

白花刺参中的咖啡酰基奎宁酸成分

滕荣伟¹, 周志宏², 王德祖¹, 杨崇仁^{1*}

(1. 中国科学院昆明植物研究所, 云南昆明 650204; 2. 昆明生物谷医药研究所, 云南昆明 650108)

摘 要: 著名藏药白花刺参 *Morina nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. 的全株的水溶性部分通过硅胶、RP-8、Sephadex LH-20 柱层析分离, 得到 4 个咖啡酰基奎宁酸 1~4, 运用光谱和波谱方法, 分别鉴定为 3-O-咖啡酰基-奎宁酸(1)、3, 5-O-双咖啡酰基-奎宁酸(2)、3, 4-O-双咖啡酰基-奎宁酸(3)和 4, 5-O-双咖啡酰基-奎宁酸(4)。应用 2D NMR 图谱, 对其氢和碳的化学位移进行全归属, 并报道 1, 2 在氘代甲醇和氘代二甲亚砜两种溶剂下测定 ^1H 和 ^{13}C 化学位移。4 个化合物都是首次分离自刺参属植物。

关键词: 白花刺参; 川续断科; 咖啡酰基奎宁酸; NMR 全归属

中图分类号: O641 **文献标识码:** A

白花刺参 *Morina nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. 是川续断科 (*Dipsacaceae*) 刺参属 (*Morina*) 植物^[1], 是著名的传统藏药^[2-3], 具有催吐、健胃等功能; 用于关节痛、小便失禁、腰痛、眩晕及口眼歪斜等; 外用治化脓性创伤和肿瘤^[1-3]。前文报道从 7 月份采自云南西北白花刺参全株的乙醇提取物的水溶性部分中分离鉴定 2 个新三萜皂苷^[4]。进一步对水溶性部分进行研究, 分离了 4 个奎宁酸类衍生物(1~4)。通过应用现代 NMR 技术, 鉴定了这些化合物的结构, 对所有化合物的 NMR 氢和碳的化学位移都进行了全归属, 并报道奎宁酸类衍生物 1, 2 在氘代甲醇和氘代二甲亚砜两种溶剂下测定 ^1H 和 ^{13}C 化学位移。4 个化合物都是首次分离自刺参属植物。

1 结果与讨论

白花刺参的正丁醇萃取部分经硅胶、RP-8、Sephadex LH-20 反复柱层析分离纯化, 得到化合物 1~4。

收稿日期: 2001-08-13; 收修改稿日期: 2001-11-05

作者简介: 滕荣伟(1975-), 男, 博士, 植物化学专业; E-mail: tengrongwei@hotmail.com

* 通讯联系人: E-mail: cryang@public.km.yu.cn

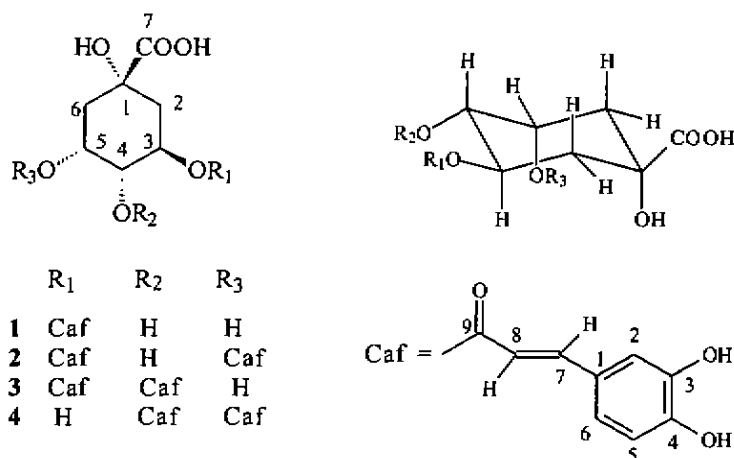


图 1 化合物 1~4 的结构

Fig. 1 Structures of compound 1~4

1.1 结构鉴定

1.1.1 化合物 1

棕色粉末, 负离子 FABMS 显示准分子离子峰 m/z 353 $[M-1]^-$, 结合 ^{13}C (DEPT) NMR 图谱, 1 的分子式推定为 $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$. 分析 1 的 NMR 氢谱和碳谱, 推知 1 含有一个咖啡酰基(表 1 和表 2). 除咖啡酰基的碳信号以外, 还有 2 个亚甲基碳(δ 40.74, 38.94), 3 个连氧的次甲基碳(δ 72.54, 72.99, 74.94), 一个季碳(δ 77.97)和一个羧基信号(δ 176.40). 与文献中奎宁酸的碳化学位移非常相似^[5]. 所以 1 的母核应该是奎宁酸; 并且 C-3 位明显向低场位移约 5 ppm, 推得咖啡酰基连接在奎宁酸母核 C-3 位. 化合物 1 的结构鉴定为 3-O-咖啡酰基-奎宁酸.

