

芫菁还阳参中倍半萜类成分的分离和鉴定

赵爱华^{1*}, 彭小燕², 唐传劲¹, 张荣平¹

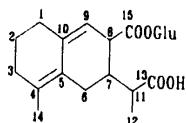
(1. 昆明医学院天然药物化学教研室, 云南 昆明 650031; 2. 云南中医学院中药系, 云南 昆明 650051)

摘要: 目的 对芫菁还阳参(*Crepis napi* Franch) Babc.) 根的化学成分进行研究。方法 采用溶剂分配及各种色谱方法进行分离纯化。得到 2 个化合物, 用¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT, ¹H-¹H COSY, HMQC, HMBC, ROESY, MS 和 UV 光谱技术进行鉴定。结果 得到 2 个萜类化合物, 分别是 $\Delta^{4,9}$ -二烯-重排桉烷-13,15-二羧酸-15- β -D-葡萄糖苷, 命名为还阳参酸苷(napiferoside, I) 和蒲公英醋酸酯(acetate taraxasterol, II)。结论 化合物 I 为一新的重排桉烷型倍半萜苷类化合物。

关键词: 芫菁还阳参; 倍半萜类; 还阳参酸苷; 蒲公英醋酸酯

中图分类号: R284.1; R284.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2000)06-0442-03

芫菁还阳参(*Crepis napi* Franch) Babc.) 为菊科还阳参属植物, 该属植物中有 8 种有药用价值, 芫菁还阳参主要分布在云南。《滇南本草》记载有滋阴润肺、止肺热咳嗽; 除虚癆发烧; 攻疮毒, 利小便、止咳血等功效^[1]。云南彝族、白族、纳西族等少数民族广泛用其治疗食积腹胀、胃肠绞痛、泻痢等疾病。《云南省药品标准》(74) 中也收集了此药材。但对还阳参属药用植物进行基础药学研究甚少, 迄今对芫菁还阳参的化学成分仅报道^[2]从中分离出 1 个三萜化合物。为了对该药材进行系统的基础药学研究, 作者对其化学成分进行了研究, 现报道部分结果。从乙醇提取物中的氯仿部分, 分离得到 1 个新的倍半萜酸苷化合物(I) 和 1 个三萜类化合物(II)。其中化合物 I 具有 $\Delta^{4,9}$ -二烯-重排桉烷-13,15-二羧酸-15- β -D-葡萄糖苷结构, 为一新的桉烷型倍半萜苷化合物, 命名为还阳参酸苷(napiferoside, 见下图); 化合物 II 为蒲公英醋酸酯(acetate taraxasterol)。



Napiferoside

化合物 I 浅色无定型粉末, mp 176 ~ 178 °C。Molish 反应呈阳性, 提示为一苷类化合物。FAB-MS(positive) 给出 $(M+H)^+$ 为 427.1968, 分子式为 $C_{21}H_{30}O_9$ 。另外, 元素分析 C 59.46%, H 7.21%, 也符合分子式 $C_{21}H_{30}O_9$, 不饱和度为 7。¹³C NMR 显示在 δ 110 ~ 180 处有 6 个峰。其中有 2 个羰基峰 δ 178.72 和 δ 166.68; 其余 4 个构成 2 个双键, 且 DEPT 显示其中 1 个为三取代双键, 另 1 个为四取代双键。另外, 在 δ 60 ~ 100 处出现 1 个葡萄糖基的典型吸收峰, 进一步证明此化合物为葡萄糖苷类; 由此, 从不饱和度的计算及碳总个数很容易推知, I 为一双环型的倍半萜苷类化合物。溴酚蓝化学反应为阳性, 结合化学位移显示的数值, 都证实有游离羧基存在。而 δ 166.68 处的羰基位于稍高场, 有可能是成酯或成酯苷所致, 而分子中已证明有葡萄糖基的存在, 且糖端基峰为 δ 95.81, 故推断 I 为酯苷。FAB-MS 给出分子离子峰 m/z 427 为 $[M+H]^+$ 以及碎片峰 m/z 265 $[M+H-(glc-H_2O)]^+$ 和 219 (265 - HCOOH), 验证了我们所推导的分子中含有 1 个游离羧基, 1 个葡萄糖酯苷的正确性, 且由于糖端基碳 δ 95.81 在 HMQC 谱中与 δ 6.36 (H, d, J = 8 Hz) 质子相关, 故为 β -D-葡萄糖苷。从¹³C NMR 及 DEPT 可知, 除葡萄糖基外, 分子含 2 个甲基, 4 个亚甲基, 4 个次甲基及 5 个季碳信号(包括 2 个羰基峰), 故分子骨架为桉烷型或重排桉烷型倍半萜。但在¹³C NMR 中未发现有饱和季碳的存在, 这样就排除了桉烷型骨架的可能性, 即 I 只可能为重排桉烷型的骨架。如 2 个羰基, 1 个在 13 位, 1 个在 15 位,

