

腺梗豨莩中 2 个新的氧化脂类成分

王 瑞¹, 童 玲¹, 师彦平²

1. 潍坊学院生物与农业工程学院 山东省高校生物化学与分子生物学重点实验室, 山东 潍坊 261061

2. 中国科学院兰州化学物理研究所 中科院西北特色植物资源化学重点实验室, 甘肃 兰州 730000

摘要: **目的** 研究腺梗豨莩 *Siegesbeckia pubescens* 地上部分的化学成分。**方法** 利用正相硅胶柱色谱、薄层色谱等方法进行了化学成分的分离和纯化, 根据理化性质和波谱数据进行了结构鉴定。**结果** 从腺梗豨莩地上部分乙醇提取物中分离得到了 3 个氧化脂类成分, 分别鉴定为 3-豆蔻酰氧基-2-异丁酰氧基-4-甲基戊酸 (1)、3-豆蔻酰氧基-2-羟基-4-甲基戊酸 (2) 和 γ -十二烷基- α -羟基- γ -内酯 (3)。**结论** 化合物 1 和 2 为首次报道的氧化脂类新化合物, 分别命名为豨莩脂 A 和豨莩脂 B, 化合物 3 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 腺梗豨莩; 氧化脂类; 豨莩脂 A; 豨莩脂 B; γ -十二烷基- α -羟基- γ -内酯

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2015)08-1117-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.08.003

Two new oxylipins from *Siegesbeckia pubescens*

WANG Rui¹, TONG Ling¹, SHI Yan-ping²

1. Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology in Universities of Shandong Province, College of Bio-engineering and Agriculture, Weifang University, Weifang 261061, China

2. Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the aerial parts of *Siegesbeckia pubescens*. **Methods** The compounds were separated and purified by silica gel column chromatography and TLC, and their structures were determined by analyses on the physicochemical properties and spectral data. **Results** Three oxylipins were obtained and identified as 3-(myristoyloxy)-2-(isobutyloxy)-4-methylpentanoic acid (1), 3-(myristoyloxy)-2-hydroxy-4-methylpentanoic acid (2), and γ -dodecyl- α -hydroxy- γ -lactone (3) from the ethanol extract of *S. pubescens*. **Conclusion** The two new oxylipins 1 and 2, named siegesbecklipin A and siegesbecklipin B, and known compound 3 is obtained from this plant for the first time.

Key words: *Siegesbeckia pubescens* Makino; oxylipins; siegesbecklipin A; siegesbecklipin B; γ -dodecyl- α -hydroxy- γ -lactone

植物在受到外界植食性昆虫等危害时,除了受害叶片会产生防御性物质外,有些植物的其他部位甚至整株都会系统性释放防御物质。植物这种诱导性防御作用的系统性特征已在多种植物-植食性昆虫系统中的不同类型的防御物质(如挥发性物质、烟碱等)上得到了证实^[1-2]。研究显示,与乙烯和水杨酸类似,氧化脂类(oxylipins)亦是植物体内重要的内源性信号物质,在植物防御虫害过程中起关键作用^[3]。豨莩草为多版《中国药典》中的常见中药,菊科植物豨莩 *Siegesbeckia orientalis* L.、腺梗豨莩 *S. pubescens* Makino 和毛梗豨莩 *S. glabrescens* Makino 的地上部分均可作为中药豨莩草入药^[4];主

要分布于湖北、河南、甘肃等地,具有祛风湿、利筋骨、清热解毒、降血压等功能;临床上主要用于治疗四肢麻痹、高血压、风湿性关节炎等。然而,目前相关化学成分及药理活性研究多集中在二萜类和倍半萜类成分^[5-7],对于其他活性成分研究少见报道,本研究针对豨莩草药材病虫害较少的特点,采用各种色谱分离方法对其中防御性次生代谢产物进行研究,结果从腺梗豨莩地上部分乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部分中分离得到 3 个氧化脂类成分,分别鉴定为 3-豆蔻酰氧基-2-异丁酰氧基-4-甲基戊酸 [3-(myristoyloxy)-2-(isobutyloxy)-4-methylpentanoic acid, 1]、3-豆蔻酰氧基-2-羟基-4-甲基戊酸 [3-

