

## 水朝阳旋覆花中的 7 个倍半萜内酯

黄火强\* 朴香兰 闫美娜 崔箭

(中央民族大学中国少数民族传统医学研究院中国少数民族传统医学教育部重点实验室,北京 100081)

**[摘要]** 目的:研究水朝阳旋覆花 *Inula helianthus-aquatica* 花序中的化学成分。方法:运用正/反相硅胶柱色谱、Sephadex HL-20 凝胶色谱、HPLC 等色谱方法分离纯化化合物,利用 MS、NMR 等波谱学技术鉴定化合物结构。结果:从水朝阳旋覆花的花中分离鉴定出 7 个倍半萜内酯化合物:芳香堆心菊素(1)、 $\delta$ -表-堆心菊内酯(2)、水朝阳内酯(3)、 $\delta$ -表-去乙酰基异薄菊灵(4)、天名精内酯(5)、2,3-二氢芳香堆心菊素(6)、二氢锦菊素(7)。结论:化合物 1、2、4、5 为首次从该植物中分离得到。

**[关键词]** 水朝阳旋覆花;倍半萜内酯;结构鉴定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0112-04

### Seven Sesquiterpene Lactones from Flower of *Inula helianthus-aquatica*

HUANG Huo-qiang\*, PIAO Xiang-lan, YAN Mei-na, CUI Jian

(Key Lab of Chinese Minority Traditional Medicine, Ministry of Education, Academe of Chinese Minority Traditional Medicine, Minzu University of China, Beijing 100081, China)

**[收稿日期]** 20110506(007)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30973960/H2818)

**[通讯作者]** \*黄火强,博士,助理研究员,从事民族药物物质基础研究, Tel: 010-68933254-805, 13691453450, E-mail: huanghuoqiang888@163.com

**2.2.10 样品含量测定及限度确定** 取 3 个批号的腰痛片 2.2.4 项下的方法制备供试品溶液,分别测定其含量,结果分别为 0.676 5, 0.681 3, 0.599 3 mg/片。

根据测定结果,拟定本品中含杜仲叶以绿原酸( $C_{16}H_{18}O_9$ )计不低于 0.50 mg/片。

### 3 讨论

**3.1 补骨脂的 TLC 定性鉴别** 补骨脂中含有补骨脂素等香豆素类成分。本实验用乙酸乙酯超声处理制备供试品溶液、补骨脂素对照品溶液和补骨脂对照药材溶液。结果表明该鉴别方法专属性强,阴性无干扰。

**3.2 赤芍的 TLC 定性鉴别** 本实验用乙醇提取制备供试品溶液、芍药苷对照品溶液和赤芍对照药材溶液。按实验方法操作,显色后观察,供试品色谱中,在与对照品和对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性对照色谱在与对照品和对照药材色谱相应的位置上,不显相同颜色的斑点。试验结果表明该鉴别方法专属性强,阴性无干扰。

**3.3 绿原酸的含量测定** 腰痛片原部颁标准中无含量测定项,因杜仲叶具有与杜仲相似的温补肾阳的作用,我们参考部分文献<sup>[2-5]</sup>,通过实验建立了高效液相色谱法测定杜仲叶中绿原酸的含量,并对该方法进行了方法学验证,样品实测结果表明方法简单、可行,但有待于发现更完善的含量测定方法。

### [参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准. 中药成方制剂,第 5 册[S]. 1992: 191.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010: 154, 1190.
- [3] 张凤云,毛富春. 杜仲叶中绿原酸的测定方法比较[J]. 西北林学院学报, 1996, 11(6): 54.
- [4] 许华. 杜仲不同部位绿原酸含量的比较[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(28): 8787.
- [5] 兰小艳,黄敏,张学俊. 杜仲叶中绿原酸醇提法的工艺研究[J]. 中国农学通报, 2009, 25(18): 84.

[责任编辑 蔡仲德]

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the chemical constituents of the flowers of *Inula helianthus-aquatica*. **Method:** Various chromatography methods such as silica gel, RP-18 Sephadex LH-20 column chromatography, HPLC and et al were used to isolate the compounds from the flowers of *I. helianthus-aquatica*. The structures of these compounds were elucidated by spectral analysis. **Result:** Seven sesquiterpene lactones were isolated and elucidated as aromaticin (1), 8-epihelenalin (2), bigelovin (3), 6-*epi*-desacetylisotenulin (4), carpesiolin (5), 2,3-dihydroaromaticin (6), ergolide (7). **Conclusion:** Compounds 1, 2, 4 and 5 were isolated from *I. helianthus-aquatica* for the first time.

