

号,其中 δ 169.6(C-1)为一酯羰基碳信号, δ 68.2(C-3)为-OCH₂-中碳信号, δ 56.0为-OCH₃, δ 16.4为-CH₃, δ 156.9(C-7),147.8(C-3a),136.7(C-5),123.3(C-4),112.9(C-7a),110.7(C-6)为6个芳香碳信号。综上所述,推测为一异苯并呋喃酮母核结构的化合物。与4-甲基-7-甲氧基异苯并呋喃酮比较^[5],二者¹H-NMR和熔点数值一致,故鉴定该化合物为4-甲基-7-甲氧基异苯并呋喃酮,即7-methoxy-4-methylphthalide。

化合物Ⅷ:无色针晶,mp 82~84℃(氯仿),三氯化铁反应为阳性。¹H-NMR(CDCl₃) δ :3.98(3H, s)为-OCH₃,9.75(1H, s)为一醛基质子,6.20(1H, s, Ar-OH),7.04(1H, d, $J=8.4$ Hz),7.45(1H, dd, $J=8.4, 1.8$ Hz),7.42(1H, d, $J=1.8$ Hz),推测可能为香草醛或异香草醛。根据熔点(香草醛 mp 81~84℃,异香草醛 mp 113~115℃),鉴定该化合物为香草醛。

化合物Ⅸ:白色粉末,mp 83~85℃(丙酮)。与

已知化合物正二十八烷醇进行比较^[6],光谱数据基本一致,故鉴定为正二十八烷醇。

致谢:核磁共振谱和质谱由本校测试中心测定。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1977.
- [2] Yuan J Z, Su Q S. A study on the chemical constituents of the leaves of *Quercus acutissima* Carruth [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 1999, 16(1): 60-62.
- [3] Maria D G, Pietro M, Lucio P. Stigmasterols from *Typha latifolia* [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53(6): 1430-1435.
- [4] Zheng W P, Tang Y P, Lou F C. Study on the constituents on *Dendrobium chryseum* Rolfe [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2000, 31(1): 5-7.
- [5] Jan E, Andrzej J, Aleksandra K S. Application of organolithium and related reagents. Part 13. Synthetic strategies based on aromatic metallation. A concise regioselective conversion of benzoic acids into 4-hydroxy-1-arylnaphthalenes [J]. *Tetrahedron*, 1993, 49(4): 929-938.
- [6] Dobhal M P, Agrawal V P, Joshi B C. Phytochemical investigation of *Euonymus pendulus* - Isolation and characterization of a new isoflavonoid (garhwalin) [J]. *Pharmazie*, 1987, 43: 558.

基于植物代谢组学混合物氢谱测定概念快速发现 先导化合物的方法学研究

王建农¹, 顾士萍¹, 谭仁祥², 王剑文²

(1. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091; 2. 南京大学生命科学学院, 江苏 南京 200015)

摘要:目的 建立从复杂植物样品中快速发现有意义的先导化合物的研究方法。方法 混合组分测定氢谱,用混合物氢谱测定获得的线索指导进一步分离。结果 以基于植物代谢组学概念的混合物氢谱测定方法为指导,从高原天名精中快速分离得到有价值的倍半萜类化合物,避免了天然产物化学经典分离方法的大量、无意义的重复实验,提高了发现先导化合物的效率。结论 基于植物代谢组学混合物氢谱测定指导下的分离是一种高效发现先导化合物的新方法。

关键词:高原天名精; ¹H-NMR; 代谢组学; 先导化合物

中图分类号:R284.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2007)06-0812-03

Methodology for quick finding of leading compounds based on botanical metabonomic concept of determination for mixture by ¹H-NMR

WANG Jian-nong¹, GU Shi-ping¹, TAN Ren-xiang², WANG Jian-wen²

(1. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China; 2. College of Life Science, Nanjing University, Nanjing 200015, China)

Abstract: Objective To set up a methodology for quick finding of important leading compounds from complex plant samples. **Methods** A mixture fraction was determined by ¹H-NMR techniques to find any evidence, further isolation of the fraction guided with this evidence was carried out. **Results** Based on the

收稿日期:2006-09-20

作者简介:王建农(1963-),男,博士,研究员,主要研究方向为中药化学。

Tel:(010)62875599-6427 E-mail:wangjiannong2001@tom.com

botanical metabonomic concept, a novel valuable sesquiterpene compound has been quickly isolated from the aerial part of *Carpesium lipskyi*. **Conclusion** The efficiency for finding of leading compounds could be improved if the isolation is based on metabonomics under the guidance of the new method of botanical mixture determination by $^1\text{H-NMR}$.

