文章编号:1001-6880(2015)Suppl-0006-05

鹅不食草化学成分的研究

张玉波[1],吴 鹏[2],吴忠南[1],杨 丽[1],王国才[1*],李药兰[1]

[1]暨南大学中药及天然药物研究所 中药药效物质基础及创新药物研究广东省高校重点实验室,广州 510632;
[2]广州中医药大学 国际中医药转化医学研究所,广州 510006

摘 要:利用超临界提取技术对中药鹅不食草中的小极性成分进行富集,并经过硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱和制备型高效液相色谱等分离技术从鹅不食草中分离得到 11 个化合物。根据它们的波谱数据和理化性质分别鉴定为:短叶老鹳草素(**1**)、4,5β-dihydroxy-2β-(isobutyryloxy)-10βH-guai-11(13)-en-12,8β-olide(**2**)、arnicolide C(**3**)、microhelenin C(**4**)、arnicolide B(**5**)、乌苏酸(**6**)、8-羟基-9,10-双异丁酰氧基百里酚(**7**)、3-甲氧基槲皮素(**8**)、3,3′-二甲氧基槲皮素(**9**)、胡萝卜苷(**10**)、豆甾醇(**11**)。其中化合物 **4** 和 **6** 首次从该植物中分离得到。

关键词:菊科;鹅不食草;化学成分;结构鉴定

中图分类号:R284.1;R284.2 **文献标识码**:A DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.S.002

Chemical Constituents from *Centipeda minima*

ZHANG Yu-bo[1], WU Peng[2], WU Zhong-nan[1], YANG Li[1], WANG Guo-cai[1*], LI Yao-lan[1]

[1]*Institute of Traditional Chinese Medicine & Natural Products, College of Pharmacy, Guangdong Province Key Laboratory of Pharmaceutical Constituents of TCM and New Drugs Research, Jinan University, Guangzhou 510632, China*; [2]*International Institute for Translational Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong, 510006, China*

Abstract: Eleven compounds were isolated from *Centipeda minima* and purified by repeated silica gel, Sephadex LH-20 column chromatography, and preparative HPLC. The structures were elucidated on the basis of their spectral characteristics and identified as brevifolin (**1**), 4,5β-dihydroxy-2β-(isobutyryloxy)-10βH-guai-11(13)-en-12,8β-olide (**2**), arnicolide C (**3**), microhelenin C (**4**), arnicolide B (**5**), ursolic acid (**6**), 8-hydroxy-9,10-diisobutyryloxythymol (**7**), quercetin-3-methyl ether (**8**), quercetin-3,3′-dimethyl ether (**9**), daucosterol (**10**), stigmasterol (**11**). Compounds **4** and **6** were isolated from this plant for the first time.

Key words: compositae; *Centipeda minima*; chemical constituents; structural identification

鹅不食草[*Centipeda minima* (L.) A. Br. et Aschers.]为菊科(Compositae)石胡荽属植物,又名野园荽、石胡荽、食胡荽、鸡肠草、地胡椒、球子草、白地茜等[1]。广泛分布于我国东北、华北、华中、华东、华南、西南[1]。味辛,性温,归肺、肝经,主治通鼻窍、止咳,主要用于风寒头痛、咳嗽痰多、鼻塞不通、鼻渊流涕[2]。现代药理研究表明,鹅不食草具有抗肿瘤、抗过敏、抗炎等多种生理活性[3]。文献报道其主要化学成分为萜类化合物包括单萜、倍半萜及三萜和黄酮类化合物[4,5]。为探明鹅不食草的活性物质基础,本研究对鹅不食草的化学成分进行了研究,分离得到 11 个化合物,包括 5 个倍半萜,1 个三萜、1 个单萜和 2 个黄酮类化合物,其他类型化合物 2 个,通过它们的波谱数据和理化性质分别鉴定为:短叶老鹳草素(**1**)、4,5β-dihydroxy-2β-(isobutyryloxy)-10βH-guai-11(13)-en-12,8β-olide(**2**)、arnicolide C(**3**)、microhelenin C(**4**)、arnicolide B(**5**)、乌苏酸(**6**)、8-羟基-9,10-双异丁酰氧基百里酚(**7**)、3-甲氧基槲皮素(**8**)、3,3′-二甲氧基槲皮素(**9**)、胡萝卜苷(**10**)、豆甾醇(**11**)。其中化合物 **4** 和 **6** 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

