

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2012.02.023

马兰化学成分研究 (II)

钟文武, 刘劲松, 张聪佶, 陈爱民, 许应生, 王 刚*

(安徽中医学院药学院, 现代中药安徽省重点实验室, 合肥 230031)

摘 要: 采用冷渗漉提取的方法提取马兰的化学成分。经硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 进行分离纯化, 通过理化方法和波谱数据分析进行结构鉴定。从 80% 乙醇冷渗漉提取物的水不溶物中分离并鉴定了 12 个化合物, 分别为正十六烷酸(1)、6-羟基-桉烷-4(14)-烯(2)、 β -谷甾醇(3)、 α -菠菜甾醇(4)、香草醛(5)、 β -20(21), 24-二烯-达玛烷-3-酮(6)、豆甾醇(7)、木栓酮(8)、羽扇豆酮(9)、 α -香树脂醇(10)、表木栓醇(11)、神经酰胺(12)。化合物 2、6、9、12 均为首次从该种植物中分得。

关键词: 马兰; 渗漉提取; 分离鉴定; 化学成分

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)02-0261-03

Studies on the chemical constituents of *Kalimeris indica* (II)

ZHONG Wen-Wu, LIU Jin-Song, ZHANG Cong-Er,
CHEN Ai-Min, XU Ying-Sheng, WANG Gang*(School of Materia Medica, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Anhui Key
Laboratory of Modernized Chinese Material Medical, Hefei 230031, China)

Abstract: The chemical constituents were extracted from *Kalimeris indica* by cold percolation extraction. Compounds were isolated and purified with silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography, the structures were determined on the basis of physicochemical evidence and spectroscopic analysis. Twelve compounds were separated and purified from water insoluble parts of 80% alcohol extracts of *K. indica*. They were identified as n-Hexadecanoic acid (1), 6-Hydroxy-eudesm-4(14)-ene(2), β -Sitosterol(3), α -Spinasterol(4), Vanillin(5), 3-Oxo-dammara-20(21), 24-dene(6), Stigmasterol(7), Friedelin(8), Lupeone(9), α -Amyrin(10), Friedel-3-ol(11), (2S, 3S, 4R, 8E)-2-[(2R')-2'-Hydroxyteracosenolamino]-8-octadecene-1, 3, 4-triol(12). Compounds 2, 6, 9, 12 were isolated from this plant for the first time.

Key words: *Kalimeris indica*; percolation process; isolation and structure identification; chemical constituents

马兰为菊科马兰属植物马兰(*Kalimeris indica*)的全草(中华本草, 1998)。安徽省著名新安医学派中医专家王任之先生, 生前善用清热利湿、凉血解毒、活血散瘀的马兰治疗乙型肝炎或无症状乙肝病毒携带者, 常有促使乙肝血清标志 HBsAg、HBeAg

阳性转阴效果(周海虹, 1994)。继本研究组前期发表了一系列植物马兰的化学成分研究论文(林彬彬等, 2008; 刘劲松等, 2010; 王刚等, 2010)之后, 为了更深入地探索马兰抗病毒活性的物质基础, 我们将过去热回流提取方式改为冷渗漉提取, 以期寻找到

① 收稿日期: 2011-10-14 修回日期: 2011-12-16

基金项目: 安徽省自然科学基金(11040606W220); 康缘中医药科技创新基金(KYCX 201003)[Supported by the Natural Science Foundation of Anhui Province(11040606W220); Kangyuan Innovation Fund for Traditional Medicine Science and Technology(KYCX 201003)]

作者简介: 钟文武(1984-), 男, 湖北武汉市人, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学, (E-mail)zwwcpu@yahoo.com.cn。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail:kunhong_8@163.com)

新的先母体化合物。本论文采用 80%乙醇渗漉提取,从渗漉提取液挥去乙醇后水不溶部位分离并鉴定了 12 个化合物,分别为正十六烷酸(1)、6-羟基-桉烷-4(14)-烯(2)、 β -谷甾醇(3)、 α -菠菜甾醇(4)、香草醛(5)、 β -20(21), 24-二烯-达玛烷-3-酮(6)、豆甾醇(7)、木栓酮(8)、羽扇豆酮(9)、 α -香树脂醇(10)、表木栓醇(11)、神经酰胺(12)。