收稿日期: 2015-01-15

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(81303202)

作者简介: 王 瑞(1982—),男,山东淄博人,博士,讲师,研究方向为天然药物化学。Tel: (0536)8785288 E-mail: wangrui0810@wfu.edu.cn

(myristoyloxy)-2-hydroxy-4-methylpentanoic acid, 2], γ -十二烷基- α -羟基- γ -内酯(γ -dodecyl- α -hydroxy- γ -lactone, 3)。结构见图1。其中化合物1和2为新化合物, 化合物3为首次从该植物中分离得到。

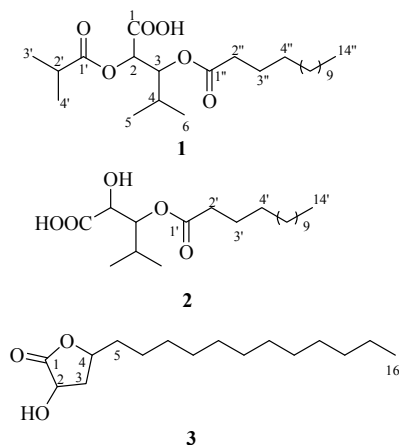


图1 化合物1~3的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—3

1 仪器与材料

Varian INOVA-400 MHz 超导核磁共振波谱仪(美国 Varian 公司); Bruker APEX II 高分辨率电喷雾质谱仪(德国 Bruker 公司); VG ZABHS 电子轰击电离源质谱(英国 VG 仪器公司); WFH-203 (ZF-1) 三用紫外分析仪(上海精科实业有限公司); METTLER-AE100 电子分析天平(瑞士 Mettler 公司); 柱色谱及薄层色谱硅胶(青岛海洋化工集团有限公司); 所用溶剂为分析纯。

药材购买自兰州黄河药材市场, 植物样品由中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室戚欢阳副研究员鉴定为腺梗豨莶 *Siegesbeckia pubescens* Makino, 标本(ZY2007S001)保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

将腺梗豨莶地上部分 9 kg 粉碎后, 用 95%乙醇热回流提取 3 次, 每次 3 h, 合并提取液, 减压浓缩得总浸膏 800 g, 以水混悬, 依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 减压浓缩得各部分浸膏。取醋酸乙酯浸膏(120 g), 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-丙酮(30:1→0:1)进行梯度洗脱, 根据薄层检测结果合并相同馏份, 共得到 7 个组分: A(30:1)、B(15:1)、C(8:1)、D(4:1)、E(2:1)、F(1:1)、G(0:1)。组分 B 经硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯(30:1)和石油醚-丙酮(30:1)作为流动相反复洗脱, 得到化合物 3(8.2 mg)。组分

C 经硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯(20:1)为洗脱剂洗脱, 得到 3 个部分 C1~C3。C3 部分以石油醚-醋酸乙酯-冰醋酸(30:1:0.1)和石油醚-丙酮-冰醋酸(30:1:0.1)为洗脱剂, 经硅胶柱色谱反复分离, 得到化合物 1(22.0 mg)和 2(16.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色油状物, 10%磷钨酸-乙醇溶液喷雾加热后显蓝黑色。 $[\alpha]_D^{20} -34^\circ$ (c 0.4, 丙酮), HR-ESI-MS m/z : 446.342 4 $[M+NH_4]^+$ ($C_{24}H_{48}O_6N^+$, 理论计算值为 446.348 2), 结合 ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱可确定其分子式为 $C_{24}H_{44}O_6$, 不饱和度为 3。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 10.92 (1H, s, COOH), 5.25 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-2), 5.10 (1H, m, H-3), 2.61 (1H, m, H-2'), 2.30 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2'), 2.14 (1H, m, H-4), 1.59 (2H, m, H-3'), 1.17 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3'), 1.16 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-4'), 0.99 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-5), 0.90 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-6), 0.84 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-14''); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 175.9 (C-1'), 173.2 (C-1''), 173.1 (C-1), 76.1 (C-3), 71.3 (C-2), 34.2 (C-2''), 33.6 (C-2'), 31.8 (C-12''), 28.8 (C-4), 24.8 (C-3''), 22.6 (C-13''), 18.9 (C-5), 18.6 (C-3'), 18.5 (C-4'), 18.1 (C-6), 14.0 (C-14'')。