**[Key words]** *Inula helianthus-aquatica*; sesquiterpene lactones; structure identity

水朝阳旋覆花 *Inula helianthus-aquatica* C. Y. Wu ex Ling 为菊科旋覆花属植物,又名水朝阳花、水朝阳草等。在我国主要产于云南、四川、甘肃南部和贵州西部<sup>[1]</sup>。水朝阳旋覆花全株供药用<sup>[1]</sup>,据《中药大辞典》记载,其具有软坚、清热解表、降气祛痰的功能,用于治疗发热、眼痛、百日咳、经如胶漆等症。另据《抗癌中药大全》记载,其水提液或醇提液有较强的抑制癌细胞增殖作用,其抗癌效价大于常用化疗药5-氟尿嘧啶<sup>[2]</sup>。云南民间用于治疗乳腺癌、脑部肿瘤、纵隔肿瘤、结肠癌、胃癌等<sup>[3]</sup>。

梁明达<sup>[4]</sup>及 Wang Qin 等<sup>[5]</sup>分别从水朝阳旋覆花中分离得到倍半萜内酯化合物 ergolide(二氢锦菊素),并开展了一系列体外和体内抗癌活性研究。Park 等<sup>[6]</sup>发现该化合物对 HL-60, A549, MCF7, HCT-15, sk-ov-3 和 Malme-3M 等肿瘤细胞株具有细胞毒活性。为进一步研究水朝阳旋覆花的化学成分,我们利用色谱学和波谱学方法从该植物中分离鉴定了7个倍半萜内酯类化合物,其中化合物1, 2, 4, 5是首次从该植物中分离得到。

## 1 材料

旋光经 SEPA-300 型旋光仪测定;质谱(EI-MS, FAB-MS, HR-ESI-MS)用 VG Autospec-3000 型质谱仪测定,其中 EI-MS 在 70 eV 下测定;核磁共振谱用 Bruker AM-400 型和 DRX-500 型超导核磁共振仪测定, TMS 为内标;薄层色谱板和色谱硅胶由青岛海洋化工厂生产;Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司生产;RP-18 反相硅胶为 Merck 公司生产;MCI 材料为日本三菱化学生产;Agilent 1100 液相色谱仪;HPLC 半制备柱(为 YMC-Pack, ODS 规格)。

样品于2004年采集于云南大理,经昆明植物研究所李西文研究员鉴定为水朝阳旋覆花 *I. helianthus-aquatica*。

## 2 提取分离

水朝阳旋覆花地上部分采集后,将花和叶分别晾干。将晾干的花 10 kg 先用工业汽油热提 3 次,将提取液合并浓缩成浸膏 560 g。浸膏以 200 目硅胶上柱,以石油醚-丙酮 100:0~0:100 洗脱,经 TLC 检测后合并为 5 个组分(组分 A~E)。B 组分 300 目硅胶上柱,石油醚-丙酮 10:1 洗脱,再经 MCI 色谱柱 40% 甲醇洗脱,得到化合物 1(12 mg)。C 组分以丙酮为溶剂重结晶得到化合物 3(30 mg),重结晶后的母液浓缩后经硅胶柱色谱以石油醚-丙酮 10:1~3:1 洗脱, TLC 检测合并的 3 个组分, C-1 经 RP-18 反相硅胶柱色谱以 40% 甲醇洗脱得到化合物 2(13 mg), C-2 和 C-3 分别用 HPLC 以 40% 和 60% 甲醇分离得到化合物 4(140 mg) 和化合物 5(15 mg)。

