白酒草中 2 个新的三萜皂苷

颜世伦[1]，苏艳芳[1,2*]，解笑瑜[1]，郭成云[1]，阙 梦[1]，陈 磊[3]

1. 天津大学药物科学与技术学院 天津市现代药物传递及功能高效化重点实验室，天津 300072
2. 天津中医药大学 天津市中药化学与分析重点实验室，天津 300193
3. 天津天士力现代中药资源有限公司，天津 300410

摘 要：目的 研究白酒草 *Conyza japonica* 全草的皂苷类成分。**方法** 采用 D101 大孔吸附树脂、硅胶、ODS 和 RP-HPLC 对白酒草乙醇提取物中的皂苷类成分进行分离纯化，并应用波谱分析及酸水解方法鉴定其结构。**结果** 从白酒草全草的乙醇提取物中分离鉴定了 2 个三萜皂苷类化合物，分别命名为白酒草皂苷 R（**1**）和白酒草皂苷 S（**2**）。**结论** 化合物 **1** 和 **2** 为新的三萜皂苷，2 个新化合物 28 位糖链均含有 2 个芹糖，在天然化合物中非常少见。

关键词：白酒草；三萜皂苷；白酒草皂苷 R；白酒草皂苷 S；芹糖

中图分类号：R284.1 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2014)01 - 0023 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.01.004

Two new triterpenoid saponins from *Conyza japonica*

YAN Shi-lun[1], SU Yan-fang[1,2], XIE Xiao-yu[1], GUO Cheng-yun[1], QUE Meng[1], CHEN Lei[3]

1. Tianjin Key Laboratory for Modern Drug Delivery & High-Efficiency, School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China
2. Tianjin Key Laboratory of TCM Chemistry and Analysis, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China
3. Tianjin Tasly Modern TCM Resources Co., Ltd., Tianjin 300410, China

Abstract: Objective To study the triterpenoid saponins from *Conyza japonica*. **Methods** The triterpenoid saponins from *C. japonica* were isolated and purified by chromatography over resin D101, silica gel, ODS columns, and RP-HPLC. The structures were elucidated on the basis of spectroscopic analysis and acid hydrolysis. **Results** Two new triterpenoid saponins were isolated and named as conyzasaponin R (**1**) and conyzasaponin S (**2**). **Conclusion** Compounds **1** and **2** are new triterpenoid saponins, and they are among the few examples of natural products bearing two apoise units in a single oligosaccharide chain.

Key words: *Conyza japonica* (Thunb.) Less.; triterpenoid saponins; conyzasaponin R; conyzasaponin S; apoise

白酒草系菊科白酒草属植物 *Conyza japonica* (Thunb.) Less. 的全草，又名白酒棵、白酒香、酒药草、银纽子，分布于我国浙江、福建、台湾、云南、贵州、湖南、广东、广西、西藏等省区。其根或全草药用，治疗小儿肺炎、肋膜炎、喉炎、角膜炎等症[1]。本课题组曾经报道从同属植物金龙胆草中分离得到 17 个三萜皂苷，白酒草皂苷 A～Q[2-4]。为明确白酒草中的皂苷类化学成分，本实验对其进行了系统的皂苷类化学成分分析，从白酒草全草的乙醇提取物中分离鉴定 2 个新的三萜皂苷，分别命名为白酒草皂苷 R（conyzasaponin R，**1**）和白酒草皂苷 S（conyzasaponin S，**2**）。化合物 **1** 和 **2** 的 28 位糖链均含有 2 个芹糖，这在天然产物研究中非常少见。

1 仪器与材料

INOVA 500 FT 核磁共振仪；Sephadex LH-20 为 Amersham Pharmacia 生物技术公司生产；ODS（Chromatorex，20～45 μm）为富士硅化学公司生产；柱色谱用硅胶及薄层色谱用 GF_{254} 硅胶均为青岛海洋化工厂生产。所用试剂均为分析纯。

实验材料于 2004 年 8～9 月采自云南昆明，经

收稿日期：2013-11-14

基金项目：新世纪优秀人才支持计划资助项目（NCET-09-0589）；天津市科技支撑计划国际科技合作项目（11ZCGHHZ00800）

作者简介：颜世伦（1986—），男，天津大学博士研究生，从事天然产物化学研究。

***通信作者** 苏艳芳 Tel: (022)27402885 E-mail: suyfphd@sina.com

中国科学院北京植物研究所陈艺林研究员鉴定为白酒草 *Conyza japonica* (Thunb.) Less. 的全草，标本（S200409001）存放于天津大学药学院。