1.1.2 化合物 2~4

都是棕色粉末, 负离子 FABMS 都出现准分子离子峰 m/z 515 $[M-1]^-$, 结合 ^{13}C (DEPT) NMR 图谱, 推定分子式皆为 $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$. 分析 2~4 的 NMR 氢谱和碳谱, 推知这 3 个化合物都是以奎宁酸为母核, 并含有 2 个咖啡酰基(表 1、2). 化合物 2(3, 5-O-双咖啡酰基-奎宁酸), 3(3, 4-O-双咖啡酰基-奎宁酸)和 4(4, 5-O-双咖啡酰基-奎宁酸)的结构经与文献的 NMR 数据比较而确定^[5~8].

奎宁酸类衍生物 1~4 都是首次分离自刺参属植物

1.2 氢和碳的化学位移归属

通过与文献比较, 先初步归属了化合物 1~4 的碳化学位移. 然后运用 HSQC 或 HMQC 图谱, 可以通过观察碳核(除季碳)与其相连质子(单键偶合)的相关信号归属这些质子, 并运用 DQF ^1H - ^1H COSY 图谱对这些归属的质子进行验证. 在 HMBC 图谱上, 通过观察已经归属的质子与季碳(多键的远程偶合)的相关信号归属季碳并验证其他归属的信号. 从而对化合物 1~4 的氢和碳的化学位移都进行了全归属. 以化合物 3 为例, ^1H - ^1H COSY 图谱和 HMBC 图谱分别见图 2 和图 3, 相应的 2D NMR 相关数据见表 3.

表 1 化合物 1~4 的 ^{13}C NMR 化学位移 (125MHz, δ 甲醇- d_4 或二甲亚砜- d_6)Tab. 1 ^{13}C NMR data of compound 1~4 (^{13}C 125MHz δ in CD_3OD or $\text{DMSO}-\text{d}_6$)

	1 (MeOH)	2 (MeOH)	3 (MeOH)	4 (DMSO)
Quinic acid				
1	77.97 [77.93]	74.75 [73.92]	76.05	72.36
2	40.74 [36.91]	37.67 [35.80]	39.33	35.42
3	72.54 [70.84]	72.06 [70.87]	68.97	67.27
4	74.94 [72.65]	70.71 [70.22]	75.73	70.79
5	72.99 [71.46]	72.56 [72.43]	69.34	70.40
6	38.94 [36.91]	36.01 [35.80]	38.37	34.50
7	176.40 [176.40]	177.43 [177.67]	176.80	175.11
Caffeoyl				
1	127.81 [125.45]	127.92; 127.80 [125.57; 125.45]	127.70; 127.64	125.55; 125.48
2	115.54 [115.73]	115.26; 115.15 [113.59; 114.41']	115.19 (2CH)	114.68; 114.61
3	146.79 [145.54]	147.26; 147.04* [145.56 (2C)]	146.73 (2C)	145.49 (2C)
4	149.55 [148.30]	149.55; 149.45 [148.33; 148.18]	149.64 (2C)	148.40; 148.30
5	116.55 [115.73]	116.47 (2C) [115.81; 115.75]	116.47 (2CH)	115.74 (2CH)
6	122.92 [121.16]	123.05; 122.98 [121.21; 120.94]	123.13 (2CH)	121.37; 121.16
7	146.92 [144.66]	147.04'; 146.74 [144.73; 144.42]	147.70; 147.57	144.88; 144.71
8	115.18 [114.59]	115.58; 115.11 [115.01; 114.41']	114.73; 114.69	114.01; 114.61
9	169.27 [166.20]	168.87; 168.38 [177.67 (2C)]	168.55; 168.22	166.02; 165.49