核磁共振谱用 Bruker AV-300/AV-400 型超导核磁共振仪测定;紫外光谱用 JASCO V-550 紫外/可见光谱仪测定;红外光谱用 JASCO FI/IR-480 Plus

收稿日期:2014-11-07 接受日期:2015-01-16

基金项目:国家自然科学基金项目(81273390, 81202429, 81473116);广东省自然科学基金(S2013020012864)

*通讯作者 Tel:86-20-85223553;E-mail:twangguocai@jnu.edu.cn

Fourier Transform 红外光谱仪(KBr 压片)测定;ESI-MS 用 Finnigan LCQ Advantage MAX 质谱仪测定;HR-ESI-MS 用 Agilent Q TOF 质谱仪测定;熔点用北京泰克仪器公司 X-5 型显微熔点测定仪测定;HA-121-50-02 超临界 CO_2 萃取装置;Agilent 1200 分析型高效液相色谱仪,分析型色谱柱为 COMOSIL 5 C_{18}-MS-Ⅱ Waters Φ 4.6 mm × 250 mm;VARIAN prostar 210 型制备液相色谱仪,制备型色谱柱为 COMOSIL 5 C_{18}-MS-Ⅱ Waters Φ 50 mm × 250 mm;柱层析用硅胶(青岛海洋化工厂);硅胶 GF_{254} 薄层层析(烟台化学工业研究所);Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司)。所用试剂均为化学纯或分析纯。

鹅不食草由通济堂药房提供,由广东省高级工程师麦振球鉴定为菊科石胡荽属植物鹅不食草[*Centipeda minima* (L.) A. Br. et Aschers.],标本(06115202)保存于香港中文大学生物系。

2 提取与分离

干燥的鹅不食草(1.8 kg),粉碎至 60 目,用超临界 CO_2 萃取装置提取(超临界萃取压力:20 MPa,温度:40 ℃,分离压力:6.0 MPa,温度:35 ℃,CO_2 流量:20 L/h,时间:2 h),得到总浸膏(104.5 g)。对该部分进行硅胶柱层析,用石油醚-乙酸乙酯(100∶0→0∶100)进行梯度洗脱。将洗脱得到的相同或相似部分进行合并,得十一个馏分 Fr.1 ~ Fr.11。其中 Fr.1、Fr.2 和 Fr.3 经过硅胶柱层析(环己烷-乙酸乙酯 100∶0→0∶100),分别得到化合物 **1**(2300 mg)、**6**(11.7 mg)、**7**(50.3 mg);Fr.4 经过反复硅胶柱层析(环己烷-乙酸乙酯 100∶0→0∶100)得到化合物 **10**(14.1 mg)和 **11**(25.2 mg);Fr.7 经 Sephadex LH-20(氯仿-甲醇 1∶1)后,再经制备型 HPLC(甲醇-水 75∶25)纯化,得到化合物 **3**(18.2 mg)、**4**(15.4 mg)、**5**(20.8 mg);Fr.9 经硅胶柱层析(氯仿-甲醇 100∶0→1∶1)后,再经 Sephadex LH-20(氯仿-甲醇 1∶1),得化合物 **2**(16.3 mg);Fr.10 经过反复硅胶柱层析(氯仿-甲醇 100∶0→1∶1)得到化合物 **8**(98.1 mg)、**9**(41.2 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 无色簇状晶体(石油醚-乙酸乙酯);ESI-MS *m/z*:369 $[M+Na]^+$,715 $[2M+Na]^+$;UV ($CHCl_3$):λ_{max} 244 nm;IR (KBr) υ_{max}:3479,1715,1232,1182,1045 cm^{-1};^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ:7.64 (1H,dd,J = 6.0,1.6 Hz,H-2),6.03 (1H,dd,J = 6.0,3.0 Hz,H-3),5.99 (1H,dt,J = 7.2,1.4 Hz,H-18),5.47 (1H,br s,H-6),4.74 (1H,m,H-8),2.45 (1H,ddd,J = 15.3,6.0,2.2 Hz,H-9),1.87 (3H,dd,J = 7.3,1.4 Hz,H-19),1.70 (3H,t,J = 1.4 Hz,H-20),1.64 (1H,ddd,J = 15.2,11.0,1.7 Hz,H-9),1.52 (3H,d,J = 7.4 Hz,H-13),1.21 (3H,d,J = 6.7 Hz,H-14),1.02 (3H,s,H-15);^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ:209.4 (C-4),178.9 (C-12),166.2 (C-16),161.8 (C-2),138.9 (C-18),129.4 (C-13),127.2 (C-17),79.4 (C-8),71.8 (C-6),54.8 (C-5),54.3 (C-1),48.8 (C-7),40.9 (C-9),40.4 (C-11),25.8 (C-10),20.3 (C-20),19.6 (C-14),17.5 (C-5),15.6 (C-19),10.9 (C-13)。以上数据与文献[6]报道的短叶老鹳草素数据一致,故确定该化合物为短叶老鹳草素 (brevifolin)。

