

## 瑶药四方钻的化学成分研究

韦范<sup>1,2</sup>, 王硕<sup>1,3</sup>, 周小雷<sup>1,3</sup>, 卞理<sup>1,3</sup>, 龚小妹<sup>1,3</sup>, 欧春丽<sup>1,2</sup> (1.广西壮族自 治区药用植物园, 广西南宁 530023; 2.广西药用资源保护与遗传改良重点实验室, 广西南宁 530023; 3.西南濒危药材资源开发国家工程实验室, 广西南宁 530023)

**摘要** [目的]分析瑶药四方钻的化学成分。[方法]采用硅胶色谱法和聚酰胺色谱法分离纯化, 根据化合物理化性质和核磁共振结构数据进行化合物结构鉴定。[结果]从四方钻乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部分中分离得到 8 个化合物, 分别为熊果酸(A)、 $\beta$ -谷甾醇(B)、蒲公英赛酮(C)、没食子酸(D)、白藜芦醇(E)、岩白菜素(F)、胡萝卜苷(G)、11-O-没食子酰岩白菜素(H)。[结论]化合物熊果酸(A)为首次从该植物中分离得到。

**关键词** 四方钻; 硅胶色谱; 聚酰胺色谱; 化学成分

**中图分类号** R 284.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)24-0165-02

### Isolation and Purification of Ursolic Acid from the Yao Medicine *Cissus hastata*

WEI Fan<sup>1,2</sup>, WANG Shuo<sup>1,3</sup>, ZHOU Xiao-lei<sup>1,3</sup> et al (1. Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Nanning, Guangxi 530023; 2. Guangxi Key Laboratory of Medicinal Resources Protection and Genetic Improvement, Nanning, Guangxi 530023; 3. National Engineering Laboratory of Southwest Endangered Medicinal Resources Development, Nanning, Guangxi 530023)

**Abstract** [Objective] The research aimed to analyse chemical constituents of *Cissus hastata*. [Method] The compounds were isolated and purified by polyamide column chromatography method. The chemical structures were elucidated on the basis of physicochemical properties and spectral data. [Result] Eight compounds were isolated from the ethyl acetate extract of *Cissus hastata* ethanol extract, which were ursolic acid (A),  $\beta$ -sitosterol (B), taraxerone (C), gallic acid (D), resveratrol (E), bergenin (F), daucosterol (G), 11-O-galloyl bergenin (H). [Conclusion] Ursolic acid (A) is obtained from *Cissus hastata* for the first time.

**Key words** *Cissus hastata*; Silica gel column chromatography; Polyamide column chromatography; Chemical compounds

四方钻是葡萄科白粉藤属植物戟叶白粉藤 [*Cissus hastata* (Miq.) Planch] 的藤茎, 别名四方藤、红四方藤、风藤、软筋藤, 生于山谷林下, 产于广西南宁、隆安、龙州、防城、博白、岑溪、贺州、金秀、等县市, 分布于广东、台湾等省份。四方钻味涩, 微苦, 甘, 性平, 具有去癖生新、舒筋活络、筋络拘挛的功效, 既可用于治疗腰肌劳损、风湿痹痛、内外伤出血、跌打损伤、疼痛、胃及十二指肠出血等症, 又可用于产后保健药浴<sup>[1]</sup>。研究表明, 四方钻中含有岩白菜素、11-O-没食子酰岩白菜素等成分<sup>[2]</sup>。为更全面挖掘四方钻的化学成分, 笔者采用硅胶色谱法和聚酰胺色谱法分离纯化, 并根据化合物理化性质和核磁共振结构数据进行化合物结构鉴定。

## 1 材料与方 法

**1.1 仪器** 600 兆核磁共振仪(美国 VARIAN 公司); X-4 数字显示微熔点测定仪(熔点未校正); LC-MS(美国 VARIAN 公司); ZF-I 型三用紫外分析仪(上海顾村光电仪器厂); GF254 硅胶板(青岛海洋化工分厂); 柱层层析硅胶(100~200, 200~300 目, 青岛海洋化工厂)。

