

朝鲜白头翁非皂苷类化学成分研究

于宗贵, 刘建宇, 宫益霞, 樊文豪, 马 静, 周 楠, 许永男*

沈阳药科大学制药工程学院 教育部基于靶点的药物设计与研究重点实验室, 辽宁 沈阳 110016

摘要: **目的** 对朝鲜白头翁 *Pulsatilla cernua* 根中非皂苷类成分进行研究。**方法** 采用开放硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、循环制备高效液相色谱等进行分离纯化, 通过核磁共振、质谱等波谱手段对化合物进行结构鉴定。**结果** 从朝鲜白头翁干燥根 75%乙醇提取物中分离得到 15 个化合物, 分别鉴定为 5-羟基-2, 2-二甲基-苯并二氢吡喃-6-醛 (1)、白头翁醌 (2)、橙黄胡椒酰胺乙酸酯 (3)、豆甾醇 (4)、棕榈酸 (5)、橙黄胡椒酰胺 (6)、松脂素 (7)、4"-甲氧基罗汉松脂素 (8)、新海胆灵 A (9)、(2*S*, 3*S*, 4*R*, 8*E*)-2-[(2'*R*)-2'-羟基十六烷酸酰胺]-8-十八烯-1, 3, 4-三醇 (10)、5*R*-5-羟甲基-2(3*H*)-呋喃酮 (11)、咖啡酸 (12)、6-去羟基迷迭香酸甲酯 (13)、常春藤酮酸 (14)、5-羟基-6, 8-二甲氧基香豆素 (15)。**结论** 化合物 1 为首次分离得到的天然产物, 化合物 3、6、8~10、13、15 为首次从本属植物中分离得到, 化合物 7 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 朝鲜白头翁; 非皂苷类; 橙黄胡椒酰胺乙酸酯; 4"-甲氧基罗汉松脂素; 新海胆灵 A; 咖啡酸

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)23-3264-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.23.003

Chemical constituents of non-saponin from *Pulsatilla cernua*

YU Zong-gui, LIU Jian-yu, GONG Yi-xia, FAN Wen-hao, MA Jing, ZHOU Nan, XU Yong-nan

Key Laboratory of Structure-Based Drug Design Discovery, Ministry of Education, School of Pharmaceutical Engineering, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: Objective To isolate and identify the chemical constituents from the roots of *Pulsatilla cernua*. **Methods** Compounds were isolated by various kinds of column chromatographies on silica gel, Sephadex LH-20, and recycling preparative HPLC, and their structures were elucidated by the physicochemical characters and spectral analysis. **Results** Fifteen chemical constituents were obtained and identified as 5-hydroxy-2, 2-dimethyl-2H-chromene-6-carbaldehyde (1), pulsquinone (2), aurantiamide acetate (3), stigmasterol (4), hexadecanoic acid (5), aurantiamide (6), pinoselin (7), buplerol (8), neoechinulin A (9), (2*S*, 3*S*, 4*R*, 8*E*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxypalmitoylamino]-8-octadecene-1, 3, 4-triol (10), 5*R*-dihydro-5-hydroxymethyl-2(3*H*)-furanone (11), caffeic acid (12), methyl 6-dehydroxyl rosmarinic acid (13), hederagonic acid (14), and 5-hydroxy-6, 8-dimethoxycoumarin (15), respectively. **Conclusion** Compound 1 is a new natural product, compounds 3, 6, 8—10, 13, and 15 are isolated from the plants in *Pulsatilla* Adans. for the first time, and compound 7 is isolated from this plant for the first time.