化合物 2 无色油状物;HR-ESI-MS *m/z*:375.1780 $[M+Na]^+$ (calc. 375.1784);UV ($CHCl_3$):λ_{max} 241 nm;IR (KBr) υ_{max}:3464,2969,1748,1384,1161 cm^{-1};^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ:6.19 (1H,d,J = 2.2 Hz,H-13),5.59 (1H,d,J = 1.7 Hz,H-13),4.80-4.85 (2H,m,H-2,8),2.51 (1H,m,H-17),1.20 (3H,s,H-15),1.14 (6H,d,J = 7.0 Hz,H-18,19),1.02 (3H,d,J = 6.2 Hz,H-14);^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ:177.0 (C-16),170.2 (C-12),141.9 (C-11),121.0 (C-13),83.4 (C-5),82.2 (C-4),78.2 (C-2),77.9 (C-8),56.1 (C-1),46.4 (C-3),40.0 (C-7),38.2 (C-9),36.5 (C-6),34.2 (C-17),27.2 (C-10),20.6 (C-14),19.8 (C-15),18.9 (C-19),18.7 (C-18)。以上数据与文献[7]报道的 4,5β-dihydroxy-2β-(isobutyryloxy)-10βH-guai-11(13)-en-12,8β-olide 数据一致,故确定该化合物为 4,5β-dihydroxy-2β-(isobutyryloxy)-10βH-guai-11(13)-en-12,8β-olide。

化合物 3 无色油状;ESI-MS *m/z*:357 $[M+Na]^+$;^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ:7.63 (1H,dd,J = 6.0,1.3 Hz,H-2),6.00 (1H,m,H-3),5.35 (1H,s,H-6),4.70 (1H,m,H-8),2.78 (1H,m,H-7),1.45 (3H,d,J = 7.4 Hz,H-13),1.02 (3H,d,J = 6.9 Hz,H-18),0.99 (3H,d,J = 7.5 Hz,H-9),0.98 (3H,s,H-15);^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ:209.5 (C-4),179.1 (C-12),175.7 (C-16),162.2

(C-2),129.6 (C-3),79.6 (C-8),71.9 (C-6),55.0 (C-5),54.1 (C-1),49.1 (C-7),41.1 (C-9),40.6 (C-11),34.0 (C-17),26.0 (C-10),19.8 (C-14),19.0 (C-19),18.7 (C-18),17.7 (C-15),11.0 (C-13)。以上数据与文献[8]报道的 arnicolide C 一致,故确定该化合物为 arnicolide C。