工业汽油提取后的样品晾干,挥去溶剂。再用工业乙醇热浸提取 3 次,合并提取液浓缩成浸膏。将浸膏溶于水,分别用乙酸乙酯和正丁醇萃取,浓缩萃取液得乙酸乙酯部位 410 g,正丁醇部位 300 g。乙酸乙酯部位经 200 目硅胶,石油醚-丙酮 5:1~0:5 洗脱, TLC 检测合并的 4 个组分(F~I)。组分 G 经 MCI 柱 30%~100% 甲醇水溶液洗脱,得 2 个组分 G1 和 G2, G1 用 H 硅胶上柱以石油醚-丙酮 5:1 洗脱得到化合物 6(55 mg), G2 用 RP-18 上柱以 40% 甲醇水溶液洗脱得到化合物 7(48 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物 1 无色片状晶体。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 2.75 (1H, dt, 10.4, 2.1 Hz, H-1), 7.64 (1H, dd, 6.0, 1.6 Hz, H-2), 6.14 (1H, dd, 6.0, 2.8 Hz, H-3), 1.65 (1H, dd, 14.5, 11.1 Hz, H-6a), 2.50 (1H, dd, 14.5, 7.2 Hz, H-6b), 2.90 (1H, m, H-7), 4.51 (1H, ddd, 12.2, 9.6, 3.1 Hz, H-8), 1.46 (1H, dd, 24.6, 12.0 Hz, H-9a), 2.54 (1H, m, H-9b), 2.15 (1H, m, H-10), 5.53 (1H, d, 3.2 Hz, H-13a), 6.20

(1H, d, 3.5 Hz, H-13b), 1.26 (3H, d, 6.6 Hz, H-14), 1.19 (3H, s, H-15)。<sup>13</sup>C-NMR-DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 54.2 (d, C-1), 161.6 (d, C-2), 130.3 (d, C-3), 213.7 (s, C-4), 51.2 (s, C-5), 32.0 (t, C-6), 46.5 (d, C-7), 79.6 (d, C-8), 44.2 (t, C-9), 27.9 (d, C-10), 140.2 (s, C-11), 169.6 (s, C-12), 120.2 (t, C-13), 19.8 (q, C-14), 27.1 (q, C-15)。EI-MS: *m/z* 246 [M]<sup>+</sup> (48)。以上数据与文献[7]报道的化合物 aromaticin 波谱数据基本一致,所以确定化合物 1 为 aromaticin(芳香堆芯菊素)。

化合物 2 无色针状晶体。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 2.98 (1H, ddd, 9.0 2.2 2.2 Hz, H-1), 7.76 (1H, dd, 6.0 1.7 Hz, H-2), 6.13 (1H, dd, 6.0, 2.7 Hz, H-3), 4.14 (1H, dd, 8.4 1.9 Hz, H-6), 2.90 (1H, ddd, 13.0 8.2 3.2 Hz, H-7), 4.52 (1H, ddd, 11.8 10.2 2.8 Hz, H-8), 2.51 (1H, ddd, 13.0 4.2, 3.2 Hz, H-9a), 1.51 (1H, dd, 24.6 11.7 Hz, H-9b), 2.04 (1H, m, H-10), 6.22 (1H, d, 3.5 Hz, H-13a), 6.00 (1H, d, 3.2 Hz, H-13b), 1.26 (3H, d, 6.5 Hz, H-14), 1.17 (3H, s, H-15)。<sup>13</sup>C-NMR-DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 51.1 (d, C-1), 164.7 (d, C-2), 130.8 (d, C-3), 213.6 (s, C-4), 58.2 (s, C-5), 73.9 (d, C-6), 53.7 (d, C-7), 75.9 (d, C-8), 44.0 (t, C-9), 27.1 (d, C-10), 138.6 (s, C-11), 169.4 (s, C-12), 121.7 (t, C-13), 19.8 (q, C-14), 23.7 (q, C-15)。EI-MS: *m/z* 262 [M]<sup>+</sup> (3), 124 (100)。以上数据与文献[6]报道的化合物 8-*epi*-helenalin 波谱数据一致,所以确定化合物 2 为 8-*epi*-helenalin(8-表-堆芯菊内酯)。

化合物 3 无色针状晶体。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 3.05 (1H, ddd, 2.5 2.5 8.9 Hz, H-1), 7.73 (1H, dd, 6.0 1.8 Hz, H-2), 6.13 (1H, dd, 6.0, 2.8 Hz, H-3), 5.63 (1H, d, 7.5 Hz, H-6), 3.10 (1H, ddd, 13.6 7.4 3.4 Hz, H-7), 4.64 (1H, ddd, 11.6 10.4 2.8 Hz, H-8), 2.59 (1H, ddd, 13.2 4.0, 3.2 Hz, H-9α), 1.57 (1H, ddd, 24.9 12.0 Hz, H-9β), 2.08 (1H, m, H-10), 5.93 (1H, d, 3.1 Hz, H-13a), 6.24 (1H, d, 3.5 Hz, H-13b), 1.31 (3H, d, 5.6 Hz, H-14), 1.23 (3H, s, H-15), 1.99 (3H, s, CH<sub>3</sub>CO)。<sup>13</sup>C-NMR-DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 52.1 (d, C-1), 162.6 (d, C-2), 130.7 (d, C-3), 209.1 (s, C-4), 56.2 (s, C-5), 73.0 (d, C-6), 53.9