1 仪器和材料

Bruker AM-400 和 Bruker DRX-500 型 NMR (瑞士 Bruker BioSpin 公司),以 TMS 为内标;VG Autospec-3000 型质谱仪(美国 Varian 公司);XRC-1 型显微镜熔点仪(四川大学科仪厂),温度计未校正;Sephadex LH-20(50 μ m,瑞典 Amersham biosciences 公司);薄层硅胶及柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂生产);其余试剂均为分析纯。

马兰全草采自安徽合肥大蜀山,并经安徽中医学院中药教研室方成武教授鉴定为菊科马兰属植物马兰的全草。

2 提取和分离

马兰干燥全草 18Kg,80%乙醇渗漉提取,渗漉液减压浓缩至无醇味,将浓缩提取液离心滤过得水不溶部位。取水不溶部位 200g 上硅胶柱色谱,以二氯甲烷-甲醇系统按(100:0,100:1,50:1,30:1,20:1,10:1,5:1,2:1,1:1,0:100)依次梯度洗脱,每 500 mL 分段收集。合并流份 10-18(100:0)上硅胶柱,用石油醚-乙酸乙酯(30:1)系统洗脱,经 Sephadex LH-20 凝胶纯化得化合物 1(2.1 mg)和化合物 2(1.9 mg);合并 20-25 流份(100:0)上硅胶柱,用石油醚-丙酮(20:1)洗脱,Sephadex LH-20 凝胶纯化得化合物 3(24.5 mg);合并流份 30-55(100:1)上硅胶柱,用石油醚-丙酮(30:1~15:1)梯度洗脱,并经 Sephadex LH-20 凝胶纯化得化合物 4(33.4 mg),化合物 5(7.2 mg)与化合物 6(3.3 mg);合并流份 59-61(100:1)自然挥干析出晶体,经丙酮重结晶得化合物 7(19.4 mg);合并流份 85-125(50:1)上硅胶柱,用石油醚-丙酮(20:1~10:1)梯度洗脱,经 Sephadex LH-20 凝胶纯化得化合物 8(7.1 mg)与化合物 9(2.1 mg)。合并流份 135-157(50:1)依次经二氯甲烷-甲醇(30:1)系统,石

油醚-丙酮(10:1~3:1)系统梯度硅胶柱层析,经 Sephadex LH-20 凝胶纯化得化合物 10(2.2 mg)与化合物 11(5.4 mg)。合并流份 175-194(30:1)上硅胶柱,用二氯甲烷-甲醇(15:1~10:1)梯度洗脱,经 Sephadex LH-20 凝胶纯化后得到化合物 12(28.7 mg)。

在所所得的 12 个化合物中,惟 2、6、9、12 为首次从该植物中发现。

3 结构鉴定

化合物 2 无色油状物,分子式 $C_{15}H_{26}O$, mp78~80 $^{\circ}C$, $[\alpha]_D^{25} + 64.5^{\circ}$ 。 1H NMR($CDCl_3$, 400MHz) δ : 4.97(1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-15 α/β), 4.66(1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-15 α/β), 4.06(1H, dd, $J = 5.1, 10.7$ Hz, H-6), 2.32(1H, bd, $J = 12.2$ Hz, H-3), 2.17(1H, d, $J = 10.7$ Hz, H-5), 1.94-2.07(2H, m, H-3 α/β , H-11), 1.87(1H, brs, OH), 1.69-1.78(1H, m, H-7), 1.61-1.73(1H, m, H-8 α), 1.55-1.71(2H, m, H-2 α , H-2 β), 1.51-1.61(1H, m, H-8 β), 1.36~1.43(1H, m, H-1 β), 1.26-1.36(2H, m, H-1 α , H-9 α), 1.14-1.21(1H, dt, $J = 3.6, 13.7$ Hz, H-9 β), 1.11(3H, d, $J = 6.6$ Hz, CH_3 -12), 0.95(3H, d, $J = 7.1$ Hz, CH_3 -13), 0.80(3H, s, CH_3 -14)。 ^{13}C NMR($CDCl_3$, 100MHz) δ : 17.92(q, C-14), 22.12(q, C-13), 22.47(t, C-8), 24.25(t, C-2), 25.02(q, C-12), 25.15(d, C-11), 36.08(t, C-9), 37.64(s, C-10), 38.18(t, C-3), 42.14(d, C-1), 44.84(d, C-7), 52.85(d, C-5), 70.12(d, C-6), 106.40(t, C-15), 148.11(s, C-4)。以上 1H NMR、 ^{13}C NMR 数据与 Toyota 等(1990)报道的一致,确定化合物 2 结构为 6-羟基-桉烷-4(14)-烯。