2 方法

白酒草干燥全草 2.5 kg，粉碎后，用 95%、60%乙醇依次回流提取 2 次，每次 2 h，合并提取液，滤过，回收乙醇所得浸膏用适量水分散，依次用石油醚（3 L×4）、醋酸乙酯（3 L×4）和正丁醇萃取（3 L×4），萃取液回收溶剂，分别得到石油醚萃取物 38 g、醋酸乙酯萃取物 55 g、正丁醇萃取物 127 g。正丁醇萃取物用水溶解后，经 D-101 大孔吸附树脂柱色谱依次用水及 30%、50%、95%乙醇洗脱。50%乙醇洗脱部分（45 g）经硅胶柱色谱，氯仿-甲醇-水系统梯度洗脱。所得流分 Fr. 43～55（13 g）经过 2 次 ODS 柱色谱，甲醇-水洗脱。所得亚流分 SFr. 8～12 经过硅胶柱色谱，醋酸乙酯-甲醇-水洗脱，得到化合物 **1**（70 mg）。所得流分 Fr. 56～72（3.5 g）经 ODS 柱色谱，甲醇-水洗脱，得到化合物 **2**（50 mg）。

取化合物 **1**（50 mg）加入 1 mol/L HCl（1 mL，二氧六环-水，1∶1）进行酸水解，80 ℃水浴加热 2 h 后，减压蒸去二氧六环并用醋酸乙酯萃取（2 mL×3）。水部分用碳酸银中和后离心，对上清液进行 TLC 检查并与标准糖进行比对。

3 结构鉴定

化合物 **1**：白色晶体（甲醇），mp 247～249 ℃，$[\alpha]_D^{20}$ −31.7° (*c* 0.66, MeOH)。HR-ESI-MS *m/z*: 1 361.599 0（计算值 1 361.598 4，$[M+Na]^+$），结合 ^{13}C-NMR 和 DEPT 谱确定其分子式为 $C_{62}H_{98}O_{31}$。红外光谱提示该化合物中含有羟基（3 390 cm^{-1}）和羰基（1 734 cm^{-1}）。^{1}H-NMR (500 MHz, C_5D_5N) 和 ^{13}C-NMR (125 MHz, C_5D_5N) 显示 6 个角甲基单峰信号 δ_H 0.88, 0.97, 1.08, 1.21, 1.51, 1.94 和 δ_C 14.3, 16.9, 17.5, 23.7, 26.2, 33.2 及双键信号 δ_H 5.42 (1H, brs) 和 δ_C 123.0, 144.3，提示化合物 **1** 可能为具有齐墩果烷-12-烯基本骨架的三萜皂苷。综合分析 ^{1}H-NMR 谱、^{13}C-NMR 谱、DEPT 谱、COSY 谱、HMBC 谱、HMQC 谱、NOESY 谱，结合文献报道[5]确定苷元为苜蓿酸（2β, 3β, dihydroxy-olean-12-en-23, 28-dioic acid）。δ_C 86.1 (C-3), δ_C 176.3 (C-28) 提示化合物 **1** 在 C-3, 28 位成苷。在 NMR 谱中也显示了 6 个糖的端基质子信号 δ_H 5.08 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 5.24 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 5.90 (1H, d, *J* = 4.5 Hz), 5.62 (1H, brs), 6.17 (1H, brs), 6.46 (1H, brs) 及端基碳信号 δ_C 111.8, 111.2, 105.1, 104.9, 101.0, 93.2。信号 δ_H 1.69 (3H, d, *J* = 6.0 Hz), δ_C 18.6 提示有 1 个 6-去氧糖存在。酸水解结果表明化合物 **1** 中含有鼠李糖、木糖、阿拉伯糖、葡萄糖、芹糖 5 种糖。综合分析 ^{1}H-NMR、^{13}C-NMR、DEPT、HMBC、NOESY 等二维图谱确定化合物 **1** 中含有 1 个 β-*D*-吡喃葡萄糖基、1 个 β-*D*-吡喃木糖基、1 个 α-*L*-吡喃鼠李糖基、1 个 α-*L*-吡喃阿拉伯糖基和 2 个 β-*D*-呋喃芹糖基，并对苷元及糖基部分的核磁信号进行归属。苷元 C-3 及 C-28 位的糖链的连接顺序根据 HMBC 谱中显示的相关关系（图 1）得以确定：Glc 的 H-1 (δ_H 5.08) 和苷元 C-3 (δ_C 86.1), Api′ (*f*) 的 H-1 (δ_H 6.17) 和 Xyl 的 C-3 (δ_C 84.6), Xyl 的 H-1 (δ 5.24) 和 Rha 的 C-4 (δ 77.8), Api (*f*) 的 H-1 (δ 5.90) 和 Rha 的 C-3 (δ 82.3), Rha 的 H-1 (δ 5.62) 和 Ara 的 C-2 (δ 75.2), Ara 的 H-1 (δ 6.47) 和苷元 C-28 (δ 176.3) 的远程相关，并由 NOESY 谱中显示的相关关系（图 1）进一步确证：Glc 的 H-1 (δ 5.08) 和苷元 H-3 (δ 4.67), Api′ (*f*) 的 H-1 (δ 6.17) 和 Xyl 的 H-3 (δ 4.07), Xyl 的 H-1 (δ 5.24) 和 Rha 的 H-4 (δ 4.44), Api (*f*) 的 H-1 (δ 5.90) 和 Rha 的 H-3 (δ 4.36), Rha 的 H-1 (δ 5.62) 和 Ara 的 H-2 (δ 4.48) 相关。结构式见图 2。

