

银莲花化学成分研究

刘 坤^{1,2}, 公维镇¹, 王俊丽^{1*}, 王 前¹, 许东婷¹, 刘名飞¹

1. 中央民族大学生命与环境科学学院, 北京 100081

2. 河北经贸大学生物科学与工程学院, 河北 石家庄 050061

摘要: 目的 研究银莲花 *Anemone cathayensis* 的化学成分。方法 采用溶剂法进行提取和萃取, 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱和重结晶等方法进行分离纯化, 根据波谱数据进行结构鉴定。结果 从银莲花中分离得到 11 个化合物, 分别鉴定为 β -谷甾醇 (1)、4, 7-二甲氧基-5-甲基香豆素 (2)、3 β -甲氧基-齐敦果-11-酮-18-烯 (3)、 α -香树脂醇 (4)、28-羟基-齐敦果-12-烯-3, 11-二酮 (5)、熊果酸 (6)、28-羟基- α -香树脂醇 (7)、青钱柳酸 B (8)、2 α , 23-二羟基-熊果酸 (9)、 β -胡萝卜苷 (10)、槲皮素-7-*O*-鼠李糖苷 (11)。结论 化合物 1~11 均为首次从该植物中分离得到。

关键词: 银莲花; 银莲花属; 3 β -甲氧基-齐敦果-11-酮-18-烯; 28-羟基-齐敦果-12-烯-3, 11-二酮; 青钱柳酸 B

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)02-0448-04

Chemical constituents from *Anemone cathayensis*

LIU Kun^{1,2}, GONG Wei-zhen¹, WANG Jun-li¹, WANG Qian¹, XU Dong-ting¹, LIU Ming-fei¹

1. College of Life and Environmental Science, Minzu University of China, Beijing 100081, China

2. Hebei University of Economics and Business, Shijiazhuang 050061, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of *Anemone cathayensis*. **Methods** Some chromatographic methods were used to isolate the chemical constituents from this plant. Their structures were elucidated on the basis of spectral data. **Results** Eleven compounds were identified as β -sitosterol (1), 4, 7-dimethoxy-5-methyl coumarin (2), 3 β -methoxyolean-olean-11-dione-18-ene (3), α -amyrin (4), 28-hydroxy-olean-12-ene-3, 11-dione (5), ursolic acid (6), 28-hydroxy- α -amyrin (7), cyclocaric acid B (8), 2 α , 23-dihydroxyursolic acid (9), β -daucosterol (10), and erectin-3-7-*O*-rhanmoside (11). **Conclusion** All the eleven compounds are isolated from the title plant for the first time.

Key words: *Anemone cathayensis* Kitag.; *Anemone* L.; 3 β -methoxyolean-olean-11-dione-18-ene; 28-hydroxy-olean-12-ene-3, 11-dione; cyclocaric acid B

银莲花 *Anemone cathayensis* Kitag. 为毛茛科 (Ranunculaceae) 银莲花属 *Anemone* L. 植物, 分布于我国山西、河北等地, 生在海拔 1 000~1 600 m 的山坡草地、山谷沟边或多石砾坡地^[1]。毛茛科银莲花属植物在全世界约有 150 种, 在各大洲均有分布, 多数分布于亚洲和欧洲。我国有 52 种, 除广东、海南外, 在大陆各省区和台湾省均有分布, 多数分布于西南部高山地区。其中大部分在民间可作为药用, 有消炎、镇痛、抗菌、驱虫等功效^[2-4]。目前,

国内外还未见有关银莲花化学成分系统研究的报道。为了从银莲花中寻找具有生物活性的次生代谢产物, 本课题组对银莲花进行了系统的化学成分研究, 分离得到 11 个化合物, 分别鉴定为 β -谷甾醇 (β -sitosterol, 1)、4, 7-二甲氧基-5-甲基香豆素 (4, 7-dimethoxy-5-methyl coumarin, 2)、3 β -甲氧基-齐敦果-11-酮-18-烯 (3 β -methoxyolean-olean-11-dione-18-ene, 3)、 α -香树脂醇 (α -amyrin, 4)、28-羟基-齐敦果-12-烯-3, 11-二酮 (28-hydroxy-olean-12-ene-