**1.2 材料与试剂** 四方钻药材购于广西金秀县, 由广西壮族自 治区药用植物园赵以民博士鉴定为葡萄科白粉藤属植物戟叶白粉藤 [*Cissus hastata* (Miq.) Planch] 的藤茎。药材样品存于广西药用植物园。色谱用试剂均为分析纯。

**1.3 方法** 四方钻药材 50 kg 粉碎, 用 8 倍量 80% 乙醇超声提取 1 h, 提取 3 次, 提取液回收, 蒸至无醇味, 得 6.5 kg 浸膏, 以水混悬用乙酸乙酯萃取(乙酸乙酯:水=1:1), 萃取液蒸干得膏 630 g。取 394 g 浸膏, 甲醇溶解, 与 100~200 目硅胶按 1.00:1.14 的比例拌匀, 挥干溶剂, 以样品量与硅胶量(200~

300 目)1:5 比例用纯石油醚湿法装硅胶柱, 干法上样。以石油醚:乙酸乙酯(1:0.9:1.8:1.6:1.1:1.0:1)梯度洗脱, 最后甲醇冲柱, 每 2 500 mL 为一个流份, 收集流份, 根据薄层层析结果合并各流份, 得 P1-P6 流份, 将所得流份经反复硅胶、凝胶、小孔树脂等柱层析方法分离得到各单体化合物。P2 回收溶剂后, 在石油醚-乙酸乙酯(9:1)洗脱部位有白色晶体析出, 经氯仿-甲醇溶解重结晶, 硅胶柱色谱分离, Sephadex LH-20 柱分离后依次得到白色片状结晶 C 和白色结晶 B; P3 经石油醚-乙酸乙酯(8:1)洗脱部位经硅胶柱色谱分离(50 g), 反复经过 Sephadex LH-20 柱分离纯化得到白色粉末 A; P5 经石油醚-乙酸乙酯(1:1)洗脱部位经硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇(8:1:6:1:4:1)梯度洗脱, 再反复经过 Sephadex LH-20 柱, 以氯仿-甲醇(1:1)为洗脱剂, 纯化, 得到白色结晶 D 和 E; P6 经回收溶剂后, 纯乙酸乙酯部位有透明棱柱状晶体析出, 记为 F。经硅胶柱, 氯仿-甲醇(5:1:4:1:3:1)梯度洗脱, 再反复经过 Sephadex LH-20 柱, 以氯仿-甲醇(1:1)为洗脱剂, 纯化, 又得另一白色粉末 G 和一白色晶体 H。

## 2 结果与分析

**2.1 化合物 A** 白色粉末(甲醇), mp: 283~285 °C, 易溶于吡啶, 溶于甲醇、乙醇, 略溶于丙酮, 微溶于氯仿和乙醚, 不溶于水和石油醚。ESI-MS  $m/z$  (%): 479 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, MeOD)  $\delta$ (ppm): 5.51 (1 H, m, H-12), 3.47 (1 H, m, H-3), 2.66 (1 H, br, d, J = 11.3 Hz, H-18)。<sup>13</sup>C-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 150 MHz)  $\delta$ (ppm): 37.7 (C-1), 26.7 (C-2), 76.7 (C-3), 38.0 (C-4), 54.4 (C-5), 17.4 (C-6), 32.2 (C-7), 38.6 (C-8), 46.6 (C-9), 35.1 (C-10), 22.3 (C-11), 124.2 (C-12), 137.8 (C-13), 41.1 (C-14), 27.3 (C-15), 23.3 (C-16), 46.6 (C-17), 52.1 (C-18), 38.1 (C-19), 38.0 (C-20), 29.7 (C-

**作者简介** 韦范(1984—), 女, 广西南宁人, 助理研究员, 硕士, 从事药用植物的保护与开发研究。

**收稿日期** 2018-04-13; **修回日期** 2018-05-02

21)、36.0(C-22)、27.4(C-23)、14.3(C-24)、15.2(C-25)、16.0(C-26)、22.5(C-27)、178.4(C-28)、16.1(C-29)、17.4(C-30)。基于以上这些质谱数据与参考文献[3]基本一致,因此确定该化合物为熊果酸。