Key words: *Pulsatilla cernua* (Thunb.) Bercht et Opiz.; non-saponin; aurantiamide acetate; buplerol; neoechinulin A; caffeic acid

朝鲜白头翁 *Pulsatilla cernua* (Thunb.) Bercht. et Opiz. 为毛茛科白头翁属多年生草本植物, 又名毛姑朵花, 主要分布于我国黑龙江、吉林、辽宁等地区, 资源十分丰富。本品作为白头翁的习用品在东北地区广泛使用。白头翁始载于《神农本草经》, 列于下品。性寒, 味苦, 归胃、大肠经。具有清热解毒、凉血止痢的功效^[1]。本课题组前期针对朝鲜白

头翁三萜皂苷类成分进行了系统地研究^[2-4], 发现了一系列具有神经保护作用的化合物。为进一步明确朝鲜白头翁的物质基础, 本课题组拟对朝鲜白头翁的非皂苷类化学成分进行深入研究, 以期对朝鲜白头翁药用资源的综合开发利用提供理论依据。本实验对石油醚和醋酸乙酯萃取部位采用多种色谱技术进行分离纯化, 共得到 15 个化合物, 分别鉴定为 5-

收稿日期: 2013-06-26

作者简介: 于宗贵 (1987—), 男, 山东省淄博市人, 硕士研究生, 主要研究方向为中药有效成分的分离鉴定及生物活性研究。

Tel: (024)23986449 E-mail: yuzonggui@126.com

*通信作者 许永男, 男, 朝鲜族, 吉林省人, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为活性天然产物及其衍生物的合成和生物活性研究/活性引导的天然产物分离与生药质量标准研究/有机合成。Tel: (024)23986445 E-mail: ynxucn@yahoo.com.cn

羟基-2, 2-二甲基-苯并二氢吡喃-6-醛 (5-hydroxy-2, 2-dimethyl-2H-chromene-6-carbaldehyde, **1**)、白头翁醌 (pulsatiquinone, **2**)、橙黄胡椒酰胺乙酸酯 (aurantiamide acetate, **3**)、豆甾醇 (stigmasterol, **4**)、棕榈酸 (hexadecanoic acid, **5**)、橙黄胡椒酰胺 (aurantiamide, **6**)、松脂素 (pinosresinol, **7**)、4"-甲氧基罗汉松脂素 (buplerol, **8**)、新海胆灵 A (neochinulin A, **9**)、(2*S*, 3*S*, 4*R*, 8*E*)-2-[(2'*R*)-2'-羟基十六烷酸酰胺]-8-十八烯-1, 3, 4-三醇 [(2*S*, 3*S*, 4*R*, 8*E*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxypalmitoylamino]-8-octadecene-1, 3, 4-triol, **10**]、5*R*-5-羟甲基-2(3*H*)-呋喃酮 [5*R*-dihydro-5-hydroxymethyl-2(3*H*)-furanone, **11**]、咖啡酸 (caffeic acid, **12**)、6-去羟基迷迭香酸甲酯 (methyl 6-dehydroxyl rosmarinate, **13**)、常春藤酮酸 (hederagonic acid, **14**)、5-羟基-6, 8-二甲氧基香豆素 (5-hydroxy-6, 8-dimethoxycoumarin, **15**)。其中, 化合物 **1** 为首次分离得到的天然产物, 化合物 **3**、**6**、**8**~**10**、**13**、**15** 为首次从本属植物中分离得到, 化合物 **7** 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

LC-9103 Recycling Preparative HPLC (日本分析工业株式会社)、Bruker ARX-600 核磁共振仪、Waters Quattro Micro API 三重四极杆串联质谱仪 (ESI 源) (美国 Waters 公司)、RRH-250 粉碎机 (欧凯莱芙实业公司)、7N-0.3/60 提取浓缩机组 (瑞安凯迪药化机械有限公司)、241MC 旋光仪 (美国 Perkin-Elmer 公司)、599B 红外光谱仪 (美国 Perkin-Elmer 公司)、MP-S3 显微熔点测定仪 (日本 Yanaco 公司)、752S 紫外可见分光光度计 (上海第三分析仪器厂)。薄层色谱硅胶、柱色谱硅胶 (200~300 目) (青岛海洋化工有限公司), 色谱纯试剂 (天津康科德试剂厂), 分析纯试剂 (天津市大茂化学试剂厂)。

朝鲜白头翁于 2011 年 11 月采自辽宁省抚顺市清源县, 由沈阳药科大学药用植物教研室孙启时教授鉴定为朝鲜白头翁 *Pulsatilla cernua* (Thunb.) Bercht et Opiz. 的干燥根。