收稿日期: 2011-05-26

基金项目: 国家“973”重点基础研究发展计划 (2009CB522300); 中央高校基本科研业务费专项资金资助 (2009kyqnyjs22, 0910KYZY46); 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室开放课题 (09708211Z1); 国家民委项目 (09ZY09); “985”工程 (MUC985); 高等学校学科创新引智计划 (B08044)

作者简介: 刘 坤 (1976—), 女, 讲师, 博士研究生, 研究方向为民族资源利用。Tel: (010)68932633 E-mail: liuqueen2003@163.com

*通讯作者 王俊丽 Tel: (010)68932633 E-mail: wangjunli2008@yahoo.com.cn

3,11-dione, **5**)、熊果酸 (ursolic acid, **6**)、28-羟基- α -香树脂醇 (28-hydroxy- α -amyrin, **7**)、青钱柳酸 B (cyclocaric acid B, **8**)、 $2\alpha, 23$ -二羟基-熊果酸 ($2\alpha, 23$ -dihydroxyursolic acid, **9**)、 β -胡萝卜苷 (β -daucosterol, **10**)、槲皮素-7-*O*-鼠李糖苷 (erectin-3-7-*O*-rhanmoside, **11**)。

1 仪器与材料

X-6 显微熔点仪; 341LC 自动电子旋光测量仪 (Perkin-Elmer); Jasco V-550 紫外可见分光光度计; 傅里叶红外光谱仪 Vertex 70; Bruker DRX 500 超导核磁共振波谱仪 Agilent 6890N-5975N 质谱仪。薄层色谱硅胶 (GF254) 与柱色谱硅胶 (200~300 目) 均为青岛海洋化工厂产品; Sephadex LH-20 为 Pharmacia Biotech 公司产品; 其余试剂均为分析纯。

银莲花的全草植株, 采自北京灵山, 经中央民族大学杨林副教授鉴定为银莲花 *Anemone cathayensis* Kitag.。

2 提取与分离

银莲花全草植株 (1.5 kg), 用 95% 乙醇闪式提取, 合并减压蒸干得 305 g 粗提物, 以石油醚-丙酮梯度洗脱得 10 个流分 (Fr. 1~10)。Fr. 4 经反复硅胶及凝胶柱色谱分离得化合物 **1** (5.6 mg)。Fr. 5 经反复硅胶柱色谱分离得到化合物 **2** (6.5 mg)、**3** (5.7 mg)。Fr. 6 经反复硅胶柱色谱分离得到化合物得 **4** (12.1 mg)、**5** (10.8 mg)。Fr. 7 经反复硅胶柱色谱分离得到化合物 **6** (3.4 mg)、**7** (11.3 mg)。Fr. 8 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离得 Fr. 8-1 和 8-2, Fr. 8-1 经石油醚-醋酸乙酯 (4:1) 洗脱, 得化合物 **8** (6.9 mg); Fr. 8-2 经石油醚-醋酸乙酯 (1:1) 洗脱, 得化合物 **9** (17.4 mg); Fr. 9 重结晶得化合物 **10** (11.2 mg), 剩余部分经反复硅胶柱色谱分离得化合物 **11** (6.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, 紫外灯下薄层检测无荧光, 10% 硫酸-乙醇显色剂显紫红色, mp 140~142 °C, ESI-MS m/z : 415.4 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.37 (1H, dd, $J = 2.9, 5.2$ Hz), 3.54 (1H, m), 此外高场还有一组甲基峰, 以上数据与文献报道^[5]数据一致。同 β -谷甾醇对照品共薄层, 混合点样后经多个展开系统展开均为同一斑点; 混合后熔点不改变, 故鉴定化合物 **1** 为 β -谷甾醇。

化合物 **2**: 无色针晶, mp 194.0~196.0 °C。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.54 (1H, s), 6.61,