化合物 4 无色油状;ESI-MS *m/z*:369 [M + Na]$^+$;^{1}H NMR (300 MHz,$CDCl_3$) δ:7.66 (1H,dd,*J* = 6.1,1.6 Hz,H-2),6.60 (1H,m,H-18),6.04 (1H,dd,*J* = 6.1,3.1 Hz,H-3),5.44 (1H,s,H-6),4.72 (1H,m,H-8),2.89 (1H,m,H-7),1.71 (3H,br d,*J* = 8.3 Hz,H-19),1.69 (3H,br s,H-20),1.52 (3H,d,*J* = 7.4 Hz,H-13),1.23 (3H,d,*J* = 6.6 Hz,H-14),1.03 (3H,br s,H-15);^{13}C NMR (75 MHz,$CDCl_3$) δ:209.5 (C-4),179.1 (C-12),166.6 (C-16),162.0 (C-2),137.8 (C-18),129.5 (C-3),128.4 (C-17),79.5 (C-8),72.1 (C-6),55.0 (C-5),54.2 (C-1),48.8 (C-7),41.0 (C-9),40.5 (C-11),25.8 (C-10),19.7 (C-14),17.6 (C-15),14.4 (C-20),12.0 (C-19),10.9 (C-13)。以上数据与文献[8]报道的 microhelenin C 一致,故确定该化合物为 microhelenin C。

化合物 5 无色油状;ESI-MS *m/z*:371 [M + Na]$^+$;^{1}H NMR (300 MHz,$CDCl_3$) δ:7.61 (1H,m,H-2),5.98 (1H,m,H-3),5.36 (1H,s,H-6),4.68 (1H,m,H-8),2.78 (1H,dd,*J* = 10.2,6.5 Hz,H-7),1.43 (3H,d,*J* = 7.4 Hz,H-13),1.16 (3H,d,*J* = 6.7 Hz,H-14),0.94 (3H,s,H-15),0.81 (6H,d,*J* = 7.8 Hz,H-19,20);^{13}C NMR (75 MHz,$CDCl_3$) δ:209.6 (C-4),179.2 (C-12),171.8 (C-16),162.3 (C-2),129.5 (C-3),79.6 (C-8),71.8 (C-6),54.8 (C-5),54.0 (C-1),49.1 (C-7),43.5 (C-17),41.0 (C-9),40.5 (C-11),25.9 (C-10),25.8 (C-18),22.4 (C-19),22.3 (C-20),19.7 (C-14),17.6 (C-15),10.9 (C-13)。以上数据与文献[9]报道的 arnicolide B 一致,故确定该化合物为 arnicolide B。

化合物 6 白色粉末;ESI-MS *m/z*:479 [M + Na]$^+$;UV ($CHCl_3$):λ_{max} 245 nm;IR (KBr) υ_{max}:2928,1690,1457,996 cm^{-1};^{1}H NMR (400 MHz,C_5D_5N) δ:5.51 (1H,s,H-12),3.47 (1H,m,H-3),1.27 (3H,s,H-23),1.25 (3H,s,H-27),1.08 (3H,s,H-26),1.05 (3H,s,H-24),1.02 (3H,d,*J* = 6.4 Hz,H-30),0.97 (3H,d,*J* = 6.0 Hz,H-29),0.91 (3H,s,H-25);^{13}C NMR (100 MHz,C_5D_5N) δ:179.9 (C-28),139.3 (C-13),125.7 (C-12),78.2 C-3),55.9 (C-5),53.6 (C-18),48.1 (C-9),48.1 (C-17),42.6 (C-14),40.0 (C-8),39.5 (C-19),39.4 (C-20),39.4 (C-4),39.1 (C-22),37.5 (C-10),37.3 (C-1),33.6 (C-7),31.1 (C-21),28.8 (C-23),28.7 (C-15),28.2 (C-2),25.0 (C-16),24.0 (C-27),23.7 (C-11),21.4 (C-30),18.8 (C-6),17.5 (C-26),17.5 (C-25),16.6 (C-29),15.7 (C-24)。以上数据与文献[10]报道的乌苏酸一致,故确定该化合物为乌苏酸 (ursolic acid)。

