

南鹤虱中愈创木烷型倍半萜类化学成分研究

刘贵园, 温楠, 张茂生, 徐应淑, 付少彬, 肖世基*

(遵义医学院药学院, 贵州 遵义 563000)

摘要: 为了阐明中药南鹤虱的化学成分, 采用各种柱色谱及制备液相色谱进行分离纯化, 从南鹤虱中分离得到 9 个愈创木烷型倍半萜成分, 经理化性质和波谱数据确定其结构分别为 11-羟基-8 β -当归酰氧基-4-愈创木烯-3-酮 (1)、11-乙酰氧基-4-愈创木烯-3-酮 (2)、11-乙酰氧基-8 β -异丁酰氧基-4-愈创木烯-3-酮 (3)、11-乙酰氧基-8 β -丙酰氧基-4-愈创木烯-3-酮 (4)、11-羟基-4-愈创木烯-3-酮 (5)、1 β -羟基-11-乙酰氧基-8 β -当归酰氧基-4-愈创木烯-3-酮 (6)、11-乙酰氧基-8 β -当归酰氧基-4-愈创木烯-3-酮 (7)、8 β -羟基-11-乙酰氧基-4-愈创木烯-3-酮 (8) 和 8 β ,11-二羟基-4-愈创木烯-3-酮 (9)。其中化合物 1 为新化合物, 化合物 5 为新的天然产物, 化合物 2~4 为首次从该属植物中分离得到的。

关键词: 南鹤虱; 野胡萝卜; 伞形科; 愈创木烷; 倍半萜; 化学成分

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 07-1146-04

Guaiane-type sesquiterpenes from the fruits of *Fructus carotae*

LIU Gui-yuan, WEN Nan, ZHANG Mao-sheng, XU Ying-shu, FU Shao-bin, XIAO Shi-ji*

(School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China)

Abstract: To study the chemical constituents of the fruits of *Fructus carotae*, silica gel column chromatography and preparative HPLC were used to isolate and purify the extract of *Fructus carotae*. The structures of obtained compounds were elucidated on the basis of physicochemical property and spectral data. Nine guaiane-type sesquiterpenes were isolated and identified as 8 β -angeloyloxy-11-hydroxy-4-guaien-3-one (1), 11-acetoxy-4-guaien-3-one (2), 11-acetoxy-8 β -isobutyryl-4-guaien-3-one (3), 11-acetoxy-8 β -propionyl-4-guaien-3-one (4), 11-hydroxy-4-guaien-3-one (5), 11-acetoxy-8 β -angeloyloxy-1 β -hydroxy-4-guaien-3-one (6), 11-acetoxy-8 β -angeloyloxy-4-guaien-3-one (7), 11-acetoxy-8 β -hydroxy-4-guaien-3-one (8) and 8 β ,11-dihydroxy-4-guaien-3-one (9). Compound 1 is a new compound, compound 5 is a new natural product, and compounds 2–4 were isolated from this genus for the first time.

Key words: *Fructus carotae*; *Daucus carota*; umbelliferae; guaiane; sesquiterpene; chemical constituent

中药南鹤虱 (*Fructus carotae*), 又名鹤虱、野胡萝卜子、窃衣子、虱子草, 是伞形科植物野胡萝卜 (*Daucus carota* L.) 的干燥成熟果实, 其主要分布于

江苏、湖北、四川、浙江、安徽、贵州等地; 研究表明, 中药南鹤虱有多种药理作用, 如杀虫、抗菌、抗腹泻、抗炎、镇痛、扩张冠状动脉和肝保护等^[1], 可用于治疗蛔虫、痔瘕、病毒性角膜炎、钩虫病、肠道滴虫病和水肿等多种疾病^[2-5]。文献报道南鹤虱中主要含黄酮^[6]、香豆素和倍半萜类化合物^[7]。为了进一步阐明中药南鹤虱的化学成分, 指导民间科学用药, 本研究对其乙醇提取物进行了分离纯化, 从中分离得到了 9 个愈创木烷型倍半萜类化合物 (图 1), 通过

收稿日期: 2017-02-15; 修回日期: 2017-03-28.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31560102); 贵州省教育厅自然科学基金资助项目 (黔教合 KY 字 [2015] 362); 遵义医学院药物化学学科建设经费资助。

