。

化合物 13 黄色针状结晶(甲醇),易溶于水与甲醇,难溶于二氯甲烷,ESI-MS m/z 336 $[\text{M}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 3.26 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, H-5), 4.12 (3H, s, 9-OCH₃), 4.21 (3H, s, 10-OCH₃), 4.93 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, H-6), 6.11 (2H, s, 2,3-OCH₂O), 6.97 (1H, s, H-4), 7.67 (1H, s, H-1), 8.01 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-12), 8.13 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-11), 8.71 (1H, s, H-13), 9.77 (1H, s, H-8)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CD_3OD) δ : 28.19 (C-5), 57.17 (C-6) 为 6 位碳的化学位移,受氮原子吸电子作用的影响,该位置碳的化学位移向低场移动 (C-6), 57.63 为 10 位碳上连的甲氧基碳化学位移,受氧原子吸电子作用影响,该位置碳的化学位移向低场移动,62.52 为 9 位碳上连的甲氧基碳化学位移,受氧原子吸电子作用和共轭作用影响,该位置碳的化学位移向更低场移动,103.67 为两个氧原子之间的亚甲基碳的化学位移,受两个氧原子吸电子作用的影响,该位置碳的化学位移向低场移动,106.54 (C-1), 109.37 (C-4), 121.50 (C-1a), 121.88 (C-13), 123.34 (C-8a), 124.47 (C-12), 128.08 (C-11), 131.88 (C-4a), 135.18 (C-12a), 139.70 (C-13a), 145.78 (C-8), 146.40 (C-9), 149.94 (C-2), 152.02 (C-10), 152.18 (C-3) 为芳环碳信号,受氧原子,氮原子吸电子作用影响,其相邻碳的化学位移向低场移动。综合化合物的 $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CD_3OD) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CD_3OD) 的数据,与文献[21]中的数据基本一致,故鉴定为小檗碱。

化合物 14 白色无定形粉末可溶于 DMSO- d_6 , 10% 浓硫酸-乙醇反应显紫红色。采用薄层色谱法与对照品胡萝卜苷比对,10% 浓硫酸-乙醇显色反应均为紫红色, Rf 值一致,理化性质与对照品胡萝卜苷相一致,与对照品混合后熔点不下降。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.21 (1H, m, 3-H) 为连氧碳上的氢质子信号; δ : 5.33 (1H, br d, $J = 4.6$ Hz, 6-H) 为一个双键上氢质子信号; δ : 0.65 (3H, s, 18-H), 0.95 (3H, s, 19-H), 0.98 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, 21-H), 0.87 (3H, s, 26-H), 0.88 (3H, d, 27-H), 0.9 (3H, d, $J = 1.4$ Hz, 29-H) 为 6 个甲基的氢质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 140.4, 121.2 为双键的碳信号; δ : 61.09, 70.09, 73.47, 76.77, 76.91, 100.79, 为一组葡萄糖碳信号。综合化合物的 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, DMSO- d_6) 的数据,与文献[22-23]中的数据基本一致,故鉴定为胡萝卜苷 (daucosterol)。

化合物 15 白色针晶, mp 139 ~ 141 $^\circ\text{C}$, ESI-MS m/z 414 $[\text{M}]^+$, 结合 NMR 光谱分析确定其分子式为 $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ 。TLC 在 254 nm 处无紫外吸收,在 365 nm 处无荧光,10% 硫酸乙醇溶液加热显紫色, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 0.61, (3H, s, 18-CH₃), 0.62, (3H, s, 19-CH₃), 0.80 (3H, d, $J = 12.0$ Hz, 26-CH₃), 0.81 (3H, d, $J = 12.0$ Hz, 27-CH₃), 0.87 (3H, d, $J = 4.2$ Hz, 29-CH₃), 0.92