(d, C-7), 76.1 (d, C-8), 44.3 (t, C-9), 27.1 (d, C-10), 137.1 (s, C-11), 169.6 (s, C-12), 122.1 (t, C-13), 19.7 (q, C-14), 22.6 (q, C-15), 168.9 (s, COCH<sub>3</sub>), 21.0 (q, COCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献[5]报道的化合物 bigelovin 波谱数据一致,所以确定化合物 3 为 bigelovin(水朝阳内酯)。

化合物 4 无色片状晶体。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ 7.70 (1H, dd, 5.9 1.7 Hz, H-2), 6.05 (1H, dd, 5.9 2.8 Hz, H-3), 4.00 (1H, d, 8.7 Hz, H-6), 4.55 (1H, dd, 11.3 3.3 Hz, H-8), 1.93 (1H, m, H-10), 1.17 (3H, d, 5.7 Hz, H-13), 1.21 (3H, d, 7.8 Hz, H-14), 1.06 (3H, s, H-15)。<sup>13</sup>C-NMR-DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): δ 53.0 (d, C-1), 164.8 (d, C-2), 130.7 (d, C-3), 213.6 (s, C-4), 57.2 (s, C-5), 69.5 (d, C-6), 50.6 (d, C-7), 76.5 (d, C-8), 44.6 (t, C-9), 26.8 (d, C-10), 37.9 (d, C-11), 178.8 (s, C-12), 11.7 (q, C-13), 19.7 (q, C-14), 23.4 (q, C-15)。EI-MS: 264 [M]<sup>+</sup> (7)。以上数据与文献[8]报道的化合物 6-*epi*-desacetylisotenulin 波谱数据一致,故化合物 4 确定为 6-*epi*-desacetylisotenulin(6-表-去乙酰基异薄菊灵)。

化合物 5 无色片状结晶。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 1.01 (3H, s, H-15), 1.07 (3H, d, 6.5 Hz, H-14), 2.87 (1H, m, H-7), 3.00 (1H, d, 2.8 Hz, C-6-OH), 4.00 (1H, dd, 8.7 2.8 Hz, H-6), 4.37 (1H, ddd, 11.8 9.9 2.8 Hz, H-8), 5.97 (1H, d, 3.2 Hz, H-13a), 6.10 (1H, d, 3.5 Hz, H-13b)。<sup>13</sup>C-NMR-DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 51.9 (d, C-1), 24.5 (t, C-2), 44.1 (t, C-3), 223.9 (s, C-4), 57.7 (s, C-5), 75.2 (d, C-6), 45.1 (d, C-7), 76.0 (d, C-8), 37.6 (t, C-9), 30.1 (d, C-10), 138.8 (s, C-11), 169.6 (s, C-12), 121.8 (t, C-13), 19.0 (q, C-14), 20.0 (q, C-15)。FAB<sup>+</sup>-MS: *m/z* 265 [M+H]<sup>+</sup> (47)。以上数据与文献[9]报道的化合物 carpesiolin 波谱数据一致,故化合物 5 鉴定为 carpesiolin(天名精内酯)。

化合物 6 无色针状晶体。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 1.93 (1H, m, H-1), 1.58, 2.14 (2H, m, H-2), 2.20 (1H, m, H-3α), 2.50 (1H, m, H-3β), 2.50 (2H, m, H-6α), 1.53 (1H, dd, 14.2 11.9 Hz, H-6β), 2.83 (1H, m, H-7), 4.29 (1H, ddd, 12.0, 9.3 2.7 Hz, H-8), 1.46 (1H, dd, 24.0 12.0 Hz, H-

