

毒根斑鸠菊中的一个新倍半萜的分离与鉴定

王盈盈^{1*}, 王开明², 周凤玲¹, 周晓娅¹, 钟惠民³¹ 济宁医学院基础医学院; ² 山东理工职业学院化工新材料工程学院, 济宁 272067;³ 青岛科技大学化学与分子工程学院, 青岛 266042

摘要:为了更好的研究毒根斑鸠菊 (*Vernonia cumingiana* Benth) 叶茎的化学成分与活性测定, 利用硅胶柱层析、Sephadex LH-20 等柱色谱技术对毒根斑鸠菊叶茎提取物进行了分离, 并采用现代波谱学技术 (¹H NMR、¹³C NMR、HMBC、HMQC 等) 及 X-射线单晶衍射技术并根据其理化性质鉴定了七个化合物的结构, 分别为 vernone A (**1**)、 α -波笛醇 (**2**)、 β -谷笛醇 (**3**)、芹菜素 (**4**)、桉柳素 (**5**)、羊齿烯醇 (**6**)、4-羟基-2-甲氧基肉桂醛 (**7**)。化合物 **4**~**7** 为首次从毒根斑鸠菊中分离得到, 化合物 **1** 为一个新的倍半萜类化合物。采用双层琼脂扩散法对分得的单体化合物 Vernone A 进行了抑菌活性测定, 结果显示 vernone A 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、伤寒杆菌在实验浓度范围内未表现出明显抑菌作用。

关键词: 毒根斑鸠菊; 倍半萜; 抑菌活性; 化学成分

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)2-0216-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.2.005

Isolation and structural identification of a new sesquiterpene from *Vernonia cumingiana* BenthWANG Ying-ying^{1*}, WANG Kai-ming², ZHOU Feng-ling¹, ZHOU Xiao-ya¹, ZHONG Hui-min³¹ School of Basic Medicine, Jining Medical University; ² College of Chemical New Material Engineering, Shandong Polytechnic College, Jining 272067, China;³ College of Chemistry and Molecular Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, China

Abstract: In order to better study the bioactive compounds in the chemical research of *Vernonia cumingiana* Benth, Silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography were used to isolate the chemical constituents, and seven compounds were isolated and identified through spectroscopic methods (¹H NMR, ¹³C NMR, HMBC, HMQC, etc.) chemical methods and X-ray diffraction methods, their structures were established as vernone A (**1**), α -spinasterol (**2**), β -sitosterol (**3**), apigenin (**4**), tamarixetin (**5**), fernenol (**6**), 4-hydroxy-2-methoxycinnamaldehyde (**7**). Compounds **4-7** were isolated from the *V. cumingiana* for the first time. Compound **1** is a new sesquiterpene compound. The antibacterial activity of the isolated monomeric compound vernone A was determined by double-layer AGAR diffusion method. The results showed that Vernone A had no obvious antibacterial effect on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Salmonella typhimurium* in the experimental concentration range.

Key words: *Vernonia cumingiana*; sesterpene; antibacterial activity; chemical constituent

毒根斑鸠菊 *Vernonia cumingiana* Benth 为菊科 Compositae 管状花亚科斑鸠菊族斑鸠菊属植物, 又名惊风红、过山龙、细脉斑鸠菊等, 在我国主要产于广西西部和西南部、福建、四川、云南、台湾等地区,

常攀在乔木上。该属植物有 1 000 多种, 其中有许多种可供药用, 在我国就有 12 种作为药用植物。目前对斑鸠菊属植物的化学成分和生物活性研究较多, 研究表明其化学成分复杂多样。目前对该属植物药理活性的研究已不只停留在粗提物的研究上, 近年主要对该属植物的某些单体成分进行研究, 尤其是倍半萜内酯类化合物和甾体皂苷类化合物也是近年来研究的热点。倍半萜是植物挥发油中高沸点

收稿日期: 2020-09-16 接受日期: 2020-12-24

基金项目: 济宁医学院教师科研扶持基金 (JYFC2018KJ055, JYFC2019KJ031); 大学生创新训练项目 (cx2020063); 山东理工职业学院院级课题 (2019LG024)