Key words: *Carpesium lipskyi* Winkl.; $^1\text{H-NMR}$; metabonomics; leading compounds

天然药物蕴涵的化学物质具有多样性的特点,从天然药物中快速发现具有特定药理活性的先导化合物是现代药物研究的一条捷径,其中化学成分结构的新颖性是先决条件,但也正是由于天然药物化学构成的复杂性,想要从其中得到有意义的先导化合物必须经过系统的分离^[1],而且分离的化合物必须是非常纯的,甚至能否大量分离得到纯粹单一化学成分已经成为天然产物研究领域内不成文的学术水平的象征。传统的天然药物分离由于缺乏可以事先明确提示结构信息的方法,只有盲目地将全部化合物分离,然后再进行结构研究,因此经常是分离到了许多化合物但有价值的却很少,工作强度大并且造成大量人力和物力的浪费,寻找解决这一问题的方法成为非常重要的研究课题。

代谢组学是以现代谱学技术为支撑的对一个完整生命的全部代谢物进行研究,从而揭示反应生命状态的关键生物标志物的研究领域。作为一种组学技术其研究内容非常广泛,本研究并不进行根本意义的代谢组学研究,而是借用代谢组学混合物测定氢谱的研究思路和方法,对传统的植物化学研究模式进行改进,探索出一种有别于经典植物化学研究,使之成为高效的发现先导化合物的新方法。作为具体的研究对象,本研究以高原天名精的化学研究为例,探索建立运用代谢组学的概念,采用高磁场强度的质子核磁共振方法,从混合物中快速发现结构新颖先导化合物的研究模式。

菊科天名精属(*Carpesium* L.)植物全世界共有 21 种,在我国有 17 种。有关该属植物的化学及活性研究主要集中在天名精 *C. abrotanoides* L.,直到最近才有人对高原天名精的化学成分进行了研究。天名精又名鹤虱、塘古草,性寒,味甘,具有散结、破瘀、杀虫等作用,民间用以治疗黄疸及牛皮癣^[2]。临床应用证明,天名精具降转氨酶及退黄作用。早期日本学者小川等报道了天名精内酯对中枢神经系统的麻痹作用。后来丸山等报道了天名精中具有抗菌及抗真菌的内酯^[3~10]。我国学者董云发等也较深入研究了天名精中倍半萜内酯,从中分离了几个结构新颖的倍半萜内酯化合物^[2]。1999 年兰州大学的史艳萍等

发表了对高原天名精化学研究的报道^[11]。

1 材料

1.1 实验仪器:FAB-MS 采用 VG-ZAB-HS 质谱仪测定; $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 用 AM400FT-NMR 核磁仪测定;比旋度用 DXP-188 旋光仪测定;制备色谱用日本 HITACHI 公司生产的高效液相色谱仪测定。

1.2 试剂:硅胶 G(10~40 μm),硅胶 GF₂₅₄(30~40 μm),柱色谱硅胶(200~300 目),均由青岛海洋化工厂生产;Sephadex LH-20,瑞典 Pharmacia Biotech 公司生产;显色剂为 5%硫酸乙醇液。