注: [] 内为化合物 1, 2 在氘代二甲亚砜溶剂中测定的 ^{13}C NMR 数据; * 信号重叠

表 2 化合物 1-4 的 ^1H NMR 化学位移 (500MHz, δ 甲醇- d_4 或二甲亚砜- d_6 , 偶合常数: Hz)Tab. 2 ^1H data of compound 1~4 (^1H 500MHz; δ in CD_3OD or $\text{DMSO}-d_6$, J : Hz)

	1 (MeOH)	2 (MeOH)	3 (MeOH)	4 (DMSO)
Quinic acid				
2	2.10 (2H, m) [2.02(2H, m)]	2.22 (2H, m) [2.06(2H, m)]	2.23 (2H, m)	2.14(2H, m)
3	5.36(1H, ddd, 4.6, 9.8, 10.1) [5.22(1H, brs)]	5.40(1H, brd, 6.5) [5.22(1H, m)]	5.61(1H, ddd, 4.5, 9.2, 9.4)	3.86(1H, m)
4	3.69(1H, dd, 2.9, 9.8) [3.68(1H, m)]	3.98(1H, dd, 2.8, 7.2) [3.76(1H, d, 7.0)]	5.11(1H, dd, 3.0, 9.0)	5.14(1H, m)
5	4.15(1H, m) [4.10(1H, m)]	5.43(1H, dt, 3.7, 7.5) [5.32(1H, brs)]	4.37(1H, m)	5.22(1H, brs)
6	2.17(1H, m) [2.07(1H, m)] 2.02(1H, m) [1.96(1H, m)]	2.31(1H, brd, 8.5) [2.16(1H, brd, 8.8)] 2.17(1H, m) [2.00(1H, m)]	2.30(1H, m) 2.10(1H, dd, 4.0, 14.2)	2.20(1H, m) 2.00(1H, m)
Caffeoyl				
2	7.05(1H, d, 2.0) [7.07(1H, brs)]	7.06(2H, brs) [7.08(1H, brs); 7.07(1H, brs)]	7.01(1H, d, 2.0); 7.00(1H, d, 2.0)	7.07(1H, brs); 7.00(1H, brs)
5	6.78(1H, d, 8.2) [6.78(1H, d, 7.5)]	6.77(1H, d, 7.2); 6.78(1H, d, 7.5) [6.80(1H, brs); 6.78(1H, brs)]	6.74(1H, d, 8.1); 6.73(1H, d, 8.2)	6.80(2H, brs)
6	6.93(1H, dd, 2.0, 8.2) [6.97(1H, d, 7.5)]	6.94(1H, d, 7.2); 6.95(1H, d, 7.5) [7.00(1H, d, 7.2); 6.98(1H, d, 7.2)]	6.90(2H, dd, 2.0, 8.2)	7.00(2H, brs)
7	7.56(1H, d, 16.0) [7.54(1H, d, 16.6)]	7.60(1H, d, 15.9); 7.57(1H, d, 15.9) [7.50(1H, d, 15.6); 7.48(1H, d, 15.6)]	7.59(1H, d, 15.9); 7.51(1H, d, 15.9)	7.50(1H, d, 15.7); 7.48(1H, d, 15.7)
8	6.29(1H, d, 16.0) [6.25(1H, d, 16.6)]	6.34(1H, d, 15.9); 6.26(1H, d, 15.9) [6.28(1H, d, 15.6); 6.24(1H, d, 15.6)]	6.28(1H, d, 15.9); 6.18(1H, d, 15.9)	6.27(1H, d, 15.7); 6.18(1H, d, 15.7)