* 通信作者 Tel: 86-537-3616295; E-mail: ym86_87@163.com

部分的主要组成部分,倍半萜的含氧衍生物多有较强的香气和生物活性,是医药、食品、化妆品工业的主要原料,而倍半萜内酯类大多具有细胞毒性和抗癌活性。由于倍半萜类化合物具有较强的药理活性和结构骨架的多样性,长期吸引着众多学者的研究兴趣,研究显示倍半萜类化合物药理活性广泛。具有抗疟^[1]、抗肿瘤活性^[2,3]、细胞毒^[4]、抑菌^[5]、抗炎止痛等作用^[6,7]。此外,该属中许多植物还具有杀虫、抗疟作用,尤其在美洲,斑鸠菊属植物作为驱虫、抗疟疾的植物药其疗效显著^[8]。据记载此种干根或茎藤可治风湿痛、腰肌劳损、四肢麻痹等症,亦可用于感冒、发热等^[9]。斑鸠菊属植物在我国资源丰富,目前对毒根斑鸠菊植物的化学成分和药理活性研究还不够深入,存在着广阔的开发空间,尤其对毒根斑鸠菊植物的茎叶研究少之又少,因此,有必要对该植物进行更深入系统的研究,为其建立完善的质量标准。

本文对毒根斑鸠菊叶茎的95%乙醇提取物中的乙酸乙酯萃取部分进行了分离纯化,旨在丰富该植物的化学成分研究。对分离得到的新倍半萜内酯化合物进行了抗菌活性测定。为毒根斑鸠菊的进一步开发利用提供了科学参考。

1 材料与方法

1.1 材料

柱层析硅胶 H(75 ~ 150、45 ~ 75 μm)、硅胶板(青岛海洋化工厂);Sephadex LH-20(Merck 公司);循环水多用真空泵(SHB-3 型,上海亚荣盛华仪器厂);旋转蒸发仪(E-52 型,上海亚荣生化仪器厂);显微熔点仪(SGW X4 型,上海精密仪器有限公司);Buchi 中压制备色谱仪(653 型,瑞士 Buchi 公司);核磁共振仪(Bruker Avance 500 型,德国 Bruker 公司);质谱仪(Agilent Technology 5975C);单晶衍射仪(Bruker SMART-1000 CCD diffractometer XD-3 型 X 射线单晶衍射仪,XRD,德国 Bruker 公司)。试剂均为国产分析纯。

革兰氏阴性细菌(大肠杆菌 *Escherichia coli*、枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 伤寒杆菌 *Salmonella enterica*);革兰氏阳性细菌(金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*)作为检测菌种,以上菌种均为本实验室保存种。

大肠杆菌培养基、金黄色葡萄球菌培养基、枯草芽孢杆菌、伤寒杆菌所用培养基为营养肉汤和营养琼脂。营养肉汤、营养琼脂(杭州百思生物技术有限公

司);青霉素钾与庆大霉素(百灵威科技有限公司)。

本实验所用毒根斑鸠菊叶茎样品于2019年1月采自于海南省昌江黎族自治县,由青岛科技大学化学与分子工程学院钟惠民教授鉴定。凭证样品(No. 2019DGBJJ)保存于济宁医学院分子医学与化学实验室。