化合物 7 无色油状物;ESI-MS *m/z*:361 [M + Na]$^+$;UV ($CHCl_3$):λ_{max} 280 nm;IR (KBr) υ_{max}:2975,1738,1468,1159 cm^{-1};^{1}H NMR (400 MHz,$CDCl_3$) δ:6.91 (1H,d,*J* = 8.0 Hz,H-5),6.67 (1H,br s,H-2),6.63 (1H,d,*J* = 8.0 Hz,H-6),4.47 (2H,d,*J* = 11.9 Hz,H-9),4.42 (2H,d,*J* = 11.9 Hz,H-10),2.54 (2H,m,*J* = 7.0 Hz,H-2′,2″),2.25 (3H,s,H-7),1.11 (12H,d,*J* = 7.0 Hz,H-3′,3″,4′,4″);^{13}C NMR (100 MHz,$CDCl_3$) δ:177.4 (C-1′,1″),156.3 (C-3),139.9 (C-1),126.5 (C-5),120.5 (C-6),119.2 (C-4),118.4 (C-2),78.3 (C-8),67.1 (C-9,10),33.9 (C-2′,2″),20.9 (C-9),18.7 (C-3′,3″,4′,4″)。以上数据与文献[11]报道的8-羟基-9,10-双异丁酰氧基百里酚一致,故确定该化合物为 8-羟基-9,10-双异丁酰氧基百里酚 (8-hydroxy-9,10-diisobutyryloxythymol)。

化合物 8 浅黄色针晶 (甲醇),mp. 196 ~ 197 ℃;ESI-MS *m/z*:315 [M + H]$^+$;UV (CH_3OH):λ_{max} 209,257,359 nm;IR (KBr) υ_{max}:3422,1648,1613,1366,1213,805 cm^{-1};^{1}H NMR (400 MHz,DMSO-d_6) δ:12.67 (1H,s,5-OH),7.54 (1H,d,*J* = 2.2 Hz,H-2′),7.44 (1H,dd,*J* = 8.4,2.2 Hz,H-6′),6.90 (1H,d,*J* = 8.4 Hz,H-5′),6.40 (1H,d,*J* = 2.0 Hz,H-8),6.18 (1H,d,*J* = 2.0 Hz,H-6),3.78 (3H,s,3-OMe);^{13}C NMR (100 MHz,DMSO-d_6) δ:177.9 (C-4),164.1 (C-7),161.3 (C-5),156.3 (C-9),155.6 (C-2),148.7 (C-4′),145.2 (C-3′),137.6 (C-3),120.8 (C-1′),120.6 (C-6′),115.8 (C-5′),115.4 (C-2′),104.2 (C-10),98.5 (C-6),93.6 (C-8),59.7 (3-OMe)。以上数据与文献[12]报道的3-甲氧基槲皮素一致,故确定该化合物为 3-甲氧基槲皮素 (quercetin-3-methyl ether)。

化合物 9　黄色针晶（丙酮），mp. 230 ~ 232 ℃；ESI-MS *m/z*：329 [M-H]⁻；UV（CH_3OH）：λ_{max} 209，255，356 nm；IR（KBr）ν_{max}：3150，1651，1582，1503，1214，808，717 cm^{-1}；^1H NMR（400 MHz，DMSO-d_6）δ：12.67（1H，s，5-OH），7.63（1H，d，J = 2.0 Hz，H-2′），7.57（1H，dd，J = 8.4，2.1 Hz，H-6′），6.95（1H，d，J = 8.4 Hz，H-5′），6.46（1H，d，J = 2.0 Hz，H-8），6.19（1H，d，J = 2.0 Hz，H-6），3.85（3H，s，3-OMe），3.80（3H，s，3′-OMe）；^{13}C NMR（100 MHz，DMSO-d_6）δ：177.8（C-4），164.1（C-7），161.2（C-5），156.3（C-9），155.4（C-2），149.7（C-3′），147.4（C-4′），137.7（C-3），122.2（C-6′），120.8（C-1′），115.6（C-5′），112.0（C-2′），104.2（C-10），98.5（C-6），93.8（C-8），59.7（3-OCH_3），55.7（3′-OCH_3）。以上数据与文献[13]报道的3，3′-二甲氧基槲皮素一致，故确定该化合物为3，3′-二甲氧基槲皮素（quercetin-3，3′-dimethyl ether）。