**2.2 化合物 B** 白色针状结晶(氯仿-甲醇),不溶于水,易溶于氯仿、甲醇等有机溶剂。薄层色谱在不同的溶剂体系中展开,均显示为单点,mp:137~139℃。<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>,600 MHz)δ(ppm):0.61(3 H,s,H-18)、0.74(3 H,d,J=7.0 Hz,H-27)、0.76(3 H,d,J=6.8 Hz,H-26)、0.77(3 H,t,J=7.5 Hz,H-29)、0.85(3 H,d,J=6.5 Hz,H-21)、0.94(3H,s,H-19)、5.28(1 H,m,H-6)、3.45(3 H,m,H-3)。<sup>13</sup>C-NMR(CDCl<sub>3</sub>,150 MHz)δ(ppm):36.2(C-1)、30.6(C-2)、70.8(C-3)、41.3(C-4)、139.7(C-5)、120.7(C-6)、30.9(C-7,8)、49.1(C-9)、35.1(C-10)、20.1(C-11)、38.8(C-12)、41.3(C-13)、55.8(C-14)、23.3(C-15)、27.2(C-16)、55.1(C-17)、11.0(C-18)、18.0(C-19)、35.5(C-20)、17.8(C-21)、32.9(C-22)、25.1(C-23)、44.8(C-24)、28.2(C-25)、18.4(C-26)、18.8(C-27)、22.1(C-28)、10.8(C-29)。以上数据与文献[4-5]中报道的基本一致,将该化合物与β-谷甾醇标准品多溶剂系统展开,Rf值与标准品一致,故鉴定该化合物为β-谷甾醇。

**2.3 化合物 C** 无色片状晶体(氯仿),mp:286~287℃,易溶于吡啶、氯仿,可溶于乙酸乙酯、石油醚,微溶于丙酮、甲醇。ESI-MS *m/z*(%):425[M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>,600 MHz)δ(ppm):0.66(3 H,s,H-18)、0.84(3 H,d,J=7.1 Hz,H-27)、0.86(3 H,d,J=5.3 Hz,H-26)、0.88(3 H,t,J=7.4 Hz,H-29)、0.98(3 H,d,J=6.4 Hz,H-21)、5.05(1 H,d,J=7.7 Hz,H-1')、5.35(1 H,m,H-6)、4.56(1 H,m,H-3)。<sup>13</sup>C-NMR(CDCl<sub>3</sub>,150 MHz)δ(ppm):38.3(C-1)、34.1(C-2)、217.5(C-3)、47.5(C-4)、55.7(C-5)、19.9(C-6)、36.6(C-7)、37.5(C-8)、48.7(C-9)、35.7(C-10)、17.4(C-11)、33.5(C-12)、38.8(C-13)、157.5(C-14)、117.2(C-15)、37.66(C-16)、37.72(C-17)、48.8(C-18)、40.6(C-19)、28.8(C-20)、35.0(C-21)、33.1(C-22)、26.1(C-23)、21.5(C-24)、14.5(C-25)、29.9(C-26)、25.6(C-27)、29.8(C-28)、33.5(C-29)、21.3(C-30)。以上质谱数据与文献[6-7]基本相符,因此鉴定化合物A为蒲公英赛酮。

**2.4 化合物 D** 白色针状结晶(甲醇)。TLC用不同溶剂体系展开,均显示为单点。mp:238.0~239.5℃。ESI-MS *m/z*(%):171[M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR(MeOD,600 MHz)δ(ppm):7.04(2 H,s,H-2,6)。<sup>13</sup>C-NMR(MeOD,150 MHz)δ(ppm):121.9(C-1)、110.2(C-2,6)、146.3(C-3,5)、139.5(C-4)、170.4(-COOH)。以上数据与文献[8]基本一致,确定该化合物为没食子酸。