2 提取与分离

朝鲜白头翁干燥根 10 kg, 粉碎后用 3 倍量 75% 乙醇浸泡 12 h。60 °C 回流提取 3 次, 每次 2 h。提取液浓缩后蒸至无醇味, 依次用等量的石油醚、醋酸乙酯各萃取 4 次, 分别回收溶剂得浸膏 10.0、59.6 g。石油醚萃取部位经开放硅胶柱色谱, 用石油醚-

醋酸乙酯 (100:0→0:100) 梯度洗脱, 紫外荧光及 10% 浓硫酸显色跟踪检测, 合并 R_f 值相同的组分, 收集各流分, 共得到 17 个流分 (Fr. 1~17)。其中 Fr. 3 用开放硅胶柱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (100:0→0:100) 梯度洗脱, 再经制备薄层 (正己烷-醋酸乙酯 5:1) 分离纯化得到化合物 **1** (5.2 mg)。Fr. 7 用开放硅胶柱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (100:0→0:100) 梯度洗脱, 再经制备薄层 (正己烷-醋酸乙酯 2:1) 分离纯化得到化合物 **2** (15.4 mg)。Fr. 12 用开放硅胶柱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (100:0→0:100) 梯度洗脱, 得到化合物 **3** (152.0 mg)。醋酸乙酯萃取部位 2 经硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (100:0→0:100) 梯度洗脱, 利用 TLC 紫外荧光及 10% 浓硫酸显色跟踪检测, 合并 R_f 相同的组分, 收集各流分, 共得到 20 个流分 (Fr. 1~20)。其中 Fr. 6 用开放硅胶柱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (100:0→0:100) 梯度洗脱, 得到化合物 **4** (17.1 mg)、**5** (12.3 mg)。Fr. 7 经开放硅胶柱色谱, 石油醚-丙酮 (100:0→0:100) 梯度洗脱, 再经循环制备 HPLC (ODS 柱, 甲醇-乙腈 3:2) 分离纯化得到化合物 **6** (100.1 mg)、**7** (33.2 mg)、**8** (16.4 mg)、**14** (8.2 mg)、**15** (11.6 mg)。Fr. 8 经硅胶柱色谱 (石油醚-醋酸乙酯 100:0→0:100 梯度洗脱)、循环制备 HPLC (ODS 柱, 甲醇-乙腈 3:2) 分离纯化得到化合物 **9** (4.2 mg)。Fr. 11 用开放硅胶柱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (100:0→0:100) 梯度洗脱得到化合物 **10** (15.6 mg)。Fr. 12 经开放硅胶柱 (石油醚-丙酮 100:0→0:100 梯度洗脱)、循环制备 HPLC (ODS 柱, 甲醇-乙腈 3:2) 分离纯化得到化合物 **11** (7.1 mg)、**12** (1.25 g)、**13** (15.2 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色油状物, 三氯化铁反应显墨绿色; mp 45~47 °C; IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 2 974, 1 656, 1 432, 1 377, 1 336, 1 300, 1 255, 1 217, 900; ESI-MS *m/z*: 202.9 [M-H]⁻; 分子式为 C₁₂H₁₂O₃。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.39 (2H, s, H-11, 5-OH), 7.21 (1H, d, *J* = 10.0 Hz, H-4), 6.94 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-8), 6.74 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-7), 5.87 (1H, d, *J* = 10.0 Hz, H-3), 1.30 (6H, s, H-12, 13); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 193.7 (C-11), 156.7 (C-5), 145.4 (C-9), 134.7 (C-3), 125.1 (C-8), 121.1 (C-10), 118.9 (C-4), 117.5 (C-7), 116.6 (C-6), 75.3 (C-2), 27.3 (C-12, 13)。上述数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化