1.2 实验方法

1.2.1 提取和分离

准确称取毒根斑鸠菊叶茎干样 15 kg 粉碎后用 95% 乙醇加热提取 3 次,每次 5 h。合并提取液,过滤,将滤液于 50 $^{\circ}\text{C}$ 以下减压浓缩,得到浸膏 192 g。用蒸馏水将其分散成悬浊液,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取(1 500 mL \times 3),将萃取液合并后减压浓缩,得到各组分浸膏分别为:35、26、61 g。将乙酸乙酯提取物浸膏(26 g)经反复硅胶柱色谱(石油醚-丙酮梯度洗脱 100:1 \rightarrow 2:1)分得 6 个流份(Fr₁、Fr₂、Fr₃、Fr₄、Fr₅、Fr₆)。流份 Fr₂ 依次经 Sephadex LH-20 凝胶色谱(95% 乙醇)和硅胶柱色谱(石油醚-丙酮,体积比为 20:1 \rightarrow 6:1)分离,得到化合物 2(12.5 mg)、3(9 mg)。流份 Fr₃ 依次经过 Sephadex LH-20 凝胶色谱(95% 乙醇)和硅胶柱色谱(石油醚-丙酮,体积比为 10:1 \rightarrow 1:1)分离,得到化合物 4(6.5 mg)。流份 Fr₄ 依次经过 Sephadex LH-20 凝胶色谱(95% 乙醇)和硅胶柱色谱(氯仿-甲醇,体积比为 30:1 \rightarrow 10:1)分离,得到化合物 5(7.6 mg)、6(9.8 mg)。流份 Fr₅ 依次经过中压色谱柱和硅胶柱色谱(氯仿-甲醇,体积比为 10:1 \rightarrow 3:1)分离,得到化合物 7(5.2 mg)。流份 Fr₆ 依次经过 Sephadex LH-20 凝胶色谱(95% 乙醇)和硅胶柱色谱(石油醚-丙酮,体积比为 6:1 \rightarrow 2:1)分离,得到化合物 1(11.5 mg)。

1.2.2 抗菌活性测定

本实验采用双层琼脂扩散法对化合物 1 进行抗大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、伤寒杆菌、金黄色葡萄球菌 4 种菌株活性的测定,以青霉素钾与庆大霉素作为阳性对照。将所用菌群活化后并调整菌体浓度为 1×10^6 CFU/mL。于无菌平皿中倒入 10 mL 的 1.5% 的素琼脂,待其凝固后用无菌镊子取灭菌的牛津杯(直径 8 mm)数个,按一定次序整齐排列于平皿中。取 50 μL 活化好的菌群悬液加入到 15 mL 冷却至 50 $^{\circ}\text{C}$ 左右的半固体牛肉膏蛋白胨培养基中,迅速混匀,将混合均匀的培养基倾倒在底层素琼脂上,待其充分冷却凝固后,以无菌镊子取出牛津杯,即形成若干孔洞。配制无菌化合物 1 溶液(1 mg/mL),

按照顺时针方向依次在牛津杯中加入 120 μL 抑菌液,以双抗作阳性对照。超净工作台上放置 2 h 后,置 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱培养过夜,观察是否出现抑菌圈,出现抑菌圈的用游标卡尺测量抑菌圈直径。

2 结构鉴定

2.1 化合物 1 的结构鉴定

2.1.1 晶体结构测试

选取合适尺寸的化合物 1 单晶,放于 X 射线单晶衍射仪上,用经过石墨单色器单色化的 $\text{MOK}\alpha$ 射线($\lambda = 0.71073$)作为光源,于 293(2) K 温度下,经 φ - ω 扫描方式,在一定角度范围内收集所有衍射点,选取 $I > 2\sigma(I)$ 的一定数量独立衍射点用于结构的测定与修正,数据经 L_p 因子及半经验吸收校正,所有计算经 SHELXL97 程序解出,非氢原子坐标和各向异性温度因子经全矩阵最小二乘法对 F^2 修正,晶体结构由直接法和 Fourier 合成法解出。

2.1.2 晶体结构解析

化合物 1 在 $2.55^{\circ} \leq \theta \leq 25.02^{\circ}$ 范围内共收集 3 001 个衍射点,其中 2 105 [$R(\text{int}) = 0.0339$] 个独立衍射点,精修参数为 237 个,最终偏差因子 $R1 = 0.0449$, $wR2 = 0.0875$,最大残余峰为 0.172 $e. \text{\AA}^{-3}$,最小残余峰为 -0.168 $e. \text{\AA}^{-3}$ 。该化合物属于单斜晶系,波长: $\text{Mo K}\alpha$ radiation (0.71073 \AA), $M_w = 360.35$, 温度: 293(2) K, 尺寸: 0.34 mm \times 0.25 mm \times 0.20 mm, 空间群为 $P2(1)$, CCDC 号: 959512, 晶体学参数为: $a = 10.1693(7)$, $b = 7.8196(6)$, $c = 11.0028(8)$, $\alpha = 90^{\circ}$, $\beta = 98.3250(10)^{\circ}$, $\gamma = 90^{\circ}$, 晶体密度为: 21.382 mg/m^3 , 化合物的不饱和度为: $\Omega = 10$ 。通过 X 射线晶体分析确定了该化合物的相对构型为 $3R^*$ 、 $4R^*$ 、 $12S^*$ 。该化合物的晶体结构及堆积图如图 1 所示。

