

- [4] Ye W C, Ji N N, Zhao S X, et al. Triterpenoids from *Pulsatilla chinensis* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 42(3): 799-802.
- [5] Pan H F, Lennart N. Lundgrfn and Rolf Andersson. Triterpene caffeates from bark of *Betula pubescens* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(3): 795-799.
- [6] 丁立新, 陈耀祖, 吴凤钊. 岩筋菜的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 1991, 16(5): 289-290.
- [7] Ma C M, Nakamura N, Hattori M, et al. Inhibitory effects on H₁-1 protease of constituents from the wood of *Xanthoxeris sorbifolia* [J]. *J Nat Prod*, 2002, 63(2): 238-242.
- [8] 韦松, 梁鸿, 赵玉英, 等. 怀牛膝中化合物的分离与鉴定 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22(5): 293-295.

圆穗兔耳草化学成分的研究

杨爱梅¹, 鲁润华², 师彦平^{3*}

(1. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730050; 2. 中国科学院成都生物研究所, 四川 成都 610041; 3. 中国科学院兰州化学物理研究所 甘肃省天然药物重点实验室, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 目的 对圆穗兔耳草 *L. agotis ram alana* 中化学成分进行分离纯化和结构确定。方法 利用普通硅胶柱色谱和制备薄层色谱等方法进行分离、纯化, 并经超导核磁共振、质谱等波谱技术确定其结构。结果 从圆穗兔耳草的95%乙醇室温提取物中获得10个化合物, 其结构被确定为: 二十六烷(I)、 β -谷甾醇(II)、胡萝卜苷(III)、 α -D-吡喃葡萄糖(IV)、桃叶珊瑚苷(aucubin, V)、葫芦素E(VI)、葫芦素B(VII)、海绿甾苷 I (arvenin I, VIII)、丁香树脂酚-单- β -D-葡萄糖苷(IX)、松脂素-4'-O- β -D-葡萄糖苷(X)。结论 除化合物VI、VII外均为首次从该植物中分到。

关键词: 圆穗兔耳草; 兔耳草属; 化学成分

中图分类号: R 284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)03-0337-03

圆穗兔耳草 *L. agotis ram alana* Batalin 是玄参科兔耳草属植物。生于海拔5 300 m 高山、草地、冰河、水坡。分布于青海、甘肃及四川西北部^[1]。兔耳草为常用藏药, 藏名洪连, 商品有4种兔耳草, 圆穗兔耳草是其中之一。洪连味苦、性寒, 有清热、凉血、解毒功能, 用于五脏有热、血分热毒、体虚潮热、高血压、急、慢性肝炎、痔疮, 有体外抑菌、抗炎和降血糖的药理作用^[2]。兔耳草属植物多为药用, 该属植物化学成分主要有黄酮、苯丙素苷、环烯醚萜等化合物^[3, 4]。封士兰等^[5]曾经对圆穗兔耳草化学成分进行了初步研究, 从中分得4个化合物。为了进一步探讨圆穗兔耳草的化学成分, 笔者对兔耳草全草进行了化学成分的研究, 从中分离得到4个苯丙素苷类化合物^[6, 7], 在后续的研究工作中, 又从中分离得到了10个化合物, 主要运用超导核磁共振技术, 结合文献中已报道的波谱数据等, 其结构被确定为: 二十六烷(I)、 β -谷甾醇(II)、胡萝卜苷(III)、 α -D-吡喃葡萄糖(IV)、aucubin(V)、葫芦素B(VI)、葫芦素E(VII)、arvenin I(VIII)、丁香树脂酚-单- β -D-葡萄糖苷(IX)、松脂素-4'-O- β -D-葡萄糖苷(X)。除化合物VI、VII外均为首