注: [] 内为化合物 1, 2 在氘代二甲亚砜溶剂中测定的 ^1H NMR 数据

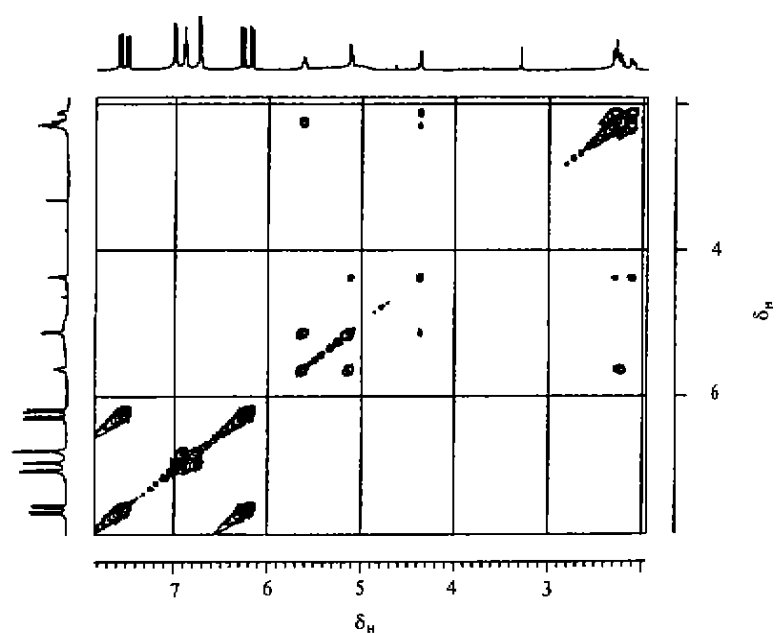
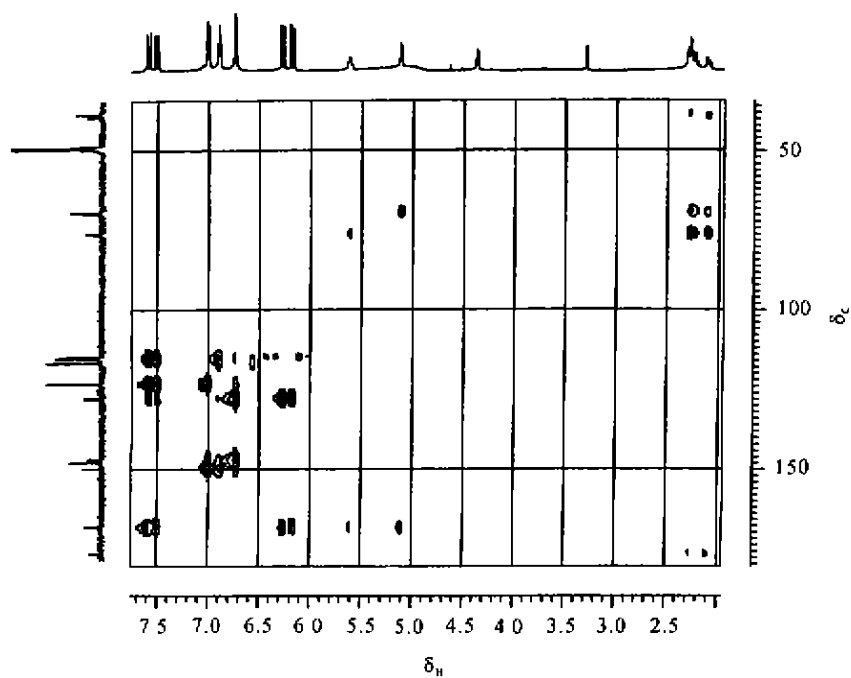
图 2 化合物 3 的 ^1H - ^1H DQF-COSY 图谱Fig. 2 ^1H - ^1H DQF-COSY spectrum of compound 3

图 3 化合物 3 的 HMBC 图谱

Fig. 3 HMBC spectrum of compound 3

表 3 化合物 3 的 2D ^1H - ^1H COSY、HMBC 和 2D J 分解谱数据Tab.3 2D ^1H - ^1H COSY, HMBC and 2D J -resolved spectra of compound 3

	^1H	J/Hz	^{13}C	COSY(^1H)	HMBC(^{13}C)
Quinic acid					
1			76.05		
2	2.23(2H, m)		39.33	Q-3	Q-1, 3, 4, 6, 9
3	5.61(1H, ddd)	4.5, 9.2, 9.4	68.97	Q-2, 4	Q-1, 4, Ca-9
4	5.11(1H, dd)	3.0, 9.0	75.73	Q-3, 5	Q-3, 5, Ca-9
5	4.37(1H, m)		69.34	Q-4, 6	Q-1, 3, 4, 6
6eq	2.30(1H, m)		38.37	Q-6ax, 5	Q-1, 2, 4, 5, 9
ax	2.10(1H, dd)	4.0, 14.2		Q-6eq, 5	Q-1, 2, 4, 5, 9
7			176.80		
Caffeoyl					
1			127.70; 127.64		
2	7.01(1H, d); 7.00(1H, d)	2.0; 2.0	115.19(2CH)	Ca-5	Ca-4, 6, 7
3			146.73(2C)		
4			149.64(2C)		
5	6.74(1H, d); 6.73(1H, d)	8.1; 8.2	116.47(2CH)	Ca-6	Ca-1, 3, 4, 6
6	6.90(2H, dd)	2.0, 8.2	123.13(2CH)	Ca-5	Ca-1, 2, 4, 7
7	7.59(1H, d); 7.51(1H, d)	15.9; 15.9	147.70; 147.57	Ca-8	Ca-1, 2, 6, 8, 9
8	6.28(1H, d); 6.18(1H, d)	15.9; 15.9	114.73; 114.69	Ca-7	Ca-7, 9
9				168.55; 168.22	