*通讯作者 Tel: 86-851-28642513, Fax: 86-851-28609343,

E-mail: sjxiao@zmc.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0129

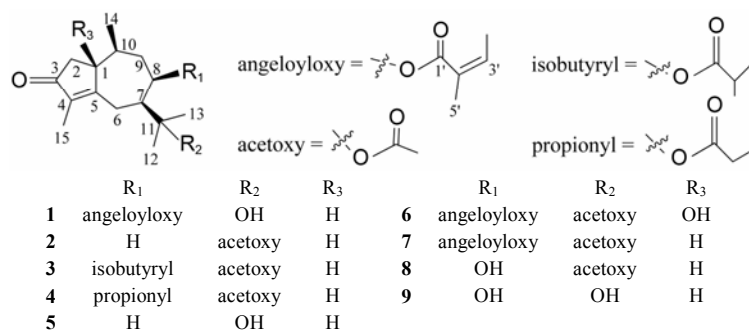


Figure 1 Structures of compounds 1-9

波谱分析鉴定了它们的结构, 其中化合物**1**为新化合物, 化合物**5**为新的天然产物, 化合物**2~4**为首次从该属植物中分离得到。

结果与讨论

化合物**1**为淡黄色油状物, HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 335.221 44 $[M+H]^+$ (计算值 $C_{20}H_{31}O_5^+$: 335.221 69), 确定其分子式为 $C_{20}H_{30}O_4$, 有 6 个不饱和度。¹H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) (表 1) 显示有 6 个甲基氢信号: δ_H 1.02 (3H, d, $J=6.6$ Hz)、1.24 (3H, s)、1.27 (3H, s)、1.72 (3H, s)、1.89 (3H, s) 和 2.00 (3H, br.

d, $J=7.0$ Hz); 1 个烯氢 δ_H 6.12 (1H, m); 1 个联氧氢 δ_H 5.44 (1H, m)。¹³C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) 结合 HSQC 谱显示有 20 个碳信号, 包括 1 个羰基 δ_C 208.6; 5 个 sp^2 杂化碳 δ_C 175.2、167.0、139.6、135.0、127.4; 2 个联氧碳 δ_C 73.5、72.7; 6 个甲基碳 δ_C 28.8、28.1、8.1、16.1、20.8、22.7; 3 个仲碳 δ_C 41.5、26.0、40.1; 3 个叔碳 δ_C 51.6、48.9、34.0; 通过分析核磁数据发现其可能为愈创木烷型倍半萜类化合物。HMBC 谱中 (图 2), 甲基氢 δ_H 1.89 (3H, s) 和甲基氢 δ_H 2.00 (3H, br. d, $J=7.0$ Hz) 同时和 δ_C 167.0、139.6、127.4 的碳信号有相关, 烯氢 δ_H 6.12 (1H, m) 和这 2 个甲基

Table 1 NMR spectral data of compounds 1-7 ($CDCl_3$, 400/100 MHz)

Position	1		δ_C						
	δ_H (J in Hz)	δ_C	2	3	4	5	6	7	
1	2.35 (1H, overlap)	51.6	50.9	51.3	51.4	50.8	79.6	51.1	
2	2.59 (1H, dd, 18.4, 6.2) 2.01 (1H, overlap)	41.5	42.0	41.3	41.3	42.0	49.7	41.2	
3		208.6	209.2	208.4	208.4	209.2	206.5	208.2	
4		135.0	135.7	135.3	135.3	135.4	135.7	135.1	
5		175.2	170.5	174.2	174.2	177.0	172.7	173.8	
6	3.04 (1H, d, 13.8) 2.42 (1H, overlap)	26.0	26.6	25.7	25.7	28.9	22.7	25.7	
7	1.62 (1H, overlap)	48.9	43.9	46.4	46.4	46.4	47.0	46.3	
8	5.44 (1H, m)	73.5	32.5	71.2	71.4	27.1	71.1	70.7	
9	2.31 (1H, overlap) 1.62 (1H, overlap)	40.1	28.7	40.3	40.3	32.3	34.9	41.2	
10	1.39 (1H, m)	34.0	39.3	33.4	33.4	39.8	37.4	33.4	
11		72.7	85.5	84.6	84.6	73.5	84.8	84.4	
12	1.27 (3H, s)	28.8	23.7	24.8	24.9	27.8	24.7	24.5	
13	1.24 (3H, s)	28.1	23.2	24.2	24.2	25.7	24.2	23.9	
14	1.02 (3H, d, 6.6)	22.7	22.7	22.9	22.9	23.1	18.3	22.6	
15	1.72 (3H, s)	8.1	7.9	8.2	8.2	7.7	8.1	8.0	
1'		167.0	176.2	176.2	173.5		167.0	166.8	
2'		127.4	22.1	34.5	28.2		127.8	127.7	
3'	6.12 (1H, m)	139.6		18.8	9.2		138.8	138.3	
4'	2.00 (3H, br. d, 7.0)	16.1		19.4			16.0	15.8	
5'	1.89 (3H, s)	20.8					20.8	20.6	
1''				170.6	170.5		170.6	170.3	
2''				22.8	22.8		22.8	22.7	