次从该植物中分到。

1 仪器与材料

XT-4 显微熔点测定仪; Nicolet Avatar 360 FT-IR 型红外光谱仪; Varian NOVA-400 MHz 核磁共振仪; EIMS 质谱仪; Bruker APEX 型质谱仪; VG ZAB-MS 型质谱仪; 柱色谱硅胶(200~300目)、薄层色谱硅胶(GF₂₅₄)均为青岛海洋化工厂产品。藏药圆穗兔耳草购自青海湟中藏医院, 植物标本由中国科学院西北高原生物研究所黄荣福研究员鉴定, 植物标本(ZY-01-01)存于中国科学院兰州化学物理研究所甘肃省天然药物重点实验室。

2 提取与分离

取阴干圆穗兔耳草4.0 kg 粉碎, 用95%医用酒精室温浸提3次, 每次7 d, 减压浓缩至无醇味, 得到总浸膏400 g, 加蒸馏水搅拌溶解稀释至约1 000 mL, 分别用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取。减压回收溶剂后得到石油醚部分65 g、醋酸乙酯部分60 g、正丁醇萃取部分120 g。

石油醚部分以160~200目的硅胶拌样, 自然晾干, 研细。采用200~300目硅胶(700 g)湿法上柱,

* 收稿日期: 2007-05-16

基金项目: 中国科学院“知识创新工程”重要方向性项目(KGCX2-SW-213); 甘肃省自然科学基金资助项目(3ZS051-A-25-077); 兰州理工大学博士启动基金资助项目(SB08200601)

作者简介: 杨爱梅, 女, 中国科学院兰州化学物理研究所博士, 现在兰州理工大学生命科学与工程学院任教, 主要从事天然药物化学研究。

* 通讯作者 师彦平 Tel: (0931)4968208 E-mail: shiyp@lzb.ac.cn

依次用石油醚-石油醚-醋酸乙酯(40 1、20 1、15 1、10 1、7 1、4 1、2 1、1 1、0 1)、甲醇进行梯度洗脱,每500 mL 为1 流份。TLC 检查后合并相同流份,其中石油醚-醋酸乙酯(40 1)洗脱部分析出白色片状固体,得到化合物 I;石油醚-醋酸乙酯(20 1)洗脱部分析出白色针状固体,得化合物 II (38 mg)。

醋酸乙酯部分浸膏 60 g,以 160~ 200 目的硅胶拌样,自然晾干,研细。采用 200~ 300 目硅胶(700 g)湿法上柱,依次用石油醚-醋酸乙酯(4 0~ 0 1)、醋酸乙酯-甲醇(1 0~ 0 1)进行梯度洗脱,每 500 mL 为 1 流份。TLC 检查后合并流份为 4 份(Fr. 1~ Fr. 4)。Fr. 1 析出黄色针状固体,得化合物 VI 的粗品,经氯仿反复重结晶得到化合物 VI (15 mg);Fr. 2 析出黄色针状固体,得化合物 VII 的粗品,经氯仿反复重结晶得到化合物 VII (22 mg);Fr. 3 析出白色颗粒状固体,得化合物 III (50 mg)。Fr. 4 (1 g)经过上硅胶色谱柱,氯仿-甲醇(30 1)反复色谱分离后,得到化合物 IV (20 mg)。

正丁醇部分浸膏上大孔吸附树脂柱,分别用水和甲醇洗脱除糖后得浸膏 60 g,进行硅胶(200~ 300 目,1 000 g)柱色谱分离,湿法上柱,氯仿-甲醇(50 1、30 1、20 1、10 1、7 1、5 1、3 1、1 1、0 1)梯度洗脱,等份接样,薄层色谱检测,合并相同部分,得到多个部分(Fr. 1~ Fr. 3)。Fr. 1 部分(3 g)上硅胶(200~ 300 目,60 g)柱,醋酸乙酯-甲醇(10 1)洗脱,得到白色粉末状固体为化合物 X (15 mg);Fr. 2 部分(5.5 g)上硅胶(200~ 300 目,100 g)柱色谱分离,氯仿-甲醇(8 1)洗脱,重复两次,得到白色粉末状固体化合物 V (10 mg);Fr. 3 部分(2 g)上硅胶(200~ 300 目,50 g)柱色谱分离,氯仿-甲醇(10 1)洗脱,得到两个部分(Fr. 3a, Fr. 3b);Fr. 3a 黄色粉末为化合物 VIII;Fr. 3b (60 mg)上 C-18 柱(3 g),甲醇-水(1 3)洗脱,得到化合物 IX。