合物 **1** 为 5-羟基-2,2-二甲基-苯并二氢吡喃-6-醛。

化合物 **2**: 橙黄色针状晶体 (二氯甲烷); mp 42~44 °C; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 284, 417; IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 2 946, 2 916, 1 662, 1 637, 1 612, 1 449, 1 437, 1 265, 1 033; 分子式为 $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.21 (1H, d, $J = 11.7$ Hz, H-10), 6.91 (1H, d, $J = 11.7$ Hz, H-9), 5.35 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, H-7), 4.02 (3H, s, H-14), 3.99 (3H, s, H-13), 2.68 (2H, d, $J = 6.8$ Hz, H-6), 1.91 (3H, s, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 183.8 (C-4), 183.1 (C-1), 145.7 (C-3), 144.3 (C-2), 140.5 (C-9), 136.6 (C-8), 133.8 (C-11), 128.2 (C-5), 124.5 (C-10), 120.6 (C-7), 61.3 (C-14), 61.2 (C-13), 23.8 (C-6), 21.2 (C-12)。上述数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **2** 为白头翁醌。

化合物 **3**: 白色粉末; mp 179~181 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{26} -32.6^\circ$ (c 1.4, CHCl_3); IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 312, 1 727, 1 660, 1 631, 1 580, 1 264, 745, 697; ESI-MS m/z : 445.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.71 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, H-3', 7'), 7.53 (1H, m, H-5'), 7.43 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, H-4', 6'), 7.33~7.21 (5H, m, H-15~19), 7.16 (3H, m, H-8, 10, 12), 7.07 (2H, m, H-9, 11), 6.74 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1), 5.96 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-4), 4.77 (1H, m, H-2), 4.36 (1H, m, H-5), 3.93 (1H, dd, $J = 5.0, 11.3$ Hz, H-20a), 3.82 (1H, dd, $J = 4.5, 11.3$ Hz, H-20b), 3.23 (1H, dd, $J = 8.4, 13.5$ Hz, H-13), 3.06 (1H, dd, $J = 8.4, 13.5$ Hz, H-13), 2.75 (2H, m, H-6), 2.02 (3H, s, H-2"); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 170.8 (C-1'), 170.3 (C-3), 167.1 (C-1'), 136.7 (C-14), 136.6 (C-7), 133.7 (C-2'), 131.9 (C-5'), 129.3 (C-16, 18), 129.1 (C-9, 11), 128.8 (C-8, 12), 128.7 (C-4', 6'), 128.6 (C-15, 19), 127.2 (C-17), 127.1 (C-3', 7'), 126.8 (C-10), 64.6 (C-20), 55.0 (C-2), 49.5 (C-5), 38.5 (C-13), 37.5 (C-6), 20.8 (C-2")。上述数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **3** 为橙黄胡椒酰胺乙酸酯。

化合物 **4**: 白色针状晶体 (二氯甲烷); mp 143~145 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{22} -74.5^\circ$ (c 2.2, CHCl_3); 10%浓硫酸乙醇溶液显紫红色; 与豆甾醇对照品共薄层, 在多种溶剂系统中展开, Rf 值相同, 混合熔点不下降, 故鉴定化合物 **9** 为豆甾醇。

化合物 **5**: 白色粒状结晶 (二氯甲烷); 溴甲酚绿乙醇溶液显黄色; mp 62~63 °C; ESI-MS m/z : 255.1 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 2.35

(2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-2), 1.63 (2H, m, H-15), 1.25 (24H, m, H-3~14), 0.88 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-16); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 179.7 (C-1), 34.0 (C-2), 31.9 (C-3), 29.7 (C-4~8), 29.6 (C-9), 29.4 (C-10), 29.4 (C-11), 29.3 (C-12), 29.1 (C-13), 24.7 (C-14), 22.7 (C-15), 14.1 (C-16)。上述数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **5** 为棕榈酸。