苷元部分的 ^{1}H-NMR (500 MHz, C_5D_5N) δ: 3.26 (1H, brd, *J* = 12.5 Hz, H-18), 4.67 (1H，overlapped, H-3), 4.76 (1H，overlapped, H-2), 5.42 (1H, brs, H-12), 088, 0.97, 1.08, 1.21, 1.51, 1.94 (各 3H, s, 29, 30, 26, 27, 24, 25-CH_3)；在综合解析 COSY、HSQC、HMBC、NOESY 和 TOCSY 谱图的基础上，糖部分氢信号归属见表 1；^{13}C-NMR (125 MHz, C_5D_5N) 数据见表 2、3。综上，化合物 **1** 的结构鉴定为 3-*O*-β-*D*-glucopyranosyl medicagenic acid 28-*O*-β-*D*-apiofuranosyl-(1→3)-β-*D*-xylopyranosyl-(1→4)-[β-*D*-apiofuranosyl-(1→3)]-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-*L*-arabinopyranosyl ester，为新化合物，命名为白酒草皂苷 R。

化合物 **2**：白色晶体（甲醇），mp 241～243 ℃，$[\alpha]_D^{20}$ −38.2° (*c* 0.50, MeOH)。HR-ESI-MS *m/z*: 1 523.656 6（计算值 1 523.651 8，$[M+Na]^+$），相对分子质量较化合物 **1** 高 162，结合 ^{13}C-NMR 和 DEPT 谱确定其分子式为 $C_{68}H_{108}O_{36}$。

将化合物 **2** 同化合物 **1** 的核磁数据进行比较，表明二者具有相同的苷元，且在 C-28 位具有相同的糖链，不同之处在于化合物 **2** 较化合物 **1** 多了 1 组