1H -NMR 谱显示有 1 个羧基活泼氢信号 δ_H 10.92 (1H, s)、2 个连氧次甲基 δ_H 5.25 (1H, d, $J = 4.0$ Hz), 5.10 (1H, m)、1 组长链结构特征信号、2 个异丙基结构片段 δ_H 2.61 (1H, m), 1.17 (3H, d, $J = 7.2$ Hz), 1.16 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 2.14 (1H, m); 0.99 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 0.90 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)。 ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱显示有 3 个羰基信号 δ_C 175.9, 173.2, 173.1, 2 个连氧次甲基信号 δ_C 76.1, 71.3, 以及 1 组脂肪酸酯链特征信号 δ_C 173.2, 34.2, 31.8, 24.8, 22.6, 14.0; 由以上数据可初步推测其为 1 个长链脂肪酸酯类化合物。通过 1H , 1H -COSY 相关(图 2)可以将 2 个连氧次甲基和其中 1 个异丙基结构片段连接起来。在 HMBC 谱中(图 2), 羰基碳 δ_C 175.9 (C-1') 与 H-2' (δ_H 2.30)、H-3' (δ_H 1.17) 及 H-4' (δ_H 1.16) 分别存在相关, 证实了异丁酰氧基结构片段的存

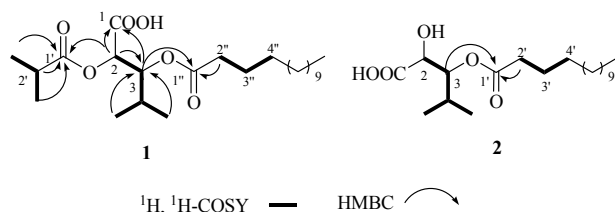


图2 化合物1和2主要的¹H, ¹H-COSY及HMBC相关
Fig. 2 Key ¹H, ¹H-COSY and HMBC correlations for 1 and 2

该异丁酰氧基片段连接在C-2位;而 δ_C 173.2 (C-1'')与H-3之间存在远程相关,表明长链脂肪酸酯应连接于C-3位;结合质谱数据可推测该脂肪酸酯链上的碳原子个数为14。综上所述,该化合物结构被鉴定为3-豆蔻酰氧基-2-异丁酰氧基-4-甲基戊酸,为1个新的氧化脂类化合物,命名为豨荑脂A。

化合物2:无色油状物,5% H₂SO₄-乙醇溶液喷雾加热不显色,10%磷钼酸-乙醇溶液喷雾加热后显蓝黑色; $[\alpha]_D^{20}$ -36° (c 0.4, 丙酮)。HR-ESI-MS m/z : 376.312 4 [M+NH₄]⁺ (C₂₀H₄₂O₅N⁺, 理论计算值为376.306 3), 结合¹³C-NMR和DEPT谱可确定其分子式为C₂₀H₃₈O₅,不饱和度为2。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 4.89 (1H, m, H-3), 4.38 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-2), 2.34 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-2'), 2.23 (1H, m, H-4), 1.61 (2H, m, H-3'), 0.98 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-6), 0.95 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-5); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 175.8 (C-1'), 174.7 (C-1), 79.6 (C-3), 70.8 (C-2), 34.3 (C-2'), 31.9 (C-12'), 28.4 (C-4), 24.9 (C-3'), 22.6 (C-13'), 19.1 (C-6), 17.9 (C-5), 14.1 (C-14')。