化合物 **6**: 白色粉末; mp 181~183 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -16.8^\circ$ (c 0.13, MeOH); IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 284, 2 932, 1 721, 1 654, 1 632, 1 533, 1 490, 1 441, 1 384, 1 258, 1 030, 915, 745, 695; ESI-MS m/z : 425.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 分子式为 $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.69 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, H-3', 7'), 7.49 (1H, m, H-5'), 7.41 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, H-4', 6'), 7.33~7.21 (5H, m, H-15~19), 7.13 (3H, m, H-8, 10, 12), 7.07 (2H, m, H-9, 11), 6.81 (1H, m, H-1), 6.06 (1H, m, H-4), 4.78 (1H, m, H-2), 4.09 (1H, m, H-5), 3.43 (2H, m, H-6), 3.23 (1H, dd, $J = 8.5, 13.7$ Hz, H-13a), 3.04 (1H, dd, $J = 8.5, 13.7$ Hz, H-13b), 2.77 (1H, dd, $J = 7.2, 13.8$ Hz, H-20a), 2.68 (1H, dd, $J = 7.2, 13.8$ Hz, H-20b); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 170.9 (C-3), 167.3 (C-1'), 137.4 (C-14), 136.7 (C-7), 133.5 (C-2'), 131.9 (C-5'), 129.4 (C-16, 18), 129.2 (C-9, 11), 128.8 (C-8, 12), 128.6 (C-4', 6'), 128.5 (C-15, 19), 127.2 (C-17), 127.1 (C-3', 7'), 126.6 (C-10), 63.4 (C-20), 55.2 (C-2), 52.9 (C-5), 38.7 (C-13), 36.8 (C-6)。上述数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **6** 为橙黄胡椒酰胺。

化合物 **7**: 为黄色油状物; 三氯化铁显墨绿色; $[\alpha]_{\text{D}}^{14} +74.5^\circ$ (c 0.11, EtOH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 210, 232, 283; IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 393, 1 615, 1 514; ESI-MS m/z : 381.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 6.88 (2H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2', 2''), 6.81 (2H, dd, $J = 1.5, 8.1$ Hz, H-6', 6''), 6.76 (2H, d, $J = 1.5$ Hz, H-5', 5''), 4.72 (2H, d, $J = 4.2$ Hz, H-2, 6), 4.22 (2H, dd, $J = 6.8, 9.0$ Hz, H-4a, 8a), 3.86 (2H, dd, $J = 3.4, 9.0$ Hz, H-4b, 8b), 3.82 (6H, s, C-7', 7''), 3.08 (2H, m, H-1, 5); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 146.9 (C-3', 3''), 145.3 (C-4', 4''), 132.8 (C-1', 1''), 118.9 (C-5', 5''), 114.5 (C-6', 6''), 108.9 (C-2', 2''), 85.9 (C-2, 6), 71.6 (C-4, 8), 55.9 (C-7', 7''), 54.0 (C-1, 5)。上述数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **7** 为松脂素。

化合物 **8**: 黄色油状物; 三氯化铁显墨绿色; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} +23.6^\circ$ (c 0.24, CHCl_3); ESI-MS m/z : 395.16 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_6$; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 6.73 (1H, m, H-2''), 6.58 (2H, m, H-5'', 6''), 6.55 (1H, m, H-5'), 6.45 (1H, m, H-6'), 6.38 (1H, m, H-2'), 4.09 (2H, dd, $J = 6.9, 9.0$ Hz, H-4), 2.91 (1H, dd, $J = 5.2, 14.1$ Hz, H-5a), 2.81 (1H, dd, $J = 6.8, 14.1$ Hz, H-6a), 2.54~2.38 (4H, m, H-2, 3, 5b, 6b), 3.74 (3H, s, H-7'), 3.73 (3H, s, H-7''), 3.40 (3H, s, H-8''); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 179.3 (C-1), 146.9 (C-3''), 146.8 (C-4''), 144.6 (C-3'), 144.4 (C-4'), 129.8 (C-1''), 129.5 (C-1'), 122.0 (C-6''), 121.3 (C-6'), 114.6 (C-5'), 114.4 (C-2''), 111.7 (C-2'), 111.2 (C-5''), 71.49 (C-4), 55.8 (C-7''), 55.7 (C-7'), 50.5 (C-8''), 46.5 (C-2), 41.0 (C-3), 38.1 (C-5), 34.5 (C-6)。上述数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **8** 为 4''-甲氧基罗汉松脂素。