化合物 6 无色针晶(丙酮),分子式 $C_{30}H_{48}O$, mp71-72 $^{\circ}C$ 。 1H NMR(CD_3OCD_3 , 400MHz) δ : 5.12(1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-22, 24), 4.70(2H, s, H-21), 2.43(2H, m, H-2) 1.67(3H, s, CH_3 -26), 1.67(3H, s, CH_3 -27), 1.04(3H, s, CH_3 -18), 1.02(3H, s, CH_3 -19), 0.99(3H, s, CH_3 -28), 0.95(3H, s, CH_3 -29), 0.83(3H, s, CH_3 -30)。 ^{13}C NMR(CD_3OCD_3 , 100MHz) δ : 34.4(t, C-1), 34.0(t, C-2), 216.3(s, C-3), 46.2(s, C-4), 55.8(d, C-5), 19.1(t, C-6), 30.1(t, C-7), 40.5(s, C-8), 48.6(d, C-9), 36.7(s, C-10) 21.2(t, C-11), 25.8(t, C-12), 46.2(d, C-13), 48.9

(s, C-14), 31.6 (t, C-15), 29.9 (t, C-16), 47.3 (d, C-17), 15.3 (q, C-18), 15.8 (q, C-19), 153.1 (s, C-20), 108.3 (t, C-21), 34.4 (t, C-22), 27.0 (t, C-23), 125.2 (d, C-24), 131.7 (s, C-25), 25.7 (q, C-26), 26.7 (q, C-27), 26.6 (q, C-28), 20.3 (q, C-29), 16.1 (q, C-30)。以上¹H NMR、¹³C NMR 数据与 Vedernikov 等(2010)报道的一致, 确定化合物 6 结构为 20(21), 24-二烯-达玛烷-3-酮。

化合物 9 白色针晶(丙酮), 分子式 C₃₀H₄₈O, mp 179~181 °C。¹H NMR (CD₃OCD₃, 400 MHz) δ: 4.68 (1H, brs, H-29), 2.45 (2H, m, H-2), 2.38 (1H, m, H-19), 1.66 (3H, s, CH₃-30), 1.01 (3H, s, CH₃-26), 0.98 (3H, s, CH₃-23), 0.97 (3H, s, CH₃-27), 0.89 (3H, s, CH₃-25), 0.81 (3H, s, CH₃-28), 0.79 (3H, s, CH₃-24)。¹³C (CD₃OCD₃, 100 MHz) δ: 39.6 (t, C-1), 34.1 (t, C-2), 216.1 (s, C-3), 47.1 (s, C-4), 55.2 (d, C-5), 19.9 (t, C-6), 33.9 (t, C-7), 40.3 (s, C-8), 48.7 (d, C-9), 36.1 (s, C-10), 21.1 (t, C-11), 25.9 (t, C-12), 38.5 (d, C-13), 42.6 (s, C-14), 27.8 (t, C-15), 35.9 (t, C-16), 43.0 (s, C-17), 47.7 (d, C-18), 48.2 (d, C-19), 151.0 (s, C-20), 29.7 (t, C-21), 39.2 (t, C-22), 26.8 (q, C-23), 21.9 (q, C-24), 15.6 (q, C-25), 15.9 (q, C-26), 14.5 (q, C-27), 18.0 (q, C-28), 109.8 (t, C-29), 19.3 (q, C-30)。以上¹H NMR、¹³C NMR 数据与常国栋等(2011)和 Parshant 等(1993)报道的一致, 确定化合物 9 结构为羽扇豆酮。