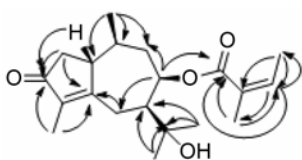


Figure 2 Key HMBC correlations of compound 1

$[\delta_C 20.8, \delta_H 1.89 (3H, s)]$ 、 $[\delta_H 2.00 (3H, br. d, J = 7.0 \text{ Hz}), \delta_C 16.1]$ 都有相关, 说明结构中存在当归酰氧基片段; HMBC 谱中 H-8 和 C-6、C-9、C-1' ($\delta_C 167.0$) 相关, 说明当归酰氧基连在 C-8 位上; 12-CH₃、13-CH₃ 和 C-11 ($\delta_C 72.7$) 相关, 说明有羟基连在 C-11 位上; 15-CH₃ 和 C-3 ($\delta_C 208.6$)、C-5 ($\delta_C 175.2$) 有相关, H-1 及 H-2 也和 C-3、C-5 有相关, 说明分子中有 α 、 β 不饱和羰基存在于 C-3、C-4、C-5 位上。进一步分析核磁数据发现其与已知化合物 7 非常相似, 区别在于化合物 1 中 C-11 位上的羟基取代了化合物 7 中的乙酰氧基。综上, 化合物 1 的结构确定为 11-羟基-8 β -当归酰氧基-4-愈创木烯-3-酮。

实验部分

Agilent DD2 400-MR 型核磁共振仪, TMS 为内标 (美国 Agilent 公司); Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL 型高分辨质谱仪 (美国 Thermo 公司); LC3000 型高效液相色谱仪 (中国北京创新通恒公司), C18 5 μm 10 mm \times 250 mm 半制备 HPLC 柱 (日本 YMC 公司); UV3600 紫外可见近红外分光光度计 (日本岛津公司); 薄层色谱硅胶 GF 254 和柱色谱硅胶 (200~300 目) (中国青岛海洋化工); Sephadex LH-20 凝胶 (德国 Merck 公司)。

南鹤虱于 2016 年 7 月购自药材市场, 由遵义医学院生药学教研室聂绪强副教授鉴定为野胡萝卜 (*Daucus carota* L.) 的干燥成熟果实, 即中药南鹤虱 (*Fructus carotae*), 样品标本 (No.20151108) 保存在遵义医学院药学院。

1 提取分离

南鹤虱干重 5.0 kg, 粉碎后用乙醇回流提取 4 次, 每次 2 h, 合并提取液减压浓缩得乙醇总浸膏 420 g, 将之分散于水中, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 减压浓缩得各部分提取物。石油醚提取物再用甲醇萃取, 得到甲醇萃取物 73 g, 该部位浸膏经硅胶柱色谱 (80 mm \times 600 mm, 石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱, 10 : 1, 1 : 10, *V/V*) 分为 8 个部分: Fr.1~8。Fr.1 经半制备 HPLC 分离 (乙腈-水, 95 : 5, *V/V*, 4.5 mL \cdot min⁻¹) 得到化合物 2 (15 mg, $t_R = 6.1$ min)。Fr.2