**2.5 化合物 E** 白色针状结晶(甲醇),难溶于水,易溶于氯仿、甲醇、乙醇、丙酮等有机溶剂。C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>,mp:257~259℃。ESI-MS *m/z*(%):227[M-H]<sup>-</sup>。<sup>1</sup>H-NMR(CD<sub>3</sub>OD,600 MHz)δ(ppm):7.24(2 H,d,J=8.7 Hz,H-2',6')、6.87(1 H,d,J=16 Hz,H-8)、6.71(1 H,d,J=16 Hz,H-7)、6.66

(2 H,d,J=8.6 Hz,H-3',5')、6.35(2 H,d,J=2.2 Hz,H-2,6)、6.07(1 H,t,J=2.1 Hz,H-4)。<sup>13</sup>C-NMR(CD<sub>3</sub>OD,150 MHz)δ(ppm):141.5(C-1)、105.9(C-2,6)、159.8(C-3,5)、102.8(C-4)、130.6(C-1')、128.9(C-2',6')、116.6(C-3',5')、158.5(C-4')、129.5(C-7)、127.1(C-8)。以上数据与文献[9]基本一致,确定该化合物为白藜芦醇。

**2.6 化合物 F** 无色棱柱状结晶(氯仿-甲醇),在甲醇中溶解,在水或乙醇中微溶,mp:232~240℃。ESI-MS *m/z*(%):328[M]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR(MeOD,600 MHz)δ(ppm):7.05(1 H,s,H-7)、4.94(1 H,d,J=10.2 Hz,H-10b)、4.05(1 H,m,H-4a)、3.88(3 H,s,OCH<sub>3</sub>)、3.71(1 H,m,H-4)、3.61(1 H,m,H-2)、3.72(1 H,m,H-11)、3.45(1 H,m,H-3)。<sup>13</sup>C-NMR(MeOD,150 MHz)δ(ppm):82.7(C-2)、71.4(C-3)、75.4(C-4)、81.5(C-4a)、165.8(C-6)、119.4(C-6a)、111.0(C-7)、152.1(C-8)、141.9(C-9)、149.5(C-10)、117.0(C-10a)、73.7(C-10b)、62.4(C-11)、61.0(-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献[10]基本一致,确定该化合物为岩白菜素。

**2.7 化合物 G** 白色粉末(甲醇),mp:286~287℃,溶于吡啶,微溶于丙酮和甲醇。ESI-MS *m/z*(%):577[M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>,600 MHz)δ(ppm):0.66(3 H,s,H-18)、0.84(3H,d,J=7.1 Hz,H-27)、0.86(3 H,d,J=5.3 Hz,H-26)、0.88(3 H,t,J=7.4 Hz,H-29)、0.98(3 H,d,J=6.4 Hz,H-21)、5.05(1 H,d,J=7.7 Hz,H-1')、5.35(1 H,m,H-6)、4.56(1 H,m,H-3)。<sup>13</sup>C-NMR(CDCl<sub>3</sub>,150 MHz)δ(ppm):36.1(C-1)、28.1(C-2)、77.1(C-3)、37.9(C-4)、139.5(C-5)、120.5(C-6)、30.8(C-7)、30.7(C-8)、48.9(C-9)、35.2(C-10)、19.9(C-11)、38.5(C-12)、41.0(C-13)、54.8(C-14)、23.1(C-15)、25.0(C-16)、55.4(C-17)、10.8(C-18)、18.6(C-19)、35.0(C-20)、17.6(C-21)、28.9(C-22)、32.8(C-23)、44.6(C-24)、25.0(C-25)、17.8(C-26)、18.0(C-27)、22.0(C-28)、10.6(C-29)、101.1(C-1')、73.9(C-2')、77.2(C-3')、70.3(C-4')、76.7(C-5)、61.4(C-6')。以上数据与文献[11-12]报道的基本一致。经过与胡萝卜苷对照品共薄层显色,在3种溶剂系统下展开行为一致,混合后测定熔点不下降,故鉴定该化合物为胡萝卜苷。