2.1.3 波谱解析

TOF-MS: 361.1 [$M + H$] $^+$, 378.1 [$M + H_2O$] $^+$, 383.1 [$M + Na$] $^+$, 399.1 [$M + K$] $^+$, HR-ESI-MS: m/z 361.1282 [$M + H$] $^+$ (calcd for $C_{19}H_{21}O_7$, 361.1287); UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 215 (3.20) nm; $[\alpha]_D^{20} + 16(c 0.4, \text{MeOH})$; 结合 ^{13}C NMR 谱确定化合物分子式为 $C_{19}H_{20}O_7$, 分子量为 360, 化合物 1 的 ^{13}C NMR 谱显示出 17 个碳信号 δ : 21.6, 26.5, 47.2, 59.9, 71.8, 73.9, 124.9, 127.6, 134.9, 139.2, 141.1, 149.8, 156.2, 164.9, 169.1, 194.9, 195.8。其中 26.5 和 141.0 各为 2 个碳原子的重叠信号。由 DEPT90 谱可知其中含有 7 个次甲基: 47.2,

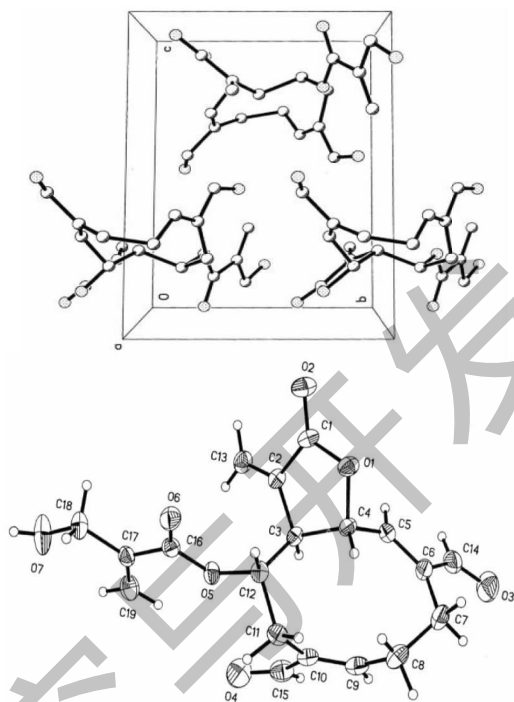


图 1 化合物 1 的晶体结构及堆积图

Fig. 1 Crystal structure and packing diagram of 1

71.8, 73.9, 149.8, 156.2, 194.9, 195.8; 由 DEPT 135 谱可知其中含有 6 个亚甲基: 21.6, 26.5, 59.9, 124.9, 127.6; 其余信号包含 6 个季碳, δ : 194.9 和 δ : 195.8 两个信号表明化合物结构中存在两个醛基; 与 ^1H NMR 谱中两个醛基的质子信号 δ 9.40, 9.37 相对应。 δ 164.9 和 169.1 两个信号表明化合物结构中存在两个酯羰基; 其它不饱和碳信号表明化合物中存在四个不饱和碳-碳双键, 其中 δ 124.9 和 127.6 两个亚甲基信号表明有两个碳-碳双键为端烯的信号。亚甲基中一个为连氧碳, 次甲基中两个连氧碳。