则三取代双键位置可能在 C-3 与 C-4, C-5 与 C-6, C-6 与 C-7, C-8 与 C-9 及 C-9 与 C-10 之间, 而从 HMQC 和 HMBC 图谱看, 季碳 δ 148.41 和叔碳 δ 126.99 与 2.18 处的饱和亚甲基氢质子均有相关点, 且叔碳 δ 126.99 上所连接的 H 质子 4.76 为 d 峰, $J=3.2$ Hz, 证明有 1 个邻近 H 质子存在, 即与另一叔碳相连接。故三取代双键只可能在 C-9 与 C-10 之间。而四取代双键的位置在 C-4 与 C-5, C-7 与 C-11 及 C-7 与 C-8 之间, HMBC 提示, 此双键上的两个季碳 δ 142.05 和 131.52 均与 δ 1.71 处的甲基氢有相关点, 且甲基氢同时与三取代双键上的两个碳也有相关点, 因此, 四取代双键唯一的位置只可能在 C-4 与 C-5 之间, 与三取代双键形成共轭。紫外吸收光谱中出现 222 nm 的强峰, 验证了此共轭体系的存在。另外, HMQC 显示, δ 17.12 处的甲基碳与 1.71 氢质子相关, δ 13.38 处的甲基碳与 1.11 氢质子相关, 且 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 中, δ 2.14 处的质子与 1.11 的甲基氢质子有偶合关系, 甲基峰为 d 峰, $J=6.5$ Hz。而 HMBC 谱中还出现了游离羧基的碳 δ 178.72 与 2.14 质子的相关点; δ 166.68 的羰基则与糖端基质子 6.36 相关。这样就归属了两个甲基和游离羧基的位置, 以及成酯的羧基只可能在 C-15 位。故化合物 I 的结构为 $\Delta^{4,9}$ -二烯重排桉烷-13, 15-二羧酸-15- β -D-葡萄糖苷, 此化合物为重排桉烷型的新化合物, 命名为还阳参酸苷(napiferoside)。

化合物 II 白色无定型粉末, mp 226 ~ 228 °C。Lieberman - Burchard 反应呈阳性, 提示为三萜类化合物。质谱给出分子量为 468, 结合元素分析, 确定分子式为 $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$ 。 ^{13}C NMR 谱中有 δ 170.88 和 δ 21.26 峰, 提示有乙酰基 CH_3COO 存在; 另外, 还有环外双键 δ 107.16 和 δ 145.51 存在。II 经碱水解后, 与蒲公英醇标准品进行薄层色谱对照, 两者有相同的 R_f 值。确定此化合物为蒲公英醋酸酯(acetate taraxasterol)。

实 验 部 分

熔点用显微熔点 $\times 4$ 型仪测定, 温度未校正。NMR 用 Bruker AM-400 型核磁共振仪测定, CDCl_3 或 $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ 为溶剂, TMS 为内标。MS 用 Finnigan-4510 型质谱仪测定。柱色谱用硅胶(100 ~ 160 和 200 ~ 300 目)及薄层色谱用硅胶均为青岛海洋化工厂生产; 显色剂为 5% H_2SO_4 。

药材芜菁还阳参采自丽江地区(1997 年 8 月);

标本由昆明医学院生药教研室张荣副教授鉴定。

1 提取分离

干药材粗粉 3 kg, 用 95% EtOH 回流提取 3 次, 每次 3.5 h。合并提取液, 回收 EtOH, 在得到的流浸膏中加入 3 倍量水, 然后分别用 CHCl_3 、水饱和 *n*-BuOH 萃取 3 次, 得到 CHCl_3 部份和 *n*-BuOH 部份。取 CHCl_3 部份进行硅胶柱色谱, 用石油醚 - Me_2CO (9:1, 8:2, 7:3, 6:4) 不同比例梯度洗脱, 每份收集 200 mL, 共 229 份。从 1 ~ 6 份中得白色沉淀, 经重结晶得化合物 II。从 150 ~ 190 份 6.48 g 经反复硅胶低压柱色谱, 用 CHCl_3 - MeOH 及 EtOAc - MeOH 进行洗脱, 得化合物 I, 共 540 mg。