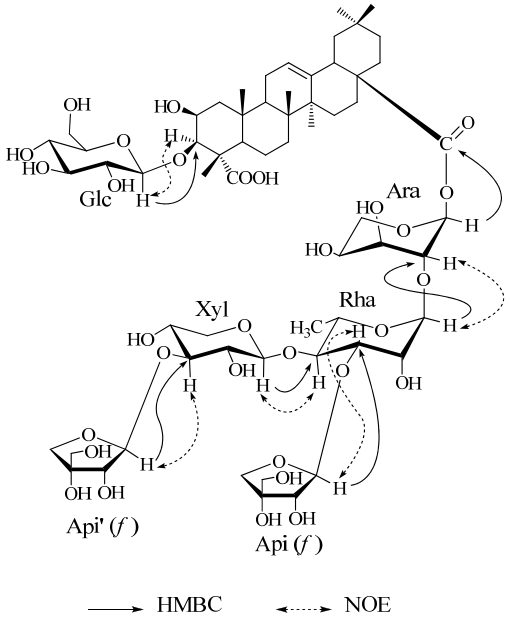

图 1 化合物 1 主要的 HMBC 和 NOE 相关

Fig. 1 Key HMBC and NOE correlations of compound 1

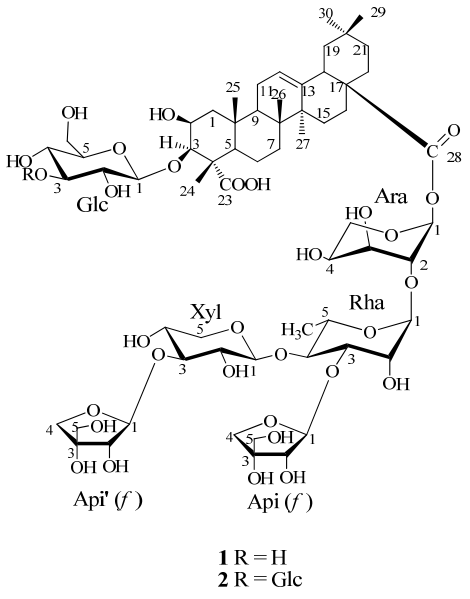

图 2 化合物 1 和 2 的结构

Fig. 2 Structures of compounds 1 and 2

表 1 化合物 1 和 2 糖基的 ^{1}H-NMR 数据

Table 1 ^{1}H-NMR data for sugar moieties of compounds 1 and 2

碳位	1	2	碳位	1	2	碳位	1	2
Glc			Ara			Api (*f*)		
1	4.36 (d, *J* = 8.0 Hz)	5.06 (d, *J* = 7.5 Hz)	1	6.47 (brs)	6.53 (brs)	1	5.90 (d, *J* = 4.5 Hz)	5.88 (d, *J* = 4.5 Hz)
2	3.91[b]	3.94[b]	2	4.48[b]	4.46[b]	2	4.77[b]	4.78[b]
3	4.13[b]	4.07[b]	3	4.52[b]	4.57[b]	4	4.51[b]	4.55[b]
4	4.12[b]	4.02[b]	4	4.36[b]	4.37[b]		4.14[b]	4.15[b]
5	3.88[b]	3.83[b]	5	4.49[b]	4.55[b]	5	4.05[b]	3.03[b]
6	4.43[b]	4.43[b]		3.93[b]	3.95[b]	Api′ (*f*)		
	4.24[b]	4.17[b]	Rha			1	6.16 (brs)	6.17 (d, *J* = 2.0 Hz)
Glc′			1	5.62 (brs)	5.55 (brs)	2	4.74[b]	4.75[b]
1		5.17 (d, *J* = 7.5 Hz)	2	4.69[b]	4.70[b]	4	4.26[b]	4.26[b]
2		4.00[b]	3	4.36[b]	4.37[b]		4.66[b]	4.70[b]
3		4.17[b]	4	4.44[b]	4.47[b]	5	4.13[b]	4.14[b]
4		4.16[b]	5	4.30[b]	4.30[b]			
5		3.95[b]	6	1.69 (d, *J* = 6.0 Hz)	1.71 (d, *J* = 6.0 Hz)			
6		4.26[b]	Xyl					
		4.48[b]	1	5.24 (d, *J* = 7.5 Hz)	5.25 (d, *J* = 8.0 Hz)			
			2	3.99[b]	3.95[b]			
			3	4.07[b]	4.09[b]			
			4	4.01[b]	4.02[b]			
			5	4.09[b]	4.11[b]			
				3.33[b]	3.33[b]			

b-因信号重叠未标明多重性和耦合常数

b-multiplicity and coupling constants are uncharted due to overlapping of signals