由 H-H COSY 得出氢原子相关信号 H-5 (δ_{H} 6.55)-H-4 (δ_{H} 5.78)-H-3 (δ_{H} 3.02)-H-12- (δ_{H} 4.98)-H-11 (δ_{H} 2.76, 3.02) 和 H-7 (δ_{H} 2.46, 2.92)-H-8 (δ_{H} 2.46, 3.02)-H-9 (δ_{H} 6.71) 推导出化合物含有 $=\text{CH}-\text{CH}-\text{O}-$ 与 $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH})-\text{CH}-\text{O}-$ 片段。HMBC 相关显示 H-3 与 C-5 (δ_{C} 149.8)、C-13 (δ_{C} 127.6)、C-1 (δ_{C} 169.1), H-4 与 C-6 (δ_{C} 141.1)、C-12 (δ_{C} 71.8)、C-2 (δ_{C} 134.9), H-5 与 C-7 (δ_{C} 21.6)、C-14 (δ_{C} 195.8), H-7 与 C-9 (δ_{C} 141.1)、C-14 (δ_{C} 195.8), H-9 与 C-15 (δ_{C} 194.9)、C-11 (δ_{C} 26.5), H-11 与 C-15 (δ_{C} 194.9)、H-12 与 C-10 (δ_{C} 139.3), H-13 与 C-1 (δ_{C} 169.1) 相关。化合物 1 的关键 HMBC 和 H-H COSY 相关图 (见图 2) 这些相关性表明该化合物具

有 gemacrane 型碳骨架。与已知化合物 4'-hydroxypectoralid^[10] 相比两个羟基氧化成了两个醛基, HMBC 中得知 H-12 同 C-16(δ_c 164.9) 相关确定该化合物的结构为 2-hydroxy methyl acryl acid, 经文

献检索该化合物为一新化合物, 命名为 vernone A, 其核磁共振氢谱与碳谱数据见表 1。化合物 1 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 (www.trew.ac.cn)。

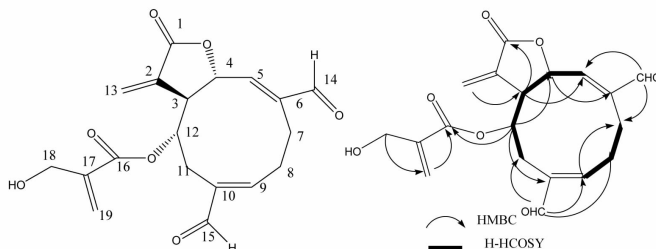


图 2 化合物 1 的关键 HMBC 和 H-H COSY 相关图

Fig. 2 Key HMBC and H-H COSY correlation diagram of compound 1

表 1 化合物 1 的 ^1H 和 ^{13}C 谱数据

Table 1 ^1H and ^{13}C NMR data of 1 (500 and 125 MHz in DMSO)

Position	δ_c	δ_H (J in Hz)
1	169.1	
2	134.9	
3	47.2	3.02, m
4	73.9	5.78, 1H, t(9.5)
5	149.8	6.55, 1H, d(9.5)
6	141.1	
7	21.6	2.48, 1H, s 2.92, 1H, m
8	26.5	2.46, 1H, s 3.02, 1H, m
9	156.2	6.71, 1H, dd(10, 5.5)
10	139.3	
11	26.5	2.76, 1H, t(3) 3.02, 1H, m
12	71.8	4.98, 1H, t(3.5)
13	127.6	5.73, 1H, t(9.5) 6.17, 1H, d(10)
14	195.8	9.37, 1H, s
15	194.9	9.40, 1H, s
16	164.9	
17	141.1	
18	59.9	4.12, 2H, d(5)
19	124.9	5.87, 1H, s 6.19, 1H, d(10)