2 鉴定

化合物 I 浅黄色无定型粉末, 得率 0.018%, mp 176 ~ 178 °C, FAB-MS 给出 $(\text{M} + \text{H})^+$ 427.1968 (计算值: 427.1968), 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_9$, 元素分析 C 59.46%, H 7.21% (计算值: C 59.02%, H 7.26%)。Molish 反应为阳性, 溴酚蓝试剂反应为阳性。 $\text{UV}\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 222。FAB-MS (阳性) m/z: 427 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (10), 265 $[\text{M} + \text{H} - (\text{glc} - \text{H}_2\text{O})]^+$ (100), 247 $(265 - \text{H}_2\text{O})^+$ (22), 219 $(265 - \text{HCOOH})^+$ (44), 173 (9), 145 (32), 119 (5), 105 (7), 81 (13)。 ^{13}C NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 及 DEPT δ_{C} : 39.51 (C-1, t), 26.99 (C-2, t), 36.82 (C-3, t), 142.05 (C-4, s), 131.52 (C-5, s), 30.72 (C-6, t), 42.56 (C-7, d), 54.67 (C-8, d), 126.99 (C-9, d), 148.41 (C-10, s), 50.41 (C-11, d), 13.38 (C-12, q), 178.72 (C-13, s), 17.12 (C-14, q), 166.68 (C-15, s); glc 95.81 (C-1, d), 79.46 (C-2, d), 74.26 (C-3, d), 71.38 (C-4, d), 78.87 (C-5, d), 62.48 (C-6, t)。 ^1H NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ_{H} : 2.18 (2H, m, 1-H), 1.74 (2H, m, 2-H), 2.23 (2H, m, 3-H), 2.28 (2H, m, 6-H), 2.22 (1H, m, 7-H), 2.60 (1H, m, 8-H), 4.76 (1H, d, $J=3.2$ Hz, 9-H), 2.14 (1H, m, 11-H), 1.11 (3H, d, $J=6.5$ Hz, 12-H), 1.71 (3H, s, 14-H)。

化合物 II 白色无定型粉末, 得率 0.04%, mp 226 ~ 228 °C, Lieberman - Burchard 反应为阳性。元素分析 $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$, 实测值 %: C 82.16, H 11.51, O 6.33; 计算值 %: C 82.05, H 11.11, O 6.84。EI-MS m/z: 468 (M^+) (50), 453 $[\text{M} - \text{CH}_3]^+$ (10), 408 $[\text{M} - \text{ACOH}]^+$ (9), 393 (9), 289 (31), 249 (12), 229 (20), 204 (31), 189 (69), 175 (17), 161 (16)。 ^1H NMR (CDCl_3) δ : 4.51 (2H, dd, $J=2.6$ Hz, 30-H), 2.02 (3H, s, $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 1.05 (3H, s, 23-H), 0.91

(3 H, d, J = 2.4 Hz, 29-H), 1.03, 0.98, 0.89, 0.88, 0.85 (各 3 H, s, 24-H, 25-H, 26-H, 27-H, 28-H)。
 ^{13}C NMR (CDCl₃) δ : 81.02 (C-3, d), 145.51 (C-20, s), 107.16 (C-30, t), 170.88 (C=O, s)。

参考文献:

- [1] 兰茂著. 滇南本草[M]. 第1卷. 昆明: 云南人民出版社, 1975. 369 - 371.
 [2] 梁钜忠, 陈群. 大一支箭中的一个三萜成分[J]. 中草药, 1982, 13: 8.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SESQUITERPENES FROM *CREPIS NAPIFERA*

ZHAO Ai Hua¹, PENG Xiao Yan², TANG Chuan Jin¹, ZHANG Rong Ping¹

(1. Department of Natural Products Chemical Research, Kunming Medical College, Kunming 650031, China; 2. Yunnan Traditional Chinese Medicine Institute, Kunming 650051, China)

ABSTRACT: AIM In order to obtain active compounds of the roots of *Crepis napi fera* (Franch) Babo (Compositae), its chemical constituents were studied. **METHODS** Solvent partition and gel column chromatography, recrystallization and spectrum were used to extract, isolate and identify the constituents. **RESULTS** One sesquiterpene (**I**) and one triterpene (**II**) were obtained. (**I**) and (**II**) were elucidated as $\Delta^{4,9}$ -dien-eudesmane-13,15-dicarboxylic acid-15- β -D-glucopyranoside (**I**) and acetate taraxasterol (**II**) respectively, based on ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^1H - ^1H COSY, HMBC, ROESY, MS and IR spectroscopic data and literature data. **CONCLUSION** Compound **I** is a new eudesmane sesquiterpene glycoside named as napiferoside.

KEY WORDS: *Crepis napi fera*; sesquiterpene; napiferoside; acetate taraxasterol