¹H-NMR谱显示有2个连氧次甲基 δ_H 4.89 (1H, m), 4.38 (1H, d, J = 4.0 Hz)、1组长链结构特征信号以及1个异丙基结构片段 δ_H 2.23 (1H, m), 0.98 (3H, d, J = 6.4 Hz), 0.95 (3H, d, J = 6.8 Hz); ¹³C-NMR和DEPT谱显示有2个连氧亚甲基信号 δ_C 79.6, 70.8以及1组脂肪酸酯链的特征信号 δ_C 175.8, 34.3, 31.9, 24.9, 22.6, 14.1。通过与化合物1对比发现二者的NMR数据非常相似,二者的主要区别在于化合物2的结构中缺少了化合物1中的1个异丁酰基结构片段 δ_H 1.17, 1.16 (6H, s); δ_H 2.61 (1H, m); δ_C 175.9, 33.6, 18.6和18.5。结合HMBC谱中酯羰基碳(δ_C 175.8, C-1')与H-3 (δ_H 4.89)和H-2' (δ_H 2.34)分别存在相关(图2),推断长链脂肪酸酯形成于C-3位;结合质谱数据可推测该脂肪酸酯链上的碳原子个数为14。综上所述,该化合物的结构被确定为3-豆蔻酰氧基-2-羟基-4-甲基戊酸,命名为豨荑脂

B,为1个新的氧化脂类化合物。

新化合物1和2的分子结构中均存在2个手性中心,在其立体构型确定过程中,本实验中未能获得适合单晶衍射实验分析用的单晶固体;并且由于样品量较少,通过化学结构改造的办法亦未能完成其相对构型及绝对构型的鉴定。

化合物3:白色粉末状固体,5% H₂SO₄-乙醇溶液喷雾加热后显紫色。EI-MS谱给出分子离子峰为 m/z 270 [M]⁺和失水峰 252 [M-H₂O]⁺,结合¹³C-NMR和DEPT谱推测其分子式可能为C₁₆H₃₀O₃,不饱和度为2。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 4.65 (1H, m, H-4), 4.51 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-2), 2.31 (2H, m, H-3), 1.65 (2H, m, H-5), 0.88 (3H, t, J = 6.9 Hz, H-16); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 177.2 (C-1), 78.7 (C-4), 67.5 (C-2), 35.7 (C-3), 35.5 (C-5), 14.1 (C-16)。¹H-NMR谱显示有2个连氧次甲基 δ_H 4.65 (1H, m), 4.51 (1H, t, J = 8.0 Hz)、1组长链结构特征信号,¹³C-NMR和DEPT谱显示有1个酯羰基信号 δ_C 177.2和2个连氧亚甲基信号 δ_C 78.7, 67.5,由此可初步推断该化合物为1个长链脂肪酸酯类化合物。经文献检索,发现其谱图数据与文献报道基本一致^[8],故鉴定化合物3为 γ -十二烷基- α -羟基- γ -内酯。该化合物为首次从该植物中分离得到,且作为一类良好的拒食活性成分,该类化合物引起了合成化学家的广泛关注。

参考文献

- [1] Kessler A, Baldwin I T. Plant response to insect herbivory: The emerging molecular analysis [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2002, 53(1): 299-328.
- [2] 徐涛,王建树,骆世明.玉米oxylipins信号途径关键基因的克隆及其在虫害诱导防御中的作用[J].科学通报,2005,50(20): 2217-2225.
- [3] Li L, Li C Y, Lee G I, et al. Distinct roles for jasmonate synthesis and action in the systemic wound response of tomato [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(9): 6416-6421.
- [4] 中国药典[S].一部.2010.
- [5] Xiang Y, Zhang H, Yue J M. Novel diterpenoids and diterpenoid glycosides from *Siegesbeckia orientalis* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(9): 1517-1521.
- [6] 张超,吴素香,楼招欢,等.豨荑草化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J].安徽医药,2011,15(3): 274-276.
- [7] Xiong J, Ma Y B, Xu Y L. Diterpenoids from *Siegesbeckia pubescens* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(7): 917-921.
- [8] Nakano T, Ino Y, Nagai Y A. Convenient synthesis of γ -alkyl- α -hydroxy- γ -lactones as a food intake-control substance [J]. *Chem Lett*, 1989, 18(4): 567-568.