3 结构鉴定

化合物 I: 白色片状晶体(石油醚-醋酸乙酯), EIMS m/z : 366[M]⁺, 324, 295, 281, 267, 253, 197, 127, 85, 71, 57, 43 等,显示了脂肪族链烃的裂解特征。参考文献确定化合物 I 为二十六烷^[8]。

化合物 II: 白色针状结晶, mp 138~ 140 (CDCl₃)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 419(羟基), 2 935, 2 848, 1 688, 1 666, 1 464, 1 381, 1 049, 红外光谱数据与 β -谷甾醇对照品一致,薄层色谱 R_f 值相同,与对照品混合熔点不下降,确定该化合物为 β -谷甾醇。

化合物 III: 白色粉末, mp 285~ 286 (分解), Liebermann-Burchard 反应阳性。¹³C-NMR 谱数据显示有葡萄糖存在,除此而外,其它碳信号与 β -谷甾醇的碳信号一致,推断其为 β -谷甾醇的葡萄糖苷即胡萝卜苷。¹³C-NMR 谱数据与文献一致^[9],最终确定其为胡萝卜苷。

化合物 IV: 白色颗粒状固体,易溶于水,¹³C-NMR 谱有 6 个碳,是典型的糖信号。¹H-NMR 谱中 δ 4.89 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1); ¹³C-NMR (100 MHz, D₂O-d₂) δ 92.2, 72.3, 73.0, 70.5, 71.9, 61.2, 确定化合物 IV 为 α -D-吡喃葡萄糖^[10]。

化合物 V: 白色粉末, mp 153~ 156 。FAB-MS: 347[M + 1]⁺, 结合¹H-NMR 谱、¹³C-NMR 谱和 DEPT 谱推出分子式为 C₁₅H₂₂O₈。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱数据与文献一致^[11, 12], 确定其为桃叶珊瑚苷。

化合物 VI: 黄色针状晶体(氯仿), mp 235~ 238 , IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 373, 1 721, 1 686, 1 662, 1 631, 1 380, 1 262, 1 125, 1 039, 992; EIMS m/z : 579[M + Na]⁺; 结合¹H-NMR、¹³C-NMR、DEPT 推出分子式为 C₃₂H₄₄O₈, 不饱和度为 11; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.92, 0.96, 1.16, 1.28, 1.31, 1.37, 1.46, 1.50, 6.98 (1H, d, J = 16 Hz, H-24), 6.40 (1H, d, J = 16 Hz, H-23), 5.70 (1H, t, J = 2.4 Hz, H-6), 5.88 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 114.6 (C-1), 144.5 (C-2), 198.7 (C-3), 47.5 (C-4), 136.7 (C-5), 120.3 (C-6), 23.5 (C-7), 41.6 (C-8), 50.6 (C-9), 34.6 (C-10), 212.9 (C-11), 48.8 (C-12), 48.1 (C-13), 48.1 (C-14), 45.5 (C-15), 71.3 (C-16), 58.1 (C-17), 19.8 (C-18), 18.3 (C-19), 79.3 (C-20), 23.9 (C-21), 202.4 (C-22), 120.8 (C-23), 151.9 (C-24), 78.2 (C-25), 25.8 (C-26), 26.4 (C-27), 29.6 (C-28), 27.9 (C-29), 20.2 (C-30), 170.4 (C=O), 20.1 (CH₃); 以上数据与参考文献对照,其¹H-NMR、¹³C-NMR 谱数据一致^[5, 13], 确定其结构为葫芦素 E。