化合物 12 白色无定形固体, 分子式 C₄₂H₈₁NO₅, mp 138~139 °C。ESI-MS m/z: 680 [M+H]⁺。¹H NMR (C₅D₅N, 500 MHz) δ: 5.35 (1H, m, H-8), 5.30 (1H, m, H-15'), 5.30 (1H, m, H-16'), 3.98 (1H, m, H-2), 3.89 (1H, m, H-2'), 3.64 (2H, dd, H-1), 3.43 (1H, m, H-3), 3.40 (1H, m, H-4), 1.99 (2H, m, H-17'), 1.99 (2H, m, H-14'), 1.94 (2H, m, H-7), 1.94 (1H, m, H-9), 1.56 (2H, m, H-6), 1.54 (2H, m, H-5), 1.54 (2H, m, H-3'), 1.25-1.35 (2H, m, CH₂), 0.87 (3H, t, CH₃-18), 0.87 (3H, t, CH₃-24')。¹³C NMR (C₅D₅N, 125 MHz) δ: 60.2 (t, C-1), 51.0 (d, C-2), 74.5 (d, C-3), 71.1 (d, C-4), 31.8 (t, C-5), 25.8 (t, C-6), 33.1 (t, C-7), 130.3 (d, C-8), 130.7 (d, C-9), 32.3 (t, C-10), 28.6-29.1 (t, C-11-15), 31.3 (t, C-16), 22.1 (t, C-17), 13.8 (q, C-18), 175.4 (s, C-1'), 71.1 (d, C-2'), 34.3

(t, C-3'), 26.6 (t, C-14', 17'), 130.3 (d, C-15'), 130.3 (d, C-16'), 22.1-31.3 (t, C-4'-13', 18'-23'), 13.8 (q, C-24')。以上¹H NMR、¹³C NMR 数据与 Pei 等(1993)报道的一致, 确定化合物 12 结构为神经酰胺(2S, 3S, 4R, 8E)-2-[(2R')-2'-Hydroxyteracosenoilylamino]-8-octa-decene-1, 3, 4-triol。

4 讨论

从参考文献上反映, 过去对马兰化学成分的研究, 采用的都是热回流提取方式(许文清等, 2010; 龚小见等, 2010)。考虑到提取温度对化合物分离的影响, 为从植物马兰中寻找结构新颖的活性成分, 我们设计冷渗漉提取代替热回流提取方式, 溶剂回收过程低于 50 °C, 结果有 4 个化合物从该植物中首次分得。

参考文献:

- 国家中医药管理局中华本草编委会. 1998. 中华本草(第 7 卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社: 886-889
- 周海虹. 1994. 妙用马兰治肝病[J]. 浙江中医, (5): 233
- Chang GD(常国栋), Luo DQ(罗东强). 2011. Studies on the chemical constituents of *Rhododendron micranthum* Turcz(照山白的化学成分研究)[J]. *Asia-Pacific Trad Med*(亚太传统医药), 7(4): 39-40
- Lin BB(林彬彬), Wang G(王刚), Liu JS(刘劲松), et al. 2008. Studies on the chemical constituents of *Kalimeris indica*(马兰化学成分研究)[J]. *J Anhui Trad Chin Med Coll*(安徽中医学院学报), 27(6): 48-49
- Liu JS(刘劲松), Wang G(王刚), Wang GK(王国凯), et al. 2010. Triterpenoids from *Kalimeris indica*(马兰三萜类化学成分研究)[J]. *Chin Trad Patent Med*(中成药), 32(3): 462-465
- Parshant A, David GL, Krupadanam. 1993. Dehydro-6-hydrotenoid and Lupeone from *Tephrosia villosa*[J]. *Phytochemistry*, 32(2): 484-486
- Pei D, Liu JX, Di DL. 2010. Cerebroside and ceramide from the pollen of *Brassica napus*[J]. *Fitoterapia*, 81: 838-843
- Toyota M, Asakawa Y. 1990. An eudesmane-type sesquiterpene alcohol from the liverwort *Frullania tamarisci*[J]. *Phytochemistry*, 29(11): 3664-3665
- Vedernikov DN, Roshchin VI. 2010. Extractive compounds of birch buds (*Betula pendula*): II. Carbonyl compounds and oxides esters[J]. *Russ J Bioorg Chem*, 36(7): 899-908
- Wang G(王刚), Wang GK(王国凯), Liu JS(刘劲松), et al. 2010. Studies on the chemical constituents of *Kalimeris indica*(马兰化学成分研究)[J]. *J Chin Med Mat*(中药材), 33(4): 551-554
- Xu WQ(许文清), Gong XJ(龚小见), Zhou X(周欣), et al. 2010. chemical constituents and bioactivity of *Kalimeris indica*(马兰化学成分及生物活性研究)[J]. *Chin J Chin Mat Med*(中国中药杂志), 35(23): 3172-3174