化合物 **9**: 黄色固体粉末; mp 263~266 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -52.2^\circ$ (c 0.11, MeOH); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 362, 2 972, 2 866, 1 669, 1 630, 1 524, 1 431, 1 306; ESI-MS m/z : 346.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 分子式为 $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.38 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-4), 7.21 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-7), 7.17 (1H, s, H-8), 7.09 (1H, m, H-6), 7.03 (1H, m, H-5), 6.06 (1H, dd, $J = 10.8, 17.4$ Hz, H-17), 5.06 (2H, dd, $J = 10.8, 17.4$ Hz, H-18), 4.19 (1H, q, $J = 6.6$ Hz, H-12), 1.51 (3H, s, H-20), 1.51 (3H, s, H-19), 1.49 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-15); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 167.3 (C-13), 159.8 (C-10), 144.8 (C-17), 144.6 (C-2), 135.4 (C-3a), 125.9 (C-7a), 123.3 (C-3), 121.15 (C-6), 119.8 (C-5), 118.4 (C-7), 112.9 (C-18), 111.3 (C-8), 111.1 (C-4), 102.9 (C-9), 51.2 (C-12), 39.0 (C-16), 26.8 (C-20), 26.7 (C-19), 19.3 (C-15)。上述数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **9** 为新海胆灵 A。

化合物 **10**: 白色无定形粉末, Liebermann-Burchard 反应呈阳性; mp 143~145 °C; ESI-MS m/z : 570.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 分子式为 $\text{C}_{42}\text{H}_{85}\text{NO}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 8.61 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-1''), 7.67 (1H, m, 2'-OH), 6.75 (2H, m, 1, 3-OH), 6.27 (1H, m, 4-OH), 5.52 (2H, m, H-8, 9), 5.14 (1H, m, H-2), 4.64 (1H, m, H-2'), 4.53 (1H, dd, $J = 4.5, 10.8$ Hz, H-1a), 4.44 (1H, dd, $J = 4.5, 10.8$ Hz, H-1b), 4.34 (2H, m, H-3, 4), 2.23 (4H, m, H-3', 5), 2.02 (6H, m,

H-6, 7, 10), 1.77 (4H, m, H-15', 17), 1.29 (32H, m, H-5'~14', 11~16), 0.87 (6H, m, H-16', 18); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 175.0 (C-1'), 130.6 (C-8), 130.5 (C-9), 76.6 (C-3), 72.7 (C-2'), 72.2 (C-4), 61.8 (C-1), 52.7 (C-2), 35.5 (C-3'), 33.6 (C-5), 33.1 (C-6), 32.8 (C-4'), 31.9 (C-7, 10), 25.6~29.8 (C-5'~14', 11~16), 22.7 (C-15', 17), 14.1 (C-16', 18)。上述数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **10** 为 (2*S*, 3*S*, 4*R*, 8*E*)-2-[(2'*R*)-2'-羟基十六烷酸酰胺]-8-十八烯-1, 3, 4-三醇。

化合物 **11**: 无色油状物, Liebermann-Burchard 反应呈阳性; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -28.5^\circ$ (c 0.32, EtOH)。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 4.63 (1H, m, H-4), 3.90 (1H, m, H-5a), 3.65 (1H, m, H-5b), 2.61 (1H, m, H-2a), 2.55 (1H, m, H-2b), 2.26 (1H, m, H-3a), 2.15 (1H, m, H-3b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 177.5 (C-1), 80.7 (C-4), 64.2 (C-5), 28.7 (C-2), 23.2 (C-3)。上述数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **11** 为 5*R*-5-羟甲基-2(3*H*)-呋喃酮。

化合物 **12**: 黄色粒状结晶 (甲醇), Liebermann-Burchard 反应呈阳性; mp 195~197 °C。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ : 5.98 (d, $J = 15.9$ Hz, H-1'), 4.67 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'), 5.49 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 5.38 (1H, dd, $J = 2.0, 8.2$ Hz, H-6), 5.23 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CD_3OD) δ : 168.1 (C-3'), 146.5 (C-3), 143.8 (C-4), 144.0 (C-1'), 124.8 (C-1), 119.9 (C-6), 113.5 (C-5), 112.5 (C-2), 112.1 (C-2')。上述数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **12** 为咖啡酸。