经硅胶柱反复分离得到化合物 7 (100 mg)。Fr.5 经 ODS 柱色谱 (甲醇-水, 90 : 10, *V/V*) 分离后, 再经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 纯甲醇洗脱分为 3 部分 Fr.5.1~3。Fr.5.2 经半制备 HPLC 分离 (甲醇-水, 90 : 10, *V/V*, 3 mL \cdot min⁻¹) 得到 5 个亚组分: Fr.5.2A~E; 其中亚组分 Fr.5.2E 经半制备 HPLC 分离 (甲醇-水, 90 : 10, *V/V*, 3 mL \cdot min⁻¹) 得到化合物 3 (11 mg, $t_R = 23.2$ min); 亚组分 Fr.5.2A 进一步经半制备 HPLC 分离 (甲醇-水, 90 : 10, *V/V*, 3.5 mL \cdot min⁻¹) 得到化合物 4 (9 mg, $t_R = 13.2$ min); Fr.8 经 ODS 柱色谱 (甲醇-水, 90 : 10, *V/V*) 洗脱分为 4 部分 Fr.8.1~4; Fr.8.2 经 Sephadex LH-20 (纯甲醇洗脱) 分为 8 部分 Fr.8.2.1~8; Fr.8.2.2 经半制备 HPLC 分离 (甲醇-水, 75 : 25, *V/V*, 4 mL \cdot min⁻¹) 得到 6 个亚组分 Fr.8.2.2A~F; 亚组分 Fr.8.2.2A 进一步经半制备 HPLC 分离 (甲醇-水, 35 : 65, *V/V*, 3.5 mL \cdot min⁻¹) 得到化合物 9 (8 mg, $t_R = 4.0$ min); 亚组分 Fr.8.2.2B 进一步经半制备 HPLC 分离 (甲醇-水, 45 : 55, *V/V*, 4 mL \cdot min⁻¹) 得到化合物 8 (10 mg, $t_R = 13.7$ min); 亚组分 Fr.8.2.2F 进一步经半制备 HPLC 分离 (甲醇-水, 55 : 45, *V/V*, 3.5 mL \cdot min⁻¹) 得到化合物 1 (13 mg, $t_R = 28.4$ min); Fr.8.2.3 经半制备 HPLC 分离 (甲醇-水, 95 : 5, *V/V*, 5 mL \cdot min⁻¹) 得到 5 个亚组分 Fr.8.2.3A~E; 亚组分 Fr.8.2.3A 进一步经半制备 HPLC 分离 (甲醇-水, 70 : 30, *V/V*, 5 mL \cdot min⁻¹) 得到化合物 5 (9 mg, $t_R = 19.4$ min) 和化合物 6 (12 mg, $t_R = 28.4$ min)。

2 结构鉴定

化合物 1 淡黄色油状物; C₂₀H₃₀O₄; $[\alpha]_D^{20} -21.0$ (c 0.06, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 236 (2.78) nm; HR-ESI-MS m/z 335.221 44 $[M+H]^+$ (计算值 C₂₀H₃₁O₅⁺: 335.221 69); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 和 ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) 见表 1。

化合物 2 白色油状物; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 2.27 (1H, m, H-1), 1.98 (3H, s, H-2'), 1.45 (3H, s, H-13), 1.44 (3H, s, H-12), 1.00 (3H, m, H-14); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) 见表 1。经波谱数据和文献^[8]对照鉴定化合物 2 为 11-乙酰氧基-4-愈创木烯-3-酮。

化合物 3 淡黄色油状物; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.27 (1H, m, H-8), 1.93 (3H, s, H-2''), 1.67 (3H, s, H-15), 1.51 (3H, s, H-13), 1.47 (3H, s, H-12), 1.14 (6H, br. s, H-3',4'), 0.97 (3H, br. s, H-14); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) 见表 1。经波谱数据和文献^[9]对照鉴定化合物 3 为 11-乙酰氧基-8 β -异丁酰氧基-4-愈创

木烯-3-酮。

化合物 **4** 淡黄色油状物; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.28 (1H, m, H-8), 1.92 (3H, s, H-2"), 1.67 (3H, s, H-15), 1.49 (3H, s, H-13), 1.45 (3H, s, H-12), 1.11 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-3'), 0.97 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-14); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 见表 1。经波谱数据和文献^[9]对照鉴定化合物 **4** 为 11-乙酰氧基-8 β -丙酰氧基-4-愈创木烯-3-酮。

化合物 **5** 淡黄色油状物; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.69 (3H, s, H-15), 1.23 (3H, s, H-13), 1.22 (3H, s, H-12), 1.02 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-14); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 见表 1。和文献^[10]对照经 HSQC 和 HMBC 鉴定化合物 **5** 为 11-羟基-4-愈创木烯-3-酮。

化合物 **6** 淡黄色油状物; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.07 (1H, m, H-3'), 5.41 (1H, m, H-8), 1.98 (3H, m, H-4'), 1.96 (3H, s, H-2"), 1.89 (3H, m, H-5'), 1.70 (3H, s, H-15), 1.51 (3H, s, H-13), 1.50 (3H, s, H-12), 1.07 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-14); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 见表 1。经波谱数据和文献^[11]对照鉴定化合物 **6** 为 11-乙酰氧基-8 β -当归酰氧基-1 β -羟基-4-愈创木烯-3-酮。

化合物 **7** 白色晶体; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -57.3$ (c 0.06, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.05 (1H, m, H-3'), 5.41 (1H, m, H-8), 1.97 (3H, dq, $J = 7.3, 1.5$ Hz, H-4'), 1.94 (3H, s, H-2"), 1.87 (3H, m, H-5'), 1.68 (3H, br. s, H-15), 1.50 (3H, s, H-13), 1.48 (3H, s, H-12), 0.99 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-14); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) 见表 1。经波谱数据和文献^[12]对照鉴定化合物 **7** 为 11-乙酰氧基-8 β -当归酰氧基-4-愈创木烯-3-酮。