**2.8 化合物 H** 白色针状结晶(氯仿-甲醇),mp:176~178℃。ESI-MS *m/z*(%):480[M]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR(MeOD,600 MHz)δ(ppm):7.11(2 H,s,H-2',6')、7.08(1 H,s,H-7)、5.03(1 H,d,J=10.2 Hz,H-10b)、4.80(2 H,m,H-11)、4.10(1 H,m,H-4a)、3.94(1 H,m,H-2)、3.89(3 H,s,OCH<sub>3</sub>)、3.84(1 H,m,H-4)、3.55(1 H,m,H-3)。<sup>13</sup>C-NMR(MeOD,150 MHz)δ(ppm):81.3(C-2)、71.8(C-3)、75.4(C-4)、80.6(C-4a)、163.9(C-6)、119.4(C-6a)、111.2(C-7)、152.4(C-8)、142.3(C-9)、149.3(C-10)、117.0(C-10a)、74.4(C-10b)、64.6(C-11)、60.9(-OCH<sub>3</sub>)、119.8(C-1')、110.2(C-2',6')、146.6(C-3',5')、140.1(C-4')、168.2(-COOH)。以上数据与文献[13-14]基本一致,确定该化合物为11-O-没食子酰岩白菜素。

(下转第212页)

村游”,推动休闲农业健康发展。在天堂、黄尾、河图、五河、温泉、响肠等乡镇利用景区,开展农耕体验,采摘等活动,并开发销售旅游农产品;在头陀、包家、青天、巍岭、石关、主簿等高海拔乡镇开发避暑度假、健康养老项目;在店前、冶溪、菖蒲等乡镇结合天仙河旅游、司空山佛教文化、自然生态文化,发展茶叶等休闲文化旅游业;在和平、来榜、毛尖山、白帽等地都可以结合美丽乡村建设发展富有特色的生态观光休闲农业。

#### 4 结语

综上所述,笔者认为大力发展生态农业,是全面贯彻党的十八大、十九大和习近平总书记系列重要讲话精神,符合国家及省农业发展要求,是协调人与自然的关,保护农业生态环境,保障农产品质量安全的重要途径。岳西县只有依托丰富的特色农业资源,充分发挥生态优势,以龙头企业、农民专业合作社、家庭农场、种植大户等新型农业经营主体带动,实施绿色生产技术,坚持以市场为导向,通过品牌引领、循环利用和三产融合,探索构建产品生态圈、企业生态圈和

产业生态圈三位一体的现代生态农业产业化发展模式,才能实现农业增效、农民增收和农业可持续发展。

#### 参考文献

- [1] 发展生态循环农业 推进现代农业建设.[EB/OL].[2018-06-10].<http://www.nyfz.org.cn/xunhuan/xinwen/424.html>.
- [2] 黄雄壮,蒋友斌.发展生态循环农业 推进新农村建设——桐城市发展生态循环农业的调查与思考[J].安徽农学通报,2012,18(3):23-24.
- [3] 邓首春,陈东立.朝阳有机农业发展之探[N].朝阳日报,2011-11-21(003).
- [4] 王鹏升.永乐乡城郊型生态旅游文化建设的调查与思考[C]//姜大仁,柳成焱,黄光骢,等.贵阳市经济社会文化大发展与生态文明建设理论研究.成都:西南交通大学出版社,2010.
- [5] 王鹏升.因地制宜促进生态旅游文化建设[N].贵州日报,2010-08-05(011).
- [6] 孔凡标,沈军,臧峥峰.当前生态循环农业的发展模式及存在问题[J].现代农业,2014(3):64-66.
- [7] 孙林.南明区永乐乡发展生态农业的思考[J].中国乡镇企业,2010(10):32-34.
- [8] 关于加快发展生态循环农业的建议[EB/OL].(2013-12-02)[2018-06-10].[http://www.360doc.com/content/13/1202/15/13705648\\_333887334.shtml](http://www.360doc.com/content/13/1202/15/13705648_333887334.shtml).