注: Q = quinic acid; Ca = caffeoyl

2 实验部分

2.1 仪器与样品

红外光谱(IR)在 Bio-Red FTS-135 谱仪上测定。旋光在日本 HORIBA SEPA-300 数字旋光仪上采用钠灯测定。FAB-MS 在 VG Autospec-3000 质谱仪上测定。所有核磁共振实验是在 Bruker DRX-500 MHz 超导核磁共振仪上室温条件下测定,氘代甲醇或二甲亚砜为测试溶剂。HSQC 或 HMQC, HMBC 是 Z -梯度场实验; ^1H - ^1H COSY 是 Z -梯度场双量子滤波实验。HMBC 用 62 ms 获得 H, C 远程相关。运用了下列分离材料:青岛化工厂生产的硅胶(160~200 目和 200~300 目),Merck 公司生产的 RP-8, Sephadex LH-20; TLC 采用青岛化工厂生产的硅胶 H 预制薄板和 Merck 公司生产的 HP RP-8 F₂₅₄ 预制薄板。展开剂:1、甲醇:水(7:3);2、乙酸乙酯:丙酮:水:少量甲酸(7:3:1 或 6:5:1)。

10% H_2SO_4 -EtOH 溶液或 5% FeCl_3 -EtOH 为显色剂。

2.2 分离纯化

白花刺参(*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz.)植物样品,7月份采自云南西北中甸县小中甸。证据标本存放在中国科学院昆明植物研究所民族植物研究室。白花刺参全株(3.4 kg)用工业酒精加热提取(10 L $\times$ 3),减压回收溶剂后得浸膏约 800 g。将浸膏在水和氯仿(10² mL $\times$ 3)分配3次,得到氯仿部分 230 g;再用正丁醇萃取3次,得到正丁醇部分 250 g。正丁醇部分 250 g 通过硅胶柱干柱层析,乙酸乙酯:丙酮:水(9:10:1)洗脱,得到6个部分 Fr I-IV。

Fr II(8 g)经过 RP-8 MPLC 层析,40%含水甲醇洗脱分离得到 2(3 g)。Fr III(22 g)经过 Si Gel 层析,乙酸乙酯:丙酮:水(6:2:0.6)洗脱,得到5个部分 Fr III-1 $\sim$ Fr III-5。Fr III-3 经过 Sephadex LH-20,50%~70%含水甲醇梯度洗脱得到 4(30 mg)。Fr III-4 经过 Sephadex LH-20,50%~70%含水甲醇梯度洗脱得到 3(250 mg)。Fr III-5 经过 Sephadex LH-20,50%~100%含水甲醇梯度洗脱得到 1(50 mg)。

3-O-咖啡酰基奎宁酸(1):棕色粉末; $[\alpha]_D^{22} = -134.66^\circ$ (c 0.44, MeOH); 负离子 FABMS: m/z 353[M-H]⁻, 191[M-H-162(Caffeoyl)]⁻, 173[M-H-162-18(H₂O)]⁻, 155[M-H-162-18(H₂O)-28(CO)]⁻, 134, 80。IR cm^{-1} : $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3 412(br), 2 928, 1 689, 1 628, 1 604, 1 518, 1 374, 1 275, 1 181, 1 160, 1 120, 1 082, 1 040, 977, 853, 813。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 204.5 (3.97)sh, 218 (4.00), 246 (3.87), 296.5 (3.95)sh, 329.5 (4.07)。