化合物 VII: 淡黄色针状结晶(氯仿), mp 183~ 185 , Liebermann 反应阳性; IR、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱数据结合查阅文献,确定化合物 VII 为葫芦素 B^[14]。

化合物 VIII: 黄色粉末(氯仿-甲醇), Liebermann 反应阳性; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 500, 1 719, 1 700, 1 690; ¹H-NMR (400 MHz, Acetone-d₆) δ 0.89,

1.02, 1.22, 1.29, 1.33, 1.40, 1.38, 1.51, 1.54, 6.96 (1H, d, $J = 16$ Hz, H-24), 6.80 (1H, d, $J = 16$ Hz, H-23), 5.80 (1H, brs, H-6), 4.32 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ 34.2 (C-1), 80.1 (C-2), 212.6 (C-3), 49.1 (C-4), 141.1 (C-5), 120.6 (C-6), 25.1 (C-7), 35.4 (C-8), 48.7 (C-9), 43.4 (C-10), 213.5 (C-11), 49.3 (C-12), 49.1 (C-13), 51.2 (C-14), 46.2 (C-15), 71.0 (C-16), 59.1 (C-17), 21.4 (C-18), 19.0 (C-19), 79.2 (C-20), 24.4 (C-21), 203.7 (C-22), 122.1 (C-23), 150.7 (C-24), 79.4 (C-25), 26.8 (C-26), 24.4 (C-27), 29.0 (C-28), 21.9 (C-29), 19.0 (C-30), 170.8 (C=O), 20.0 (CH_3), 104.1 (C-1), 75.0 (C-2), 77.6 (C-3), 71.0 (C-4), 77.6 (C-5), 62.6 (C-6), 以上数据对照文献, 确定化合物VIII为海绿甾苷 I (arvenin I)^[15,16], 即葫芦素B-2-O- β D-葡萄糖苷。

化合物IX: 白色无定形粉末, Molish 反应呈阳性, 遇 FeCl_3 显浅绿色。mp 174~176, FAB-MS (m/z): 603 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 结合 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR、DEPT 推出分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_{13}$; ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DM SO}-d_6$) δ 6.66 (2H, s, H-2', 6), 6.64 (2H, s, H-2, 6), 4.87 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 4.65 (1H, d, $J = 4$ Hz, H-7), 4.60 (1H, d, $J = 4.4$ Hz, H-7), 4.17 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H-9), 3.79 (2H, m, H-9), 3.08 (1H, m, H-8), 3.05 (1H, m, H-8), 3.74 (6H, s, 3, 5- OCH_3), 3.75 (6H, s, 3', 5'- OCH_3), ^{13}C -NMR (100 MHz, $\text{DM SO}-d_6$) δ 137.1 (C-1), 104.1 (C-2), 152.6 (C-3), 133.7 (C-4), 152.6 (C-5), 104.1 (C-6), 85.3 (C-7), 53.6 (C-8), 71.2 (C-9), 56.0 (3, 5- OCH_3), 131.3 (C-1), 103.6 (C-2), 147.8 (C-3), 134.8 (C-4), 147.8 (C-5), 103.6 (C-6), 85.0 (C-7), 53.5 (C-8), 71.1 (C-9), 56.4 (3', 5'- OCH_3), 葡萄糖碳信号: 102.6 (C-1'), 74.1 (C-2'), 77.1 (C-3'), 69.9 (C-4'), 76.4 (C-5'), 60.9 (C-6'); 以上数据, 结合文献确定化合物IX为丁香树脂酚-单- β D-葡萄糖苷^[17]。

化合物X: 白色无定形粉末(氯仿-甲醇), Molish 反应呈阳性, 遇 FeCl_3 显浅绿色。FAB-MS: 527 [$\text{M} + \text{Li}$] $^+$ 和 543 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 结合 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR 和 DEPT 推定分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_{11}$, ^1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ 7.13 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.98 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.83 (1H, dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz, H-6), 6.78 (1H, d, $J = 8.0$