2.2 化合物 2~7 结构鉴定

化合物 2 白色片状结晶; mp. 136 °C; 分子式 $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.05 (1H, m, H-7), 5.16 (1H, dd, $J = 14.8, 8.4$ Hz, H-22), 5.24 (1H, dd, $J = 15.2, 8.4$ Hz, H-23), 3.62 (1H, m, H-3), 0.56 (3H, s, CH_3 -18), 0.79 (3H, s, CH_3 -19), 0.83 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, CH_3 -27), 0.83 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_3 -29), 0.85 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, CH_3 -26), 1.05 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, CH_3 -21); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 37.2 (C-1), 31.6 (C-2), 71.3 (C-3), 38.2 (C-4), 40.1 (C-5), 29.6 (C-6), 117.6 (C-7), 139.6 (C-8), 49.4 (C-9), 34.3 (C-10), 21.5 (C-11), 39.6 (C-12), 43.3 (C-13), 55.2 (C-14), 23.0 (C-15), 28.5 (C-16), 55.9 (C-17), 12.3 (C-18), 13.0 (C-19), 40.8 (C-20), 21.2 (C-21), 138.2 (C-22), 129.5 (C-23), 51.2 (C-24), 31.9 (C-25), 21.5 (C-26), 19.2 (C-27), 25.4 (C-28), 12.1 (C-29)。以上数据与文献^[11]报道的数据一致, 故鉴定化合物 2 为 α -蒎烯醇。

化合物 3 白色针状结晶 (氯仿); mp. 140 ~ 142 °C; Libermann-Burchard 反应呈阳性; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.35 (1H, s, H-6), 3.55 (1H, m, H-3), 2.28 (2H, m, H-4), 2.00 (2H, s, H-7), 1.65 (1H, m, 3-OH); ^{13}C NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 37.3 (C-1), 31.5 (C-2), 72.3 (C-3), 42.2 (C-4), 140.9 (C-5), 120.9 (C-6), 31.6 (C-7), 32.0 (C-8), 49.9 (C-9), 36.2 (C-10), 20.9 (C-11), 39.1 (C-12), 41.8 (C-13), 56.8 (C-14), 24.2 (C-15), 27.7 (C-16),

55.9 (C-17), 11.9 (C-18), 19.6 (C-19), 39.5 (C-20), 21.2 (C-21), 31.1 (C-22), 23.2 (C-23), 29.5 (C-24), 29.9 (C-25), 20.3 (C-26), 19.2 (C-27), 23.6 (C-28), 12.2 (C-29)。以上波谱数据与文献数据^[12]报道基本一致,故鉴定化合物**3**为 β -谷甾醇。

化合物 4 淡黄色结晶; mp. 228 °C; ESI-MS: m/z 269 [M-H]⁻; ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ : 12.96 (1H, s, 5-OH), 10.77 (1H, s, 7-OH), 10.46 (1H, s, 4'-OH), 7.90 (2H, d, J = 9.0 Hz, H-2', 6'), 6.97 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.78 (1H, s, H-3), 6.47 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-6); ¹³C NMR (500 MHz, DMSO) δ : 183.1 (C-4), 165.2 (C-2), 165.2 (C-7), 163.4 (C-5), 162.1 (C-4'), 158.7 (C-9), 129.2 (C-2', 6'), 123.2 (C-1'), 117.0 (C-3', 5'), 105.3 (C-10), 104.2 (C-3), 99.7 (C-6), 94.8 (C-8)。以上数据与文献^[13]报道的芹菜素数据吻合,故鉴定化合物**4**为芹菜素。

化合物 5 黄色粉末; mp. 262 °C; 分子式 C₁₆H₁₂O₇; ESI-MS: m/z 315 [M-H]⁻; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.80 (1H, s, 5-OH), 7.71 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.58 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6'), 7.01 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.49 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.25 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 3.86 (1H, s, 4'-OCH₃); ¹³C NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 178.7 (C-4), 164.1 (C-7), 162.4 (C-9), 156.9 (C-5), 155.9 (C-4'), 148.3 (C-2), 144.9 (C-3'), 138.5 (C-3), 122.2 (C-1'), 121.2 (C-6'), 115.5 (C-2'), 115.4 (C-5'), 104.0 (C-10), 98.5 (C-6), 93.6 (C-8), 59.3 (4'-OCH₃)。上述数据与文献^[14]所报道的桉柳素数据吻合,因此确定该化合物为桉柳素。