化合物 **13**: 为黄色固体粉末; 三氯化铁显墨绿色; mp 198~200 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} +45.0^\circ$ (c 0.03, MeOH); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 220, 247, 330; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 500~3 300, 1 701, 1 652, 1 520, 1 451, 1 341, 999, 964, 800; ESI-MS m/z : 357.1 $[\text{M}-\text{H}]^-$; 分子式为 $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 8.00 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-3'), 6.67 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-2'), 7.35 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6, 9), 7.15 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5, 8), 7.18 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-5'), 7.17 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-8'), 7.11 (1H, dd, $J = 1.5, 8.1$ Hz, H-9'), 5.67 (1H, dd, $J = 5.4, 7.8$ Hz, H-2), 3.64 (3H, s, H-1''), 3.29 (2H, m, H-3); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 170.6 (C-1), 166.8 (C-1'), 157.8 (C-7), 150.5 (C-7'), 147.4 (C-3'), 146.9 (C-6'), 130.9 (C-5,

9), 126.8 (C-4), 126.4 (C-4'), 122.1 (C-9'), 116.4 (C-8'), 116.1 (C-6, 8), 115.7 (C-5'), 113.6 (C-2'), 73.6 (C-2), 51.8 (C-1'), 36.8 (C-3)。上述数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **13** 为 6-去羟基迷迭香酸甲酯。

化合物 **14**: 白色针状结晶 (甲醇), Liebermann-Burchard 反应呈阳性; mp 223~225 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 5.29 (1H, t, *J* = 3.5 Hz, H-12), 3.63 (1H, d, *J* = 11.4 Hz, H-23a), 3.39 (1H, d, *J* = 11.4 Hz, H-23b), 2.83 (1H, dd, *J* = 4.3, 14.1 Hz, H-18), 2.60 (1H, m, H-2a), 2.26 (1H, m, H-2b), 1.14 (3H, s, H-25), 1.12 (3H, s, H-24), 0.99 (3H, s, H-27), 0.92 (3H, s, H-26), 0.89 (3H, s, H-30), 0.83 (3H, s, H-29); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 219.1 (C-3), 183.5 (C-28), 143.8 (C-13), 122.2 (C-12), 66.9 (C-23), 52.4 (C-4), 49.2 (C-9), 46.8 (C-17), 46.5 (C-5), 45.8 (C-19), 41.8 (C-14), 41.0 (C-18), 39.3 (C-8), 38.8 (C-2), 36.6 (C-10), 35.2 (C-1), 33.8 (C-21), 32.4 (C-22), 32.0 (C-7), 30.7 (C-20), 27.7 (C-15), 23.6 (C-11), 23.5 (C-16), 19.1 (C-6), 22.9 (C-30), 33.1 (C-29), 25.9 (C-27), 17.2 (C-24), 16.8 (C-26), 15.2 (C-25)。上述数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **14** 为常春藤酮酸。

化合物 **15**: 黄色针状结晶 (氯仿), 三氯化铁反应显墨绿色, Liebermann-Burchard 反应呈阳性。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.94 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4), 6.18 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3), 6.40 (1H, s, H-7), 3.88 (3H, s, H-11), 3.85 (3H, s, H-12); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 164.8 (C-2), 158.0 (C-8), 151.9 (C-10), 146.2 (C-5), 142.3 (C-4), 139.2 (C-6), 112.5 (C-3), 109.4 (C-9), 98.2 (C-7), 62.4 (C-11), 57.4 (C-12)。上述数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **15** 为 5-羟基-6, 8-二甲氧基香豆素。

4 讨论

本实验对朝鲜白头翁的非皂苷类化学成分进行了研究, 从其石油醚和醋酸乙酯萃取物中, 分离并鉴定了 15 个化合物。化合物 **1** 为合成一系列吡喃查耳酮类化合物的中间体, 这类化合物在抗诱变、抗菌、抗溃疡、抗癌等方面具有良好的活性^[19]。化合物 **2** 为朝鲜白头翁特有的化学成分, 对疮疱丙酸杆菌、白色念珠菌具有抑制作用, 表现出抗痤疮的生物活性, 值得深入开发研究^[6]。化合物 **3** 具有抑制半胱氨酸蛋白酶的作用, 对组蛋白 L 和 B 的抑制

作用尤其明显, 具有潜在的抗关节炎活性^[20]。化合物 **7** 能够通过增强细胞 NADPH 脱氢酶的活性从而抑制过氧硝酸盐引起的 PC12 细胞死亡, 起到细胞保护作用, 具有潜在治疗神经退行性疾病和慢性炎症的作用^[21]。