Hz, H-5), 7.03 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.88 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6), 4.90 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 4.71 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-7), 4.67 (2H, d, $J = 4.4$ Hz, H-7), 4.21 (2H, dd, $J = 6.4, 8.4$ Hz, H-9), 3.79 (2H, m, H-9), 3.09 (1H, m, H-8), 3.08 (1H, m, H-8), 3.83 (3H, s, OCH_3), 3.81 (3H, s, OCH_3)。 ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ 136.5 (C-1), 110.5 (C-2), 147.6 (C-3), 149.5 (C-4), 116.4 (C-5), 118.9 (C-6), 85.9 (C-7), 54.5 (C-8), 71.6 (C-9), 55.7 (3, 5- OCH_3), 133.2 (C-1), 110.0 (C-2), 146.3 (C-3), 146.1 (C-4), 114.8 (C-5), 118.6 (C-6), 85.6 (C-7), 54.4 (C-8), 71.6 (C-9), 55.5 (3', 5'- OCH_3), 葡萄糖碳信号: 101.7 (C-1'), 73.7 (C-2'), 76.7 (C-3'), 70.3 (C-4'), 77.0 (C-5'), 61.7 (C-6'); 以上数据与文献对照^[18], 确定化合物X为松脂素-4'-O- β D-葡萄糖苷。

参考文献:

- [1] 西北高原植物所. 藏药志 [M]. 西宁: 青海人民出版社, 1991.
- [2] 中国植物志编委会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [3] 羊晓东, 赵静锋, 郭洁, 等. 云南兔耳草中的黄酮类化合物 [J]. 中草药, 2004, 35(3): 257-259.
- [4] Ihsan C, Deniz T, Anthony D W, et al. A new phenylpropanoid glycoside from *Lagotis stolonifera* [J]. *Helv Chim Acta*, 1991, 74(6): 1273-1277.
- [5] 封士兰, 潘宣, 张晓光. 兔耳草的化学成分研究 [J]. 中草药, 2000, 31(7): 500-501.
- [6] 杨爱梅, 鲁润华, 师彦平. 圆穗兔耳草中苯丙素苷类化合物 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(2): 263-265.
- [7] 杨爱梅, 鲁润华, 师彦平. 藏药圆穗兔耳草中的黄酮类化合物 [J]. 中国药学杂志, 2007, 42(19): 1459-1463.
- [8] 丛浦珠. 质谱学在天然有机中的应用 [M]. 北京: 科学技术出版社, 1987.
- [9] 巨勇, 贾忠建, 朱子清. 九节菖蒲化学成分研究 [J]. 中草药, 1986, 17(9): 4-7.
- [10] 于德泉, 杨峻山. 分析化学手册 [M]. 核磁共振分册. 北京: 化学工业出版社, 1999.
- [11] Junir P. Iso-scrophularioside, a new iridoid glucoside from *Penstemon eriantherus* [J]. *Planta Med*, 1981, 43: 34-38.
- [12] Vincent V V, David L. ^{13}C -NMR spectroscopy of cucurbitacins [J]. *Tetrahedron*, 1983, 39(2): 317-320.
- [13] 郭新东, 古练权. 中药山芝麻的化学成分研究 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2003, 42(2): 52-55.
- [14] 刘文庸, 陈伟光, 张卫东. 土贝母化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(10): 953-956.
- [15] William A. Laurie, A cucurbitacin glycoside from *Picrorhiza kurrooa* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(11): 2659-2661.
- [16] Helen J, Tamar S. Isolation and ^{13}C -NMR of cucurbitacins from *Cayaponia angustiloba*, *Cayaponia racemosa*, and *Gurania subumbellata* [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53(6): 1600-1605.
- [17] 宋志宏, 莫少红. 管花肉苁蓉化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(12): 728-730.
- [18] 沈进, 梁健, 丁立生. 星状风毛菊的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(5): 391-394.