(上接第166页)

#### 3 讨论与结论

瑶族医药是我国传统医药的重要组成部分,四方钻是瑶族常用草药。池翠云等<sup>[2]</sup>采用硅胶柱色谱、薄层色谱、重结晶等化学方法进行分离纯化,从四方藤中分离并鉴定到β-谷甾醇、岩白菜素、11-O-没食子酰岩白菜素、11-O-(4-hydroxy benzoyl) bergenin、没食子酸以及胡萝卜苷共6种化合物。该研究通过硅胶色谱、聚酰胺色谱分离纯化,不仅得到上述6种化合物,另外还得到1种新的化合物——熊果酸,这是首次在四方钻中报道该化合物。熊果酸是存在于天然植物中的一种三萜类化合物,很多研究表明,熊果酸及五环三萜同类物具有抗HIV、抗肿瘤、抗糖尿病、抗病毒、抗菌、增强免疫功能以及降血脂等生物学活性<sup>[15]</sup>。

#### 参考文献

- [1] 广西壮族自治区卫生厅.广西中药志:第二辑[S].南宁:广西人民出版社,1963:138.
- [2] 池翠云,王锋,雷婷,等.瑶药四方藤化学成分研究[J].中药材,2010,33(10):1566-1568.
- [3] 任爱梅.异叶青兰化学成分及抑菌活性研究[J].中草药,2011,42(4):

664-667.

- [4] 尉耀元.秦岭岩白菜的化学成分(D)[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(9):154-156.
- [5] 庄鹏宇,付文卫,谭昌恒,等.醉魂藤的化学成分研究(英文)[J].天然产物研究与开发,2009,21(6):963-965.
- [6] 陈海生,徐一新,杨先启,等.中药黄檀木根皮化学成分研究[J].第二军医大学学报,2002,23(11):1274-1275.
- [7] 陈爱民,吴培云,刘劲松,等.紫藤瘤化学成分研究[J].安徽医药,2012,16(1):18-20.
- [8] 汪念,朱斌,绳慧峰,等.尼泊尔酸模的化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(19):132-136.
- [9] 堵年生,屈兰,热娜·卡斯木,等.新疆葡萄籽化学成分的研究[J].新疆医科大学学报,2003,26(6):577-578,580.
- [10] 吴彤,李燕,孔德云,等.深绿山龙眼叶的化学成分[J].中国药学杂志,2010,45(16):1224-1227.
- [11] 黄峰,崔红花,于治成,等.狗肝菜的化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(1):90-91.
- [12] 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.
- [13] SAIJO R, NONAKA G, NISHIOKA I. Gallic acid esters of bergenin and norbergenin from *Mallotus japonicus*[J].Phytochemistry, 1990,29(1):267-270.
- [14] 章为,徐康平,曾光尧,等.二色紫金牛化学成分研究[J].中国药学杂志,2007,42(9):656-658.
- [15] 阎昭.天然抗肿瘤药物熊果酸脂质体早期临床研究[D].天津:天津大学,2012.

#### 名词解释

扩展学科扩散指标:指在统计源期刊范围内,引用该刊的期刊数量与其所在学科全部期刊数量之比。

$$\text{扩展学科扩散指标} = \frac{\text{引用刊数}}{\text{所在学科期刊数}}$$

扩展学科扩散指标:指期刊所在学科内,引用该刊的期刊数占全部期刊数量的比例。

$$\text{扩展学科扩散指标} = \frac{\text{所在学科内引用被评价期刊的数量}}{\text{所在学科期刊数}}$$

扩展被引半衰期:指该期刊在统计当年被引用的全部次数中,较新一半是在多长一段时间内发表的。被引半衰期是测度期刊老化速度的一种指标,通常不是针对个别文献或某一组文献,而是对某一学科或专业领域的文献的总和而言的。

扩展H指数:指该期刊在统计当年被引的论文中,至少有h篇论文的被引频次不低于h次。

来源文献量:指来源期刊在统计当年发表的全部论文数,它们是统计期刊引用数据的来源。