1.3 实验原料:高原天名精药材于 1991 年采集于西藏拉萨郊区。原植物鉴定为菊科天名精属高原天名精。模式标本编号为 91GS35,存放于兰州大学标本馆。

2 方法

高原天名精提取物(流浸膏,12 g)以适量硅胶拌样,上硅胶柱,CHCl₃-MeOH 梯度洗脱,共得 15 个流份(Fr.1~Fr.15)。其中 Fr.1~Fr.3 用 5% H₂SO₄ 显色后不变色,因此主要为叶绿素,不做进一步分离处理;Fr.5 以黄酮为主,也不做进一步分离;Fr.4(0.81 g)以 5%硫酸显色表明主要为萜类,将 Fr.4 混合物进行核磁共振波谱测定,该流份混合物氢谱所提示的结构信息十分新颖,在该结构信息指导下,将分离目标锁定于该流份,对其进行了系统的分离:首先用 Sephadex LH-20 色谱柱,以 MeOH 为流动相对 Fr.4 进行了分离,得到两个流份,即 Fr.4-1 和 Fr.4-2,根据硫酸显色情况 Fr.4-1 另做处理,Fr.4-2 经制备色谱分离(流动相:MeOH-H₂O,4:6;紫外检测器,检测波长 212 nm)制备得到 CA₉-1(化合物 I,20 mg)。

3 结果

测定的混合物氢谱见图 1。在该混合物氢谱图中,发现在化学位移 δ 0.7~1.2 有非常少见的高场-CH₂-CH₂-偶合信号,这组信号提示混合物中很可能包含一系列由三元环构成的结构新颖的萜类内酯化合物。在这种结构信息指导下对该混合物进行分离,由于目标十分明确,进一步快速分离得到的单

体化合物的氢谱见图 2。从图 2 所示结果可见混合物光谱提供的信息十分准确,结合其他波谱学研究,将化合物结构予以推定,其结构式见图 3。

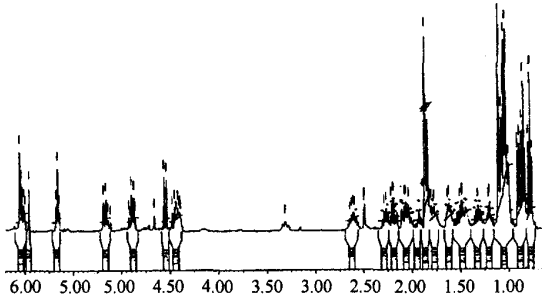


图 1 Fr. 4 混合物核磁共振氢谱图

Fig. 1 ¹H-NMR Spectra of Fr. 4 mixture

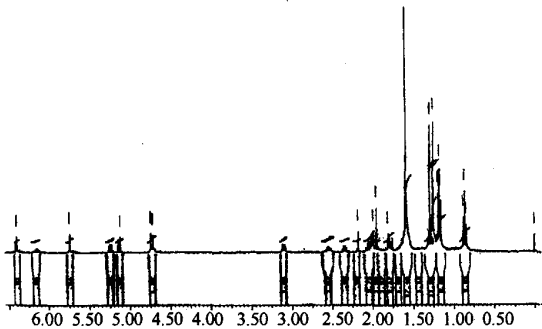


图 2 从 Fr. 4 中分离得到的化合物 I 的核磁共振氢谱图

Fig. 2 ¹H-NMR Spectra of compound I from Fr. 4

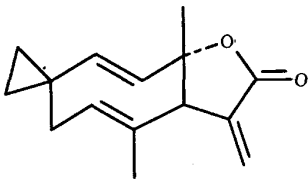


图 3 化合物 I 的化学结构式

Fig. 3 Chemical structure of compound I

4 讨论

4.1 本项目研究仅以高原天名精为例,阐明基于植物代谢组学混合物测定氢谱指导分离研究思路的优势,实际上当涉及的样品越复杂时,这种方法的优势将体现的越充分。到目前为止,结构完全未知的先导化合物为数已经比较少见,较为常见的情况是结构母核已知,仅取代基有所差异,这一前提为混合物光谱解读,从中提炼有用信息带来可行性。

4.2 在高原天名精 Fr. 4 混合组分的氢谱图中发现在化学位移 δ 0.7~1.2 有非常少见的高场-CH₂-CH₂-信号,通过文献调研表明只有三元环中两个亚

甲基的化学位移才有可能出现在这么高场区域,而具有三元环结构的倍半萜内酯类化合物在天名精属植物中鲜有报道,因此这类化合物显然具有重要的研究价值。以该图谱提供的重要信息为指导,进一步定向分离获得的化合物 I 果然具有三元环的局部结构。由此可见,混合物的氢谱测定对明确分离方向,简化分离程序具有重要指导意义。更为重要的是 Fr. 4 的量很少,如果不通过混合物光谱提供结构信息,由于未能引起重视,有可能将重要化合物忽略。因此,混合物氢谱测定对微量成分的分更有重要意义。