6.66 (2H, d, $J = 2.0$ Hz), 2.61 (3H, s, -CH₃), 3.83, 3.93 (6H, s, 2-OCH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 169.7 (C-4), 163.1 (C-2), 161.9 (C-7), 156.7 (C-9), 138.5 (C-5), 115.6 (C-6), 107.9 (C-10), 98.7 (C-8), 87.6 (C-3), 55.9 (4-OCH₃), 55.5 (7-OCH₃), 23.4 (5-CH₃)。 ¹H-NMR、¹³C-NMR 谱数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **2** 为 4, 7-二甲氧基-5-甲基香豆素。

化合物 **3**: 无色针状晶体, 紫外灯下薄层检测无荧光, 10% 硫酸-乙醇显色剂显浅蓝色, mp 279~280 °C, ESI-MS m/z : 455.7 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) 谱高场区共有 8 个甲基的单峰信号, δ : 0.92 (3H, s), 0.78 (3H, s), 1.26 (3H, s), 1.08 (3H, s), 0.97 (3H, s), 0.96 (3H, s), 0.91 (3H, s), 0.94 (3H, s), 是三萜类化合物的特征信号。由 ESI-MS 可知其相对分子质量是 454, 结合 ¹³C-NMR 中碳的个数, 初步推断化合物的分子式是 C₃₁H₅₀O₂。由 DEPT 谱可知该化合物包括 9 个甲基 (δ 14.5, 16.8, 16.9, 17.8, 25.3, 28.6, 29.7, 31.6, 57.8); 9 个亚甲基 (δ 17.6, 21.5, 27.8, 33.1, 33.5, 37.2, 37.6, 38.6, 44.8); 5 个次甲基 (δ 40.6, 55.7, 63.4, 88.7, 130.4); 7 个季碳 (δ 32.6, 34.8, 36.7, 38.9, 43.6, 46.3, 140.6); 1 个羰基 (δ 212.6) 及 1 对双键碳 (δ 130.4, 140.6)。该化合物的氢谱和碳谱数据与文献数据^[7]对比, 鉴定化合物 **3** 为 3 β -甲氧基-齐敦果-11-酮-18-烯。

化合物 **4**: 无色针晶, 薄层检测在紫外灯 254 nm 下无荧光, 10% 硫酸-乙醇显色剂加热氧化后显紫红色, ESI-MS m/z : 427 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.13 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-12), 3.22 (1H, dd, $J = 5.2, 11.0$ Hz, H-3), 1.07 (3H, s), 1.01 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.00 (3H, s), 0.95 (3H, s), 0.91 (3H, s), 0.80 (3H, s), 0.79 (3H, s)。 ¹H-NMR 数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **4** 为 α -香树脂醇。

化合物 **5**: 白色粉末, 紫外灯下薄层检测有暗斑, 10% 硫酸-乙醇显色剂显浅粉红色, mp 210~213 °C, ESI-MS m/z : 455.7 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 0.85 (3H, s), 0.86 (3H, s), 0.93 (3H, s), 0.98 (3H, s), 1.09 (3H, s), 1.23 (3H, s), 1.37 (3H, s) 共有 7 个甲基单峰信号, 是三萜类化合物的特征信号。结合 ESI-MS 和 ¹³C-NMR 数据, 初步推断化合物的分子式是 C₃₀H₄₆O₃。由 DEPT 谱可知该化合物包括 7 个甲基 (δ 16.1, 18.8, 21.7, 23.1, 23.8, 26.7, 33.3); 10 个亚甲基 (δ 19.1, 21.6, 26.2, 30.2, 32.5, 34.3, 34.5, 40.3, 45.6, 69.6); 4 个次甲基 (δ 42.8,

55.9, 61.4, 128.5); 7 个季碳 (δ 31.4, 36.5, 37.5, 43.6, 45.7, 48.3, 170.3); 1 个共轭羰基 (δ 199.5); 1 个孤立羰基 (δ 217.6) 及 1 对共轭双键 (δ 128.5, 170.3)。经对比文献数据^[9], 鉴定化合物 **5** 为 28-羟基-齐敦果-12-烯-3, 11-二酮。