(3H, d, $J = 3.6$ Hz, 21-CH₃), 3.56 (1H, m, H-3), 5.47 (1H, dd, $J = 3.0, 1.2$ Hz, H-6)。¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ : 142.29 (C-5), 121.72 (C-6), 71.47 (C-3), 57.43 (C-14), 56.38 (C-17), 51.04 (C-9), 46.56 (C-24), 44.01 (C-4), 42.64 (C-13), 40.53 (C-12), 38.35 (C-1), 37.41 (C-10), 36.61 (C-20), 34.74 (C-22), 33.04 (C-2), 32.73 (C-7), 32.48 (C-8), 29.59 (C-25), 29.05 (C-16), 26.54 (C-23), 25.04 (C-15), 23.63 (C-28), 21.88 (C-11), 20.47 (C-19), 20.11 (C-21), 19.72 (C-27), 19.52 (C-26), 12.45 (C-18), 12.21 (C-29)。综合化合物的¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 和¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃) 的数据,与文献[24-25]中的数据基本一致,故鉴定为 β -sitosterol。

[参考文献]

[1] 吴凤荣,曾聪彦,戴卫波,等. 宽筋藤的本草考证[J]. 中药材,2015,38(12):2632-2634.

[2] 帝玛尔·丹增彭措. 晶珠本草[M]. 毛继祖,译. 上海:上海科学技术出版社,2012:329.

[3] 红梅,刘有菊,韩梅,等. 试述藏药玛奴西汤颗粒的药效作用[J]. 中国民族医药杂志,2013,19(7):16-17.

[4] 王淑玲,冯晓东,刘长安. 补肾填精与延缓衰老[J]. 河南中医药学刊,1994,9(6):1-4.

[5] Jain S, Sherlekar B, Barik R. Evaluation of antioxidant potential of *Tinospora cordifolia* and *Tinospora sinensis* [J]. Int J Pharm Sci Res, 2010,1(11):122-128.

[6] 薛强,罗莹,许小林. 宽筋藤提取物对小鼠抗炎作用的实验研究[J]. 右江医学,2014,42(3):285-287.

[7] 段伟,毕良文,李文辉. 宽筋藤对辐射损伤小鼠造血功能的影响[J]. 中国辐射卫生,2008,17(2):138-140.

[8] Singh N, Kumar A, Gupta P, et al. Evaluation of antileishmanial potential of *Tinospora sinensis* against experimental visceral leishmaniasis [J]. Parasitol Res, 2008,102(3):561-565.

[9] 杨丹,程忠泉,丁中涛,等. 兜唇石斛的酚类化学成分

研究[J]. 中草药,2017,48(14):2839-2842.

[10] 周先丽,梁成钦,徐庆,等. 明日叶的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(3):103-106.

[11] 刘悦,刘静,庾石山,等. 大理白前化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(6):500-503.

[12] 林凤祥,李宏焘,张丽,等. 多穗金粟兰的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(12):2273-2279.

[13] 李慧娟,杜成林,李娜,等. 垂盆草的化学成分分离鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(4):76-80.

[14] 李兴博,齐耀东,刘海涛,等. 新疆藜本化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(10):1543-1547.

[15] 任凤霞,张爱军,赵毅民. 鹿蹄草化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2010,22(1):54-57.

[16] Maurya R, Handa S S. Tinocordifolin, a sesquiterpene from *Tinospora cordifolia* [J]. Phytochemistry, 1999,30(11):1343-1345.

[17] 乔立瑞,杨林,张德武,等. 瑞香狼毒细胞培养物的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(24):3457-3462.

[18] 宋妍,杨雪,葛红娟,等. 牡荆子的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(19):116-119.

[19] 于宗贵,刘建宇,宫益霞,等. 朝鲜白头翁非皂苷类化学成分研究[J]. 中草药,2013,44(23):3264-3269.

[20] 李佳,赵岑,张朝凤,等. 南山藤叶非甾体类化学成分研究[J]. 药学与临床研究,2014,22(4):339-341.

[21] 王利红,解宝仙,辛义周,等. 马黄酞的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(3):40-43.

[22] 谢一辉,邓鹏,张叶青,等. 安痛藤化学成分研究[J]. 中药材,2009,32(2):210-213.

[23] 邹菊英,陈卫红,苏维,等. 胡颓子根的化学成分分离鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(9):59-63.

[24] 崔益冷,穆青,胡昌奇. 红花锦鸡儿化学成分的研究[J]. 中国药学杂志,2004,39(3):173-175.

[25] 甘甜,韩金秀,田义新. 长白山珍稀药材山兰醋酸乙酯部位化学成分研究[J]. 中草药,2017,48(15):3051-3055.

[责任编辑 顾雪竹]