化合物 10　白色粉末，mp. 295 ~ 296 ℃，Liebermann-Buerchard 反应阳性。^1H NMR（400 MHz，$CDCl_3$）δ：5.34（1H，m，H-6），4.24（1H，d，J = 7.1 Hz，H-1′）；^{13}C NMR（100 MHz，$CDCl_3$）δ：141.3（C-5），122.3（C-6），103.0（C-1′），79.0（C-3），78.9（C-3′），78.5（C-5′），75.8（C-2′），72.2（C-4′），63.3（C-6′），57.2（C-17），56.5（C-14），50.81（C-9），46.5（C-24），42.8（C-13），40.2（C-12），39.7（C-4），37.9（C-1），37.3（C-10），36.8（C-20），34.6（C-22），32.5（C-7），32.5（C-8），30.7（C-2），29.9（C-25），28.9（C-16），26.1（C-23），24.9（C-11），24.9（C-15），23.8（C-28），20.3（C-26），19.8（C-27），19.6（C-21），19.4（C-19），12.9（C-18），12.4（C-29）。以上数据与文献[14]报道的胡萝卜苷数据一致，故鉴定该化合物为胡萝卜苷（daucosterol）。

化合物 11　白色针状结晶，mp. 166 ~ 168 ℃，Liebermann-Buerchard 反应阳性。^1H NMR（400 MHz，$CDCl_3$）δ：5.04（1H，d，J = 7.3 Hz，H-6），4.56（1H，dd，J = 12.2，3.1 Hz，H-23），4.31（1H，dd，J = 12.8，5.8 Hz，H-22）；^{13}C NMR（100 MHz，$CDCl_3$）δ：141.4（C-5），139.2（C-22），129.9（C-23），122.3（C-6），72.2（C-3），57.4（C-17），56.7（C-14），51.9（C-24），50.8（C-9），42.9（C-13），41.2（C-20），40.4（C-12），39.8（C-4），37.9（C-1），37.4（C-10），32.6（C-7），32.6（C-25），32.5（C-8），30.7（C-2），29.7（C-16），26.9（C-28），24.9（C-15），21.9（C-27），21.7（C-11），21.7（C-21），19.7（C-26），19.5（C-19），12.9（C-18），12.6（C-29）。以上数据与文献[15]报道的豆甾醇数据一致，故鉴定该化合物为豆甾醇（stigmasterol）。

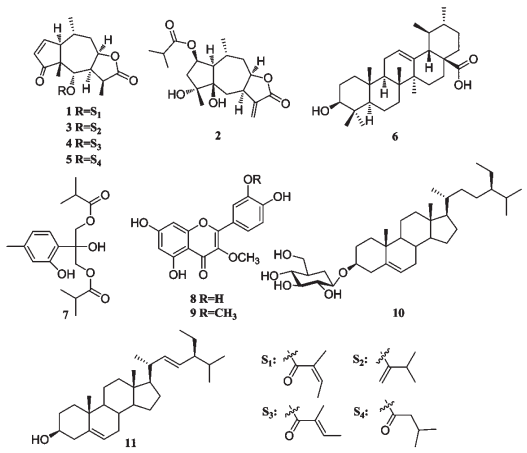

图 1　化合物 1 ~ 11 的化学结构

Fig. 1　Chemical structures of compounds **1-11**

参考文献

1　The State Administration of Traditional Chinese Materia Medica Editorial Board（国家中医药管理局《中华本草》编委会）. Traditional Chinese Materia Medica（中华本草）. Shanghai：Shanghai Science and Technology Press，1998，Vol 21：770-772.

2　Chinese Pharmacopoeia Commission（国家药典委员会）. Pharmacopoeia of the People's Republic of China（中华人民共和国药典）. Beijing：China Medical Science Press，2010，Vol I：326.

3　Gao YQ（高玉桥），Mei QX（梅全喜）. Research progress on the pharmacological and clinical study of *Centipeda*. *Global Tradit Chin Med*（环球中医药），2010，3：307-309.

4　Lin YC（林远灿），Gao M（高明）. Research progress on the chemical constituents and pharmacological study of *Centipeda minima*. *J Zhejiang Coll Tradit Chin Med*（环球中医药），2011，35：303.

5　Wu P，Su MX，Wang Y，*et al*. Supercritical fluid extraction assisted isolation of sesquiterpene lactones with antiproliferative effects from *Centipeda minima*. *Phytochemistry*，2012，76：133-140.

6　Xu RS（徐任生）. Medicinal chemistry of natural products（天然产物化学）. Beijing：Science Press，1997：224-225.

（下转第 5 页）