9 $\alpha$ ) 2.48 (1H, m, H-9 $\beta$ ), 1.93 (1H, m, H-10), 5.52 (1H, d, 2.5 Hz, H-13a), 6.19 (1H, d, 2.8 Hz, H-13b), 1.10 (3H, d, 5.5 Hz, H-14), 1.05 (3H, s, H-15)。<sup>13</sup>C-NMR-DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):  $\delta$  48.7 (d, C-1), 24.1 (t, C-2), 34.5 (t, C-3), 222.5 (s, C-4), 50.0 (s, C-5), 35.2 (t, C-6), 44.7 (d, C-7), 80.8 (d, C-8), 44.0 (t, C-9), 29.6 (d, C-10), 140.2 (s, C-11), 169.8 (s, C-12), 120.1 (t, C-13), 20.0 (q, C-14), 22.0 (q, C-15)。EI-MS: 248 [M]<sup>+</sup> (98)。以上数据与文献 [10] 报道的化合物 2, 3-dihydroaromaticin 一致, 故推断化合物 6 为 2, 3-dihydroaromaticin (2, 3-二去氢芳香堆芯菊素)。

化合物 7 无色片状晶体。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  2.29 (1H, m, H-1), 2.16 (1H, m, H-2 $\alpha$ ), 1.42 (1H, m, H-2 $\beta$ ), 2.14 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 2.40 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 5.50 (1H, d, 7.7 Hz, H-6), 3.05 (1H, ddd, 10.4, 7.6, 2.3 Hz, H-7), 4.50 (1H, m, H-8), 1.50 (1H, m, H-9 $\alpha$ ), 2.51 (1H, m, H-9 $\beta$ ), 1.86 (1H, m, H-10), 5.85 (1H, d, 3.1 Hz, H-13a), 6.20 (1H, d, 3.3 Hz, H-13b), 1.12 (3H, d, 6.5 Hz, H-14), 1.08 (3H, s, H-15), 1.98 (3H, s, H-OAc)。<sup>13</sup>C-NMR-DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):  $\delta$  46.6 (d, C-1), 24.4 (t, C-2), 37.9 (t, C-3), 218.6 (s, C-4), 56.0 (s, C-5), 74.6 (d, C-6), 52.6 (d, C-7), 76.2 (d, C-8), 44.2 (t, C-9), 29.9 (d, C-10), 137.2 (s, C-11), 169.4 (s, C-12), 122.1 (t, C-13), 19.9 (q, C-14), 18.4 (q, C-15), 169.1 (s, MeCO), 21.1 (q, CH<sub>3</sub>CO)。EI-MS: 306 [M]<sup>+</sup> (0.2)。以上数据与文献 [5] 报道的化合物 ergolide 波谱数据一致, 确定化

合物 7 为 ergolide (二去氢锦菊素)。

#### [参考文献]

- [1] 《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第 75 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1985: 248.
- [2] 章永红. 抗癌中药大全 [M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2000: 408.
- [3] 胡月英, 宣明盛. 云南抗癌中草药 [M]. 昆明: 云南人民出版社, 1982: 226.
- [4] 梁明达, 胡美英, 梁红. 复方水朝阳旋覆花抗癌作用及毒性研究 [J]. 中国民族民间医药杂志, 1998, 35 (4): 23.
- [5] Wang Q, Zhou B N, Zhang R W, et al. Cytotoxicity and NMR spectral assignments of ergolide and bigelovin [J]. *Planta Medica*, 1996, 62 (2): 166.
- [6] Park E J, Kim J. Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Inula britannica* [J]. *Planta Medica*, 1998, 64 (8): 752.
- [7] Majetich G, Song J S, Leigh A J, et al. Allylsilane-based annulations direct stereoselective syntheses of (±)-graveolide and (±)-aromaticin [J]. *J Org Chem*, 1993, 58 (5): 1030.
- [8] Kubo I, Matsumoto T. Desacetylisotenulin, a molluscicide from the desert plant *Psathyrotes ramosissima* [J]. *Agric Biol Chem*, 1984, 48 (12): 3147.
- [9] Maruyama M, Omura S. Carpesiolin from *Carpesium abrotanoides* [J]. *Phytochemistry*, 1977, 16 (6): 782.
- [10] Merfort I, Wendisch D. Sesquiterpene lactones of *Arnica cordifolia*, subgenus *Austromontana* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34 (5): 1436.

[责任编辑 邹晓翠]