表 2　化合物 1 和 2 苷元的 ^{13}C-NMR 数据

Table 2　^{13}C-NMR data for aglycon moieties of compounds 1 and 2

碳位	1	2	碳位	1	2	碳位	1	2
1	44.3	44.2	11	24.0	24.0	21	34.1	34.1
2	70.3	70.3	12	123.0	123.0	22	32.7	32.8
3	86.1	86.1	13	144.3	144.2	23	181.0	180.5
4	52.9	52.8	14	42.2	42.2	24	14.3	14.2
5	52.5	52.5	15	28.2	28.1	25	16.9	16.9
6	21.1	21.1	16	23.1	23.1	26	17.5	17.5
7	33.2	33.0	17	47.3	47.3	27	26.2	26.1
8	40.3	40.3	18	41.6	41.6	28	176.3	176.3
9	48.7	48.7	19	46.2	46.2	29	33.2	33.1
10	36.8	36.8	20	30.9	30.9	30	23.7	23.7

表 3　化合物 1 和 2 糖基的 ^{13}C-NMR 数据

Table 3　^{13}C-NMR data for sugar moieties of compounds 1 and 2

碳位	1	2	碳位	1	2	碳位	1	2
Glc			Ara			Api (*f*)		
1	105.2	105.1	1	93.2	93.0	1	111.8	111.9
2	75.0	73.7	2	75.2	75.6	2	77.8	77.5
3	78.2	88.4	3	69.3	68.5	3	79.8	79.8
4	71.5	69.8	4	65.4	65.1	4	74.5	74.6
5	78.3	77.9	5	62.3	61.8	5	64.4	64.3
6	62.6	62.3	Rha			Api′ (*f*)		
Glc′			1	101.0	100.9	1	111.2	111.3
1		105.9	2	71.6	71.6	2	77.8	77.7
2		75.6	3	82.3	82.5	3	80.4	80.4
3		78.2	4	77.8	77.7	4	75.0	75.1
4		71.6	5	68.7	68.7	5	65.4	65.6
5		78.6	6	18.6	18.6			
6		62.5	Xyl					
			1	104.9	105.0			
			2	75.5	75.0			
			3	84.6	84.3			
			4	69.6	69.7			
			5	66.6	66.7			

β-*D*-吡喃葡萄糖基的信号，与质谱数据一致。综合分析化合物 **2** 的核磁数据并对所有碳氢信号进行归属，内侧葡萄糖（Glc）的 C-3 (δ 88.4) 较化合物 **1** 向低场移动 10.2，表明外侧葡萄糖（Glc′）可能连在 Glc 的 C-3 位。HMBC 谱中 Glc′的 H-1 (δ 5.17) 和 Glc 的 C-3 (δ 88.4) 之间的远程相关表明 Glc′的 1 位与 Glc 的 3 位相连。结构式见图 2。苷元部分 ^{1}H-NMR (500 MHz, C_5D_5N) δ: 3.29 (1H, brd, J = 12.5 Hz, H-18), 4.69 (1H, overlapped, H-3), 4.77 (1H, overlapped, H-2) 5.44 (1H, brs, H-12), 0.89, 0.98, 1.10, 1.23, 1.53, 1.96 (各 3H, s, 29, 30, 26, 27, 24, 25-CH_3)；糖部分信号归属见表 1；^{13}C-NMR (125 MHz, C_5D_5N) 数据见表 2、3。综上所述，化合物 **2** 鉴定为 3-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→3)-β-*D*-glucopyranosyl medicagenic acid

28-*O*-β-*D*-apiofuranosyl-(1→3)-β-*D*-xylopyranosyl-(1→4)-[β-*D*-apiofuranosyl-(1→3)]-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-*L*-arabinopyranosyl ester，为新化合物，命名为白酒草皂苷 S。

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 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.

[2] Su Y F, Koike K, Nikaido T, *et al*. Conyzasaponin I-Q, Nine new triterpenoid saponins from *Conyza blinii* [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66: 1593-1599.

[3] Su Y F, Guo D A, Guo H Z, *et al*. Four new triterpenoid saponins from *Conyza blinii* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64: 32-36.

[4] Su Y F, Koike K, Guo D A, *et al*. New apiose-containing triterpenoid saponins from *Conyza blinii* [J]. *Tetrahedron* 2001, 57: 6721-6726.

[5] Yoshikawa M, Murakami T, Ueno T, *et al*. *E*-senegasaponins A and B, *Z*-senegins II and III, new type inhibitors of ethanol absorption in rats from *Senegae Radix*, the roots of *Polygala senega* L. var. *latiflolia* Torrey et Gray. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1995, 43(2): 350-352.