本课题组通过对朝鲜白头翁非皂苷类成分的深入研究, 发现了一系列抗菌、抗炎、抗癌的活性物质, 在化妆品、保健品以及药品的开发上具有一定的潜力, 为降低朝鲜白头翁用药成本和实现药材的二次开发利用奠定了基础。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编辑委员会. 中华本草 (上册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998.
- [2] 关颖丽, 尹虹, 刘建宇, 等. 循环制备 HPLC 分离纯化朝鲜白头翁中三萜皂苷 [J]. 中草药, 2008, 39(11): 1628-1631.
- [3] 关颖丽, 刘建宇, 许永男, 等. 白头翁属植物三萜皂苷及生物活性研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(1): 80-84.
- [4] Liu J Y, Guan Y L, Zou L B, et al. Saponins with neuroprotective effects from the roots of *Pulsatilla cernua* [J]. *Molecules*, 2012, 17(5): 5520-5531.
- [5] Kaouadji M. Two new C-prenylated derivatives of 2, 4-dihydroxy benzoic acid from *Lonchocarpus nicou* roots [J]. *J Nat Prod*, 1988, 51: 376-378.
- [6] Cho S C, Sultan M Z, Moon S S. Anti-acne activities of pulsiquinone, hydropulsiquinone, and structurally related 1, 4-quinon derivatives [J]. *Arch Pharm Res*, 2009, 32(4): 489-494.
- [7] Tang J, Tewtrakul S, Wang Z T, et al. Aurantiamide acetate from stems of *Zanthoxylum dissitum* Hemsley [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2003, 12(4): 231-233.
- [8] 鲁曼霞, 黄可龙, 施树云, 等. 兖州卷柏化学成分及体外抗菌活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(6): 973-975.
- [9] Zan K, Chen X Q, Fu Q. Chemical ingredients isolated from the aerial parts of *Artemisia anomala* [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2010, 19(2): 95-96.
- [10] 汪代芳, 俞桂新, 赵宁毅, 等. 金钗石斛茎的化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(8): 1492-1495.
- [11] Min B S, Nam K, Oh S R, et al. New furofuran and butyrolactone lignans with antioxidant activity from the stem bark of *Styrax japonica* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67: 1980-1984.
- [12] 王巍, 陈超, 杨君, 等. 植物内生真菌代谢物呋喃生物碱 neoechinulin A [J]. 天然产物研究与开发,

- 2007, 19: 48-50.
- [13] Kang S S, Kim J S, Xu Y N, *et al.* Isolation of a new cerebroside from the root bark of *Aralia elata* [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62(7): 1059-1060.
- [14] 史社坡, 蒋丹, 董彩霞, 等. 东北铁线莲化学成分研究 [J]. *中草药*, 2007, 38(3): 335-337.
- [15] Lee H S, Beon M S, Kim M K. Selective growth inhibitor toward human intestinal bacteria derived from *Pulsatilla cernua* root [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 4656-4661.
- [16] Peryeen S, Khan S B, Malik A, *et al.* Phenolic constituents from *Perovskia atriplicifolia* [J]. *Nat Prod Res*, 2006, 20(4): 347-353.
- [17] 白璐. 朝鲜白头翁的化学成分研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2010.
- [18] Kim K S, Lee S, Shin J S, *et al.* Arteminin, a new coumarin from *Artemisia apiacea* [J]. *Fitoterapia*, 2002, 73(3): 266-268.
- [19] Lee Y R, Wang X. First concise total synthesis of biologically interesting natural licoagrochalcone B and its unnatural derivatives [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2007, 28(12): 2523-2526.
- [20] Isshiki K, Asai Y, Tanaka S. Aurantiamide acetate, a selective cathepsin inhibitor, produced by *Aspergillus penicilloides* [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 2001, 65(5): 1195-1197.
- [21] Kuniaki K, Toshiaki A, Yasushi S, *et al.* Structure-activity relationships of neoechinulin A analogues with cytoprotection against peroxynitrite-induced PC12 cell death [J]. *J Antibiot*, 2007, 60(10): 614-621.