化合物 **6**: 白色无定形粉末, 薄层检测在紫外灯 254 nm 下无荧光, 10%硫酸-乙醇显色加热氧化后显紫红色。结合碳谱、质谱等数据得出分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$ 。ESI-MS m/z : 457 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.25 (1H, t, $J = 3.0$ Hz, H-12), 3.24 (1H, m, H-3), 1.26 (3H, s), 1.22 (3H, s), 1.08 (3H, s), 1.05 (3H, s), 1.03 (3H, s), 0.92 (3H, s), 0.78 (3H, s); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 39.1 (C-1), 28.1 (C-2), 78.3 (C-3), 39.9 (C-4), 55.1 (C-5), 19.6 (C-6), 34.0 (C-7), 41.2 (C-8), 46.3 (C-9), 36.7 (C-10), 23.3 (C-11), 127.8 (C-12), 138.0 (C-13), 41.0 (C-14), 29.5 (C-15), 25.3 (C-16), 47.5 (C-17), 52.0 (C-18), 39.5 (C-19), 39.1 (C-20), 31.9 (C-21), 37.4 (C-22), 27.2 (C-23), 14.8 (C-24), 16.0 (C-25), 16.7 (C-26), 24.3 (C-27), 180.0 (C-28), 17.6 (C-29), 21.0 (C-30)。其波谱数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **6** 为熊果酸。

化合物 **7**: 无色针状晶体, 薄层检测在紫外灯 254 nm 下无荧光, 10%硫酸-乙醇显色加热氧化后显紫红色, ESI-MS m/z : 443 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.15 (1H, m, H-12), 4.33 (1H, m, H-28), 4.14 (1H, m, H-28), 3.23 (1H, m, H-3), 1.05 (3H, s), 1.01 (3H, s), 1.00 (3H, s), 0.98 (3H, s), 0.95 (3H, s), 0.93 (3H, s), 0.83 (3H, s), 0.79 (3H, s); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 38.7 (C-1), 27.4 (C-2), 79.2 (C-3), 38.6 (C-4), 55.3 (C-5), 18.1 (C-6), 32.8 (C-7), 40.2 (C-8), 47.5 (C-9), 36.7 (C-10), 23.4 (C-11), 125.1 (C-12), 138.9 (C-13), 42.1 (C-14), 30.8 (C-15), 23.4 (C-16), 36.8 (C-17), 54.1 (C-18), 38.6 (C-19), 39.5 (C-20), 30.8 (C-21), 30.7 (C-22), 28.2 (C-23), 15.4 (C-24), 15.7 (C-25), 16.8 (C-26), 23.5 (C-27), 69.5 (C-28), 17.2 (C-29), 21.4 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **7** 为 28-羟基- α -香树脂醇。

化合物 **8**: 白色结晶, 紫外灯下薄层检测无荧光, 10%硫酸-乙醇显色剂显紫红色, mp 258~260 °C, ESI-MS m/z : 487.6 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.72 (3H, s), 0.77 (3H, s), 0.86 (3H, s), 0.87 (3H, s), 1.09 (3H, s), 1.23 (3H, s) 共有 6 个甲基的单

峰信号, 是三萜类化合物的特征信号。由 ESI-MS 可知其相对分子质量为 486, 结合 ^{13}C -NMR 中碳的个数, 初步推断化合物的分子式是 $C_{30}H_{46}O_5$ 。由 DEPT 谱可知该化合物包括 6 个甲基 (δ 13.3, 15.4, 18.2, 24.1, 25.6, 33.2); 9 个亚甲基 (δ 17.4, 23.1, 24.8, 27.6, 31.9, 32.1, 33.6, 44.3, 45.6); 5 个次甲基 (δ 41.3, 45.6, 48.1, 71.3, 122.4); 8 个季碳 (δ 30.5, 39.0, 40.3, 41.7, 50.8, 143.5); 1 个羧基 (δ 178.9); 1 个羰基 (δ 212.6) 及 1 对双键碳 (δ 122.4, 143.5)。该化合物的氢谱和碳谱数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **8** 为青钱柳酸 B。