化合物 6 白色晶体; mp. 194 °C; 分子式为 C₃₀H₅₀O; EI-MS: m/z 426 [M]⁺; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 3.22 (1H, dd, J = 10.5, 5.0 Hz, H-3), 5.31 (1H, d, J = 6.3 Hz, H-11), 0.97 (3H, s, H-23), 0.87 (3H, s, H-24), 1.07 (3H, s, H-25), 0.74 (3H, s, H-26), 0.82 (3H, s, H-27), 0.76 (3H, s, H-28), 0.90 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-29), 0.85 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-30); ¹³C NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 39.2 (C-1), 28.1 (C-2), 79.1 (C-3), 39.2 (C-4), 44.2 (C-5), 17.9 (C-6), 19.1 (C-7), 39.9 (C-8), 150.9 (C-9), 37.6 (C-10), 116.1 (C-11), 36.7 (C-12, 13), 37.7 (C-14), 29.2 (C-15), 36.1 (C-16), 42.9 (C-17), 51.9 (C-18), 20.1 (C-19), 28.1 (C-

20), 59.6 (C-21), 30.7 (C-22), 27.4 (C-23), 14.9 (C-24), 25.2 (C-25), 15.3 (C-26), 15.8 (C-27), 13.9 (C-28), 22.1 (C-29), 22.9 (C-30)。以上数据与文献^[15]报道基本一致,故鉴定该化合物**6**为羊齿烯醇。

化合物 7 浅褐色油状物; ESI-MS: m/z 177 [M-H]⁻; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 9.65 (1H, d, J = 8.0 Hz, -CHO), 7.41 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-3), 7.14 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-5'), 7.08 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-3'), 6.97 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-6'), 6.59 (1H, dd, J = 16.0, 7.5 Hz, H-2), 3.96 (3H, s, 2'-OCH₃)。 ¹H NMR 数据与文献^[16]报道的 4-羟基-2-甲氧基肉桂醛数据一致,在薄层板上以不同的展开体系与标准品对照其 R_f 值相同,浓硫酸显色相同,样品与标准品混合测熔点不下降,因而鉴定为 4-羟基-2-甲氧基肉桂醛。

3 讨论与结论

从毒根斑鸠菊叶茎乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部分经硅胶和 Sephadex LH-20 层析柱分离得到了 7 个化合物,它们分别是 vernone A (**1**)、 α -波甾醇 (**2**)、 β -谷甾醇 (**3**)、芹菜素 (**4**)、桉柳素 (**5**)、羊齿烯醇 (**6**)、4-羟基-2-甲氧基肉桂醛 (**7**)。其中化合物 **4** ~ **7** 是首次从该植物中提取得到,化合物 **1** 为一个新的倍半萜内酯化合物。抑菌结果显示 vernone A 在实验浓度范围内对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌及伤寒杆菌未表现出明显抑菌作用。该倍半萜对所筛查的菌落抑菌作用不明显,对该化合物的活性作用需进行进一步筛查。本文报道了其分离方法、结构鉴定、活性测定,为毒根斑鸠菊的综合开发和利用提供了一定理论基础和依据。

Vernone A 为一个新的吉马烷型倍半萜内酯,结构上首次发现含有两个醛基的吉马烷型倍半萜内酯,而吉马烷型倍半萜是几类倍半萜骨架的生物合成前体。由于结构特性,部分倍半萜具有较好的抗肿瘤、抗炎、抗疟、杀虫、抗病毒等生物活性。因此,基于倍半萜成分对斑鸠菊属植物资源进行研究与开发利用将具有广阔的前景。虽然目前对斑鸠菊属植物中倍半萜类成分的研究取得了一定的进展,但是也存在一些不足。从得到的化学成分来看,研究目标主要在倍半萜,但多数倍半萜结构复杂,存在构象异构体和构型异构体,采用传统色谱方法分离较为困难。在药理活性方面,近年来研究^[3,7,8]表明部分倍半萜化合物有较好的抗炎、抗疟活性,并从信号通