3, 5-O-双咖啡酰基奎宁酸(2):棕色粉末; $[\alpha]_D^{22} = -10.98^\circ$ (c 0.48, MeOH); 负离子 FABMS: m/z 515[M-H]⁻, 353[M-H-162(Caffeoyl)]⁻, 191[M-H-162(Caffeoyl)-162(Caffeoyl)]⁻, 173[M-H-162-162-18(H₂O)]⁻, 155[M-H-162-18(H₂O)-28(CO)]⁻, 139, 125, 99, 80。IR cm^{-1} : $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3 390(br), 3 373, 2 965, 1 693, 1 629, 1 603, 1 521, 1 368, 1 279, 1 180, 1 158, 1 117, 1 044, 978, 853, 813。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 205 (4.26)sh, 217.5 (4.31), 230 (4.14), 243.5 (4.16), 295.5 (4.25)sh, 329.5 (4.38)。

3, 4-O-双咖啡酰基奎宁酸(3):棕色粉末; $[\alpha]_D^{24} = -286.87^\circ$ (c 0.28, MeOH); 负离子 FABMS: m/z 515[M-H]⁻, 353[M-H-162(Caffeoyl)]⁻, 191[M-H-162(Caffeoyl)-162(Caffeoyl)]⁻, 173[M-H-162-162-18(H₂O)]⁻, 155[M-H-162-18(H₂O)-28(CO)]⁻, 134, 99, 80。IR cm^{-1} : $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3 412(br), 2 945, 1 694, 1 628, 1 602, 1 520, 1 351, 1 278, 1 179, 1 159, 1 113, 1 064, 1 043, 978, 852, 812。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 217 (4.51), 234.5 (4.35), 245 (4.38), 295.5 (4.48)sh, 329.5 (4.60)。

4, 5-O-双咖啡酰基奎宁酸(4):棕色粉末; 负离子 FABMS: m/z 515[M-H]⁻, 353[M-H-162(Caffeoyl)]⁻, 191[M-H-162(Caffeoyl)-162(Caffeoyl)]⁻, 173[M-H-162-162-18(H₂O)]⁻, 155[M-H-162-18(H₂O)-28(CO)]⁻, 135, 99, 65。

化合物 1~4 的氢、碳 NMR 数据见表 1、2。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1986, 73: 48-51.
- [2] 杨竞生, 初称江措著. 迪庆藏药 [M], 昆明: 云南民族出版社, 1989, 409-410.
- [3] 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-藏药标准 [M], 第一册, 1995, 56
- [4] 滕荣伟, 谢鸿妍, 王德祖, 等. 有机化学[J], 2002, 待发表.
- [5] Nishimura H, Nonaka G I, Nishioka I. Phytochemistry [J], 1984, 23 (5): 2621-2623.
- [6] Merfort I. Phytochemistry[J], 1992, 31(6): 2111-2113
- [7] 陈敏, 吴威巍, 沈国强, 等. 药学报[J], 1994, 29 (8): 617-620.
- [8] Tummertmann B N, Hoffmann J J, Jolad S D *et al.* J Nat Prod[J], 1983, 46 (3): 365-368.

FOUR CAFFELOYLQUINIC ACIDS FROM *MORINA NEPALENSIS* VAR. *ALBA* HAND.-MAZZ.

TENG Rong-wei¹, ZHOU Zhi-hong², WANG De-zu¹, YANG Chong-ren^{1*}

(1. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China;

2. Kunming Institute of Medicine of Biologic Valley, Kunming 650108, China)

Abstract: Four compounds were isolated from water-soluble part of whole plant of *Morina nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. by CC on Si gel, RP-8, Sephadex LH-20. Based on spectroscopic evidences, their structures were elucidated as 3-O-caffeoyl-quinic acid (1), 3, 5-O-dicaffeoyl-quinic acid (2), 3, 4-O- dicaffeoyl-quinic acid (3) and 4, 5-O- dicaffeoyl-quinic acid (4), respectively. Complete assignments of ¹H and ¹³C spectra of these four compounds were obtained by 2D NMR spectra. Furthermore, ¹H and ¹³C Chemical shifts of compound 1 and 2 were determined with both in CD₃OD and DMSO-d₆ solvent. All four compounds were firstly isolated from the *Morina* plants.

Key words: *morina nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz.; dipsacaceae; morina; caffeoylquinic acids; NMR complete assignments

* Correspondence author