4.3 随着核磁共振仪的普及,测定化合物氢谱的成本大幅度下降,这为混合物光谱测定提供了可行性。如果通过混合物光谱测定表明该组分中全部化合物均为不感兴趣的化学成分,由于不必进一步分离,一方面可以节约大量的有机溶媒,另一方面可避免大量的重复实验而节约宝贵的研究时间;相反如果有感兴趣的成分包括在混合物中,在分离时可以目标更为明确,避免目标化合物的丢失。因此,本实验建立的研究方法可以明显提高先导化合物的发现效率,从而具有很高的实际应用价值。

References:

- [1] Liang X T. *Basic Research of Frequently Used Traditional Chinese Medicine* (常用中药基础研究) [M]. Beijing: Science Press, 2003.
- [2] Dong Y F, Ding Y M. Sesquiterpene lactones from *Carpesium lipskyi* Winkl. [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1988, 30 (1): 71-75.
- [3] Maruyama M, Watanabe K, Kawakam T, et al. Ineupatorolides from *Carpesium glossophyllum* [J]. *Planta Med*, 1995, 61(4): 388-389.
- [4] Maruyama M. Sesquiterpene lactones from *Carpesium divaricatum* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(2): 547-550.
- [5] Karube A, Maruyama M, Sato T. Reactions of carabrol isolated from *Carpesium abrotanoides* [J]. *Akita Kogyo Koto Semmon Gakko Kenkyu Kiyu*, 1985, 20: 77-78.
- [6] Maruyama M, Karube A. Ivalin from *Carpesium abrotanoides* [J]. *Phytochemistry*, 1976, 15: 2026.
- [7] Maruyama M, Omura S. Carpesiolin from *Carpesium abrotanoides* [J]. *Phytochemistry*, 1977, 16(6): 728-733.
- [8] Konovalova O A, Rybalko K S, Kabanov V S. Sesquiterpene lactones from *Carpesium ezimium* [J]. *Khim Prir Soedin*, 1972, 6: 721-724.
- [9] Maruyama M, Shibata F. Stereochemistry of granillin isolated from *Carpesium abrotanoides* [J]. *Phytochemistry*, 1975, 14(10): 2247-2248.
- [10] Maruyama M, Karube A, Sato K. Sesquiterpene lactones from *C. abrotanoides* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(12): 1173-1174.
- [11] Shi Y P, Guo W, Jia Z J. Germacranolides from *Carpesium lipskyi* [J]. *Planta Med*, 1999, 65: 94-96.

基于植物代谢组学混合物氢谱测定概念快速发现先导化合物的方法学研究

作者: [王建农](#), [顾士萍](#), [谭仁祥](#), [王剑文](#), [WANG Jian-nong](#), [GU Shi-ping](#), [TAN Ren-xiang](#), [WANG Jian-wen](#)

作者单位: [王建农, 顾士萍, WANG Jian-nong, GU Shi-ping \(中国中医科学院西苑医院, 北京, 100091\)](#), [谭仁祥, 王剑文, TAN Ren-xiang, WANG Jian-wen \(南京大学生命科学学院, 江苏, 南京, 200015\)](#)

刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)

英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年, 卷(期): 2007, 38 (6)

被引用次数: 4次

参考文献(11条)

1. [Liang X T 常用中药基础研究](#) 2003
2. [Dong Y F;Ding Y M Sesquiterpene lactones from Carpesium lipskyi Winkl](#) 1988(01)
3. [Maruyama M;Watanabe K;Kawakam T Ineupatorolides from Carpesium glossophyllum](#)[外文期刊] 1995(04)
4. [Maruyama M Sesquiterpene lactones from Carpesium divaricatum](#)[外文期刊] 1990(02)
5. [Karube A;Maruyama M;Sato T Reactions of carabrol isolated from Carpesium abrotanoides](#) 1985
6. [Maruyama M;Karube A Ivalin from Carpesium abrotanoides](#) 1976
7. [Maruyama M;Omura S Carpesiolin from Carpesium abrotanoides](#)[外文期刊] 1977(06)
8. [Konovalova O A;Rybalko K S;Kabanov V S Sesquiterpene lactones from Carpesium eximium](#) 1972
9. [Maruyama M;Shibata F Stereochemistry of granillin isolated from Carpesium abrotanoides](#)[外文期刊] 1975(10)
10. [Maruyama M;Karube A;Sato K Sesquiterpene lactones from C. abrotanoides](#)[外文期刊] 1983(12)
11. [Shi Y P;Guo W;Jia Z J Germacranolides from Carpesium lipskyi](#)[外文期刊] 1999