化合物 **8** 淡黄色油状物; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.33 (1H, td, $J = 8.2, 4.6$ Hz, H-8), 2.10 (3H, s, H-2'), 1.73 (3H, br. s, H-15), 1.28 (3H, s, H-13), 1.26 (3H, s, H-12), 1.02 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-14); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 208.5 (C-3), 175.1 (C-5), 170.1 (C-1'), 135.1 (C-4), 74.1 (C-8), 72.8 (C-11), 51.6 (C-1), 49.0 (C-7), 41.5 (C-2), 39.8 (C-9), 33.9 (C-10), 29.0 (C-12), 28.1 (C-13), 25.7 (C-6), 23.0 (C-14), 21.8 (C-2'), 8.1 (C-15)。经波谱数据和文献^[13]对照鉴定化合物 **8** 为 8 β -羟基-11-乙酰氧基-4-愈创木烯-3-酮。

化合物 **9** 淡黄色油状物; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.42 (1H, m, H-8), 1.73 (3H, br. s, H-15), 1.42 (3H, s, H-13), 1.33 (3H, s, H-12), 1.03 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-14); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 208.7 (C-3), 176.4 (C-5), 134.6 (C-4), 73.6 (C-8), 70.8 (C-11), 52.0 (C-1), 48.9 (C-7), 44.0 (C-9), 41.5 (C-2), 33.7

(C-10), 29.4 (C-12), 28.9 (C-13), 24.4 (C-6), 23.2 (C-14), 8.1 (C-15)。经波谱数据和文献^[13]对照鉴定化合物 **9** 为 8 β ,11-二羟基-4-愈创木烯-3-酮。

References

- [1] Zhang H, Gao JH, Meng L. Experimental study of anti-inflammatory, analgesic and antibiotic effects of dongbeiheshi capsule [J]. J Tianjin Med Univ (天津医科大学学报), 2004, 10: 492-495.
- [2] Zhang SY, Meng L, Gao EY, et al. A new quinolone alkaloid with antibacterial activity from *Lappula echinata* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2005, 36: 490-492.
- [3] Pant B, Manandhar S. *In vitro* propagation of carrot (*Daucus carota*) [J]. Tumori, 2010, 5: 461-466.
- [4] Yang RL, Yan ZH, Lu Y. Cytotoxic phenylpropanoids from carrot [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56: 3024-3027.
- [5] Tavares AC, Gonçalves MJ, Cavaleiro C, et al. Essential oil of *Daucus carota* subsp. *halophilus*: composition, antifungal activity and cytotoxicity [J]. J Ethnopharmacol, 2008, 19: 129-134.
- [6] Gebhardt Y, Witte S, Forkmann G, et al. Molecular evolution of flavonoid dioxygenases in the family Apiaceae [J]. Phytochemistry, 2005, 66: 1273-1284.
- [7] Ahmed AA, Bishr MM, El-Shanawany MA, et al. Rare trisubstituted sesquiterpenes daucanes from the wild *Daucus carota* [J]. Phytochemistry, 2005, 66: 1680-1684.
- [8] Ryu JH, Jeong YS. A new guaiane type sesquiterpene from *Torilis japonica* [J]. Arch Pharm Res, 2001, 24: 532-535.
- [9] Lee IK, Lee JH, Hwang EII, et al. New guaiane sesquiterpenes from the fruits of *Torilis japonica* [J]. Chem Pharm Bull, 2008, 56: 1483-1485.
- [10] Hirota H, Moriyama Y, Shirasaki H, et al. Reaction of guai oxide with *N*-bromosuccinimide and the preparation of 4,6-guaiadien-3-one and 1-epi-4,6-guaiadien-3-one [J]. Bull Chem Soc Jpn, 1979, 52: 3755-3756.
- [11] Park HW, Choi SU, Baek NI, et al. Guaiane sesquiterpenoids from *Torilis japonica* and their cytotoxic effects on human cancer cell lines [J]. Arch Pharm Res, 2006, 29: 131-134.
- [12] Kwak YG, Kim DK, Ma TZ, et al. Torilin from *Torilis japonica* (Houtt.) DC. blocks hKv1.5 channel current [J]. Arch Pharm Res, 2006, 29: 834-839.
- [13] Fu HW, Zhang L, Yi T, et al. Two new guaiane-type sesquiterpene glycosides from the fruits of *Daucus carota* L [J]. Chem Pharm Bull, 2010, 58: 125-128.