路、作用靶点上解释了其抗炎机制,但是药理活性的研究主要集中在单体化合物的体外活性筛选,而体内药效评价、作用机制及构效关系的研究甚少,可能与化合物产量不够无法深入研究有关。

鉴于此,今后对斑鸠菊属药用植物的深入研究与开发中,建议从以下几点着手:①采用更先进的方法和手段从斑鸠菊属植物中分离、鉴定更多的倍半萜类化合物,如 LC-MS, UPLC-MS 等;②对筛选得到的强活性倍半萜类化合物进行大量制备或合成,以便深入进行体内药效评价及机制靶点的研究;③研究显示不少倍半萜有极好的抗肿瘤效果,迄今为止,自斑鸠菊属分离得到的倍半萜内酯类化学成分具有极好的抗疟、抗肿瘤活性,可利用构效关系研究,对倍半萜类成分进行结构修饰,开发更适于临床的抗肿瘤药物。此外,斑鸠菊属植物在我国资源丰富,目前该属植物的化学成分和药理活性研究还不够深入,存在广阔的开发空间。因此有必要对该属植物进行更深入系统的研究,为其建立完善的质量标准。

参考文献

- 1 Yang Z. Antitumor research and clinical applications of bitter leaf[J]. J Nanjing Med Univ (南京中医药大学学报), 2013, 29:397-400.
- 2 Russell BW, Andrew N, Carla S, et al. Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Vernonia pachyclada* from the madagascar rainforest[J]. J Nat Prod, 2005, 68:1371.
- 3 Zhou Y, Yang K, Wu T, et al. Sesquiterpenoids from the rootstock of *Saussurea lappa*[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32:1876-1881.
- 4 José Q, Francisco E. Recent advances on cytotoxic sesquiterpene lactones[J]. Curr Pharm Des, 2018, 24:4355-4361.
- 5 Luciane NC, Jasmina G, Marina S, et al. Antimicrobial activity of essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) aerial parts at flowering period [J]. Front Plant Sci, 2019, 29:27.
- 6 Wu MF, Wang J, Gu L, et al. Research progress on anti-inflammatory and antioxidant biological effects of *Vernonia amygdalina*[J]. Subtrop Plant Sci (亚热带植物科学), 2019, 48:366-372.
- 7 Meng H, Xia XY, Ma GX, et al. Chemical constituents and anti-inflammatory activity from heartwood of *Dalbergia odorifera*[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2018, 30:800-806.
- 8 Liu QH, Yang JS, Suo MR. Progress in study on the chemical constituents about sesquiterpene lactones and steroidal saponins from genus *Vernonia* and their pharmacological activities [J]. Chin J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2007, 32:10-17.
- 9 Sun L, Ba YL, Yu LH, et al. Research progress on pharmacological activities of *Vernonia*[J]. Xinjiang Med J (新疆中医药), 2009, 27:82-85.
- 10 Jakupovic J, Baruah RN, Chau Thi TV, et al. New vernolepin derivatives from *Vernonia glabra* and glaucolides from *Vernonia scorpioides*[J]. Planta Med, 1985, 51:378-380.
- 11 Li W, Chen YF, WU N, et al. Chemical constituents from leaves of *Momordica charantia*[J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2012, 43:1712-1715.
- 12 Wang YY, Liang X, Zhong HM. Chemical constituents of *Lysimachia stenosepala* var. *flavescens* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2012, 43:1280-1284.
- 13 Liang CM, Yang B. Chemical constituents of *Monochasma savatieri*[J]. Guangdong Chem Ind (广东化工), 2020, 47:6-15.
- 14 Chen LS, Liang XX, Cai ZY, et al. Chemical constituents from *Tamarix chinensis*[J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2014, 45:1829-1833.
- 15 Zhang K, Zhao M, Wang MJ, et al. Triterpenoids isolated from leaves of *Ledum palustre*[J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49:1250-1254.
- 16 Sun RQ, Sacalis JN, Chin CK, et al. Bioactive aromatic compounds from leaves and stems of *Vanilla fragrans*[J]. J Agr Food Chem, 2001, 49:5161-5164.