化合物 **9**: 白色无定型粉末 (氯仿), 薄层检测在紫外 (254 nm) 灯下无荧光, 10%硫酸-乙醇显色加热氧化后显紫红色, ESI-MS m/z : 489 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.21 (1H, m, H-12), 3.61 (1H, m, H-2), 3.33 (1H, m, H-3), 1.09 (3H, s), 1.02 (3H, s), 1.01 (3H, s), 0.96 (3H, s), 0.93 (3H, s), 0.91 (3H, s), 0.85 (3H, s), 0.77 (3H, s); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 47.0 (C-1), 72.2 (C-2), 83.4 (C-3), 42.0 (C-4), 47.9 (C-5), 17.3 (C-6), 32.8 (C-7), 40.2 (C-8), 47.7 (C-9), 38.7 (C-10), 23.6 (C-11), 124.1 (C-12), 137.0 (C-13), 42.1 (C-14), 28.8 (C-15), 23.4 (C-16), 47.8 (C-17), 52.1 (C-18), 39.6 (C-19), 39.3 (C-20), 30.8 (C-21), 36.4 (C-22), 63.6 (C-23), 13.4 (C-24), 17.0 (C-25), 17.0 (C-26), 23.6 (C-27), 178.5 (-COOH), 17.3 (C-29), 21.3 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **9** 为 2 α , 23-二羟基-熊果酸。

化合物 **10**: 白色粉末, mp 291~292 °C, 紫外灯下薄层检测有荧光, 10%硫酸-乙醇显色剂显紫红色。ESI-MS m/z : 577.4 $[M+H]^+$; 分子式为 $C_{35}H_{60}O_6$ 。同 β -胡萝卜素对照品共薄层, 混合点样后经多个展开系统展开为均一斑斑; 混合后测定熔点不变, 故鉴定化合物 **10** 为 β -胡萝卜素。

化合物 **11**: 黄色结晶, mp 174~175 °C, ESI-MS m/z : 448.00 $[M]^+$, 分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$ 。 1H -NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 12.50 (1H, brs, 5-OH), 7.73 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.60 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.79 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.42 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.55 (1H, brs, Rha-H-1), 1.11 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha-CH₃)。氢谱数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **11** 为榭皮素-7-O-鼠李糖苷。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第28卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1980.
- [2] 董梦久, 姜爱莉. 银莲花胶囊治疗类风湿性关节炎 40例 [J]. 湖北中医学院学报, 1996, 18(2): 8-9.
- [3] 刘翔, 王昌华, 林茂祥, 等. 重庆银莲花属药用植物资源研究 [J]. 资源开发与市场, 2008, 24(5): 450-467.
- [4] 邴飞虹, 江俊, 郭晓林. 银莲花胶囊抗过敏及抗炎作用研究 [J]. 湖北中医学院学报, 1999, 1(2): 55-56.
- [5] Greca M D, Monaco P, Previtiera L. Stigmasterols from *Typha latifolia* [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53: 1430-1435.
- [6] 王俊儒, 彭树林, 王明奎, 等. 大火草根部的化学成分 [J]. 植物学报, 1999, 41(1): 107-110.
- [7] Lee L, Yang M S, Nam S H, *et al.* Lignans from the flower buds of *Magnolia fargesii* [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2005, 26(6): 913-915.
- [8] 李胜华, 李爱民, 伍贤进. 接骨草化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(8): 1502-1504.
- [9] Tene M, Pierre T, Sondengam B L, *et al.* Lignans from the roots of *Echinops giganteus* [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65: 2101-2105.
- [10] 杨付梅, 杨小生, 罗波, 等. 苗药岩豇豆化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(6): 508-509.
- [11] Xue H Z, Lu Z Z, Konno C, *et al.* 3-Beta-(3, 4-dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol and 3-beta-(4-hydroxycinnamoyl)-erythrodiol from *Larrea tridentate* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(1): 233-235.
- [12] Piccinelli A L, Arana S, Caceres A, *et al.* New lignans from the roots of *Valeriana prionophylla* with antioxidative and vasorelaxant activities [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67: 1135-1140.
- [13] Mahato S B, Kundo A P. ¹³C-NMR spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(6): 1517-1575.
- [14] 易进海, 张国林, 李伯刚. 黄杉化学成分的研究 [J]. 药学学报, 2002, 37: 352-354.