本文读者也读过(10条)

1. [邵律成. 盛春泉. 张万年. SHAO Lü-cheng. SHENG Chun-quan. ZHANG Wan-nian 新结构类型抗真菌先导化合物的研究进展](#)[期刊论文]-[药学报](#)2007, 42(11)
2. [陈蓉蓉. 沈瑶. 谭仁祥. 宋勇春. CHEN Jing-rong. SHEN Yao. TAN Ren-xiang. SONG Yong-chun 1株能产生抗肿瘤多糖的海洋真菌YS4108的鉴定](#)[期刊论文]-[中国生化药物杂志](#)2007, 28(1)
3. [居文政. 储继红. 谭仁祥. 熊宁宇. JU Wen-zheng. CHU Ji-hong. TAN Ren-xiang. XIONG Ning-ning UPLC-MS/MS联用法分析灯盏花乙素在胃肠道的代谢物](#)[期刊论文]-[中国临床药理学与治疗学](#)2006, 11(3)
4. [尹恒. 李曙光. 白雪芳. 杜昱光. YIN Heng. LI Shu-Guang. BAI Xue-Fang. DU Yu-Guang 植物代谢组学的研究方法及其应用](#)[期刊论文]-[植物学通报](#)2005, 22(5)
5. [梁立峰 米多霉素类先导化合物的生物合成与分析鉴定](#)[学位论文]2006
6. [徐宝顺. 程爱斌. 宋勇春. 谭仁祥. XU Bao-shun. CHENG Ai-bin. SONG Yong-chun. TAN Ren-xiang 海洋真菌YS4108抗肿瘤多糖YCP发酵条件的优化](#)[期刊论文]-[中国生化药物杂志](#)2006, 27(5)
7. [周添. 丰明乾. 魏闻捷. 谭仁祥. 宋勇春. ZHOU Tian. FENG Ming-Qian. WEI Wen-Jie. TAN Ren-Xiang. SONG Yong-Chun Actin启动子的克隆及海洋丝状真菌Phoma herbarum YS4108的遗传转化](#)[期刊论文]-[中国天然药物](#)2008, 6(4)
8. [刘平 以HIV-1 Vif为靶点天然药物先导化合物的筛选及其药效学研究](#)[学位论文]2009
9. [焦旭雯. 赵树进 药用植物代谢组学的研究进展](#)[期刊论文]-[广东药学院学报](#)2007, 23(2)
10. [郑丽屏. 王剑文. 谭仁祥. ZHENG Li-ping. WANG Jian-wen. TAN Ren-xiang 黄花蒿种质资源的RAPD分析](#)[期刊论文]-[中草药](#)2007, 38(4)

引证文献(4条)

1. 刘志明, 任海青, 蒋乃翔 基于GC-MS联用技术的毛竹挥发性次生代谢产物分析[期刊论文]-经济林研究 2011(4)
2. 陈曦, 杨永霞, 王淑美, 王战红, 苏智斌, 李建生, 梁生旺 基于NMR代谢组学研究脑脉通复方提取物对大鼠脑缺血再灌注模型的影响[期刊论文]-中草药 2012(1)
3. 李春雨, 王张, 王平, 孟宪丽 基于代谢组学技术的中药效应物质基础及作用机制研究[期刊论文]-中草药 2013(7)
4. 王战红, 胡慧玲, 兰轲, 蒋学华 试论基于代谢组学与方证理论的药效学-药动学方法研究中复方配伍规律[期刊论文]-中草药 2009(2)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706005.aspx